

Wrocław, 09.01.2017 r.

Prof. dr hab. Alina Wieliczko
Katedra Epizootiologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Recenzja

rozprawy doktorskiej lek. wet. Moniki Olszewskiej-Tomczyk pt.: **„Ocena wrażliwości różnych gatunków drobiu na zakażenie wariantem gołę bim wirusa choroby Newcastle”** wykonanej pod kierunkiem naukowym prof. dr hab. Zenona Minty oraz dr hab. Krzysztofa Śmietanki, prof. nadzw.

Recenzję wykonano realizując uchwałę Rady Naukowej Państwowego Instytutu Weterynaryjnego-Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach podjętą w dniu 21 listopada 2012 r., na podstawie maszynopisu pracy przesłanego przez przewodniczącego Komisji Doktorskiej, prof. dr hab. Dariusza Bednarka.

Rzekomy pomór drobiu (choroba Newcastle, ND) oraz grypa ptaków (avian influenza, AI, pierwotnie nazywana „pomorem drobiu”) to niewątpliwie dwie najgroźniejsze zakaźne choroby ptaków znajdujące się na liście chorób zakaźnych zwierząt Światowej Organizacji Zdrowia Zwierząt (OIE), podlegające obowiązkowi zgłaszania i zwalczania w krajach OIE, w tym w Polsce. Koniec XX i początek XXI wieku to trwająca pandemia grypy ptaków (nie tylko podtyp H5N1) a także liczne ogniska w stadach drobiu choroby Newcastle oraz panzootia ND w populacji gołębi.

Pomimo stosowania szczepień ochronnych w zapobieganiu zakażeniom wirusem rzekomego pomoru drobiu (Avian Paramyxovirus type-1, APMV-1) w stadach drobiu, jak też szczepienia gołębi, choroba rozprzestrzeniła się na całym świecie. Dużą rolę przypisuje się obecności w środowisku ptaków różnych wariantów antygenowych, w tym wariantu gołębiego wirusa rzekomego pomoru drobiu (Pigeon Paramyxovirus type-1, PPMV-1). Zapewne, loty gołębi pocztowych, wystawy gołębi ozdobnych oraz gołębie dzikie sprzyjają szybkiemu rozprzestrzenianiu się wirusa. Ponadto, opisywane w literaturze, wprawdzie fragmentarycznie, przypadki naturalnych zakażeń PPMV-1 u różnych gatunków ptaków hodowlanych oraz bażantów i ptactwa wolno żyjącego, a także obecność patogenego szczepu PPMV-1 w ognisku choroby ND u kurcząt brojlerów sugerują ich krążenie w środowisku. Jak dotąd, nie znana jest jednak rzeczywista epidemiologiczna rola PPMV-1 u

drobiu. Nie znamy też skali ryzyka związanego z transmisją wariantu gołębiego wirusa ND na drób i konsekwencji wynikających z postępowania administracyjnego zwalczania ND. W tym aspekcie realizowany przez lek. wet. Monikę Olszewską-Tomczyk temat rozprawy doktorskiej pt. *„Ocena wrażliwości różnych gatunków drobiu na zakażenie wariantem gołębiem wirusa choroby Newcastle”* wpisuje się w potrzebę uzupełnienia wiedzy na temat faktycznej roli wariantów PPMV-1 w epidemiologii u ptaków innych niż gołębie.

Przedstawiona do recenzji rozprawa jest kompleksowym opracowaniem spełniającym wymagania stawiane pracom doktorskim. Zawiera 130 stron tekstu podzielonego na rozdziały: wstęp, cel pracy, materiały i metody, przebieg doświadczeń i wyniki, omówienie wyników i dyskusja, wnioski, streszczenie w języku polskim i angielskim, piśmiennictwo. Dokumentację uzupełniają 23 tabele i 21 rycin oraz wykaz skrótów używanych w tekście.

Tytuł rozprawy doktorskiej sformułowany jest poprawnie i w pełni odzwierciedla cel badań realizowanych przez lek. wet. Monikę Olszewską-Tomczyk.

We wstępie, który obejmuje 23 strony, w tym 5 rycin i 2 tabele, Doktorantka szczegółowo przedstawiła zagadnienia związane z występowaniem wariantu gołębiego wirusa rzekomego pomoru drobiu, naturalną wrażliwością różnych gatunków ptaków na zakażenie oraz klasyfikację PPMV-1. W kontekście prezentowanej rozprawy na uwagę zasługuje podrozdział, w którym Doktorantka wiele uwagi poświęca budowie i funkcji białek APMV-1, molekularnym podstawom zjadliwości oraz omawia cykl replikacyjny APMV-1. W aspekcie stosowanej immunoprofilaktyki ND w stadach gołębi istotne są przedstawione zagadnienia odpowiedzi immunologicznej, w tym odpowiedzi wrodzonej (ta u gołębi nie jest do końca zbadana), humoralnej i komórkowej. Szczególnie istotne jest również omówienie epidemiologii i patogenezy zakażeń oraz przedstawienie obrazu klinicznego i zmian patologicznych w przebiegu „paramyksowirusy gołębi”. Wstęp kończy omówienie metod wykrywania zakażeń PPMV-1 oraz zwalczania rzekomego pomoru drobiu u gołębi. Cały wstęp jest napisany czytelnie, językiem precyzyjnym, wzbogacony dodatkowo kolorowymi rycinami.

W kolejny rozdziale Doktorantka przedstawiła cel pracy. Autorka podjęła się badań, których celem było ustalenie roli zakażeń gołębiem wariantem paramyksowirusa ptaków serotypu 1 w patologii drobiu. Na potrzebę realizacji tego celu określiła pięć szczegółowych zadań badawczych, które wykonywała etapowo. Zarówno cel pracy jak też zadania badawcze sprecyzowane zostały jasno i czytelnie.

W rozdziale „Materiały i metody” Doktorantka precyzyjnie i bardzo czytelnie opisuje zastosowane w kolejnych doświadczeniach metody badawcze, w tym konwencjonalne testy reakcji polimeryzacji łańcuchowej z odwrotną transkrypcją (RT-PCR), sekwencjonowanie nowej generacji, real - time PCR oraz wykorzystane zwierzęta doświadczalne. Na uwagę zasługują opisane w tym rozdziale doświadczenia kliniczne przeprowadzone na 5 różnych gatunkach ptaków zmierzające do oceny przebiegu klinicznego zakażeń PPMV-1, zmian anatomopatologicznych i histopatologicznych oraz wykazanie intensywności siewstwa i rozmieszczenie wirusa w tkankach. Ponadto u zakażonych PPMV-1 kurcząt i gołębi określała wybrane parametry odpowiedzi nieswoistej. Na prowadzenie doświadczeń z użyciem zwierząt Doktorantka otrzymała zgodę Lokalnej Komisji Etycznej w Lublinie. Na pochwałę zasługuje liczebność grup/ptaków w grupie - jest ona wystarczająca do oceny danego parametru lecz bez zbędnego „nadmiaru” oraz solidny warsztat badawczy. W mojej opinii zastosowane metody prowadzonych badań są nowoczesne i w pełni wystarczające do realizacji postawionych celów a zakres przeprowadzonych badań świadczy o dobrym opanowaniu przez Doktorantkę warsztatu laboratoryjnego i klinicznego oraz ogromnej pracy włożonej w ich wykonanie. Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej, co również warte jest podkreślenia.

Całość zaplanowanych doświadczeń oraz uzyskane wyniki Autorka przedstawiła w starannie opracowanym rozdziale: „Przebieg doświadczeń i wyniki”. Ta część pracy została opracowana przejrzysto i bardzo dokładnie. Tabele (8) i ryciny (14) zostały zamieszczone w tekście, co poprawia śledzenie uzyskanych wyników oraz ułatwia ich interpretację. Analiza uzyskanych wyników jest szczegółowa i uwzględnia parametry wszystkich zaplanowanych doświadczeń i zadań badawczych. Należy również podkreślić zwięzłe opracowanie oraz czytelne przedstawienie tak dużej ilości zebranych danych. W przedstawionych wynikach badań Autorka wykazała, że pasażowanie szczepu PPMV-1 przez organizm kur SPF prowadzi do zwiększonej zjadliwości wirusa, wyrażonej wzrostem indeksu domóżgowej zjadliwości dla jednodniowych kurcząt SPF. Wykazała też, że za podwyższoną wirulencję mogą być odpowiedzialne zmiany nukleotydowe w obrębie cząsteczki rybonukleokapsydu (RNP). Niezwykle cenne, nie tylko dla awiopatologów są wyniki Doktorantki wskazujące na dużą oporność wrodzoną na zakażenie PPMV-1 kur, indyków, gęsi i przepiórek. Do takiego wniosku upoważnia Autorkę obserwowany charakter objawów klinicznych i zmian anatomopatologicznych po eksperymentalnym zakażeniu tych gatunków ptaków. Z kolei

wirus PPMV-1 uzyskany po pasażach na kurach zastosowany w eksperymentalnym zakażeniu indyków, przepiórek i gęsi charakteryzował się zwiększoną replikacją, co wskazuje, że wirus posiada potencjał do adaptacji. Nie sposób też pominąć w pełni nowatorskich wyników Doktorantki wskazujących na aktywację nieswoistych komponentów odpowiedzi immunologicznej u zakażonych PPMV-1 gołębi i kur, które ocenione zostało na podstawie ekspresji cytokin na poziomie mRNA. Wyniki te są pionierskie, bowiem nie prowadzono do tej pory oceny odpowiedzi transkrypcyjnej cytokin w narządach kur po eksperymentalnym zakażeniu wariantem gołęzim ND.

W kolejnym rozdziale Doktorantka przeprowadziła wnikliwe omówienie wyników i rzeczową dyskusję zestawiając rezultaty własnych badań z opiniami innych autorów. Wykazała przy tym umiejętność krytycznego myślenia i argumentowania w połączeniu z prawidłowym posługiwaniem się cytowaniami. Świadczy to o dobrej znajomości tematu oraz o dojrzałości naukowej Autorki.

Na zakończenie pracy Doktorantka formułuje 6 wniosków zawierających syntetyczne omówienie udokumentowanych badaniami własnymi wyników.

Za szczególne osiągnięcie Doktorantki uważam już samo przygotowanie i w pełni profesjonalne zrealizowanie trudnego zadania badawczego wymagającego nie tylko wiedzy z zakresu weterynarii, biotechnologii ale też znajomości statystyki i wielu programów komputerowych wykorzystanych do analizy i opracowania tak dużej liczby danych. Precyzyjny warsztat badawczy pozwolił Doktorantce na zrealizowanie postawionych celów i przedstawienie wyników, które mają dużą wartość naukową oraz znaczenie praktyczne. Dysertacja Doktorantki to pierwsza praca przedstawiająca obszerne i dobrze udokumentowane badania dotyczące oceny wrażliwości różnych gatunków drobiu na zakażenie wariantem gołęzim wirusa choroby Newcastle. Wiele z tych badań i doświadczeń Autorka wykonała po raz pierwszy, a ich wyniki wnoszą nowe dane do epidemiologii zakażeń drobiu PPMV-1. Potwierdzona przez Doktorantkę zwiększona zjadliwość wirusa PPMV-1 po pasażach przez organizm kur skutkowałą w dalszych badaniach wynikami potwierdzającymi zwiększoną adaptacją do nowego gospodarza. Dla awiopatologów przedstawiona dysertacja to również w pełni kompleksowa wiedza z zakresu obrazu klinicznego i zmian patologicznych obserwowanych u zakażonych eksperymentalnie ptaków, innych niż gołębie. Również ocena zdolności siewstwa wariantu gołębiego wirusa ND przez zakażone indyki, gęsi czy przepiórki

to informacje dotąd mało znane. Te wszystkie obserwacje dają nowe spojrzenie na rolę PPMV-1 w epidemiologii zakażeń drobiu.

Istotę każdej recenzji stanowią uwagi krytyczne. W odniesieniu do recenzowanej pracy praktycznie trudno o jakiegokolwiek uwagi krytyczne o charakterze merytorycznym. Ponadto, praca jest napisana starannie, poprawnym językiem i estetyczna pod względem graficznym. Zauważone podczas recenzowania pracy drobne uchybienia literowe czy nie zawsze precyzyjne cytowanie piśmiennictwa (np. wstęp, str. 12: jest Aleksander i wsp. 1985, 2011, zaś w piśmiennictwie, poz. 13. to tylko Aleksander, 2011; str.13 – Aldous i wsp. 2014 – brak tej poz. w wykazie piśmiennictwa; str. 14 – w badaniach Piaseckiego i wsp. (2006)- w wykazie piśmiennictwa mamy tylko :Piasecki (2006, choć powinni być też wsp.); str. 21 – ryc. 3- moim zdaniem nr 2,... i inne zaznaczone w maszynopisie) są zdaniem recenzenta przypadkowe i nie obniżają wysokiej wartości przedłożonej rozprawy.

W podsumowaniu stwierdzam, że recenzowana praca spełnia kryteria stawiane pracom doktorskim określone w art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki i w związku z tym mam zaszczyt przedstawić Radzie Naukowej Państwowego Instytutu Weterynaryjnego-Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach wniosek o dopuszczenie lek. wet Moniki Olszewskiej-Tomczyk do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Biorąc pod uwagę wymienione wcześniej wysokie wartości naukowe oraz aspekt praktyczny pracy wnoszę o wyróżnienie recenzowanej rozprawy.


Prof. dr hab. Alina Wieliczko