



Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu  
ul. Wojska Polskiego 48  
60-627 Poznań  
tel. +48 61 846 6024  
e-mail: marcin.schmidt@up.poznan.pl



**WYDZIAŁ NAUK O  
ŻYWNOŚCI I ŻYWIENIU**

Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności

Poznań, 20 grudnia 2023 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej pana mgr. inż. Michała Jakuba Wójcickiego  
pt. Wykorzystanie potencjału bakteriofagów w biokontroli wybranych bakterii z rzędu  
*Enterobacteriales* występujących w łańcuchu żywnościowym

Opracowanie niniejszej recenzji zostało wykonane zgodnie z uchwałą Rady Naukowej Instytutu Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. Profesora Wacława Dąbrowskiego – Państwowego Instytutu Badawczego w Warszawie z dnia 24.10.2023 r. o powołaniu mnie na recenzenta rozprawy doktorskiej pana mgr inż. Michała Jakuba Wójcickiego, ubiegającego się o stopień naukowy doktora w dziedzinie nauk rolniczych, w dyscyplinie technologia żywności i żywienia. Przedstawiona do recenzji dysertacja doktorska została napisana pod kierunkiem pani dr hab. Edyty Juszcak-Kubiak, prof. IBPRS-PIB i pani dr hab. inż. Barbary Sokołowskiej, prof. IBPRS-PIB w Zakładzie Mikrobiologii IBPRS-PIB w Warszawie.

W ostatnim okresie odnotowuje się wzrost zapotrzebowania na żywność o minimalnym stopniu przetworzenia. W chwili obecnej konsumenci poszukują produktów o niskim stopniu przetworzenia, cechujących się wysoką wartością odżywczą, korzystnym wpływem na zdrowie oraz utrzymaniem walorów organoleptycznych. Produkcja bezpiecznej żywności o minimalnym stopniu przetworzenia, charakteryzującej się pożądaną jakością i przydatnością do spożycia, wymaga opracowania lub doskonalenia innowacyjnych, niekonwencjonalnych metod przetwarzania przez sektor spożywczy. Obserwuje się obecnie tendencję do ograniczania stosowania technik fizycznych i chemicznych w procesach konserwacji żywności na rzecz metod biologicznych. Wśród obiecujących środków biokontroli, mających na celu poprawę trwałości świeżych owoców i warzyw, znajdują się bakterie kwasu mlekowego. W szczególności wykazujące zdolność do produkcji bakteriocyn, substancji o strukturze białkowej, posiadającej działanie bakteriobójcze lub bakteriostatyczne. Inną metodą biologiczną konserwacji żywności jest wykorzystanie specyficznych, ściśle litycznych bakteriofagów.

Obecnie problem wielolekooporności bakteryjnej stanowi istotne globalne wyzwanie i jedno z priorytetowych zagadnień w dziedzinie ochrony zdrowia ludzkiego. Terapia fagowa, czyli wykorzystanie fagów i/lub ich enzymów do zwalczania infekcji bakteryjnych, prezentuje istotne przewagi nad antybiotykoterapią. Podobnie, bakteriofagi stanowią mogący czynnik stosowany do biokontroli zakażeń bakteryjnych w łańcuchu spożywczym. Pomimo licznych korzyści związanych z zastosowaniem fagów, istnieją również pewne zagrożenia, które należy uwzględnić podczas typowania fagów w procesie opracowywania biopreparatów, mających na celu skuteczną biokontrolę.

W opracowywaniu preparatów fagowych do zastosowań medycznych lub biokontroli bakterii w produktach spożywczych i obszarach produkcyjnych, stosuje się starannie wyselekcjonowane, ściśle lityczne bakteriofagi. Dlatego też należy uznać wybór tej tematyki przez doktoranta jako wysoce uzasadniony. W mojej ocenie, przedstawione w dysertacji wyniki badań wnoszą istotny wkład do rozwoju technologii żywności i żywienia, a w szczególności bezpieczeństwa mikrobiologicznego żywności. Dodatkowo, przyczynia się do poszerzenia bazy wiedzy w obszarze omawianej dyscypliny poprzez dostarczenie nowych informacji związanych z przedmiotem badań. Jednocześnie proponuje praktyczne rozwiązania aplikacyjne, które mogą być wykorzystane przez przedsiębiorców działających w sektorze spożywczym.

Rozprawa doktorska pana mgr inż. Michała Jakuba Wójcickiego, która stanowi podstawę do ubiegania się o stopień naukowy doktora w dyscyplinie technologia żywności i żywienia, ma charakter zbioru opublikowanych i powiązanych tematycznie pięciu artykułów naukowych stanowiących osiągnięcie naukowe. W przedstawionej do recenzji pracy pisemnej został on opatrzony monotematycznym komentarzem przygotowanym w języku polskim. Zawiera on wstęp z uzasadnieniem połączenia wskazanych publikacji w jeden cykl, określenie hipotez i celu pracy, skrócony opis materiałów i metod, omówienie głównych osiągnięć, wnioski oraz bibliografię. Ponadto rozprawa zawiera kopie publikacji przedkładanych do oceny i oświadczenia o wkładzie poszczególnych autorów w ich powstanie. Przedłożony do oceny zbiór pięciu oryginalnych artykułów naukowych, to prace opublikowane w latach 2021-2023 w indeksowanych czasopismach naukowych ujętych w liście JCR i wykazie Ministra Edukacji i Nauki. We wszystkich pracach doktorant jest pierwszym autorem i w większości korespondencyjnym. Udział własny w opracowaniu przedstawionych do oceny artykułów naukowych, zgodnie z załączonymi oświadczeniami, nie budzi wątpliwości co do kluczowej roli doktoranta. Publikacja przeglądowa (Pathogens. 2021;10(7):801) dotycząca transkrypcyjnej regulacji oporności *Salmonella* na antybiotyki w moim uznaniu niepotrzebnie została włączona do dzieła. Jest ona tematycznie najslabiej związana z jego głównym zagadnieniem, a wyłączenie jej z cyklu stanowiącego podstawę o ubieganie się o nadanie stopnia doktora nie spowodowałoby obniżenia jakości prezentowanych badań. Stwierdzam, że przedłożona do recenzji praca spełnia wymagania formalne dotyczące osiągnięcia w przewodzie doktorskim.

Część eksperymentalna pracy jest poprzedzona rozdziałem 'Przegląd piśmiennictwa'. Stanowi on zwięzły i obrazowy opis wszystkich istotnych aspektów poruszanych w pracy doktorskiej. Dzięki czemu czytelnik jest wprowadzony w aktualny stan wiedzy odnośnie przeprowadzonych badań.

Głównym celem badań opisanych w ramach niniejszej pracy doktorskiej była ocena możliwości wykorzystania bakteriofagów litycznych w kontekście biokontroli żywności minimalnie przetworzonej pochodzenia roślinnego. Doktorant zdefiniował zakres problemu związanego z obecnością szczepów antybiotykoopornych w łańcuchu żywnościowym. Następnie, dokonał izolacji litycznych bakteriofagów, ocenił efektywność ich działania w kontekście eliminacji (zahamowania/ograniczenia wzrostu i rozwoju) zarówno szczepów saprofitycznych, jak i patogennych, obecnych w wybranych minimalnie przetworzonych produktach roślinnych dostępnych na rynku spożywczym. Badania obejmowały



molekularną (genetyczną i proteomiczną) identyfikację wybranych szczepów bakterii z rzędu *Enterobacterales*, wyizolowanych głównie z łańcucha żywnościowego. Dodatkowo, przeprowadził określenie profili oporności na wybrane antybiotyki oraz analizę mechanizmów antybiotykooporności pałeczek z rzędu *Enterobacterales*. Następnie, określił aktywność wyizolowanych bakteriofagów i zbadał zakres ich bakteryjnych gospodarzy. Przeprowadził również w ramach opisanych badań analizę morfologiczną oraz charakterystykę genomyczną wytypowanych bakteriofagów. Ostatecznie, dokonał oceny skuteczności pojedynczych fagów i mieszaniny w poprawie jakości mikrobiologicznej wybranych minimalnie przetworzonych matryc żywnościowych.

W odniesieniu do polskojęzycznego opracowania do cyklu artykułów naukowych chciałbym wskazać jako niewłaściwe zastosowanie określenia 'namnażanie' względem wirusów. Wirusy, nie będąc organizmami żywymi, a jedynie kompleksami nukleo-proteinowymi, replikują/powielają się. Podobnie określenie 'cykl infekcyjny' proponowałbym zamienić na 'cykl replikacyjny'. Infekcja jest początkowym etapem cyklu replikacyjnego – rozpoznaniem komórki gospodarza i wprowadzeniem do jej wnętrza kwasu nukleinowego. Zbyt skrótowe, a przez to niepoprawne są określenia „oporność na uszkodzenia makrofagów”, „oporność na zabijanie dopełniacza” oraz „inwazji bakterii na komórki ssaków” (s. 53).

Celem badań opisanych w pierwszym artykule naukowym z cyklu (Int J Mol Sci. 2021; 22(22):12460), była izolacja i kompleksowa charakterystyka nowych bakteriofagów o aktywności litycznej wobec bakteryjnej mikroflory saprofitycznej minimalnie przetworzonych produktów roślinnych, takich jak mieszane sałaty liściaste. Spośród 43 bakteriofagów wyizolowanych z miejskich ścieków, cztery z nich (fag *Enterobacter* KKP 3263, fag *Citrobacter* KKP 3664, fag *Enterobacter* KKP 3262 i fag *Serratia* KKP 3264) wykazały aktywność lityczną wobec wybranych szczepów bakterii. Badania metodą mikroskopii transmisyjnej i sekwencjonowania genomu wykazały, że są one członkami rodzin *Autographiviridae* (KKP 3263) i *Myoviridae* (KKP 3664, KKP 3262, KKP 3264). Genom tych bakteriofagów zlokalizowany był na liniowych dwuniciowych cząsteczkach DNA o różnych wielkościach. Nie wykazano w ich obrębie obecności genów oporności na antybiotyki, czynników wirulencji, integrazy, rekombinazy ani represorów, charakterystycznych dla wirusów lizogennych. Fag *Serratia* KKP 3264 wykazał największe hamowanie wzrostu bakterii *Serratia fonticola* KKP 3084. Bakteriofagi utrzymały swoją aktywność lityczną w szerokim zakresie temperatur (od -20°C do 50°C) i zakresach odczynu (pH od 4 do 11). Wyniki wskazują, że bakteriofagi te mogą stanowić potencjalne narzędzie biologicznej kontroli wobec bakteryjnej mikroflory saprofitycznej w minimalnie przetworzonych produktach roślinnych. Praca ta poza walorami naukowymi posiada wartość dodaną jaką jest charakterystyka wyizolowanych bakteriofagów pod kątem ich potencjalnych zastosowań aplikacyjnych. Aczkolwiek, lektura tego artykułu nasunęła mi kilka wątpliwości i pytań.

W artykule tym znajduje się stwierdzenie: 'Spośród testowanych fagów, łysinki faga *Enterobacter* KKP 3263 przeciwko *Enterobacter ludwigii* KKP 3083 miały największą średnicę. Jest to związane z rozmiarem faga...' i '...Fagi *Enterobacter* KKP 3263 miały najmniejszy rozmiar (103,9 nm); dlatego też najłatwiej dyfundowały w miękkim agarze i skuteczniej infekowały sąsiednie bakterie'. Przy czym niewiele mniejszą średnicę mają łysinki przedstawione na tym samym rysunku pochodzące z infekcji fagiem *Enterobacter*



KKP 3262 o dwukrotnie większym rozmiarze. Natomiast najmniejsze łyśinki generowały fagi *Citrobacter* KKP3664 (o pośredniej wielkości). Fagi KKP 3263 generują o wiele większej średnicy strefę 'halo', która pozbawiona jest cząstek fagowych lub infekcji fagowych, a jest wynikiem aktywności fagowych endolizyn i holin. O czym doktorant wspomina także we wspomnianej publikacji. Czy mierzona była średnica łyśinek? Czy wykonane zostały testy potwierdzające obecność fagów w obrębie strefy 'halo' aby uzasadnić takie stwierdzenie? Jakie inne czynniki (np. metodyczne) wpływają na średnicę łyśinki fagowej w tego typu analizach?

Nazwa kolekcyjna faga zawarta w bazie GenBank pod synganturą OK210077 (*Serratia* phage KKP\_3263), do której odnosi się szczep faga w artykule naukowym różni się ostatnią cyfrą od wskazanej w tekście publikacji (*Serratia* phage KKP\_3264). Czy jest to ten sam szczep faga?

Analiza bioinformatyczna sekwencji pełnych genomów wyizolowanych bakteriofagów *Enterobacter* KKP 3263, *Citrobacter* KKP 3664, *Enterobacter* KKP 3262 i *Serratia* KKP 3264 wykazała, że nie zawierają one sekwencji genów kodujących integrazy, rekombinazy, represory lub białek warunkujących ekskluzję, które są głównymi markerami wirusów lizogennych. Co wskazuje, że fagi te powinny być uważane za fagi ściśle lityczne (zjadliwe). W genomach tych fagów nie odnotowano także żadnych genów związanych z antybiotykoopornością czy z czynnikami wirulencji. Z jaką pewnością można wysnuć takie oświadczenie przy braku identyfikacji, odpowiednio (Tabela S1): 30, 40, 110 (lub 129 wg tekstu artykułu) i 229 ORF, zaklasyfikowanych jako 'hypotetical proteins'?

Wyniki badań opisanych w pierwszym artykule z cyklu zostały dodatkowo uzupełnione o niepublikowane wyniki w polskojęzycznym komentarzu do cyklu, wzbogacające w istotnym zakresie wiedzę na temat aktywności i właściwości opisywanych fagów, a ich klasyfikacja odniesiona do najnowszej taksonomii.

Drugi artykuł naukowy z cyklu (Viruses 2023; 15(1):172) opisuje ocenę jakości mikrobiologicznej minimalnie przetworzonych roślinnych produktów spożywczych i ich zmienności podczas przechowywania w warunkach chłodniczych, w ramach której wyizolowano i poddano identyfikacji 43 szczepy z rzędu *Enterobacterales*. Następnie przetestowano je pod kątem wrażliwości na dwadzieścia osiem antybiotyków należących do ośmiu różnych klas, po czym użyto do wyszukiwania specyficznych bakteriofagów ze ścieków komunalnych. Pozyskane 43 szczepy bakteriofagów scharakteryzowano odnośnie ich aktywności litycznej względem ich pierwotnych gospodarzy. Spośród nich, jak domniemywam, wywodzą się scharakteryzowane w pierwszym artykule naukowym z cyklu (Int J Mol Sci. 2021; 22(22):12460) fagi *Enterobacter* KKP 3263, *Citrobacter* KKP 3664, *Enterobacter* KKP 3262 i *Serratia* KKP 3264, oraz trzy kolejne scharakteryzowane w innym artykule (Shymialevich i wsp., 2023) współautorstwa doktoranta. Ostatecznie dokonano oceny skuteczności koktajlu bakteriofagowego (mieszanki wszystkich 43 szczepów fagów) w poprawie jakości mikrobiologicznej pięciu różnych sałat liściastych: rukoli, mieszanej sałaty liściastej z marchewką, mieszanej sałaty liściastej z burakiem, szpinaku mytego i niemytego, przechowywanych w warunkach chłodniczych, stosując aplikację poprzez bezpośredni oprysk lub nasączone wkłady. Maksymalny poziom redukcji po 48 godzinach inkubacji wyniósł 99,9% w porównaniu do próbki kontrolnej. W przypadku szpinaku mytego i niemytego próby redukcji liczby mikroorganizmów nie przyniosły pożądanego efektu. Zmniejszenie liczby bakterii w mieszankach sałat zależało od składu



autochtonicznych gatunków bakterii saprofitycznych. Oba sposoby aplikacji koktajlu bakteriofagowego skutecznie poprawiły jakość mikrobiologiczną minimalnie przetworzonych produktów. Zastosowanie koktajlu bakteriofagowego o pełnym spektrum może stanowić alternatywną metodę poprawy jakości mikrobiologicznej żywności bez wpływu na jej właściwości.

Uważam, że wskazane byłoby nadanie wszystkim 43 izolatom bakteriofagowym jednoznacznych sygnatur dla zachowania ciągłości przekazu naukowego w potencjalnych kolejnych artykułach naukowych i jako opisu na cele kolekcji kultur.

W artykule tym znajduje się stwierdzenie, że 'analiza MALDI-TOF MS w przypadku kilku szczepów zaklasyfikowała je do poziomu rodzaju, co mogło mieć związek z technologią przetwarzania żywności (np. podczas obróbki produktów spożywczych komórki bakteryjne mogą zostać uszkodzone, co wpływa na wynik identyfikacji na podstawie profili białkowych)'. W pracy nie została zawarta dokładna procedura pobrania i przygotowania próbek na oznaczenie proteomiczne. Jakkolwiek, uważam że, w momencie wzrostu na podłożu laboratoryjnym uszkodzone komórki bakteryjne mają szansę regeneracji a namnożone w kolonii odtworzyć prawidłowy proteom.

Kolejna publikacja z cyklu (Pathogens 2021; 10(7):801) stanowi artykuł przeglądowy podsumowujący aktualną wiedzę na temat patogenezę i molekularnych mechanizmów kontrolujących ekspresję genów związanych z opornością na antybiotyki u przedstawicieli *Salmonella*. Scharakteryzowano regulatory pełniące rolę aktywatorów i represorów transkrypcji, a także układy dwuskładnikowe sygnalizacji komórkowej. Omówiono również tło molekularne mechanizmów oporności na metale, regulacji wielolekooporności na antybiotyki, globalnych regulatorów rodziny LysR, a także regulatorów białek podobnych do histonów. Jakkolwiek artykuł ten jest wartościowy, na co niewątpliwie wskazuje liczba cytowań (15; wg WoS, z dnia 19.12.2023). Jak już napisałem wcześniej w mojej ocenie stanowi niepotrzebny dodatek w przedstawionym do oceny cyklu.

Czwartym artykułem naukowym (Pathogens 2022; 11(11):132) z cyklu jest opis badań dotyczących bakterii z rodzaju *Salmonella*, ważnego patogenu przenoszonego przez żywność. Badacze zidentyfikowali 53 szczepy *Salmonella* przy użyciu analiz genetycznych i proteomicznych. Przeprowadzono także analizę podobieństwa genomycznego badanych szczepów za pomocą metody PFGE. Zidentyfikowano główne geny wirulencji, przeanalizowano fenotypowe profile wrażliwości na antybiotyki oraz występowanie genów oporności. Następnie określono występowanie głównych mechanizmów oporności na  $\beta$ -laktamy. Sekwencje genów wirulencji *invA*, *fimA* i *stn* zidentyfikowano we wszystkich badanych szczepach. Testy fenotypowe obejmujące 28 antybiotyków wykazały, że 50,9% szczepów było wielolekoopornych. Najczęściej identyfikowanymi genami związanymi z opornością na tetracykliny były geny *tet*. Odnośnie obecności genów związanych z syntezą  $\beta$ -laktamaz o rozszerzonym spektrum substratowym, nie stwierdzono oporności typu TEM i CTX-M, a tylko genomy dwu szczepów kodowały oporność typu SHV. Żaden szczep nie wykazywał oporności typu AmpC, ale u sześciu szczepów występowała oporność związana z pompami efuzyjnymi PSE-1. Wyniki tych badań wskazują na konieczność stałego monitorowania profili oporności na antybiotyki we wszystkich ogniwach łańcucha żywnościowego oraz wprowadzenie odpowiedniej polityki stosowania antybiotyków w celu powstrzymania lub znacznego ograniczenia dalszego rozprzestrzeniania oporności na



antybiotyki wśród szczepów *Salmonella*. Artykuł ten stanowi charakterystykę genotypową i fenotypową szczepów *Salmonella* zastosowanych do badań opisanych w ostatnim artykule z cyklu.

Zarówno w *Viruses* (2023; 15(1):172) jak i *Pathogens* (2022; 11(11):132) przeprowadzona została izolacja i identyfikacja szczepów bakterii dwoma metodami: proteomiczną (MALDI-TOF MS) i genetyczną (sekwencjonowania 16S rDNA). Metoda proteomiczna należy do szybkich metod, aczkolwiek trafność wyniku jest zależna od wielu czynników metodycznych. Jakkolwiek analiza sekwencji kodującej 16S rRNA uznawana jest za złoty standard - generuje wyniki pewne jedynie na poziomie rodzaju. Nawet dla analizy pełnej długości sekwencji 16S rDNA. Jedynie w niektórych przypadkach może wskazać najbardziej prawdopodobny gatunek. Przy zastosowaniu tego typu oznaczeń w badaniach naukowych wskazane jest zamieszczenie oznaczeń parametrycznych pozwalających na ocenę pewności wskazania. W tym przypadku wskaźnika 'score' dla wyniku MALDI-TOF MS i parametrów wynikowych przyrównania sekwencji do wybranego najlepszego wskazania (score, odsetek identyczności i pokrycia). W obu typach oznaczeń należałoby także wspomnieć rodzaj i wersję zastosowanych baz danych. Szczególnie *Enterobacteriaceae* reprezentują zróżnicowaną i medycznie ważną rodzinę bakterii, które są trudne do zidentyfikowania do poziomu gatunku przy użyciu standardowej metody molekularnej sekwencjonowania genu 16S rRNA. Dlatego też zastosowanie dodatkowej metody (np. MLST) było bardzo dobrym posunięciem. Niezależnie od tych wątpliwości, zdeponowanie uzyskanych sekwencji w bazie danych, jak to zostało uczynione, pozwala na ponowną weryfikację tych oznaczeń.


Ostatni artykuł naukowy z cyklu (*Int J Mol Sci.* 2023; 24(12):10134) opisuje genomową i funkcjonalną charakterystykę dwóch nowo wyizolowanych bakteriofagów ukierunkowanych na szczepy wielolekooporne *Salmonella enterica* oraz ich skuteczność w biokontroli zakażeń tymi bakteriami minimalnie przetworzonej żywności pochodzenia roślinnego. Bakteriofagi *Salmonella* KKP 3829 i *Salmonella* KKP 3830 zostały wyizolowane z użyciem, odpowiednio, *Salmonella enterica* KKP 1762 i KKP 3080. Analizy z zastosowaniem mikroskopii transmisyjnej oraz sekwencjonowania całych genomów pozwoliły zakwalifikować wirusy te jako bakteriofagi z klasy *Caudoviricetes*. Analiza ich genomów wykazała, że oba bakteriofagi nie kodują genów wirulencji ani toksyn i mogą być sklasyfikowane jako wirulentne bakteriofagi. Oczyszczone fagi zachowywały swoją aktywność w szerokim zakresie temperatur (od -20 °C do 60 °C) oraz wartościach odczynu (pH od 3 do 11). Ekspozycja bakteriofagów na promieniowanie UV istotnie zmniejszała ich aktywność proporcjonalnie do czasu ekspozycji. Zastosowanie bakteriofagów do macierzy żywnościowej istotnie zmniejszyło poziom zanieczyszczenia *Salmonella* w porównaniu z kontrolą. Cechy biologiczne i brak potencjalnych czynników patogennych sprawiają, że badane bakteriofagi są potencjalnymi kandydatami do zastosowania w biokontroli jakości mikrobiologicznej żywności.

Analiza kinetyki wzrostu bakterii-gospodarzy po infekcji fagowej (2.5) pozwala na wyciągnięcie bardzo ograniczonych wniosków do bardzo specyficznych układów pomiędzy pojedynczym szczepem faga i pojedynczym szczepem gospodarza. Uważam, że o wiele ciekawsze byłoby zbadanie kinetyki wzrostu permissywnego szczepu względem obu szczepów faga. Dałoby to możliwość porównania efektywności faga względem różnych szczepów, albo dwu permissywnych szczepów względem obu szczepów fagów co

rozszerzyłyby możliwość interpretacji także względem wrażliwości gospodarza. Szczep fagowy *Salmonella* KKP 3829 wykazywał szeroki zakres szczepów permisywnych. Zainfekował 92,6% (50/54) szczepów *Salmonella*. Ponadto wykazywał aktywność przeciwko trzem szczepom bakterii z gatunku *Enterobacter cloacae* i trzem z gatunku *Escherichia coli*. Aktywność fagów względem przedstawicieli innego rodzaju bakterii jest rzadka, ale występuje (np. T3, T4, phiR1-37, Ea35-70). Jest postrzegana jako korzystna pod względem ich potencjalnych zastosowań, takich jak terapia fagowa lub biokontrola populacji bakterii w różnych środowiskach. Dlatego też, bakteriofag ten cechuje bardzo duży potencjał praktyczny. W publikacji zostały szczegółowo scharakteryzowane dwa szczepy fagów, natomiast w teście ochrony gotowych do spożycia produktów spożywczych użyto czterech. Dwa kolejne szczepy salmofagów KKP3822 i KKP3831 wykazywały aktywność względem obu szczepów *Salmonella enterica* subsp. *enterica* KKP1762 i KKP3080. Czy zostały one wyizolowane na tych szczepach jako pierwotnych gospodarzach? Tej minimalnej informacji brakuje w tekście publikacji, jak i nie znalazłem jej w polskojęzycznym opracowaniu dołączonym do cyklu.

Przedłożoną do recenzji rozprawę doktorską pana mgr. inż. Michała Jakuba Wójcickiego przeczytałem z dużym zainteresowaniem. Jest ona opracowaniem oryginalnym i przedstawia wyniki dokumentujące pełną realizację założonych celów, a postawione hipotezy badawcze zostały zweryfikowane. Na szczególną uwagę zasługuje bardzo rozbudowany warsztat doktoranta. Posiada on szerokie umiejętności w zakresie mikrobiologii klasycznej jak i molekularnej, oraz analiz genetycznych i genomicznych. Dodatkowo należy zwrócić uwagę na jego umiejętność analizy i interpretacji wyników oraz ich dyskusji w odniesieniu do danych literaturowych. Poza istotną wartością naukową praca ta posiada duże walory aplikacyjne mogące mieć zastosowanie w postaci biokontroli jakości mikrobiologicznej żywności. Pomimo moich pytań i uwag uważam pracę za wyróżniającą się.

Stwierdzam, że cyklu artykułów naukowych opatrzonych wspólnym tytułem „Wykorzystanie potencjału bakteriofagów w biokontroli wybranych bakterii z rzędu Enterobacteriales występujących w łańcuchu żywnościowym” przedstawiony przez pana mgr. inż. Michała Jakuba Wójcickiego stanowi nowość i znaczący wkład w dyscyplinę nauk o żywności i żywieniu. Uważam, że spełnia ona wymagania formalne stawiane rozprawom dysercacyjnym na stopień doktora określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce (Dz. U. 2018, poz. 1668). W związku z tym wnoszę do Rady Naukowej Instytutu Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. Profesora Wacława Dąbrowskiego – Państwowego Instytutu Badawczego w Warszawie o przyjęcie rozprawy doktorskiej i dopuszczenie pana mgr. inż. Michała Jakuba Wójcickiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie wnoszę do Wysokiej Rady o wyróżnienie niniejszej pracy.

prof. UPP dr hab. Marcin Schmidt  
  
profesor Uczelni





Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu  
ul. Wojska Polskiego 48  
60-627 Poznań  
tel. +48 61 846 6024  
e-mail: marcin.schmidt@up.poznan.pl



**WYDZIAŁ NAUK O  
ŻYWNOŚCI I ŻYWIENIU**

Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności

Poznań, 20 grudnia 2023 r.

Uzasadnienie wniosku o wyróżnienie rozprawy doktorskiej  
mgr. inż. Michała Jakuba Wójcickiego

Praca doktorska stanowi zespół szerokich i kompleksowych badań dotyczących problemu antybiotykoodporności bakterii z rzędu *Enterobacterales* i potencjału zastosowania bakteriofagów w jego kontroli. Analizy zostały przeprowadzone na bakteriach izolowanych głównie z łańcucha żywnościowego: saprofitycznych (jako potencjalnego rezerwuaru) i patogennych dla człowieka. Obejmują one charakterystykę zasobów genetycznych i fenotypu antybiotykoodporności, zdolności kodującej czynniki wirulencji, a w niektórych przypadkach nawet potencjał mobilizacji do horyzontalnego transferu genów (sekwencjonowanie genomowe - określenie obecności ruchomych elementów genetycznych). Izolację szczepów fagowych aktywnych względem przedstawicieli tej grupy bakterii, oraz pełną charakterystykę ich genomu, struktury, biologii a nawet wrażliwości na warunki technologiczne i cechy produktów spożywczych. Badania naukowe zostały zwieńczone testami funkcjonalnymi zdolności uzyskanych szczepów fagowych w kontroli jakości mikrobiologicznej produktów spożywczych.

Szeroki zakres i szczegółowość przeprowadzonych analiz wskazują na wysokie kwalifikacje i bardzo rozległy warsztat badawczy pana mgr. inż. Michała Jakuba Wójcickiego. W mojej ocenie przedstawiona do recenzji praca doktorska wyróżnia się na tle innych dysertacji. Jednocześnie Doktorant posiada znaczny, dodatkowy dorobek publikacyjny, także w temacie zbliżonym do realizowanego w projekcie doktorskim.

W związku z powyższym wnoszę do Wysokiej Rady Naukowej Instytutu Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. Profesora Wacława Dąbrowskiego – Państwowego Instytutu Badawczego w Warszawie o wyróżnienie rozprawy doktorskiej pana mgr. inż. Michała Jakuba Wójcickiego pt.: „Wykorzystanie potencjału bakteriofagów w biokontroli wybranych bakterii z rzędu *Enterobacterales* występujących w łańcuchu żywnościowym”.

prof. UPP dr hab. Marcin Schmidt

  
profesor Uczelni