

prof. dr hab. Krzysztof Rypuła
Katedra Epizootiologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Wrocław, 20 stycznia 2025 roku

RECENZJA

rozprawy doktorskiej lekarza weterynarii Piotra Kwiecińskiego
pt.: „**Analiza występowania bakterii z rodzaju *Campylobacter* na różnych etapach produkcji mięsa drobiowego – aspekt ochrony zdrowia publicznego**”
wykonanej w Katedrze Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Publicznego
Instytutu Medycyny Weterynaryjnej
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie pod kierunkiem
prof. dr hab. Krzysztofa Anusza i
dr hab. Agnieszki Jackowskiej-Tracz - promotora pomocniczego.

Powyższa recenzja wykonana została w oparciu o uchwałę Rady Dyscypliny Weterynarii SGGW w Warszawie z dnia 21 listopada 2024 roku na podstawie Ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2024, poz. 1571) i pismem Dyrektora Instytutu Medycyny Weterynaryjnej z dnia 4 grudnia 2024 roku.

Temat badawczy podjęty przez Doktoranta dotyczy występowania bakterii z rodzaju *Campylobacter* spp. i jest ważny z punktu widzenia ochrony zdrowia człowieka i zwierząt, a także od lat wdrażanej przez WOAH koncepcji „One Word, One Health”. Od dawna wiadomo, że spośród 60% znanych nam chorób zakaźnych ludzi ma swoje źródło u zwierząt (zarówno domowych, jak i dzikich), podobnie jak 75% nowo pojawiających się chorób u ludzi i 80% drobnoustrojów, które potencjalnie mogą być wykorzystane w bioterroryzmie. Są one ze względu na szerokie spektrum zakaźne monitorowane przez Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) i Europejskie Centrum Kontroli Chorób i Prewencji (ECDC) w oparciu o art. 9 Dyrektywy 2003/99/EC.

Kampylobakterioza z liczbą ponad 246 000 przypadkami rocznie u ludzi jest to najczęściej zgłaszaną chorobą przenoszona drogą pokarmową w UE. Uważa się jednak, że rzeczywista liczba jest wyższa i bliższa dziewięciu milionom przypadków rocznie. Równie wysoki jest koszt kampylobakteriozy dla systemów zdrowia publicznego i strat w produkcji szacowany według danych EFSA na około 2,4 miliarda EURO/rocznie. W oparciu o dostępne dane drób i jego mięso mogą bezpośrednio odpowiadać za 20–30% przypadków zachorowań u ludzi.

Lekarz weterynarii Piotr Kwieciński w przedstawionej do oceny rozprawie doktorskiej przedstawił analizę procedur ograniczających ryzyko zanieczyszczenia tuszek brojlerów kurzych przez drobnoustroje z rodzaju *Campylobacter* w kontekście wdrożenia procedur ograniczających ekspozycję brojlerów na zakażenie/kolonizację przewodu pokarmowego na etapie produkcji pierwotnej, transportu i w ubojni.

Dysertacja przygotowana została przez Doktoranta w układzie powszechnie przyjętym dla tego typu opracowań tj.: oświadczenie promotora i autora pracy, streszczenie w języku polskim i angielskim, wykaz użytych skrótów, wstęp, cel pracy, materiał i metody, wyniki, dyskusja, wnioski oraz piśmiennictwo liczące 103 pozycje.

We wstępie, Doktorant przedstawił dane poziomu zanieczyszczeń drobnoustrojami *Campylobacter* tuszek drobiowych z raportów EFSA i publikacji naukowych w Polsce. Prezentowane dane te dotyczyły głównie publikacji poświęconych tej tematyce z regionu północnej Polski (Andrzejewska i wsp. poz. 5, 6 oraz Gomółka-Pawlicka poz. 29, 30). Badania nad częstotliwością występowania *Campylobacter* spp. u drobiu oraz produktach pochodzenia zwierzęcego były prezentowane w wielu publikacjach. W bazie PubMed jest dostępnych 71 publikacji poświęconych tej tematyce i pochodzące z lat 2000-2024. Natomiast przez piszący wykorzystał jedynie 10% z nich i to dotyczące głównie jednego regionu Polski.

W kolejnych akapitach przedstawiono patogenezę zakażenia z uwzględnieniem sposobu kolonizacji błony śluzowej przewodu pokarmowego, niewytwarzanie samodzielnego biofilmu, jak również przeżywanie w środowisku fermy bądź zakładach przetwórczych, co w konsekwencji jest przyczyną wysokiego odsetka kontaminacji produktów żywnościowych zwierzęcego pochodzenia i wysoki odsetek zakażeń u ludzi. W konkluzji Doktorant zawarł treść, że jedynie kontrola łańcucha produkcji mięsa drobiowego oparta na obniżeniu poziomu zanieczyszczenia drobnoustrojami rodzaju *Campylobacter* jest najważniejszym podejściem do ochrony zdrowia konsumenta.

Cele pracy określone w czterech punktach, wymienione na stronie 27 niniejszej dysertacji są oparte na danych ze wstępu pracy i odnoszą się do określenia częstości występowania *Campylobacter* spp. na fermie, przed rozpoczęciem chowu i jego trakcie, w tym ocena przestrzegania zasad bioasekuracji w kurniku oraz poziom zanieczyszczenia pałeczkami *Campylobacter* spp. produktów mięsnych surowych z uwzględnieniem częściowej depopulacji w stadzie brojlerów kurzych między 33-35 dniem chowu.

W rozdziale materiał i metody Doktorant przedstawił listą kontrolną zawierającą 55 pytań/zagadnień odnoszących się do ryzyka ekspozycji brojlerów kurzych i kolonizacji ich przewodu pokarmowego przez *Campylobacter* spp. utworzonych na podstawie raportów Komisji Europejskiej, badanie pierwszego kału piskląt (mekonium) pochodzącego od jednodniowych piskląt bezpośrednio przed ich wprowadzeniem do kurnika, badanie wymazów powierzchniowych w trakcie chowu i na 19-21 dni przed jego zakończeniem (wytyczne Rozporządzenia Komisji (WE) nr 200/2012 z dnia 8 marca 2012 r. w sprawie unijnego celu ograniczenia występowania *Salmonella* Enteritidis i *Salmonella* Typhimurium w stadach brojlerów zgodnie z rozporządzeniem (WE) nr 2160/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady oraz Rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 24 stycznia 2020 r. w sprawie wprowadzenia „Krajowego programu zwalczania niektórych serotypów *Salmonella* w stadach brojlerów gatunku kura (*Gallus gallus*) na lata 2020-2022). Do wykrycia materiału genetycznego *Campylobacter* spp. w badanych próbkach zbiorczych stosowano technikę Real-Time PCR z wykorzystaniem komercyjnie dostępnego testu Kylt® *Campylobacter jejuni/coli* DNA-Extraction and Real-Time PCR Detection Kit for Thermophilic *Campylobacter* spp. Próbkę, w której stwierdzono obecność materiału genetycznego bakterii *Campylobacter* przesiewano na CAMP Chromagar *Campylobacter*. W kolejnym etapie kolonie identyfikowano gatunkowo za pomocą testu BAX® system Real-time PCR assay for *Campylobacter jejuni/coli/lari*.

Uzyskane wyniki badań polegające na identyfikacji gatunkowej *Campylobacter* w próbkach zbiorczych surowych produktów mięsnych (skrzydło, mięso z nogi) metodą PCR to obecność *C. jejuni* w 73,49% i *C. coli* w 18,07%. Nie wykazano obecności materiału genetycznego *C. lari* w żadnej próbce zbiorczej. Produkty ze skórą wykazały 14-krotnie większe szanse na wystąpienie *Campylobacter* spp. niż produkty bez skóry. Porównując prawdopodobieństwo wystąpienia bakterii w próbkach zbiorczych surowych produktów mięsnych pozyskanych z tuszek brojlerów kurzych wykazały istotną zależność frekwencji *Campylobacter* spp. w zależności od cyklu chowu oraz typu surowego produktu mięsnego (ze skórą/bez skóry). Surowe produkty mięsne pochodzące od tusz brojlerów kurzych z drugiego cyklu chowu wykazały 2-krotnie większe szanse na wystąpienie *Campylobacter* spp. niż produkty z cyklu pierwszego. Nie wykazano natomiast różnic w odniesieniu do badanych ferm. Na wcześniejszych etapach produkcji obecność materiału genetycznego *Campylobacter* spp. wykazano już w mekonium piskląt do 50% wyników dodatnich, w środowisku badanych kurników w 55,71% próbek zbiorczych wymazów powierzchniowych przed rozpoczęciem chowu i w 38,82 % próbek zbiorczych wymazów powierzchniowych przed depopulacją w trakcie chowu.

Po za wykonaniem badań określających częstotliwości występowania bakterii z rodzaju *Campylobacter* spp. na kolejnych etapach produkcji drobiu przeprowadzona została przez Doktoranta analiza wdrożonych procedur bezpieczeństwa dla stad ograniczających ryzyko zakażenia na poszczególnych etapach cyklu produkcyjnego.

Uzyskane przez Doktoranta wyniki są odpowiedzią na założone cele, które są ważne z punktu widzenia zdrowia publicznego. Doktorant wykazał obecność bakterii z rodzaju *Campylobacter* spp. na wszystkich etapach produkcji, co jest istotne dla każdego z ocenianych punktów krytycznych. I o ile wprowadzony i przestrzegany jest sposób nadzoru nad bateriami z rodzaju *Salmonella* spp. jest skuteczny i odsetek zakażeń jest niski, to odwrotnie przedstawia się to dla badanego drobnoustroju. Wyniki uzyskane przez Doktoranta potwierdzają, w liczbach, że konieczne jest reżimowe stosowanie zasad bezpieczeństwa czystości, w tym obniżenie wieku ubojowego o 7 dni, konieczne dla polityki „*Campylobacter*-free”. Wysoki odsetek procentowy identyfikacji źródeł *Campylobacter* spp. w produktach mięsnych ze skórą pochodzące od brojlerów kurzych są potencjalnie istotniejszym źródłem *Campylobacter* spp. niż surowe produkty mięsne bez skóry.

Po zapoznaniu się z treścią manuskryptu mam do Doktoranta pytania:

str. 15 - dane prezentowane w manuskrypcie pochodzą z raportu EFSA z roku 2019. Są dostępne dane z raportu opublikowanego w roku 2022 (One Health Zoonoses Report 2022).

Czym Doktorant tłumaczyłby zróżnicowanie odsetka wyników badania, w których stwierdzono obecność materiału genetycznego *Campylobacter* spp. między kurnikami, które najprawdopodobniej mają jednego właściciela i częstsze występowanie zanieczyszczenia *Campylobacter* spp. w cyklu chowu C2 niż w C1 ($\chi^2=20,5$, $p<0,001$).

str. 31 – ubiórka podyktowana jest zachowaniem dobrostanu, czy zatem jeśli taka procedura jest wykonywana żaden hodowca brojlera nie przestrzega norm określających ilość ptaków na metr kwadratowy?, skoro dokonuje świadomej depopulacji albo w 21 dobie życia lub jak to miało miejsce w badaniu w 33-35 dniu życia ptaków, a jak ujęto w pytaniu 34. Hodowcy co stosowali zasadę all in all out nie prowadzili ubiórki i stosowali się do zasad przestrzegania dobrostanu?. Zatem utrzymując od początku

mniejsze zagęszczenie możemy w naturalny sposób zredukować wysoki odsetek zakażeń, jakie zdanie ma w tej kwestii Doktorant;

str. 52 – z czego wynikał brak obecności materiału genetycznego *Campylobacter* spp w badanych próbkach, skoro jest to drobnoustrój powszechnie występujący w środowisku ferm?;

str 78 – jakie jest dalsze postępowanie z próbkami jeśli ...”Ponadto, dwa wyniki wskazały obecność materiału genetycznego bakterii z rodzaju *Campylobacter*, jednak dalsze badania wykazały, że nie jest to materiał genetyczny *C. jejuni*, *C. coli* ani też *C. lari*” ...?

str. 91 – dlaczego Doktorant mimo trudności wybrał i analizował wyniki wykorzystując model R-kwadrat Nagelkerkego, np. współczynnik determinacji R Kwadrat ?

Str. 106 – zakażenie a nie zarażenie się piskląt [podczas klucia” ...;

Podsumowując stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska **Analiza występowania bakterii z rodzaju *Campylobacter* na różnych etapach produkcji mięsa drobiowego – aspekt ochrony zdrowia publicznego** spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim i odpowiada warunkom określonym w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2024 poz. 1571), tym samym wnioskuję do Wysockiej Rady Dyscypliny Weterynarii Instytutu Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie o dopuszczenie Pana lekarz weterynarii Piotra Kwiecińskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Wrocław, 20 stycznia 2025

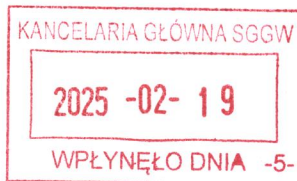
.....
prof. dr hab. K. Rypuła



UNIwersytet
PRzyrodniczy
WE WROŚLAWIU

KATEDRA EPIZOOTIOLOGII Z KLINIKĄ PTAKÓW I ZWIERZĄT EGZOTYCZNYCH

Wrocław, 30 stycznia 2025 r.



Szanowny Pan

prof. dr hab. Marcin Bańbura

Dyrektor Instytutu Medycyny Weterynaryjnej
SGGW w Warszawie
Ul. Nowoursynowska 159
02-776 Warszawa

Szanowny Pan Dyrector,

w załączeniu przesyłam recenzję pracy doktorskiej Pana lek. wet. Piotra Kwiecińskiego pt.: „**Analiza występowania bakterii z rodzaju *Campylobacter* na różnych etapach produkcji mięsa drobiowego – aspekt ochrony zdrowia publicznego**” wraz z podpisanymi dokumentami.

Łzyt wympy szedł i powtarza

Kierownik
Katedry Epizootiologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych

prof. dr hab. Krzysztof Rypuła