



UNIwersytet
WARMIŃSKO-MAZURSKI
W OLSZTYNIE

Dr hab. Agnieszka Wiszniewska-Łaszczych, prof. UWM
Katedra Weterynaryjnej Ochrony Zdrowia Publicznego
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
ul. Oczapowskiego 14, 10-957 Olsztyn
Tel. 89 523 43 31
e-mail: aga@uwm.edu.pl

Recenzja rozprawy doktorskiej

na stopień doktora w dyscyplinie **weterynaria** Pani lek. wet. Aleksandry Kaczmarkowskiej
pt. „Węzły chłonne świń źródłem bakterii zagrażających zdrowiu publicznemu – przesłanki
do rozszerzonych badań poubojowych”

wykonanej pod kierunkiem:

Pana Prof. dr hab. Krzysztofa Anusza –promotora

Pani Dr Anny Didkowskiej – promotora pomocniczego

Formalna podstawa wykonania recenzji

Podstawą wykonania recenzji była uchwała Rady Dyscypliny Weterynaria Szkoły Głównej
Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie z dnia 16 października 2024 roku.

Przedmiotem recenzji jest ocena czy rozprawa doktorska spełnia wymagania ustawowe
określone w art. 192 ust. 2, ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i
nauce (tj. z dnia 10 marca 2023r., Dz. U. z 2023 r. poz. 742, ze zm.).

Uzasadnienie podjęcia tematu

Podstawową potrzebą każdego człowieka jest poczucie bezpieczeństwa, które gwarantowane jest także przez dostępność bezpiecznej żywności. Dużym zagrożeniem dla zdrowia człowieka jest występowanie w produktach spożywczych drobnoustrojów, szczególnie tych o potencjale zootycznym. Głównym źródłem ich występowania są surowce pochodzenia zwierzęcego. Drobnoustroje te stanowią nie tylko bezpośrednie zagrożenie dla zdrowia ludzi poprzez wywoływanie zatruc i zakażeń pokarmowych, ale również mogą przyczyniać się poprzez horyzontalny transfer genów do narastania oporności na substancje przeciwbakteryjne stosowane w leczeniu ludzi i zwierząt, co w ostatnich latach obserwujemy.

Bezpieczeństwo żywności zapewnia nadzór nad łańcuchem spożywczym, w tym urzędowe badanie poubojowe zwierząt rzeźnych w przypadku pozyskiwania mięsa. Strategia prowadzenia nadzoru urzędowego obowiązująca w Unii Europejskiej stawia duży nacisk na kontrolę w całym łańcuchu spożywczym ze szczególnym uwzględnieniem produkcji pierwotnej, co oczywiście jest słuszne. Niestety strategia ta wpływa na ograniczenie badania poubojowego zwierząt rzeźnych głównie do oceny wizualnej tusz i narządów. To z kolei utrudnia wykrywanie podklinicznych stanów chorobowych wywoływanych przez drobnoustroje, których pierwszym a często jedynym objawem mogą być zmiany w węzłach chłonnych. Przy braku w tuszy i/lub narządach widocznych zmian chorobowych pomijana jest ocena węzłów chłonnych, co z kolei umożliwia przenikanie drobnoustrojów o potencjale zootycznym stanowiących bezpośrednie zagrożenie dla zdrowia człowieka oraz przenoszących geny oporności na substancje przeciwbakteryjne do łańcucha spożywczego i środowiska. W przedstawionej do oceny pracy, Pani lek. Wet. Aleksandra Kaczmarkowska w sposób jasny i rzetelny udowodniła, że ograniczanie badania poubojowego jedynie do oceny wizualnej bez oceny stanu węzłów chłonnych stanowi realne zagrożenie dla bezpieczeństwa.

Ocena formalna i merytoryczna pracy

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska jest kompilacją trzech powiązanych ze sobą merytorycznie i opublikowanych w wysoko punktowanych czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym prac naukowych, których pierwszym autorem jest Pani lek.wet. Aleksandra Kaczmarkowska:

1. Kaczmarkowska A, Kwiecień E, Didkowska A, Stefańska I, Rzewuska M, Anusz K. 2023. The Genetic Diversity and Antimicrobial Resistance of Pyogenic Pathogens Isolated from Porcine Lymph Nodes. *Antibiotics*, 12(6), 1026.

DOI: /doi.org/10.3390/antibiotics12061026 (IF2023 = 5,22; MEiN2023 = 70 pkt.)

2. Kaczmarkowska A, Didkowska A, Brzezińska S, Klich D, Kwiecień E, Dolka I, Kociuba P, Rzewuska M, Augustynowicz-Kopeć E, Anusz K. 2022. Could the type and severity of gross lesions in pig lymph nodes play a role in the detection of *Mycobacterium avium*? *PloSone*, 17(7), e0269912.

DOI: /doi.org/10.1371/journal.pone.0269912 (IF2022 = 3,7; MEiN2021 = 100 pkt.)

3. Kaczmarkowska A, Didkowska A, Kwiecień E, Stefańska I, Rzewuska M, Anusz K. 2022. The *Mycobacterium avium* complex - an underestimated threat to humans and animals. *Ann Agric Environ Med*. 29(1), 22–27.

DOI: /doi.org/10.26444/aaem/136398 (IF2022 = 1,7; MEiN2022 = 100 pkt.)

Kompilacja została podzielona na sześć głównych rozdziałów: 1. wstęp, 2. cele pracy, 3. Materiał i metody, 4. Wyniki, 5. Dyskusja, 6. Wnioski oraz bibliografię liczącą 104 pozycje piśmiennictwa i załączniki.

Rozdział 1. **Wstęp.** Autorka przedstawiła w tym miejscu ogólną strategię badania poubojowego świń. Przybliżyła problem narastania oporności drobnoustrojów na substancje przeciwbakteryjne oraz scharakteryzowała drobnoustroje o charakterze zootycznym występujące w węzłach chłonnych i mające wpływ na bezpieczeństwo ludzi i środowiska.

Rozdział 2. **Cele pracy,** którymi były (cyt.):

1. Ocena występowania oraz zróżnicowania genetycznego potencjalnie zoonotycznych szczepów ropotwórczych *Streptococcus* spp., *R. equi* i *S. aureus* wyizolowanych z węzłów chłonnych świń ze zmianami ropnymi i bez zmian, w związku z ewentualną decyzją urzędowego lekarza weterynarii o podjęciu, poza rekomendowanym badaniem wizualnym, dodatkowej procedury badania poubojowego, rozszerzonej o badanie dotykowe i nacinanie.

2. Określenie dla potencjalnie zoonotycznych szczepów ropotwórczych *Streptococcus* spp., *R. equi* i *S. aureus*, wyizolowanych z węzłów chłonnych świń ze zmianami ropnymi i bez zmian, wartości minimalnego stężenia hamującego (MIC) wybranych chemioterapeutyków przeciwbakteryjnych w kontekście wykrywania determinant genetycznych lekooporności.

3. W związku z wzrastającym zagrożeniem zakażeniami prątkami z MAC u ludzi i zwierząt, ustalenie, czy można przewidzieć występowanie *M. avium* w węzłach chłonnych świń na podstawie rodzaju i wielkości stwierdzonych w nich zmian, a także czy na prawdopodobieństwo obecności *M. avium* w węzłach chłonnych świń wpływa płeć zwierząt oraz wielkość stada.

Kolejne dwa rozdziały pracy korespondują ściśle z wyznaczonymi przez Autorkę celami pracy.

Rozdział 3. **Material i metody**

W trzech podrozdziałach Autorka opisała materiał wykorzystywany do przeprowadzenia badań oraz sposób jego pozyskania – węzły chłonne od 199 sztuk świń wykorzystane do badań poświęconych drobnoustrojom ropotwórczym oraz 10600 tusz wieprzowych poddanych szczegółowemu badaniu poubojowemu dla oceny zagrożenia zakażeniami prątkami MAC.

Autorka opisała metodykę izolacji i identyfikacji drobnoustrojów będących przedmiotem badań (*Streptococcus* spp., *R. equi*, *S. aureus*, *M. avium*). W rozdziale umieszczona została metodyka izolacji materiału genetycznego wyizolowanych z węzłów chłonnych drobnoustrojów oraz ich identyfikacji genetycznej.

Dla drobnoustrojów ropotwórczych opisana została metoda badania wrażliwości na osiem substancji przeciwbakteryjnych: amoksycylina z kwasem klawulanowym (AMC; 0,016-256 µg/ml), penicylina (PEN; 0,002-32 µg/ml), cefotaksym (CTX; 0,002-32 µg/ml), erytromycyna (ERY; 0,016-256 µg/ml), doksycyklina (DOX; 0,016-256 µg/ml), gentamycyna (GEN; 0,016-256 µg/ml), ciprofloksacyna (CIP; 0,002-32 µg/ml) i trimetoprim-sulfametoksazol (SXT; 0,002-32 µg/ml) oraz wykrywania wybranych genów oporności na erytromycynę (*ermA* i *ermB*) i tetracykliny (*tetK/L*, *tetM* i *tetO*) u paciorkowców.

Drobnoustroje ropotwórcze (*Streptococcus* spp., *R. equi*, *S. aureus*) poddane były opisanej w rozdziale ocenie zróżnicowania genetycznego z wykorzystaniem elektroforezy pulsacyjnej w zmiennym polu elektrycznym (PFGE).

Autorka przedstawił także w sposób jasny i rzeczowy sposób przeprowadzenia analizy statystycznej uzyskanych wyników.

Rozdział 4. **Wyniki.**

W dwóch podrozdziałach Autorka opisuje wyniki uzyskane w badaniach poświęconych drobnoustrojom ropotwórczym (rozdz. 4.1) i MAC (rozdz. 4.2).

W przypadku bakterii ropotwórczych (rozdz. 4.10) izolaty *Streptococcus* spp. uzyskano z 24.1% węzłów chłonnych natomiast *S. aureus* i *R. equi* odpowiednio z 2,5% i 8,5% pobranych węzłów chłonnych. Należy zwrócić uwagę, że szczepy bakteryjne wyizolowano zarówno z węzłów chłonnych posiadających zmiany jak również z tych niezmiennych patologicznie. Wyizolowane drobnoustroje cechowały się dosyć wysoką wrażliwością na badane chemioterapeutyki jednak we wszystkich grupach drobnoustrojów wykazano również obecność (w różnym stopniu i nasileniu) szczepów opornych na substancje przeciwbakteryjne.

Badanie pokrewieństwa filogenetycznego wyizolowanych drobnoustrojów dostarcza ciekawych informacji na temat ich krążenia w środowisku. Najbardziej zróżnicowane genetycznie okazały się szczepy *R. equi*.

W podrozdziale 4.2 Autorka wykazała częstotliwość występowania zmian gruźliczopodobnych w węzłach chłonnych świń na poziomie 0,81%. Ciekawy i istotny z punktu widzenia zapewnienia bezpieczeństwa jest jednak fakt, że prątki MAC izolowane były nie tylko ze zmienionych węzłów chłonnych ale również z tych bez widocznych zmian, niemniej nasilenie zmian istotnie wpływa na większą szansę obecności MAC.

Rozdział 5. **Dyskusja.**

Autorka w sposób zwięzły przedstawiła uzyskane w swoich badaniach wyniki porównując je z danymi literaturowymi.

Rozdział 6. **Wnioski.** Na podstawie przeprowadzonych i opisanych badań Autorka sformułowała 6 trafnych wniosków. Wynika z nich, że dla zapewnienia szeroko pojętego bezpieczeństwa żywności należy zwracać baczną uwagę na występujące w obrębie węzłów chłonnych zmiany. Urzędowi Lekarze Weterynarii powinni również częściej podejmować się podejmowania dodatkowej procedury badania poubojowego zgodnie z art. 24 rozporządzenia UE 2019/627.

Z obowiązku recenzenta pragnę zwrócić uwagę na pewne niedociągnięcia i niejasności:

- Rozdział 3.1 – materiał pobrany od świń przechowywany był w temp. -20°C – jak długo? Drobnoustroje w tej temperaturze mogą wymierać, a jak wynika z opisu metodyki, stosowane były klasyczne metody hodowlane.
- Rozdział 3.1.1 – posiewy inkubowano w warunkach mikroaerofilnych – dlaczego, skoro izolowano bakterie tlenowe?
- Rozdział 3.1.2. Metoda termiczna pozyskiwania DNA jest wykorzystywana i skuteczna, ale czy Autorka ma pewność, że uzyskany materiał genetyczny nie zawiera zanieczyszczeń? Czy było oznaczane stężenie DNA?
- Rozdział 3.2.1. Autorka informuje, że do badań histopatologicznych przekazano tylko kilka wybranych węzłów chłonnych. Na jakiej podstawie dokonywano wyboru?
- Rozdział 3.2.2 Wśród organizmów należących do *Mycobacterium avium complex* występują też takie, które do wzrostu na podłożach wymagają obecności czynnika chelatującego żelazo (*Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis*). Czy Autorka wzięła pod uwagę możliwość występowania tego patogenu?

Wymienione powyżej uwagi i sugestie w żadnym stopniu nie umniejszają wartości merytorycznej pracy.

Wniosek końcowy

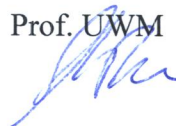
Oceniana praca Pani lek. wet. Anny Kaczmarkowskiej jest oryginalnym opracowaniem naukowym i może być przydatna jako przyczynek do dyskusji nad niezbędnym zakresem badania urzędowego zwierząt rzeźnych.

Podsumowując, rozprawa doktorska Pani lek. wet. Anny Kaczmarkowskiej pt. „Węzły chłonne świń źródłem bakterii zagrażających zdrowiu publicznemu – przesłanki do rozszerzonych badań poubojowych” spełnia wszystkie wymogi stawiane rozprawom doktorskim w obecnie obowiązujących aktach prawnych (art. 192 ust. 2, ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce tj. z dnia 10 marca 2023r., Dz. U. z 2023 r. poz. 742, ze zm.) i wnioskuję do Rady Dyscypliny Weterynaria Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie o dopuszczenie Pani lek. wet. Anny Kaczmarkowskiej do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora w dyscyplinie weterynaria.

Oprócz niepodważalnej wartości naukowej, praca ta wykazuje także charakter praktyczny, wskazując na potrzebę zrewidowania tendencji do upraszczania badania poubojowego zwierząt rzeźnych w celu zapewnienia bezpieczeństwa żywności. Z tego też względu wnioskuję do Wysokiej Rady Dyscypliny Weterynaria Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie o wyróżnienie pracy Pani lek. Wet. Anny Kaczmarkowskiej.

Dr hab. Agnieszka Wiszniewska-Łaszczych

Prof. UWM



UNIWERSYTET WARMIŃSKO-MAZURSKI
w Olsztynie
WYDZIAŁ MEDYCYNY WETERYNARYJNEJ
Katedra Weterynaryjnej Ochrony Zdrowia Publicznego
10-718 Olsztyn, ul. Oczapowskiego 14
tel./fax 089 523 33 31, 089 523 39 95



OPŁATA POBRANA
TAXE PERCUE - POLOGNE
Umowa z Poczta Polska S.A.
ID 518459/W

PRJORYTET



30507 14.12.2024 02 POLECONA

KANCELARIA GŁÓWNA SGGW
2024 -12- 23
WPLYNEŁO DNIA -3-

prof. dr hab. Marcin Bańbura Przewodniczący Rady
Dyscypliny Weterynaria SGGW w Warszawie Instytut
Medycyny Weterynaryjnej Szkoła Główna
Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
Warszawa Nowoursynowska 159
02-776 Warszawa

30132

15.12.2024

R

(00)659007734624447912



(00)659007734624447912

(00)659007734624447912



Poczta Polska
Opłata pobrana _____ zł _____ gr



RPW/38491/2024 N
Data: 2024-12-23

2024