Olsztyn, dnia 26.06.2025

prof. dr hab. wet. Tomasz Stenzel
Katedra Chorób Ptaków
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
UWM w Olsztynie

Opinia promotora na temat rozprawy doktorskiej
Pani lek. wet. Ewy Łukaszuk
pt. „Ocena zależności pomiędzy składem wiromu przewodu pokarmowego a występowaniem enteropatii u młodych gołębi sportowych”

Opiniowaną rozprawę doktorską stanowi spójny zbiór sześciu artykułów oryginalnych opublikowanych w wysoko punktowanych czasopismach naukowych z listy JCR. Podjęte przez Panią lek. wet. Ewę Łukaszuk badania dotyczą wirusologii molekularnej przewodu pokarmowego gołębi sportowych. Zagadnienie badawcze oceniam bardzo wysoko, bowiem wypełnia ono wiele luk w wiedzy dotyczącej zakażeń wirusowych u ptaków. Nie wszystkie z wirusów to bezwzględne patogeny, a przeważająca część z nich nie zawsze wywołuje śmierć gospodarza, ale związana jest z upośledzeniem funkcjonowania różnych układów zakażanego organizmu. Do takich wirusów zaliczają się między innymi te, które odpowiedzialne są za zaburzenia funkcjonowania przewodu pokarmowego - enteropatie. Choroby te stanowią poważny problem w odchowie gołębi przyczyniając się nie tylko do upośledzenia wzrostu młodych ptaków ale również mogą mieć wpływ na tempo regeneracji organizmu w przypadku lotowanych gołębi sportowych. Najlepszym rozwiązaniem w ocenie potencjalnego patogennego wpływu wirusów jest ich laboratoryjna izolacja oraz zakażenie eksperymentalne pozwalające spełnić postulaty Kocha. Niestety w przypadku wielu czynników wirusowych metody laboratoryjnej ich propagacji nie zostały opracowane. Alternatywnym narzędziem umożliwiającym wykrywanie wirusów i ich identyfikowanie są stale ewoluujące techniki biologii molekularnej, w tym analiz metagenomowych. Wprowadzenie ich znacząco wpłynęło na rozwój wielu dziedzin naukowych, w tym wirusologii weterynaryjnej.

W przedstawionym mi do oceny autoreferacie Pani lek. wet. Ewa Łukaszuk w bardzo czytelny sposób dokonała podsumowania najważniejszych osiągnięć wynikających z prowadzonych przez siebie badań wraz z opisem uzasadniającym ich podjęcie, hipotezę badawczą oraz celów służących jej weryfikacji.

Badania przeprowadzone zostały na wystarczająco licznym materiale klinicznym, który stanowiły łącznie 153 próbki wymazów z kloaki pobranych od ptaków ze stad, w których stwierdzano enteropatie oraz od ptaków nie wykazujących objawów klinicznych. Ptaki kwalifikowane do badań skrupulatnie przebadano pod kątem zdrowotnym, by odrzucić przypadki o etiologii innej niż wirusowa.

Badania przesiewowe próbek Doktorantka przeprowadziła za pomocą uzupełniających się nowoczesnych metod sekwencjonowania: sekwencjonowania wysokoprzepustowego przez syntezę oraz sekwencjonowania nanoporowego. Pierwsza z wymienionych metod pozwala na uzyskanie krótkich i powtarzalnych fragmentów genomu, z kolei druga z nich pozwala na bardzo długie odczyty. Tym samym możliwe było uzyskanie i złożenie przez Doktorantkę kompletnych lub niemal kompletnych sekwencji genomów wirusów (najdłuższy ponad 40 tys. nukleotydów!). Złożone sekwencje pełnogenomowe zostały poddane szczegółowym analizom bioinformatycznym oraz filogenetycznym w celu ustalenia pochodzenia i pokrewieństwa wykrytych wirusów, a także określenia występowania zdarzeń rekombinacyjnych w ich genomach oraz określenia ich potencjalnego związku z wirusowymi enteropatogenami przewodu pokarmowego znanymi u drobiu. Na tym etapie badań Doktorantka wyselekcjonowała grupy taksonomiczne wirusów mogące mieć związek z enteropatiami. Były to wirusy należące do rodzin *Astroviridae*, *Picornaviridae*, *Coronaviridae*, *Parvoviridae* i *Adenoviridae* oraz do rodzaju *Rotavirus*. Etap ten był również bardzo owocny pod kątem poznawczym, bowiem w ramach badań Doktorantka odkryła i opisała kompletne genomy 5 wirusów prawdopodobnie należących do nowych gatunków oraz trzy będące rekombinantami. W przeprowadzonych badaniach potwierdziła również pierwszy w Europie przypadek zakażenia gołębi wywołanego przez rotawirus G, który do tej pory stwierdzany był tylko w Azji. Wszystkie sekwencje pełnogenomowe uzyskane w ramach prac badawczych Doktorantki zostały umieszczone w międzynarodowej bazie GenBank NCBI oraz były podstawą do napisania artykułów stanowiących ocenianą rozprawę doktorską. Uzyskane sekwencje genomowe były również bazą do zaprojektowania starterów i sond molekularnych niezbędnych do przeprowadzenia analiz ilościowych. Doktorantka wybrała nowoczesną i stosunkowo trudną w wykonaniu bezwzględną analizę ilościową wykonaną techniką ddPCR (PCR emulsyjny). Tak przeprowadzona analiza podparta technikami statystycznymi pozwoliła na ustalenie korelacji pomiędzy występowaniem enteropatii a zakażeniem poszczególnymi gatunkami wirusów. Przeprowadzone analizy ilościowe wykazały, że za wywołanie enteropatii u gołębi odpowiedzialny jest rotawirus gołębi A, pozostałe z wirusów stanowią czynniki towarzyszące.

Uzyskane przez Doktorantkę wyniki są bardzo dobrze przedyskutowane, co potwierdza jej dojrzałość naukową, a wyciągnięte z pracy wnioski bezpośrednio wynikają z przeprowadzonych badań.

Wyniki prac stanowiących opiniowaną rozprawę doktorską są bardzo ciekawe i mają dużą wartość poznawczą, co znajduje odzwierciedlenie w opublikowaniu ich w aż sześciu artykułach naukowych w czasopismach o międzynarodowym zasięgu, których sumaryczna liczba punktów wynosi 820, a łączny impact factor równa się 19,6.

Podsumowujący pracę autoreferat został pedantycznie przygotowany, jest bardzo spójny a jego atrakcyjność wzmacniają bardzo dobrej jakości autorskie ryciny. Chcę również podkreślić, że jest to pierwsza na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej UWM w Olsztynie praca doktorska wykraczająca metodologicznie dużo dalej niż konwencjonalny PCR i stare metody sekwencjonowania (Sanger), a odkryte w ramach prac doktorantki nowe gatunki wirusów prawdopodobnie zostaną przeprocedowane przez Międzynarodowy Komitet do Spraw Taksonomii Wirusów (ICTV) i sekwencje ich genomów staną się referencyjnymi, co potwierdza znaczenie przeprowadzonych badań.

W mojej opinii rozprawa doktorska lek. wet. Ewy Łukaszuk spełnia wymagania formalne określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. *Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce* (Dz. U. z 2018 r., poz. 1668, z późn. zm.), a zważywszy również na bogaty dorobek naukowy Doktorantki kryteria zwyczajowe stawiane pracom doktorskim. Praca doktorska lek. wet. Ewy Łukaszuk stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego a uzyskane wyniki mają charakter interdyscyplinarny zarówno pod względem naukowym jak i aplikacyjnym - wdrożenie opracowanych w ramach niniejszych badań technik molekularnych do badań przesiewowych pacjentów celem ustalenia optymalnych programów profilaktycznych. Tym samym stwierdzam, że oceniana rozprawa doktorska może być skierowana do dalszych etapów związanych z postępowaniem w sprawie nadania stopnia doktora. Podsumowując oceniam rozprawę doktorską Pani lek. wet. Ewy Łukaszuk pozytywnie i wnoszę do Rady Dyscypliny Naukowej Weterynaria Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie o jej przyjęcie oraz dalsze procedowanie.



Signed by / Podpisano przez:

Tomasz Adam Stenzel
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Date / Data: 2025-10-16 12:38