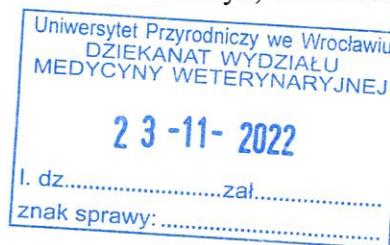


Dr hab. Marcin Śmiałek
Katedra Chorób Ptaków
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Olsztyn, 17.11.2022 r.



O C E N A

rozprawy doktorskiej **lek. wet. Moniki Chmielewskiej-Władyki** pt. **”Zakażenia bakteryjne i wirusowe w stadach gęsi towarowych. Badania wybranych stad w 2-letnim cyklu obserwacji”** wykonanej w Katedrze Epizootologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu pod kierunkiem Prof. dr hab. dr *h.c.* Aliny Wieliczko.

Podstawę formalną do wykonania recenzji pracy doktorskiej lek. wet. Moniki Chmielewskiej-Władyki stanowi pismo przewodniczącego Rady Dyscypliny Weterynaria, prof. dr hab. Wojciecha Niżańskiego (MDDD000.4101.1.2021) z dnia 27 września 2022 r., zgodnie z uchwałą Rady Naukowej Dyscypliny Weterynaria Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu.

Od wielu lat Polska jest liderem w produkcji drobiarskiej na skalę Europejską oraz ogólnosiwiatową. Rok rocznie, można odnotować bardzo istotny wzrost tego sektora gospodarczego, praktycznie w każdym z jego obszarów, w tym również - w sektorze produkcji drobiu wodnego. Od wielu lat Polska notuje stały przyrost tej produkcji, co można zilustrować, zestawiając ze sobą dane z 2003 roku, kiedy to jako kraj wyprodukowaliśmy 10 tys. ton żywca drobiu wodnego, z danymi z 2018 i 2019 roku kiedy produkcja ta wyniosła odpowiednio 49,5 tys. i 51,8 tys. ton. Stale rosnące poglobie drobiu wodnego w Polsce sprawiło, że staliśmy się liderami w produkcji gęsin na rynku Europejskim.

Negatywnym obliczem intensyfikacji produkcji drobiarskiej jest zwiększający się (wprost proporcjonalnie do liczebności populacji zwierząt podatnych na zakażenie) potencjał epizootyczny chorób drobiu wodnego. Sytuacja ta wpływa bezpośrednio na częstotliwość notowanych przypadków chorób o tle bakteryjnym, grzybiczym czy wirusowym, a co dodatkowo niepokojące, to fakt coraz częściej notowanych syndromów polietologicznych (infekcje mieszane) oraz rekombinacji i mutacji drobnoustrojów chorobotwórczych.

Wśród infekcji bakteryjnych gęsi tuczowych wymienić należy przede wszystkim infekcje pałeczkami *E. coli*, zakażenia włóskowcem różycy (*Erysipelothrix rhusiopathiae*), infekcje *Pasteurella* spp., *Rimerella* spp, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus* czy

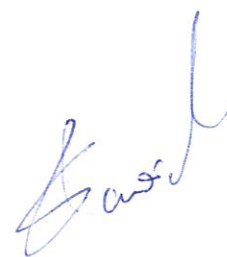
Gallibacterium anatis. Infekcje bakteryjne mogą stanowić pierwotną przyczynę chorób, a dodatkowo, bardzo często jako czynnik wtórny, komplikują przebieg innych schorzeń wywołujących spadek odporności makroorganizmu. Bardzo często infekcje te mają charakter endemiczny i mogą nawracać na danej fermie w kolejnych cyklach produkcyjnych. Odrębny problem stanowią zakażenia pałeczkami *Salmonella* spp., które najczęściej związane są z bezobjawowym nosicielstwem i siewstwem wśród drobiu wodnego. Z kolei wśród zakażeń grzybiczych gęsi, najczęściej stwierdzane są infekcje wywołane przez *Aspergillus* spp. (w tym przede wszystkim przez *Aspergillus fumigatus*).

Najczęściej notowaną chorobą wirusową wśród gęsi tuczowych w kraju jest choroba Derzsy'ego wywoływana przez parwowirus gęsi (GPV). Równie często notowane są zakażenia polyomawirusem (GHPV) oraz cirkowirusem (GoCV) gęsi. Powołując się na badania Kozdrunia i wsp. (2019) można wywnioskować, że na przestrzeni 2010-2018 prewalencja GPV wyniosła 33,3% badanych stad, obecność GHPV potwierdzono w 40,9% badanych stad, podczas gdy częstotliwość identyfikacji GoCV potwierdzono w 72,7% stad gęsi.

Pomimo intensyfikacji produkcji drobiu wodnego, a co za tym idzie - zwiększającej się populacji drobiu wodnego (w tym gęsi) w naszym kraju, stale brakuje aktualnych i szczegółowych danych mówiących o prewalencji występowania drobnoustrojów, odpowiedzialnych za najważniejsze choroby gęsi rzeźnych. Równocześnie, w obszarze tym istnieje istotny deficyt wiedzy na temat bliższej charakterystyki tych drobnoustrojów, w kontekście ich właściwości geno- oraz fenotypowych. Mając powyższe na uwadze Autorka ocenianej dysertacji, w ramach prowadzonych badań, próbuje uzupełnić wspomniane luki w tym, niesłychanie interesującym, obszarze wiedzy naukowej.

Przedłożona do oceny rozprawa doktorska jest przedstawiona na 152 stronach manuskryptu i posiada układ typowy dla tego typu opracowań na stopień naukowy. Jest podzielona na jedenaście rozdziałów poprzedzonych stroną tytułową i spisem treści w kolejności:

- wykaz skrótów (2 strony),
- wstęp (24 strony),
- cel pracy (1 strona),
- materiały i metody (28 stron),
- wyniki (48 stron),
- omówienie wyników i dyskusja (22 strony),



- wnioski (w liczbie 11),
- streszczeniami w językach polskim i angielskim (po 2 strony),
- spis literatury (14 stron),
- spis tabel (1 strona),
- spis rycin (1 strona).

Dokumentacja pracy przedstawiona jest na 15 rycinach i w 21 tabelach zamieszczonych w tekście manuskryptu. Zostały one opracowane bardzo starannie graficznie, przez co są czytelne. Przegląd piśmiennictwa oparty jest na 164 pozycjach literaturowych.

W obszernym **Wstępie**, po krótkiej charakterystyce sektora produkcji drobiu wodnego w kraju, jak również dokonując bardzo sumarycznego zestawienia rozwoju tego sektora na przestrzeni ostatnich lat, Doktorantka przechodzi do opisu głównych chorób bakteryjnych, grzybiczych i wirusowych gęsi. Narracja tego rozdziału została bardzo słusznie zastosowana, gdyż na samym początku uzmysławia ona czytelnikowi skalę obszaru w jakim się poruszamy oraz precyzyjnie wypunktowuje jego główne problemy zdrowotne. Przedstawiony we wstępie opis zakażeń bakteryjnych, wirusowych oraz grzybiczych gęsi wprowadza stopniowo, ale szczegółowo w zagadnienia, których dotyczy dysertacja.

Najbardziej obszerny fragment tego rozdziału opisuje zakażenia gęsi wywołane przez bakterie *E. coli*, co jest proporcjonalne do nakładu prac badawczych jakie Doktorantka poświęciła tym właśnie bakteriom w swojej pracy. W podrozdziale tym, poza oczywistym wprowadzeniem oraz definicją podstawowych pojęć (jak terminy APEC, czy częstotliwość izolacji określonych serotypów *E. coli* z przypadków kolibakteriozy drobiu wodnego), Autorka dokonuje przeglądu literatury w odniesieniu do zagadnień lekooporności pałeczek *E. coli* (zarówno w wymiarze geno- oraz fenotypowym) oraz przedstawia opis genów wirulencji, zaangażowanych w proces patogenezy zakażenia pałeczkami *E. coli*. W podrozdziale tym odnajdujemy również opis dróg szerzenia się zakażenia *E. coli*, kliniki oraz metod zwalczania i profilaktyki kolibakteriozy.

Następnie, Doktorantka dokonuje opisu zakażeń pałeczkami *Salmonella* spp. W podrozdziale tym przytoczone zostały dane odnośnie częstotliwości izolacji i identyfikacji określonych serowarów *Salmonella* spp. (zarówno u ludzi, u drobiu wodnego, ale również u innych gatunków drobiu), opis dróg szerzenia się zakażenia, kliniki oraz metod zapobiegania i zwalczania zakażeń pałeczkami *Salmonella* spp. Dodatkowo, w tym podrozdziale Autorka wprowadza zagadnienia dotyczące krajowych programów zwalczania zakażeń pałeczkami *Salmonella* spp. oraz różnic w odniesieniu do ich zastosowania/lub braku ich zastosowania w odniesieniu do drobiu grzebiącego i drobiu wodnego.

Kolejne podrozdziały dotyczą opisu zakażeń bakteryjnych, w tym włoskowcem różycy, *Pasteurell* spp. i *Galibacterium anatis* oraz zakażeń grzybiczych (*Aspergillus* spp.). Podrozdziały te (podobnie jak dwa poprzednie) skupiają się na problematyce tych zakażeń w kontekście opisu czynnika etiologicznego, dróg szerzenia zakażenia, klinice oraz na zapobieganiu i zwalczaniu z uwzględnieniem najnowszych danych dotyczących opisów przypadków klinicznych poszczególnych chorób zidentyfikowanych w stadach gęsi w kraju i za granicą.

W dalszej części Wstępu Autorka dokonuje analogicznego opisu, wraz z przeglądem literatury naukowej, w odniesieniu do zagadnień dotyczących zakażeń parwowirusowych (GPV - wywołującego chorobę Derzy'ego), poliomawirusowych (GHPV) oraz cirkowirusowych (GoCV) gęsi. W podrozdziałach tych (w szczególności w odniesieniu do GPV) dużą uwagę poświęcono dodatkowo diagnostyce oraz immunoprofilaktyce, w tym immunoprofilaktyce międzypokoleniowej, poprzez przekazywanie swoistych przeciwciał od niosek do potomstwa.

Głównym **Celem** badań Doktorantki była ocena statusu zdrowotnego gęsi przeznaczonych do tuczu w chowie intensywnym, ze szczególnym uwzględnieniem wpływu obecności przeciwciał matczynych przeciwko parwowirusowi gęsi (GPV) na zdrowotność ptaków. Dodatkowo w pracy podjęto próby określenia wybranych cech fenotypowych bakterii oraz wirusów, co uzyskano na podstawie:

1. określenia wrażliwości szczepów *E. coli* na wybrane antybiotyki i chemioterapeutyki;
2. charakterystyki molekularnej izolatów *E. coli* w kontekście prewalencji wybranych genów oporności na antybiotyki i chemioterapeutyki oraz oceny prewalencji genów zjadliwości;
3. określenia zdolności tworzenia biofilmu przez szczepy *E. coli*;
4. typizacji wyizolowanych bakterii z rodzaju *Salmonella*, *Gallibacterium* oraz *Erysipelothrix*, a także określenia ich wrażliwości na antybiotyki i chemioterapeutyki;
5. badania mikologicznego;
6. określenia poziomu specyficznych przeciwciał przeciwko parwowirusowi gęsi (GPV);
7. badania w kierunku zakażeń wirusowych (GPV, GoCV, GHPV) z wykorzystaniem metod biologii molekularnej oraz analizę filogenetyczną uzyskanego materiału genetycznego parwowirusów i cirkowirusów gęsi.

W kolejnym rozdziale „**Materiały i metody**”, Doktorantka przedstawiła zwięzły opis układu doświadczenia, schemat próbkobrania oraz szczegółowy opis badań laboratoryjnych (bakteriologiczne z identyfikacją drobnoustrojów, mikologiczne, określenie wrażliwości szczepów bakteryjnych na wybrane substancje antibakteryjne wykonane metodą MIC i/lub

dyfuzyjno - krążkową, określenie wartości MIC dla kolistyny z użyciem testu mikrorozcieńczeń, badania genetyczne szczepów *E. coli* określające prewalencję wybranych genów oporności na antybiotyki i chemioterapeutyki z precyzyjnym opisem poszczególnych etapów tych badań, ocenę zdolności tworzenia biofilmu przez szczepy *E. coli*, określenie poziomu swoistych przeciwciał anti-GPV, jak również procedura detekcji materiału genetycznego wybranych wirusów z wykorzystaniem technik biologii molekularnej wraz z opisem procedury sekwencjonowania i analizy filogenetycznej wybranych wirusów). Rozdział ten został dodatkowo opatrzony 4 tabelami oraz 4 rycinami, które stanowią uzupełnienie detalicznego opisu procedur badawczych.

Doświadczenie zaplanowane przez Autorkę prowadzone było w dwóch, następujących po sobie sezonach wylęgowych gęsi (2019 i 2020 rok), obejmowało łącznie 27 stad (o liczebności od 3000 do 13000 ptaków), a badania prowadzone były w tych stadach, w wybranych momentach odchowu oraz tuczu gęsi. Dodatkowo, biorąc pod uwagę możliwe różnice w poziomie odporności matczynej (wynikającej z przedłużającego się okresu nieśności) Doktorantka postanowiła przeprowadzić doświadczenie w dwóch okresach wstawień gąsiąt w danym sezonie nieśności, z czego pierwszy obejmował pisklęta z wylęgów pomiędzy lutym a kwietniem, a drugi okres - pomiędzy majem a czerwcem. Pisklęta, wstawiane na fermę objęte analizą, pochodziły z 3 różnych zakładów wylęgowych.

Tekst rozdziału „**Wyniki**” uzupełniony wysokiej jakości tabelami i rycinami przybliży czytającemu wyniki zaplanowanego przez Doktorantkę doświadczenia w sposób przejrzysty i komunikatywny.

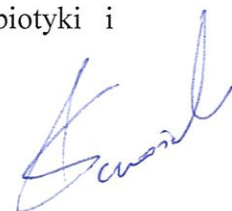
Analiza wyników badań własnych, która szczegółowo została opisana w rozdziale "**Omówienie Wyników i Dyskusja**", pozwoliła Autorce na wyciągnięcie 11 następujących **Wniosków**:

1. Najczęściej stwierdzane zakażenia bakteryjne w stadach gęsi tuczowych były wywoływane przez bakterie: *E. coli*, *Erysipelothrix rhusiopathiae* i *Gallibacterium anatis*. W przypadku zakażeń *G. anatis* diagnozowano koinfekcję z *E. coli* i/lub *E. rhusiopathiae* oraz polyomawirusem gęsi (GHPV).
2. Wyizolowane szczepy *E. coli* w znacznym stopniu (69,9%) wykazywały fenotyp wielolekooporny (MDR). Najczęstszym profilem wielolekooporności był AMOX ENRO OXY TET SDM SXT STZ.
3. Badane szczepy *E. coli* charakteryzowały się wysoką prewalencją genów oporności na betalaktamy (gen *blaTEM*), tetracykliny (gen *tetA*) oraz izolaty z 2020 r. na sulfonamidy

- (gen *sull* i *sul2*). Tylko 1 szczep *E. coli* posiadał gen oporności na kolistynę - *mcr-1*.
4. Najczęściej występującymi genami zjadliwości wśród szczepów *E. coli* były: gen *iss*, gen *jucD*, ponadto wśród szczepów z 2020 r. gen *irp2*. Wszystkie szczepy *E. coli* wyizolowane od gęsi tworzyły biofilm na podłożu LB, najczęściej na średnim poziomie.
 5. Obecność swoistych przeciwciał matczynych anty-GPV wykazano w surowicy wszystkich gęsi, przy czym wyższe wartości mian ELISA potwierdzono w surowicach pobranych od gęsi w 2020 r. Nie zaobserwowano zależności pomiędzy wysokością poziomu przeciwciał anty-GPV a pochodzeniem piskląt (ZWD).
 6. We wszystkich badanych stadach potwierdzono obecność materiału genetycznego parwowirusa gęsiego (GPV), co jednak tylko w jednym stadzie łączyło się z zaburzeniem opierzenia u gęsi i zmianami patologicznymi wskazującymi na chorobę Derzsy'ego.
 7. Zakażenia cirkowirusem gęsi (GoCV) potwierdzono w 44,5% wszystkich badanych stad, natomiast polyomawirusem gęsi (GHPV) w 59,3% stad. Charakterystyczny był rok 2019, kiedy aż 76,9% stad było zainfekowanych polyomawirusem gęsi.
 8. Wykazano wysoki odsetek stad gęsi zakażonych równocześnie GPV+ GHPV (59,3% stad dodatnich), GPV+GoCV (44,4%) oraz GPV+GHPV+GoCV (22,2%). Wszystkie zakażenia mieszane stwierdzano częściej w stadach gęsi badanych w 2019 r.
 9. Na podstawie analizy filogenetycznej materiału genetycznego GPV otrzymane sekwencje zakwalifikowano w większości do grupy klasycznego szczepu cGPV (69,2%), pozostałe do nGPV (30,1%). Z kolei 91,7% sekwencji GoCV cechowała się wysoką homologią do siebie i do izolowanego w 2014 r. w Polsce szczepu DG1. Tylko jedna sekwencja była podobna do sekwencji węgierskich i polskich GoCV izolowanych na przełomie lat 2013-2016.
 10. W sposób istotny o statusie zdrowotnym gęsi decydowały zakażenia mieszane - tak bakteryjne (*E. coli*, *E. rhusiopathiae*, *G. anatis*) jak też wirusowe (GPV, GoCV, GHPV). Ponadto, zakażenia grzybicze (*A. fumigatus*) obniżały wartość biologiczną wstawianych piskląt.
 11. Nie zaobserwowano zależności pomiędzy pochodzeniem gęsi (ZWD) i okresem wstawiania gęsi na fermę (I i II sezon) a końcowym stanem zdrowotny

Recenzowaną pracę doktorską **oceniam pozytywnie** ze względu na następujące walory:

1. praca stanowi istotny wkład naukowy w obszarze patologii gęsi i jest jednym z nielicznych (jeżeli nie jedynym) tak kompleksowym opracowaniem, w którym obok identyfikacji określonych drobnoustrojów, wykonano również szereg badań opisujących cechy fenotypowe (w tym między innymi spektra wrażliwości na antybiotyki i

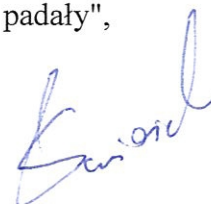


- chemioterapeutyki) oraz genotypowe (w tym prewalencja genów oporności na antybiotyki i chemioterapeutyki, genów wirulencji oraz analiza filogenetyczna pokrewieństwa wirusów) najważniejszych patogenów zagrażających zdrowiu gęsi tuczowych i nie tylko;
2. Autorka podjęła próby ustalenia wzajemnych zależności pomiędzy uzyskiwanymi wynikami badań, a sytuacją kliniczną ptaków na fermie co stanowi bardzo istotny wkład w praktyczne aspekty wiedzy weterynaryjnej. Na szczególną uwagę zasługuje fakt, że tego typu prace badawcze są aktualnie bardzo pożądane, a równocześnie niesłychanie trudne do realizacji, ze względu na istniejący dysonans pomiędzy chęcią, a możliwością pozyskania przez Naukowców danych "spoza laboratorium", takich jak dane produkcyjne, dane na temat statusu zdrowotnego ptaków itp. Biorąc powyższe pod uwagę, w mojej ocenie recenzowana praca nadal skrywa swój pełny potencjał i szczerze zachęcam Doktorantkę do prowadzenia dalszej analizy uzyskanych wyników badań, w tym w szczególności na istniejące relacje i zależności pomiędzy badanymi zmiennymi w obrębie infekcji mieszanych, analizy filogenetycznej czy prewalencji genów oporności i wirulencji wśród izolatów *E. coli*, a dostępnymi danymi produkcyjnymi i klinicznymi. Reasumując - recenzowana praca stanowi istotny wkład, jako podwalina pod opracowywanie algorytmów postępowania weterynaryjnego w stadach drobiu wodnego;
 3. badania zrealizowano z zastosowaniem najnowocześniejszych metod, co podnosi jej wartość naukową;
 4. wiarygodność uzyskanych wyników podnosi fakt użycia w badaniach tak licznych i zawansowanych metod badawczych, w tym biologii molekularnej, sekwencjonowania i analizy filogenetycznej.

Z obowiązku recenzenta pragnę jednak zwrócić Doktorantce uwagę na kilka niedociągnięć, jak również chciałbym poprosić o przedstawienie odpowiedzi na poniżej zamieszczone pytania:

1. Jedną z podstawowych wad pracy jest brak staranności w doborze słów, jak również często w konstrukcji zdań, które niejednokrotnie wymagają kilkukrotnego przeczytania przed zrozumieniem intencji Autorki. Jako przykłady wymienić tutaj można:

- a. kolokwialne określenia, skróty myślowe (często niezrozumiałe), czy drobne potyczki językowe jak: "wybuch choroby", "niedobór szczepionki", "wprowadzenie (ptaków) na ubojnię", "bakteriofagi ... unicestwiają bakterie"; "patogeneza bakteryjna", "szerzenie się bakterii", "w obrazie sekcyjnym dominują stany zapalne", "wiele leków ogranicza śmiertelność", "gęsi ... padały",



"wybroczyny na sercu", "zasiedlenie obiektu (przez bakterie)", "obliteracja dużych części płatów płucnych (u ptaków)", "komórki kompetentne (w odniesieniu do układu immunologicznego)", "Białko... najsilniej ekspresjonowane", "objawy sekcyjne" "próby" (zamiast próbki), "wybroczyny na nasierdziu, wsierdziu" ... etc.

b. błędne konstrukcje zdań jak np.:

- "U piskląt rozwija się zapalenie pępka i woreczka żółtkowego w wyniku niepełnego zrostu powłok brzusznych pisklęcia, następstwem tego jest otwarty kontakt ze środowiskiem inkubacji jaj". Szczerze mówiąc, z tego zdania nie do końca wiem co jest następstwem czego i czym jest ów "otwarty kontakt";
- "Sektor mięsa drobiowego reprezentuje 2/3 światowej produkcji mięsa na świecie i szacuje się że do 2025 roku osiągnie największy wzrost spożycia w ciągu dekady." Autorka wskazuje jakoby "sektor mięsa drobiowego" miał wyraźnie silny apetyt (dosłownie). Zakładam, że stanowi on dużą część światowego apetytu na świecie. W cytowanym zdaniu świadomie nie wstawiono przecinka przed "że", co unaocznia kolejną plagę recenzowanej pracy - brak właściwej interpunkcji.
- "W badaniach uwzględniono też wpływ obecności przeciwciał matczynych przeciwko parwowirusowi gęsi (GPV) na zdrowotność ptaków oraz termin dostarczenia piskląt na fermę". Rodzi się pytanie - czy to poziom MDA ma wpływ na termin wstawienia piskląt, czy ta zależność (jeżeli występuje) jest jednak odwrotna?

Nie sposób przytoczyć wszystkich tego typu wpadek Autorki, ponieważ są one wręcz nagminne i wszędobylskie w całej recenzowanej pracy. Pomimo, iż nie rzutują one na merytoryczną stronę dysertacji, to jednak ich mnogość ujmuje wydzwiku naukowego oraz powoduje, że praca jest zwyczajnie "ciężko-strawna".

2. Istotnym brakiem metodologicznym pracy jest brak badania serologicznego piskląt 1-dniowych, celem oceny poziomu swoistych przeciwciał anti-GPV. Jest to tym bardziej dziwne, że Autorka sama wskazuje, że określenie poziomu tych przeciwciał było celem, na który stawiano "szczególny" nacisk, a dodatkowo w pracy (we Wstępie i w Dyskusji) poruszane są niejednokrotnie zależności pomiędzy MDA, a prewalencją wybranych wirusów, czy też predyspozycją do klinicznych form zakażeń tymi wirusami. Proszę zatem Doktorantkę o odpowiedź na pytanie - dlaczego nie zdecydowano się na tego typu badanie (piskląta 1 dniowe), zamiast badania poziomu MDA u ptaków w okolicach

dwóch tygodni życia?

3. W mojej opinii, opis znaczenia biofilmu w podrozdziale (we Wstępie pracy) dotyczącym zakażeń *E. coli* u gęsi jest zbyt ogólny i nie odnosi się do tematu przewodniego. Dodatkowo, z punktu widzenia metodologicznego pracy ten aspekt (możliwość tworzenia biofilmu) jest dla mnie kontrowersyjny. Nie do końca rozumiem istotności prowadzenia tych analiz przez Autorkę, tym bardziej, iż wykazano (co też Doktorantka dowiodła w swojej pracy), że zdolność tworzenia biofilmu przez szczepy *E. coli* nie koreluje z ich patogennością. W związku jednak z faktem, że Autorka podejmuje polemikę pomiędzy zdolnością tworzenia biofilmu przez szczepy *E. coli* izolowane z narządów wewnętrznych ptaków, a problematyką biofilmu w liniach pojenia dla ptaków proszę o odpowiedź na pytanie - w jaki sposób zagadnienia te są ze sobą tożsame?
4. Autorka często wspomina, że zakażenia bakteryjne, grzybicze oraz wirusowe mają charakter endemiczny. Zważywszy, że w pracy badania prowadzono w 27 stadach, to jednak stada te były często własnością tego samego hodowcy. Stąd pytanie pierwsze - czy ptaki te odchowywano na tych samych fermach i w tym samych obiektach? Pytanie drugie (zależnie od odpowiedzi na pytanie pierwsze) - czy zależności te mogły wpływać na uzyskane wyniki dotyczące prewalencji zakażeń bakteryjnych, jak i wirusowych gęsi, w myśl możliwości endemicznego charakteru tego zakażenia?
5. W całej pracy, przy opisie poszczególnych rodzajów bakterii (jak np. *Pasteurella* czy *Salmonella*) brak jest wskazania, że chodzi o rodzaj - "spp."
6. Nie zgadzam się z określeniem ("Wstęp"), że (jedynymi metodami) "... identyfikacji włoskowca różycy ... (są testy) biochemiczne i/lub badania PCR".
7. Nie zgadzam się z tym twierdzeniem ("Wstęp") - "Szczepionki autogenne (autoszczepionki) są popularnym produktem w hodowli trzody chlewnej oraz drobiu i wykorzystywane w momencie braku na lokalnym rynku odpowiedniego produktu komercyjnego. Tego typu szczepionki mają ograniczone zastosowanie, do takiego gospodarstwa z którego pochodzą izolaty, gdyż zawierają specyficzne szczepy bakterii. Mają także swoje wady m.in. brak walidacji oraz możliwość skażenia innym patogenem (Oppriesing i wsp., 2020)". Autorka nie wskazuje wszystkich wskazań do użycia szczepionek autogenicznych (prawidłowa nazwa), jak również faktu, że zdecydowana większość producentów zaczyna funkcjonować w standardzie GMP lub przynajmniej GMP - like, z uwzględnieniem testów sterylności zgodnych z Farmakopeą.
8. W rozdziale "Materiały i Metody" nie wskazano numeracji oraz nazewnictwa wszystkich tabel. Dotyczy to w większości tańble z informacją na temat mieszanin reakcyjnych PCR,

czy też warunków prowadzonych reakcji PCR.

9. Wyniki - tabela 10 i 11. Proponowałbym użycie innego typu tła dla wyników chemioterapeutyków dla których nie ustalono wartości granicznych MIC.
10. W rozdziale "Wyniki" Autorka ma tendencję do częstego powtarzania metod służących do uzyskania wyników. Takie powtórzenia są w mojej opinii niepotrzebne.
11. W "Dyskusji" brakuje krytycznego zestawienia wyników badań własnych, z wynikami badań innych zespołów naukowych. W mojej ocenie Autorka niepotrzebnie przyjęła jeden, powielany scenariusz prowadzenia polemiki w tym rozdziale, który polega na sumarycznym podsumowaniu wyników badań własnych, czemu następnie towarzyszy mniej lub bardziej obszerny opis tematu, który przyjmuje charakter pracy przeglądowej, stojącej niejako obok wyników własnych. Jako przykład podać można między innymi:
 - a. Uzyskane profile oporności *E. coli* w badaniach własnych Autorka zestawia z wynikami prac, w których wykorzystywano zupełnie inne substancje czynne do określenia tego profilu. Z przykrością jednak zauważyć można, że Doktorantka nie podjęła wysiłku, aby o tym wspomnieć/uzasadnić;
 - b. To samo dotyczy prewalencji genów wirulencji, gdzie wyniki własne Autorka porównuje z pracami, w których albo badano prewalencję tych genów wśród szczepów izolowanych od głównie innego gatunku drobiu (kury, Sparglia i wsp. 2019), lub zupełnie innymi metodami i w zdecydowanie szerszym zakresie (28 genów (Zhang i wsp. 2018) vs. 8 genów analizowanych w badaniach własnych Autorki);
 - c. Trzymając się krótko scenariusza polemiki otrzymujemy od Autorki bardzo rozbudowany opis przypadków zakażeń gęsi (i nie tylko) takimi drobnoustrojami jak *Salmonella* spp., *Galibacterium anatis* czy włoskowcem różycy (często są to opisy na kilka stron), podczas gdy w badaniach własnych Doktorantka pozyskała pojedyncze szczepy tych bakterii. W mojej opinii opisy te są niepotrzebnie tak silnie rozbudowane i nie korespondują z wynikami badań własnych.

Przedstawione uwagi krytyczne oraz zapytania nie umniejszają merytorycznym walorom, przedstawionej do recenzji dysertacji. W mojej opinii większość przedstawionych uwag ma charakter czysto redakcyjny i nie rzutują one na wiarygodność uzyskanych wyników badań, a przedstawione luki w układzie eksperymentalnym czy metodologiczne, stwarzają dla Doktorantki idealną okazję do dalszego rozwoju naukowego i badań w obszarach dotychczas przez Nią nie zgłębianych.

W konkluzji wyrażam opinię, że rozprawa doktorska lek. wet. Moniki Chmielewskiej-Władyki pt. ” Zakażenia bakteryjne i wirusowe w stadach gęsi towarowych. Badania wybranych stad w 2-letnim cyklu obserwacji” **odpowiada** wymogom określonym w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2022 poz. 574). Biorąc powyższe pod uwagę przedkładam Radzie Dyscypliny Weterynaria Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu wniosek o dopuszczenie lek. wet. Moniki Chmielewskiej-Władyki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

dr hab. Marcin Śmiałek

