



ul. Przybyszewskiego 49
60-355 Poznań

tel. 61 869 15 49

Poznań, 05.05.2014

Dr hab. Błażej Rubiś

Recenzja rozprawy doktorskiej Pana mgr Dawida Nidzworskiego
pt.: "Nowe metody wykrywania wirusa grypy i rzekomego pomoru drobiu".

Przedstawiona mi do recenzji praca autorstwa Pana mgr Dawida Nidzworskiego dotyczy jednego z najgroźniejszych na świecie patogenów tj. wirusa grypy typu A oraz wirusa rzekomego pomoru drobiu (wirus ND, NDV). Praca została zrealizowana w Zakładzie Szczepionek Rekombinowanych Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego pod kierunkiem Prof. dr hab. Bogusława Szewczyka.

Ze względu na powszechność problemu infekcji wirusowych wywodzących się od zwierząt oraz biorąc pod uwagę statystyki, które wskazują ciężkie powikłania u ludzi, przebiegające z wysoką śmiertelnością, kwestia szybkiej identyfikacji tych patogenów jest niezwykle ważna i godna najwyższej uwagi.

Wstęp pracy obejmuje uzasadnienie podjętych badań, w którym Doktorant przytacza szczegółowe informacje na temat źródeł zmienności genetycznej wirusów grypy (dryft antygenowy, reasortacja genowa), która powoduje, że trudno jest je wykrywać i leczyć.

W związku z podejrzeniem, że wszystkie szczepy infekujące ssaki, w tym ludzi, pochodzą od szczepów wirusów ptasich, które w drodze adaptacji oraz mutacji uzyskały zdolność infekowania innych organizmów, jak najbardziej uzasadnione są badania zmierzające do intensyfikacji badań diagnostycznych tych patogenów.

Celem przedstawionej mi do recenzji rozprawy było zaproponowanie nowych metod diagnostycznych ułatwiających monitorowanie infekcji wirusa grypy oraz w przypadku ptactwa, dodatkowo diagnostyki wirusa rzekomego pomoru drobiu.

Przedstawione przez Doktoranta testy diagnostyczne obu wirusów u ptaków zostały opracowane w oparciu o metody qPCR (z wykorzystaniem barwnika SYBR Green I oraz sond

hydrolizujących typu TaqMan). Pan mgr Nidzworski zaproponował odpowiednie modyfikacje metodyki jak *one step RT-PCR*, czy multipleks. Podczas badań opracowany został również nowy biosensor patogenów wirusowych (immunosensor) wykorzystujący elektrochemiczną spektroskopię impedancyjną.

Rozprawa doktorska obejmuje 5 publikacji o zasięgu międzynarodowym opublikowanych w latach 2011-2014. Co godne podkreślenia, Doktorant jest pierwszym autorem wszystkich pięciu publikacji. Liczba współautorów to łącznie 11 osób, z których wszystkie złożyły stosowne oświadczenia o swoim udziale i wkładzie w nowatorskie badania, których wyniki zawarto w wymienionych publikacjach. Łączny współczynnik wpływu IF wynosi ponad 10.

Pierwsza z pięciu publikacji dotyczy wykrywania i różnicowania wirusa rzekomego pomoru drobiu oraz wirusa grypy. Potrzeba takiego różnicującego testu wynika z faktu, że standardowe procedury weterynaryjne nie są w stanie rozróżnić bardzo podobnych objawów zakażeń poszczególnymi szczepami wirusów. Stąd Doktorant zaproponował test typu dupleks celem umożliwienia identyfikacji szczepów NDV (LaSota) oraz AIV (H7N1) u zwierząt poddanych koinfekcji.

Publikacja druga dotyczy możliwości wykrywania wirusa ptasiej grypy oraz wirusa NDV za pomocą szybkiej i uniwersalnej reakcji typu dupleks w układzie *one step RT-PCR*.

Kolejna publikacja (3.) dotyczy możliwości wykrywania i różnicowania szczepów pod kątem wirulencji w oparciu o krzywą topnienia z zastosowaniem barwnika SYBR Green I.

W kolejnej pracy, Doktorant prezentuje koncepcję biosensora służącego do detekcji wirusa ptasiej grypy. Czujnik ten znajduje się obecnie na etapie prób wdrażania.

Piąta, ostatnia, publikacja zawiera metodykę zmodyfikowanej reakcji PCR w układzie multipleks celem wykrywania szczepów wykazujących oporność na oseltamiwir z wykorzystaniem reakcji qPCR. również w tej metodzie można dostrzec pewien potencjał diagnostyczny.

Autor podsumowuje swoje osiągnięcia wskazując na identyfikację 5-ciu nowych metod diagnostycznych, które mogą formować dwa schematy postępowania w przypadku zakażeń wirusem grypy u ludzi oraz wirusami grypy i/lub ND u ptaków. Uzyskane wyniki pozwalają znacząco skrócić czas diagnozy badanych patogenów w porównaniu z wcześniej stosowanymi metodami.

Rozprawa doktorska zawiera interesujące i nowatorskie wyniki wielokierunkowych, wielowątkowych badań mających na celu poprawę diagnostyki wirusów z grupy najgroźniejszych dla zdrowia i życia człowieka. Badania Doktoranta wnoszą wiele nowych,

ciekawych informacji oraz liczne sugestie wskazujące kierunki nowych badań w tej ważnej z poznawczego i praktycznego punktu widzenia problematyce.

Autor biegle opanował zarówno sztukę pisania jak i nowoczesne techniki molekularne. Ambitnie postawione cele zostały skutecznie osiągnięte zapewne dzięki doskonałej organizacji pracy i umiejętności planowania, co wynika z dobrych tradycji warsztatu Promotora. Doskonała orientacja w tematyce pozwoliła autorowi na odkrywcze konkluzje i samodzielne wnioskowanie. W pracy zawarto 2 streszczenia, odpowiednio w języku polskim i angielskim, które zwięźle charakteryzują założenia i osiągnięcia autora.

Podsumowując, stwierdzam, że badania stanowiące podstawę rozprawy doktorskiej zostały właściwie zaplanowane i zrealizowane przy użyciu nowoczesnych metod biologii molekularnej, a uzyskane wyniki są oryginalnym wkładem Autora do problematyki molekularnych podstaw diagnostyki zakażeń wirusami NDV i AIV. Pozostaje nadzieja, że praca ta i jej podobne, w przyszłości przyczynią się do poprawy bezpieczeństwa zwierząt i ludzi oraz jakości ich życia i leczenia.

Z ogromną przyjemnością stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji praca spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim przez ustawę stopniach naukowych i tytule naukowym. Wnoszę zatem do Wysokiej Rady Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie Pana mgr Dawida Nidzworskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Równocześnie, w związku z ogromnym znaczeniem badań prowadzonych przez Pana mgr Nidzworskiego i jakością uzyskanych wyników, które zostały już opublikowane, wnioskuję do Wysokiej Rady o wyróżnienie pracy doktorskiej Pana mgr Dawida Nidzworskiego.

Z poważaniem

dr hab. Błażej Rubiś

