

Prof. dr hab. Zbigniew Paluszak
Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich w Bydgoszczy
Wydział Rolnictwa i Biotechnologii
Katedra Mikrobiologii i Technologii Żywności

Recenzja
rozprawy doktorskiej mgr Katarzyny Morki

pt. „**Identification, genotype and virulotype analysis of *Yersinia* sp. Isolated from humans, domestic and wild-living animals**”

Recenzję wykonano na zlecenie Rady Wydziału Nauk Biologicznych Uniwersytetu Wrocławskiego

Praca doktorska była realizowana pod kierunkiem promotora

dr hab. Gabrieli Bugli-Płoskońskiej, prof. UWr oraz promotora pomocniczego dr inż. Ewy Wałeckiej-Zacharskiej

STRUKTURA PRACY

Rozprawa doktorska została złożona w formie zawierającego 130 numerowanych stron woluminu. Całość została podzielona na 6 zasadniczych rozdziałów – Wstęp, Cel pracy, Materiał i Metody, Wyniki, Dyskusja i Wnioski. Ponadto, zawiera streszczenie, pliki dodatkowe zawierające część dokumentacji tabelarycznej i fotograficznej oraz spis literatury. Należy podkreślić, że wszystkie tabele zawarte w tekście pracy i pliku dodatkowym wykonano z dbałością o detale, a wykonane fotografie prezentują dobrą jakość techniczną. Warto zwrócić uwagę, że zarówno tabele jak i dokumentacja fotograficzna dobrze korespondują z merytoryczną częścią pracy. W moim odczuciu zachowano właściwe proporcje pomiędzy poszczególnymi rozdziałami, a i ich udział w całej objętości jest wyważony. Rozdziały są ustawione w logicznej sekwencji co dowodzi, że została ona zredagowana w sposób przejrzysty.

WSTĘP

Wstęp jest dość rozbudowany i zawiera 14 stron tekstu. Autorka zawiera w nim 9 podrozdziałów, których tytuły określają w sposób klarowny zawarty w nich materiał. To swoiste kompendium zawierające informacje które dotyczą taksonomii *Yersinia* spp., biochemicznej charakterystyki *Yersinia enterocolitica*, sposobu jej identyfikacji, epidemiologii oraz jej interakcji z dopełnieniem zawartym w krwi ludzkiej i jego roli w zwalczaniu patogenów. Całość zamyka podrozdział dotyczący genotypowania *Yersinia* spp. Rozdział czyta się dobrze. Tabele i ryciny i tak przedstawiony przegląd literatury powoduje, że czytelnik nie czuje się zdezorientowany mnogością poruszających wątków

MATERIAŁ I METODY

Metody badań podano skrupulatnie, a należy podkreślić, że doktorantka przeprowadziła badania bardzo zróżnicowane wymagające znajomości wielu technik analitycznych. Wiadomości zestawione w tym rozdziale umożliwiają ewentualne powtórzenia doświadczenia i świadczą jednocześnie o tym że autorka opanowała trudny warsztat badawczy. Uważne studiowanie tego rozdziału upoważnia do konkluzji, że zarówno wybór metod badawczych, zakres wszystkich przeprowadzonych analiz laboratoryjnych i obliczeń statystycznych był prawidłowy. Izolaty pozyskano do badań z 293 wymazów z kału ludzi, 183 z migdałków i odbytu ubitych półrocznych prosiąt, 735 z migdałków i nosogardzieli upolowanych dzików oraz 93 wymazów z migdałków upolowanych saren. Ponadto, uzyskano 4 kolonie *Yersinia enterocolitica* wyizolowane od psów. Materiał poddany badaniom był bardzo bogaty. Wyizolowane szczepy poddano identyfikacji przy użyciu różnych metod, a następnie przeprowadzono ich serotypowanie, genotypowanie, oznaczono ich wrażliwość wobec dopełniacza, oceniono rolę poszczególnych czynników wirulencji w nadawaniu *Yersinia* spp. oporności na surowicę ludzką, wreszcie oceniono potencjalną patogenność *Yersinia enterocolitica* i innych gatunków z rodzaju *Yersinia* spp. izolowanych od dzikich zwierząt. Poprzez badanie filogenetyczne oceniono zjawisko ich transmisji pomiędzy różnymi gospodarzami.

MERYTORYCZNA OCENA PRACY

Wszystkie zebrane rozdziały autorka przedstawiła w formie bardzo starannie przygotowanej pracy. Po ciekawym wprowadzeniu i precyzyjnym określeniu zakresu i celu badań, bardzo dokładnie przedstawionej metodyki badań, zaakcentowała wieloaspektowy charakter przedstawionego tematu. Główną i najbardziej rozbudowaną część pracy stanowią wyniki przeprowadzonych badań i ich dyskusja. Rozdział ten odznacza się logicznym i przejrzystym układem zwięzłością formułowania myśli oraz poprawną ostrością wnioskowania. W pierwszym rzędzie dokonała oceny roli rezerwuaru pałeczek *Yersinia* spp. poprzez ich występowanie wśród ludzi i zwierząt dziko żyjących w Polsce zachodniej w latach 2014-2018. Występowanie *Yersinia* spp. stwierdzono u 1,6% dzików, 1,1% saren, 16,9% świń rzeźnych i 1% u ludzi. Dzikie okazały się jedynym rezerwuarem dla *Yersinia kristensenii*, *Yersinia frederiksenii* i *Yersinia pekkanenii* i nie wyizolowano ich z innych gospodarzy.

Autorka stwierdziła, że szczepy *Yersinia* spp. izolowane od dzików mogą posiadać szereg atypowych biochemicznych cech. Ich identyfikacje za pomocą systemu MALDI TOF MS i VITEK nie zawsze były zgodne ze względu na brak odpowiednich danych w bazach obu systemów. Stąd istnieje konieczność stosowania kilku metod diagnostycznych dla potwierdzenia uzyskanych wyników. Jednocześnie obie metody zgodnie identyfikowały izolaty pochodzące z kału ludzkiego i świń. Uzyskane dane pozwalają stwierdzić, że dziki łowne z zachodniej Polski nie stanowiły podstawowego źródła dla patogennych szczepów *Yersinia enterocolitica* i transmisja bakterii pomiędzy dzikami a świniami wydaje się mało prawdopodobna ze względu na małe prawdopodobieństwo genotypu badanych izolatów. Autorka udokumentowała duże zróżnicowanie genetyczne szczepów *Yersinia enterocolitica* izolowanych od zwierząt dzikich w porównaniu do uzyskiwanych od świń domowych, które stanowią jednolitą strukturę z pojedynczym genotypem. Wśród izolatów wyisobnionych od dzików nie dominował żaden

genotyp. Jednocześnie wyizolowane genotypy nie były podobne do żadnych innych co pozwala stwierdzić, że mogą one stanowić nowy rezerwuar *Yersinia* spp. choć nie doszło jeszcze do transmisji pomiędzy badanymi gospodarzami. Wśród 51 izolatów *Yersinia* spp. oznaczono 20 wirulotypów u których oznaczono najpowszechniej występujące geny wirulencji, obserwowano cechę oporności na surowicę ludzką wyizolowanych szczepów i pośrednio potwierdzono rolę białek AiL, YadA i OmpC w nadawaniu bakterii oporności na jej działanie.

Uzyskane w następstwie przeprowadzonych badań dane zostały zobrazowane w postaci tabel, rycin i dokumentacji fotograficznej, które dobrze korespondują z przedstawionym tekstem.

Na pozytywne podkreślenie zasługuje umiejętne przeprowadzenie dyskusji wyników. Autorka wykorzystuje bogate piśmiennictwo przedstawiając swoje wyniki na tle uzyskanych przez innych autorów. Robi to w sposób wysoce merytoryczny. Przywołuje tabele i wykresy co ułatwia czytelnikowi prześledzenie jej toku rozważań. Zwykle rozdział ten przysparza sporo trudności doktorantom choć w tym przypadku mgr Katarzyna Morka poradziła sobie z nim znakomicie. W pracy doktorantka zawarła 179 pozycji piśmiennictwa. Większość cytowanej literatury w rozdziale przegląd piśmiennictwa to pozycje anglojęzyczne. Należy podkreślić, że zostały one dobrane pod względem tematycznym prawidłowo i pod względem merytorycznym ściśle wiążą się z kwestiami zawartymi w pracy

WNIOSKI

Rozdział ten zawiera zwięzłe podsumowanie wyników w formie 9 wniosków. Nawiązują one do celu badań. Są poprawnie sformułowane na podstawie uzyskanych wyników, ale nie stanowią ich powtórzeń.

WNIOSEK KOŃCOWY

Doktorantka wykazała się znajomością problemu badawczego czego wyrazem jest przedstawiony cel badań, dobór odpowiednich metod badawczych, ich właściwe realizacje, a także umiejętne przeprowadzenie analizy uzyskanych wyników badań. Doktorantka wykazała bardzo dobre opanowanie warsztatu badawczego. Istotnych niedociągnięć w pracy nie dostrzegłem. Sugerowałbym, żeby w trakcie obrony autorka wyraziła swój pogląd na następujące kwestie:

1. Rola populacji dzików w rozprzestrzenianiu się chorób o etiologii wirusowej i bakteryjnej w Polsce
2. Znaczenie produktów spożywczych pochodzenia zwierzęcego w przenoszeniu chorób zakaźnych

Reasumując, rozprawa doktorska Pani mgr Katarzyny Morki stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, oraz wskazuje na dużą wiedzę teoretyczną doktorantki w zakresie nauk

biologicznych. Zaletą pracy jest jej poziom merytoryczno-formalny. Tę pracę dobrze się czyta, pomimo dużej liczby przytaczanych faktów i uwikłanego charakteru wyników. Rzeczowość wypowiedzi, eksponowanie wyników ważnych i udokumentowanych, umiar we wnioskowaniu, dokładność ale nie drobiazgowość komentarzy oraz składne formułowanie myśli wskazują na dużą umiejętność redagowania tekstu naukowego i wysoki poziom intelektualny Doktorantki.

Stwierdzam zatem, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska spełnia wszystkie wymagania ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach in tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2003 Nr 65 poz. 595 z późn. zm.). Wnioskuje do Rady Wydziału Nauk Biologicznych Uniwersytetu Wrocławskiego o dopuszczenie Pani Katarzyny Morki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Przedstawioną mi do recenzji pracę oceniam wysoko. Jest to dzieło oryginalne o znaczącym wskaźniku innowacyjności. Mając na uwadze „wybór” tematyki badań, przeprowadzenie rozlicznych analiz przy użyciu nowoczesnych metod, pozwalających na sformułowanie ważkich stwierdzeń końcowych o charakterze poznawczym wnoszę o wyróżnienie ocenianej pracy stosowną nagrodą.

Profesor dr hab. Zbigniew Paluszak

13.06.2019

