



Prof. dr hab. inż. Jolanta Łukasiewicz

Wrocław, 25 marca 2024 r.

Zakład Immunochemii

Laboratorium Immunochemii Drobnoustrojów i Szczepionek

## RECENZJA

Rozprawy doktorskiej Pani mgr Marii Kurzylewskiej-Kubaczyńskiej pt. „*Badania immunochemiczne antygeny O-swoistego oraz analiza regionu OGC warunkującego jego syntezę u szczepów *Aeromonas sp. patogennych dla ryb hodowlanych**” wykonanej pod kierunkiem dr hab. Anny Turskiej-Szewczuk, prof. UMCS, w Instytucie Nauk Biologicznych UMCS w Lublinie.

Przedłożona do oceny praca miała na celu ustalenie struktur chemicznych polisacharydów O-swoistych (OPS, antygenów O) lipopolisacharydów (LPS) determinujących serotypy O trzech szczepów *Aeromonas* gatunków *A. popoffii* (szczep A4, wcześniej *A. encheleia*), *A. sobria* (szczep K928) i *A. hydrophila* (szczep Pt679) pochodzących z kolekcji Zakładu Chorób Ryb z Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach (PIWet-PIB). Ponadto analizy strukturalne uzupełniono badaniami serologicznymi we współpracy z dr hab. Dominiką Drzewiecką z Katedry Biologii Bakterii Uniwersytetu w Łodzi i dr hab. Agnieszką Pękałą-Safińską z Wydziału Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu oraz identyfikacją organizacji regionów kodujących biosyntezę ww. antygenów O (regionów OGC) w genomach badanych szczepów we współpracy z PIWet-PIB.

Wyżej wymienione szczepy wybrano nieprzypadkowo. Samo źródło pozyskania szczepów w ramach współpracy naukowej z PIWet-PIB sugeruje, że badano szczepy patogenne dla ryb. Wybrano grupę reprezentującą jeden z 6 serotypów O dominujących wśród czynników zakaźnych wywołujących masowe zakażenia oraz śnięcia zarówno karpia, jak i pstrągów w polskich gospodarstwach rybackich - serotyp oznaczony jako tymczasowa grupa serologiczna PGO1. Przyczyną takich masowych zakażeń są wywoływane przez bakterie *Aeromonas sp.* posocznica krwotoczna (MAS) i zakażenia MAI. Zgodnie z szeroko zakrojonymi badaniami epidemiologicznymi prowadzonymi w PIWet-PIB w latach 2009-2010 (Kozinska A. , Pekala A. Bulletin of the Veterinary Institute in Puławy 2010, 54: 3), w grupie 558 testowanych izolatów różnych gatunków *Aeromonas* będących powodem zakażeń u karpia i pstrągów z polskich hodowli dominowały w tamtym okresie serotypy O11, O16, O18, O33, PGO2 i właśnie PGO1, będący przedmiotem przedłożonej do oceny pracy doktorskiej. Pani mgr Maria Kurzylewska-



Kubaczyńska skupiła się w swojej pracy na serotypie tymczasowym PGO1, którego symbol sugeruje brak informacji o strukturze chemicznej regionu OPS.

O ile tylko z pozoru problem został ujęty lokalnie (w skali kraju), należy zaznaczyć, że zakażenia bakteriami rodzaju *Aeromonas* są problemem globalnym i przyczyniają się do dużych strat ekonomicznych w gospodarstwach rybackich na całym świecie. Co więcej bakterie gatunków, takich jak *A. caviae*, *A. dhakensis*, *A. veronii*, czy *A. hydrophila* bytują także w środowisku naturalnym i przenikają do wód zasilających uprawy rolne zagrażając także zdrowiu i życiu ludzi powodując zakażenia pokarmowe, infekcje skóry, tkanki łącznej (w tym nekrozy), zakażenia układu moczowo-płciowego, po zakażenia uogólnione włącznie. W tym ujęciu tematu, cele pracy wydają się w pełni uzasadnione i podyktowane przesłankami aplikacyjnymi, w szczególności w ujęciu krajowym mającym na celu (i) charakterystykę strukturalną jednego z dominujących w Polsce tymczasowych serotypów PGO1 szczepów *Aeromonas* sp. wywołujących zakażenia w hodowlach krajowych i (ii) wytypowanie konserwatywnych i dominujących antygenów do szczepionek. Uzyskane oryginalne wyniki uzupełnione o wnioski na rzecz poszerzenia wiedzy z zakresu identyfikacji molekularnej antygenów O opartej na analizie bioinformatycznej regionów genów OGC warunkujących biosyntezę OPS oraz o wnioski z zakresu identyfikacji determinanty antygenowej polisacharydów PGO1 wpisują się w nurt poszukiwania nowych rozwiązań dla szczepionek zapobiegających zakażeniom ryb hodowlanych.

Przedłożona do oceny praca doktorska stanowi cykl 5 publikacji, w tym trzech publikacji oryginalnych (Publikacja 1, 2, 3). Dwie pozostałe publikacje stanowią uproszczoną formę prac przeglądowych w postaci rozdziałów w monografiach poświęconych cyklicznej konferencji naukowej organizowanej corocznie przez UMCS.

Integralną część pracy doktorskiej stanowi cykl trzech oryginalnych publikacji opublikowanych w specjalistycznym i prestiżowym w obszarze analizy węglowodanów czasopiśmie *Carbohydrate Research* (100 pkt. MNiSW, kwartył Q2), w których Pani mgr Maria Kurzylewska-Kubaczyńska pełni rolę pierwszego autora:

**Publiacja 1: Kurzylewska M**, Dworaczek K, Turska-Szewczuk A. Structure of the lipopolysaccharide O-antigen of *Aeromonas encheleia* strain A4 representing the new PGO1 serogroup of aeromonads prevailing in Polish aquaculture. *Carbohydr Res.* 2022, 519: 108602, doi: 10.1016/j.carres.2022.108602.

**Publikacja 2: Kurzylewska M**, Bomba A, Dworaczek K, Pękala-Safińska A, Turska-Szewczuk A. Structure and gene cluster annotation of the O-antigen of *Aeromonas sobria* strain K928 isolated from



common carp and classified into the new *Aeromonas* PGO1 serogroup. Carbohydr Res. 2023, 528: 108809, doi: 10.1016/j.carres.2023.108809.

**Publikacja 3: Kurzylewska M**, Turska-Szewczuk A, Dworaczek K, Bomba A, Drzewiecka D, Pękala-Safińska A. Immunochemical studies and gene cluster relationships of closely related O-antigens of *Aeromonas hydrophila* Pt679, *Aeromonas popoffii* A4, and *Aeromonas sobria* K928 strains classified into the PGO1 serogroup dominant in Polish aquaculture of carp and rainbow trout. Carbohydr Res. 2023, 531: 108896; doi: 10.1016/j.carres.2023.108896.

Jak wspomniano wcześniej, cykl dopełniają 2 prace przeglądowe (rozdziały) w formie bardzo krótkich, pozbawionych schematów i rycin, 4-stronicowych rozdziałów w monografii Wydawnictwa UMCS wydawanej co roku w związku z organizacją przez uczelnię Ogólnopolskiego Sympozjum „Nauka i przemysł – lubelskie spotkania studenckie” (20 pkt. MNiSW):

**Publikacja 4 (rozdział w monografii): M. Kurzylewska**, M. Laban, K. Dworaczek, A. Turska-Szewczuk. Serotypowanie molekularne jako potencjalne narzędzie w typowaniu bakterii z rodzaju *Aeromonas*. Nauka i przemysł – lubelskie spotkania studenckie. 2021. Wydawnictwo UMCS, Lublin. ISBN 978-3-642-72002-4.

**Publikacja 5 (rozdział w monografii): M. Kurzylewska**, K. Dworaczek, A. Turska-Szewczuk. Badania immunochemiczne lipopolisacharydów i antygenów-O bakterii z rodzaju *Aeromonas* patogennych dla ryb w celu określenia składnika dla immunoprofilaktyki zakażeń pałeczkami w hodowlach ryb. Nauka i przemysł – lubelskie spotkania studenckie. 2022. Wydawnictwo UMCS, Lublin. ISBN 978-3-642-72002-4.

Oświadczenia współautorów wszystkich publikacji i rozdziałów wyraźnie wskazują na dominującą rolę Doktorantki w realizacji celów objętych projektem doktorskim, choć w opinii Recenzenta wśród oświadczeń powinno się znaleźć również oświadczenie samej Doktorantki.

Cykl publikacji i rozdziałów w monografii opatrzony jest sporządzonym w formie monografii opisem obejmującym streszczenia w j. polskim i angielskim, spis treści, spis skrótów, wstęp, opis hipotezy badawczej i cele pracy doktorskiej, materiały i metody, wyniki, podsumowanie i wnioski oraz spis literatury. Opis ten z oczywistych powodów (doktorat w formie cyklu prac) ma charakter zwięzły i w wystarczającym dla zrozumienia podjętego tematu stopniu powtarza założenia, wyniki i wnioski zawarte w pracach oryginalnych, dobrze wprowadzając czytelnika w zakres przeprowadzonych prac badawczych. Elementy opisu pokrywają się częściowo w zakresie merytorycznym z tematyką dwóch wspomnianych rozdziałów monografii „Nauka i przemysł – lubelskie spotkania studenckie” z 2021 i



2022 r., których celem było omówienie genotypowania jako narzędzia do identyfikacji serotypów *O Aeromonas* sp. (2021 r.) oraz metodologii immunochemicznych badań LPS (2022 r.). Przy czym forma tych dwóch rozdziałów jest bardzo lakoniczna i w zasadzie wnosi niewielki wkład do całości osiągnięć, które są bardzo dobrze zdefiniowane przez prace oryginalne. Co więcej, pozbawiona rycin jest mało przystępna nawet dla mniej zaawansowanych czytelników o wykształceniu mikrobiologicznym. Zakładam jednak, że celem tych dwóch pozycji było zwięzłe przybliżenie realizowanej tematyki badawczej społeczności studentów, pracowników naukowych i innych uczestników zainteresowanych ww. konferencją.

W przypadku *Streszczenia* mniej przygotowanemu merytorycznie czytelnikowi czytanie ułatwiłoby rozwijanie skrótów także w tekście (przykłady na str. 7: MAI, MAS, GPC). Uwaga ta jest o tyle istotna, że streszczenia prac doktorskich publikowane są przez różne bazy danych, w tym Biuletyn Informacji Publicznej i powinny być zrozumiałe bez posiłkowania się spisem skrótów w pracy doktorskiej. Ponieważ jednym z kluczowych osiągnięć pracy doktorskiej są struktury powtarzających się podjednostek 3 polisacharydów O-swoistych, zamiast opisowej formy tych struktur dominującej w *Streszczeniu* bardziej przejrzyste byłoby zastosowanie formy liniowej, jak np. w abstrakcie Publikacji 1 i w przygotowanej przeze mnie recenzji (Patrz str. 6 recenzji). W rozdziale 1.2 *Wstępu* przydałaby się rycina zawierająca schemat LPS oraz przykładowa struktura lipidu A i rdzenia wybranego i opublikowanego gatunku i szczepu *Aeromonas*. We opisie zabrakło wyjaśnienia odnośnie zmiany nazwy gatunku szczepu A4 z *A. encheleia* (Publikacja 1) na *A. popoffii* A4 (opis do cyklu prac i Publikacja 3). To byłby ważny aspekt opisu, biorąc pod uwagę różnorodność rodzaju *Aeromonas* i powszechnie znane trudności towarzyszące różnicowaniu szczepów *Aeromonas* do gatunków. Proszę Doktorantkę o poruszenie tej kwestii podczas obrony, w tym podstaw merytorycznych dla zmiany gatunku. Nasuwa się tutaj również pytanie, czy metoda MALDI-TOF Biotyper jest wystarczająca dla identyfikacji gatunku w tym rodzaju?

Obecność w opisie rozdziału *Materiały i Metody* jest w pełni uzasadniona, gdyż zawiera nieobecne w publikacjach oryginalnych szczegółowe wyjaśnienia dotyczące stosowanych technik, reakcji chemicznych i ich produktów oraz podstaw teoretycznych i wskazówek praktycznych dla prowadzonych analiz. Część *Wynikowa* dopełnia całości omówienia procesu analityczno-interpretacyjnego wyników przygotowując czytelnika do zapoznania się z pracami oryginalnymi.

Opis towarzyszący cyklowi prac mimo iż jest bardzo dobrze opracowany, nie jest wolny od drobnych błędów edytorskich i językowych, np.: wskazanie konfiguracji „manno” dla Kdo powinno być



napisane kursywą (str. 5), drobne błędy w rozwinięciu skrótu OMP (str. 6), powtórzony skrót PGO (str. 6), brak w skrótach TGO (str. 13), pozostawienie wyrażenia „firma/kraj” bez uzupełnienia informacji dla używanych enzymów (str. 18), brak rozwinięcia skrótu Hb/RHb w spisie skrótów (str. 23), litery N i O powinny być napisane pochyloną czcionką w wyrażeniach typu *N*-acetylowy / *N*-acylowa (str. 26). W kilku miejscach użyto angielskich słów „antigen” (dot. OGC, str. 6) i „core” (str. 11).

Całość opracowania, poza przedrukami publikacji, zamyka bogate w osiągnięcia CV naukowe Kandydatki oraz oświadczenia współautorów, wśród których jak wspomniałam wcześniej brakuje oświadczenia Pani mgr Marii Kurzylewskiej-Kubaczyńskiej. W związku z powyższym proszę o odniesienie się do tej kwestii podczas obrony rozprawy doktorskiej, tym bardziej, że żadna z publikacji 1-3 nie zawiera informacji o indywidualnym wkładzie współautorów, w tym Doktorantki, w powstanie publikacji. W tym kontekście ciekawa będzie również ocena w jakim zakresie Doktorantka uczestniczyła w analizach bioinformatycznych. Pragnę zaznaczyć, że powyższy zarzut nie wpływa jednak na przekonanie Recenzenta o wiodącym udziale Doktorantki w badaniach, co można pośrednio wyczytać z oświadczeń współautorów i który dotyczył w głównej mierze przeprowadzenia hodowli bakterii, preparacji, oczyszczania, degradacji i frakcjonowania frakcji LPS oraz analiz chemicznych metodami GC-MS, spektroskopii NMR i spektrometrii mas oraz ścisłej współpracy z ośrodkami naukowymi spoza UMCS.

Kluczowe dla kryterium warunkującego przyznanie stopnia doktora, tj. warunku rozwiązania oryginalnego problemu badawczego, są publikacje oryginalne 1, 2 i 3 opublikowane w *Carbohydrate Research*. Publikacje te zawierają kompletny zestaw wyników opisujący struktury chemiczne powtarzających się podjednostek OPS, a realizacja opisanych w nich badań przyczyniła się do osiągnięcia wszystkich założonych celów pracy doktorskiej.

**Opisano 3 unikatowe pięciocukrowe podjednostki cukrowe OPS lipopolisacharydów wybranych do badań strukturalnych reprezentujące ustalony metodami serologicznymi tymczasowy serotyp PGO1 i posiadające wspólne elementy strukturalne.** Należy zaznaczyć, że serotyp PGO1 zidentyfikowano w przedłożonym do oceny cyklu prac u 3 różnych gatunków rodzaju *Aeromonas*.

W PUBLIKACJI 1 opisano strukturę chemiczną OPS *A. encheleia* A4, w skład której wchodzi rozgałęziona podjednostka oligocukrowa:

$\rightarrow 2)[\alpha\text{-D-Fucp}3\text{NX}\text{-}(1\rightarrow 3)]\text{-}\alpha\text{-L-Rhap}\text{-}(1\rightarrow 3)\text{-}\beta\text{-L-Rhap}\text{-}(1\rightarrow 4)\text{-}\alpha\text{-L-Rhap}\text{-}(1\rightarrow 3)\text{-}\beta\text{-D-QuipNAc}\text{-}(1\rightarrow$ , gdzie X oznacza grupę *R*-3-hydroksymasłową (RHb), a szkielet cukrowy zbudowany jest trzech reszt L-Rha i D-



QuipNAc. W toku dalszych badań opisanych w PUBLIKACJI 3 szczep ten wyodrębniony jest ostatecznie jako *A. popoffii* A4, przy czym nie omówiono w tej publikacji ani w opisie do cyklu prac powodów zmiany przypisanego gatunku. Proszę o odniesienie się do tej kwestii podczas obrony.

W PUBLIKACJI 2 opisano strukturę chemiczną OPS *A. sobria* K928, w skład której również wchodzi rozgałęziona unikatowa podjednostka oligocukrowa:

$\rightarrow 2)[\alpha\text{-D-Fucp}3\text{NX}\text{-(1}\rightarrow 3)]\text{-}\alpha\text{-L-Rhap}\text{-(1}\rightarrow 3)\text{-}\beta\text{-L-Rhap}\text{-(1}\rightarrow 4)\text{-}\alpha\text{-L-Rhap}\text{-(1}\rightarrow 3)\text{-}\beta\text{-D-FucpNAc}\text{-(1}\rightarrow$ , gdzie X oznacza grupę R-3-hydroksymasłową (RHb), a szkielet cukrowy zbudowany jest trzech reszt L-Rha i D-FucpNAc, w odróżnieniu od szczepu A4 (gdzie składnikiem RU jest QuipNAc). Dodatkowo opisano klaster genów odpowiedzialnych za syntezę OPS zawierający poza genami charakterystycznymi dla regionu OGC także geny odpowiedzialne za biosyntezę antygeny kapsularnego.

W PUBLIKACJI 3 opisano strukturę chemiczną OPS *A. hydrophila* Pt679, w skład której również wchodzi rozgałęziona podjednostka oligocukrowa:  $\rightarrow 3)[\alpha\text{-D-Fucp}3\text{NAc}\text{-(1}\rightarrow 2)]\text{-}\alpha\text{-L-Rhap}\text{-(1}\rightarrow 3)\text{-}\beta\text{-L-Rhap}\text{-(1}\rightarrow 4)\text{-}\alpha\text{-L-Rhap}\text{-(1}\rightarrow 3)\text{-}\beta\text{-D-QuipNAc}\text{-(1}\rightarrow$ , gdzie cukrem stanowiącym rozgałęzienie jest FucpNAc i w której nie zidentyfikowano podstawnika RHb charakterystycznego dla szczepów A4 i K928, a szkielet cukrowy zbudowany jest trzech reszt L-Rhap i D-QuipNAc. Dodatkowo miejsce rozgałęzienia, w odróżnieniu od szczepów A4 i K928 stanowi pozycja 2, a nie 3 L-Rhap. **W publikacji tej, poza określeniem kolejnej unikatowej struktury, zidentyfikowano regiony OGC dla szczepów A4 i Pt679, wykazując istotne podobieństwa i różnice warunkujące odmienność opisanych struktur polisacharydów O-swoistych. Praca ta zawiera również bogaty zestaw badań serologicznych, na podstawie których rozróżniono podgrupy serologiczne PGO1a i PGO1b, co stanowi kolejne ważne osiągnięcie naukowe.** Jedyna różnica między OPS A4 i K928 (składnik D-QuipNAc vs D-FucpNAc) nie stanowiła przeszkody dla obserwowanej krzyżowej reaktywności surowic opornościowych w układach heterologicznych, warunkowanych przede wszystkim obecnością podstawnika RHb.

W przypadku identyfikacji genów regionów OGC funkcje genów przewidziano w oparciu o podobieństwo ich sekwencji nukleotydowych i kodowanych przez nie sekwencji aminokwasowych z ich potencjalnymi odpowiednikami obecnymi w dostępnych bazach danych, bazując na informacjach dotychczas zgromadzonych dla struktur OPS i genów OGC nie tylko *Aeromonas* sp., ale też innych rodzajów bakterii. Analizy te są wnikliwie opisane w publikacjach 2 oraz 3 i niewątpliwie PUBLIKACJA 3 różnicująca ten dominujący patogenny dla ryb tymczasowy serotyp na 2 odrębne glikoformy PGO1a (szczep A4 i K928) i PGO1b (Pt679), pozwoliła poprawnie przewidzieć funkcje



INSTYTUT IMMUNOLOGII I TERAPII DOŚWIADCZALNEJ  
IM. LUDWIKA HIRSZFELDA  
POLSKIEJ AKADEMII NAUK

Centrum Doskonałości : IMMUNE

Rudolfa Weigla 12, 53-114 Wrocław, POLSKA

Telefon: (+48-71) 337 11 72, (+48-71) 370 99 30 Fax: (+48-71) 337 21 71

www.hirszfeld.pl

poszczególnych genów – przykładem są tu rozważania nad regionem genów *fdtC(phaB)fdtB*. To powszechne w literaturze podejście do interpretacji funkcji genów. Tak rozwiązany problem adnotacji genów OGC i kodowanych przez nie sekwencji aminokwasowych nasuwa pytanie o koncepcję badań, które bezsprzecznie udowodniłyby funkcję genów o niższym poziomie podobieństwa w składzie aminokwasowym (<60%) do analogów wskazanych enzymów w bazach danych. Patrząc na opublikowane schematy, nasuwa się pytanie jaki był powód niezidentyfikowania regionów flankujących OGC w przypadku szczepu A4 i częściowo szczepu Pt679? Istotnym osiągnięciem PUBLIKACJI 3 jest również wskazanie genów *wzz*, *wzx*, *wzy* jako markerów genetycznych serotypu PGO1 oraz dodatkowych kilku genów umożliwiających rozróżnienie podgrup PGO1a i PGO1b. Opisanym badaniom towarzyszy przeprowadzona w PUBLIKACJI 3 analiza serologiczna badanych LPS z wykorzystaniem swoistych surowic, w tym surowic adsorbowanych w układach homo- i heterologicznych. **Niewątpliwym osiągnięciem tej części cyklu jest wskazanie determinanty antygenowej -  $\alpha$ -D-Fucp3NRHb zawierającej grupę 3-hydroksymalową, która w opinii Doktorantki jest również obecna w referencyjnym szczepie będącym źródłem surowicy wykorzystywanej do oznaczania tymczasowego serotypu PGO1.** Tutaj nasuwa się pytanie o sam szczep referencyjny, który posłużył w PIWet-PIB do uzyskania surowic referencyjnych dla serotypu PGO1. Recenzent nie doszukał się w *Opisie, Materiałach i Metodach* oraz w PUBLIKACJI 3 żadnej informacji na ten temat. Proszę o odniesienie się do tej kwestii podczas obrony. Inny ważny do poruszenia aspekt, to oznaczenie nowo poznanych wariantów PGO1; Czy Doktorantka nie uważa, że zasadnym byłoby nadanie strukturom PGO1a i PGO1b konkretnych numerów serotypów O? Ponadto, co można powiedzieć o biologicznych powtarzających się podjednostkach OPS dla badanych szczepów? Czy mając dostęp do szczepu referencyjnego (współpraca naukowa), nie byłoby zasadnym uzupełnić w przyszłości badania o strukturę jego OPS? Jakie metody analityczne, poza serologicznymi, mogłyby przyspieszyć szersze opisanie krajowych izolatów PGO1, w celu potwierdzenia wniosków zaobserwowanych dla wąskiej grupy ich przedstawicieli?

Ponieważ jednym ze zrealizowanych celów cząstkowych było zaproponowanie szczepów o serotypie PGO1a jako składnika kompozycji antygenów szczepionkowych, recenzent prosi o odniesienie się podczas obrony do możliwych i praktycznych formułacji i sposobów podania takiej szczepionki zapobiegającej masowym zakażeniom ryb w świetle dostępnego stanu techniki.

Wszystkie wyżej opisane badania obejmowały hodowle bakteryjne, preparacje i degradacje LPS, w tym frakcjonowanie poli- i oligosacharydów metodą chromatografii żelowej oraz wykonanie kompletu



analiz klasycznymi metodami, takimi jak analiza cukrowa, metylacyjna, analiza absolutnej konfiguracji cukrowych i niecukrowych składników oraz interpretacje widm NMR. Dodatkowo w ramach przytoczonych wcześniej współprac naukowych wykonano analizy serologiczne wybranej grupy LPS metodami Western Blotting i ELISA oraz analizy bioinformatyczne genomów i sekwencji aminokwasowych w zakresie identyfikacji 3 nowych regionów OGC.

W podsumowaniu, wysoko oceniam jakość i oryginalność uzyskanych wyników. Potwierdzam, że cele pracy doktorskiej zostały osiągnięte, a formuła pracy złożona z cyklu publikacji i opisu w bardzo dobry sposób zaprezentowała podjętą tematykę badawczą na tle aktualnej wiedzy o strukturach antygenów O *Aeromonas* sp., ich determinantach antygenowych i regionach kodujących biosyntezę. Na wyróżnienie zasługuje także interdyscyplinarny charakter podjętych badań, co pozwoliło na podsumowanie przez Doktorantkę promowanego podejścia do badań epidemiologicznych nacelowanych na izolaty *Aeromonas* sp. Praca wpisuje się w światowy nurt badań w tym obszarze. Pragnę podkreślić, że rozdziały w monografiach stanowią oczywisty element dodatkowy cyklu i postrzegane są przez Recenzenta jako forma promocji ekspertyzy Pani mgr. Marii Kurzylewskiej-Kubaczyńskiej na forum uczelni. Już sam zestaw 3 publikacji oryginalnych z opisanymi w nich osiągnięciami w zupełności wypełnia kryteria stawiane pracom doktorskim.

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska odpowiada ustawowo określonym warunkom określonym dla stopni naukowych. Wnoszę o przyjęcie ocenianej rozprawy doktorskiej i dopuszczenie mgr Marii Kurzylewskiej-Kubaczyńskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie mając na uwadze interdyscyplinarny charakter badań, jakość wykonanych eksperymentów, kompleksowość analiz, osiągnięcie założonych celów i upowszechnienie uzyskanych wyników w postaci 3 publikacji oryginalnych z pierwszym autorstwem Doktorantki, stawiam również wniosek o wyróżnienie przedłożonej mi do oceny rozprawy doktorskiej.

Prof. dr inż. hab. Jolanta Łukasiewicz