



UNIwersytet
Warszawski

Wydział Biologii
Zakład Mikrobiologii i Biotechnologii Środowiskowej, Instytutu Mikrobiologii
PROF. DR HAB. ŁUKASZ DZIEWIT



Warszawa, 06.11.2023

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr MAŁGORZATY CZATZKOWSKIEJ pt. „Wpływ antybiotyków na proces fermentacji metanowej osadów ściekowych, bioróżnorodność mikroorganizmów i zjawisko antybiotykooporności (The influence of antimicrobials on the anaerobic digestion of sewage sludge, microbial biodiversity, and the spread of antibiotic resistance)”

Rozprawa doktorska mgr Małgorzaty Czatzkowskiej wykonana pod kierunkiem prof. dr hab. inż. Moniki Harnisz i dr Pauliny Rusanowskiej (jako promotorki pomocniczej) w Katedrze Inżynierii Ochrony Wód i Mikrobiologii Środowiskowej Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie została przygotowana zgodnie z wymogami odpowiedniej ustawy. Zostały więc spełnione wymagania formalne.

Rozprawa doktorska mgr Czatzkowskiej składa się ze: (i) streszczenia w j. polskim; (ii) streszczenia w j. angielskim, (iii) spisu literatury (18 pozycji); (iv) informacji na temat źródeł finansowania badań; (v) czterech oryginalnych publikacji naukowych oraz (vi) oświadczeń współautorów publikacji. Publikacje naukowe wchodzące w skład rozprawy doktorskiej zostały opublikowane w pismach: (i) Energy Science & Engineering (4 autorów), (ii) Journal of Hazardous Materials (9 autorów); (iii) Energies (8 autorów) oraz (iv) Applied Sciences (4 autorów). Mgr Czatzkowska jest pierwszą autorką we wszystkich pracach, co potwierdza jej wiodący udział w prowadzonych badaniach. Podstawę rozprawy doktorskiej stanowi więc wyodrębniona część prac zbiorowych. Mgr Czatzkowska dokładnie określiła swój wkład w powstanie powyższych prac, co znajduje potwierdzenie w oświadczeniach innych autorów. Mgr Czatzkowska wykonywała następujące czynności związane z opracowaniem manuskryptów stanowiących podstawę niniejszej rozprawy doktorskiej: (i) opracowanie koncepcji badań i planowanie eksperymentów, (ii) wykonanie kluczowych eksperymentów, (iii) interpretacja uzyskanych wyników, (iv) przegląd literatury naukowej, (v) przygotowanie pierwszej wersji manuskryptu, (vi) przygotowanie rycin i tabel oraz (vii) ostateczna korekta pracy.

OCENA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Celem rozprawy doktorskiej mgr Czatzkowskiej była zbadanie wpływu obecności antybiotyków w osadzie ściekowym na wydajność produkcji metanu. Cele szczegółowe pracy to: (i) analiza rozpowszechnienia zjawiska antybiotykooporności na różnych etapach szeroko rozumianej fermentacji metanowej; oraz (ii) zbadanie zmian jakościowych i ilościowych w składzie zespołów mikroorganizmów odpowiadających za właściwy przebieg procesu w sytuacji obciążenia osadów ściekowych antybiotykami.

Rozprawa doktorska mgr Czatzkowskiej została przygotowana w bardzo profesjonalny sposób. Wstęp bardzo dobrze wprowadza w tematykę badań, przy czym należy zauważyć, że praca przeglądowa opublikowana w Energy Science & Engineering jest w zasadzie rozwinięciem wstępu. Taka konstrukcja i włączenie publikacji przeglądowej do rozprawy doktorskiej bardzo mi się podoba i ją doceniam. Publikacje składające się na rozprawę doktorską stanowią spójną całość. Tematyka badawcza przedstawiona w publikacjach jest aktualna i interesująca. Doktorantka wykorzystuje głównie warsztat badawczy z zakresu mikrobiologii środowiskowej i ekologii molekularnej. Eksperymenty są zaplanowane i wykonane w sposób właściwy i wskazują na bardzo dojrzały i zaawansowany warsztat badawczy Doktorantki. Przeprowadzone eksperymenty wymagały dużego nakładu sił i czasu, co zdecydowanie należy docenić!

ul. Ilji Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa
tel.: 22 55 41 403
e-mail: l.dziewit@uw.edu.pl
<http://im.biol.uw.edu.pl/>

Według mnie najważniejsze osiągnięcia naukowe zaprezentowane w publikacjach wskazanych przez Doktorantkę to:

(i) w pracy Czatzkowska i wsp. 2019 (Energy Science & Engineering) – wykonanie ogromnego przeglądu literatury (168 artykułów) i zebranie informacji na temat wpływu różnych czynników na fermentację metanową. Po przeczytaniu tej publikacji narzuca się jedno stwierdzenie, fermentacja metanowa jest procesem niezwykle wrażliwym na zmiany środowiska i szereg substancji działa tu jako inhibitory – co jest jak najbardziej prawdą i rzeczywiście śmiem zakładać, że przekonał się o tym każdy, kto pracował z bioreaktorami do produkcji biogazu/metanu.

(ii) w pracy Czatzkowska i wsp. 2021 (Journal of Hazardous Materials) – wykazanie zróżnicowanego wpływu różnych antybiotyków na skuteczność fermentacji metanowej osadów ściekowych oraz zmiany struktury zespołu mikroorganizmów odpowiedzialnych za proces fermentacji. Wykazanie, że metronidazol, amoksycylina i cyprofloksacyna najsilniej wpływają na fermentację metanową, zmniejszając jej wydajność, przy czym metronidazol, amoksycylina, cefuroksym i sulfametoksazol ulegają całkowitemu rozkładowi w procesie fermentacji, natomiast w najmniejszym stopniu degradują cyprofloksacyna i kwas nalidyksowy.

(iii) w pracy Czatzkowska i wsp. 2022 (Energies) – wykazanie, że długotrwała suplementacja osadów ściekowych kombinacją metronidazolu, amoksycyliny i cyprofloksacyny we wzrastających stężeniach nie wywołały znaczących zmian w stężeniach lotnych kwasów tłuszczowych oraz w liczności genów oporności na antybiotyki, przy jednoczesnym zmniejszeniu produkcji metanu i modyfikacji struktury zespołu mikroorganizmów.

(iv) w pracy Czatzkowska i wsp. 2022 (Applied Sciences) – wykazanie, że stopień, w jakim długotrwała ekspozycja na antybiotyki wpływa na fermentację metanową jest zależny od rodzaju przetwarzanego substratu.

PODSUMOWANIE:

1) ocena wraz z uzasadnieniem, czy rozprawa doktorska prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora w określonej dyscyplinie albo dyscyplinach

Mgr Czatzkowska zaprezentowała bardzo dobre przygotowanie merytoryczne. Wydaje się, że temat rzeczywiście ją interesuje i chce go zgłębiać. Podstawy teoretyczne Doktorantki są solidne i ma ona moim zdaniem wszelkie predyspozycje by stać się ekspertką w zakresie szeroko rozumianej eko-epidemiologii i mikrobiologii środowiskowej.

2) ocena wraz z uzasadnieniem, czy rozprawa doktorska wykazuje umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej lub artystycznej przez osobę ubiegającą się o nadanie stopnia doktora;

Doktorantka była współautorką koncepcji badań, brała udział w planowaniu eksperymentów a przede wszystkim w ich wykonywaniu (w tym optymalizacji metod). Uważam, że jest przygotowana do dalszego samodzielnego prowadzenia prac naukowych. Tę umiejętność zaprezentowała już na etapie wykonywania pracy doktorskiej.

3) ocena wraz z uzasadnieniem, czy rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, oryginalne rozwiązanie w zakresie zastosowania wyników własnych badań naukowych w sferze gospodarczej lub społecznej albo oryginalne dokonanie artystyczne.

Wyniki uzyskane przez Doktorantkę są nowatorskie i zdecydowanie stanowią oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. Myślę, że wpisują się one w ogólnoswiatowy trend zaostrenia monitoringu antybiotykoodporności w środowisku i mogą stanowić punkt wyjścia dla dalszych badań.

KOMENTARZE, PYTANIA I ZAGADNIENIA DO DYSKUSJI:

1. W publikacji w Energy Science & Engineering, Autorka używa sformułowania (str. 1881) „acetogenic and methanogenic bacteria”. Dlaczego bakterie a nie archeony metanogenne?
2. W publikacji w Energy Science & Engineering, Doktorantka wspomniała że gen *mcrA* jest lepszym markerem molekularnym dla metanogenów niż 16S rDNA (str. 1883). Dlaczego? Proszę o szersze wytłumaczenie tego stwierdzenia.
3. W publikacji w Energy Science & Engineering, Autorka napisała: „Archaea are characterized by a considerable natural resistance to antibiotics (...)” – czy tu chodzi o oporność czy raczej niewrażliwość? Czy znane są specyficzne mechanizmy oporności archoenów na antybiotyki? Proszę o wyjaśnienie.
4. W publikacji w Energy Science & Engineering, Autorka przedstawia co zaobserwowano w momencie pojawienia się inhibitora. Niewiele jest natomiast opisu mechanizmu leżącego u podstaw inhibicji. Jak się Doktorantce wydaje jakie mechanizmy można by zaproponować dla antybiotyków – czy to jest oddziaływanie bezpośrednie na metanogeny, czy raczej zakłócenie działania całego ekosystemu?
5. W publikacji w Journal of Hazardous Materials, Autorka wspomina, że zmiany ilościowe markera molekularnego *mcrA* nie odzwierciedlały rzeczywistej efektywności fermentacji metanowej. Jest to zrozumiałe, gdyż DNA może utrzymywać się długo po rozpadzie komórki. Jak się wydaje Doktorantce, jakie analizy molekularne dawałyby tu wynik bardziej odzwierciedlający stan rzeczywisty?
6. Skąd tak wysokie stężenia antybiotyków w publikacji w Journal of Hazardous Materials? Jakie to ma odniesienie do tzw. stężeń środowiskowych?
7. Czy Doktorantka uważa, że geny *int11* i *int12* to dobre markery molekularne antybiotykooporności? Jakie ograniczenia ich zastosowania Doktorantka identyfikuje?
8. W publikacjach Doktorantka błędnie używa sformułowania izolacja genomowego DNA – jest to metagenomowy DNA (sekcje Methods).
9. W publikacji w Applied Sciences, Doktorantka wykazała, że ekspozycja na antybiotyki zmniejsza produkcję metanu jedynie w eksperymencie z osadami ściekowymi i że jest to spadek relatywnie niewielki (5-8%). Czy można więc uznać na podstawie tej i pozostałych publikacji, że fermentacja metanowa jest procesem na który antybiotyki mają ograniczony wpływ?

WNIOSKI KOŃCOWE

Przedstawiona mi do oceny praca spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim zgodnie z obowiązującą podstawą prawną. Wnoszę więc do Rady Naukowej Dyscypliny inżynieria środowiska, górnictwo i energetyka Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie o dopuszczenie mgr MAŁGORZATY CZATZKOWSKIEJ do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk inżynierijno-technicznych w dyscyplinie inżynieria środowiska, górnictwo i energetyka. Mając na uwadze wysoką wartość naukową uzyskanych wyników wnoszę o wyróżnienie recenzowanej rozprawy mgr MAŁGORZATY CZATZKOWSKIEJ stosowną nagrodą.

Prof. dr hab. Łukasz Dziewit



ul. Ilji Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa
tel.: 22 55 41 403
e-mail: l.dziewit@uw.edu.pl
<http://im.biol.uw.edu.pl/>