

Warszawa, 05.09.2026 r.

Dr hab. Monika Łukasiewicz Mierzejewska, prof. uczelni

Instytut Nauk o Zwierzętach

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr. inż. Radosława Smagiela

pt.

„Wpływ wczesnej antybiotykoterapii i stosowania kokcydiostatyków na rozwój układu immunologicznego i antyoksydacyjnego u młodych indyków”

Rozprawa doktorska mgr. inż. Radosława Smagiela została wykonana w Katedrze Biochemii i Toksykologii Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie pod kierunkiem prof. dr hab. Katarzyny Ognik. Badania realizowano w ramach projektu badawczego Narodowego Centrum Nauki nr 2020/39/B/NZ9/00765, poświęconego ocenie odpowiedzi immunologicznej i oksydoredukcyjnej indyków w warunkach wczesnego stosowania antybiotyków oraz żywienia dietami zawierającymi kokcydiostatyki.

Rozprawa została przygotowana w formie spójnego tematycznie cyklu pięciu prac naukowych opublikowanych w latach 2022–2026 w czasopismach *Poultry Science*, *Animal* oraz *Annals of Animal Science*. Trzy spośród prac wskazują Doktoranta jako pierwszego autora. Łączna deklarowana punktacja publikacji wynosi 760 punktów MNiSW, natomiast suma wartości współczynnika wpływu IF – 16,8.

Ocena problematyki badawczej

Podjęta w rozprawie problematyka jest aktualna i posiada zarówno istotne znaczenie poznawcze, jak i wyraźny wymiar aplikacyjny. Intensyfikacja produkcji drobiarskiej, przy jednoczesnej presji na ograniczanie stosowania środków przeciwdrobnoustrojowych, stanowi jedno z ważniejszych wyzwań współczesnej produkcji zwierzęcej. Szczególnie istotny jest okres pierwszych dni życia ptaków, kiedy dochodzi do dynamicznego dojrzewania układu odpornościowego, kształtowania odporności biernej i czynnej, kolonizacji przewodu pokarmowego oraz stabilizacji mechanizmów odpowiedzialnych za utrzymanie równowagi oksydacyjno-antyoksydacyjnej.

W tym kontekście ocena biologicznych następstw wczesnej ekspozycji indyków na enrofloksacynę i doksycyklinę, a także długotrwałego stosowania monenzyny, jest uzasadniona naukowo. Na uwagę zasługuje również fakt, że Autor nie ograniczył się do oceny jednego wybranego obszaru fizjologii, lecz podjął próbę kompleksowego określenia wpływu badanych substancji na układ odpornościowy, reakcje oksydoredukcyjne, funkcjonowanie przewodu pokarmowego, parametry neuroendokrynne, morfologię narządów immunokompetentnych oraz obecność pozostałości substancji przeciwdrobnoustrojowych w wątrobie.

Tak szerokie podejście należy uznać za jedną z istotnych zalet rozprawy.

Hipoteza i cele badań

Hipoteza badawcza zakładała, że wczesne stosowanie antybiotyków może, poprzez zahamowanie resorpcji woreczka żółtkowego i ograniczenie transferu przeciwciał matczynych, prowadzić do osłabienia odporności humoralnej, a w konsekwencji wpływać negatywnie na funkcjonowanie układu immunologicznego i systemu antyoksydacyjnego. Podobnego efektu spodziewano się po stosowaniu pasz zawierających kokcydiostatyk jonoforowy.

Cele badań zostały sformułowane logicznie i korespondują z przyjętą hipotezą. Istotne jest przy tym, że jedna z jej kluczowych części nie została potwierdzona. W toku doświadczeń nie wykazano bowiem zahamowania resorpcji woreczka żółtkowego przez antybiotyki. Autorzy publikacji źródłowej wyraźnie stwierdzają, że tempo resorpcji było podobne we wszystkich grupach doświadczalnych. Nie traktuję tego jako słabości rozprawy. Przeciwnie, należy podkreślić, że negatywna weryfikacja fragmentu hipotezy badawczej jest pełnoprawnym wynikiem naukowym i prowadzi do bardziej precyzyjnego rozumienia obserwowanych mechanizmów biologicznych.

Ocena materiału i metod

Badania przeprowadzono w dwóch rozbudowanych doświadczeniach na indyczkach typu Hybrid Converter.

Pierwsze doświadczenie obejmowało 3080 ptaków przydzielonych do ośmiu grup doświadczalnych. Każda grupa składała się z siedmiu powtórzeń po 55 ptaków. Uwzględniono cztery warianty postępowania: kontrolę, stosowanie monenzyny, enrofloksacyny i doksycykliny, a dodatkowym czynnikiem było szczepienie lub jego brak.

Drugie doświadczenie przeprowadzono na 1152 indyczkach rozmieszczonych w sześciu grupach w układzie czynnikowym 3×2 , uwzględniającym trzy warianty wczesnej antybiotykoterapii oraz obecność lub brak monenzyny w paszy. Każda grupa składała się z ośmiu powtórzeń po 24 ptaki.

Zakres zastosowanych metod badawczych jest szeroki i należy go ocenić wysoko. Wykorzystano metody immunoenzymatyczne, cytometrię przepływową, reakcję Real-Time PCR, analizę histologiczną narządów limfatycznych oraz wysokosprawną chromatografię cieczową sprzężoną z tandemową spektrometrią mas. Ponadto oceniano parametry produkcyjne, funkcjonowanie przewodu pokarmowego, aktywność enzymatyczną mikrobioty oraz wskaźniki neuroendokrynne i oksydoredukcyjne.

Tak szeroki panel oznaczeń umożliwił ocenę odpowiedzi organizmu na kilku poziomach – od reakcji komórkowych i molekularnych do zmian fizjologicznych i produkcyjnych.

Ocena wyników i dyskusji

Przedstawione wyniki dostarczają wielu interesujących obserwacji dotyczących wpływu wczesnej antybiotykoterapii na organizm młodych indyków.

Jednym z kluczowych wyników jest wykazanie, że wczesne stosowanie antybiotyków nie hamowało resorpcji woreczka żółtkowego, ale wiązało się z obniżeniem poziomu niektórych przeciwciał matczynych. Jest to wynik ważny, ponieważ wskazuje, że obserwowane zmiany w odporności biernej nie wynikają z prostego zahamowania wchłaniania pozostałości żółtka.

W tym miejscu należy jednak zachować ostrożność interpretacyjną. W rozprawie pojawia się stwierdzenie o ograniczeniu „transferu” przeciwciał matczynych. Tymczasem skoro tempo resorpcji woreczka nie było zmienione samo stwierdzenie niższego stężenia lub miana przeciwciał nie powinno być automatycznie utożsamiane z ograniczeniem efektywności ich transferu, jeżeli nie wykazano zmiany ilościowego wskaźnika transferu pomiędzy woreczkiem żółtkowym a krążeniem. Publikacja źródłowa wskazuje ponadto, że w przypadkach, w których przeciwciała nie zostały obniżone, ich transfer do surowicy przebiegał prawidłowo aż do resorpcji woreczka.

W dyskusji rozprawy Autor rozważa bezpośrednie oddziaływanie antybiotyków na przeciwciała oraz wpływ na limfocyty B i komórki plazmatyczne. Jest to interesująca koncepcja, jednak na podstawie przedstawionych doświadczeń nie można jednoznacznie rozstrzygnąć, czy obserwowany efekt wynika z bezpośredniej fizykochemicznej inaktywacji immunoglobulin, modulacji funkcji limfocytów B, zmian mikrobioty, działania szczepień czy współwystępowania kilku wymienionych mechanizmów. Mechanizm ten powinien być zatem traktowany jako dobrze uzasadniona hipoteza, a nie jednoznacznie udowodnione zjawisko.

Kolejna uwaga odnosi się do interpretacji zmian mikrobiologicznych. W jednej z publikacji stwierdzono zmiany aktywności wybranych enzymów mikrobioty jelita ślepego, natomiast nie wykazano zmian całkowitego stężenia krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych ani amoniaku. Autorzy publikacji pierwotnej konkludowali wręcz, że zastosowane substancje nie zaburzały homeostazy mikrobiologicznej jelita grubego, a jedynie modyfikowały profil enzymatyczny mikroorganizmów.

Z tego względu użyte w syntetycznej dyskusji rozprawy określenie „dysbioza” wydaje się nieco zbyt daleko idące. W cyklu nie wykonywano bezpośredniej analizy taksonomicznej lub metagenomicznej mikrobioty. Można zatem mówić o zmianie jej aktywności funkcjonalnej, natomiast wnioskowanie o zmianie struktury mikrobiomu powinno być przedstawione jako hipoteza.

Interesująca jest również niepełna powtarzalność części efektów immunologicznych pomiędzy dwoma doświadczeniami. W doświadczeniu pierwszym wykazano obniżenie niektórych mian swoistych przeciwciał po zastosowaniu enrofloksacyny i doksycykliny. W publikacji wynikającej z doświadczenia drugiego autorzy wskazują jednak, że nie potwierdzili wpływu tych antybiotyków na poziom przeciwciał anti-MPV i anti-NDV. W odniesieniu do doksycykliny podano także brak wpływu na poziom przeciwciał anti-ORT, anti-NDV i anti-aMPV w badanych terminach.

W mojej ocenie nie jest to słabość badań, lecz wynik wymagający pogłębionej dyskusji. Wskazuje bowiem, że działanie antybiotyków na dojrzewający układ odpornościowy może być silnie zależne od kontekstu biologicznego i eksperymentalnego, w tym obecności monenzyny, sposobu szczepienia czy odmiennej dynamiki odpowiedzi immunologicznej.

Na podobną ostrożność zasługuje stosowanie określenia „immunosupresja”. Wyniki niewątpliwie wskazują na immunomodulacyjne działanie badanych substancji. Jednakże w

doświadczeniu drugim efekt określony jako immunosupresyjny był szczególnie widoczny przy jednoczesnym zastosowaniu enrofloksacyny i monenzyny, podczas gdy nie obserwowano go w takim samym stopniu u indyków otrzymujących wyłącznie monenzynę lub połączenie monenzyny i doksycykliny. Z tego względu zasadne jest ściśle rozróżnienie pomiędzy immunomodulacją, przejściowym zahamowaniem wybranych elementów odpowiedzi immunologicznej i pełną immunosupresją.

Również określenie działania enrofloksacyny i monenzyny jako potencjalnie synergistycznego wymaga ostrożności. Najsilniejsza odpowiedź obserwowana w grupie skojarzonej może sugerować interakcję pomiędzy czynnikami, jednak wykazanie rzeczywistego synergizmu wymagałoby formalnego potwierdzenia, że efekt kombinacji przekracza oczekiwany efekt addytywny.

Pewnego doprecyzowania wymaga także zakres uogólnienia wyników dotyczących kokcydiostatyków. W doświadczeniach oceniano wyłącznie monenzynę, będącą jonoforowym kokcydiostatykiem. Uzyskane wyniki pozwalają zatem na bezpośrednie wnioskowanie przede wszystkim o skutkach jej stosowania, natomiast ekstrapolacja obserwowanych efektów na całą grupę kokcydiostatyków powinna być formułowana z odpowiednią ostrożnością.

Ocena wyników dotyczących statusu oksydoredukcyjnego

Istotną część rozprawy stanowi ocena równowagi oksydacyjno-antyoksydacyjnej. Wykazano, że wczesna ekspozycja na enrofloksacynę i doksycyklinę prowadziła do zmian wybranych markerów redoks, przy czym efekt po enrofloksacynie był bardziej długotrwały. W 56. dniu życia obserwowano m.in. zmiany GCH1/GTP oraz aktywności katalazy.

Wniosek o długotrwałym wpływie wczesnej antybiotykoterapii na mechanizmy redoks jest zatem uzasadniony. Pewnego doprecyzowania wymaga jednak użyte w rozprawie określenie „trwała modulacja”. Ponieważ obserwację prowadzono do 56. dnia życia, bardziej ostrożnym i adekwatnym sformułowaniem byłoby „utrzymujące się” lub „długotrwałe” zaburzenie wybranych parametrów równowagi oksydacyjno-antyoksydacyjnej.

Znaczenie praktyczne wyników

Badania mają potencjalne znaczenie aplikacyjne, ponieważ wskazują, że skutki wczesnego stosowania antybiotyków mogą utrzymywać się znacznie dłużej niż sama ekspozycja na lek. Jednocześnie należy podkreślić, że doświadczenia prowadzono na ptakach bez kontrolowanego zakażenia patogenem.

Z tego względu wyników nie należy automatycznie utożsamiać ze skutkami klinicznej antybiotykoterapii u chorych ptaków. Proces infekcyjny sam w sobie silnie modyfikuje reakcję zapalną, odpowiedź immunologiczną oraz status oksydoredukcyjny. Jest to ważne ograniczenie w zakresie bezpośredniej translacji wyników na praktykę weterynaryjną.

Również wniosek, że obserwowana subkliniczna immunosupresja może zwiększać podatność ptaków na infekcje, należy traktować jako biologicznie uzasadniony, ale nieweryfikowany bezpośrednio w prezentowanych doświadczeniach, ponieważ nie przeprowadzano testu zakaźniowego.

Ocena badań nad pozostałościami substancji przeciwdrobnoustrojowych

Za cenny element rozprawy uważam włączenie analizy pozostałości enrofloksacyny, doksycykliny i monenzyny w wątrobie metodą LC-MS/MS. Badania te rozszerzają biologiczną interpretację uzyskanych wyników o aspekt związany z metabolizmem i eliminacją stosowanych substancji.

W przypadku enrofloksacyny w 56. dniu życia stwierdzono bardzo niskie stężenie w wątrobie, wynoszące 2,86 µg/kg, przy przywołanym w publikacji MRL wynoszącym 200 µg/kg.

Jednocześnie w przypadku monenzyny sami autorzy wskazują na potrzebę dalszego precyzyjnego określenia czasu eliminacji i adekwatności okresu karencji. Dlatego wyniki te należy traktować jako wartościowe dane dotyczące dynamiki pozostałości, natomiast nie jako pełną ocenę bezpieczeństwa konsumenta.

Uwagi wymagające wyjaśnienia i doprecyzowania

Poza wskazanymi wcześniej nieścisłościami w syntetycznym opisie metodologii chciałabym zwrócić uwagę na kilka kwestii, które zasługują na dodatkowe wyjaśnienie przez Doktoranta podczas publicznej obrony.

Po pierwsze, uwagę zwraca rozbieżność dotycząca czasu stosowania monenzyny w publikacji Smagiel i wsp. z 2023 r. Zarówno w abstrakcie, jak i w części *Materials and Methods* tej pracy podano, że monenzynę w dawce 90 mg/kg paszy stosowano przez pierwszych 5 dni życia. Tymczasem w syntetycznym opisie rozprawy wskazano, że w doświadczeniu pierwszym monenzynę podawano w paszy przez 56 lub 84 dni odchowu, zależnie od zakresu analiz. Rozbieżność ta wymaga jednoznacznego wyjaśnienia, w szczególności wskazania, jaki rzeczywisty schemat stosowania monenzyny przyjęto w doświadczeniu stanowiącym podstawę publikacji z 2023 r. Kwestia ta ma znaczenie nie tylko redakcyjne, ale również interpretacyjne, ponieważ czas ekspozycji na badaną substancję stanowi istotny element oceny jej biologicznego działania.

Po drugie, wyjaśnienia wymaga sposób definiowania jednostki doświadczalnej w części analiz. W przypadku oznaczeń wykonywanych u jednego ptaka z każdego kojca liczba analizowanych osobników odpowiadała liczbie niezależnych powtórzeń doświadczalnych. Inaczej przedstawia się sytuacja w analizach resorpcji woreczka żółtkowego oraz przeciwciał matczynych, w których z każdego z siedmiu kojców pobierano po trzy ptaki, uzyskując łącznie 21 obserwacji w grupie. W publikacji źródłowej pojedynczego ptaka traktowano przy tym jako jednostkę doświadczalną. Zasadne jest zatem wyjaśnienie, w jaki sposób uwzględniono hierarchiczną strukturę danych i zagnieżdżenie ptaków w kojcach oraz czy przyjęcie kojca jako nadrzędnej jednostki eksperymentalnej mogłoby wpływać na ocenę istotności statystycznej uzyskanych efektów.

Po trzecie, pewnego doprecyzowania wymaga zakres uogólnienia wyników dotyczących kokcydiostatyków. W przeprowadzonych doświadczeniach oceniano wyłącznie monenzynę, będącą jonoforowym kokcydiostatykiem. Uzyskane wyniki pozwalają zatem na bezpośrednie wnioskowanie przede wszystkim o skutkach stosowania tej konkretnej substancji. Ekstrapolacja obserwowanych efektów na całą grupę kokcydiostatyków powinna być

formułowana ostrożnie, zwłaszcza że poszczególne substancje należące do tej grupy mogą różnić się mechanizmem działania, farmakokinetyką i profilem oddziaływania biologicznego.

Po czwarte, w dyskusji oraz wnioskach rozprawy miejscami używane są określenia sugerujące zmiany struktury mikrobioty jelitowej oraz rozwój dysbiozy. Tymczasem w przedstawionych badaniach oceniano przede wszystkim aktywność enzymatyczną mikrobioty, stężenie krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych oraz amoniaku, natomiast nie przeprowadzono bezpośredniej analizy składu taksonomicznego mikrobiomu. Sama publikacja źródłowa wskazuje ponadto, że zastosowane substancje nie zaburzyły homeostazy mikrobiologicznej jelita grubego, lecz modyfikowały przede wszystkim profil enzymatyczny mikroorganizmów. Z tego względu zasadne byłoby wyraźne rozdzielenie udokumentowanej zmiany aktywności funkcjonalnej mikrobioty od hipotezy dotyczącej zmian jej składu i rozwoju dysbiozy.

Kolejna kwestia dotyczy stosowania pojęcia „synergizmu” w odniesieniu do jednoczesnego działania enrofloksacyny i monenzyny. W rozprawie wskazano, że szczególnie silny efekt obserwowany w tej grupie może sugerować działanie addytywne lub synergistyczne. Taka interpretacja jest biologicznie interesująca, jednak wykazanie rzeczywistego synergizmu wymagałoby formalnego potwierdzenia, że efekt działania obu substancji łącznie przekracza oczekiwany efekt addytywny. W obecnym układzie doświadczenia bardziej ostrożnym określeniem wydaje się zatem „interakcja” lub „nasilenie efektu przy jednoczesnym stosowaniu obu substancji”.

Doprecyzowania wymaga również użycie pojęcia „transfer przeciwciał matczynych”. Badane substancje nie hamowały resorpcji woreczka żółtkowego, natomiast w części analiz stwierdzono obniżenie stężenia lub miana przeciwciał. Samo stwierdzenie niższego poziomu przeciwciał w woreczku żółtkowym lub surowicy nie jest jednak automatycznie równoważne ze zmniejszeniem efektywności ich transferu, jeżeli nie wykazano bezpośrednio zmiany ilościowego wskaźnika przechodzenia przeciwciał z woreczka żółtkowego do krążenia. Warto zatem, aby Doktorant podczas obrony sprecyzował, w jakim znaczeniu używa terminu „ograniczenie transferu przeciwciał matczynych”.

Zasadne wydaje się ponadto doprecyzowanie jednego z wniosków praktycznych rozprawy. Stwierdzenie, że stosowanie badanych substancji w pierwszych dniach życia powinno mieć miejsce wyłącznie w sytuacjach klinicznie uzasadnionych, odnosi się w sposób oczywisty do enrofloksacyny i doksycykliny, podawanych przez pierwszych 5 dni życia. W przypadku monenzyny schemat ekspozycji był odmienny i obejmował dłuższy okres odchowu. Z tego względu wskazane byłoby rozdzielenie wnioskowania dotyczącego wczesnej antybiotykoterapii od wnioskowania odnoszącego się do długotrwałego stosowania kokcydiostatyku w paszy.

Wymienione uwagi nie podważają wartości naukowej rozprawy, lecz dotyczą przede wszystkim precyzji opisu metodologicznego, zakresu dopuszczalnego uogólniania wyników oraz ostrożności w interpretacji zależności biologicznych. Ich wyjaśnienie podczas publicznej obrony pozwoliłoby jeszcze pełniej ocenić sposób rozumowania Doktoranta oraz jego umiejętność krytycznej interpretacji uzyskanych wyników.

Ocena wkładu Doktoranta

Zamieszczone w rozprawie oświadczenia współautorów wskazują, że udział mgr. inż. Radosława Smagiela w przygotowaniu publikacji miał charakter istotny i nie ograniczał się wyłącznie do wykonania analiz laboratoryjnych. W przypadku prac pierwszoautorskich obejmował udział w koncepcji badań, nadzorze nad doświadczeniem, wykonywaniu analiz, opracowaniu wyników oraz przygotowaniu publikacji. Oświadczenia współautorów zostały zamieszczone w końcowej części rozprawy.

W mojej ocenie zakres deklarowanego wkładu Doktoranta pozwala na uznanie przedstawionego cyklu za osiągnięcie naukowe, w którym jego indywidualny udział jest odpowiednio udokumentowany.

Ocena końcowa

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr. inż. Radosława Smagiela stanowi wartościowe i spójne tematycznie opracowanie naukowe. Do jej najważniejszych zalet zaliczam szeroki zakres przeprowadzonych badań, dużą liczebność materiału biologicznego, wykorzystanie nowoczesnego i zróżnicowanego warsztatu analitycznego oraz próbę wielopoziomowej integracji wyników dotyczących odporności, odpowiedzi zapalnej, równowagi oksydacyjno-antyoksydacyjnej i funkcjonowania przewodu pokarmowego.

Przedstawione przeze mnie uwagi dotyczą przede wszystkim sposobu syntetyzowania i interpretowania części wyników, miejscami wykraczającego poza zakres bezpośrednio uzyskanych danych, jak również kilku nieścisłości metodologicznych i redakcyjnych. Uwagi te nie podważają jednak zasadniczej wartości naukowej rozprawy.

Za szczególnie wartościowe uważam wykazanie, że skutki bardzo krótkiej, pięciodniowej ekspozycji na wybrane antybiotyki mogą być obserwowane w organizmie ptaków także wiele tygodni po zakończeniu ich podawania. Wyniki te stanowią interesujący wkład w poznanie biologicznych konsekwencji wczesnej antybiotykoterapii u indyków.

Rozprawa świadczy o opanowaniu przez Doktoranta warsztatu badawczego, znajomości problematyki naukowej, umiejętności analizy i interpretacji uzyskanych wyników oraz ich publikowania w czasopiśmie naukowym o zasięgu międzynarodowym.

W świetle przeprowadzonej oceny stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr. inż. Radosława Smagiela pt. „Wpływ wczesnej antybiotykoterapii i stosowania kokcydiostatyków na rozwój układu immunologicznego i antyoksydacyjnego u młodych indyków” spełnia wymagania określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t.j. Dz.U. z 2024 r. poz. 1571 z późn. zm.) i może stanowić podstawę do nadania stopnia naukowego doktora w postępowaniu wszczętym w dniu 11 czerwca 2026 r. w dziedzinie nauk rolniczych, w dyscyplinie zootechnika i rybactwo. W związku z powyższym rozprawę oceniam pozytywnie i wnoszę o dopuszczenie mgr. inż. Radosława Smagiela do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora.

Jednocześnie, mając na uwadze aktualność i znaczenie podjętej problematyki badawczej, wysoki poziom merytoryczny przeprowadzonych badań, ich szeroki zakres, nowoczesny warsztat analityczny, a także istotne walory poznawcze oraz potencjalne znaczenie aplikacyjne uzyskanych wyników dla praktyki drobiarskiej, wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.



Z poważaniem

dr hab. Monika Łukasiewicz Mierzejewska, prof. uczelni

UNIwersytet Przyrodniczy w Lublinie
Dział Ewaluacji Nauki i Stopni Naukowych
WPEŁNIŁ DZIAŁ

29. 09. 2026

L.Dz.Podpis osoby przyjmującej.....