



**RECENZJA**

Rozprawy doktorskiej mgr inż. Mateusza Gemby

pt.: „Prognostyczny model zdolności tworzenia biofilmu przez bakterie patogenne wyizolowane z mleka kobiecego”

wykonanej w Katedrze Technologii Gastronomicznej i Higieny Żywności, Instytutu Nauk o Żywieniu Człowieka, Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie pod kierunkiem prof. dr hab. Danuty Kołożyn-Krajewskiej oraz dr inż. Elżbiety Rosiak pełniącej funkcję promotora pomocniczego

Podstawą opracowania recenzji jest Regulamin przeprowadzania postępowań w sprawie nadania stopnia doktora w Szkole Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie osobom, które rozpoczęły studia doktoranckie przed rokiem akademickim 2019/2020 stanowiącego załącznik do Uchwały nr 89 – 2022/2023 z dnia 26 czerwca 2023 r. Senatu Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie oraz Ustawa z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2024 r. poz. 1571 z późn. zm.)

Zwalczanie biofilmu bakteryjnego stanowi jedno z kluczowych wyzwań współczesnej mikrobiologii żywności i medycyny, ponieważ obecność mikroorganizmów w tej formie znacząco zwiększa ich odporność na czynniki środowiskowe i procedury dezynfekcji. W kontekście mleka ludzkiego problem ten nabiera szczególnego znaczenia – zarówno na etapie pozyskiwania pokarmu, jak i jego przechowywania oraz podawania wcześniakom. W literaturze opisano przypadki ciężkich zakażeń noworodków, w których źródłem infekcji okazało się wtórnie zanieczyszczone mleko ludzkie. Powierzchnie, które mają kontakt z mlekiem ludzkim – elementy laktatorów, butelki, pojemniki, a przede wszystkim rurki do żywienia enteralnego – stanowią potencjalne miejsca kolonizacji biofilmu. Drobnoustroje zdolne do jego tworzenia, np. *Cronobacter sakazakii*, *Enterobacter cloacae* czy *Bacillus cereus*, stwarzają w takich warunkach szczególne ryzyko dla wcześniaków i noworodków o niskiej masie urodzeniowej, u których infekcje przebiegają gwałtownie i mogą prowadzić do ciężkich powikłań. Wykorzystanie modeli prognostycznych umożliwia przewidywanie dynamiki tworzenia biofilmu, co ma istotne znaczenie praktyczne w ocenie ryzyka mikrobiologicznego jak i w opracowywaniu skutecznych strategii zapobiegania zakażeniom w bankach mleka kobiecego oraz na oddziałach neonatologicznych.

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska podejmuje ten istotny problem, koncentrując się na ocenie zdolności wybranych bakterii do tworzenia biofilmu na powierzchniach mających kontakt z mlekiem oraz na opracowaniu modeli opisujących to zjawisko. Oryginalność pracy wynika z osadzenia badań w kontekście funkcjonowania banków mleka kobiecego i opieki neonatologicznej, co podkreśla praktyczną wartość uzyskanych wyników.

### Ocena formalna pracy

Dysertacja mgr. inż. Mateusza Gemby stanowi spójny tematycznie cykl trzech prac naukowych, opublikowanych w recenzowanych czasopismach z listy Journal Citation Reports (JCR) w latach 2020-2025. Doktorant jest w każdej publikacji pierwszym autorem, co wskazuje na jego wiodący udział w ich przygotowaniu oraz w realizacji badań. Potwierdzają to także dołączone do dokumentacji oświadczenia współautorów.

W skład tego opracowania wchodzi następujące publikacje:

1. Gemba M., Rosiak E., Kołożyn-Krajewska D. (2020). *Cronobacter* spp. – poważne zagrożenie w żywności dla niemowląt. *Postępy mikrobiologii*, 59, 2, 139-151. (IF<sub>2020</sub> – 0,294, pkt. MNiSW: 20)
2. Gemba M., Rosiak E., Nowak-Życzyńska Z., Kałęcka P., Łodykowska E., Kołożyn-Krajewska D. (2022). Factors Influencing Biofilm Formation by *Salmonella enterica* sv. Typhimurium, *E. cloacae*, *E. hormaechei*, *Pantoea* spp., and *Bacillus* spp. isolated from human milk determined by PCA analysis. *Foods*, 11, 23, 3862. (IF<sub>2020</sub> – 5,2, pkt. MNiSW: 100)
3. Gemba M., Rosiak E., Kołożyn-Krajewska D. (2025). Development of predictive models of biofilm formation by *C. sakazakii*, *E. cloacae* on surfaces used in the food industry and medicine. *International Journal of Food Microbiology*, 434, 111131. (IF<sub>2020</sub> – 5,2, pkt. MNiSW: 100)

Sumaryczny Impact Factor wg JCR przedstawionych powyżej publikacji wynosi 10,694, a łączna punktacja MNiSW to 220 pkt. Wartości tych wskaźników są odpowiednie przy ubieganiu się o stopień naukowy doktora. Integralną częścią rozprawy Pana mgr. inż. Mateusza Gemby jest 53 stronicowe opracowanie zawierające: Streszczenia - w języku polskim i angielskim, oraz omówienie zagadnień związanych z tematyką pracy doktorskiej (Wstęp; Wykaz publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej; 1. Uzasadnienie wyboru tematu badawczego. 2. Cel pracy, hipotezy badawcze i zakres pracy; 3. Materiał i metodyka badań; 4. Wyniki badań; 5. Dyskusja wyników; 6. Stwierdzenia i wnioski; 7. Spis piśmiennictwa). Opracowanie zostało przygotowane poprawnie i w logicznej kolejności.

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska spełnia więc wszystkie wymogi formalne przy ubieganiu się o stopień naukowy doktora.

### Ocena merytoryczna pracy

Merytoryczna wartość rozprawy znajduje odzwierciedlenie w treści poszczególnych publikacji, które tworzą logiczny i zaplanowany cykl badań. Autor konsekwentnie podzielił rozprawę na trzy zadania badawcze, zrealizowane i opisane w formie odrębnych publikacji. Pierwsze z zadań obejmuje przegląd literatury dotyczący występowania bakterii patogennych w mleku kobiecym, drugie – ocenę jakości mikrobiologicznej mleka oraz modelowe badania zdolności tworzenia biofilmu na powierzchni polistyrenu, natomiast trzecie – analizę zdolności tworzenia biofilmu na różnych powierzchniach (PVC, stal nierdzewna, polipropylen)

i opracowanie modeli prognostycznych. Taki układ pozwala zachować spójność tematyczną oraz przejrzystą logikę przechodzenia od podstaw teoretycznych, przez badania eksperymentalne, aż po ich uogólnienie w postaci modeli matematycznych.

Ocena poszczególnych publikacji wchodzących w skład cyklu:

P1 – „*Cronobacter* spp. – poważne zagrożenie w żywności dla niemowląt” – jest to artykuł przeglądowy, który nie przedstawia wyników własnych badań eksperymentalnych, lecz szeroko omawia dostępne piśmiennictwo dotyczące taksonomii, wirulencji, występowania, mechanizmów przetrwania i tworzenia biofilmu przez *Cronobacter* spp. oraz regulacje prawne związane z bezpieczeństwem żywności dla niemowląt. Publikacja jest logicznie zbudowana, obejmuje wszystkie kluczowe aspekty biologii i znaczenia klinicznego patogenu, a także dobrze porządkuje stan wiedzy. Dużym atutem jest zebranie w jednym miejscu informacji rozproszonych w literaturze – od danych epidemiologicznych i przypadków klinicznych, po wymagania prawne i aktualne metody diagnostyczne. Artykuł spełnia standardy rzetelnego przeglądu literatury – oparty jest na obszernej bibliografii (ponad 100 pozycji), dobrze ilustruje problem zakażeń noworodków, a także podkreśla znaczenie biofilmu jako czynnika zwiększającego ryzyko. Publikacja ma niewątpliwie wartość merytoryczną i stanowi dobre wprowadzenie do dalszej części rozprawy. Skoncentrowanie się na jednym rodzaju patogenu można uznać za przygotowanie gruntu pod kolejne zadania badawcze, w których Doktorant poszerzył zakres analiz o inne izolaty i opracował modele prognostyczne. Należy jednak zauważyć, że zakres przeglądu został ograniczony wyłącznie do rodzaju *Cronobacter* spp., podczas gdy zadanie badawcze nr 1 zostało zdefiniowane szerzej – jako przegląd literatury w zakresie występowania bakterii patogennych w mleku ludzkim. Tym samym temat został zrealizowany jedynie częściowo i w wąskim ujęciu. Liczę, że Doktorant wyjaśni powody takiego zawężenia oraz uzupełni brakujące informacje podczas publicznej obrony pracy.

P2 – „Factors influencing biofilm formation by *Salmonella enterica* sv. Typhimurium, *E. cloacae*, *E. hormaechei*, *Pantoea* sp., and *Bacillus* spp. isolated from human milk determined by PCA analysis” – publikacja ma charakter oryginalny i przedstawia wyniki badań własnych Doktoranta. Autor ocenił jakość mikrobiologiczną próbek mleka ludzkiego pod kątem obecności *Cronobacter* spp. oraz zidentyfikował inne patogeny metodami molekularnymi. Wyizolowane szczepy – *Klebsiella* spp., *Bacillus* spp., *Pantoea* spp., *Salmonella enterica* sv. Typhimurium, *E. hormaechei*, *E. cloacae* – zostały następnie wykorzystane do modelowych badań nad zdolnością tworzeniem biofilmu na powierzchni polistyrenu. Badania te mają wysoką wartość poznawczą, ponieważ pokazują, że oprócz *Cronobacter* spp. do mleka ludzkiego w wyniku krzyżowego zanieczyszczenia mogą dostawać się także inne bakterie patogenne o istotnym znaczeniu klinicznym. Na uwagę zasługuje szeroki zakres analiz – różne warunki środowiskowe (temperatura, czas, wielkość inokulum) zostały przetestowane w 60 wariantach dla każdego izolatu, co świadczy o dużej pracowitości i rzetelności badań. Istotnym walorem metodologicznym publikacji jest również zastosowanie analizy PCA (Principal Component Analysis, pol. analiza głównych składowych), która umożliwiła wielowymiarową ocenę czynników determinujących tworzenie biofilmu.

Przechodząc do oceny wyników, należy zwrócić uwagę na kilka kwestii wymagających doprecyzowania. W punkcie 3.2. publikacji Autor stwierdza, że bakterie nie formowały biofilmu w temperaturach 4 i 62,5°C podczas 8–96 godzin hodowli i odsyła czytelnika do Tabeli 1. Jednak w tym miejscu dane te nie zostały zaprezentowane. Odpowiednie wyniki pojawiają się natomiast w Tabeli 3 w opracowaniu przygotowanym przez Doktoranta. Co więcej, zaprezentowane w Tabeli 3 wyniki wskazują, że część szczepów w tych warunkach tworzyła słaby lub silny biofilm. Oznacza to, że opis zawarty w publikacji pozostaje w sprzeczności z wynikami przedstawionymi w opracowaniu. Dodatkowo, zastanawiające jest, że przy braku wzrostu komórek w tych warunkach obserwowano obecność biofilmu? W żadnej wersji (ani w opracowaniu, ani w publikacji) nie znalazłam wyjaśnienia tego zjawiska. Co więcej, Autor wskazuje, że większość badanych szczepów rosła w temperaturze 62,5°C przez 8 godzin. Proszę o wyjaśnienie, jak możliwy był wzrost w tak wysokiej temperaturze, skoro z danych literaturowych przywoływanych przez Doktoranta wynika, że czas redukcji dziesiętnej ( $D_{62}$ ) wynosi dla *K. pneumoniae* 1,32–90 s, a dla *C. sakazakii* 34–67 s. Przy tak krótkich czasach inaktywacji przeżycie i wzrost przez wiele godzin wydają się trudne do wytłumaczenia. Dodatkowo z wyników przedstawionych w Tabeli 1 (P2) wynika, że w przypadku niektórych mikroorganizmów, np. *Pantoea* spp. (M) biofilm pojawia się w początkowym okresie doświadczenia (8 i 12 godz.), a następnie jest nieobecny (24 i 48 godz.). Odmienny, bardziej naprzemienny przebieg zaobserwowano dla *E. cloacae* 1 (M): biofilm obecny po 8 godz., brak po 12 godz., ponowne wystąpienie po 24 godz. i brak po 48 godz. W publikacji nie znalazłam wyjaśnienia tego zjawiska. Mam nadzieję, że podczas obrony pracy Doktorant odniesie się do tych obserwacji i zaproponuje ich potencjalne przyczyny. W dyskusji wyników Doktorant wskazuje również, że w zależności od właściwości szczepów należących do jednego gatunku zdolność do tworzenia biofilmu może zależeć od temperatury i potwierdza to danymi literaturowymi. W tekście publikacji najprawdopodobniej wkraść się błąd, który mylnie ukazał wyniki uzyskane przez Hošťacká i in. (2010). Doktorant podaje: „*Hošťacká et al. (2010) compared the biofilm production by K. pneumoniae strains at 30.0°C and 37.0°C (24 h incubation). Two of the five strains showed a decrease in biofilm production at 37.0°C. For the other three tested strains, the temperature of 30°C was conducive to greater biofilm production [46]...*” Choć błąd ten jest niewielki i wynika zapewne z przeoczenia (w ostatnim zdaniu zamiast 30.0°C powinna być podana temperatura 37.0°C), warto podkreślić, że przy cytowaniu innych autorów trzeba przykładać szczególną wagę do precyzji, aby nie zniekształcać oryginalnego przekazu.

Pomimo wskazanych wątpliwości należy podkreślić, że publikacja wnosi cenny wkład w zrozumienie zagrożeń mikrobiologicznych związanych z mlekiem ludzkim i stanowi wartościową podstawę do dalszych badań.

P3 – „Development of predictive models of biofilm formation by *C. sakazakii*, *E. cloacae* on surface used in the food industry and medicine” – publikacja ma charakter oryginalny i stanowi najważniejszą część cyklu, ponieważ przedstawia opracowanie modeli prognostycznych zdolności tworzenia biofilmu przez bakterie *C. sakazakii* i *E. cloacae* na powierzchniach istotnych dla żywności i medycyny (PVC, stal nierdzewna, polipropylen). Wyniki badań eksperymentalnych zostały wykorzystane do opracowania równań regresji opisujących zależność między czasem, temperaturą i rodzajem powierzchni a intensywnością tworzenia biofilmu. Na uwagę zasługuje

zarówno szeroki zakres badań, jak i zastosowanie podejścia modelowego, które nadaje pracy charakter nowatorski i praktyczny. Modele tego typu mogą w przyszłości wspierać prognozowanie ryzyka mikrobiologicznego w warunkach banków mleka i na oddziałach neonatologicznych. Warto jednak zauważyć, że przed ich implementacją konieczne są dalsze badania, obejmujące szerszą grupę mikroorganizmów i różnorodne warunki środowiskowe, co pozwoliłoby rozbudować model i zwiększyć jego wartość predykcyjną.

Podsumowując, stwierdzam, że mgr inż. Mateusz Gemba stosując umiejętnie zaprojektowane postępowanie doświadczalne pomyślnie zrealizował zaplanowane zadania badawcze. Uzyskane przez niego rezultaty mają elementy nowości naukowej, a jednocześnie są istotne ze względów praktycznych.

Stwierdzam, że przedstawiona do oceny praca doktorska spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim zgodnie z Ustawą z dnia 20 lipca 2018 r. - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t.j. Dz. U. z 2024 r. poz. 1571 z późn. zm.) i wnioskuję do Rady Dyscypliny Technologia Żywności i Żywnienia Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie o przyjęcie pracy i dopuszczenie do dalszych etapów postępowania celem uzyskania stopnia doktora.



Signed by /  
Podpisano przez:

Edyta Malinowska-  
Pańczyk  
Politechnika  
Gdańska

Date / Data:  
2025-09-19 11:22