

Recenzja

**Rozprawy doktorskiej mgr Małgorzaty Juskiewicz, na temat
„Charakterystyka aktywności wirusobójczej wybranych środków dezynfekcyjnych w
stosunku do wirusa afrykańskiego pomoru świń”,
wykonanej w Państwowym Instytucie Weterynaryjnym pod kierunkiem
prof. dr hab. Grzegorza Woźniakowskiego oraz dr Katarzyny Podgórskiej**

Afrykański pomór świń (ASF) jest obecnie chorobą świń w największym stopniu wpływającą na produkcję wieprzowiny i międzynarodowy obrót trzodą chlewną oraz produktami pochodzenia wieprzowego. Niestety, ze względu na brak szczepionek przeciw ASF metody kontroli i zwalczania zakażeń wirusem ASF (ASFV) ograniczają się do działań administracyjnych zmierzających do podniesienia poziomu bioasekuracji zewnętrznej ferm świń, szybkiego wykrywania i likwidacji ognisk choroby, a także ograniczania szerzenia się zakażeń w populacji dzika. We wszystkich tych działaniach kluczową rolę odgrywa właściwie prowadzona dezynfekcja. W związku z powyższym przedmiot i temat recenzowanej pracy doktorskiej mgr Małgorzaty Juskiewicz „Charakterystyka aktywności wirusobójczej wybranych środków dezynfekcyjnych w stosunku do wirusa afrykańskiego pomoru świń”, należy uznać za w pełni uzasadniony i ważny ze względów naukowych jak i z punktu widzenia praktyki lekarsko-weterynaryjnej.

Omówienie i ocena pracy

Układ redakcyjny ocenianej dysertacji odpowiada wymogom stawianym pracom naukowym. Zawiera ona spis treści, wykaz publikacji stanowiących rozprawę doktorską, wykaz skrótów, cele pracy, opis metodyki, opis uzyskanych wyników, dyskusję, wnioski, streszczenie w języku polskim i angielskim, bibliografię, oraz publikacje wchodzące w skład rozprawy doktorskiej. Dysertacja została oparta na cyklu publikacji wieloautorskich, trzech oryginalnych i jednej przeglądowej. Dwie prace opublikowano w czasopiśmie Pathogens (obecnie IF3,492), i po jednej w czasopismach o niższej randze naukowej: Polish Journal of Veterinary Sciences i Journal of Veterinary Research. We wszystkich pracach pierwszym autorem jest Doktorantka co dowodzi kluczowej roli Autorki w ich powstaniu.

Dysertację rozpoczyna obszerny wstęp liczący 16 stron. Przedstawiony jest w nim rys historyczny i aktualna sytuacja epizootyczna w zakresie ASF, biologia ASFV a także opis metod stosowanych w zwalczaniu choroby. Ta część pracy wskazuje na dobrą znajomość przez Doktorantkę tematyki choroby, jednak wydaje się, że większa część treści jest jedynie pośrednio związana z przedmiotem jej badań, to jest aktywnością wirusobójczą środków chemicznych i naturalnych. Wprowadzenie do tak rozumianego przedmiotu badań jest zawarte w podrozdziale 1.5.4.1 Dezynfekcja, liczącym jedynie 2 strony, pozostawia pewien niedosyt. Doktorantka przedstawia w nim ogólne zasady prowadzenia dezynfekcji pomieszczeń dla zwierząt, wymagania stawiane środkom dezynfekcyjnym oraz wykaz związków chemicznych powszechnie uznawanych za skuteczne przeciw ASFV. Skuteczność wielu z nich była poddana badaniom (wymieniono pięć pozycji piśmiennictwa), co najwyraźniej zostało uznane za niewystarczające i skłaniające do podjęcia dalszych badań. Należy żałować, że Doktorantka we wstępie szerzej nie podkreśliła braków dotychczas przeprowadzonych badań, co jeszcze lepiej uzasadniałoby podjęcie własnego projektu. Takie uzasadnienie znajduje się na stronie 3 pracy 1.2, gdzie Autorka podkreśla, że wcześniej przeprowadzone badania dotyczyły oceny skuteczności środków dezynfekcyjnych na powierzchniach poddanych suszeniu, i że taka procedura nie jest formalnie zaakceptowana do kwalifikacji przydatności środków w sektorze weterynaryjnym. Niedosyt pozostawia również uzasadnienie podjęcia badań na wirusobójczą aktywnością ekstraktów roślinnych zawarte we wstępie. Szerokie uzasadnienie znajduje się we wstępie pracy 1.3.

Cztery cele pracy doktorskiej przedstawiono na stronie 24. Obejmowały one określenie skuteczności wybranych, dostępnych w handlu środków dezynfekcyjnych, związków chemicznych rekomendowanych przez OIE jako składniki środków dezynfekcyjnych, a także ocenę aktywności wirusobójczej wybranych ekstraktów roślinnych. Na kolejnych 13 stronach zamieszczono dość szczegółowe omówienie metodyki badań, wyniki oraz dyskusję, podsumowującą treść zawartą w trzech pracach oryginalnych stanowiących zasadniczą część rozprawy. Może poszerzyć to grono polskich czytelników pracy, co jest istotne ze względu na duży potencjał praktyczny przeprowadzonych badań.

Doświadczenia opisane w pracy mające na celu ocenę aktywności wirusobójczej wybranych środków dezynfekcyjnych wykonano w warunkach laboratoryjnych, in vitro zgodnie z normą PN-EN 14675:2015. Wykorzystano w tym celu jeden szczep ASFV zaadaptowany w do linii komórkowej Vero, którego pulę „zanieczyszczano” dodatkiem albuminy bydlęcej oraz ekstraktu drożdżowego, co miało symulować warunki naturalne w jakich działają środki

dezynfekcyjne. Skuteczność środka dezynfekcyjnego określano poprzez mianowanie ASFV po 30 minutowej inkubacji z roztworem dezynfekcyjnym. W przypadku stwierdzenia toksycznego wpływu środka dezynfekcyjnego dla hodowli komórkowej podejmowano próby jego eliminacji przed mianowaniem wirusa.

Prace 1.1 i 1.2 dotyczyły standardowych przeciwwirusowych środków dezynfekcyjnych i substancji czynnych, a więc uzyskane wyniki nie były zaskakujące i większość środków okazała się skuteczna przeciw ASFV. Zastanawiające są wnioski dotyczące aldehydu glutarowego, o którym w pracy 1.1 napisano, że przy wyższych rozcieńczeniach jego aktywność biobójcza jest niewystarczająca. Z kolei w pracy 1.2 wykazano jego skuteczność we wszystkich rozcieńczeniach. Można żałować, że w pracy 1.1 nie podano nazw handlowych przebadanych preparatów. Uzyskane wyniki mają bowiem znaczenie dla ich końcowego użytkownika. Niestety, w publikacjach ograniczono się do ogólnego omówienia poziomu redukcji miana wirusa w wyniku działania środków dezynfekcyjnych nie badając statystycznej istotności różnic w ich aktywności wirusobójczej.

Praca 1.3 dotyczyła badania wirusobójczej aktywności 14 ekstraktów roślinnych. Mimo, że niektóre z badanych ekstraktów opisano wcześniej jako posiadające właściwości przeciwwirusowe, działanie to nie było wystarczające się w odniesieniu do ASFV. Efekt ten zaobserwowano jedynie w przypadku ekstraktu mięty pieprzowej. Z pewnością uzyskane wyniki są interesujące i w przyszłości podobne badania powinny być rozszerzone na inne wirusy, a także w kierunku wyjaśnienia mechanizmu działania naturalnych środków wirusobójczych przeciw drobnoustrojom o różnej budowie. Doktorantka wskazuje ekstraktu mięty pieprzowej jako kandydata „na środek dezynfekcyjny przeciw ASFV”. O ile tego typu środki naturalne mogą znaleźć zastosowanie w pewnych sytuacjach klinicznych dotyczących człowieka czy zwierząt towarzyszących, czy jako dodatki do pasz, ich zastosowanie w odniesieniu do chorób zwalczanych z urzędu, o takim znaczeniu jak ASF, wydaje się mało prawdopodobne, po części ze względów administracyjnych.

Przeglądowa praca 1.4 stanowi bardzo ciekawe i wartościowe podsumowanie aktualnego stanu wiedzy na temat skuteczności środków dezynfekcyjnych w walce przeciw ASF, będąc lepszym wprowadzeniem do tematu badań niż skromny podrozdział 1.5.4.1.

Rozprawę podsumowuje 6 wniosków. Wniosek 3 („w obecności dodatkowych związków organicznych zawartych w BSA oraz ekstrakcie drożdżowym, podczas symulowanych warunków wysokiego zanieczyszczenia obserwowano wzrost miana ASFV”) jest niejasny. Być

może Doktorantka miała na myśli to, że zanieczyszczenia białkowe ograniczają skuteczność działania środków dezynfekcyjnych, czy raczej to, że w badaniach aktywności wirusobójczej *in vitro* dodatek roztworów białka symulujący silne zanieczyszczenie stymuluje replikację ASFV w linii komórkowej Vero. co może wpływać na ocenę takiej substancji? Czy ta różnica była statystycznie istotna? Wniosek 4 dotyczący konieczności czyszczenia i mycia powierzchni przed zastosowaniem środka dezynfekcyjnego można by pominąć gdyż dotyczy ogólnie znanych zasad. W opinii recenzenta w pracy brakuje bardziej ogólnego wniosku podkreślającego dobrą skuteczność przeciw ASFV powszechnie dostępnych środków dezynfekcyjnych, a wszelkie udokumentowane niepowodzenia w ich aplikacji wynikają z niewłaściwego stosowania. Problem ten dotyczy zresztą wszystkich chorób zakaźnych świń i innych gatunków zwierząt domowych, szczególnie wywoływanych przez wrażliwe na dezynfekcję wirusy otoczkowe. Niewłaściwe stosowanie zasad czyszczenia, mycia u dezynfekcji pomieszczeń i środków transportu jest często przyczyną niezadowalających efektów programów zwalczania chorób zakaźnych.

Z obowiązku recenzenta dodam, że analiza spisu piśmiennictwa ujawniła pewne braki jeśli chodzi o kompletność poszczególnych pozycji, uniemożliwiający dotarcie do cytowanych prac, takie jak brak pełnego tytułu artykułu i nazwy czasopisma (np. pozycje 72 i 98), brak danych bibliograficznych (pozycja 114) czy brak nazwy czasopisma (pozycje 30 i 57).

Wniosek końcowy

Mgr Małgorzata Juskiewicz zrealizowała nakreślone w celach rozprawy zadania badawcze i uzyskała wyniki, które stanowią oryginalny i wartościowy wkład Autorki w rozwój wiedzy na temat możliwości postępowania w celu ograniczenia szerzenia się ASF. Na szczególne podkreślenie zasługuje fakt, że dwie z czterech prac ukazały się w czasopiśmie naukowym o wysokiej randze dla dyscypliny weterynaria.

Recenzowana dysertacja spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim w świetle przepisów ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789). Przedkładam zatem Radzie Naukowej Państwowego Instytutu Weterynaryjnego w Puławach wniosek o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie Doktoranta do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. Tomasz Stadejek

