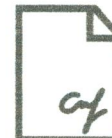




UNIwersYTET
PRZYRODNICZY
WE WROCLAWIU



PODPIS ZAUFANY

ANNA BARBARA
WOŹNIAK-BIEL

04.03.2025 11:03:50 (GMT+1)

Dokument podpisany elektronicznie
podpisem zaufanym

Wrocław, dnia 4 marca 2025 r.

Dr hab. Anna Woźniak-Biel, profesor UPWr

Zakład Chorób Ptaków, Zwierząt Egzotycznych, Futerkowych i Laboratoryjnych

Katedra Epizootiologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych

Wydział Medycyny Weterynaryjnej

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

lek. wet. Krzysztofa Adamczyka

pod tytułem

**“Zakażenia rotawirusowe u gołębi domowych (*Columba livia domestica*, Linnaeus, 1758)
w Polsce”**

Praca doktorska została wykonana w Katedrze Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej Instytutu Medycyny Weterynaryjnej Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie pod opieką promotorów dr hab. Aleksandry Ledwoń ze Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie oraz dr hab. Dennisa Rubbenstroth'a z Institute of Diagnostic Virology Friedrich-Loeffler-Institut w Greifswald-Insel Riems, Niemcy.

Podstawę formalną do wykonania niniejszej recenzji stanowi Uchwała Rady Dyscypliny Weterynaria, Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie z dnia 11 grudnia 2024 r.

Autor niniejszej rozprawy, lek. wet. Krzysztof Adamczyk, jest zarówno pierwszym jak i korespondencyjnym Autorem dwóch prac oryginalnych, opublikowanych w czasopismach z listy JCR (Journal Citation Reports) - w Journal of Veterinary Research oraz w BMC Veterinary Research. Obie prace obejmują wyniki badań prowadzonych przez lek. wet. Krzysztofa Adamczyka i związane są z tematyką pracy. Łączna wartość współczynnika IF wynosi 3,6 a liczba punktów MNiSW 280.

Rozprawa doktorska ma zasadniczo układ typowy dla prac badawczych. Autor umieścił w pracy syntetyczny *Wstęp*, *Cele i zakres pracy* oraz *Hipotezy badawcze*, w których ujął wstępne założenia badań. Kolejną część pracy stanowią *Materiał i metody*, po których Autor przechodzi do omówienia wyników badań w rozdziale *Syntetyczne omówienie publikacji*. Należy stwierdzić, że rozdział ten w pełni spełnia rolę typowego rozdziału *Wyniki* w pracy doktorskiej. Ostatnie rozdziały dysertacji stanowią kolejno *Dyskusja*, *Podsumowanie* i *Wnioski*. Praca zawiera także wykaz skrótów, streszczenie w języku polskim i angielskim, piśmiennictwo oraz wydruki dwóch oryginalnych artykułów autorstwa lek. wet. Krzysztofa Adamczyka wraz z oświadczeniami współautorów.

Rozprawa doktorska lek. wet. Krzysztofa Adamczyka poświęcona jest opisowi pierwszych przypadków rotawirusy u gołębi w Polsce, występowaniu zakażeń RVA u gołębi pocztowych i ozdobnych oraz możliwości wykorzystania techniki RT-qPCR w diagnostyce tych zakażeń. Założone cele zostały zrealizowane. Zaproponowana w rozprawie doktorskiej problematyka jest bardzo aktualna i wnosi nowe dane nie tylko do badań podstawowych w zakresie wirusologii, ale także zebrane wnioski mogą mieć zastosowanie w praktyce. Choroba młodych gołębi, której czynnikiem etiologicznym jest rotawirus należący do grupy A, stanowi istotny problem w hodowli gołębi, szczególnie w trakcie trwania lotów konkursowych gołębi młodych. Rotawirusy należą do rodzaju *Rotavirus*, rodziny *Reoviridae* i są podzielone na kilka grup antygenowych, z których grupy A, D, F i G zostały zidentyfikowane u ptaków. U gołębi najczęściej izolowane są rotawirusy grupy A, które są odpowiedzialne za większość przypadków zakażeń. W 2020 roku Rubbenstroth i wsp. zidentyfikowali gołębią odmianę RVA - genotyp G18P odpowiedzialny za "klasyczną postać" choroby młodych gołębi. Reowirusy charakteryzują się wysoką zakaźnością i są odporne na niekorzystne warunki środowiskowe, co sprzyja ich rozprzestrzenianiu się w stadach. Choroba dotyczy gołębi młodych, lotowanych w pierwszym roku swojego życia w okresie od sierpnia do września. Specyfika lotów konkursowych jak bliski kontakt ptaków w kabinach transportowych, wspólne karmienie i pojenie, czy cotygodniowy kontakt z ptakami pochodzącymi z hodowli o różnym statusie

zdrowotnym w znacznym stopniu sprzyja przekazywaniu i rozprzestrzenianiu się wielu patogenów wśród gołębi pocztowych. W przypadku gołębi ozdobnych, uczestnictwo ptaków w wystawach, bliski kontakt z innymi ptakami stanowią czynniki sprzyjające rozprzestrzenianiu zakażeń. Zarówno podczas lotów konkursowych, jak i wystaw, czynnikiem wpływającym na zwiększoną podatność ptaków na zakażenie różnymi patogenami, w tym RVA, jest stres. W przypadku gołębi sportowych związany jest on z koszowaniem, transportem ptaków na miejsce startu, zaś u gołębi ozdobnych z uczestnictwem w wystawach, nowym miejscem, obecnością licznych zwiedzających. Zakażenia rotawirusowe u gołębi manifestują się przede wszystkim objawami ze strony układu pokarmowego, takimi jak osłabienie, zielonkawa biegunka, utrata apetytu, regurgitacja, wymioty lub zatrzymanie treści pokarmowej w wolu. Silna biegunka w krótkim czasie doprowadza do szybkiego odwodnienia się młodych ptaków, dlatego hodowcy często używają potocznego określenia, że "gołębie schną". Zakażenie na tle RVA bardzo szybko rozprzestrzenia się w stadzie, charakteryzuje się wysoką zachorowalnością i śmiertelnością mogącą sięgać nawet do 75% ptaków. Wszystko to sprawia, że choroba młodych gołębi przyczynia się do istotnych strat w hodowli tych ptaków. Kluczowe znaczenie w zapobieganiu chorobie mają działania profilaktyczne, takie jak szczepienia ochronne, utrzymanie wysokiego standardu higieny w hodowlach, zbilansowana i pełnowartościowa dieta, zaś w przypadku wybuchu choroby szybka i precyzyjna diagnostyka odznaczająca się wykorzystaniem testów o wysokiej czułości i specyficzności, pozwalająca na identyfikację wirusa z materiału pobranego w możliwie najmniej inwazyjny sposób. Tak, aby dodatkowo nie narażać ptaków na niepotrzebny stres. Dlatego właśnie wybór tematyki oceniam jako bardzo aktualny, a zaproponowane badania są istotne zarówno epidemiologicznie jak i poznawczo.

We *Wstępie* Doktorant scharakteryzował chorobę młodych gołębi, opisał czynnik etiologiczny - rotawirus A, objawy kliniczne oraz zmiany sekcyjne u zakażonych ptaków. Ponadto, przybliżył przebieg i specyfikę sezonu lotowania młodych gołębi pocztowych, uwzględniając okres przygotowania do lotów konkursowych tzw. loty treningowe. Doktorant zwrócił szczególną uwagę na możliwość szybkiego przenoszenia zakażeń między ptakami podczas transportu. W mojej ocenie Doktorant mógłby rozszerzyć tę część pracy o możliwe drogi szerzenia się zakażenia, ważne w kontekście badania przebiegu zakażeń RVA u gołębi w sezonie lotowym, patogenezę czy postępowanie diagnostyczne w przypadku podejrzenia choroby. Rozwinięcie ostatniego zagadnienia pozwoliłoby na uzasadnienie wyboru techniki RT-

qPCR przez Autora do przeprowadzonych badań. Nie mniej, zawarte we wstępie informacje w sposób syntetyczny i klarowny przedstawiają aktualną wiedzę dotyczącą tematu pracy.

Kolejną część pracy stanowią *Cele i zakres pracy*. Doktorant postawił sobie w pracy cztery cele. Pierwszym był opis i diagnostyka pierwszych przypadków rotawirusy u gołębi pocztowych w Polsce, drugim celem była ocena występowania zakażeń rotawirusem A u gołębi w latach 2011-2020. Kolejnym celem było badanie przebiegu zakażeń RVA u młodych gołębi pocztowych w sezonie lotowym, natomiast ostatnim, czwartym celem pracy, była ocena zastosowania techniki RT-qPCR w diagnostyce zakażeń RVA w próbkach kałomoczu gołębi. Doktorant podzielił swoją pracę badawczą na dwa etapy. W pierwszym etapie na podstawie wywiadu, badania sekcyjnego, histopatologicznego i badania molekularnego dokonał analizy przypadków rotawirusy u gołębi pocztowych oraz zbadał obecność materiału genetycznego RVA w próbkach narządów zgromadzonych w latach 2011-2020. Natomiast w drugim etapie Doktorant badał przebieg zakażeń RVA u młodych gołębi w trakcie sezonu lotowego oraz dokonał oceny efektywności techniki RT-qPCR w wykrywaniu obecności materiału genetycznego RVA w kałomoczu gołębi, w przypadkach klinicznych i subklinicznych zakażeń RVA.

Pytania i uwagi do tej części pracy:

- Autor rozprawy prowadził badania ukierunkowane tylko na obecność RVA w zgromadzonym materiale. W mojej opinii temat rozprawy doktorskiej powinien brzmieć "Zakażenia rotawirusem grupy A u gołębi domowych (*Columba livia domestica*, Linnaeus, 1758) w Polsce". Wybrany przez Doktoranta temat "Zakażenia rotawirusowe u gołębi domowych (*Columba livia domestica*, Linnaeus, 1758) w Polsce" sugeruje bowiem badanie rotawirusów również z innych grup.
- Doktorant sporadycznie stosuje termin kał zamiast kałomocz - str. 22
- RT-qPCR jest techniką biologii molekularnej, a nie metodą w ścisłym znaczeniu tego słowa.

Autor pracy założył 3 *Hipotezy badawcze*. Pierwszą z nich było założenie, że RVA powoduje istotne straty w populacjach gołębi domowych oraz że jego rozprzestrzenianiu sprzyja szczególnie okres sezonu lotowania gołębi młodych. Druga hipoteza obejmowała założenie, że rotawirus A mógł być przyczyną upadków gołębi w latach, kiedy nie był on potwierdzonym czynnikiem etiologicznym choroby młodych gołębi. Natomiast trzecia

hipoteza dotyczyła wykorzystania techniki RT-qPCR jako skutecznego narzędzia do diagnozowania klinicznych i subklinicznych zakażeń RVA oraz ich monitorowania.

W rozdziale *Materiał i metody* Autor rozprawy opisał organizację i pobieranie materiału do badań, opisał badane grupy gołębi. W zakresie wykrywania obecności RVA w próbkach wątroby i kałomoczu Doktorant opisał sposób ekstrakcji RNA odpowiednio z rodzaju pobranych próbek oraz zmodyfikowaną technikę RT-qPCR. Doktorant zastosował także sekwencjonowanie genu kodującego białko VP6 dla wszystkich próbek RNA pochodzących pod ptaków RVA dodatnich z $Cq < 30$ oraz dokonał ich analizy filogenetycznej. Ponadto Autor opisał wykonanie badania histopatologicznego. W rozdziale metodycznym opisano metody statystyczne zastosowane w pracy. Część dotycząca opisu organizacji i pobierania materiału do badań, a także sam przebieg badania opisane są bardzo dokładnie. Doktorant opanował bardzo dobrze zastosowane techniki badawcze: badanie sekcyjne, techniki laboratoryjne, w tym nowoczesne techniki biologii molekularnej.

Pytania i uwagi do tej części pracy:

- Jeśli w jednym koszu transportowym były zgromadzone ptaki pochodzące od różnych hodowców, to w jaki sposób był przyporządkowywany wynik dodatni z badanej próbki kałomoczu?
- Stosowanie nazewnictwa “próbki wątrób”, zamiast “próbki wątroby”, uważam za niepoprawne - streszczenie, strony: 20, 23, 27

Rozdział *Syntetyczne omówienie publikacji* obejmuje przedstawienie wyników oraz ich omówienie. Wyniki zobrazowane są szczegółowo na wybranych rycinach oraz w tabelach, tożsamy z rycinami i tabelami zawartymi w publikacjach nr 1 i 2. Uzyskane dane Doktorant przedstawia w oparciu o analizę statystyczną. Opracowanie i zestawienie wyników pracy doktorskiej jest przygotowane czytelnie, wyniki są zwięźle opisane i podsumowują kolejne etapy pracy. Ciekawe wyniki uzyskał Doktorant w zakresie obecności materiału genetycznego rotawirusa A w próbkach wątroby zgromadzonych w latach 2014-2015 oraz 2017-2019, pochodzących z okresu, kiedy etiologia choroby nie była do końca poznana, a za przyczynę upadków młodych gołębi podejrzewano cirkowirusy czy adenowirusy, lub koinfekcję obydwu. Ponadto, Autor rozprawy jako pierwszy zaobserwował i opisał zmiany makroskopowe w sercu oraz zmiany histopatologiczne w myocardium u ptaków RVA dodatnich. Jest to niezwykle cenne spostrzeżenie, nie opisywane wcześniej przez żadnych badaczy zajmujących się tą tematyką. Interesującym osiągnięciem są również wyniki dotyczące analizy filogenetycznej

częściowych sekwencji genu kodującego białko VP6, które pokazują bliskie ich pokrewieństwo z sekwencjami pochodzącymi od rotawirusów wyizolowanych od gołębi w Niemczech. Wskazuje to na szerokie rozprzestrzenienie rotawirusów w populacji gołębi domowych w Polsce i w Niemczech.

Uwagi do Publikacji II:

- Brak komentarza Autora do wyników przedstawionych w Tab. 2

Dyskusja prowadzona jest ciekawie i dojrzałe, Autor konfrontuje wyniki własne z wynikami innych autorów. Lek. wet. Krzysztof Adamczyk w rozdziale tym dowiódł umiejętności prowadzenia naukowej polemiki, a odpowiednio dobrane *Piśmiennictwo* świadczy o szerokiej znajomości badanej problematyki.

W *Podsumowaniu* Autor dysertacji przedstawia najważniejsze obserwacje, do których doszedł w wyniku przeprowadzonych badań. Pozwala Mu to finalnie na sformułowanie czterech wniosków płynących z otrzymanych wyników. Za najbardziej cenne wnioski wynikające z przedstawionej do recenzji pracy doktorskiej uważam stwierdzenie obecności RVA w próbkach zgromadzonych od gołębi już w 2014 roku oraz potwierdzenie i szczegółowy opis pierwszych przypadków tej choroby u gołębi pocztowych w Polsce w latach 2017-2018.

Pytania i uwagi do tej części pracy:

- We wniosku nr 3 Doktorant pisze “Odporność na zakażenie rozwijała się w trakcie sezonu, co objawiało się wzrostem zakażeń do czwartego lotu, a następnie ich spadkiem”. W mojej opinii wniosek ten nie jest oparty na wynikach badań uzyskanych przez Autora, ponieważ nie badał On żadnych wskaźników immunologicznych potwierdzających rozwój odporności humoralnej czy komórkowej. Sugerowałabym zredagowanie wniosku “Stwierdzono wzrost zakażeń do czwartego lotu, a następnie ich spadek, co mogło być efektem rozwoju odporności na zakażenie w trakcie sezonu”.
- We wniosku nr 4 Autor pisze “Pobranie próbek kałomoczu z koszy transportowych umożliwia przeprowadzenie bezstresowego badania”. W mojej ocenie bardziej poprawne byłoby “umożliwia przeprowadzenie bezstresowego próbkobrania lub bezstresowego pobrania/zabezpieczenia materiału”.

Pragnę podkreślić, że przedstawione w recenzji uwagi mają głównie charakter porządkowy, bez wpływu na wysoką ocenę pracy.

W podsumowaniu stwierdzam, iż przedstawiona do recenzji praca spełnia wymogi jakie stawia się eksperymentalnym pracom doktorskim. Pan lek. wet. Krzysztof Adamczyk wykazał się znajomością nowoczesnych technik biologii molekularnej, prawidłowo przeprowadził szereg badań, dokonał właściwego wnioskowania i przeprowadził dojrzałą analizę swoich wyników. Uzyskane wyniki wnoszą nowe dane do badań podstawowych i klinicznych, a także stanowią cenne informacje dla lekarzy weterynarii specjalizujących się w chorobach ptaków. Ponadto, warto zaznaczyć, że Doktorant jako pierwszy w Polsce opublikował opis pierwszych przypadków zakażenia rotawirusem A u gołębi domowych.

Biorąc pod uwagę powyższe, stwierdzam, iż rozprawa doktorska Pana lek. wet. Krzysztofa Adamczyka spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2024 poz. 1571) dlatego przedkładam Wysokiej Radzie Dyscypliny Weterynaria SGGW w Warszawie wniosek z prośbą o dopuszczenie **Pana lek. wet. Krzysztofa Adamczyka** do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania **stopnia doktora w dziedzinie nauk weterynaryjnych w dyscyplinie weterynaria.**

Wnoszę też o wyróżnienie pracy, ponieważ uważam, że rozprawa doktorska lek. wet. Krzysztofa Adamczyka w sposób znaczący wzbogaca wiedzę na temat występowania i przebiegu zakażenia RVA u gołębi.



dr hab. Anna Woźniak-Biel, prof. UPWr

d. Anne Worniak-Friel
pl. Grunwaldzki, 45
50-366 Wrocław
Uniwersytet Przyrodniczy
we Wrocławiu



R

(00)659007734890892126



(00)659007734890892126



Poczta Polska

Oplata pobrana 4 zł 00 gr

2024



RPW/5773/2025 N
Data: 2025-03-10

Sz.P.

Małgorzata Malinowska
Sekretariat

Instytut Medycyny Weterynaryjnej

ul. Nowoursynowska 159

budynek 24, pokój 102

02-776 Warszawa

SGGW w Warszawie

