



Wrocław, 20.11.2024 r.

Recenzja pracy doktorskiej lek. wet. Alicji Rakowskiej
pt. „Postać płucna i pozapłucna rodokokozy źrebiąt w wybranych ośrodkach hodowlanych
w obrazie klinicznym i ultrasonograficznym”
zrealizowanej pod kierunkiem dr hab. Lucjana Witkowskiego, prof. SGGW (promotor)
oraz dr Andrzeja Bereznowskiego (promotor pomocniczy)

Podstawę formalną wykonanej recenzji stanowi pismo Przewodniczącego Rady Dyscypliny Weterynarii SGGW w Warszawie, prof. dr hab. Marcina Bańbury z dnia 26 września 2024 r. wraz ze wskazaną w nim uchwałą Rady Dyscypliny Weterynarii Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego z dnia 17 września 2024 r.

Rodokokoza, bakteryjna choroba koni wywoływana przez *Rhodococcus equi*, stanowi istotne zagrożenie dla źrebiąt do 5-6 miesiąca życia, przyczyniając się u nich przede wszystkim do rozwoju późno wykrywalnych zmian płucnych o charakterze ropnym. Notuje się również zróżnicowane, pozapłucne formy zakażenia, związane z formowaniem się ropni w obrębie przewodu pokarmowego, czy krezki, septycznym zapaleniem stawów, kości i szpiku kostnego. Patogenność szczepów *Rhodococcus equi* jest powiązana z występowaniem genów *vap*, kodujących białka VapA (virulence-associated protein A) – występujących u koni, a także VapB (virulence-associated protein B), obecnych u innych gatunków. Geny te nie występują u szczepów awirulentnych. Ze względu na ubikwitalny charakter występowania drobnoustroju w środowisku, zakażenia notowane są na całym świecie, a sprzyjają im wysokie temperatury i susza, co wpisuje się również w aktualny trend notowanych zmian klimatycznych. Istotny jest też ekonomiczny aspekt występowania omawianych zakażeń, związany ze śmiertelnością chorych źrebiąt, wdrażaniem programów nadzoru i zapobiegania chorobie, pozwalających na wczesne wykrywanie zakażeń, diagnostyką, jak również długotrwałym leczeniem. Niepokojące w odniesieniu do rodokokozy są doniesienia Europejskiego Urzędu ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA, The European Food Safety



Authority), który na zlecenie Komisji Europejskiej, badał globalną sytuację w zakresie opornych na środki przeciwdrobnoustrojowe (AMR- antimicrobial resistant) patogenów zwierzęcych, powodujących przenośne choroby zwierząt. Wyniki przeprowadzonej oceny zgodnie z przyjętymi kryteriami nie pozwalają bowiem na jednoznaczną kategoryzację szczepów *Rhodococcus equi*, zgodnie z kryteriami zawartymi w artykule 5 Ustawy „Prawo o zdrowiu zwierząt” (AHL, Animal Health Law) mimo, iż są to jedne z najbardziej istotnych mikroorganizmów AMR notowanych u koni w Unii Europejskiej ze względu na powszechność występowania, ciężki charakter występujących infekcji oraz wysoki poziom oporności na powszechnie stosowane w leczeniu rodokokozy terapeutyki tj. rifampicynę i makrolidy (<https://doi.org/10.2903/j.efsa.2022.7081>). W świetle powyższego uważam, że podjęte przez lek. wet. Alicję Rakowską badania wpisują się w aktualne trendy i są jak najbardziej uzasadnione, zarówno z klinicznego, jak i ekonomicznego punktu widzenia.

Recenzowana praca doktorska liczy wraz z dołączonymi oświadczeniami współautorów 115 stron i zawiera streszczenie w języku polskim i angielskim, spis treści, wstęp, cele pracy, omówienie przeprowadzonych badań oraz wnioski. Układ pracy jest w większości zgodny z ogólnie przyjętym schematem, a streszczenie zwięźle ukazuje wyniki uzyskanych badań, przedstawiając prevalencję choroby wśród badanej grupy koni w oparciu o objawy oddechowe (26%) oraz zmiany wykazane w badaniu ultrasonograficznym (70%). Na zasadniczą część dysertacji doktorskiej składają się spójne tematycznie publikacje w ilości 3 artykułów, pod wspólnym tytułem „*Postać płucna i pozapłucna rodokokozy źrebiąt w wybranych ośrodkach hodowlanych w obrazie klinicznymi i ultrasonograficznym*”. Dwie prace, to prace oryginalne, jedna ma charakter przeglądu; są to publikacje współautorskie, opublikowane w latach 2020-2023 w czasopismach takich jak: *Animals* [100 pkt MEiN]; *Scientific Reports* [140 pkt MEiN] oraz *Veterinary Sciences* [20 pkt MEiN], o łącznej punktacji ministerialnej 260 pkt i sumarycznym IF wyliczonym wg roku publikacji 10,157. We wszystkich trzech publikacjach tj. (1) *Current Trends in Understanding and Managing Equine Rhodococcosis. Animals (Basel). 2020 Oct 18;10(10):1910. doi: 10.3390/ani10101910*; (2) *Investigation of the relationship between pulmonary lesions based on lung ultrasound and respiratory clinical signs in foals with suspected pulmonary rhodococcosis. Sci Rep. 2023 Nov 8;13(1):19401. doi:10.1038/s41598-023- 46833-2*, (3) *Less Typical Courses*



of *Rhodococcus equi* Infections in Foals. Vet Sci. 2022 Oct 31;9(11):605. doi: 10.3390/vetsci9110605, lek. wet. Alicja Rakowska jest pierwszym autorem oraz zgodnie z oświadczeniami współautorów pełniła wiodącą rolę w przeprowadzonych badaniach naukowych (odpowiednio 80%, 65%, 65%), w tym w opracowywaniu koncepcji i metodologii pracy, a także przygotowaniu publikacji.

W rozdziale I nadesłanej do recenzji pracy, zatytułowanym „WSTĘP”, Autorka przedstawia najważniejsze zagadnienia, dotyczące rodokokozy, naświetlając epidemiologiczne i zoonotyczne aspekty występowania bakterii w środowisku, jej patogenność, chorobotwórczość i zachorowalność, związaną z występowaniem objawów klinicznych głównie w okresie okołoodsadzeniowym źrebiąt, zasady leczenia oraz mechanizmy odporności i możliwości stosowania immunoprofilaktyki. Omawiany rozdział zawiera także zwięzły zarys powszechnego algorytmu rozpoznawania choroby, uwzględniającego diagnostykę kliniczną i obrazową rodokokozy oraz stosowane rozstrzygające badania laboratoryjne. Autorka umiejętnie wypunktowuje przy tym wady i zalety każdej z opisywanych metod diagnostycznych, omawiając pokrótce interpretację badań z zastosowaniem USG, badań patomorfologicznych, mikrobiologicznych, czy hematologicznych. Nakreślono także wyraźnie istnienie wielu niewiadomych, dotyczących zakażeń m. in. chromosomalnej lokalizacji genów, powiązanych ze zjadliwością; podatności genetycznej niektórych koni; czynników (w tym środowiskowych), warunkujących rozwój i postać choroby, czy niedoszacowania występowania pozapłucnej postaci rodokokozy. Wskazuje to na gruntowną znajomość problematyki omawianej jednostki przez Doktorantkę. Uwagę zwraca też bogaty zasób piśmiennictwa (115 pozycji) przeanalizowanego przez lek. wet. Alicję Rakowską podczas przygotowywania dysertacji doktorskiej, który zajmuje 10 stron maszynopisu, świadcząc o dobrym stopniu przygotowania Autorki do prowadzenia zaplanowanych badań.

Kolejny rozdział (II) formułuje cele badawcze, jakie postawiła sobie Doktorantka, a były to:

- (1) Oszacowanie częstości występowania klinicznej i podklinicznej formy rodokokozy u źrebiąt w wieku przedodsadzeniowym, w wybranych ośrodkach hodowli koni w Polsce centralno-wschodniej, na podstawie badania klinicznego i ultrasonograficznego;
- (2) Określenie częstości występowania zmian wskazujących na rodokozę w badaniu ultrasonograficznym płuc u źrebiąt w różnym wieku;



(3) Ocena związku pomiędzy występowaniem wybranych zmian w badaniu ultrasonograficznym płuc a rozwojem klinicznej formy rodokokozy;

(4) Opis obrazu klinicznego postaci pozapłucnej rodokokozy.

Doktorantka za główny cel (cel 1) obrała aktualną ocenę występowania zakażenia w największej grupie ryzyka tj. źrebiąt do momentu odsadzenia. Prawidłowo wskazana została tu grupa badawcza i metody zaproponowane do osiągnięcia założonego celu (badanie kliniczne wraz z obrazowaniem USG), jako iż do zakażeń dochodzi we wczesnym okresie życia źrebiąt, a przedłużona faza ujawniania się choroby, w związku z możliwościami kompensacyjnymi płuc, opóźnia rozpoznanie i wdrożenie terapii farmakologicznej. Zastrzeżenia może budzić jedynie koncentracja badań na stosunkowo małym obszarze geograficznym (Polska centralno-wschodnia), co niewątpliwie ogranicza możliwość wnioskowania co do rangi problemu rodokokozy w skali krajowej.

Lek. wet. Alicja Rakowska podjęła się także próby oszacowania korelacji pomiędzy wynikami uzyskanymi w badaniu ultrasonograficznym, a notowaną wśród grupy zwierząt badanych manifestacją kliniczną choroby (cel 3), czy ich wiekiem (cel 2). W moim odczuciu te dwa cele należałoby połączyć w jeden, co dałoby pełniejszy obraz rozpoznawanej choroby, z jednoczesnym uwzględnieniem obu analizowanych zmiennych, z czym do czynienia w praktyce terenowej ma najczęściej lekarz weterynarii. Ostatnim celem pracy (cel 3), sformułowanim przez Doktorantkę jest „Opis obrazu klinicznego postaci pozapłucnej rodokokozy”. Opis nie może stanowić sam w sobie celu badawczego pracy. Bardziej trafne wydaje się tutaj sformułowanie celu, jako „Analiza obrazu klinicznego pozapłucnej postaci rodokokozy” lub „Analiza częstości występowania i charakterystyka przypadków rodokokozy pozapłucnej”.

Rozdział III (OMÓWIENIE PRZEPROWADZONYCH BADAŃ) podsumowuje problematykę, metodykę badawczą, wyniki i podsumowania, wynikające z trzech prac, wchodzących w cykl publikacji pod wspólnym tytułem „*Postać płucna i pozapłucna rodokokozy źrebiąt w wybranych ośrodkach hodowlanych w obrazie klinicznym i ultrasonograficznym*”. Generalnie tradycyjny podział dysertacji, jak i prac oryginalnych, publikowanych w czasopiśmie naukowych, uwzględnia „MATERIAŁ I METODY” oraz „WYNIKI I WNIOSKI”. Zarówno w ujęciu chronologicznym jak i z punktu widzenia możliwości dokonywania podsumowań, wydaje się to bardziej zasadne.



Autorka posługuje się również skrótami w odniesieniu do stadnin, z których pochodziły konie badane (A,B, C, D, E). Szkoda, że Doktorantka w tym miejscu nie podała lokalizacji stadnin na terenie kraju, a jedynie hodowane w nich rasy. Można się jedynie domyślać, o jakie znane miejsca hodowli koni chodzi. W dalszej części rozdziału doprecyzowane zostały informacje na temat sposobu utrzymywania zwierząt w wybranych do badań obiektach, stosowania szczepień ochronnych, a także przyjętych kryteriów włączenia do badań, w oparciu o wywiad epidemiologiczny, potwierdzający występowanie infekcji w latach poprzednich. Przedstawiona została również metodyka badawcza, uwzględniająca cykliczne monitorowanie źrebiąt w okresie badawczym wraz z ocenianymi parametrami życiowymi i obrazowaniem ultrasonograficznym. Niejasne są natomiast dla czytelnika przyjęte przez Autorkę w streszczeniu opisy w tabeli 2.1, takie jak „Udział wykonywanych badań u pojedynczego źrebięcia” wyrażony w %, czy iloczyn liczby wykonywanych badań i liczby zbadanych źrebiąt, które wymagają wyjaśnienia i wytłumaczenia, dlaczego zostały w takiej formie przyjęte do analiz. W moim odczuciu dużo prostszą formą byłoby podanie łącznej ilości badań klinicznych/ ultrasonograficznych, przypadających łącznie na każde z indywidualnie badanych źrebiąt. W kolejnej części rozdziału III Autorka krótko charakteryzuje każdą z publikacji, wchodzących w cykl jednotematyczny, w tym zagadnienia przedstawione w artykule przeglądowym opublikowanym w roku 2020, oraz w pracach oryginalnych z roku 2023 nt. zależności pomiędzy zmianami płucnymi obserwowanymi w badaniu ultrasonograficznym a manifestacją kliniczną infekcji u źrebiąt podejrzanych o rodokokozę płucną i z roku 2022 nt. nietypowego przebiegu postaci zakażeń *Rhodococcus equi*. Mimo, iż prace stanowiące rozprawę doktorską były poddane recenzji przed opublikowaniem ich w czasopiśmie, szczegółowa ich analiza, jak również sama Doktorantka w przedstawionym opracowaniu w ustępie dotyczącym ograniczeń związanych z terenowym charakterem badań wskazała, iż zastrzeżenia budzi m. in. brak każdorazowo potwierdzenia mikrobiologicznego udziału *Rhodococcus equi*. Co prawda wyjaśnia dalej, iż we wszystkich przypadkach w trakcie trwania monitoringu, o ile było to możliwe, wykonano badanie mikrobiologiczne, potwierdzając rodokokozę. Co należy jednak rozumieć pod pojęciem – o ile było to możliwe i jaka była to ostatecznie ilość potwierdzonych izolatów *Rhodococcus equi* na ponad 180 monitorowanych koni – takich informacji w przedstawionej do oceny pracy zabrakło.



Nasuwa się zatem i kolejne pytanie, na ile rozpoznane zmiany płucne i pozapłucne można jednoznacznie utożsamiać z rodokokozą, bez identyfikacji tego mikroorganizmu klasycznym badaniem hodowlanym, PCR, czy MALDI TOF - z uwag dotyczących tego rozdziału, poproszę Doktorantkę o ustosunkowanie się do powyższej kwestii, szczególnie w kontekście diagnostyki różnicowej rodokokozy oraz szacowanej czułości i specyficzności algorytmu diagnostycznego, opartego jedynie o klinikę zakażeń w połączeniu z badaniem ultrasonograficznym.

W rozdziale IV Autorka formułuje 4 wnioski, dotyczące przeprowadzonych badań, zawarte poniżej:

1. W ośrodkach hodowlanych, w których choroba występuje endemicznie, objawy kliniczne rodokokozy obserwuje się u 25% żrebiąt, a objawy podkliniczne u około 70% żrebiąt w wieku przedodsadzeniowym. Wartości te są zbliżone do opisywanych dotychczas danych literaturowych.
2. Najczęściej występującymi w płucach zmianami, wykrywalnymi w badaniu ultrasonograficznym u żrebiąt w wieku przedodsadzeniowym są kolejno: ropnie, linie B oraz pogrubienie opłucnej i obecność zwiększonej ilości płynu w jamie opłucnej.
3. Stwierdzenie u żrebięcia w badaniu ultrasonograficznym ropnia o średnicy 15 mm lub większej jest powiązane z istotnym zwiększeniem prawdopodobieństwa wystąpienia objawów klinicznych rodokokozy w pierwszych miesiącach życia.
4. W okresie prowadzenia badań, wśród monitorowanych żrebiąt, stwierdzone były pojedyncze przypadki rodokokozy pozapłucnej, ze zmianami w postaci ropni zlokalizowanych najczęściej w przewodzie pokarmowym. Postać ta stanowi duże wyzwanie diagnostyczne w warunkach terenowych ze względu na zróżnicowany przebieg choroby i brak opracowanych rutynowych schematów jej rozpoznawania.

O ile wnioski precyzyjnie definiują odsetek zwierząt z postacią kliniczną i podkliniczną choroby, szczegółowo przedstawiają również przydatność badania ultrasonograficznego w obrazowaniu płuc z podejrzeniem rodokokozy i możliwe do wykrycia zmiany, zabrakło wniosku odpowiadającego na postawiony przez samą Doktorantkę cel (3) tj. Ocenę związku pomiędzy występowaniem wybranych zmian w badaniu ultrasonograficznym płuc, a rozwojem klinicznej formy rodo-



kokozy, o którego sformułowanie i uzupełnienie chciałabym prosić. Doprecyzowania w konkluzjach wymaga także odpowiedź na postawiony przez doktorantkę cel (2) tj. Określenie częstości występowania zmian wskazujących na rodokokozę w badaniu ultrasonograficznym płuc u źrebiąt w różnym wieku. Przy takim sformułowaniu celu, we wnioskach należałoby uwzględnić założone arbitralnie przedziały wiekowe, które pokazywałyby jednak bardziej dynamikę klinicznego rozwoju i regresji zakażenia, niż samą częstość jego występowania. Dalsza część przedstawionej do recenzji pracy to kopie artykułów, wchodzących w cykl publikacyjny oraz oświadczenia dotyczące współautorstwa w opublikowanych pracach.

W opracowaniu zabrakło moim zdaniem rozdziału DYSKUSJA, który konfrontowałby całościowo uzyskane wyniki z wynikami i spostrzeżeniami innych autorów; również w kontekście postawionych przez Doktorantkę celów badawczych. W pracach doktorskich jest to bardzo istotną częścią rozprawy.

Przedstawione przeze mnie powyżej uwagi krytyczne nie umniejszają wartości merytorycznej recenzowanej rozprawy i nie mają wpływu na jej jednoznacznie pozytywną ocenę, tym bardziej, że publikacje wchodzące w cykl jednotematyczny pt. „*Postać płucna i pozapłucna rodokokozy źrebiąt w wybranych ośrodkach hodowlanych w obrazie klinicznymi i ultrasonograficznym*” ukazały się już drukiem w czasopiśmie. Uzyskane wyniki są interesujące, zwłaszcza dla praktyki weterynaryjnej i ukierunkowanej, terenowej diagnostyki rodokokozy, co jest bardzo istotne z klinicznego punktu widzenia. Istotny jest również aplikacyjny charakter analiz i płynących z nich wniosków. Należy podkreślić dużą pracowitość i zaangażowanie Doktorantki w badania o charakterze terenowym, co stanowi ogromną trudność podczas ich realizacji, zwłaszcza w badaniach monitoringowych, rozciągniętych w czasie. Badania wykonano na licznych materiałach, przy wykorzystaniu obrazowania ultrasonograficznego, wymagającego od lek. wet. Alicji Rakowskiej także specjalistycznych umiejętności praktycznych i doświadczenia klinicysty. Duża ilość uzyskanych wyników poddana została w dołączonych publikacjach precyzyjnej oraz prawidłowo dobranej analizie statystycznej, której dokumentacja jest przekonująca.



We wniosku końcowym stwierdzam, że przedstawiona rozprawa doktorska, stanowiąca spójny tematycznie cykl 3 publikacji pod wspólnym tytułem „*Postać płucna i pozapłucna rodokokozy źrebiąt w wybranych ośrodkach hodowlanych w obrazie klinicznym i ultrasonograficznym*” spełnia warunki określone w art. 187 ust. 1-4 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce (Dz. U. 2023 poz. 742 ze zm.) stawianym kandydatom, ubiegającym się o nadanie stopnia naukowego doktora. Dlatego też przedkładam Wysokiej Radzie Dyscypliny Weterynarii Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie wniosek o dopuszczenie lek. wet. Alicji Rakowskiej do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia naukowego doktora. Wnioskuje również o wyróżnienie pracy, biorąc pod uwagę jej aplikacyjny charakter dla praktyki weterynaryjnej.

Katarzyna Płoneczka-Janeczko

dr hab. Katarzyna Płoneczka-Janeczko, prof. UPWr

(00)559007734519162756



R



RPW/34426/2024 N
Data: 2024-11-28



Poczta Polska
Opłata pobrana zł 15.00 gr

PRIORITY
PRIORITAIRE

KANCELARIA GŁÓWNA SGGW
2024 -11- 28
WPLYNĘŁO DNIA -3-

SZKOŁA GŁÓWNA
GOSPODARSTWA WIEJSKIEGO
W WARSZAWIE

INSTYTUT MEDYCYNY WETERYNARYJNEJ

UL. NOWOURSYNOWSKA 159

02-776 WARSZAWA

26508

Wyprodukowano w 2024 roku. Termin trwałości kleju 2 l.