



Katedra Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej
WYDZIAŁ MEDYCYNY WETERYNARYJNEJ
UNIwersytet WarMińsko-Mazurski w Olsztynie

ul. Michała Oczapowskiego 13, 10-719 Olsztyn, Kortowo
tel.: (089) 523-32-17; 523-34-54; tel./fax.: (089) 523-41-15



dr hab. Roman Wójcik, prof. UWM
Katedra Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej
Wydziału Medycyny Weterynaryjnej
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie

Olsztyn, dnia 20 grudnia 2025

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr PAULINY CZOSKA

**pt. „Zakażenia bakteriami *Campylobacter jejuni* – badania oddziaływań bakterii,
przeciwciał i układu odpornościowego”**

Przedstawiona do recenzji praca doktorska została wykonana w Zakładzie Fotobiologii i Diagnostyki Molekularnej Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, pod kierunkiem promotora dr hab. Mariusza Grinholc, prof. UG oraz promotora pomocniczego dr Magdy Rybickiej-Misiejko.

PODSTAWA FORMALNA OPRACOWANIA RECENZJI

Podstawą formalną przygotowania recenzji jest Uchwała Rady Naukowej Dyscypliny Biotechnologia Uniwersytetu Gdańskiego z dnia 3 listopada 2025 oraz pismo Przewodniczącego Rady Naukowej Dyscypliny Biotechnologia Uniwersytetu Gdańskiego, dr hab. Mariusza Grinholc, prof. UG z dnia 3 listopada 2025.

WSTĘP (PROBLEM BADAWCZY, CELE, HIPOTEZY I UZASADNIENIE)

Wstęp spełnia ogólne wymagania stawiane pracom doktorskim: problem badawczy został jasno zarysowany i osadzony w literaturze, cele są logiczne, mierzalne i spójne z

założeniami metodologicznymi, a podjęcie tematyki zostało uzasadnione bieżącymi wyzwaniami w obszarze zdrowia publicznego oraz bezpieczeństwa żywności. Wskazana jest jednak istotna redakcyjna korekta i doprecyzowanie terminologiczne w zakresie formułowania strategii badawczej (dotyczącej szczepionek, a nie przeciwciał), co pozwoliłoby uniknąć błędnych interpretacji na dalszych etapach pracy.

Kampylobakterioza stanowi poważne wyzwanie zarówno w weterynarii, jak i w obszarze zdrowia publicznego. Infekcje wywoływane przez *Campylobacter jejuni* u drobiu mają najczęściej przebieg subkliniczny, przez co wykrywane są dopiero na etapie przetwórstwa żywności, co utrudnia skuteczną profilaktykę. W świetle współczesnej koncepcji One Health coraz większe znaczenie zyskują alternatywne strategie ograniczania kolonizacji tego patogenu u zwierząt, takie jak zastosowanie szczepionek stymulujących odpowiedź immunologiczną, a także badania nad aktywnością swoistych przeciwciał IgY, probiotyków, fitobiotyków oraz metod bioasekuracyjnych.

Campylobacter jejuni, jako bakteria szeroko rozpowszechniona w przewodzie pokarmowym drobiu, jest jedną z głównych przyczyn zatruc pokarmowych u ludzi. W Europie kampylobakterioza od lat utrzymuje się na pierwszym miejscu wśród zoonoz. Patogen charakteryzuje się znaczną zmiennością genetyczną, zdolnością do tworzenia biofilmów oraz odpornością na stres środowiskowy, co utrudnia jego eliminację z łańcucha żywnościowego. Rosnąca antybiotykooporność, zwłaszcza na fluorochinolony i makrolidy, potęguje potrzebę rozwoju nieantybiotykowych strategii profilaktycznych.

Rozprawa mgr Pauliny Czoska podejmuje ważny i aktualny problem ograniczania kolonizacji *Campylobacter jejuni* u drobiu z jednoczesnym zmniejszeniem potrzeby stosowania antybiotyków. Praca została osadzona w aktualnym stanie wiedzy, a przegląd literatury przeprowadzono rzetelnie, z logicznym uporządkowaniem kluczowych wątków tematycznych. Szczególnie wartościowe jest połączenie wiedzy z zakresu mikrobiologii, immunologii i produkcji zwierzęcej w celu opracowania strategii opartej na immunizacji niosek szczepionkami przygotowanymi z izolatów *Campylobacter jejuni*, a następnie wykorzystaniu pozyskanych przeciwciał IgY do dalszych analiz funkcjonalnych *in vitro*.

Cele badawcze zostały sformułowane w sposób zasadniczo spójny z postawionym problemem naukowym i obejmują:

- izolację i charakterystykę szczepów *Campylobacter jejuni* pochodzących od drobiu w celu uzyskania antygeny do dalszych badań;

- immunizację niosek preparatem zawierającym wyselekcjonowane antygeny *Campylobacter jejuni* oraz pozyskanie swoistych przeciwciał klasy IgY;
- analizę immunochemiczną i funkcjonalną pozyskanych IgY, w tym ocenę *in vitro* ich aktywności przeciwbakteryjnej wobec szczepów *Campylobacter jejuni*;
- ocena skuteczności immunoprofilaktyki u brojlerów z zastosowaniem szczepionki zawierającej antygeny *Campylobacter jejuni* w modelu *in vivo*.

MATERIAŁY I METODY BADAWCZE

Rozdział „Materiał i metody” został przygotowany w sposób klarowny, logiczny i zgodny z trójstopniową strukturą projektu badawczego. Doktorantka wykazała się dużą starannością i świadomością metodologiczną, co znajduje odzwierciedlenie w opisie poszczególnych etapów badań. Dobór technik i modeli badawczych był adekwatny do postawionych celów i umożliwia pełną ocenę hipotez. Opisy metod badawczych są na tyle szczegółowe i przejrzyste, że umożliwiają ich replikację w innych ośrodkach naukowych, co świadczy o bardzo dobrym przygotowaniu metodycznym Doktorantki i rzetelności w planowaniu oraz realizacji badań.

Pierwszy etap obejmował szczegółowy opis procesu immunizacji niosek z zastosowaniem antygenów uzyskanych z terenowych izolatów *Campylobacter jejuni*. Autorka przedstawiła charakterystykę użytych szczepów, w tym ich analizę serologiczną i genotypową, sposób przygotowania antygenów oraz formułacji preparatów do immunizacji. Uwzględniono również schemat szczepień niosek, jak i przygotowanie szczepu CJ10 *C. jejuni* do przeprowadzenia zakażenia eksperymentalnego w badaniu *in vivo*.

W drugim etapie pracy doktorantka opisała szczegółowo procedury związane z izolacją przeciwciał IgY z żółtek jaj kur immunizowanych antygenami *Campylobacter jejuni*. Zaprezentowano trzy metody izolacji:

- ekstrakcję wodną z zastosowaniem precypitacji chlorkiem sodu lub siarczanem amonu,
- metodę wykorzystującą glikol polietylenowy (PEG 6000),
- oczyszczanie metodą chromatografii żelowej (T-gel).

Opis każdej z metod został przedstawiony w sposób umożliwiający ich powtórzenie i ocenę efektywności. Ponadto przeprowadzono analizę właściwości fizykochemicznych oraz funkcjonalnych wyizolowanych IgY, stosując cztery techniki: elektroforezę SDS-PAGE, aglutynację probówkową, metodę spektrofotometryczną oraz test immunoenzymatyczny ELISA.

W trzecim etapie przeprowadzono badania skuteczności immunoprofilaktyki *in vivo* oraz aktywności przeciwciał *in vitro*. W badaniu *in vivo* brojlerom podano szczepionkę zawierającą antygeny CJ5 i CJ6 — w jednej grupie doustnie (per os), a w drugiej zarówno doustnie, jak i domięśniowo. Następnie przeprowadzono zakażenie eksperymentalne szczepem CJ10 i monitorowano poziom kolonizacji przewodu pokarmowego oraz odpowiedź immunologiczną brojlerów. Procedury immunizacji, zakażenia, a także harmonogram pobierania próbek i ich dalsze przygotowanie zostały opisane precyzyjnie. Równolegle wykonano badania *in vitro*, w których analizowano wpływ preparatów IgY na przeżywalność *C. jejuni*. Przedstawiono również metody przygotowania i oznaczania próbek biologicznych do analiz mikrobiologicznych oraz immunologicznych, w tym testy ELISA do oznaczania poziomów IgY, IgA oraz wybranych cytokin: interleukiny 1 β (IL-1 β), interleukiny 8 (IL-8) i interleukiny 10 (IL-10).

Analiza statystyczna została przeprowadzona przy użyciu powszechnie stosowanego oprogramowania Statistica i obejmowała testy istotności. Choć zastosowane testy istotności są poprawne, wykorzystanie bardziej zaawansowanych modeli statystycznych mogłoby pogłębić analizę i zwiększyć siłę wnioskowania. Dobór testów statystycznych był w większości przypadków odpowiedni, choć miejscami zabrakło komentarzy dotyczących siły efektu czy dokładniejszego uzasadnienia wyboru testów. Mimo to analiza danych pozwala na ocenę istotności obserwowanych różnic i jest zgodna z przyjętymi standardami.

Doktorantka odnotowała uzyskanie zgody właściwej Komisji Etycznej, co potwierdza spełnienie wymogów bioetycznych i przestrzeganiu standardów dobrostanu zwierząt doświadczalnych.

WYNIKI BADAŃ I ICH INTERPRETACJA

Rozdział dotyczący wyników badań został opracowany w sposób systematyczny, klarowny i zgodny z uprzednio przedstawionym planem eksperymentalnym. Doktorantka przedstawiła rezultaty w sposób spójny z postawionymi celami badawczymi i zaprezentowała je w trójstopniowej strukturze odpowiadającej kolejnym etapom realizowanego projektu. Układ rozdziału, zastosowanie tabel, rycin oraz komentarzy opisowych pozwalają na łatwe śledzenie przebiegu analiz i uzyskanych danych. Prezentowane wyniki stanowią solidną podstawę do sformułowania końcowych wniosków naukowych oraz potwierdzają uzyskanie oryginalnych danych o istotnej wartości aplikacyjnej i poznawczej.

W pierwszym etapie zaprezentowano wyniki dotyczące izolacji i charakterystyki szczepów *Campylobacter jejuni* wyizolowanych z próbek od drobiu. Doktorantka wykonała ich charakterystykę biochemiczną z wykorzystaniem zestawu API CAMPY, serotypowanie oraz analizę genotypową metodą PCR pod kątem obecności wybranych genów wirulencji. Wyniki przedstawiono w postaci uporządkowanych tabel i przejrzystych zestawień, które ukazują zarówno jednorodność, jak i różnice pomiędzy analizowanymi szczepami. Istotnym elementem było wytypowanie izolatów CJ5 i CJ6 do dalszych etapów eksperymentu *in vivo* oraz przygotowanie szczepu CJ10 zastosowanego do zakażenia eksperymentalnego.

W kolejnym etapie zaprezentowano efekty immunizacji niosek i izolacji przeciwciał IgY z żółtek jaj. Przedstawiono poziomy swoistych IgY wobec *Campylobacter jejuni* oznaczane testem ELISA, a także ocenę ich jakości i czystości przy użyciu metod: SDS-PAGE, aglutynacji probówkowej, spektrofotometrii i testu immunoenzymatycznego. Dane zostały zaprezentowane przejrzysto, z rozróżnieniem na poszczególne metody izolacji i frakcje preparatów, co umożliwia porównanie ich efektywności.

W części dotyczącej badań *in vitro* zaprezentowano wyniki testów oceniających aktywność przeciwbakteryjną wyizolowanych przeciwciał IgY, mierzoną na podstawie ich wpływu na przeżywalność *Campylobacter jejuni*. Wyniki tych badań wykazały, że przeciwciała IgY obniżają przeżywalność *Campylobacter jejuni*, przy czym skuteczność działania różniła się w zależności od metody izolacji, rodzaju zastosowanej frakcji IgY oraz czasu inkubacji, czyli momentu i długości kontaktu przeciwciał z hodowlą bakteryjną.

W trzecim etapie zaprezentowano badania *in vivo*, w których brojlerom podawano szczepionkę zawierającą antygeny CJ5 i CJ6 – w jednej grupie *per os*, a w drugiej zarówno doustnie, jak i domięśniowo. Po immunizacji ptaki zakażono szczepem CJ10. W badaniu oceniono odpowiedź immunologiczną, uwzględniając poziomy IgY w surowicy oraz IgA w treści jelitowej, a także stężenia cytokin IL-1 β , IL-8 i IL-10 w osoczu brojlerów. Choć nie potwierdzono skutecznej kolonizacji przewodu pokarmowego przez *Campylobacter jejuni* po zakażeniu, zaobserwowano różnice w parametrach immunologicznych pomiędzy grupami kontrolnymi a doświadczalnymi, co może sugerować wpływ zastosowanej immunizacji na odpowiedź odpornościową organizmu. W pracy nie przeprowadzono szczegółowej analizy mikrobioty jelitowej, dlatego nie można jednoznacznie ocenić wpływu szczepionki na jej skład ani na ogólną kondycję ptaków.

Interpretacja wyników została przeprowadzona w sposób ostrożny, zgodny z literaturą i bez nadmiernego uogólniania. Doktorantka rzetelnie odnosi się do wcześniejszych badań,

omawiając zarówno potwierdzenia, jak i ewentualne rozbieżności. Wskazuje też potencjalne przyczyny zaobserwowanych efektów, co świadczy o dojrzałości badawczej.

DYSKUSJA I INTERPRETACJA WYNIKÓW

Rozdział dotyczący dyskusji i interpretacji wyników został przygotowany w sposób staranny i merytorycznie poprawny. Doktorantka konsekwentnie odnosi się do uzyskanych danych, interpretując je w świetle literatury przedmiotu i zachowując zgodność z przyjętym planem badawczym. Wnioski formułowane są w oparciu o przedstawione wyniki, bez nadinterpretacji i zbędnego uogólniania, co świadczy o dojrzałości naukowej Autorki.

W pracy konsekwentnie zestawiono wyniki z danymi innych autorów, zarówno krajowych, jak i zagranicznych. Umożliwiło to osadzenie rezultatów badań w szerszym kontekście naukowym i jednocześnie podkreślenie oryginalności zastosowanego podejścia. Autorka wskazuje zarówno na zbieżności z literaturą, jak i na rozbieżności, podejmując próbę ich wyjaśnienia. Świadczy to o samodzielności interpretacyjnej i umiejętności rzeczowej analizy.

Nowość i oryginalność projektu badawczego widoczna jest w połączeniu kilku etapów: od izolacji terenowych szczepów *Campylobacter jejuni*, przez immunizację niosek i pozyskiwanie swoistych przeciwciał IgY, po ocenę aktywności tych przeciwciał *in vitro* oraz zastosowanie szczepionki zawierającej antygeny szczepów terenowych CJ5 i CJ6 *in vivo*. Interesującym aspektem projektu było również uwzględnienie analizy poziomów cytokin i przeciwciał IgY/IgA w surowicy/treści jelit brojlerów po szczepieniu, co pozwala ocenić odpowiedź immunologiczną organizmu na zastosowaną immunoprofilaktykę.

Autorka pracy trafnie identyfikuje potencjalne zastosowania uzyskanych wyników w praktyce, w tym możliwości wdrożenia preparatów IgY jako alternatywy dla antybiotyków w drobiarstwie. Należy jednak zaznaczyć, że analiza zmian w mikrobiocie jelitowej, choć sygnalizowana w pracy, nie została wykonana ze względu na brak jednoznacznego potwierdzenia obecności *Campylobacter jejuni* u brojlerów po zakażeniu eksperymentalnym szczepem CJ10. Ten aspekt stanowi naturalne ograniczenie projektu i mógłby zostać rozważony w przyszłych badaniach z zastosowaniem metod mikrobiologicznych lub molekularnych umożliwiających bezpośrednią detekcję kolonizacji przez określony szczep.

Wnioski końcowe zostały sformułowane w sposób syntetyczny i pozostają zgodne z uzyskanymi wynikami. Stanowią logiczną konsekwencję wyników i są zgodne z celami badawczymi pracy. Świadczą one również o zdolności Doktorantki do krytycznej analizy oraz

syntezy wyników w kontekście sformułowanych założeń badawczych, co potwierdza jej dojrzałość naukową. Należy jednak zaznaczyć, że wnioski sformułowane na podstawie badania *in vivo* wymagają większej precyzji terminologicznej. W przedstawionym w pracy modelu doświadczalnym brojlerom nie podawano bezpośrednio preparatów zawierających przeciwciała IgY, lecz szczepionkę opartą na antygenach CJ5 i CJ6, której celem było wywołanie odpowiedzi immunologicznej i indukcja produkcji endogennych przeciwciał. Tymczasem w jednym z końcowych wniosków (punkt 5) Doktorantka sugeruje, że wyniki wskazują na potencjał „wykorzystania przeciwciał IgY w ograniczaniu kolonizacji jelit”, co może prowadzić do nieporozumienia co do charakteru przeprowadzonych badań. Właściwiej byłoby odnieść ten wniosek do skuteczności zastosowanej immunoprofilaktyki, a nie działania gotowych przeciwciał. Korekta tego sformułowania zwiększyłaby spójność merytoryczną między treścią rozprawy a formułowanymi wnioskami.

OCENA PIŚMIENICTWA

Rozprawa doktorska mgr Pauliny Czoska zawiera rozbudowaną listę źródeł naukowych, które zostały w większości właściwie dobrane i są adekwatne do podejmowanego problemu badawczego. Bibliografia obejmuje zarówno klasyczne, jak i aktualne pozycje literaturowe, w tym publikacje z ostatnich lat dotyczące zastosowania przeciwciał IgY, kamylobakteriozy, immunologii drobiu oraz alternatywnych metod zwalczania patogenów zoonotycznych. W szczególności warto podkreślić obecność wielu publikacji z renomowanych czasopism o zasięgu międzynarodowym, co świadczy o wysokim poziomie orientacji Autorki w literaturze przedmiotu.

Dobór źródeł wskazuje na rzetelne przygotowanie merytoryczne oraz świadomość kontekstu globalnych wyzwań związanych z antybiotykoopornością, bioasekuracją i bezpieczeństwem żywności. Cytowana literatura obejmuje prace zarówno eksperymentalne, jak i przeglądowe, co umożliwia zbudowanie solidnych podstaw teoretycznych dla własnych badań.

Sposób cytowania w tekście oraz układ bibliografii na końcu rozprawy umożliwiają identyfikację źródeł i są zasadniczo spójne, co spełnia podstawowe wymagania edytorskie stawiane pracom doktorskich. Nie stwierdzono istotnych uchybień w zakresie identyfikowalności cytowanych pozycji bibliograficznych. W odniesieniu do niektórych pozycji można byłoby oczekiwać pełniejszego uwzględnienia ich treści w dyskusji, niemniej ogólny poziom wykorzystania piśmiennictwa należy ocenić wysoko.

UWAGI KRYTYCZNE I SŁABSZE STRONY PRACY

Pomimo wysokiego poziomu merytorycznego pracy i dużego zaangażowania Autorki, poniższe uwagi mają na celu wskazanie obszarów wymagających dopracowania lub mogących stanowić podstawę do rozwoju przyszłych badań:

1. Niejasne lub błędnie sformułowane hipotezy badawcze

- chociaż cel pracy zawiera fragment sugerujący hipotezę, nie została ona jasno wyodrębniona ani poprawnie sformułowana,
- pojawiło się niefortunne określenie „swoiste przeciwciała IgY... wchodzą w istotne interakcje z bakteriami i układem odpornościowym” – należy podkreślić, że przeciwciała nie „wchodzą w interakcję z układem odpornościowym”, lecz są efektem jego działania,
- zaleca się wyraźne oddzielenie i doprecyzowanie hipotez badawczych oraz ich logiczne powiązanie z celami i metodologią.

2. Błąd merytoryczny we wnioskach *in vivo*

- Autorka we wnioskach pisze o „ocenie immunogenności preparatu IgY” w badaniach *in vivo*, co jest niezgodne z rzeczywistością. Preparaty IgY nie były podawane zwierzętom, a jedynie oceniane *in vitro*. Badaniu *in vivo* podlegały różne warianty szczepionki zawierające antygeny CJ5 i CJ6,
- jest to istotna nieścisłość interpretacyjna, która powinna zostać skorygowana.

3. Nieporównywalność schematów immunizacji (grupy B i D)

- Autorka porównuje schemat immunizacji doustny i łączony (*per os* + domięśniowy), jednak preparaty zastosowane w drugiej immunizacji różniły się nie tylko drogą podania, ale również użytym adiuwantem (Freunda vs Montanide),
- uniemożliwia to jednoznaczną ocenę wpływu drogi podania na odpowiedź immunologiczną. Dodatkowe grupy badawcze (np. tylko domięśniowa immunizacja tym samym preparatem) byłyby konieczne dla rzetelnej analizy.

4. Brak spójności w informacji o dawce zakażającej bakterii *C. jejuni* w badaniu *in vivo*

- w jednym miejscu Autorka pisze o użyciu dawki CJ10 10^8 CFU/ptaka, w innym – 10^9 CFU,
- brakuje wyjaśnienia tej rozbieżności, co budzi wątpliwości co do jednolitości i wiarygodności zastosowanego protokołu zakażenia.

5. Brak w eksperymencie grupy ptaków z wyłącznym podaniem szczepionki drogą domięśniową

- w badaniu *in vivo* zabrakło grupy, która otrzymałaby szczepionkę wyłącznie drogą iniekcyjną,
- obecność takiej grupy pozwoliłaby jednoznacznie określić, czy obserwowany wzrost poziomów IgY był wynikiem drogi podania (iniekcja) czy efektu skojarzenia metod (*per os* + *i.m.*).

6. Zbyt mała liczebność zwierząt w grupach w trakcie badania *in vivo*

- grupy po 10–15 ptaków są niewystarczające dla analiz statystycznych w tego typu doświadczeniach, szczególnie biorąc pod uwagę naturalną zmienność osobniczą piskląt,
- w przyszłości zaleca się większe próby i podanie informacji o mocy statystycznej analiz.

7. Niewłaściwe przedstawienie obecności adiuwantów w szczepionkach stosowanych w badaniu *in vivo*

- Autorka we wnioskach z badań *in vivo* (część: „odpowiedź immunologiczna i ograniczenia modelu”) sugeruje, że jedynie preparat podany domięśniowo był szczepionką zawierającą adiuwant, co jest niezgodne z protokołem eksperymentalnym,
- w rzeczywistości wszystkie szczepionki zastosowane w badaniu, zarówno te podane doustnie (*per os*), jak i domięśniowo, zawierały adiuwanty:
 - preparaty podawane doustnie (zarówno w grupie B, jak i D) zawierały adiuwant Freunda – kompletny siódmego dnia oraz niekompletny czternastego dnia,
 - preparat podany domięśniowo (grupa D, czternastego dnia) zawierał adiuwant Montanide ISA 71 VG.
- tym samym sformułowanie sugerujące, że tylko preparat iniekcyjny zawierał adiuwant, jest nieprawdziwe i może wprowadzać w błąd, fałszując interpretację porównania schematów podania,
- zaleca się korektę tego zapisu oraz dokładne rozróżnienie nie tylko dróg podania, ale również rodzaju zastosowanych adiuwantów, ponieważ wpływają one istotnie na odpowiedź immunologiczną i skuteczność immunizacji.

8. Niezalecane nazewnictwo: „rzęski” zamiast „wici”

- w opisie morfologii *Campylobacter jejuni* (ryc. 1) użyto terminu „rzęski”, podczas gdy w odniesieniu do struktur ruchowych bakterii zaleca się stosowanie terminu „wici”,
- w polskim piśmiennictwie naukowym (mikrobiologicznym), bardziej zalecanym i precyzyjnym terminem w kontekście bakterii (zwłaszcza *Campylobacter jejuni*) jest

„wici”, a nie „rzęski”, mimo że strukturalnie są one nazywane flagellami (ang. flagella), co czasem tłumaczy się jako rzęski,

- „bakterie urzędzone” – to tylko zwrot potoczny lub historyczny.

9. Nieprecyzyjne opisanie czynników wirulencji *Campylobacter jejuni*

- w pracy inwazję potraktowano jako osobny czynnik wirulencji, obok ruchliwości, adhezji i toksyczności, co prowadzi do uproszczenia i pewnej niekonsekwencji merytorycznej,
- inwazyjność (zdolność do wnikania i rozprzestrzeniania się bakterii w tkankach gospodarza) nie jest odrębnym czynnikiem, lecz kompleksowym mechanizmem chorobotwórczym, który obejmuje takie cechy jak ruchliwość, chemotaksja oraz adhezja,
- ruchliwość i adhezja są zatem elementami składowymi inwazyjności, a nie odrębnymi, niezależnymi od niej czynnikami zjadliwości,
- zaleca się uporządkowanie terminologii oraz jednoznaczne rozróżnienie pomiędzy pojedynczymi czynnikami wirulencji (np. obecność toksyn, rzęsek, białek adhezyjnych) a szerszymi mechanizmami patogenezy, jak inwazyjność czy toksyczność. Takie rozróżnienie ma istotne znaczenie w kontekście mikrobiologii i patofizjologii zakażeń.

10. Niejednolite jednostki opisu w ocenie ruchliwości szczepów

- w jednym miejscu podano ocenę ruchliwości jako „powierzchnię płytki”, a w innym jako „średnicę płytki” – to nie są tożsame miary,
- zaleca się ujednolicenie metody opisu wyników.

11. Zbyt ogólne podsumowanie praktycznych implikacji wyników

- Autorka wspomina o potencjale wykorzystania IgY w drobiarstwie, jednak brakuje głębszej analizy dotyczącej kosztów produkcji, stabilności preparatów czy realnej możliwości ich zastosowania w skali przemysłowej.

12. Brak informacji o kontroli jakości i zmienności preparatów IgY

- chociaż przeprowadzono testy jałowości szczepionek, nie odniesiono się do zmienności między seriami preparatów IgY ani sposobów ich standaryzacji, co może mieć istotne znaczenie dla ich zastosowania praktycznego.

Wszystkie powyższe punkty mają charakter konstruktywny i nie podważają ogólnej wartości naukowej rozprawy. Stanowią natomiast cenne wskazówki umożliwiające dalsze doskonalenie warsztatu badawczego Autorki, zarówno w zakresie projektowania eksperymentów, jak i interpretacji oraz prezentacji danych.

WNIOSEK KOŃCOWY

Rozprawa doktorska mgr Pauliny Czoska stanowi kompletną i interdyscyplinarną pracę naukową, odpowiadającą aktualnym wyzwaniom w obszarze zdrowia publicznego, produkcji zwierzęcej oraz mikrobiologii weterynaryjnej. Przedstawiony projekt badawczy dotyczył opracowania strategii immunoprofilaktyki przeciwko *Campylobacter jejuni* u drobiu, opartej na zastosowaniu szczepionek przygotowanych z terenowych izolatów bakteryjnych oraz analizie uzyskanych przeciwciał IgY. Warto podkreślić, że aktywność IgY oceniano wyłącznie *in vitro*, natomiast badania *in vivo* dotyczyły skuteczności immunizacji szczepionkami antygenowymi, a nie bezpośredniego podania przeciwciał.

Oryginalność podejścia oraz spójność między celami badawczymi, metodologią i wynikami świadczą o wysokim stopniu weryfikowalności oraz praktycznym potencjale uzyskanych danych. Autorka wykazała się rozległą wiedzą teoretyczną z zakresu immunologii, mikrobiologii i biotechnologii, co znajduje odzwierciedlenie w przemyślanej konstrukcji rozprawy, poprawnej analizie literatury oraz rzeczowej interpretacji wyników z odniesieniem do ich ograniczeń.

Opracowanie potwierdza umiejętność samodzielnego prowadzenia badań naukowych, od etapu planowania doświadczeń, przez dobór odpowiednich metod, po analizę i interpretację danych. Praca spełnia wymagania stawiane rozprawie doktorskiej zarówno pod względem merytorycznym, jak i formalnym. Oceniając całość, należy podkreślić, że praca spełnia kryteria rozprawy doktorskiej w dyscyplinie biotechnologia i stanowi wartościowy wkład w rozwój badań nad alternatywnymi metodami profilaktyki zakażeń bakteryjnych u drobiu.

Biorąc pod uwagę nowatorski charakter zrealizowanych badań oraz wyjątkowo skrupulatną analizę wyników badań, a także interesujące rezultaty, stawiam wniosek o wyróżnienie pracy stosowną nagrodą.

Na podstawie dokonanej analizy, przedstawionej do oceny pracy doktorskiej mgr Pauliny Czoska, stwierdzam, że praca spełnia warunki określone w art. 187 ust. 1–4 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. tj. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tj. Dz.U. z 2024, poz. 1571 z późn. zm.) i przedstawiam Wysokiej Radzie Dyscypliny Naukowej Biotechnologia Uniwersytetu Gdańskiego wniosek o dopuszczenie Pani mgr Pauliny Czoska do publicznej obrony recenzowanej rozprawy doktorskiej.



dr hab. Roman Wójcik, prof. UWM