

**Prof. dr hab. Zbigniew Grądzki**

Katedra Epizootiologii i Klinika Chorób Zakaźnych

Wydziału Medycyny Weterynaryjnej

Uniwersytetu Przyrodniczego

w Lublinie

## Ocena

**rozprawy doktorskiej Pana lek. wet. Krzysztof Kwita**

**p.t. "Patogeneza zakażenia prośnych loszek wirusem grypy świń"**

Grypa świń należy do zakaźnych i zaraźliwych chorób układu oddechowego o istotnym znaczeniu ekonomicznym i epidemiologicznym. Pomimo niewielkiego współczynnika śmiertelności u świń dorosłych zakażenia wirusami grypy u trzody chlewnej wpływają niekorzystnie na uzyskiwane efekty ekonomiczne, m.in. poprzez wpływ na proces rozrodu. Wirusy grypy świń (SIV) znane są także z możliwości indukowania zakażeń współistniejących, głównie bakteryjnych, wiktających kliniczny przebieg choroby i przedłużających czas jej trwania. Z punktu widzenia epidemiologicznego ważny jest natomiast udział świń, jako gatunku zwierząt wrażliwych, oraz wirusów grypy świń w transmisji międzygatunkowej tych zarazków, sprzyjającej tworzeniu nowych wariantów genetycznych i antygenowych, zagrażających innym gatunkom zwierząt oraz człowiekowi.

W tym kontekście podjęcie przez Doktoranta badań z zakresu patogenezy grypy świń u ciężarnych loszek uważam za pomysł trafny i interesujący tak z naukowego jak i praktycznego punktu widzenia. Uzyskane wyniki badań z jednej strony wypełniają niszę jaką można dostrzec analizując krajowe i zagraniczne piśmiennictwo z tego zakresu, z drugiej natomiast weryfikują utarte poglądy nt. znaczenia wirusów grypy w wywoływaniu zaburzeń w rozrodzie świń.

Recenzowana rozprawa doktorska w swojej formule różni się od lansowanego przez wiele lat modelu opartego na kompleksowym opisie doświadczenia, uwzględniającym standardowe rozdziały oraz dokumentację uzyskanych wyników. Zamiast takiej formy Autor wykorzystał możliwość dopuszczoną zapisami ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki, art. 13 ust. 2 i 4 (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.) i przedstawił jako podstawę ubiegania się o nadanie stopnia naukowego doktora dzieło stanowiące spójny tematycznie cykl publikacji wieloautorskich, złożony z prac oryginalnych i przeglądowych opublikowanych w latach 2013-2015 w krajowych i zagranicznych czasopismach polsko- i anglojęzycznych, zgodnie z poniższym zestawieniem:

### I. Prace oryginalne:

1. Kwit K., Pomorska-Mól M., Markowska-Daniel I.: Przebieg ciąży u loszek zakażonych donosowo w I miesiącu ciąży szczepem H1N2 wirusa grypy świń. *Medycyna Weterynaryjna* 2013, 10, 641. (15 pkt. MNiSW; IF 0,203)
2. Kwit K., Pomorska-Mol M., Markowska-Daniel I.: The influence of experimental infection of gilts with swine H1N2 influenza A virus during the second month of

gestation on the course of pregnancy, reproduction parameters and clinical status. BMC Veterinary Research 2014, 10, 123. (40 pkt. MNiSW; IF 1,86)

3. Kwit K., Pomorska-Mól M., Markowska-Daniel I.: Pregnancy outcome and clinical status of gilts following experimental infection by H1N2, H3N2 and H1N1pdm09 influenza A viruses during the last month of gestation. Arch. Virol. 2015, 160 (10), 2015. (20 pkt. MNiSW; IF 2,39)

## II. Praca przeglądowa

1. Kwit K., Pomorska-Mól M., Markowska-Daniel I.: Czynniki zakaźne powodujące zaburzenia w rozrodzie świń. Medycyna Weterynaryjna – w druku (15 pkt. MNiSW; IF 0,218)

Sumaryczny współczynnik wpływu (IF) wyliczony dla wszystkich prac wynosi 4,671, natomiast zbiorcza punktacja czasopism wyliczona w oparciu o wykazy Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego wynosi 90. Dane te świadczą nie tylko o wysokiej randze czasopism w jakich Doktorant opublikował wyniki swoich badań, ale stanowią także dowód wysokiego poziomu naukowego tych badań, a pośrednio przemawiają za słuszością przyjętych koncepcji i celów badawczych, prawidłowością zastosowanych metod oraz wiarygodnością uzyskiwanych wyników.

Poszczególne publikacje, w których kandydat do stopnia naukowego jest zawsze pierwszym autorem, tematycznie dotyczą zakażeń wirusami grypy u świń oraz ich wpływu na wywoływanie zaburzeń w rozrodzie, wybrane parametry immunologiczne i produkcyjne. Podjęcie tej problematyki Autor tłumaczy znaczeniem grypy świń jako choroby ważnej z punktu widzenia klinicznego i ekonomicznego, a także niejednoznacznością opinii i hipotez nt. oddziaływania wirusów grypy na proces rozrodu, w tym zwłaszcza dotyczącego patomechanizmu indukowania zaburzeń w rozrodzie.

W opisowej części rozprawy doktorskiej, stanowiącej uzupełnienie cyklu publikacji, Autor zachował tradycyjny układ, obejmujący główne rozdziały, takie jak wstęp, cel i zakres badań, metodyka, uzyskane wyniki i ich omówienie oraz wnioski wysunięte na podstawie analizy całokształtu przeprowadzonych badań. Praca zawiera także streszczenie w języku polskim i angielskim, co stanowi wymóg ustawowy. Autor pominął natomiast szczegółowe opisy procedur laboratoryjnych wykorzystywanych w badaniach ponieważ stanowią one integralną część poszczególnych prac oryginalnych. Podobna uwaga dotyczy także przedstawienia wyników badań.

We wstępie Autor zwraca uwagę na rozród trzody chlewnej oraz na problemy związane z zaburzeniami w tym procesie jako istotne zjawiska warunkujące opłacalność produkcji świń. Spośród licznych czynników zakaźnych wywołujących zaburzenia w rozrodzie wirus grypy świń wydaje się być stosunkowo mało poznany, a istniejące doniesienia nt. znaczenia tego zarazka w patologii świń prezentują często rozbieżne opinie. W świetle aktualnych danych piśmiennictwa nie bez znaczenia wydaje się być fakt dużej plastyczności materiału genetycznego wirusów grypy, czego efektem jest pojawianie się nowych szczepów zarazka lub nowych podtypów. Potwierdzeniem tej tezy może być przywoływane przez Autora dysertacji pojawienie się w ostatnim okresie w populacji świń w Europie nowego wariantu genetycznego podtypu H1N2 SIV oraz związane z tym straty ekonomiczne w hodowli trzody chlewnej. W krótkiej analizie piśmiennictwa dotyczącego zakażeń świń wirusami grypy Autor przedstawił przekonujące dowody nt. roli tych zarazków w indukowaniu zaburzeń w rozrodzie, poparte oceną i analizą konkretnych parametrów reprodukcyjnych. Z uwagi na fakt, że dotychczasowe wyniki badań dotyczących wpływu wirusów grypy świń na parametry rozrodu pochodziły głównie z analizy przypadków zakażeń naturalnych, a także biorąc pod uwagę częstą rozbieżność uzyskiwanych wyników

Autor podjął próbę oceny parametrów reprodukcyjnych w oparciu o model zakażenia eksperymentalnego. Właściwa część badań eksperymentalnych została poprzedzona badaniami ankietowymi, obejmującymi 131 ferm świń z 13 województw, których wyniki jednoznacznie potwierdziły, że zaburzenia w rozrodzie, niezależnie od ich przyczyny, stanowią istotny problem kliniczny i ekonomiczny w krajowych stadach świń.

Celem prowadzonych badań eksperymentalnych było bliższe poznanie patogenezы zakażenia SIV u ciężarnych loszek ze szczególnym uwzględnieniem wpływu wirusa i zakażenia na wybrane parametry reprodukcyjne i immunologiczne. Analizując poszczególne cele pracy wyszczególnione w rozdziale 2 (Cele i zakres pracy) należy zwrócić uwagę na fakt, że częściowe wyjaśnienie problemu sygnalizowanego w ramach celu 1 Autor osiągnął już na etapie badań ankietowych. Tym niemniej, wyniki te nie podważają zasadności wykonania badań szczegółowych w warunkach eksperymentalnych, dotyczących udziału SIV w wywoływaniu zaburzeń w rozrodzie. Warto zwrócić uwagę także na cel 3, odnoszący się do analizy swoistej i nieswoistej odpowiedzi immunologicznej oraz odpowiedzi ostrej fazy u ciężarnych loszek zakażonych SIV. Oceniane w tych badaniach parametry będą mogły być wykorzystane do monitorowania przebiegu zakażenia oraz prognozowania odnośnie klinicznego przebiegu infekcji i jej zejścia. Realizacji nakreślonych celów służyło zaplanowanie i przeprowadzenie serii eksperymentów polegających na zakażeniu ciężarnych loszek, w których określano wpływ różnych czynników charakteryzujących zakażenie na występowanie zaburzeń w rozrodzie oraz wybrane parametry produkcyjne. Wachlarz metod stosowanych w badaniach własnych oraz ocenianych parametrów jest zróżnicowany i bogaty i dzięki temu gwarantuje możliwość analitycznego podejścia do patogenezы zakażenia SIV u ciężarnych loszek oraz wyciągnięcia obiektywnych wniosków z przeprowadzonych badań.

Materiał zakaźny stosowany w zakażeniach eksperymentalnych stanowiły 3 szczepy wirusa grypy świń, należące do różnych podtypów. Zakażenia loszek wykonywano w I, II i III miesiącu ciąży. Uzyskiwane wyniki badań poddawano analizie statystycznej przy życiu programu Statistica 8,0. Wprawdzie w dostarczonej do oceny wersji rozprawy nie ma informacji nt. zgody Komisji Etycznej na przeprowadzenie badań będących przedmiotem pracy doktorskiej należy przyjąć, że obowiązujące wymagania formalne zostały w tym przypadku spełnione tym bardziej, że jak wynika z oświadczenia Doktoranta przeprowadzone badania finansowane były w ramach realizacji projektu MNiSW (NN 308564140).

Wyniki uzyskane przez Autora po przeprowadzeniu wszystkich zaplanowanych eksperymentów mogą nieco zaskakiwać, zwłaszcza w konfrontacji z wynikami wcześniejszych badań ankietowych. Z drugiej strony, trudno jest z nimi polemizować zważywszy, że zostały one rzetelnie udokumentowane. Należy zatem przyjąć, że zakażenie ciężarnych loszek wirusem grypy, niezależnie od wywołującego je szczepu zarazka oraz dawki zakaźnej przebiega na ogół łagodnie lub bezobjawowo i nie skutkuje występowaniem zaburzeń w rozrodzie. W przebiegu zakażenia nie stwierdza się także przenikania wirusa przez łożysko i atakowania płodów. Na podstawie tych wyników Autor wysuwa przypuszczenie, że opisywane w piśmiennictwie zaburzenia w rozrodzie mające miejsce w przebiegu zakażenia SIV u świń są raczej efektem oddziaływania cytokin prozapalnych oraz uogólnionej reakcji gorączkowej niż bezpośredniego działania wirusa na układ rozrodczy i płody.

Z przeprowadzonych badań Autor wyciągnął 3 wnioski, których treść pozostaje zbieżna z podsumowaniem uzyskanych wyników. Jako recenzent rozprawy sugerowałbym ewentualne przeredagowanie wniosku 2, który w zaprezentowanej formie jest zbyt ogólnikowy i mało konkretny.

Analizując przedstawiony przez Doktoranta cykl publikacji, stanowiący podstawę ubiegania się o nadanie stopnia naukowego stwierdzam, że odrębna ocena recenzencka takich prac wydaje się zbędna. Każda z nich przed opublikowaniem przeszła bowiem szczegółowy proces weryfikacyjny pod kątem wymagań stawianych pracom oryginalnym przez redakcje poszczególnych czasopism. Dodatkowo poddawane były one niezależnej ocenie merytorycznej przez jednego lub kilku recenzentów będących przeważnie autorytetami w dziedzinie wiedzy, w której mieszczą się publikowane badania. Zadaniem recenzenta w przypadku takiej formuły rozprawy doktorskiej jest natomiast, zgodnie z zapisami odnośnego rozporządzenia, ocena indywidualnego wkładu kandydata do stopnia naukowego w powstanie pracy zbiorowej, który zgodnie z literą prawa powinien dotyczyć udziału większościowego w opracowaniu koncepcji badań, wykonywaniu części eksperymentalnej oraz opracowywaniu i interpretacji wyników pracy. Niezależnie od tej oceny rozprawa doktorska powinna spełniać stosowne wymagania ustawowe.

Z uwagi na zbiorowy charakter publikacji, w obrębie których część stanowi podstawę ubiegania się Doktoranta o nadanie stopnia naukowego doktora, integralną część dokumentacji przedstawionej do oceny winny stanowić oświadczenia współautorów, określające indywidualny wkład każdego z nich w powstanie poszczególnych prac eksperymentalnych. Z załączonych oświadczeń wynika, że w przypadku każdej publikacji współautorski udział Doktoranta był większościowy i wynosił od 60-70%. W tym zakresie mieścił się udział w planowaniu doświadczenia, przeprowadzaniu doświadczeń na zwierzętach, wykonywaniu badań laboratoryjnych, interpretacji uzyskanych wyników, pisaniu manuskryptu i jego korekcie po recenzji. Indywidualny udział pozostałych współautorów, w liczbie 2, był zróżnicowany i wahał się od 5-30%. Wkład pracy współautorów polegał na współudziale w opracowywaniu koncepcji badań, planowaniu i wykonywaniu doświadczenia, analizie statystycznej wyników badań, interpretacji wyników oraz korekcie tekstu publikacji. Wkład pracy promotora rozprawy obejmował dodatkowo nadzór nad przebiegiem doświadczenia oraz redagowaniem tekstu artykułów. Analiza dołączonych do rozprawy doktorskiej oświadczeń współautorów jednoznacznie wskazuje na dominujący udział Doktoranta w pracy na każdym z etapów realizacji cyklu publikacji. Warty podkreślenia jest większościowy wkład pracy kandydata do stopnia naukowego w tworzenie koncepcji badań, precyzowanie celu pracy, fizyczne wykonywanie analiz laboratoryjnych, a także interpretację uzyskiwanych wyników i pisanie prac. Analiza i ocena przytoczonego zestawienia procentowego wkładu pracy współautorów w powstawanie poszczególnych prac eksperymentalnych upoważniają recenzenta do stwierdzenia, że Doktorant jest w pełni uprawniony do uznawania prezentowanego cyklu publikacji jako podstawy ubiegania się o nadanie stopnia naukowego doktora na podstawie rozprawy naukowej stanowiącej część pracy zbiorowej.

Podsumowując uważam, że recenzowana praca doktorska dotyczy interesującego, z poznawczego i praktycznego punktu widzenia, problemu zakażeń świń wirusami grypy oraz ich wpływu na wywoływanie zaburzeń w rozrodzie. Poznanie mechanizmów oddziaływania wirusów grypy na układ rozrodczy świń powinno się przełożyć na zwiększenie skuteczności działań zmierzających do minimalizacji czynników ryzyka, a tym samym zapobiegania zaburzeniom w rozrodzie i w konsekwencji do poprawy wskaźników ekonomicznych. Analiza i ocena publikacji eksperymentalnych, wskazanych przez Doktoranta jako podstawa ubiegania się o nadanie stopnia naukowego doktora wskazuje jednoznacznie na oryginalność rozwiązań problemu naukowego, a także dowodzi ugruntowanej wiedzy doktoranta w dziedzinie wirusologii i kliniki chorób zakaźnych trzody chlewnej. Świadczą one także o doskonałym opanowaniu metodyki badań naukowych, zwłaszcza w odniesieniu do

wirusologii eksperymentalnej i klinicznej, co stanowi jeden z atrybutów umiejętności samodzielnego planowania i prowadzenia prac naukowych.

Stwierdzam zatem, że rozprawa doktorska Pana lek. wet. Krzysztof Kwita p.t. "Patogeneza zakażenia próchnych loszek wirusem grypy świń" odpowiada warunkom określonym w artykule 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki, a także zapisom 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 i przedstawiam Wysokiej Radzie Naukowej Państwowego Instytutu Weterynaryjnego - Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach wniosek o dopuszczenie Pana lek. wet. Krzysztof Kwita do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie, biorąc pod uwagę aktualność problematyki badawczej ujętej w recenzowanej rozprawie doktorskiej, spójność opracowanej koncepcji badań oraz rzetelność ich realizacji wnoszę do Wysokiej Rady Naukowej o wyróżnienie ocenianej pracy doktorskiej stosowną nagrodą.

Lublin, 12 listopada 2015 r.

  
Prof. dr hab. Zbigniew Grądzi