

Olsztyn, 2.11.2022 r.

prof. dr hab. Aleksandra Platt-Samoraj
Katedra Epizootiologii
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski
w Olsztynie

OCENA

rozprawy doktorskiej **lek. wet. Alicji Wójcik**

pt. „**Badania nad wybranymi aspektami epidemiologii parwowirusy psów**”

wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. Stanisława Winiarczyka, w Katedrze Epizootiologii
i Kliniki Chorób Zakaźnych

Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie.

Podstawę formalną recenzji stanowi uchwała Rady Dyscypliny Weterynaria
Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie z dnia 28 września 2022 r.

Parwowiroza, choroba psów charakteryzująca się wysokim wskaźnikiem śmiertelności, uważana jest za najcięższą z występujących w Polsce chorób zakaźnych szczeniąt. Jej czynnik etiologiczny, psi parwowirus (Canine parvovirus, CPV-2), cechuje się wysoką zjadliwością i jest niezwykle odporny na czynniki środowiska zewnętrznego oraz wiele środków dezynfekcyjnych. Przez wiele lat uważano parwowirozę za chorobę dotykającą głównie nie poddanych szczepieniu szczeniąt. Wysoka immunogenność wirusa dawała możliwość wyprodukowania preparatów skutecznie zabezpieczających przed chorobą. Rozpowszechniony niemal na całym świecie CPV-2 podlegał zmianom ewolucyjnym toczącym się niezależnym od siebie w różnych częściach świata. Pojawiły się dwa warianty antygenowe CPV-2a i CPV-2b, nieznacznie różniące się od pierwowzoru, który całkowicie został przez nie ze środowiska wyparty. Dzięki reakcjom krzyżowym szczepionki oparte na pierwotnym CPV-2 przez dziesięciolecia były skuteczne. Ten trwający przez szereg lat porządek zaburzyło m.in. zjawisko tasowanie się wariantów antygenowych w różnych częściach świata oraz pojawienie się kolejnego wariantu antygenowego CPV-2c. Wzrastająca liczba przypadków parwowirusy u psów poddanych szczepieniom oraz u psów dorosłych rodzi szereg pytań. Skłania to do poszukiwań nowych metod postępowania przeciwepizootycznego, pasujących do zmienionych okoliczności. Dlatego też podjęcie przez lek. wet. Alicję Wójcik badań epidemiologicznych dotyczących parwowirusy psów uważam za w pełni uzasadnione.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska stanowi spójny tematycznie zbiór czterech publikacji poprzedzony opracowaniem przeprowadzonych badań.

Opracowanie to liczy 37 stron i składa się z 16 rozdziałów, takich jak Streszczenie, Autoreferat, Wstęp wraz z omówieniem celów i zakresu prac, Materiały, Metody, Wykaz publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej, Parwowiroza psów – problem wciąż aktualny, Zróżnicowanie genetyczne psich parwowirusów krążących w populacji dorosłych psów na terenie wschodniej Polski, Monitoring serologiczny w kierunku parwowirozy w populacji dorosłych psów we wschodniej Polsce, Badania nad czynnikami mającymi wpływ na przebieg parwowirozy u psów, Podsumowanie, Wnioski, Piśmiennictwo, Publikacje wchodzące w skład rozprawy doktorskiej oraz Oświadczenia współautorów określające indywidualny wkład każdego z nich w powstawanie pracy. Wymienione rozdziały poprzedzone zostały oświadczeniami promotora i Autorki. Konstrukcja pracy jest zgodna z wytycznymi ujętymi w odpowiednich przepisach prawnych.

W rozdziale „Wstęp wraz z omówieniem celów i zakresu prac”, poprzedzonym streszczeniami w językach polskim i angielskim, w kilku zdaniach przedstawiona została etiologia parwowirozy oraz przypuszczalny wpływ obecności nowych wariantów antygenowych CPV na zmiany obrazu epidemiologicznego parwowirozy. W szczególności Doktorantka zwróciła uwagę na wzrost liczby przypadków choroby o przebiegu ostrym i nadoстрыm u dorosłych psów, które poddawane były szczepieniom według obecnie obowiązujących schematów. Jako cel badań Doktorantka przyjęła analizę danych epidemiologicznych dotyczących parwowirozy psów obejmującą analizę obrazu klinicznego, w tym ocenę związku pomiędzy przebiegiem choroby, a szczepem wirusa wywołującego zakażenie, efektem cytopatycznym w hodowli komórkowej oraz wiekiem i historią szczepień chorych psów, charakterystykę molekularną genu VP2 szczepów CPV pochodzących z klinicznych przypadków, a także określenie poziomu odporności humoralnej przeciwko CPV w populacji dorosłych psów ze wschodniej Polski o zróżnicowanej historii immunoprofilaktyki. Cele zostały prawidłowo zredagowane.

W rozdziale „Materiały” przedstawione zostały zasady kwalifikacji do badań psów z objawami parwowirozy. Poza zwierzętami materiał badawczy stanowiły krew od psów z województwa Lubelskiego oraz próbki kału od psów z objawami klinicznymi parwowirozy.

W rozdziale „Metody” opisane zostały zastosowane w realizacji pracy metody badawcze, takie jak badanie przedmiotowe i podmiotowe psów podejrzanych o parwowirozę, badania molekularne takie jak PCR, sekwencjonowanie, analiza filogenetyczna a także badania wirusologiczne (hodowla wirusa na liniach komórkowych) i serologiczne na obecność przeciwciał anti-CPV z zastosowaniem metody immunochromatograficznej. Dobór metod badawczych zasługuje na wysoką ocenę.

W rozdziale „Wykaz publikacji stanowiących rozprawę doktorską” zostały wymienione tytuły i dane bibliograficzne artykułów wchodzących w skład rozprawy doktorskiej. Pierwszy jest artykułem przeglądowym opublikowanym w języku polskim, pozostałe trzy to artykuły oryginalne, opublikowane w języku angielskim. Wszystkie prace zostały opublikowane w Medycynie Weterynaryjnej w latach 2019 – 2021. Uzyskany sumaryczny IF wynosi 1,532.

Rozprawę doktorską stanowią następujące publikacje:

1. Wójcik A., Ziętek J., Winiarczyk S.: Parwowiroza psów – problem wciąż aktualny. *Medycyna Weterynaryjna* 2019, 75 (8), 472-479 (IF=0,383)
2. Wójcik A., Ziętek J., Staniec M., Winiarczyk S.: Genetic variability among canine parvovirus strains currently circulating in Poland. *Medycyna Weterynaryjna* 2021, 77 (5), 232-237 (IF=0,383)
3. Wójcik A., Ziętek J., Staniec M., Janecki R., Adaszek Ł., Winiarczyk S.: Serological testing for antibodies against canine parvovirus in population of adult dogs in eastern Poland. *Medycyna Weterynaryjna* 2021, 77 (6), 300-303 (IF=0,383)
4. Wójcik A., Winiarczyk S., Adaszek Ł.: Research on factors that influence the course of canine parvovirus. *Medycyna Weterynaryjna* 2021, 77 (7), 325-330 (IF=0,383)

We wszystkich pracach lek. wet. Alicja Wójcik jest pierwszym autorem i Jej udział w powstawaniu publikacji jest dominujący.

Kolejne cztery rozdziały opracowania, stanowią omówienie artykułów wchodzących w skład pracy doktorskiej. Wszystkie wymienione prace zostały opublikowane w recenzowanym czasopiśmie, zatem ocenie może być poddana jedynie forma ich przedstawienia w opracowaniu.

W rozdziale pt. „Podsumowanie” Doktorantka zawarła 9 następujących wniosków płynących z wyników przeprowadzonych doświadczeń:

1. Izolaty parwowirusa zidentyfikowane w badaniach własnych spokrewnione są z parwowirusami szeroko rozpowszechnionymi w świecie.
2. Częstotliwość występowania poszczególnych genotypów jest zmienna i zróżnicowana w różnych regionach geograficznych.
3. Badania seroepidemiologiczne potwierdzają powszechne kontakty z psim parwowirusem stale bytującym w środowisku. U wszystkich osobników w badanej populacji psów stwierdzono występowanie przeciwciał antyparwowirusowych niezależnie od tego czy były regularnie szczepione, przeszły jedynie cykl szczepień wieku szczenięcego lub w ogóle nie były szczepione.

4. Najwyższy odsetek zwierząt (86%) z wysokimi mianami przeciwciał przeciwko parwowirowi występuje wśród psów szczepionych zgodnie z zaleceniami WSAVA.
5. Analiza filogenetyczna wykazała dominację szczepów CPV-2a i CPV-2b, psy szczepione w większości przypadków (14/15) uległy zakażeniu CPV-2b, tylko u jednego stwierdzono CPV-2a. Od psów nieszczepionych wyizolowano w 23 przypadkach szczep CPV-2b, a w 7 przypadkach CPV-2a.
6. W grupie psów szczepionych i zakażonych wariantem CPV-2b notowano relatywnie wysoką śmiertelność na poziomie 21,4% (3/14), natomiast wśród psów nieszczepionych, od których także wyizolowano szczep CPV-2b śmiertelność wynosiła 34,7 %.
7. Istnieje dodatnia korelacja pomiędzy czasem powrotu do zdrowia chorych zwierząt a wcześniejszymi szczepieniami przeciwko CPV.
8. Na przebieg choroby ma wpływ szczep wirusa powodującego infekcję.
9. Czas i dynamika wystąpienia efektu cytotatycznego są niezależne od szczepu wirusa, którym zakażono hodowle komórkowe linii CCC clone 81, wieku zwierząt, od których wyizolowano CPV oraz ich historii szczepień.

Nie w pełni zgadzam się z wnioskiem 5, ponieważ przedstawione wyniki wskazują na wyraźną dominację CPV-2b, a nie jak napisała doktorantka, na dominację CPV-2a i 2b.

We wniosku 8 warto było dodać, że wariant CPV-2a powodował dłuższy i cięższy przebieg choroby.

Niejasny jest natomiast cel istnienia rozdziału „Wnioski”, który właściwie zawiera przypuszczenia. Uważam, że można było pominąć ten rozdział lub zatytułować go „Podsumowanie”, natomiast poprzedni, o tytule „Podsumowanie”, w którym wnioski wymieniono, mógłby nosić tytuł „Wnioski”.

Niejasne jest również istnienie oddzielnego rozdziału „Piśmiennictwo”, ponieważ na końcu poszczególnych rozdziałów opisujących publikacje (poza pierwszym) również umieszczono spis literatury nazwany „Piśmiennictwo”.

Na końcu pracy zostały załączone kopie publikacji i oświadczenia autorów potwierdzające wiodący udział w ich powstaniu lek. wet. Alicji Wójcik.

W opracowaniu przedstawionym do recenzji wkradło się kilka nieścisłości, błędów i niefortunnych sformułowań, które jako recenzent, zobowiązana jest przedstawić w formie uwag krytycznych

Rozdział „Wstęp wraz z omówieniem celów i zakresu prac”

- W rozdziale tym Doktorantka napisała, że CPV jest „... jednym z wirusowych patogenów o wyjątkowo wysokiej chorobowości i śmiertelności”. Chorobowość i śmiertelność, to cechy odnoszące się do choroby, nie do wirusa.
- W dalszej części tego rozdziału znajduje się informacja, że „...przyczyną braku skuteczności szczepień może być nowy wariant psiego parwowirusa (...) niewykazujący odporności krzyżowej ze szczepami obecnymi w szczepionkach”. Wirusy nie mogą wykazywać żadnej odporności. Mogą natomiast wywoływać odporność u gospodarza.

Cel i zakres prac

- Jako pierwszy cel pracy Autorka wymienia „Analizę obrazu klinicznego psów ...” Obraz kliniczny dotyczy choroby, nie psa. Lepiej napisać o obrazie klinicznym parwowirusy u psów.

Rozdział „Metody”

- Jako punkt piąty wymieniono „Badanie serologiczne surowic psów”. Badanie serologiczne zawsze dotyczy surowic.
- W tymże rozdziale, w podpunkcie pt. „Badania wirusologiczne” Autorka pisze o tzw. „łysinkach w monolayerze”. W pracy doktorskiej lepiej unikać żargonu laboratoryjnego i użyć określenia „jednowarstwowa hodowla komórek”, zamiast „monolayer”.

Rozdział opisującym pierwszą publikację pt. „Parwowirusa psów – problem wciąż aktualny”

- Trochę razi pierwszy akapit, który jest dokładnym powtórzeniem rozdziału „Wstęp wraz z omówieniem celów i zakresu prac”.
- W tym samym rozdziale Autorka pisze o „wirusie CPV.” Wystarczy użyć jedynie skrótu CPV, ponieważ zawiera już w sobie słowo wirus.
- Na końcu tego rozdziału można było konsekwentnie, tak jak po pozostałych rozdziałach opisujących artykuły, umieścić spis piśmiennictwa.

Rozdział „Zróznicowanie genetyczne psich parwowirusów krążących w populacji psów na terenie wschodniej Polski”

- Na końcu rozdziału warto było umieścić konkluzje wynikające z własnych badań, zamiast opisu wyników cytowanych autorów.

Rozdział „Monitoring serologiczny w kierunku parwowirusy w populacji dorosłych psów we wschodniej Polsce”.

- Ostrożnie podeszłabym do twierdzenia Autorki, że „po naturalnym zakażeniu psy zwykle nabywają odporność na całe życie” dopóki badania naukowe tego nie potwierdzą, ewentualnie powołać się na odpowiednie źródła.

Przedstawione uwagi krytyczne, w większości redakcyjno-językowe, mają charakter dyskusyjny i porządkowy, nie umniejszają w znaczący sposób wartości recenzowanej rozprawy doktorskiej. Nie mają też wpływu na jej pozytywną ocenę.

Temat podjęty w pracy doktorskiej jest istotny i aktualny. Opublikowane artykuły wchodzące w skład pracy stanowią cenne pozycje w literaturze weterynaryjnej. Wyniki zostały prawidłowo przedstawione i zinterpretowane.

Reasumując, należy stwierdzić, że wykonane przez lek. wet. Alicję Wójcik badania dostarczyły ciekawych i wartościowych wyników poznawczych oraz aplikacyjnych, zasługujących na pozytywną ocenę. Treść artykułów może stanowić cenne źródło informacji przydatne również dla klinicystów. Niewątpliwie, jednym z cenniejszych efektów pracy jest rozszerzenie wiedzy na temat aktualnej sytuacji epizootycznej parwowirusy psów w Polsce. Stwierdzam, że rozprawa doktorska lek. wet. Alicji Wójcik pt. **„Badania nad wybranymi aspektami epidemiologii parwowirusy psów”** odpowiada warunkom 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. 176 ust. 3 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. z późn. zm. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 30 sierpnia 2018 r. poz. 1669).

W związku z powyższym, przedkładam Wysokiej Radzie Dyscypliny Weterynaria Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie wniosek o dopuszczenie lek. wet. Alicji Wójcik do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Olsztyn, 2 listopada 2022 r.



prof. dr hab. Aleksandra Platt-Samoraj