UNIWERSYTET
PRZYRODNICZY
WE WROCŁAWIU

ZAKŁAD PARAZYTOLOGII
KATEDRY CHORÓB WEWNĘTRZNYCH Z KLINIKĄ KONI, PSÓW I KOTÓW

Wrocław, 31.05.2021 r.

Dr hab. Jolanta Piekarska, prof. uczelni
Zakład Parazytologii
Katedra Chorób Wewnętrznych
z Kliniką Koni, Psów i Kotów
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

RECENZJA

rozprawy doktorskiej **mgr Sylwii Koziatek-Sadłowskiej pt. „Wpływ populacji *Dermanyssus gallinae* na poziom kortykosteronu u kur niosek oraz jej różnorodność genetyczna”**, wykonanej w Katedrze Parazytologii i Chorób Inwazyjnych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie pod kierunkiem promotora prof. dr hab. Rajmunda Sokoła oraz promotora pomocniczego dr n wet. Marii Michalczyk.

Podstawą formalną do wykonania recenzji rozprawy doktorskiej mgr Sylwii Koziatek-Sadłowskiej jest uchwała Rady Naukowej Dyscypliny Weterynaria Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie z dnia 30 kwietnia 2021 r. i pismo Przewodniczącego Rady Naukowej Dyscypliny Weterynaria, prof. dr hab. Krzysztofa Wąsowicza nr WMW-DZ.6312.8.2021 z dnia 12.05.2021 r.

Ogólna charakterystyka rozprawy

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska liczy 87 stron maszynopisu. Praca ma charakter naukowo-badawczy, przygotowana jest w sposób typowy dla tego rodzaju opracowań i składa się z następujących rozdziałów: wstęp, cel badań, materiały i metody, wyniki, dyskusja, wnioski i piśmiennictwo. Tekst pracy poprzedzony jest wykazem skrótów, który jest pomocny w analizowaniu wyników oraz streszczeniem w języku polskim i angielskim. Bibliografia zawiera 140 pozycji przedstawionych w porządku alfabetycznym, odzwierciedlających aktualny stan wiedzy w realizowanym zakresie badań.

Problem naukowy, jego sformułowanie i aktualność podjętego zadania naukowego

Praca dotyczy dermanyssozy, inwazji wywoływanej przez pasożytnicze roztocze *Dremanyssus gallinae* (ptaszyńca), która stanowi poważny problem w przemysłowych fermach kur niosek. Ptaszyniec jest jednym z najgroźniejszych, krwiopijnych pasożytów zewnętrznych ptaków, atakuje ptaki nocą, a w

ciągu dnia przebywa poza żywicielem w szczelinach i zakamarkach pomieszczeń. Ze względu na niewielkie rozmiary, krótki cykl rozwojowy, wysoką płodność samic oraz doskonałą adaptację do niekorzystnych warunków środowiska (bez pokarmu może przetrwać wiele miesięcy) jego obecność w kurnikach niesie ryzyko długofalowych, negatywnych skutków takich jak obniżenie dobrostanu i kondycji ptaków, wzrost liczby upadków, a także obniżenie poziomu nieśności i jakości jaj. Masowa inwazja generuje również wysokie koszty zwalczania, a w konsekwencji poważne straty ekonomiczne. Całkowita eliminacja *D. gallinae* w kurniku jest bardzo trudna, ponieważ bytuje on w zakamarkach i szczelinach elementów jego konstrukcji, które są trudnodostępne dla środków roztoczobójczych. Trudności w zwalczania pasożytów sprawia również brak skutecznych do jego likwidacji a jednocześnie bezpiecznych dla żywności akarycydów, oraz szybki wzrost oporności roztocza na niektóre substancje chemiczne. Po ich zastosowaniu populacja roztocza szybko się odnawia, a w efekcie ptaki narażone są na długotrwały stres. Wymierny efekt może przynieść kontrolowanie rozwoju populacji i utrzymywanie jej na odpowiednio niskim poziomie. Analiza stężenia kortykosteronu w odchodach ptaków (hormonu z grupy kortykosteroidów, wydzielanego w odpowiedzi na czynnik stresogenny ) może być jednym ze wskaźników pomocnych przy wyznaczaniu kierunku dalszego postępowania mającego na celu skuteczne zwalczanie pasożyta. Autorka w przedstawionej do recenzji pracy podjęła się oceny korelacji pomiędzy poziomem kortykosteronu a poziomem inwazji *D. gallinae* w cyklu produkcyjnym w fermie przemysłowej oraz korelacji pomiędzy tymi parametrami podczas zwalczania inwazji ptaszyńca wybranymi preparatami.

Temat pracy i podjętych badań jest interesujący nie tylko z poznawczego punktu widzenia lecz również aktualny, uzasadniony i potrzebny dla weterynaryjnej praktyki lekarskiej. Podjęte przez mgr Sylwię Koziatek-Sadłowską badania należą do nielicznych przeprowadzonych w warunkach terenowych i są próbą praktycznego rozwiązania istotnego dla wielkotowarowego drobiarstwa problemu dermanyssozy.

Zawartość merytoryczna rozprawy doktorskiej oraz jej struktura

Rozprawa doktorska mgr Sylwii Koziatek-Sadłowskiej cechuje się przejrzystą i logiczną konstrukcją, która bardzo dobrze oddaje sformułowany temat i cele pracy. Zawartość rozdziałów jest przemyślana i podporządkowana tematowi pracy.

Rozdział **„Wstęp”** został zawarty na 18 stronach i stanowi wprowadzenie w problematykę inwazji *D. galiinae* u ptaków oraz rolę tego pasożyta w wielkotowarowej produkcji drobiarskiej. Autorka w oparciu o bogatą literaturę fachową przedstawiła charakterystykę *D. gallinae* uwzględniając morfologię, cykl rozwojowy, rozpowszechnienie i zasięg geograficzny, warunki sprzyjające rozwojowi inwazji,

zróżnicowanie genetyczne i chorobotwórczość. Opisała metody powszechnie wykorzystywane do zwalczania i kontroli inwazji *D.gallinae* (met. chemiczne, fizyczne), substancje naturalne oraz inne metody zwalczania pasożyta tj. programy świetlne, drapieżne roztocze czy próby opracowania skutecznej szczepionki. Autorka zwróciła uwagę na duże znaczenie tzw. zintegrowanych programów zwalczania (IPM), w których łączy się różnorodne metody i środki, których celem jest nie tylko skuteczna likwidacja pasożyta, ale minimalizacja ryzyka dla zdrowia ludzi oraz środowiska. W drugiej części wstępu Doktorantka w zwięzły i rzeczowy sposób argumentuje konieczność skorelowania poziomu inwazji *D. gallinae* ze wskaźnikami dobrostanu kur niosek, do których należy kortykosteron.

W mojej ocenie, w tej części opracowania brakuje jedynie charakterystyki preparatów do zwalczania ptaszyńców, które zastosowano w obecnych badaniach: Aquamax Acari (Wąbrzeźno, Polska) i Dergall (ICB Pharma, Polska) szczególnie, że o pierwszym z wymienionych, który podawano kurom z wodą do picia, nie ma informacji na stronie internetowej producenta oraz w literaturowych bazach danych. Podczas prowadzenia badań doświadczalnych, jak również ze względów bezpieczeństwa zdrowotnego żywności wymagane jest stosowanie u drobiu preparatów posiadających rejestrację w Polsce. Obowiązujące przepisy nie przewidują możliwości stosowania produktów leczniczych niezgodnie ze wskazaniami i nie zarejestrowanych do stosowania u zwierząt, od których tkanki i produkty są przeznaczone do spożycia przez ludzi.

Oceniając tą część pracy stwierdzam, że treść rozdziału dobrze wprowadza czytelnika w zagadnienia stanowiące przedmiot badań i pozwala zrozumieć potrzebę i sens ich przeprowadzenia. W przeglądzie piśmiennictwa należy podkreślić właściwy dobór źródeł i ich omówienie.

**Celem** nadrzędnym badań była ocena wpływu naturalnej inwazji/populacji *D. gallinae* występującej u kur niosek zasiedlających kurniki przemysłowe na poziom kortykosteronu z uwzględnieniem cyklu produkcyjnego oraz wybranych metod jej zwalczania, a także jej różnorodność genetyczna.

Dla sprawdzenia założonej hipotezy badawczej, że wzrost liczebności populacji *D. gallinae* może wpływać na wzrost poziomu kortykosteronu u kur niosek autorka zaplanowała 3 doświadczenia (D I, D II i D III), którym przypisano cele szczegółowe oraz zadania badawcze. Celem doświadczenia D I była ocena korelacji pomiędzy intensywnością inwazji *D. gallinae* i liczbą jego form rozwojowych, a poziomem kortykosteronu w próbkach kału kur niosek w cyklu produkcyjnym. W doświadczenie D II oceniano wpływ wybranych metod zwalczania inwazji *D. gallinae* (z wykorzystaniem preparatów podawany *per os* oraz w formie oprysku) na intensywność i strukturę populacji roztocza oraz poziom kortykosteronu u kur niosek. Celem

doświadczenia D III była ocena różnorodności genetycznej populacji *D. gallinae* w wybranych fermach przemysłowych w Polsce i ich pokrewieństwo z izolatami zdeponowanymi w banku genów (GenBank). Cele zostały zdefiniowane w sposób jasny i zrozumiały, a postawienie ich znalazło uzasadnienie w rozważaniach zawartych we wstępie pracy doktorskiej.

W rozdziale **„Materiały i metody"** (który liczy 10 stron) scharakteryzowano miejsce badań i procedurę pobierania próbek potrzebnych do przeprowadzenia trzech doświadczeń. Przedstawiono metody służące do oceny intensywności inwazji i struktury populacji *D. gallinae* oraz analizy poziomu kortykosteronu w doświadczeniach DI i D II. Również szczegółowy opis doświadczenia D III, w tym izolacji materiału genetycznego, zastosowanych markerów molekularnych i warunków reakcji oraz stosowanej w badaniach aparatury jest bardzo przejrzysty i świadczy o umiejętności dobrania odpowiednich narzędzi niezbędnych do zrealizowania planów badawczych.

Badania wykonano w fermie kur niosek w województwie kujawsko-pomorskim, w której znajduje się 6 kurników z systemem bateryjno-klatkowym. Ferma posiada też własną odchowalnię. Doświadczenie D1 przeprowadzono w 2 kurnikach (nr 1 i nr 2), gdzie monitorowano intensywność i strukturę inwazji *D. gallinae* w cyklu produkcyjnym w okresie od 22 do 80 tygodnia życia kur przy użyciu systemu pułapek (25 pułapek/ kurnik) oraz pobierano zbiorcze próbki kału (50/kurnik) do analizy poziomu kortykosteronu metodą ELISA. Kał do badań oraz pułapki pobierano w 10 terminach badań (w 22, 28, 32, 44, 52, 58, 66, 70, 76, 80 tygodniu życia kur). Doświadczenie D II prowadzono w 3 kurnikach na kurach w wieku 40–44 tygodni, które losowo przypisano do grup K3, K4 i K5. Czas trwania doświadczenia wynosił 4 tygodnie. W grupach K3 i K4 w 41 tygodniu życia stosowano preparaty do zwalczania ptaszyńca odpowiednio: Aquamax Acari *per os (*za pomocą linii do pojenia w dawce trzykrotnie co 24 godziny zgodnie z dobowym zapotrzebowaniem stada na wodę) oraz Dergall (ICB Farma) w formie oprysku na klatki z kurami (dwukrotnie w 41 i 42 tygodniu życia kur). Pułapki oraz próbki kału zbierano przed podaniem preparatu w 40 tygodniu życia kur oraz 3-krotnie po zastosowaniu preparatów (w 42, 43, 44 tygodniu życia kur niosek). W grupie kontrolnej (K5) nie stosowano środków przeciwko inwazji *D. gallinae,* a materiał do badań pobierano w tych samych terminach jak w grupach K3 i K4.

Moją uwagą do tej części opisu jest nieuzasadniony podział ptaków w doświadczeniu DI na grupę badawczą K1 (kurnik nr1) i kontrolną K2 (kurnik nr2). W obu grupach oceniano intensywność inwazji i strukturę populacji *D. gallinae* w tych samych warunkach tzn. nie wprowadzano dodatkowego czynnika (zmiennej niezależnej), która miałaby, bądź nie, wpływ na zmienną pomiarową (zależną). Zatem w tym wypadku grupa K2 nie była typową grupą kontrolną w stosunku do której porównywano poczynione w

badaniu obserwacje, ale służyła do wyznaczenia zakresu zmienności doświadczalnej. Ze względu na wykazane różnice w przebiegu rozwoju populacji ptaszyńca w obu grupach cennym byłoby zaplanowanie trzeciej grupy badawczej w tym doświadczeniu dla lepszego zobrazowania dynamiki obserwowanych zmian (tendencji).

Kolejną uwagą do opisu doświadczeń D1 i D2 w rozdziale **„Materiały i metody"** jest brak informacji czy doświadczenia te przeprowadzono w obiekcie równolegle czy w odstępach czasowych oraz w jakich miesiącach były prowadzone badania. Jest to bardzo istotna informacja dla późniejszej interpretacji uzyskanych wyników badań, ponieważ struktura populacji ptaszyńca może różnić się w zależności od sezonu (lato/zima).

Rozdział **„Wyniki",** najdłuższy w recenzowanej pracy, został przedstawiony na 26 stronach. Zawiera on 13 tabel i 11 rycin, w których zamieszczono kompleksowe zestawienie wyników badań. Dla lepszej przejrzystości tekst został podzielony na podrozdziały. Wyniki przedstawiono oddzielnie dla poszczególnych doświadczeń uwzględniając każdą z badanych grup. Jednak w tekście Autorka niepotrzebnie powtarza te same dane, które zamieściła w tabelach. Tekst powinien zwracać uwagę czytelnika tylko na pewne istotne wzorce lub zjawiska. Czytelniej byłoby wybrać jeden sposób prezentacji wyników. Powielając dane autorka nie ustrzegła się drobnych błędów np.: w zamieszczonym na str. 35 opisie: „W grupie K2 ..... Największą liczbę postaci dorosłych odnotowano w 58 tyg. (D 6030)" występuje niezgodność z danymi z Tab.2 (powinno być w 52 tyg.). Natomiast zamieszczony na str. 46 opis liczby jaj w masie całkowitej osadu w grupie K5 w 44 tyg. życia kur nie jest zgodny z danymi przedstawionymi w Tab. 9. Wśród drobnych błędów redakcyjnych w tym rozdziale znalazły się również: niepoprawny opis skrótu (DNL) w tytułach tabel 1 i 2 oraz brak jednostek poziomu kortyzolu (pg/ml) w opisie tabeli 10.

W rozdziale **„Dyskusja"** , który liczy 12 stron, autorka omówiła oraz wyczerpująco skonfrontowała uzyskane wyniki badań z aktualnym piśmiennictwem. Wykazała się dobrą znajomość problematyki oraz umiejętnością prezentowania obszernego materiału w formie zwartej i logicznej, jak również własnych poglądów odnośnie badanych zjawisk. Ten rozdział autorka dodatkowo zilustrowała pięcioma bardzo starannie wykonanymi rycinami. Całość dyskusji dodatkowo wzbogaca wartość pracy i świadczy o dojrzałości naukowej Doktorantki i jej dobrym przygotowaniu merytorycznym.

Na podstawie przeprowadzonych badań Doktorantka sformułowała pięć wniosków, które odnoszą się do uzyskanych wyników badań, wynikają z przeprowadzonej dyskusji i wskazują najważniejsze osiągniecia recenzowanej pracy. W moim odczuciu poprawne są wnioski nr 2, 3, 4 i 5 . Natomiast wniosek nr 1 proponuję pominąć, ponieważ w przeprowadzonych doświadczeniach nie badano czynników


UNIWERSYTET PRZYRODNICZY WE WROCŁAWIU
ul. Norwida 25, 50-375 Wrocław
ZAKŁAD PARAZYTOLOGII
Katedry Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów
tel. 71 320 52 45 • fax 71 320 52 45
www.upwr.edu.pl

wpływający na rozwój populacji, a dodatkowo na żadnym z etapów doświadczenia nie wyznaczano terminów zabiegów zwalczania ptaszyńca.

Podsumowując, mgr Sylwia Koziatek-Sadłowska wykonała bardzo interesującą pracę o dużej wartości merytorycznej a najważniejsze wnioski wynikające z przeprowadzonych badań mają istotne znaczenie zarówno poznawcze jak i praktyczne. Zastosowanie pomiaru poziomu kortykosteronu może się przyczynić do rozwoju zintegrowanego programu zwalczania *D. gallinae* jako jeden ze wskaźników wzrostu inwazji.

Doktorantka w pełni zrealizowała postawione w założeniach pracy cele, wykazała się bardzo dobrą orientacją w analizowanych zagadnieniach oraz umiejętnością opracowania uzyskanego materiału. Wymienione powyżej uwagi nie mają wpływu na pozytywną ocenę merytoryczną recenzowanej rozprawy.

Biorąc pod uwagę jej całość uważam, że praca doktorska mgr Sylwii Koziatek-Sadłowskiej spełnia warunki określone w art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. 2017 poz. 1789 ze zm.) w związku z art. 179 Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 30 sierpnia 2018 r., poz. 1669 ze zm.). W związku z powyższym zgłaszam wniosek do Rady Dyscypliny Weterynaria Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie o dopuszczanie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ponadto doceniając nakład pracy poniesiony przy realizacji pracy doktorskiej wnioskuję o wyróżnienie jej stosowną nagrodą.

Jolanta Pielowska


UNIWERSYTET PRZYRODNICZY WE WROCŁAWIU
ul. Norwida 25, 50-375 Wrocław
ZAKŁAD PARAZYTOLOGII
Katedry Chorób Wewnętrznych z Klinika Koni, Psów i Kotów
tel. 71 320 52 45 • fax 71 320 52 45
www.upwr.edu.pl