

Recenzja rozprawy doktorskiej
lek. wet. Agaty Augustyniak

Przydatność płynu technologicznego w ocenie statusu immunologicznego świń

Układ redakcyjny ocenianej dysertacji odpowiada wymogom stawianym pracom naukowym. Liczy ona 155 stron wydruku komputerowego, w tym wykaz artykułów wchodzących w skład cyklu, spis treści, streszczenie w języku polskim i angielskim, wykaz skrótów, wprowadzenie, hipotezę i cel pracy, materiał i metody, wyniki, dyskusję, podsumowanie, wnioski końcowe, bibliografię, spis rycin i tabel, oświadczenia współautorów publikacji i artykuły wchodzące w skład cyklu. Przygotowana została w postaci cyklu 3 publikacji wieloautorskich o sumarycznym współczynniku IF=8,3 (punkty ministerialne 480), jednej przeglądowej i dwóch oryginalnych. Wszystkie artykuły wchodzących w skład pracy opublikowano w języku angielskim, w czasopismach zagranicznych. We wszystkich trzech pracach Pani Agata Augustyniak jest pierwszym autorem.

Doktorantka nie ubiegała się w przeszłości o nadanie stopnia doktora. Przebieg jej pracy zawodowej przedstawia się następująco: studia wyższe na UP w Poznaniu ukończyła 01.03.2021, po czym rozpoczęła pracę w tej Uczelni – obecnie na stanowisku asystenta. Po ukończeniu studiów odbyła staż w Gabinecie Weterynaryjnym Orion oraz pracowała jako lekarz weterynarii w Gabinecie Weterynaryjnym Eskulap.

Lek. wet. Agata Augustyniak w pracy nad doktoratem poruszyła istotne problemy: wykorzystania płynu technologicznego pobieranego z jąder knurków do oceny stężeń wybranych parametrów immunologicznych u prosiąt, potencjalną jego przydatność do pośredniej oceny wybranych parametrów immunologicznych u loch oraz możliwości

wykorzystania tego materiału do wykrywania przeciwciał przeciwko ważnym patogenom świń.

Badania przeprowadzone przez Doktorantkę mają charakter aplikacyjny. Pani Agata Augustyniak postawiła przed sobą problem badawczy dotyczący oceny przydatności płynu technologicznego zwłaszcza w ocenie statusu immunologicznego nowo narodzonych prosiąt. Płyn technologiczny jest łatwiejszy w pobraniu niż krew, a samo jego kolekcjonowanie jest mniej stresogenne dla zwierząt. Jego analiza może pozwolić na odpowiednio wczesne wykrycie rozmaitych nieprawidłowości związanych ze zdrowiem lochy i prosiąt (związanych z laktacją loch, zaburzeniami transferu MDI, czy nieprawidłowo zaplanowanego programu szczepień wśród matek), co w rezultacie może pozwolić na szybkie wdrożenie działań naprawczych.

Jest to wystarczający i uzasadniony powód podjęcia przez Doktorantkę badań prezentowanych w pracy. Decyzję o ich realizacji podjęła Ona z nadzieją że ich wyniki przyczynią się do opracowania nowych i skutecznych metod oceny statusu immunologicznego świń co usprawni proces hodowli tych zwierząt.

Pracę rozpoczynają streszczenia w języku polskim i angielskim, spis treści, a następnie wstęp, w którym w sposób jasny przedstawiono możliwości oceny statusu immunologicznego świń. Wstęp skrótowo prezentuje zagadnienia przedstawione w pierwszym artykule wchodzącym w skład cyklu publikacyjnego: *Augustyniak A., Czyżewska-Dors E., Pomorska-Mól M. Immune status of piglets during the first week of life: Current knowledge, significance and assessment – a review. Annals of Animal Science. 2023, 23, 391-403.*

Doktorantka przedstawiła w nim charakterystykę i funkcję poszczególnych klas immunoglobulin, opisała cytokiny i białka ostrej fazy najczęściej wykorzystywane w diagnostyce stanów patologicznych u trzody chlewnej, a także szeroko przedstawiła materiał, który może być wykorzystywany do oceny statusu immunologicznego poświęcając wiele miejsca płynowi technologicznemu. W moim odczuciu niepotrzebnie zbyt wiele miejsca poświęciła Ona problematyce kastracji prosiąt, co nie było obiektem badań podjętych w ramach przedstawionej do recenzji pracy.

Niezależnie od tego ta część doktoratu wskazuje na dobrą znajomość przez lek. wet. Agatę Augustyniak badanej tematyki. Całość wstępu jest tak napisana, że uzasadnia celowość prowadzenia zaproponowanych przez Doktorantkę badań i pozwala na sformułowanie ich ostatecznego celu, który logicznie wypływa z przedstawionego we wstępie opisu.

Zakładanymi celami podjętych badań były: określenie przydatności płynu technologicznego do oceny stężeń wybranych parametrów immunologicznych (immunoglobuliny, cytokiny, białka ostrej fazy), wykrywania przeciwciał skierowanych przeciwko wybranym patogenom świń (*Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Mycoplasma hyopneumoniae*, wirus grypy typu A, wirus zapalenia wątroby typu E, wirus epidemicznej biegunki świń), a także ocena możliwości wykorzystania PF do oceny statusu immunologicznego całego miotu oraz pośrednio loch – matek badanych knurków.

Poza głównymi celami badań Doktorantka dokonała oceny przydatności komercyjnych testów ELISA opracowanych i walidowanych dla surowicy do oznaczania stężeń badanych parametrów immunologicznych i przeciwciał w płynie technologicznym.

Wyniki badań zostały przedstawione w dwóch publikacjach oryginalnych oraz w postaci szczegółowego opisu dwóch eksperymentów. W moim odczuciu taki układ doktoratu jest nieco niefrasobliwy. Lek. wet. Agata Augustyniak przedstawiła w tekście pracy w opisie eksperymentów 1 i 2 dokładnie te same szczegółowe informacje dotyczące metodyki badań oraz ich wyników, co w załączonych artykułach wchodzących w skład cyklu publikacyjnego. Dodatkowo w opis badań włączyła tabele i ryciny, które zamieszczono w obu publikacjach. Jest to niepotrzebne powielanie informacji. Skoro praca doktorska została utworzona jako cykl jednotematycznych publikacji, wystarczyłby jedynie krótki ich opis w tekście, a nie powielanie poszczególnych fragmentów artykułów w języku polskim.

Eksperyment 1 przedstawia opis badań wykonanych przez Doktorantkę i zaprezentowanych w pracy: **Augustyniak A., Czyżewska-Dors E., Pomorska-Mól M.** *Concentrations of selected immunological parameters in the serum and processing fluid of suckling piglets and the serum and colostrum of their mothers. BMC Veterinary Research. 2024, 20:170. (MNiSW 2024: 140; IF 2024: 2,6).*

W badaniu wykorzystano próbki materiału pobrane od 246 świń – 31 loch, 146 knurków i 87 loszek. Warunkiem włączenia próbek do badań było uzyskanie wszystkich niezbędnych próbek od lochy oraz minimum 7 jej prosiąt. **Proszę sprecyzować dlaczego liczba prosiąt wynosiła minimum 7.** Dla każdej z loch włączonych do badań analizowano po jednej próbce surowicy i siary, pobranej 12-24 godziny od rozpoczęcia porodu. Dla każdego knurka włączonego do badań analizowano jedną próbkę surowicy i jedną próbkę PF, natomiast dla każdej loszki jedną próbkę surowicy. Łącznie analizom laboratoryjnym poddano 31 próbek siary, 31 surowic loch, 146 surowic knurków, 146 PF oraz 87 surowic od loszek. Za pomocą komercyjnych testów ELISA oceniano stężenie różnych immunoglobulin, cytokin i białek ostrej fazy w każdym materiale. Analizy statystyczne nie wykazały istotnych różnic w stężeniu

IgG, IgA, IL-1 β , IL-4, IL-6 i IFN- γ między surowicą prosiąt a płynem technologicznym. Zaobserwowano dodatnią korelację ($p < 0,05$) dotyczącą stężenia niektórych wskaźników między płynem technologicznym a próbkami pobranymi od loch. Przeprowadzone przez Doktorantkę badania pozwoliły wykazać, że płyn technologiczny jest obiecującą alternatywę dla krwi w ocenie niektórych wskaźników immunologicznych u prosiąt, takich jak IgG, IgA, IL-1 β , IL-4, IL-6 i IFN- γ , a także dla oceny niektórych wskaźników u loch karmiących, takich jak IgA, IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8, IFN- γ .

Kolejny eksperyment - nr 2 prezentuje wyniki przedstawione w publikacji: **Augustyniak A., Czyżewska-Dors E., Pomorska-Mól M.** *Field study on the utility of fluid obtained from testicles as a sample for detecting antibodies to selected swine pathogens. Scientific Reports. 2025, 15: 22402 (MNiSW 2025: 140; IF 2024: 3,9)*, w której oceniano przydatność płynu technologicznego pobieranego z jąder w wykrywaniu obecności przeciwciał przeciwko *Actionbacillus pleuropneumonie*, wirusowi zapalenia wątroby typu E, wirusowi biegunki epidemicznej świń, wirusowi grypy typu A, *Erysipetothrix rhusiopathie* i *Mycoplasma hyopneumoniae*, przy użyciu komercyjnych testów ELISA. Uzyskane wyniki Doktorantka odnosiła do analogicznych badań, którym poddała surowice. Lek. wet Agata Augustyniak dokonała analizy różnic w odsetku wyników dodatnich w różnych próbkach, aby ocenić przydatność płynu technologicznego pochodzącego z jąder do monitorowania zdrowia na poziomie miotu. Do ustalenia optymalnych wartości odcięcia dla płynu technologicznego wykorzystano analizę ROC, a następnie przeprowadzono ocenę skuteczności diagnostycznej z wykorzystaniem progów zalecanych przez producenta i pochodzących z ROC. Doktorantka przeprowadziła również symulację łączenia próbek. Uzyskane przez Nią wyniki wskazują, że płyn technologiczny pobrany wyłącznie z jąder może skutecznie wykrywać przeciwciała przeciwko wybranym patogenom świń. Niektóre zestawy ELISA zwalidowane dla surowicy mogą być stosowane do płynu technologicznego, pod warunkiem określenia odpowiednich wartości odcięcia dla tego rodzaju próbki. Jednak łączenie próbek płynu technologicznego może zmniejszyć czułość i zwiększyć ryzyko wyników fałszywie ujemnych. Uzyskane przez Doktorantkę wyniki podkreślają możliwość wykorzystania płynu technologicznego pobieranego z jąder w zakresie prowadzenia monitoringu serologicznego wybranych chorób zakaźnych w populacji świń na dużą skalę.

Podsumowaniem opisu obu eksperymentów jest dyskusja, w której Doktorantka w umiejętny sposób skonfrontowała (tam gdzie było to możliwe) wyniki badań własnych z dostępną literaturą światową. Należy podkreślić, że część wyników przedstawionych w pracy

doktorskiej zwłaszcza dotyczących eksperymentu pierwszego to unikalne rezultaty, które dotychczas jako jedyne prezentują stężenia wybranych Ig (IgG, IgA, IgM) stężeń cytokin (IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8, IFN- γ) i białek ostrej fazy (Hp, Pig-MAP, CRP) w płynie technologicznym pobranym z jader knurków. Brak istotnych statystycznie różnic pomiędzy stężeniami niektórych z tych parametrów (IgG, IgA, IL-1 β , IL-4, IL-6, IFN- γ) w surowicach prosiąt i PF, wskazuje na możliwość wykorzystania tego ostatniego w ocenie statusu immunologicznego całych miotów, jak i loch. W przypadku innych wskaźników immunologicznych (np. IgM, IL-8, Hp, Pig-MAP, CRP), takie różnice zostały zaobserwowane, a Doktorantka szczegółowo przedyskutowała w tekście pracy z czego mogą one wynikać.

Lek. wet. Agata Augustyniak wskazała także, że możliwości wykorzystywania PF w praktyce do oceny poziomu przeciwciał dla różnych patogenów świń są wciąż dosyć słabo zbadane, a wynika to m.in. z braku dostępnych komercyjnych testów ELISA, które byłyby dedykowane do badania PF, dlatego też istnieje konieczność walidacji zestawów ELISA dedykowanych do badania surowic, pod kątem ich wykorzystania w analizie PF, co też wykonała Doktorantka.

Dyskusja jest bardzo obszerna. Lek. wet Agata Augustyniak umiejętnie odniosła się w niej do wszystkich aspektów prowadzonych badań. Widać, że porusza się Ona płynnie w tematyce immunologii trzody chlewnej i potrafi umiejętnie dobrać materiały źródłowe do tego by móc właściwie projektować i realizować prace badawcze.

Wyniki przedstawione przez Doktorantkę pozwoliły Jej na wyciągnięcie 4 wniosków. Podobnie jak wcześniejsze części doktoratu, także i ta jest precyzyjna. Doktorantka nie starała się „na siłę” wyciągnąć z badań nieskończoną liczbę wniosków, jak często jest to spotykane w pracach doktorskich, a precyzyjnie i rzeczowo określiła swoje dokonania badawcze.

Nie sposób odmówić Doktorantce, iż przeprowadzone przez Nią badania, których wyniki zaprezentowano w cyklu publikacji składających się na pracę doktorską są nowatorskie i wnoszą wiele nowych informacji na temat przydatności płynu technologicznego w ocenie statusu immunologicznego świń. Potwierdzeniem tego może być chociażby fakt napotkanych trudności skonfrontowania wyników badań własnych przedstawionych w eksperymencie 1 z wynikami innych autorów, których po prostu brak w dostępnej literaturze. Dzięki przeprowadzonym niełatwym doświadczeniom lek. wet Agata Augustyniak wykazała, że PF stanowi obiecującą alternatywę dla krwi do oceny wybranych parametrów immunologicznych u prosiąt ssących, a ze względu na korelacje między stężeniami IgA, IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8, IFN- γ w surowicy loch i PF oraz stężeniami IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8, IFN- γ i MAP w sianie i

PF, PF może potencjalnie stanowić cenny materiał do pośredniej oceny parametrów immunologicznych loch. Płyn technologiczny może być wykorzystywany także do prowadzenia monitoringu chorób zakaźnych świń, jednakże by uzyskane wyniki były wiarygodnie konieczna jest odpowiedni walidacja dostępnych testów ELISA

Reasumując stwierdzam, że przedstawione w pracy zagadnienia stanowią ważne uzupełnienie dotychczasowej wiedzy z zakresu immunologii trzody chlewnej. Prezentowane przez Doktorantkę badania zawierają elementy nowatorskie, zostały wykonane metodycznie poprawnie, a ich wyniki mają duże znaczenie poznawcze.

Przedstawione w recenzji uwagi, w zasadzie jedynie edytorskie, nie wpływają na pozytywną ocenę rozprawy. Doktorantka, co należy podkreślić włożyła wiele pracy w wykonanie badań, zwłaszcza dotyczących walidacji testów ELISA celem ich wykorzystania do analizy PF. Wyniki opublikowano w czasopiśmie z listy filadelfijskiej o zasięgu światowym co potwierdza, iż jest Ona dojrzałym naukowcem, który potrafi umiejętnie zaplanować i przeprowadzić nietatwe badania i właściwie zinterpretować ich wyniki.

W konkluzji stwierdzam, że praca doktorska pt.: "Przydatność płynu technologicznego w ocenie statusu immunologicznego świń" odpowiada warunkom określonym w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2024 r. poz. 1571 z późn. zm.), dlatego przedkładałam Wysokiej Radzie wniosek o dopuszczenie Pani lek. wet. Agaty Augustyniak do dalszych etapów realizacji doktoratu i jednocześnie ze względu na przytoczone powyżej pozytywne dotyczące zrealizowanych przez Doktorantkę badań, sugeruję wyróżnienie pracy odpowiednią nagrodą.

Lublin, 24 października 2025

Prof. dr hab. Łukasz Adaszek

