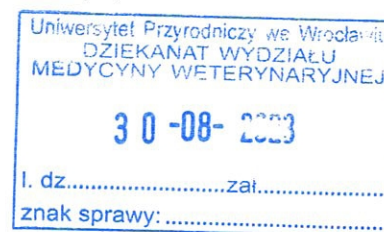


Prof. dr hab. Przemysław Sobiech  
Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką  
Wydział Medycyny Weterynaryjnej UWM Olsztyn

Olsztyn, 1.08.2023



### RECENZJA rozprawy doktorskiej

**lek. wet. Krzysztofa Blicharskiego z Zakładu Immunologii i Prewencji Weterynaryjnej, Katedry Immunologii, Patofizjologii i Prewencji Weterynaryjnej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UP we Wrocławiu, pt.: „Pasywna immunoterapia i immunoprewencja innowacyjną surowicą skierowaną przeciwko rHSP60 i rOMP40 oraz koniugatam tych białek z oligosacharydem LPS ”, wykonanej pod kierunkiem Promotora prof. dr hab. Tadeusza Stefaniaka i Promotora pomocniczego – dr hab. Pauliny Jawor, prof. Uczelni.**

Recenzja została wykonana zgodnie z uchwałą Rady Dyscypliny Weterynaria Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu z dnia 30.05. 2023 r.

Choroby cieląt, szczególnie tła zakaźnego powodują bardzo duże straty w hodowli i stanowią poważne wyzwanie dla lekarzy weterynarii. Najczęstszą przyczyną upadków cieląt w okresie neonatalnym są choroby przebiegające z objawami biegunki oraz schorzenia układu oddechowego. Wśród tych ostatnich należy na pierwszym miejscu wymienić syndrom oddechowy bydła (BRD) będący konsekwencją złożonej zależności między wieloma patogenami wirusowymi i bakteryjnymi, jak również czynnikami środowiskowymi i predyspozycjami zwierząt, co prowadzi do osłabienia mechanizmów obronnych i ułatwia rozprzestrzenianie się patogenów. Wśród wielu czynników ryzyka wystąpienia BRD należy przede wszystkim wymienić obecność patogenów narządu oddechowego, złe warunki zoohigieniczne, brak izolacji zwierząt, błędy w stosowaniu antybiotykoterapii, sytuacje stresowe czy nie stosowanie programów immunoprewencyjnych. U cieląt BRD może objawiać się zapaleniem górnych dróg oddechowych, ale najczęściej związane jest z zapaleniem oskrzeli, oskrzelików i płuc, a głównymi patogenami odpowiedzialnymi za proces choroby są *Manheimia hemolytica*, *Histophilus somni* i *Pasteurella multocida*. Na szczególną uwagę w leczeniu i zapobieganiu BRD zasługuje stosowanie immunoprewencji, zwłaszcza w dobie coraz większej antybiotykooporności bakterii i związanego z tym dążenia do ograniczenia stosowania antybiotyków

Recenzowana praca doktorska lek. wet. Krzysztofa Blicharskiego bardzo dobrze wpisuje się w tę tematykę, gdyż głównym jej celem była produkcja i zbadanie właściwości innowacyjnej surowicy odpornościowej zawierającej przeciwciała anty-rHsp60 *Histophilus somni*, anty-rOMP40 *Histophilus somni* i anty-koniugatom rdzeni LPS *Actinobacillus pleuropneumoniae* z białkami rHsp60 *Histophilus somni* i rOMP40 *Histophilus somni* w zastosowaniu profilaktycznym u cieląt w pierwszej fazie odchowu oraz jako preparatu wspomagającego leczenie u nich BRD o różnym stopniu nasilenia.

Recenzowana praca ma układ typowy dla rozpraw doktorskich, zawiera 88 stron tekstu, w tym rozdziały takie jak: wstęp, cel pracy, materiał i metody, wyniki badań, dyskusja, wnioski, bogate piśmiennictwo (przedstawione na 12 stronach i liczące w sumie 122 pozycje) oraz streszczenie w języku polskim i angielskim. Dokumentacja graficzna wyników badań została przedstawiona w postaci 22 tabel i 3 rycin zamieszczonych bezpośrednio w tekście, którego dotyczą, a nie w osobnym rozdziale na końcu dysertacji, przed spisem piśmiennictwa zawierającego cytowane pozycje literaturowe, co pozwala na łatwe śledzenie wyników doświadczenia. Proporcje poszczególnych rozdziałów są prawidłowo zachowane, zastosowane podrozdziały zarówno w spisie treści jak i odpowiednio w każdym rozdziale ułatwiają poszukiwanie fragmentów tekstu interesujących czytającego.

Tytuł recenzowanej rozprawy doktorskiej jasno odzwierciedla cel zaplanowanych badań, który został właściwie zrealizowany. We wstępie, liczącym 10 stron, Doktorant omawia najistotniejsze aspekty związane z przyczynami, antybiotykoterapią i stratami powodowanymi przez syndrom oddechowy cieląt, porusza zagadnienia dotyczące wspomagania obu rodzajów odporności oraz szczegółowo omawia rolę siary w zapewnieniu właściwej ochrony cieląt w okresie po urodzeniowym.

Doktorant słusznie zauważa, że BRD na całym świecie prowadzi do ogromnych strat związanych przede wszystkim ze zwiększoną śmiertelnością cieląt, ich spowolnionym wzrostem, a w późniejszym okresie trudnościami w zacieleniu, stąd zapobieganie i wspomaganie leczenia tego syndromu poprzez stosowanie stymulacji odporności biernej wydaje się być palącą koniecznością. Wstęp napisany jest starannie, jego charakter merytoryczny nie budzi żadnych zastrzeżeń, a styl pracy jest bardzo przejrzysty i klarowny dla czytającego. Sposób przekazywania treści zawartych w tym rozdziale świadczy o dobrym przygotowaniu teoretycznym Doktoranta, szerokiej znajomości aktualnego piśmiennictwa oraz właściwym doborze cytowanych pozycji. W dalszej części pracy Doktorant formułuje jasno sprecyzowany cel badawczy i następnie opisuje materiał i metody. Doświadczenie zostało przeprowadzone na właściwie dobranej liczbie krów i cieląt, harmonogram badań nie

budzi zastrzeżeń, a użyte metody badań laboratoryjnych są wiarygodne, nowoczesne i adekwatne do stosowanych w innych badaniach tego typu opisywanych w literaturze. Na uwagę zasługuje także fakt, że praca powstała w ramach grantu NCBR o numerze PBS3/A8/33/2015, co świadczy o jej dużym aspekcie zarówno naukowym jak i aplikacyjnym. Należy także podkreślić dużą dbałość Doktoranta o warunki doświadczenia i zamieszczenie w pracy obfitej dokumentacji. Metody statystyczne użyte do analizy wyników są właściwie dobrane, natomiast sama analiza jest bardzo obszerna i szczegółowa.

W swojej pracy Doktorant wykazał, że podskórna immunizacja była użyta szczepionką wzbudza dużą odpowiedź immunologiczną wyrażającą się wysoką reaktywnością przeciwciał wobec antygenów rhsp60 oraz rOMP40 *H. somni*. Bardzo istotnym osiągnięciem Doktoranta było udowodnienie, że uzyskana od immunizowanych krów surowica jest skuteczna w redukcji zachorowań cieląt w okresie neonatalnym i jednocześnie może być dobrym uzupełnieniem antybiotykoterapii oraz leczenia NLPZ w infekcji dróg oddechowych. Badania wykazały także, że w przebiegu BRD dochodzi do wzrostu stężenia SSA, natomiast oznaczanie w tym przypadku haptoglobiny nie dostarcza informacji istotnych dla diagnostyki syndromu.

Opisane w recenzowanej pracy badania pozwoliły Kandydatowi na wyciągnięcie ośmiu wniosków podsumowujących otrzymane wyniki. Wnioski stanowią odpowiedź na postawiony cel badawczy, natomiast całokształt wykonanych badań wnosi dużo do poszerzenia wiedzy o procesach odpornościowych u cieląt oraz ich modulowaniu za pomocą surowic eksperymentalnych. Przedstawioną przez Doktoranta pracę oceniam wysoko, podjęty temat jest niezwykle istotny, uzyskane wyniki za pomocą nowoczesnych metod laboratoryjnych są jak najbardziej wiarygodne i mają nie tylko aspekt naukowy, ale także praktyczny. Doktorant wykazał przydatność i skuteczność stosowania pozyskanej od krów surowicy, a obserwowana aktywacja układu immunologicznego może być dobrym źródłem ochrony przed procesami zapalnymi atakującymi układ oddechowy.

Z obowiązku Recenzenta należy jednak zwrócić uwagę na pewne niedociągnięcia, których nie ustrzegł się Autor w trakcie przygotowywania rozprawy doktorskiej, w większości natury stylistyczno-edytorskiej (uwagi zamieszczono w tekście), których korekta pozwoli na bardziej przejrzystą formę w trakcie ostatecznej publikacji do druku. Poniżej, niektóre z nich:

- w rozdziale dotyczącym przyczyn BRD Doktorant podał jako czynnik etiologiczny bakterie *Trueperella pyogenes* i *Arcanobacterium pyogenes*. Jest

to ta sama bakteria nosząca obecnie obowiązującą nazwę *Trueperella pyogenes*. W cytowanej pracy źródłowej Griffin i wsp. z roku 2010 jako jeden z czynników etiologicznych wymieniona jest bakteria *Arcanobacterium pyogenes*

- w rozdziale „materiał i metody” nie podano wieku krów – dawczyń krwi, które były hiperimmunizowane szczepionką
- na stronie 60 wers 23 widnieje zdanie „ są znane jako wysoce konserwatywne, szeroko rozpowszechnione w przyrodzie, wysoce konserwatywne białka” – jest to oczywiste powtórzenie
- na stronie 62 wers 2, 3 i 4 zamieszczono lekko niezrozumiałe zdanie „ ocenę siary powinno przeprowadzać się w warunkach fermowych na przykład przy pomocy siaromierza, co ważne które powinno być zwalidowane, zwłaszcza te w których wykorzystano współczynnik załamania przeliczony w skali Brix”. Prawdopodobnie chodzi o właściwą walidację użytego siaromierza.
- w moim odczuciu zostało wyciągniętych za dużo osobnych wniosków. Wnioski siódmy i ósmy powinny być połączone z wnioskiem piątym, który mógłby przyjąć brzmienie „ profilaktyczne zastosowanie surowicy od immunizowanych krów zmniejszyło liczbę zachorowań podczas odchowu, nie wpłynęło jednak istotnie na polepszenie przyrostów masy ciała cieląt, a uzyskany efekt nie zależał od pory roku.

Wspomniane uwagi mają głównie charakter porządkowy i w żadnym stopniu nie wpływają na bardzo dobrą ogólną ocenę recenzowanej pracy doktorskiej.

Reasumując ocenę całokształtu dysertacji należy podkreślić trafność wyboru tematu, aplikacyjność, prawidłowe przygotowanie i przeprowadzenie oraz szereg wykonanych badań w trudnych warunkach eksperymentu na krowach i cielętach. Wymagało to dużego wysiłku ze strony Doktoranta, co zaowocowało przejrzystością opracowanych wyników i prawidłowo wyciągniętymi wnioskami, mającymi duże znaczenia poznawcze i praktyczne. Uzyskane wyniki badań zostały umiejętnie skonfrontowane ze współczesnym piśmiennictwem dotyczącym tematyki badań. Całość sprawia pozytywne wrażenie dobrze zaplanowanej i przemyślanej procedury badawczej, świadczy o opanowaniu warsztatu i solidności w badaniach.

Stwierdzam zatem, że rozprawa doktorska Pana lek. wet. Krzysztofa Blicharskiego pt. „ *Pasywna immunoterapia i immunoprofilaktyka innowacyjną surowicą skierowaną przeciwko rHSP60 i rOMP40 oraz koniugatom tych białek z oligosacharydem LPS* ” spełnia wszystkie wymagania stawiane rozprawom doktorskim oraz w pełni odpowiada warunkom określonym w art.13 ustawy z dnia 14.03 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki.

W związku z powyższym przedstawiam Radzie Dyscypliny Weterynaria Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu wniosek o dopuszczenie Pana lek. wet. Krzysztofa Blicharskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. Przemysław Sobiech

