

Toruń, 18-06-2022

Prof. dr hab. Grzegorz Woźniakowski

Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu,

Wydział Nauk Biologicznych

i Weterynaryjnych, Katedra Diagnostyki

i Nauk Klinicznych

Recenzja

**Rozprawy doktorskiej Pana lek. wet. Dominika Maksymiliana Łagowskiego
pt: Diagnostyka, epidemiologia i ocena zjadliwości dermatofitów zoofilnych
wchodzących w skład kompleksów *Trichophyton benhamiae* i *T. mentagophytes*.**

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorstwa została zrealizowana w Zakładzie Mikrobiologii Weterynaryjnej, Katedry Przedklinicznych Nauk Weterynaryjnych, Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie pod kierunkiem dr hab. Sebastiana Gnata.

Zakażenia grzybicze występujące u ludzi i zwierząt należą do jednych z najczęściej stwierdzanych chorób zakaźnych na świecie. Skuteczne zwalczanie tych zakażeń oraz ich monitoring stanowi poważny problem ekonomiczny zarówno w medycynie człowieka, jak i weterynaryjnej. Większość zakażeń grzybiczych powodowana jest przez dermatofity, powodujące dermatofitozy. Przeprowadzone w ostatnich kilkudziesięciu latach analizy występowania tych schorzeń wykazały, że dotyczą one nawet 20-25% populacji ludzkiej na świecie. Niektóre z występujących u zwierząt dermatofitów mogą powodować zakażenia subkliniczne, jednakże z uwagi na charakter zoonotyczny, u ludzi mogą być przyczyną poważnych stanów chorobowych. Istotną kwestią w zakresie profilaktyki oraz zwalczania dermafitoz stanowi znajomość aktualnej sytuacji epizootycznej u zwierząt na terenie danego

kraju, oraz analiza ewentualnych przypadków występowania zoonoz u ludzi. W chwili obecnej w diagnostyce mikologicznej obok klasycznych metod hodowli grzybów *in vitro*, czy badaniach z zakresu makro- i mikro morfologii stanowiących „złoty standard” stosowane są metody biologii molekularnej. Nie mniej istotne są badania nad charakterystyką biochemiczną (wytwarzaniem enzymów), czy też lekowrażliwością dermatofitów. Pośród tych metod coraz częstsze zastosowanie w wielu laboratoriach weterynaryjnych ma metoda real-time PCR (zwana również quantitative-PCR (qPCR), jeśli chodzi o analizę ilościową i półilościową wykrywanych sekwencji), czy też multiplex-PCR. Z kolei analiza sekwencji ITS (ang. Internal Transcribed Spacer) pozwala na ocenę zróżnicowania genetycznego szczepów *Trichophyton benhamiae* i *T. mentagrophytes*. Właściwe poznanie aktualnej sytuacji epizootycznej, czy też dobór właściwych chemioterapeutyków przeciwko dermatofitom stanowi obecnie bardzo duże wyzwania dla lekarzy weterynarii – dermatologów, lekarzy medycyny oraz diagnostów laboratoryjnych.

Omówienie i ocena pracy

Układ redakcyjny ocenianej dysertacji w pełni odpowiada wymogom stawianym pracom naukowym. Maszynopis dysertacji zawiera: spis treści, streszczenie w języku polskim i angielskim, autoreferat obejmujący: wprowadzenie, cele pracy, materiały i metody, opis wyników, dyskusję, wnioski, bibliografię oraz publikacje wchodzące w skład rozprawy doktorskiej wraz z oświadczeniami współautorów o zakresie autorskim w przedstawionych pracach. Dysertacja została oparta na cyklu publikacji złożonym z aż siedmiu prac oryginalnych opublikowanych w renomowanych czasopismach naukowych. We wszystkich pracach pierwszym autorem jest Doktorant – Pan lek. wet. Dominik Łagowski. Prace zostały opublikowane w czasopismach związanych z tematyką chorób zakaźnych zwierząt, dermatofitoz i zoonoz o współczynniku wpływu (impact factor - IF) od 1,589 do 4,377. Łączny IF wszystkich prac wynosi 21,064 a liczba punktów według aktualnej listy Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego to 670 pkt. Ponadto według informacji z Web of Science Core Collection Doktorant jest autorem głównym lub współautorem 46 publikacji naukowych, posiada obecnie 143 cytowania prac (bez auto-cytowań) a obecnie indeks Hirscha wynosi aż 12 (!), co stanowi wskaźniki niespotykane dotychczas pośród doktorantów realizujących dysertacje doktorskie z dyscypliny medycyny weterynaryjnej. Należy zwrócić szczególną uwagę i docenić niezwykle wysoką aktywność badawczą i publikacyjną Doktoranta, gdyż przedstawione w cyklu prace ukazały się w krótkim czasie wydawniczym tj. w latach 2019-2021. Dysertację rozpoczyna streszczenie w języku polskim

i angielskim wprowadzając czytelnika w problem występowania dermatofitoz u zwierząt oraz ich potencjalny charakter zoonotyczny, istotny z punktu widzenia medycyny człowieka. Następnie Doktorant przedstawił Wprowadzenie do Autoreferatu liczące 5 stron, w którym wyczerpująco omawia rolę dermatofitoz jako chorób zakaźnych zwierząt oraz człowieka. Doktorant omawia również klasyfikację grzybów powodujących najczęściej dermatofitozy, w tym przedstawiciele *Epidermophyton spp.*, *Microsporum spp.* i *Trichophyton spp.* Grzyby te są najczęściej odpowiedzialne za wywoływanie grzybicy skóry, włosów, paznokci oraz wytworów naskórka i skóry właściwej. Zastosowanie metod biologii molekularnej pozwoliło na wyodrębnienie dziewięciu rodzajów dermatofitów w ramach rodziny *Arthrodermataceae*, rzędu *Onygenales*: *Arthroderma spp.*, *Lophophyton spp.*, *Paraphyton spp.*, *Nannizzia spp.*, *Guarromyces spp.* i *Ctenomyces spp.* Następnie Doktorant przedstawił wskaźniki zapadalności na dermatofitozy w różnych regionach świata, z czego najwyższy wskaźnik wynoszący ponad 31% wykazano w krajach Afryki. Zależności te wynikają z wielu różnych czynników natury klimatycznej, ekonomicznej, czy też warunków społeczno-ekonomicznych (np. przeludnienia). Element wysokiego zagęszczenia ludności, podobnie jak ma to miejsce w przypadku nadmiernego zagęszczenia zwierząt gospodarskich w obrębie fermy wpływa stymulująco na występowanie dermatofitoz. I tak, wśród grup społecznych najwyższą zapadalność na dermatofitozy notowano u górników, żołnierzy oraz sportowców - maratończyków. Jak można wnioskować dużą rolę w występowaniu dermatofitoz w tych grupach społecznych ma zawilgocenie odzieży roboczej, czy też sportowej, jak również użytkowanie wspólnych elementów wyposażenia szatni. Następnie Doktorant skupia się bardziej na rodzaju *Trichophyton spp.*, jako najczęstszym czynnikiem zakaźnym powodującym grzybicę. Jako najważniejsze gatunki omawia grzyby z gatunku *T. mentagrophytes complex* i *T. benhamiae complex*, które są najczęstszą przyczyną zaraźliwych grzybic skórnych o charakterze zoonotycznym. Pan lek. wet. Dominik Łagowski zwraca również uwagę na błędy popełniane w diagnostyce grzybic oraz niewłaściwe środki leczenia, szczególnie w przypadku leczenia lekami steroidowymi, które mogą utrudniać prawidłowe rozpoznanie i określenie etiologii grzybic. Błędy w postępowaniu diagnostycznym mogą być spowodowane m.in. przez brak standaryzacji w ścieżce diagnostycznej podczas podejrzenia zakażenia grzybiczego. Ocena dermatofitów jedynie na podstawie cech morfologicznych oraz wysoki stopień ich podobieństwa fenotypowego może powodować problemy w oznaczeniu ich cech różnicujących. Szczególnie dotkliwe w przypadku niewłaściwej diagnostyki zakażeń grzybiczych mogą być niepomysłne efekty leczenia. Do podstawowych metod diagnostyki mykologicznej należą: mikroskopowe badanie próbek skóry, włosów czy też zrogowaciałych

tworów naskórka – paznokci w 10% roztworze zasady potasowej z dodatkiem dimetylosulfotlenku (KOH+DMSO) oraz błękitu laktofenolowego w roztworze kalkofloru białego. To podstawowe badanie pozwala na potwierdzenie grzybiczej etiologii zmian powierzchniowych, ale nie pozwala na identyfikację rodzaju, czy też gatunku drobnoustrojów. W związku z tym konieczne jest przeprowadzenie czaso- i praco-chłonnych badań hodowlanych oraz identyfikacji gatunkowej grzybów na podstawie analizy mikro- i makromorfologicznej. Pomimo, że są to metody „klasyczne” stosowane w diagnostyce mikologicznej, to jednak nie pozwalają one na wiarygodną identyfikację dermatofitów. Bardziej wiarygodnych wyników oznaczania gatunków grzybów dostarczają obecnie metody biologii molekularnej w tym łańcuchowa reakcja polimerazowa (PCR) i analiza sekwencji DNA. Najlepiej poznaną sekwencją dermatofitów są regiony międzygenowe rybosomalnego DNA (ITS rDNA ang. Internal Transcribed Spacer Ribosomal DNA). Sekwencje te charakteryzuje wysoka specyficzność oznaczania gatunków dermatofitów nawet do poziomu gatunku. Natomiast w celu oznaczenia tzw. „kompleksów gatunkowych” konieczne jest wdrożenie dodatkowej analizy markerów molekularnych i testów fenotypowych.

Doktorant zwraca uwagę, na bardzo duże znaczenie zakażeń powodowanych dermatofitami zoofilnymi, w celu szybkiego określenia głównego ogniska grzyba i jego wyeliminowania poprzez działanie terapeutyczne. Jak już wspomniano niektóre dermatozy u zwierząt mogą mieć przebieg subkliniczny, ale ze względu na transmisję (siewstwo) zarazka do otoczenia stanowią zagrożenie dla ludzi, u których może dojść do manifestacji objawów klinicznych i rozwoju klinicznej postaci choroby. Doktorant zwraca uwagę na czynniki patogenności grzybów, do których należą produkowane enzymy oraz hemolizyny. Czynniki te są toksyczne dla komórek układu immunologicznego, w tym limfocytów, makrofagów i neutrofilii, powodując u ludzi i zwierząt immunosupresję i podatność na wtórne zakażenia. W końcowej części wprowadzenia lek. wet. Dominik Łagowski zwraca uwagę na lekooporność grzybów na niektóre leki alliloamoniowe, czy też azolowe. Zjawisko to może mieć związek z szeroką dostępnością tanich i podawanych bez nadzoru weterynaryjnego kombinacji kortykosteroidów oraz leków przeciwgrzybiczych, jako preparatów o działaniu miejscowym (w maściach i kremach). Również przedwczesne zakończenie terapii przeciwgrzybiczej przez pacjentów może prowadzić do tworzenia nowych wariantów fenotypowych dermatofitów na opornych na środki przeciwgrzybicze (antymykotyki). Kwestia oporności grzybów na chemioterapeutyki pozostaje jednak nadal otwarta i konieczne jest prowadzenie dalszych badań. W dalszej części rozprawy Doktorant definiuje cel pracy, którym była kompleksowa

charakterystyka metod diagnostyki dermatofitoz i identyfikacji gatunkowej patogenów wraz z analizą epidemiologiczną oraz ocena stopnia zjadliwości i aktywności przeciwgrzybiczej *in vitro* antymykotyków wobec panelu izolatów klinicznych kompleksów gatunkowych *Trichophyton mentagrophytes* i *T. benhamiae*, zebranych w różnych krajach Europy od zwierząt zakażonych wykazujących i nie wykazujących objawów klinicznych oraz przypadków zoonoz. Dodatkowo Doktorant definiuje aż 8 celów szczegółowych. Dalszą część rozprawy doktorskiej (18 stron) stanowi obszernie i dokładnie przedstawione podsumowanie użytych materiałów (szczepów grzybów wraz z podaniem ich pochodzenia geograficznego, gatunkowego oraz liczby zgromadzonych izolatów), opis składu podłoży hodowlanych, roztworów do badania bezpośredniego materiału klinicznego, buforów stosowanych w analizach molekularnych, enzymów restrykcyjnych, oraz starterów, adapterów molekularnych i wzorców mas cząsteczkowych DNA. Przedstawiono również szczegółowy opis zastosowanych metod analitycznych w tym np.: identyfikację gatunkową grzybów przy pomocy metod hodowlanych, zastosowanie techniki real-time PCR do wykrywania dermatofitów, genotypowanie izolatów klinicznych na podstawie metod MP-PCR, MPS-PCR i AFLP, oznaczanie lekowrażliwości i oporności izolatów na terbinafinę, badanie aktywności enzymatycznej i hemolitycznej izolatów i określania profilu subtylizyn.

Kolejny rozdział rozprawy doktorskiej (5 stron) obejmuje opis uzyskanych wyników, które zostały opublikowane w 7 renomowanych publikacjach z listy Journal of Citation Reports (JCR). W związku z zastosowaną metodą real-time PCR do identyfikacji materiału genetycznego dermatofitów Doktorant stwierdził, iż zastosowanie specyficznych starterów oligonukleotydowych (pan-dermatofitowych) pozwoliło na wykrycie DNA dermatofitów w stadach bydła wykazującego objawy kliniczne dermatofitoz. Z kolei w przypadku zakażeń subklinicznych skuteczność tej metody biologii molekularnej pozwalała na stwierdzenie obecności patogenów grzybiczych w 45% próbek pochodzących ze stad tych zwierząt. W porównaniu do tradycyjnej metody mikroskopii świetlnej i obserwacji obecności artrospor Doktorant stwierdził niższą skuteczność diagnostyczną metody w przypadku zakażeń subklinicznych, ponieważ wykrywalność artrospor wynosiła jedynie 34,17%. Metody hodowlane dermatofitów pozwoliły natomiast na izolację grzybów od 100% zwierząt wykazujących objawy kliniczne dermatofitoz oraz od 22,5% zwierząt zakażonych bezobjawowo. Wysoką rozdzielczością diagnostyczną pozwalającą na określenie przynależności gatunkowej dermatofitów okazała się metoda sekwencjonowania regionu ITS oraz porównanie uzyskanych sekwencji z sekwencjami dostępnymi w bazie danych GenBank.

Analiza zgodności wyników dla zwierząt zakażonych subklinicznie wykazała zgodność na poziomie 75,93%, a w przypadku odpowiednio 50% i 22,5% wyników określonych jako dodatnie metodą real-time PCR udało się wyizolować wykryty dermatofit tradycyjną metodą hodowlaną. Wyniki opublikowano w pracy nr 6 przedstawionej w monograficznym cyklu publikacji.

Niezwykłe interesujące obserwacje Doktoranta dotyczyły izolacji i identyfikacji dwóch gatunków dermatofitów z tej samej zmiany klinicznej. Dzięki podjętym badaniom sklasyfikowano 2 gatunki wchodzące w kompleks dermatofitów tj. *T. verrucosum* i *T. benhamiae*. Tradycyjne metody hodowli dermatofitów pozwoliły na ich rozróżnienie po 3 pasażach, co podkreśla istotę analizy struktury morfologicznej grzybów dermatofitycznych w badaniach klinicznych. Doktorant wykazał, iż warunki hodowli dermatofitów z rodzajów *T. benhamiae* i *T. mentagrophytes* przez 21 dni w temperaturze 37°C były w optymalne do oceny ich cech mikro- i makromorfologicznych. Przedstawione wyniki zaprezentowano w pracach 2,3,6 i 7. Ponadto w pracy nr 3 Doktorant podkreśla użyteczność analizy sekwencji regionu międzygenowego rRNA – ITS, która pozwala na potwierdzenie przynależności gatunkowej dermatofitów badanych uprzednio tradycyjnymi metodami oceny mikro- i makromorfologicznej. Dodatkowo wykazano, że w 3 przypadkach badań dermatofita *T. verrucosum* analiza sekwencji genu CHS (syntazy chitynowej) pozwoliła na potwierdzenie przynależności izolatów do grypy dermatofitów jeszcze przed uzyskaniem wyników hodowli. Pan lek. Wet. Dominik Łagowski wykazał również, że metody badawcze MP-PCR i MSP-fingerprinting nie pozwoliły na rozróżnienie profili elektroforetycznych pochodzących od zwierząt zakażonych i niezakażonych dermatofitami, czy też profilu pochodzącego od człowieka, prawdopodobnie ze względu na zbyt wysokie podobieństwo izolatów *T. verrucosum*. Z kolei po podaniu szczepionki przeciwko *T. verrucosum* cielętom obserwowano spójny charakter uzyskanych elektroforegramów niezależnie pochodzenia zwierząt z różnych gospodarstw. Z kolei analiza metodą AFLP pozwoliła na potwierdzenie wyników uzyskanych metodą MP-PCR. Wykazano wspólny profil elektroforetyczny dla szczepów z przypadków klinicznych dermatofitoz oraz szczepu stosowanego w profilaktyce *T. verrucosum*, który różnił się od szczepu referencyjnego CBS 365.53.

W ocenie lekowrażliwości izolatów *T. mentagrophytes*, zgromadzonych od ludzi oraz przypadków klinicznych i subklinicznych od zwierząt, Doktorant stwierdził, że najniższe wartości wskaźnika MIC₅₀, wynoszące 0,004 µg/ml i MIC₉₀ (0,015 µg/ml) otrzymano w przypadku terbinafiny. Ponadto cztery izolaty wykazały oporność na wspomniany lek.

Gryzeofulwina miała według badań Doktoranta najslabszy efekt hamujący *in vitro* przeciwko namnażaniu się izolatów *T. mentagrophytes*, ponieważ wartości MIC w tym przypadku były najniższe. Dane na wspomniany temat zawarto w publikacji nr 7. Ponadto w puli 67 izolatów *T. verrucosum* stwierdzono najwyższą aktywność cyklopiroksu, podczas gdy dla flukonazolu obserwowano najslabszy efekt przeciwgrzybiczy, co przekładało się na najwyższe wartości MIC₅₀ i MIC₉₀. Najszerszy zakres MIC wykazały terbinafina i worykonazol.

W badaniach dotyczących określenia mechanizmu oporności na terbinafinę Doktorant wykazał, że szczepy odporne na lek pochodziły z przypadku dermatofitoz głowy oraz z 3 próbek pozyskanych od lisów srebrzystych zakażonych bezobjawowo. W przypadku izolatów opornych na terbinafinę wykazano występowanie mutacji, zmieniającej ramkę odczytu w obrębie genu SQLE, która odpowiadała za podstawienie w obrębie aminokwasu Leu393Phe we wspomnianym enzymie. Zaobserwowano, że izolaty wrażliwe na lek posiadały sekwencję genu SQLE typu natywnego „dzikiego” (praca nr 7).

W kolejnym opracowaniu (praca nr 6) Doktorant podjął się oceny aktywności enzymatycznej i hemolitycznej dermatofitów pochodzących z hodowli bydła w Polsce przy zastosowaniu testów fenotypowych. Na podstawie przeprowadzonych badań lek. wet. Dominik Łagowski stwierdził, iż główne różnice w aktywności enzymatycznej szczepów *T. verrucosum* i *T. benhamiae* dotyczyły lipazy, proteazy i ureazy. Szczepy *T. verrucosum* charakteryzowały się powstawaniem podwójnego obszaru hemolizy wokół kolonii, co nie miało miejsca w hodowli *T. benhamiae*, w przypadku których obserwowano słabą i pojedynczą strefę hemolizy. Izolaty dermatofitów pochodzących od bydła z Polski, Litwy, Łotwy i Słowacji, w żadnym z prowadzonych badań nie wykazały aktywności elastazy (praca nr 2). Interesującą obserwacją dla izolatów *T. verrucosum* pochodzących od lam z przypadków odwrotnej zoonozy było wykazanie aktywności keratynazy, fosfolipazy, elastazy i proteazy, natomiast nie stwierdzono aby różnie w aktywności enzymów: keratynazy, fosfolipazy i proteazy pośród analizowanych szczepów miały znaczenie statystyczne.

W przypadku analizy profilów subtylizyn Doktorant wykazał obecność co najmniej 3 genów związanych z wirulencją tych czynników pośród wszystkich 30 badanych izolatów dermatofitów (praca nr 5). Amplikony SUB1 i SUB2 odpowiedzialne na wirulencję *T. verrucosum* zostały zidentyfikowane niezależnie od pochodzenia izolatów. W grupie izolatów pochodzących od człowieka stwierdzono występowanie wszystkich 7 genów subtylizyn w 40% badanego materiału klinicznego. Żaden z pozyskanych izolatów od zwierząt bezobjawowych nie wykazał obecności wszystkich 7 subtylizyn a tylko 30% z nich posiadało 6 genów

związanych z wirulencją. W przypadku jednego izolatu *T. verrucosum* pochodzącego od klinicznie zakażonych zwierząt wykazano obecność aż 7 regionów genowych odpowiedzialnych za wirulencję dermatofitów. Ponadto amplikony genu SUB3 i SUB4 stwierdzono w 100% izolatów pochodzących od człowieka, natomiast w 50 i 55% izolatów pochodzących od zwierząt z dermatofitozami i nosicieli bezobjawowych. Obecność amplikonu SUB5 wykryto pośród wielu badanych izolatów (60%) od zwierząt zakażonych subklinicznie, podczas gdy SUB6 występował w przypadku 80% ludzkich i 55% zwierzęcych izolatów *T. verrucosum*. Analiza statystyczna nie wykazała różnic pomiędzy liczbą genów subtylizyn pośród izolatów pozyskanych od zwierząt bezobjawowych oraz przypadków klinicznych zakażeń od zwierząt. W dyskusji liczącej 10 stron Doktorant porównuje uzyskane wyniki badań z najnowszymi doniesieniami literatury krajowej i zagranicznej. Omawia również mocne strony wyników uzyskanych w toku własnych badań naukowych.

Dysertację wieńczy 10 wniosków, z których w ocenie recenzenta wnioski 1 i 2 mogłyby być połączone. Wydaje się również, zasadne połączenie wniosków 6 i 7 dotyczących lekowrażliwości badanych izolatów *T. verrucosum*.

Uwagi recenzenta

Przedstawiona do oceny Dysertacja Doktorska lek. wet. Dominika Łagowskiego jest niezwykle wartościowym opracowaniem wnoszącym nowe wartości do współczesnej dyscypliny nauk weterynaryjnych w zakresie mykologii oraz nowych metod diagnostyki dermatofitów zwierząt i tych stanowiących zagrożenie zoonotyczne. Pomimo wielkiej staranności Doktorant nie ustrzegł się drobnych pomyłek związanych z redakcją opracowania, które jednak nie mają żadnego wpływu na olbrzymią wartość prezentowanej dysertacji.

Szczegółowe uwagi.

- 1) (Strona 3 Autoreferatu) Sugeruję, aby w przyszłości stosować raczej w pełni zgodne nazewnictwo metody real-time PCR (PCR w czasie rzeczywistym a nie qPCR). Metoda real-time PCR ma charakter półilościowy (na podstawie oceny krzywej odcięcia cyklu reakcji – ang. cycle threshold – Ct), natomiast nazewnictwo metody jako qPCR (quantitative-PCR) sugeruje że mamy do czynienia z metodą ilościową (z wykorzystaniem odpowiednich wzorców liczby kopii amplikonu). Z resztą Doktorant

stosuje właściwy opis techniki przy okazji opisu użytych metod badawczych na stronie 27.

- 2) (Strona 4,8,11) „...rodzaju powodowanej infekcji.” Proponowałbym stosowanie terminu polskiego – „zakażenia” ale rozumiem powszechne stosowanie angielskiego zapożyczenia „infection”.
- 3) (Strona 11) „patogeneza infekcji” – proponowałbym termin „patogeneza zakażeń”.
- 4) (Strona 5) „...mutacje zmiany sensu w genie epoksydazy....” sugerowałbym „mutacje wpływające na zmianę aminokwasów”, zmiana sensu wymusza zmianę kodonów (sekwencji 3 nukleotydów), które z kolei kodują konkretne aminokwasy.
- 5) (Strona 13 – Cel badań, następnie Materiały i Metody strona 32 i Dyskusja – strona 44) termin „multipleksowy PCR” jest „spolszczeniem” oryginalnego terminu stosowanego w literaturze, sugeruję zastąpić terminem „multiplex-PCR”.
- 6) Strona 26 – Materiały i metody. Sugeruję zmianę terminu: „ekstrahowano” na „izolowano”. Chodzi bowiem o izolację genomowego DNA.
- 7) Warty element byłoby wzbogacenie Rozprawy doktorskiej o wykaz dostępnych skrótów, ponieważ w opracowaniu nie znalazłem rozwinięcia terminów MP-PCR, MSP-PCR czy też AFLP (strona m.in. 27,28).
- 8) (Strona 39 – Dyskusja) Stwierdzenie „...wynik ten był znacznie lepszy” – sugerowałbym zastąpienie stwierdzenia: „uzyskane wyniki były dużo bardziej zadowolające/wymierne”
- 9) Niewielkie zastrzeżenia budzi stosowanie formy osobowej w dziale „Dyskusja”. Np. na stronie 38 i kolejnych stronach działu. Sugerowałbym wprowadzenie formy bezosobowej (biernej) w opracowaniach naukowych tj. np.: „zastosowano, uzyskano, udowodniono”.

Wniosek końcowy

Pan lek. Wet. Dominik Maksymilian Łagowski w pełni zrealizował nakreślone w celach rozprawy doktorskiej zadania badawcze i uzyskał wyniki, które stanowią oryginalny wkład Autora w rozwój wiedzy dotyczącej mykologii weterynaryjnej.

Recenzowana dysertacja spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim w świetle przepisów ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789). Przedkładam zatem Radzie Naukowej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie wniosek o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie Doktoranta do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Zwracam się również z prośbą do Wysokiej Rady Wydziału Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie z wnioskiem o nadgrozienie tak wybitnej rozprawy doktorskiej stosowną dla Wydziału i Uniwersytetu nagrodą.

Prof. dr hab. Grzegorz Woźniakowski

Grzegorz Woźniakowski