

Olsztyn, 27.10.2015 r.

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

OCENA

rozprawy doktorskiej **lek. wet. Eweliny Czyżewskiej-Dors** pt. „**Epidemiologia zakażeń układu oddechowego świń oraz przydatność profili serologicznych w ich diagnostyce i zwalczaniu**”

wykonanej pod kierunkiem Pana prof. dr hab. h.c. Zygmunta Pejsaka
w Zakładzie Chorób Świń Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego

Podstawę formalną recenzji stanowi pismo Przewodniczącego Komisji Doktorskiej Rady Naukowej Państwowego Instytutu Weterynaryjnego - Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach prof. dr hab. Dariusza Bednarka z dnia 29. 09. 2015 r. powołujące się na uchwałę Rady Naukowej Państwowego Instytutu Weterynaryjnego - Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach z dnia 18. 09. 2013 r.

W hodowli wielkostadnej różnych gatunków zwierząt istotny problem epizootyczny stanowią syndromy chorobowe. Jedną z podstawowych gałęzi polskiego rolnictwa jest hodowla trzody chlewnej. Wzrost pogłowia świń, intensyfikacja hodowli i związane z nią duże zagęszczenie oraz częste przemieszczanie zwierząt sprzyjają rozprzestrzenianiu zakażeń wirusowych i bakteryjnych. Za główną przyczynę strat ekonomicznych producentów świń na całym świecie obecnie uważane są choroby układu oddechowego. Jedną z najważniejszych z ekonomicznego punktu widzenia chorób jest zespół zaburzeń oddechowych świń (PRDC). Według dostępnych danych syndrom ten jest główną przyczyną upadków prosiąt odsadzonych, warchlaków i tuczników. Wieloczynnikowa etiologia schorzenia wiąże się z różnorodnością jej przebiegu kształtowanego zarówno przez drobnoustroje, jak i czynniki środowiskowe zmuszając do indywidualnego postępowania w zależności od sytuacji panującej w danej fermie.

Wprawdzie niektóre z patogenów odpowiedzialnych za PRDC mogą samodzielnie wywoływać choroby, lecz najczęściej syndrom ten jest spowodowany interakcją lub działaniem synergistycznym zarówno wirusowych, jak i bakteryjnych czynników chorobotwórczych. Nasilenie choroby może być w dużym stopniu modyfikowane przez określone warunki środowiskowe lub systemy zarządzania daną fermą. Część drobnoustrojów powodujących zakażenia układu oddechowego u świń dodatkowo wykazuje działanie immunosupresyjne sprzyjające występowaniu zakażeń wtórnych oraz ma wpływ na pogorszenie wyników leczenia i immunoprofilaktyki. W związku z tym, mimo dostępności różnych szczepionek i chemioterapeutyków przeciwbakteryjnych obserwuje się ciągły wzrost

częstości występowania mieszanych zakażeń układu oddechowego u świń. Sytuacja taka wymusza poszukiwanie dokładniejszych i skuteczniejszych sposobów rozpoznawanie, zwalczania i zapobiegania zakażeniom drobnoustrojami odpowiedzialnymi za choroby układu oddechowego występujące w produkcji wielkotowarowej świń. Dlatego też podjęcie przez lek. wet. Ewelinę Czyżewską-Dors badań nad epidemiologią zakażeń układu oddechowego u świń oraz przydatnością profili serologicznych w ich diagnostyce i zwalczaniu jest w pełni uzasadnione.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska o układzie typowym dla tego rodzaju opracowań liczy 141 stron. Składa się z 9 rozdziałów takich jak Wstęp, Cel pracy, Materiał i metody, Wyniki, Dyskusja, Wnioski, Streszczenia w językach polskim i angielskim oraz Piśmiennictwo. Dysertacja zawiera 29 rycin i 28 tabel.

We wstępie poprzedzonym wykazem stosowanych skrótów, obejmującym 23 strony Doktorantka szczegółowo opisała znaczenie zakażeń mieszanych układu oddechowego świń i wyszczególniła przyczyny narastania problemu. Następnie, w sposób wyczerpujący określiła i opisała czynniki etiologiczne wirusowe i bakteryjne, pierwotne i wtórne mieszanych zakażeń układu oddechowego świń oraz czynniki środowiskowe. W osobnych podrozdziałach zostały opisane objawy kliniczne i zmiany anatomopatologiczne, laboratoryjne metody diagnostyczne, leczenie oraz zwalczanie zakażeń mieszanych układu oddechowego. Dodatkowo, w logiczny sposób, opisane zostały profile serologiczne, przekrojowy i ciągły, jako przydatne narzędzie diagnostyczne oparte o wyniki testów serologicznych. Wstęp dowodzi bardzo dobrej znajomości badanej problematyki i piśmiennictwa oraz uzasadnia celowość podjętych badań.

W rozdziale zatytułowanym „Cel pracy” lek. wet. Ewelina Czyżewska-Dors przedstawiła w pięciu punktach jasno sformułowane cele:

1. określenie częstości występowania zakażeń układu oddechowego w stadach świń w kraju na podstawie badań serologicznych, bakteriologicznych i molekularnych
2. ustalenie wpływu wielkości stada i systemu zarządzania na częstość występowania zakażeń układu oddechowego
3. dokonanie analizy wpływu zastosowanej metody diagnostycznej na wyniki oceny sytuacji epidemiologicznej stada na modelu zakażeń App i Hps
4. porównanie skutków jednoczesnego zakażenia świń PRRSV i PCV2 w stadach szczepionych i nieszczepionych przeciwko PCV2
5. ocena przydatności profili serologicznych w diagnostyce i zwalczaniu chorób układu oddechowego.

W rozdziale „Materiał i metody”, liczącym 15 stron, Doktorantka scharakteryzowała kryteria, na podstawie których do udziału w badaniach zakwalifikowanych zostało 140 stad, wymieniła rodzaj i sposoby pobierania materiału do badań, który stanowiły 1680 wymazów z nosa, 1680 zeszkrobów z migdałków, płuca pobrane od 90 zwierząt i 5760 próbek krwi. Szczegółowo zostały opisane metodyki izolacji z materiału klinicznego bakteryjnych czynników etiologicznych takich jak *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Haemophilus parasuis*, *Streptococcus suis* i *Pasteurella multocida*. Dokonana została charakterystyka posiewu bakterii, oceny morfologicznej i makroskopowej oraz badania właściwości biochemicznych. Na uznanie zasługuje zastosowanie do identyfikacji wirusów i większości badanych bakterii metod molekularnych takich jak PCR i real time PCR. W rozdziale tym

Doktorantka opisała również metody zastosowane w badaniach serologicznych, ELISA na obecność przeciwciał dla PRRSV, PCV2, *Mycoplasma hyopneumoniae* i *Actinobacillus pleuropneumoniae* oraz test HI na obecność przeciwciał dla wirusa grypy świń. Rozdział kończy dokładny opis metod analizy statystycznej uzyskanych danych, które są ważnym elementem prowadzonych przez Doktorantkę badań.

Wyniki zostały przedstawione na 30 stronach w formie opisowej i graficznej. Starannie wykonane tabele i ryciny w sposób przejrzysty obrazują uzyskane rezultaty. Rozdział obejmuje charakterystykę stad poddanych badaniom, analizę częstości występowania patogenów układu oddechowego na podstawie badań serologicznych, bakteriologicznych i molekularnych, opis czynników wpływających na występowanie i szerzenie się patogenów układu oddechowego oraz ocenę profili serologicznych.

Uzyskane wyniki są interesujące i wnoszą nowe wartości do obecnego stanu wiedzy na temat zakażeń układu oddechowego w krajowych stadach świń. Na uwagę zasługuje ciekawa interpretacja profili serologicznych pozwalająca prześledzić kształtowanie się poziomów odporności siarowej oraz ustalić czas transmisji czynnika chorobotwórczego, dzięki czemu można określić optymalny termin szczepień w danym stadzie.

Rozdział „Dyskusja” liczący 21 stron, zawiera krytyczną analizę wyników badań własnych w konfrontacji z wynikami uzyskanymi przez innych autorów. Lek. wet. Ewelina Czyżewska-Dors w rozdziale tym dowiodła umiejętności prowadzenia naukowej polemiki, a odpowiednio dobrane piśmiennictwo świadczy o szerokiej znajomości badanej problematyki.

Recenzowaną pracę doktorską wieńczy sześć wniosków stanowiących dowód osiągnięcia zaplanowanych celów badawczych, streszczenia w językach polskim i angielskim oraz wykaz aż 341 pozycji piśmiennictwa dowodzącego umiejętności doboru literatury odpowiedniej do analizy i dyskusji uzyskanych wyników badań własnych.

Reasumując, należy stwierdzić, że wykonane przez Doktorantkę obszerne i pracochłonne badania dostarczyły ciekawych i cennych wyników poznawczych oraz aplikacyjnych, zasługujących na pozytywną ocenę. Lek. wet. Ewelina Czyżewska-Dors wykazała niezbiecie, że w Polsce dominującą formą zakażeń układu oddechowego świń są zakażenia o charakterze wieloczynnikowym najczęściej wywoływane przez *Haemophilus parasuis*, *Streptococcus suis*, *Actinobacillus pleuropneumoniae* i *Mycoplasma hyopneumoniae*, a stosowanie zasad bioasekuracji pozytywnie wpływa na seroprewalencję *Mycoplasma hyopneumoniae* i *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Doktorantka dowiodła też, że obecność PRRSV w stadzie nie wpływa na wzrost zakażeń PCV2, oraz że występowanie w stadach zakażeń jednocześnie PRRSV i PCV2 nie ogranicza efektywności szczepień przeciwko cirkowirozie.

Można zatem uznać, że uzyskane wyniki stanowią unikalny materiał badawczy odzwierciedlający rzeczywistą sytuację epizootyczną zakażeń układu oddechowego świń w Polsce.

Szczegółowa analiza rozprawy ujawniła jednak kilka nieścisłości i błędów, których autorka nie ustrzegła się przygotowując ostateczną wersję rozprawy, zatem jako recenzent zobowiązana jestem je przedstawić w formie uwag krytycznych.

- Wykaz skrótów zamieszczony na początku pracy nie zawiera wyjaśnienia wszystkich stosowanych w pracy skrótów. Zabrakło m. in.:

- PMWS - Post-weaning multisystemic wasting syndrome; poodsadzeniowy zespół wyniszczający (str. 23).
- PNP - Proliferating and necrotizing pneumonia; rozrostowo-martwicze zapalenie płuc (str. 23).
- CP – czynnik zjadliwości *Actinobacillus pleuropneumoniae* (str. 25).
- CI – str. 60 i 61 (tab. 10 i 11).
- Hp – str. 28. W spisie znajduje się skrót Hps.
- Szkoda też, że wykaz skrótów nie został w całości uporządkowany w kolejności alfabetycznej (ostatnie 6 pozycji).
- Skład mieszaniny reakcyjnej dla PCV2 (str. 51) wynosi 25, nie 20, jak podała Autorka.
- Opisując ryc. 29 przedstawiającą profil serologiczny ciągły w stadzie F (str. 86) Autorka pisze o istotnych różnicach między miotem II i III w 13. tygodniu życia, czego nie widać na załączonej rycinie, natomiast wyraźnie widać tę różnicę w 10 tygodniu życia, zwłaszcza między miotem I a III, o czym nie ma informacji w tekście.
- W niejasny sposób została podana częstość przestrzegania zasady cpp-cpp w badanych stadach (str. 57). Wartości przedstawione zostały procentowo, co trudno przełożyć na konkretną liczbę stad, np. Doktorantka podaje, że zasada ta była cyt.: „...stosowana na wszystkich etapach produkcji w 17,1% badanych stad.” Zatem jeśli objętych badaniem było 140 stad, to 17,1% daje liczbę 23,94 (dla 30 stad dużych liczba ta wynosi 14,01 i dla 68 średnich 9,99). Jak więc rozumieć możliwość zastosowania powyższej zasady bioasekuracji w np. 0.94 stada? Sądzę, że tę kwestię Autorka wyjaśni podczas publicznej obrony pracy doktorskiej. Interpretacja byłaby łatwiejsza, jeśliby obok procentów podane zostały wartości liczbowe.
- W pracy autorka nie ustrzegła się również pewnych nieścisłości, czy niezręcznych sformułowań:
 - We wstępie, na str. 28 Autorka pisze „W stadach, gdzie występuje Bbr, często dochodzi do transmisji pionowej drobnoustroju od loch do osesków.” Transmisja pionowa dotyczy zakażenia z matki na płód. Transmisja z lochy na oseski jest zakażeniem poziomym.
 - Na str. 36, cyt.: „Na wiarygodność wyniku badania serologicznego może mieć wpływ wiele czynników, m. in. dawka zakaźna patogenu.” - Dawka zakaźna patogenu może mieć wpływ na przebieg choroby. Zapewne Autorce chodziło o ilość patogenu, który wnika do organizmu.
 - Zamiast „anoreksja” w medycynie weterynaryjnej lepiej stosować określenie „brak łaknienia” (str. 18, 22, 25), a zamiast obniżony, czy zmniejszony apetyt – „obniżone łaknienie” (str. 26, 27, 35).
 - Określenie „stan uśpiania” w stosunku do latencji sądzę, że powinno zostać umieszczone w cudzysłowie. Jest ono używane częściej w stosunku do zakażenia utajonego. Zjawisko latencji jest bardziej złożone i dotyczy tylko zakażeń wirusowych i związane jest z wbudowaniem informacji genetycznej wirusa w genom gospodarza.

- Str. 24, 30, 32 - zwierzęta sekcjonowane – sekcjonowanie, to wg Słownika j. polskiego podział na odcinki. Lepiej napisać „zwierzęta poddane badaniu sekcijnemu” lub badaniu anatomopatologicznemu”.
- Str. 50, 51, 53 „reakcja real-time PCR” - niepotrzebne jest słowo “reakcja”, ponieważ jest ono już zawarte w skrótce PCR.
- W pracy Autorka nie ustrzegła się drobnych błędów redaktorskich w postaci opuszczenia, przestawienia lub użycia nieprawidłowych liter:
 - Str. 13. – porcine repiratory virus, brak “s”.
 - Tab. 3 i 4, str. 48, 49 – nazwy patogenów dla których określane są parametry amplifikacji PCR w tytułach tabel lepiej wpisać w kolejności, w której są wymieniane w tabelach.
 - Str. 78, - aktywnym, zamiast aktywnych.
 - Str., 98 - dowiodły obecności, zamiast dowiodły obecność.
- Uwagi dotyczące wykazu piśmiennictwa:
 - W wykazie brakuje 35 pozycji, na które Autorka powołuje się w rozprawie: Bebko i wsp., 2012, cyt. Str. 103. Bllespie, 1999, cyt. na str. 110. Bouma i wsp., 2009, cyt. na str. 108. Calasmigla i wsp., 1981, cyt. na str. 110. Dibarbora i wsp., 2014, cyt. na str. 90. Done, 1991, cyt. na str. 34. Evans i wsp., 2008 cyt. na str. 100. Frandoloso i wsp., 2012, cyt. na str. 96. Grau-Roma i Segales, 2007, cyt. na str. 23. Haward i wsp., 2011, cyt. na str. 89. Jager i wsp., cyt. na str. 101 i 102. Kobich i wsp., 1993, cyt. na str. 27 (w wykazie jest Kobisch). Kono i wsp., 1993, cyt. na str.108. Kyriakis i wsp., 2010, cyt. na str. 90. Kyriakisa i wsp.,2010, cyt. na str. 90. Litre, 1970, str. 31, (w wykazie jest Litre). Lopez-Robles i wsp., 2014, cyt. na str. 88, 89, 90. Martinez i wsp., 2001, cyt. na str.35. Meseco i wsp., 2014, cyt. na str. 90. Nelson i wsp., 2012, cyt. na str. 102. Oliviera, 2003, cyt. na str. 30. Pascau i wsp., 2012, cyt. na str. 89. Pascua i wsp., 2008, cyt. na str. 90. Pejsak, 2005, cyt. na str. 38. Pejsak, 2009, cyt. na str. 39. Petrocic i wsp., 2012, cyt. na str. 91. Podgórska, 2009, cyt. na str. 105. Pomorska i wsp., 2010, cyt. na str. 110. Pomorska i wsp., 2011, cyt. na str. 110. Simo-Grife i wsp., 2011, cyt. na str. 90 (jest 2012). Simon-Griffe i wsp., 2013, cyt. na str. 100. Stadejek, 2006, cyt. na str. 54 (zapewne chodzi o 2007). Truszczyński i Pejsak, 2010a, b, str. 32. Tummaruk i Tantilertcharoen, 2012, str. 93 (jest 2012). Wernike i wsp., 2012, cyt. na str. 53.
 - W wykazie piśmiennictwa obecne są prace nie cytowane w rozprawie (27 prac): Ciprian i wsp., 1994. Davies i wsp., 2003. Done, 1997. Dworacka, 2007. Fittipaldi i wsp., 2003. Grau-Roma i wsp., 2011. Howard i wsp., 2011. Hsui Minion, 2014. Jacela i wsp., 2011. Kristensen i wsp., 2011. Lamberta i wsp., 2012. Markowska-Daniel i Urbaniak, 2010a. Marois i wsp., 2007. Nathuesiws., 2014. Oven i Valencak, 2010. Pejsak i Truszczyński, 2010a. Pejsak i Truszczyński, 2010b. Rajao i wsp., 2013. Salak-Johnson i McGlone, 2007. Segalés i wsp., 2005. Segales i wsp., 2009. Segales i wsp., 2012a. Stevenson i wsp., 1993. Szczotka-Bochniarz i Podgórska 2015. Thanawongnuwech i wsp., 1998. Van Alstine, 2012. Vecht i wsp., 1992.

- Pozycje piśmiennictwa w spisie nie zawsze są ustawione w porządku alfabetycznym, co trochę utrudnia ich odszukanie w wykazie (str. 126, 133, 135, 140).
- Brak jednolitego systemu wymieniania cytowanych artykułów w tekście. Nie są podane w nawiasach ani w kolejności alfabetycznej, ani według czasu opublikowania.

Przedstawione uwagi krytyczne, mające w większości charakter porządkowy lub dyskusyjny, wynikające prawdopodobnie z roztargnienia czy pośpiechu Doktorantki nie umniejszają w znaczący sposób wartości recenzowanej rozprawy doktorskiej i nie mają fundamentalnego wpływu na jej pozytywną ocenę.

Reasumując, stwierdzam, że rozprawa doktorska lek. wet. Eweliny Czyżewskiej-Dors pt. „Epidemiologia zakażeń układu oddechowego świń oraz przydatność profili serologicznych w ich diagnostyce i zwalczaniu” 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 oraz warunkom określonym w § 6. Rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 22 września 2011 r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodach doktorskich, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora, dlatego przedkładam Wysokiej Radzie Naukowej Państwowego Instytutu Weterynaryjnego - Państwowego Instytutu Badawczego wnioski o dopuszczenie lek. wet. Eweliny Czyżewskiej-Dors do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Olsztyn, 27. 10. 2015 r.

Maksymilian Ratt-Samuraj