

Olsztyn 15.07.2019 r.

dr hab. Agata Bancierz-Kisiel, prof. nadzw.

Katedra Epizootiologii

Wydział Medycyny Weterynaryjnej

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

RECENZJA

rozprawy doktorskiej **mgr inż. Edyty Kozak** pt. „**Afrykański pomór świń – wybrane aspekty diagnostyki laboratoryjnej, epidemiologii i oceny ryzyka**”, wykonanej pod kierunkiem promotora: prof. dr hab. Małgorzaty Pomorskiej-Mól w Zakładzie Chorób Świń Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach.

Podstawa formalna recenzji

Podstawę formalną opracowania recenzji stanowi uchwała Rady Naukowej Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach z dnia 28 lutego 2018 roku.

Oryginalność, aktualność i przydatność podjętego problemu naukowego

Doktorantka podjęła badania nad wybranymi aspektami diagnostyki laboratoryjnej, epidemiologii i oceny ryzyka afrykańskiego pomoru świń (ASF). Jest to wirusowa, zakaźna choroba zwierząt z rodziny świniowatych, wywoływana przez wirus należący do rodziny Asfarviridae. Pierwszy przypadek ASF w Polsce odnotowano w lutym 2014 roku u padłego dzika, z czasem pojawiły się kolejne przypadki a także ogniska – choroba przeniosła się bowiem na świnię. ASF znajduje się na liście chorób zwalczanych z urzędu na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej, według art. 41 ust.1 pkt 1 Ustawy o ochronie zdrowia zwierząt oraz zwalczaniu chorób zakaźnych zwierząt, podlega także obowiązkowi zgłaszania do Światowej Organizacji Zdrowia Zwierząt (OIE). Podjęte problemy badawcze oceniam zatem jako ważne i w pełni uzasadnione, choć pewne zastrzeżenia budzi ich aktualność. W pierwszym z dwóch głównych zadań badawczych Doktorantka walidowała metody, które następnie wdrożono do serologicznego i molekularnego badania próbek pozyskanych od dzików i świń w latach 2014-2016. W drugim analizowano uzyskane dane w aspekcie epidemiologicznym. Gdyby

prezentowana rozprawa doktorska powstała w roku 2017, analizy te byłyby niezmiernie cenne i wiele wnoszące do ówczesnego stanu wiedzy. Obecnie, po kolejnych dwóch latach występowania ASF w Polsce, nie analizowanych przez Doktorantkę, oceniam je raczej w kontekście wnikliwej analizy retrospektywnej. Nie umniejsza to jednak w żadnym stopniu bardzo dużego nakładu pracy jaki Doktorantka włożyła w wykonanie zaplanowanych badań, dokonanie analiz oraz przygotowanie dysertacji.

Ogólna charakterystyka przedstawionego do recenzji manuskryptu

Rozprawa doktorska przedstawiona do recenzji ma formę monografii, o układzie redakcyjnym odpowiadającym wymogom stawianym pracom naukowym. Liczy 230 stron wydruku komputerowego, obejmującego 6 stron spisu treści, 19 stron wstępu, 2 strony celów badań, 39 stron materiałów i metod, 111 stron wyników, 28 stron dyskusji i wniosków, 7 stron streszczenia pracy w języku polskim i angielskim oraz 16 stron piśmiennictwa. Niezwykle bogata dokumentacja obejmuje 90 tabel i 87 rycin, umiejętnie włączonych w tekst pracy.

Ocena przedstawionego do recenzji manuskryptu

We wstępie Doktorantka zaznajamia czytelnika z ogólną charakterystyką czynnika etiologicznego ASF, omawia rezerwuary, wektory i drogi szerzenia choroby, jej patogenezę, objawy kliniczne oraz pewne aspekty diagnostyki i zwalczania. W mojej ocenie jest to dobra analiza zgromadzonego piśmiennictwa, poświęconego omawianym zagadnieniom. Wstęp jest napisany w sposób jasny i zwięzły, stanowi dobrą podbudowę dla przedmiotu badań, uzasadniając jednocześnie potrzebę ich przeprowadzenia. W tej części pracy Doktorantka nie ustrzegła się jednak pewnych błędów edytorsko-redakcyjnych, które z obowiązku recenzenta zmuszona jestem wymienić. Mówimy raczej o wielkości genomu, a nie o jego długości (str. 9, 11), pojęcia długości używamy w kontekście DNA. Na str. 10 przydałby się schemat budowy wirusa, z wyszczególnionymi białkami, omawianymi w tekście przez Autorkę. Na zmienną wielkość genomu może wpływać występowanie powtórzonych sekwencji tandemowych o różnej liczbie nukleotydów, a nie aminokwasów, jak podaje Doktorantka na str. 11. Błędne jest także stosowanie pojęcia „odporność” w odniesieniu do wrażliwości wirusa na czynniki fizyczne, chemiczne czy środowiskowe – ASFV może być na nie odporny, a nie odporny (str. 12). Nie mówimy także o zakażonej paszy, wodzie, ściółce lub środkach transportu (str. 14, 21, 26), przedmioty nieożywione mogą być wirusem zanieczyszczone. Przy omawianiu patogenezы wspomniane jest zakażenie latentne, bez podania informacji w jakie komórki i gdzie

zlokalizowane wbudowuje swój materiał genetyczny wirus podczas przebywania w latencji. Brakuje także omówienia postaci utajonej choroby, ponadto postaci choroby omawiane są w sposób nieco chaotyczny np. najpierw pojawiają się informacje o zmianach anatomopatologicznych, a dopiero potem następuje charakterystyka objawów.

W rozdziale „Cel pracy” Doktorantka przedstawia cele swoich badań. Są one przedstawione w sposób jasny i klarowny, aczkolwiek końcowa sugestia dotycząca znaczenia planowanych badań w ocenie dynamiki szerzenia się choroby i ocenie ryzyka rozprzestrzenienia się wirusa na dalsze obszary kraju jest nieco nieaktualna.

Struktura rozdziału „Materiał i metody” jest bardzo rozdrobniona, czasem poszczególne podrozdziały zajmują zaledwie kilka linii, dodatkowo Autorka często odnosi się do treści, które zostaną opisane dopiero na następnych stronach. Mnie osobiście bardzo przeszkadzało to w zapoznawaniu się z opisem przeprowadzonych badań. Nie zmienia to jednak faktu, że zarówno przyjęta w badaniach metodyka, jak i jej przedstawienie nie budzą większych zastrzeżeń. Na wyjaśnienie zasługuje niezgodność pomiędzy zdaniem umieszczonym na str. 33 „Materiał genetyczny ASFV z matryc wybranych do przeprowadzenia walidacji testu A izolowano przy użyciu zestawów A, B i C, natomiast DNA z matryc wybranych do przeprowadzenia walidacji testu B z zastosowaniem zestawu D.” z danymi zamieszczonymi w Tab. 1, które wskazują, że w teście B używano czterech różnych zestawów do izolacji DNA. Autorka nie wyjaśnia także czemu do oceny dodatkowych parametrów, takich jak powtarzalność z zastosowaniem różnych stężeń DNA ASFV oraz dokładność w teście B dobrała do zestawu D zestaw A, a nie B czy C. W punkcie 3.2.1. omawiany jest ogólnie materiał do badań laboratoryjnych, zestawiony następnie w Tab. 3. Materiał ten jest następnie dokładniej charakteryzowany, poza próbkami surowicy, które nie zostały dokładniej opisane. Na str. 57 pojawia się pojęcie „powierzchni zakażonej” jako obszaru o promieniu 10 km wyznaczanego wokół ognisk lub przypadków ASF. Rozumiem, że jest to tłumaczenie z angielskiego pojęcia „infected area”, ale w polskiej nomenklaturze epidemiologicznej takiego wyrażenia nie używamy. Także w Rozporządzeniu Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 6 maja 2015 r. w sprawie zwalczania afrykańskiego pomoru świń nie używa się pojęcia „powierzchnia zakażona”. Wokół ognisk wyróżnia się obszar zapowietrzony o promieniu co najmniej 3 km oraz obszar zagrożony o promieniu co najmniej 7 km poza obszarem zapowietrzonym, a wokół przypadków ustala się obszar skażony. Na str. 61, na Ryc. 8 według logiki zamiast

„niewykrycie zakażenia w stadzie wybranym do wywozu” powinien być zapis „wykrycie zakażenia w stadzie wybranym do wywozu”.

Ogrom danych jakie przedstawiono w rozdziale „Wyniki” daje wyobrażenie jak wiele wysiłku Doktorantka włożyła w przeprowadzenie niniejszych badań oraz ich analizę. Jestem pod dużym wrażeniem nakładu pracy oraz kompleksowości przeprowadzonych badań. Uważam również, że wyłączenie z analiz epidemiologicznych danych dotyczących trzody chlewnej i ognisk ASF, uczyniłoby pracę bardziej czytelną i przejrzystą, gdyż istnieje pewna niewspółmierność między analizami dotyczącymi ognisk u trzody chlewnej a analizami przypadków u dzików. Te ostatnie badane są w sposób zdecydowanie bardziej szczegółowy, m.in. poprzez analizę miesięcznej, sezonowej i rocznej prevalencji z rozdzieleniem na dziki padłe, powypadkowe i odstrzelone, czy analizę zależności między sezonem a prevalencją. Na str. 102 i 103 należy poprawić „ilość przypadków” na „liczbę przypadków”. Niezależnie od tych drobnych zastrzeżeń, chcę podkreślić, że Doktorantka bardzo dobrze poradziła sobie z przedstawieniem uzyskanych danych i opracowaniem rozdziału „Wyniki”.

Rezultaty badań własnych zostały omówione i skonfrontowane z wynikami innych autorów w rozdziale „Dyskusja”. Doktorantka poprowadziła dyskusję w sposób uporządkowany i umiejętnie zinterpretowała uzyskane wyniki. Na uwagę zasługuje bardzo dobre przygotowanie merytoryczne i zaznajomienie z obszerną literaturą, dzięki czemu Doktorantka fachowo konfrontuje wyniki własne z wynikami innych badaczy. Nie unika polemiki z wynikami odbiegającymi od uzyskanych w badaniach własnych, lecz stara się znaleźć dla tych rozbieżności wytłumaczenie. Rozdział ten napisany jest ciekawie i płynnie przechodzi z jednego analizowanego aspektu w kolejny. Nieliczne błędy stylistyczne, interpunkcyjne oraz niezręczności językowe jak „odporność na działanie czynników zewnętrznych” (str. 180), „zakażone produkty” (str.195) czy „zakażone zlewki” (str. 195) nie odwracają uwagi od omawianych zagadnień. Zdanie kończące str. 202 i rozpoczynające str. 203 wymaga przeredagowania, gdyż jest niejasne.

Przeprowadzone badania pozwoliły Doktorantce na wyciągnięcie 11 szczegółowych wniosków, które zostały dobrze sformułowane i mają pokrycie w uzyskanych wynikach. Wniosek nr 4 musi być przeredagowany, gdyż zawiera niewłaściwe pojęcie epidemiologiczne.

Rozdział „Piśmiennictwo” obejmuje 172 pozycje, z których ponad 60% pochodzi z ostatnich 10 lat. Mankamentem tego rozdziału jest fakt, iż pozycje, w których pierwszym autorem jest ta

Rozdział „Piśmiennictwo” obejmuje 172 pozycje, z których ponad 60% pochodzi z ostatnich 10 lat. Mankamentem tego rozdziału jest fakt, iż pozycje, w których pierwszym autorem jest ta sama osoba (np. str. 218 EFSA, str. 224, 225, 226 Pejsak i wsp.) nie są uszeregowane chronologicznie, co jest praktyką stosowaną w większości międzynarodowych czasopism. Prawdopodobnie uszeregowano je zgodnie z alfabetyczną kolejnością nazwiska kolejnego współautora, ale w mojej ocenie jest to nieczytelne.

Podsumowanie i wniosek końcowy

Przedstawiona do recenzji rozprawa stoi na dobrym poziomie naukowym. Podnoszone wcześniej uwagi krytyczne mają w większości charakter porządkowy i nie budzą zdziwienia biorąc pod uwagę objętość rozprawy doktorskiej. Mają charakter polemiczny i nie wpływają na moją ocenę niniejszej pracy. Zastosowana metodyka odpowiada standardom obowiązującym w tego typu badaniach i nie budzi zastrzeżeń. Doktorantka wykazała dobre opanowanie warsztatu badawczego i dużą sprawność w prowadzeniu badań oraz interpretacji rzetelnie udokumentowanych wyników. Uzyskane wyniki stanowią istotny wkład do dotychczasowej wiedzy na temat wybranych aspektów diagnostyki laboratoryjnej, epidemiologii i oceny ryzyka ASF, choć byłby on cenniejszy, gdyby rozprawa powstała wcześniej. Stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr inż. Edyty Kozak pt. „Afrykański pomór świń – wybrane aspekty diagnostyki laboratoryjnej, epidemiologii i oceny ryzyka”, odpowiada wymogom określonym w art. 13 ust. 1 Ustawy o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003 r. (Dz. U. Nr 65, poz. 595 z późn. zm.). Przedkładam zatem Radzie Naukowej Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach wniosek o dopuszczenie mgr inż. Edyty Kozak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

dr hab. Agata Bancierz-Kisiel, prof. nadzw.

