Wrocław, 01.07.2021

dr hab. inż. Mariusz Korczyński, prof. uczelni
Katedra Żywienia Zwierząt i Paszoznawstwa
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Ocena rozprawy doktorskiej

Pani mgr inż. Joanny Pauliny Żebrowskiej

pt.

„Opracowanie i ocena skuteczności przeciwdrobnoustrojowej mieszaniny naturalnych olejków eterycznych do profilaktycznego zamgławiania wychowalni indyków"

wykonanej w Katedrze Higieny Zwierząt i Środowiska
Wydziału Bioinżynierii Zwierząt
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie

pod kierunkiem Pani dr hab. Doroty Witkowskiej, prof. UWM

Podstawa formalna:

- ***Pismo Pana prof. dr. hab. Tomasza Daszkiewicza, Przewodniczącego Rady Naukowej Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo, Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie z dnia 12.05.2021 r. (nr pisma WBZ-DZ.6350.1.2018/2021.2).***

Ocena formalna

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska zawiera ogółem 157 ponumerowanych stron. Poszczególne rozdziały to: „*Skróty stosowane w pracy"* s. 7, „*Wstęp i przegląd piśmiennictwa" s. 8 - 36*, „*Hipoteza badawcza i cel pracy oraz elementy nowatorskie*" s. 37, „*Materiał i metody badań*" z podziałem na trzy etapy badań (s. 38 - 46). Kolejny rozdział główny - „*Wyniki badań i dyskusja*", zawiera bardzo syntetyczny opis wyników doświadczeń, w tym oznaczenie lekooporności oraz rezultaty aktywności przeciwdrobnoustrojowej mieszanin olejków eterycznych

(s. 47 - 117). Ostatnie trzy części dysertacji stanowią*: „Podsumowanie wyników badań i wnioski*" s. 118 – 120, „*Piśmiennictwo*" s. 121 – 151 oraz „*Streszczenie rozprawy doktorskiej*". W spisie literatury wykazanych jest 301 pozycji. Praca doktorska ma postać zwartego maszynopisu opisującego problematykę badawczą wraz z metodami badań, wynikami i dyskusją. Przedstawione do oceny opracowanie tworzy logiczną całość. Zawiera ono podstawowe elementy rozprawy doktorskiej, ma charakter naukowo-badawczy, napisane jest poprawnym, naukowym językiem i formalnie odpowiada wymogom zawartym w Ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2017 roku, poz. 1789 z późn. zm.) .

Ocena merytoryczna

A. **Wstęp i przegląd piśmiennictwa**

W rozdziale „Wstęp i przegląd piśmiennictwa" Doktorantka w sposób syntetyczny przedstawiła pozycję polskiego drobiarstwa na świecie, uwzględniając strukturę pogłowia indyków w kraju. Opisała aktualne problemy rynku w aspekcie trwającej pandemii COVID – 19, jego aktualny stan i prognozy. W dalszej części Autorka skupiła się na problemie zanieczyszczenia mikrobiologicznego ferm i charakterystyce wybranych bakterii, najczęściej występujących u indyków fermowych. Ten fragment rozdziału przedstawia opis wyżej wymienionych mikroorganizmów, na który składają się: obraz morfologiczny tworzonych przez nie kolonii, miejsce ich bytowania oraz problemy zdrowotne, jakie bakterie mogą wywoływać u ptaków hodowlanych. Kontynuacją tej części rozdziału jest opis zagrożeń zoonotycznych, jakie stanowić mogą ptaki utrzymywane na fermach. W tym miejscu Doktorantka skupiła się na bakteriach *Salmonella*, *Campylobacter* a w kolejnym podrozdziale na grzybach. Elementem zamykającym opisywaną problematykę jest omówienie zjawiska antybiotykooporności, metod jej oznaczania oraz kwestii stosowania antybiotyków w produkcji zwierzęcej.

Drugą częścią rozdziału jest przegląd metod ograniczających stosowanie antybiotyków w produkcji zwierzęcej. Metody te są krótko scharakteryzowane a główny nacisk położony jest na właściwości przeciwdrobnoustrojowe olejków eterycznych. Autorka przedstawia w tym miejscu charakterystykę 12 olejków

roślinnych o potencjale przeciwdrobnoustrojowym. Podsumowując, rozdział „Wstęp i przegląd piśmiennictwa" jest skonstruowany prawidłowo, kolejne rozdziały tworzą logiczną całość, a co najważniejsze, wprowadzają w problematykę poruszoną w dysertacji doktorskiej.

B. **Część doświadczalna**

Cel badań

Celem głównym pracy było stworzenie prototypu mieszaniny eterycznych olejków roślinnych w kierunku higienizacji pomieszczeń do odchowu piskląt indyczych i ocena skuteczności tejże. Opracowanie prototypu poprzedzone zostało metaanalizą wyników urzędowej kontroli dotyczącej określenia najczęściej występujących na fermach indyków rzeźnych drobnoustrojów i patogenów. Rozdział ten został również uzupełniony hipotezami badawczymi oraz wskazaniem elementów nowatorskich. Autorka jasno określiła cel badań i kierunek prac koncepcyjnych, a postawione hipotezy dookreślają te elementy.

Materiał i metody

Zaplanowane doświadczenie składało się z trzech etapów. **Oceniając pierwszy etap badań trudno jest jednoznacznie określić, czy były to prace laboratoryjne wykonane przez Doktorantkę, czy też analiza zebranych wcześniej przez Autorkę danych laboratorium urzędowego. Nazwa tej części metodyki jako badania retrospektywne wskazuje na metaanalizę. Proszę o wyjaśnienie tej kwestii.** Sama konstrukcja tego etapu nie budzi wątpliwości od strony metodycznej i analitycznej w zakresie wykonanych posiewów, jak również wykonanych testów antybiotykooporności.

W etapie drugim Autorka wykonała rozcieńczenia poszczególnych olejków eterycznych i w warunkach *in vitro* badała ich aktywność antybakteryjną. Testy wykonano na izolatach bakterii wytypowanych w etapie I. Na podstawie wyników lekooporności, wykonanych trzema prawidłowymi metodami, wybrano osiem najbardziej skutecznych olejków, które posłużyły do przygotowania mieszaniny docelowej. **Na stronie 42 Autorka podaje procentowy udział poszczególnych**

olejków w preparacie do zamgławiania (MOE), lecz brakuje informacji, na ile litrów wody przypadał udział masowy poszczególnych komponentów, w tym ile emulgatora użyto do stworzenie MOE. Informacja ta pozwoliłaby czytającemu odnieść się do ilości stosowanych olejków w przeliczeniu na powierzchnię budynku czy też jego kubaturę – zużycie substancji czynnej w praktyce. Proszę o uzupełnienie tej informacji.

Układ doświadczenia w etapie drugim uważam za przemyślany i akceptowalny. W tym miejscu chciałbym również zwrócić uwagę, że decyzja o wyborze tych a nie innych izolatów bakterii jest prawidłowa i odzwierciedla stan skażenia mikrobiologicznego pomieszczeń dla indyków w rejonie Polski północno-wschodniej. **Rodzi się natomiast pytanie, czy wyniki powyższej analizy obrazują poziom zanieczyszczenia mikrobiologicznego budynku, na którym przeprowadzono badania w etapie III?**

III etap badań został wykonany w skali technicznej budynku fermowego, służącego do odchowu piskląt indyczych. **Test skuteczności prototypu mieszaniny sanityzującej wykonany został na końcu etapu odchowu ptaków - bez udziału zwierząt. Wcześniejsze wymazy pobierano w czystym pomieszczeniu (badanie 0), po wyprowadzeniu zwierząt (badanie kontrolne) a następnie po oprysku pustego pomieszczenia (ocena skuteczności). Proszę o wyjaśnienie, dlaczego przyjęto taki schemat?** Metody analityczne użyte do identyfikacji jakościowej i ilościowej skażenia mikrobiologicznego poszczególnych elementów kurnika wykonano standardowymi i uznanymi metodami analitycznymi.

Metody statystyczne użyte do analizy otrzymanych wyników zostały dobrane i wykorzystane prawidłowo.

Omówienie wyników i Dyskusja

Autorka przedstawiła uzyskane wyniki analogicznie do opisu zawartego w rozdziale „*Materiał i metody*”, co nadaje im przejrzystości. Zostały one umieszczone w czytelnych tabelach oraz na rycinach.

Opis wyników rozpoczyna się od metaanalizy występowania i lekooporności mikroorganizmów patogennych u indyków rzeźnych w rejonie północno-wschodniej Polski. Wyniki te Autorka omawia w odniesieniu do pór roku i dyskutuje z pracami

naukowymi z zakresu monitoringu skażenia mikrobiologicznego w innych rejonach Polski i świata. **Rezultaty w tabelach przedstawione są czytelnie, natomiast ryciny 3 – 7 już nie. Dotyczy to w szczególności wykresów 6 i 7 (*S. aureus i O. rhinotracheale*). Brak naniesionych danych liczbowych na te wykresy powoduje, że są one nieprecyzyjne.**

W kolejnym podrozdziale Doktorantka przedstawia dalsze rezultaty metaanalizy dotyczące lekooporności izolatów terenowych z równoległą i sprawną dyskusją.

Najbardziej obszerną częścią tego rozdziału jest omówienie wyników testów *in vitro* dotyczących określenia skuteczności przeciwdrobnoustrojowej poszczególnych olejków względem wytypowanych drobnoustrojów. Forma prezentacji tych wyników jest czytelna a opisy wskazują na najbardziej istotne spośród nich. **Zaskakujące są natomiast rezultaty wskazujące na różną wrażliwość poszczególnych szczepów drobnoustrojów na niektóre olejki eteryczne w zależności od zastosowanej metody analitycznej. Np. w metodzie studzienkowej *E. coli* jest bardziej wrażliwa na niższe stężenia niż w metodzie dyfuzyjno - krążkowej. Proszę o wyjaśnienie tej rozbieżności, jak również o skomentowanie, wyniki której spośród trzech metod stanowiły podstawę do doboru olejków celem sporządzenia skutecznej mieszaniny do zamgławiania i sanityzacji (MOE)?** Zasadniczo, efekty uzyskane w tej części badań są obszerne i dają podstawę do wyboru konkretnych komponentów preparatu prototypowego, użytego w kolejnych testach. Wszystkie opisane w tej części pracy rezultaty zostały przedyskutowane z imponująco dużą ilością badań innych autorów.

Ostatnią partią tego rozdziału jest opis wyników, jakie Autorka uzyskała w teście terenowym. Ich analiza wskazuje bezsprzecznie na skuteczność MOE w ograniczaniu ilości i jakości patogennego biofilmu mikrobiologicznego w obiekcie do odchowu piskląt indyczych. Pobrane wymazy wskazują na celowość zastosowanego preparatu w stosunku do grzybów o 24 do 40%, gronkowców o około 45% a w przypadku ogólnej liczby bakterii gram+ nawet o 88%. Zaskoczeniem natomiast nie jest brak skuteczności MOE w sanityzacji zużytej ściółki, zalegającej w kurniku. Wynika to z faktu, iż obornik jest materiałem strukturalnym, niejednolitym, silnie skażonym mikrobiologicznie, na który zamgławianie zadziałało tylko powierzchniowo.

Podsumowanie badań

W rozdziale tym Doktorantka w sposób opisowy przedstawiła najważniejsze wyniki a następnie wyciągnęła wnioski z nich płynące. Określiła je mianem „uogólnienia" i należy z tym się zgodzić. Zabieg ten jest efektem potężnej ilości analiz, których nie sposób zmieścić w ośmiu wnioskach. Rekomenduję redagowanie bardziej szczegółowych wniosków podczas przygotowywania pracy do opublikowania.

Piśmiennictwo

Doktorantka przedstawiła 301 pozycji literatury (krajowej i zagranicznej), z której znaczna ilość pochodzi z ostatnich 10 lat. Dobór piśmiennictwa jest prawidłowy, poszczególne pozycje są w pełni wykorzystane w tekście dysertacji. Prace są właściwie cytowane, a w spisie podane są pełne ich tytuły oraz zakres stron cytowanych artykułów i podręczników.

Podsumowanie recenzji i wniosek końcowy

Oceniane doświadczenie było bardzo trudne do przeprowadzenia, z uwagi na szeroki zakres realizowanych badań, w tym analiz laboratoryjnych. Wymagało ono dużej wiedzy i nakładu pracy. Doktorantka wykazała się dobrym teoretycznym i praktycznym przygotowaniem, staranną organizacją warsztatu badawczego oraz znajomością odpowiednich technik analitycznych.

Wymienione z obowiązku recenzenta niedociągnięcia i usterki (szczególne dotyczy to rozdziału „Materiał i metody") powinny być uwzględnione przy przygotowywaniu prac do publikacji. Nie umniejszają one jednak merytorycznej wartości pracy, którą ogólnie oceniam dobrze. Rozprawa wnosi do nauki istotne elementy poznawcze, jej tematyka jest bardzo aktualna, szczególnie w aspekcie ograniczania stosowania antybiotyków w produkcji zwierzęcej. Wyniki niniejszych badań powinny zostać wykorzystane w praktyce zootechnicznej.

Mimo nieznacznych mankamentów, w mojej opinii praca spełnia kryteria dla dysertacji doktorskich określonych w *Ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach*

naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2017 roku, poz. 1789 z późn. zm.). Wnoszę więc do **Wysokiej, Naukowej Rady Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo, Wydziału Bioinżynierii Zwierząt, Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie** o dopuszczenie mgr inż. Joanny Pauliny Żebrowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wrocław, 1 lipca 2021 r.

dr hab. inż. Mariusz Korczyński, prof. uczelni