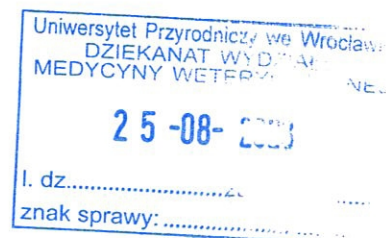


Lublin, 02. 08. 2023.

Prof. dr hab. Krzysztof Lutnicki
Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych Zwierząt
Zakład Chorób Wewnętrznych Zwierząt Gospodarskich i Koni
Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UP w Lublinie.



Recenzja rozprawy doktorskiej

lek. wet. Krzysztofa Blicharskiego z Zakładu Immunologii i Prewencji Weterynaryjnej, Katedra Immunologii, Patofizjologii i Prewencji Weterynaryjnej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UP we Wrocławiu, pt.: „*Pasywna immunoterapia i immunoprofilaktyka innowacyjną surowicą skierowaną przeciwko rHSP60 i rOMP40 oraz koniugatom tych białek z oligosacharydem LPS*”, wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. Tadeusza Stefaniaka. Promotor pomocniczy – dr hab. Paulina Jawor. Recenzja została przygotowana zgodnie z wytycznymi Ustawodawcy, w związku z powierzeniem mi funkcji recenzenta.

Podstawą formalną wykonania recenzji jest pismo Przewodniczącego Rady Dyscypliny Weterynaria prof. dr hab. Wojciecha Niżańskiego z dnia 30.05.2023 r.

Choroby przychówka, szczególnie o etiologii bakteryjnej i wirusowej, stanowią nie tylko problem diagnostyczny i terapeutyczny, ale również istotny z punktu widzenia szeroko rozumianej ochrony zdrowia stada. Syndrom oddechowy bydła (BRD) jest przyczyną ogromnych strat w stadach bydła. Poszukiwanie nowych możliwości skutecznego leczenia tego zespołu chorobowego są w centrum zainteresowań naukowców i praktyków, szczególnie w aspekcie możliwości odchodzenia od antybiotykoterapii. Badania i wnioski Doktoranta przedstawione w recenzowanej dysertacji są jak najbardziej aktualne i ważne z punktu widzenia profilaktyki i terapii.

Przedstawiona do oceny praca doktorska liczy łącznie 88 stron wydruku komputerowego, zawiera 122 pozycje piśmiennictwa i 21 tabel. Układ edytorski jest typowy dla tego rodzaju prac na stopień, z wyraźnym podziałem na rozdziały: wstęp, cel pracy, materiał i metody, wyniki z analizą statystyczną, dyskusję, wnioski, streszczenia w języku polskim i angielskim oraz piśmiennictwo. Zastosowane numerowane podrozdziały zarówno w

spisie treści, jak i odpowiednio w każdym rozdziale, ułatwiają przeglądanie pracy i poszukiwanie treści interesujących czytającego. Praca jest napisana poprawnym językiem polskim, również poprawna stylistycznie. Tytuł odzwierciedla dokładnie treść pracy. Podjęte przez Doktoranta badania są aktualne zarówno w perspektywie badawczej, jak i terapeutycznej. Dotyczą poszukiwań i doskonalenia metod diagnostyczno-terapeutycznych w chorobach cieląt, szczególnie BRD. Proporcje poszczególnych rozdziałów są prawidłowe. Można uznać, że praca jest rzetelnym opracowaniem otrzymanych wyników badań.

Rozdział pierwszy poprzedza wykaz skrótów używanych w dysertacji, który zawiera jedynie rozwinięcie nazw angielskich, nie przytaczając jednocześnie ich polskich odpowiedników. Niektóre z nich są zbyt techniczne, gdyż są powszechnie używane. Jest to niewątpliwie niedopatrzenie, które należy poprawić przy dalszych publikacjach pracy. Krótkie streszczenie w języku polskim i angielskim znajdujemy na końcu dysertacji.

Wstęp w całości dotyczy bezpośrednio tematu pracy. Moim zdaniem jest bardzo lapidarny i merytoryczny, wprowadza bezpośrednio w zagadnienia poruszane w dysertacji i uzasadnia wybór tematu pracy.

Z obowiązku recenzenta należy zauważyć, że we wstępie pkt. 2.1 na samym początku lepiej było by użyć polskiego znaczenia skrótu BRD jako zespół oddechowy bydła. Na str. 9. (2.2) brak słowa „strony” w przedostatniej linijce tekstu, co należy traktować jako oczywiste niedopatrzenia. Reasumując, całość podrozdziałów od 2.2 do 2.5 należy uznać za bardzo dobre opracowanie.

Cel pracy jest przedstawiony jasno i nie budzi wątpliwości. Podstawowym celem badań była ocena wartości ochronnej surowicy odpornościowej zawierającej przeciwciała anti-rHsp60 *Histophilus somni*, anti-rOMP40 *Histophilus somni* i anti-koniugatom rdzeni LPS *Actinobacillus pleuropneumoniae* z białkami rHsp60 *Histophilus somni* i rOMP40 *Histophilus somni* oraz możliwości zastosowań preparatu w praktyce weterynaryjnej. Bardziej szczegółowy opis celów znajdujemy po raz kolejny w rozdziale Dyskusja.

Rozdział Materiał i Metody zawiera szeroki zakres badań, które wymagały wiedzy i umiejętności swobodnego posługiwania się różnymi technikami analitycznymi. Praca powstała w ramach grantu NCBR: PBS3/A8/33/2015. Autor podjął tu trudną i w sumie udaną próbę uzyskania i następnie oceny nie tylko wartości ochronnej innowacyjnej surowicy odpornościowej, ale również jej zastosowań. Całość badań została zaprojektowana i wykonana poprawnie pod względem metodycznym, stosownie do założeń pracy, co pozwala stwierdzić, że przedstawiona do oceny praca doktorska została wykonana rzetelnie. Godnym

podkreślenia jest dbałość o warunki doświadczenia i obszerna dokumentacja. Moim zdaniem zbyt lapidarnie potraktowano opis badań sekcyjnych padłych zwierząt i ich wyniki.

Wyniki badań przedstawiono w formie nie budzącej zastrzeżeń, zilustrowano za pomocą bardzo szczegółowych metod graficznych, które zostały zamieszczone w treści. Dane w tabelach analizowane osobno, bez posługiwania się tekstem pracy są jasne i zrozumiałe. Nie zawierają nadmiaru oznaczonych wartości i nie dublują danych oraz odzwierciedlają uzyskane wyniki badań, które przedstawiono w prawidłowych jednostkach i poddano analizie statystycznej przy użyciu odpowiednich programów. W badaniach najwięcej przypadków chorób układu oddechowego wystąpiło w grupie cieląt otrzymujących surowicę od krów nieimmunizowanych. Liczba zachorowań, w grupie gdzie stosowano surowicę od krów immunizowanych, była istotnie niższa. Otrzymane wyniki niewątpliwie posłużą jako materiał wyjściowy do dalszych opracowań, gdyż rozdział ten jest bardzo obszerny, co wynika z bardzo rozbudowanego doświadczenia.

Analiza statystyczna wyników jest bardzo obszerna i szczegółowa. Użyte metody matematycznej analizy statystycznej należy uznać za właściwe i rzetelne.

Dyskusja posłużyła Autorowi do interpretacji uzyskanych wyników, ich ocenie i porównaniu z pracami innych badaczy. Doktorant podejmując dyskusję na tle doświadczeń własnych i dostępnego piśmiennictwa właściwie interpretuje swoje wyniki. Jest to najmocniejsza moim zdaniem część dysertacji, zawierająca wiele odniesień do piśmiennictwa i zderzeń uzyskanych wyników z danymi literatury. Na 10 stronach dyskusji Doktorant zawarł szereg spostrzeżeń bardzo istotnych dla ochrony zwierząt przed zakażeniem. W rozdziale tym znajdujemy również wyjaśnienia dotyczące walidacji oceny wartości siary mierzone różnymi metodami w czasie, gdzie zwraca uwagę na rolę czynnika ludzkiego w prawidłowym budowaniu odporności biernej cieląt. Cenne jest wykazanie wysokiej aktywności przeciwciał wobec antygenów rHsp60 *H. somni* oraz OMP40 *H. somni* otrzymanej surowicy eksperymentalnej, jak również pokazanie celowości immunizacji nie jednego osobnika, a grupy zwierząt w celu uzyskania odpowiednio wysokich średnich poziomów swoistych przeciwciał do produkcji surowicy odpornościowej. U zwierząt zakażonych doświadczalnie *H. somni* odkryto również współzależność pomiędzy intensywnością objawów chorobowych, a poziomami IgG1 oraz IgG2. Wysokie miana przeciwciał, szczególnie w podklasie IgG2 mogą mieć szczególny wpływ na ochronną wartość surowicy eksperymentalnej w zastosowaniu terenowym. Podanie eksperymentalnej surowicy odpornościowej znacząco wpłynęło na ograniczenie zachorowalności cieląt z objawami ze strony narządu



oddechowego. U cieląt otrzymujących surowicę objawy chorobowe ustępowały znacznie szybciej. Podskórne podanie surowicy eksperymentalnej, jako uzupełnienie leczenia infekcji dróg oddechowych, skróciło u cieląt występowanie objawów klinicznych choroby. Dzięki połączeniu w leczeniu surowicy z antybiotykami, uzyskano szybki zmniejszenie nasilenia choroby oraz zwiększył się odsetek cieląt, które były zdrowe. Autor odniósł się również do wartości diagnostycznej badania Białek Ostrej Fazy w początkowym i zaawansowanym stadium zakażeń. Wysokie stężenie SAA w zestawieniu z pozostałymi BOF, brakiem istotnych zmian stężenia immunoglobulin w kolejnych terminach oraz niewielkim odsetkiem pełnoobjawowych przypadków chorób narządu oddechowego, pozwala przypuszczać, że cielęta zabezpieczane surowicą odpornościową dobrze broniły się przed patogenami, zaś infekcja przyjmowała podkliniczną formę. Haptoglobina (Hp) nie jest zbyt czułym białkiem do wykrywania BRD. W podsumowaniu dyskusji Doktorant stwierdza, że wielokrotna immunizacja krów prowadzi do wytworzenia wysokiego poziomu swoistych przeciwciał, a użycie surowicy wyprodukowanej w wyniku hiperimmunizacji krów zmniejszyło liczbę zachorowań cieląt podczas okresu odchowu. Z kolei podskórne zastosowanie tej surowicy, jako uzupełnienie leczenia antybiotykami i lekami przeciwzapalnymi infekcji dróg oddechowych u cieląt skróciło nasilenie występowania objawów klinicznych i przyspieszyło proces zdrowienia.

Analiza uzyskanych wyników badań pozwoliła Doktorantowi na wyciągnięcie 8 wniosków . Stanowią one istotne korzyści zarówno dla lekarzy- praktyków, jak i badaczy zajmujących się tą problematyką. Wniosek 8 można z powodzeniem dołączyć do któregoś z poprzednich, doprecyzowania wymaga określenie, którego z wniosku dotyczy uzyskany efekt stosowania surowicy.

Bibliografia jest adekwatna i aktualna, a bardzo szeroki zakres cytowanego piśmiennictwa świadczy o umiejętności poszukiwania materiałów bibliograficznych i korzystania z nich.

Streszczenia w języku polskim i angielskim nie zawierają powtórzeń tytułu i informują o celu pracy, metodach, uzyskanych wynikach oraz wnioskach.

Wszystkie uwagi recenzenta nie umniejszają merytorycznej wartości pracy, którą oceniam wysoko. Reasumując należy podkreślić trafność wyboru tematu, prawidłowe przygotowanie i przeprowadzenie badań oraz potencjalne możliwości wykorzystania tych badań w praktyce. W związku z tym rekomenduję Wysokiej Radzie nagrodzenie dysertacji stosowną nagrodą.

Stwierdzam, że oceniana dysertacja spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim, w pełni odpowiada warunkom określonym w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. O stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2017 r. poz. 1789 ze zm.)

W związku z powyższym przedstawiam Wysokiej Radzie wniosek o przyjęcie rozprawy doktorskiej oraz dopuszczenie lek. wet. Krzysztofa Blicharskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

