

Olsztyn, 18.08.2023 r.

Dr hab. Anna Szczerba-Turek, prof. uczelni
Katedra Epizootiologii
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

RECENZJA

rozprawy doktorskiej

Pana lek. wet. Bolesława Gąsiorka

pt.: „Podstawy immunologicznego postępowania u nerek zakażonych wirusem choroby aleuckiej (AMDV) w celu zminimalizowania strat hodowlanych”,

wykonanej pod kierunkiem promotora – dr hab. Andrzeja Jakubczaka, prof. uczelni
i promotora pomocniczego – dr n. wet. Andrzeja Żmudy,
w Katedrze Epizootiologii i Klinice Chorób Zakaźnych,
Wydziału Medycyny Weterynaryjnej,
Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie.

Podstawa formalna

Podstawę formalną opracowania recenzji stanowi uchwała Rady Dyscypliny Weterynarii Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie z dnia 29 czerwca 2023 r.

Oryginalność, aktualność i przydatność podjętego problemu naukowego

Doktorant podjął się badań mających na celu poszukiwanie i dobór parametrów, które mogą zostać wykorzystane w selekcji immunologicznej nerek hodowlanych (*Neovision vsion*) z przewlekłą i nieuleczalną chorobą aleucką, która jest przyczyną dużych strat w nowoczesnych hodowlach nerek. Czynnikiem etiologicznym choroby aleuckiej, jest wirus choroby aleuckiej z ang. *Aleutian mink disease virus* (AMDV), który należy do rodziny

Parvoviridae, podrodziny *Parvovirinae*, rodzaju *Amdoparvovirus* i gatunku *Carnivore ambdoparvovirus* 1. Zakażenia AMDV przebiegają z reguły bezobjawowo ale powodują duże straty, które są następstwem między innymi zaburzeń w rozrodzie – częste ronienia, niska plenność, wysoka śmiertelność osesków, jak również zmian w okrywie włosowej czy zmniejszonych przyrostów masy ciała. Pomimo licznych prób nie została opracowana swoista terapia oraz immunoprofilaktyka choroby aleuckiej, dlatego na fermach, w których występuje choroba stosuje się dwa rodzaje postępowania epizootycznego. Pierwszy rodzaj to likwidacja stada, eliminacja wirusa w środowisku bytowania nerek i po upływie okresu kontumacyjnego wprowadzenie zwierząt wolnych od AMDV. Ten rodzaj postępowania wiąże się wysokimi kosztami związanymi między innymi z odbudową stada podstawowego. Drugi rodzaj postępowania epizootycznego to selekcja nerek pod względem statusu immunologicznego, w celu zwiększenia odporności na zakażenia AMDV, to postępowanie wymaga jeszcze długich obserwacji klinicznych i wielu badań. Zatem jedną z metod postępowania w chorobie aleuckiej w fermach zapowietrzonych jest wczesna i swoista diagnostyka oraz eliminacja zakażonych nerek i stała kontrola nowo zakupionych zwierząt. Biorąc pod uwagę aktualność i niszowy charakter problemu, podjęte przez Doktoranta badania uważam za bardzo ważne i w pełni uzasadnione.

Ocena formalna

Recenzowana rozprawa doktorska obejmuje: spis treści, streszczenie i słowa kluczowe w języku polskim, streszczenie i słowa kluczowe w języku angielskim, wstęp, problem badawczy/hipoteza i cel badań, materiał i metody, omówienie wyników badań i dyskusje, stwierdzenia i wnioski oraz bibliografie. Praca liczy 140 stron i zawiera 169 pozycji literaturowych. W ocenie formalnej praca spełnia kryteria stawiane rozprawom doktorskim.

Ocena merytoryczna

Rozdziały „Streszczenie i słowa kluczowe w języku polskim” i „Streszczenie i słowa kluczowe w języku angielskim” zawierają skrócone wersje rozprawy doktorskiej w językach polskim i angielskim. Jako recenzent zauważam, że w słowach kluczowych w języku polskim zamiast „choroba aleucka nerek” powinno być „wirus choroby aleuckiej nerek”.

Rozdział „Wstęp” to bardzo wnikliwe opracowanie, które liczy 26 stron i obejmuje osiem podrozdziałów, a w jego tekście cytowane są najistotniejsze pozycje piśmiennictwa światowego. Doktorant omówił w nim dokładną charakterystykę czynnika etiologicznego łącznie z charakterystyką genomu AMDV. Zapoznał czytelnika ze źródłami i drogami przenoszenia wirusa i omówił wybrane czynniki genetyczne warunkujące odporność na rozwój zakażeń. Kolejne trzy podrozdziały „Wstępu” to zapoznanie czytelnika z immunoprofilaktyką swoistą, odpowiedzią humoralną i komórkową. Ostatni podrozdział „Wstępu” to metody diagnostyczne wykorzystywane do diagnostyki i prowadzenia selekcji zwierząt, w tym rozdziale Doktorant skrupulatnie i szczegółowo opisuje metody serologiczne, cytometryczne i molekularne. Jako recenzent muszę zwrócić uwagę na drobne błędy redakcyjno - korektorskie, które pojawiły się w tej części rozprawy doktorskiej:

- Str. 10 zdanie: „Ponadto, silna supresja układu immunologicznego wywołana trwałą infekcją AMDV zwiększa podatność nerek na wtórne infekcje bakteryjne wywołane przez *Pasteurella sp.*, *Salmonella sp.* lub *Streptococcus sp.*” uważam, że Doktorant miał na myśli gatunki bakterii z danego rodzaju, a zatem chodziło mu o skrót „*spp.*”, od łacińskiego słowa „*species*”.
- Uwaga odnośnie stosowania skrótów w całej pracy: raz wprowadzony skrót np. choroba aleucka AD (z ang. - Aleutian Disease) – str. 10, w dalszej części pracy używamy tego skrótu, to samo dotyczy skrótu dla wirusa choroby aleuckiej AMDV (z ang. – *Aleutian Mink Disease Virus*), skrót wprowadzony na stronie 10, a na stronie 11 wirus AMD – należy ujednolicić nazewnictwo w całej rozprawie doktorskiej, z naciskiem ze strony recenzenta na używanie skrótu „AMDV”.
- Str. 11 nazwy własne anglojęzyczne, parwowirusów zwierząt mięsożernych, należy wpisać kursywą.
- W podrozdziale „Charakterystyka genomu AMDV” str. 12 należy ujednolicić nazewnictwo dla par zasad, albo „pary zasad (pz)” lub „bp z ang. *base pair*”, po polsku „pary zasad (pz)”, ten wybór zostawiam Doktorantowi.
- Str. 17-18 nazwy genów zazwyczaj piszemy kursywą i zabrakło mi pełnych nazw dla genów np. gen *WDR7* (z ang. *WD repeat domain 7*), czy nazw hodowli komórkowych str. 21, czy pełnych nazw receptorów np. str. 23 „receptorami BCR (z ang. B-cell receptor). Zalecam dodać rozdział „Zastosowane skróty” po streszczeniach w języku polskim i angielskim.

- Ostatnia uwaga odnosząca się do „Wstępu” należy ujednolicić dane wyrażone w procentach: albo kropka albo przecinek w całej rozprawie doktorskiej, np. str. 29, 30 czy 33.

Następnie Doktorant przedstawia „Problem badawczy/hipotezę i cel badań”, w samej rozprawie doktorskiej ten rozdział posiada inną nazwę (str. 36) i należałoby to ujednolicić. Ponadto cel pracy został prawidłowo zredagowany.

Wybór metod i technik badawczych, jak również sposób ich zastosowania jest odpowiedni do tego typu badań i uzyskania wiarygodnych wyników. Rozdział „Materiał i metody” został opisany prawidłowo i na badania uzyskano zgodę właściwej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach przy Uniwersytecie Przyrodniczym w Lublinie. Z obowiązku recenzenta, przed przygotowaniem pracy do publikacji, Doktorant powinien zwrócić uwagę na drobne błędy redakcyjno - korektorskie:

- Ujednolicić stosowane skróty dla wyrazów „minuta” i „sekunda”.
- W podrozdziale „Diagnostyka molekularna AMDV” oprócz oceny jakościowej (str. 41) należałoby wykonać również ocenę ilościową, co oczywiście sugeruję pod kątem późniejszych publikacji.
- Jaka jest ilość DNA, podana w ng/ μ l (w tekście są 3 μ l DNA) na jedną amplifikację w łańcuchowej reakcji polimerazy (str. 42) ?. Jeżeli chodzi o skrót PCR (z ang. *Polymerase Chain Reaction*), czyli łańcuchowa reakcja polimerazy, to już w nazwie mamy reakcję, czyli przed skrótem PCR nie musimy używać określenia „reakcja”, należy to ujednolicić w całym manuskrypcie.
- W Tabeli nr 2 ilość matrycy powinna być podana w ng.

Podsumowując rozdział „Materiał i metody” dobór metod badawczych i ilość wykonanych metod zasługują na wysoką ocenę.

Rozdział „Omówienie wyników badań i dyskusja” posiada strukturę nie do końca korelującą z opisywanymi w poprzednim rozdziale metodami, ale jest czytelny. Uzyskane wyniki są przedstawione na 70 stronach, zawierają 44 Ryciny i 6 Tabel. Z obowiązku recenzenta zmuszona jestem zauważyć kilka uchybień redakcyjno - korektorskich, które nie umniejszają jakości rozprawy doktorskiej:

- Nie mogę znaleźć w rozprawie Ryciny nr 2.

- Rycina 41 przedstawiająca „Wartości całkowitej liczby neutrofilii segmentowanych we krwi obwodowej nerek grupy I, II, III oraz grupy IV” i Rycina 42 przedstawiająca „Wartości całkowitej liczby limfocytów we krwi obwodowej nerek grupy I, II, III oraz grupy IV” nie posiadają opisu, co przy obróbce tak dużej ilości wyników mogło umknąć Doktorantowi i wymaga uzupełnienia.
- W podrozdziale „Równania regresji wielokrotnej” umieszczono 36 Tabel przedstawiających: równania regresji wielokrotnej dla czynników biochemicznych dla wybranych zmiennych zależnych (12 Tabel), równania regresji wielokrotnej dla czynników cytometrycznych dla wybranych zmiennych zależnych (12 Tabel), równania regresji wielokrotnej dla czynników morfologicznych dla wybranych zmiennych (2 Tabele), równania regresji wielokrotnej dla czynników cytometrycznych dla zmiennej zależnej liczby kopii dla metody maksymalizacji współczynnika R^2 (1 Tabela) i 9 Tabel przedstawiających optymalny model regresji wielokrotnej czynników morfologicznych dla wybranych zmiennych w metodach eliminacji wstecznej, w metodzie postępującej i w metodzie krokowej. Należałoby umieścić te Tabele z podpisami w rozprawie.
- Podrozdział „Dyskusja” znajdujący się w rozdziale „Omówienie wyników badań i dyskusja” powinien zostać wyłączony z tego rozdziału i powinien stanowić oddzielny rozdział. Sama „Dyskusja” liczy 9 stron i przedstawia obraz odpowiedzi układu immunologicznego u nerek amerykańskich w różnych stadiach rozwoju choroby aleuckiej, stanowi bardzo cenne źródło informacji i wiedzy odnośnie przebiegu choroby w stadzie zarówno dla lekarzy jak i hodowców, co jest bardzo dużym atutem tej rozprawy doktorskiej, ze względu na nieliczne piśmiennictwo z tego zakresu. Pomimo dużej trudności badanych zagadnień ta część dyskusji jest przejrzysta i czyta się ją z zainteresowaniem. Jako recenzent sugerowałabym jednak rozwinięcie rozdziału „Dyskusja”, kosztem rozdziału „Omówienie wyników badań”, i włączenie np. omówienia, które znajduje się pod podrozdziałem „Filogeneza molekularna wariantów wirusowych” (str. 52-53), które bardzo ładnie wkomponowałyby się w „Dyskusję” i umożliwiłyby polemikę z najnowszym piśmiennictwem odnośnie wariantów AMDV występujących czy to na terenie Europy, Chin czy Kanady.
- W „rozdziale „Dyskusja” jeszcze mocniej należałoby podkreślić, że Doktorantowi udało się określić w teście ELISA wysokość mian swoistych przeciwciał, które mogą stanowić podstawę do eliminacji z hodowli nerek zakażonych bezobjawowo AMDV,

co może znaleźć praktyczne zastosowanie wśród hodowców i lekarzy opiekujących się stadami nerek amerykańskich. Zwracam uwagę, że w rozdziale „Dyskusja” nazwę bakterii „*Escherichia coli*” (str. 121) należy napisać kursywą.

Na uwagę zasługuje bardzo duża ilość wyników jakie Doktorant uzyskał podczas realizacji rozprawy doktorskiej.

Przeprowadzone badania pozwoliły Doktorantowi na wyciągnięcie 8 szczegółowych stwierdzeń i wniosków, które zostały dobrze sformułowane i mają pokrycie w uzyskanych wynikach.

Opracowanie kończy się rozdziałem „Bibliografia”, w którym znajduje się 169 pozycji dobrze dobranej literatury, rozdział ten wymaga jedynie ujednolicenia tzn. nazwę czasopisma wpisujemy albo jako pełną nazwę albo skrót, rok wpisujemy albo po nazwiskach autorów albo po tytule czasopisma, są to tylko drobne korekty, które powinny zostać poprawione podczas przygotowania pracy do publikacji.

Powyższe uwagi mają głównie charakter redakcyjny i nie podważają wartości merytorycznej rozprawy doktorskiej.

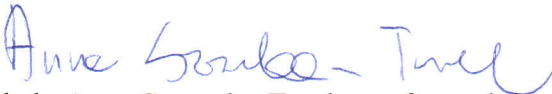
Na koniec oceny merytorycznej chciałabym serdecznie pogratulować Doktorantowi - lek. wet. Bolesławowi Gąsiorowi i jego promotorowi dr hab. Andrzejowi Jakubczakowi, prof. uczelni i promotorowi pomocniczemu dr n. wet. Andrzejowi Żmudzie za podjęcie się tego trudnego i niszowego tematu, który jest jednak bardzo istotny ze względu na straty gospodarcze i ekonomiczne, jakie AMDV powoduje w hodowlach nerek, a uzyskane w badaniach wyniki są bardzo cenne i dostarczają nowych istotnych informacji o przebiegu choroby i odpowiedzi układu immunologicznego na zakażenia AMDV.

Podsumowanie i wniosek końcowy

Podsumowując, przedstawione do oceny opracowanie oceniam bardzo pozytywnie, uzyskane wyniki są cenne i mogą znaleźć zastosowanie w gospodarce. Zastosowana metodyka odpowiada standardom obowiązującym w tego typu oznaczeniach i nie budzi zastrzeżeń. Doktorant wykazał dobre opanowanie warsztatu badawczego i dużą sprawność w prowadzeniu badań oraz interpretacji wyników, które stanowią istotny i oryginalny wkład do dotychczasowej wiedzy na temat odpowiedzi immunologicznej nerek zakażonych AMDV czy nowych wariantów wirusa istotnych w dochodzeniu epidemicznym.

Reasumując stwierdzam, że praca doktorska **Pana lek. wet. Bolesława Gąsiorka pt.: „Podstawy immunologicznego postępowania u nerek zakażonych wirusem choroby aleuckiej (AMDV) w celu zminimalizowania strat hodowlanych”**, wykonana pod kierunkiem promotora – dr hab. Andrzeja Jakubczaka, prof. uczelni i promotora pomocniczego – dr n. wet. Andrzeja Żmudy, w Katedrze Epizootiologii i Klinice Chorób Zakaźnych, Wydziału Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, odpowiada ustawowym wymogom stawianym rozprawom doktorskim – Ustawa z dnia 14.03.2003 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. 1 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. z późn. zm. i przepisami wprowadzającymi ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 30 sierpnia 2018 r. poz. 1669).

Przedkładam zatem Wysokiej Radzie Dyscypliny Weterynaria Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie wniosek o dopuszczenie Pana lek. wet. Bolesława Gąsiorka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.


Dr hab. Anna Szczerba-Turek, prof. uczelni