

prof. dr hab. Krzysztof Rypuła
Katedra Epizootiologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Wrocław, 30 grudnia 2025 roku

RECENZJA

rozprawy doktorskiej lekarza weterynarii Joanny Turniak
pt.: „**Epidemiologia zakażeń wirusem zapalenia wątroby typu E ptaków (aHEV) w stadach
kur w Polsce w latach 2010 – 2019**”
wykonanej w Katedrze Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej
Instytutu Medycyny Weterynaryjnej
Szkół Główniej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie pod kierunkiem
prof. dr hab. Piotra Szeleszczuka i
dr hab. Beaty Dolka - promotora pomocniczego.

Recenzja pracy doktorskiej wykonana została w oparciu o uchwałę Rady Dyscypliny Weterynarii SGGW w Warszawie z dnia 24 września 2025 roku na podstawie Ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2024, poz. 1571) i pismem Dyrektora Instytutu Medycyny Weterynaryjnej z dnia 3 października 2025 roku.

Temat badawczy podjęty przez Doktorantkę dotyczy występowania zakażeń wirusem zapalenia wątroby typu E ptaków w stadach kur. Zainteresowanie tym drobnoustrojem w skali świata jest duże, bo w okresie od 2010 roku do końca br. roku jest dostępnych 3283 publikacji poświęconych epidemiologii, charakterystyce molekularnej, objawom chorobowym i zapobieganiu zakażeniom u ludzi, zwierząt stałocieplnych oraz ptaków. W Polsce w tym okresie czasu ukazało się 5 publikacji dotyczących epidemiologii, diagnostyki zakażeń wirusem zapalenia wątroby typu E u ptaków.

Wirusowe zapalenie wątroby typu E jest problemem dla zdrowia publicznego na świecie. Światowa Organizacja Zdrowia szacuje, że na świecie występuje 20 milionów zakażeń wirusem zapalenia wątroby typu E (HEV), rodzaj *Paslahepevirus balayani*, przekłada się to na około 3,3 milionów przypadków objawowych i 44 000 zgonów. Według Europejskiego Centrum ds. Zapobiegania i Kontroli Chorób liczba potwierdzonych przypadków HEV u ludzi w Europie stale wzrasta. Wcześniej uważano, że HEV występuje wyłącznie w krajach rozwijających się. Obecnie wiadomo, że to odzwierzęcy czynnik zakaźny występujący w większości krajów rozwiniętych i o wysokich dochodach. Jednak rzeczywista częstość występowania wśród ludzi

nie jest znana ze względu częsty przebieg bezobjawowy lub nierozpoznane zakażenia. W populacji ptaków wirus zapalenia wątroby typu E ptaków występuje powszechnie z różnym nasileniem, głównie związanym z regionem Świata. Dziś panuje powszechny pogląd, że aHEV nie jest chorobotwórczy dla ludzi, to jednak podobieństwo w strukturze genomu aHEV oraz HEV ludzi i świń wynosi 50-60%.

Lekarz weterynarii Joanna Turniak w przedstawionej do oceny rozprawie doktorskiej przedstawiła występowanie przeciwciał p/ko wirusowemu zapaleniu wątroby typu E w stadach reprodukcyjnych kur ras mięsnych (BB), nieśnych (LB) i niosek jaj konsumpcyjnych (CL) oraz jednodniowych brojlerów kurzych, epidemiologię molekularną wirusa oraz przydatność dostępnych technik diagnostycznych w zależności od pobranego/wykorzystanego materiału do badań.

Dysertacja przygotowana została przez Doktorantkę w formie manuskryptu, w powszechnie przyjętym dla tego typu układzie tj.: oświadczenie promotora i autora pracy, spis treści, streszczenie w języku polskim i angielskim, wykaz użytych skrótów, wstęp, założenia i cel pracy, materiał i metody, wyniki, dyskusja, wnioski oraz piśmiennictwo liczące 110 pozycji, spis rycin - 14 i tabel - 56.

We wstępie, Doktorantka przedstawiła rys historyczny, historię zmian w taksonomii rodziny *Hepeviridae*, szczegółową budowę wirusa, patogenezę, objawy kliniczne, także w zestawieniu tabelarycznym, zmiany pośmiertne oraz możliwości diagnostyczne wraz z możliwym leczeniem i profilaktyką nieswoistą.

Założenia i cel pracy Doktorantka zawarła w 4 punktach, które realizowała w latach 2010-2018 (w stadach reprodukcyjnych kur linii mięsnej, nieśnej i nioskach jaj konsumpcyjnych oraz w latach 2010, 2014 i 2019 u jednodniowych brojlerach kurzych. Realizowane badania obejmowały seroprewalencję, epidemiologię molekularną wraz ze zmiennością genetyczną krajowych izolatów aHEV oraz ocenę przydatności do badań zalecanych w piśmiennictwie próbek i metody diagnostyczne oparte na technikach biologii molekularnej.

W rozdziale materiał i metody Doktorantka przedstawiła sposób pobrania, transportowania próbek do badań w łącznej liczbie 5272 próbek surowicy krwi pobranych z 230 stad reprodukcyjnych kur brojlerów, kur niosek i stad kur niosek towarowych oraz 2112 próbek surowicy krwi pochodzących z 92 stad jednodniowych piskląt brojlerów kurzych zlokalizowanych w 12 województwach na terenie Polski. Próbkę te pobierano latach 2010-2019.

Do wykonania badań molekularnych i opisu charakterystyki genetycznej izolatów wirusa pobierano do badań: tkanki i żółć (łącznie 519 próbek) z 48 stad od ptaków w wieku 20-61 tygodnia życia. W celu izolacji wirusa pozyskiwano zarodki kurze ze stada (oznaczonego nr 034), gdzie potwierdzono już obecność materiału genetycznego aHEV w 2012 roku. Ponadto ze stada nr 036, gdzie w tym samym roku rozpoznano chorobę dużej wątroby i śledziony (BLS) pobierano wymazy z kloaki i tchawicy. Pobrany materiał przechowywano do czasu dalszych badań.

W dalszych podrozdziałach 2.2 do 2.5 Doktorantka opisuje sposób ekstrakcji materiału genetycznego, reakcję PCR ze starterami dla fragmentu kodującego helikazę i białko kapsydu w badaniu RT-PCR oraz białko kapsydu (ORF2) w badaniu Real-Time RT-PCR. Próbkę uznano za dodatnią w oparciu o krzywą topnienia przekazywano do sekwencjonowania w GENOMED S.A. w Warszawie.

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej dla określenia związków między wybranymi parametrami (lokalizacja, pochodzenie, wiek ptaków oraz EWW – europejski współczynnik wydajności) przy użyciu powszechnie stosowanych testów statystycznych.

Rozdział wyników został przygotowany przez Kandydatkę jako reasumpcja badań serologicznych w kierunku obecności przeciwciał p/ko wirusowi zapalenia wątroby typu E. Odsetek stad w których wykazano obecność przeciwciał wynosił 96,96%, w tym odsetek surowic dodatnich dla stad reprodukcyjnych kur brojlerów, kur niosek i stad kur niosek towarowych wyniósł 27,77%. Z kolei zestawienie zbiorcze wyników badań w stadach z podziałem na grupy wiekowe potwierdza, iż seroprewalencja wzrasta wraz z wiekiem, tj. w okresie siewstwa i występowania objawów klinicznych. W stadach określanych jako ogniska choroby dynamika narastania przeciwciał skorelowana była z wiekiem (dla stada K1 od 13,04% w 29 tygodniu życia do 69,57% w 54 tygodniu życia i stada K2 od 13,04% w 29 tygodniu życia do 60,87% w 54 tygodniu życia), siewstwem wirusa oraz najprawdopodobniej obecnością objawów klinicznych BLS.

W stadach jednodniowych piskląt brojlerów kurzych seroprewalencja dla aHEV wynosiła 54,35%, przy czym odsetek surowic dodatnich u badanych ptaków w stadach wynosił średnio 7,77% (od 4,35 do 12,44%). W zestawieniu z podziałem na lata badania i województwa w których wykryto najwięcej stad dodatnich odnoszono się do roku 2014. Z tego samego roku Doktorantka przedstawiła tabelaryczne zestawienie obecności przeciwciał p/ko aHEV w stadach rodzicielskich i stadach ptaków brojlerów rzeźnych pochodzących z tych stad wskazując, że w siedmiu grupach badanych obecność przeciwciał w 1-ym dniu życia wykazano w jednym stadzie, a we wszystkich badanych stadach rodzicielskich swoiste przeciwciała stwierdzano między 29 a 48 tygodniem życia.

Kolejny etap badań mający na celu określenie/porównanie metod diagnostycznych w zależności od materiału diagnostycznego wykazał, że badanie RT-PCR z użyciem starterów dla genu kodującego helikazę cechowało się niskim wskaźnikiem wykrywalności niezależnie od wykorzystanego materiału (pęcherzyk żółciowy, żółć, śledziona, wątroba), gdzie procent dodatnich wyników wyniósł 21,68%, a najwyższy odsetek wyników dodatnich uzyskano dla próbek ze ściany pęcherzyka żółciowego (33,33%). Zastosowanie starterów dla wykrycia genu kodującego białko kapsydu techniką Real Time RT-PCR dało 30,07% wyników dodatnich, a najwyższy odsetek wyników dodatnich uzyskano również dla próbek ze ściany pęcherzyka żółciowego (66,67%). Wyniki badania wymazów techniką RT-PCR i Real Time RT-PCR dla starterów genu kodującego helikazę i genu kodującego białko kapsydu uzyskano odpowiednio w 14,28% i 7,14%. Zależność między techniką diagnostyczną a rodzajem materiału pobranego do badania uzyskano tylko dla materiału tkanka oraz żółć gdzie użyto technikę RT-PCR.

Analiza filogenetyczna izolatów (n=83) wykazała przynależność do genotypu 1 (11 sekwencji), genotypu 2 (6 sekwencji) oraz genotypu 3 (11 sekwencji). Dwie sekwencje nie zaliczono do żadnego ze znanych genotypów i określono je jako domniemany nowy genotyp. Badania wykonane przez zespół wrocławski i pochodzące z tego samego okresu wykazały przynależność izolatów do genotypu 2 i 4.

Rozdział omówienie wyników i dyskusja to zebranie przez Doktoranta wyników badań własnych i odniesienie się do wyników uzyskanych przez innych autorów ze Świata, oraz z Polski. Badania wykonane przez lekarz weterynarii Joannę Turniak w ramach założonych celów pracy doktorskiej są badaniami obejmującymi 75% województw w Polsce oraz 230 stadach drobiu, w których potencjalnie możemy spodziewać się obecności wirusa zapalenia wątroby typu E. Seroprewalencją aHEV w tych stadach wynosiła 96,96%, z najwyższym odsetkiem w stadach niosek towarowych (100%), a w dalszej kolejności w stadach rodzicielskich kur niosek (83,33%) i kurcząt brojlerów (50%). Odsetek wyników dodatnich dla pojedynczych badanych próbek był w stadach rodzicielskich kurcząt brojlerów, stadach niosek towarowych i w stadach rodzicielskich kur niosek wyniósł odpowiednio 28,2%, 18,98% i 6,52%.

Doktorantka podejmując się oceny korelacji badań serologicznych i badań techniką biologii molekularnej doszła do wniosku, że analiza takiej korelacji jest nieprzydatna, ponieważ wybranie właściwej techniki diagnostycznej zależy od sytuacji w stadzie, tj. czy mamy zakażenie i objawy kliniczne, czy też nastawiamy się na kontrolę obecności przeciwciał i krążącego w populacji wirusa aHEV. W literaturze brak jest tego typu analiz, na co wskazuje Doktorantka, choć wielu autorów wskazuje na przydatność konkretnej metody diagnostycznej w danej sytuacji.

Końcowe wnioski z przeprowadzonych badań Doktorantka zebrała w 4 punktach, które są odpowiedzią na postawione cele. W podsumowaniu określiła prewalencję zakażenia na poziomie powyżej 96% w badanych stadach, z najwyższym odsetkiem w stadach niosek jaj konsumpcyjnych i najwyższym odsetkiem indywidualnych wyników dodatnich w stadach reprodukcyjnych kur ras mięsnych oraz 54% seroprewalencją w stadach jednodniowych brojlerów kurzych. Najwartościowszą próbką do molekularnych badań diagnostycznych jest ściana pęcherzyka żółciowego i równoczesne wykorzystanie starterów dla wykrycia genu kodującego helikazę i białko kapsydu. Ostatnim wnioskiem jest wynik analizy filogenetycznej badanych szczepów wirusa aHEV określający przynależność izolatów do genotypu 1, 2, 3 oraz tzw. domniemanego nowego typu wirusa aHEV. Nowy genotyp opisali już w 2022 roku naukowcy z Austrii, podając sekwencje w bazie ON922632.1 do ON922634.1, które pochodziły od polskich kur i francuskiego bażanta i nie zostały one ujęte w analizie fiogenetycznej Doktorantki (<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9758205/>).

Niektóre aspekty realizowanych przez Doktorantkę badań i przedstawione w niniejszej dysertacji wyniki wymagają doprecyzowania, stąd też uwagi, jak i pytania.

Dlaczego Doktorantka, jeśli nie jest to pytanie osobiste dopiero teraz przedstawiła wyniki badań? Nawet AI uznało prezentowane wyniki badań w 2025 roku, a pochodzące z lat 2010-2019 za mało aktualne.

Prace określające seroprevalencję przedstawiano w latach 2015-2017 (Matczuk i wsp. 2019) określając seroprevalencję na poziomie 56% w stadach rodzicielskich kurcząt rzeźnych i niosek towarowych. Czy Doktorantka ma wiedzę, czy próbki do badań wykorzystane przez zespół Matczuk i wsp. (Archiv Virology, 2018) i próbki badane przez Autorkę dysertacji pochodziły z tych samych stad?

W rozdziale wstęp omówiono szeroko wiele detali o aHEV, ale ze względu na drogę zakażenia - droga pozioma Autorka dysertacji nie wspomniała o wrażliwości na warunki środowiskowe i przeżywalność w środowisku omawianego czynnika zakaźnego, dlaczego?

Str. 21, 31, 53 i kolejne – używany przez Doktorantkę jest wyraz infekcja/infekcje. Jest polski odpowiednik tego słowa – zakażenie. Znaczenie to samo, ale w języku pisanym, powinniśmy używać polskich znaczeń słów.

Str. 40 – jakie jest uzasadnienie badania surowicy krwi jednodniowych brojlerów kurzych, skoro do naturalnego zakażenia dochodzi w wieku ok 12 tygodni, a wirus i siewstwo stwierdza się u ptaków starszych niż 20 tygodniowe, a postać kliniczną w wieku 24 tygodni. Do 3 tygodnia młode ptaki posiadają przeciwciała matczyne.

Str. 40, 41 – jeśli Doktorantka tytułuje pracę Epidemiologia zakażeń ..., to powinna na początku określić liczbę stad danego profilu hodowli ptaków na terenie danego regionu/województwa, w którym prowadziła badania, a następnie określić liczbę ptaków w badanym stadzie i z tego można określić występowanie przeciwciał p/ko takiemu drobnoustrojowi w stadzie i następnie w regionie. Tym bardziej, że w punkcie 1 celów pracy wskazała, że w analizie poddawać będzie regiony w Polsce. I czy można wyciągać ogólne stwierdzenia, jeśli w tabeli 5 Doktorantka podała wyniki badania dla stada LB, gdzie wskazała, iż pobrano próbki z 2 stad i dla stada CL, gdzie próbki pobrano z 1 lub 2 stad?

Str. 43 – na jakiej przesłankach Doktorantka kwalifikowała/wybierała stada kur do badań w grupie stad brojlerów i stad niosek towarowych, z których następnie pobierała materiał do badań metodą PCR. W manuskrypcie opisano jedynie jakie próbki do badań pobrano, jak je transportowano.

Str. 45 i 46 – w jakich warunkach przechowywano pozyskany materiał do dalszych badań? W opisie metod jest jedynie informacja, że materiał zamrażano.

Str. 54 – czym kierowała się Doktorantka określając poziom istotności badania dla $p < 0,05$ a nie dla $p < 0,01$. Ta wartość decyduje o dokładności badań i uzyskanych wyników?

Str. 54 i 55 – zbyteczny jest tak dokładny opis i uzasadnienie, dlaczego taki test został wybrany do analizy. Wymienione przez Autorkę testy są testami powszechnie wykorzystywanymi w analizach statystycznych (test chi-kwadrat, współczynnik korelacji Pearsona, współczynnik korelacji rang Spearmana).

Str. 62 – jak Doktorantka wytłumaczy zależność istotną statystycznie EWW i obecnością przeciwciał p/ko aHEV?

Str. 103 – trzymanych, raczej powinno być utrzymywanych.

Str. 103 – punkt 5 jest raczej oczywisty, iż endemiczność występowania związana będzie z serokonwersją.

Str. 103 – punkt 6 należy poprawić jest on zwiły i bardzo długi, przez co traci jako punkt podsumowujący jeden z etapów badań.

Str. 104 – Doktorantka nie badała siewstwa i dróg transmisji oraz patogenności wirusa aHEV (punkt 13 i 14), skąd więc te punkty w podsumowaniu wyników badań?

Str. 105 – detekcja, czy wykrycie? Znaczenie potoczne słów jest to samo, ale jak opisano wyżej w publikacjach winniśmy używać słownika polskiego.

W podsumowaniu

Podsumowując stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska pt.: „**Epidemiologia zakażeń wirusem zapalenia wątroby typu E ptaków (aHEV) w stadach kur w Polsce w latach 2010 – 2019**” spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim i odpowiada warunkom określonym w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2024 poz. 1571), tym samym wnioskuję do Wysockiej Rady Dyscypliny Weterynarii Instytutu Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie o dopuszczenie Pani lekarz weterynarii Joanny Turniak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wrocław, 30 grudnia 2025

.....
prof. dr hab. K. Rypuła

ET PRZYRODNICZY
POCŁAWIU
OTIOLOGII Z KLINIKĄ
ZAT EGZOTYCZNYCH
w. pl. Grunwaldzki 45
36 fax 071 320 53 36

315/2026

OPŁATA POBRANA
TAXE PERÇUE - POLOGNE
Umowa z Poczta Polska S.A.
ID nr 610728/D



INSTYTUT MEDYCZNY WETERYNARYJNY
SGGW W WARSZAWIE
UL. NOWOURSYNOWSKA 159
02-776 WARSZAWA

(00)859007734710751682



(00)859007734710751682

(00)859007734710751682



Poczta Polska

Opłata pobrana _____ zł _____ gr

KANCELARIA GŁÓWNA SGGW

2026 -U2- 02

WPŁYNEŁO DNIA -6-

RPW/2117/2026 N

2026