



## **Recenzja rozprawy doktorskiej lek. wet. Kamili Natalii Dziadek**

Niniejsza recenzja rozprawy doktorskiej została przygotowana w odpowiedzi na pismo Dyrektora Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach, prof. dr hab. Stanisława Winiarczyka z dnia 20 lutego 2026 roku. Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska pt. „Zmienność genetyczna wirusa grypy ptaków u różnych gatunków drobiu” została przygotowana przez lek. wet. Kamilę Natalię Dziadek pod kierunkiem dr hab. Krzysztofa Śmietanki, profesora instytutu, przy współdziałaniu promotora pomocniczego dr Edyty Świętoń. Badania zostały przeprowadzone w Państwowym Instytucie Weterynaryjnym - Państwowym Instytucie Badawczym w Puławach. Badania zostały sfinansowane ze środków Narodowego Centrum Nauki w ramach projektu SHENG.

### **Formalny opis rozprawy**

Rozprawa doktorska została przygotowana w języku polskim i obejmuje 158 stron tekstu zasadniczego, bibliografię oraz załączoną publikację naukową. Ma ona charakter monografii z dołączoną publikacją oryginalną stanowiącą integralną część pracy oraz z zestawem oświadczeń współautorów. Załączona praca pt. „Phylogenetic and Molecular Characteristics of Wild Bird-Origin Avian Influenza Viruses Circulating in Poland in 2018-2022: Reassortment, Multiple Introductions, and Wild Bird-Poultry Epidemiological Links” została opublikowana w czasopiśmie *Transboundary and Emerging Diseases*. Z przedstawionych oświadczeń wynika wiodący udział doktorantki w przygotowaniu publikacji, obejmujący opracowanie koncepcji i metodyki, realizację badań, analizę danych oraz przygotowanie manuskryptu.

Układ rozprawy jest logiczny i przejrzysty. Część opisowa obejmuje streszczenie w języku polskim i angielskim, wykaz publikacji, oświadczenia dotyczące wkładu współautorów, wykaz skrótów, obszerny wstęp teoretyczny, cele i hipotezy badawcze, szczegółowy opis materiału i metod, wyniki, dyskusję, wnioski oraz bibliografię. Konstrukcja pracy odpowiada wymogom stawianym rozprawom doktorskim.

### **Ocena merytoryczna**

Tematyka rozprawy jest bardzo aktualna i istotna z punktu widzenia zdrowia zwierząt, bezpieczeństwa biologicznego oraz zdrowia publicznego. W 21. wieku ptasia grypa pozostaje jednym z najważniejszych wirusów w medycynie weterynaryjnej ptaków, a rosnąca liczba zakażeń wirusami H5Nx u zwierząt oraz ich zdolność do przekraczania granic gatunkowych sprawiają, że wracają pytania o możliwość pojawienia się kolejnego wirusa pandemicznego u ludzi. Konsekwentnie, prowadzone badania mają wymiar nie tylko poznawczy, ale również praktyczny. W tym kontekście rozprawa lek. wet. Kamili Dziadek bardzo dobrze wpisuje się w najważniejsze kierunki współczesnej wirusologii weterynaryjnej oraz podejścia One Health. Wstęp do pracy został przygotowany profesjonalnie, w dosyć skrótowej formie, opisując zagadnienie oraz stan wiedzy literaturowej. W dobie dostępu do informacji bardzo cenię takie syntetyczne podejście.

W przedłożonej pracy można zauważyć dwie główne ścieżki badawcze. Po pierwsze, autorka skupiła się na badaniach dotyczących epidemiologii molekularnej wirusów grypy ptaków w Polsce w latach 2018–2022; praca obejmuje analizę filogenetyczną oraz molekularną wirusów LPAI i HPAI u wolno żyjącego ptactwa. Po drugie, autorka w warunkach laboratoryjnych skupiła się na zmianach w populacji wirusów w czasie pojedynczego zakażenia wybranych gatunków drobiu niskozjadliwym wirusem H7N7 pochodzenia dzikiego. Takie połączenie obserwacji terenowych z doświadczeniem zakaźnym i analizą wariantów wewnątrz gospodarza należy uznać za bardzo mocną stronę pracy, która pokazuje szeroki wachlarz badawczy i szerokie rozumienie problemu przez doktorantkę.

Wyniki uzyskane w pracy zostały podzielone na trzy części, które pokrótce omawiam i poddaję ocenie poniżej.

W pierwszej części doktorantka podjęła się oceny zmienności genetycznej wirusów grypy ptasiej w Polsce, ze szczególnym uwzględnieniem dryfu genetycznego, reasortacji oraz pojawiania się nowych markerów o potencjalnym znaczeniu zoonotycznym. Autorka przeprowadziła pełną analizę porównawczą szczepów HPAI i LPAI oraz wykluczyła pojawianie się nowych elementów genetycznych w przypadku szczepów HPAI poprzez reasortację lub rekombinację z materiałem genetycznym szczepów LPAI. Warto zauważyć, że w swojej analizie autorka nie ograniczyła się do oceny filogenetycznej, lecz podjęła próbę identyfikacji markerów genetycznych mogących wpływać na właściwości biologiczne wirusa, co jest istotne dla nadania pracy charakteru aplikacyjnego. Przedstawione wnioski uważam za dobrze uzasadnione i istotne.

W części drugiej wykorzystano model eksperymentalnego zakażenia czterech gatunków drobiu - kur, przepiórek, indyków i kaczek - wirusem LPAI H7N7, a następnie przeprowadzono ocenę siewstwa w oparciu o poziom wirusa w materiale z dróg oddechowych oraz z kloaki. W tej części zabrakło we wstępie do opisu wyników odniesienia do materiałów i metod, przedstawiającego schemat doświadczenia. Pozwoliłoby to na zwiększenie czytelności tekstu. Zabrakło również podejścia mechanistycznego, które umożliwiłoby ocenę przyczyn obserwowanych różnic na poziomie funkcjonalnym, takich jak interakcje z receptorami, koreceptorami i proteazami oraz efektywność replikacji w komórkach danego gospodarza. W obecnej wersji praca ma charakter obserwacyjny i nie stawia kluczowych pytań, a tym samym nie dostarcza na nie potrzebnych odpowiedzi.

W trzeciej części autorka podjęła próbę oceny występowania wariantów mniejszościowych podczas replikacji wirusa opisanego w części drugiej w organizmach różnych gatunków ptaków. Analizę przeprowadzono z wykorzystaniem sekwencjonowania wysokoprzepustowego. Prowadzone badania pozwoliły przejść od klasycznej oceny podatności na zakażenie do bardziej zaawansowanej analizy dynamiki replikacji oraz adaptacji populacji wirusowej. Szczególnie interesujące jest

wykorzystanie entropii Shannona jako miernika zmienności. Autorka wykazała, że w trakcie zakażenia istotną rolę odgrywają warianty mniejszościowe, co dobrze wpisuje się w koncepcję quasi-gatunków oraz wczesnego etapu adaptacji do nowego gospodarza. Za szczególnie wartościowe uważam przeprowadzenie analizy ewolucji konwergentnej, obejmującej ocenę zwiększonej częstości występowania tych samych mutacji pomiędzy gatunkami oraz pomiędzy osobnikami. Na uwagę zasługuje również odniesienie identyfikowanych mutacji oraz zmian ich częstości do danych literaturowych.

Z metodologicznego punktu widzenia praca została zaplanowana starannie. Autorka korzysta z właściwych technik molekularnych i bioinformatycznych, dobrze opisuje postępowanie z materiałem badawczym, a wyniki interpretuje w odniesieniu do literatury. Pozytywnie oceniam również to, że w dyskusji autorka świadomie wskazuje ograniczenia własnych analiz, w tym znaczenie efektu wąskiego gardła, czy możliwy wpływ sposobu inokulacji na obserwowaną różnorodność wirusa.

Za najciekawsze wyniki merytoryczne uważam:

1. Potwierdzenie, że tropizm wirusa zależy od rzędu gospodarza (replikacja w układzie oddechowym u grzebiącego drobiu vs. w układzie pokarmowym u wodnego), co determinuje drogi transmisji.
2. Identyfikację wariantu MP-G950A [M2: D88N], który pojawił się u wszystkich badanych gatunków drobiu, co czyni go interesującym kandydatem do dalszych testów funkcjonalnych.
3. Wykazanie silnej ujemnej korelacji między złożonością populacji a siewstwem wirusa.

Całościowo rozprawa wnosi nową i wartościową wiedzę do dyscypliny. Jej mocną stroną jest zarówno aktualny i istotny problem badawczy, jak i umiejętne połączenie epidemiologii molekularnej, badań zakaźnych BSL3+, sekwencjonowania NGS oraz krytycznej analizy danych. Praca ma wyraźną wartość poznawczą, a także praktyczne znaczenie dla nadzoru nad grypą ptaków oraz przyszłych badań nad adaptacją wirusa ptasiej grypy do nowych gospodarzy. Pewną krytykę czuję się jednak zobowiązany wyrazić wobec braku analizy mechanistycznej, która

pozwoiłaby nie tylko zaobserwować, lecz także lepiej zrozumieć rolę najważniejszych mutacji w kontekście poszczególnych gospodarzy. Analiza taka zmieniałaby całkowicie wartość uzyskanych wyników, zarówno naukową, jak i aplikacyjną.

Chociaż przedstawioną rozprawę oceniam dobrze, mam kilka pytań i uwag dotyczących kwestii merytorycznych, które - w mojej ocenie - mogą stanowić punkt wyjścia do dalszej dyskusji podczas obrony:

1. Dlaczego w części drugiej i trzeciej pracy wykorzystano akurat szczep H7N7?
2. Dlaczego oceniano w części trzeciej liczbę wariantów oraz złożoność populacji wirusowej, natomiast w znacznie mniejszym stopniu śledzono losy poszczególnych mutacji oraz pojawianie się nowych zmian?
3. Czy możliwa jest eksperymentalna ocena roli poszczególnych mutacji w adaptacji do poszczególnych gospodarzy? Proszę o konkretną(e) propozycję.
4. W doświadczeniu zakaźnym zastosowano inokulację donosową, dospójówkową oraz doustną. Taki schemat dobrze naśladuje naturalne drogi zakażenia, ale jednocześnie pojawia się kilka pytań. Po pierwsze, nie jest dla mnie jasne, czy każde zwierzę było zakażone trzema drogami, czy to były osobne grupy? Ponadto przy zakażeniu układu oddechowego następuje przenikanie wirusów wraz ze śliną. W jaki sposób oceniono, na ile warianty w kloace były efektem ewolucji w układzie oddechowym, a na ile w pokarmowym?
5. W części drugiej pracy prowadzono zakażenie trwające 7 dni. Czy w ocenie autorki dłuższa obserwacja lub pasażowanie seryjne wirusa między osobnikami tego samego gatunku mogłoby ujawnić lub lepiej uwypuklić różnice międzygatunkowe w zakresie adaptacji?
6. W badaniach wykazano pozytywną selekcję ( $dN/dS > 1$ ) dla większości segmentów wirusa. W dyskusji na stronie 151 podano interpretację, dlaczego ten segment charakteryzował się najwyższymi średnimi wartościami; czy mogę prosić o spekulację, w jaki sposób zmiany mogą wpływać na strukturę białka i jego funkcję?
7. W dyskusji podkreślono potrzebę uwzględnienia czynników gospodarza, w tym ekspresji genów. Bardzo proszę o rozwinięcie, które parametry odpowiedzi gospodarza (np. receptory, proteazy, odpowiedź odpornościowa, czynniki

restrykcyjne) autorka uważa za najważniejsze dla przyszłych badań wyjaśniających obserwowane różnice tropizmu pomiędzy drobiem grzebiącym a wodnym.

### **Ocena edytorska**

Praca została napisana poprawnym językiem naukowym. Wywód jest logiczny, a część teoretyczna i opis zastosowanych metod tworzą spójną całość z przedstawionymi wynikami i dyskusją. Tabele i ryciny są liczne i w większości czytelne, a bibliografia jest obszerna i dobrze dobrana do omawianego zagadnienia. Największe zastrzeżenia mam do sekcji wyniki, w której brakuje mi wstępów pozwalających na pełne zrozumienie logiki procesu. Chociaż pojawiały się drobne uchybienia edytorskie, nie są one w mojej ocenie warte wspomnienia; są to mankamenty techniczne, które nie wpływają na wartość merytoryczną rozprawy.

### **Podsumowanie**

Rozprawa doktorska lek. wet. Kamili Natalii Dziadek stanowi wartościowy i oryginalny wkład w rozwój wirusologii weterynaryjnej oraz badań nad grypą ptaków. Autorka wykazała się bardzo dobrą znajomością literatury, umiejętnością samodzielnego planowania badań, właściwym doбором metod molekularnych i bioinformatycznych oraz dojrzałością w interpretacji uzyskanych wyników. Przedstawione badania mają znaczenie zarówno poznawcze, jak i praktyczne, szczególnie w kontekście monitoringu wirusa ptasiej grypy i oceny ryzyka epidemiologicznego.

Na podstawie przeprowadzonej oceny stwierdzam, że rozprawa spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce. W związku z tym wnoszę o dopuszczenie lek. wet. Kamili Natalii Dziadek do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora.

Z wyrazami szacunku,