

Anna Brillowska-Dąbrowska

Gdańsk, 19.06.2024

Katedra Biotechnologii Molekularnej i Mikrobiologii

Wydział Chemiczny

Politechnika Gdańska

Recenzja rozprawy p. mgr Kamili Strom

pt.: „Wpływ metod utrwalania mleka kobiecego na wybrane  
składniki bioaktywne i bezpieczeństwo mikrobiologiczne”

Rozprawa p. mgr Kamili Strom pt.: „Wpływ metod utrwalania mleka kobiecego na wybrane składniki bioaktywne i bezpieczeństwo mikrobiologiczne” jest kompilacją cyklu sześciu publikacji opublikowanych w czasopismach:

1. Strom K, Jarzynka S, Minkiewicz-Zochniak A, Barbarska O, Olędzka G, Wesołowska A. Microbiological Quality of Milk Donated to the Regional Human Milk Bank in Warsaw in the First Four Years of Activity. *Healthcare*. 2022;10(3):1-11. <https://doi.org/10.3390/healthcare10030444>
2. Barbarska O, Strom K, Olędzka G, Calvo J, Gayà A, López-Mendoza MC, Rutkowska M, Rosiak E, Wesołowska AM. Effect of Nonthermal Processing on Human Milk Bactericidal Activity Against *Escherichia coli*. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 2020;70(6):864-867. <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000002673>
3. Wesołowska A, Sinkiewicz-Darol E, Barbarska O, Strom K, Rutkowska M, Karzeł K, Rosiak E, Olędzka G, Orczyk-Pawłowicz M, Rzoska S, Borszewska-Kornacka MK. New achievements in high-pressure processing to preserve human milk bioactivity; *Frontiers in Pediatrics*. 2018;6:1-10. <https://doi.org/10.3389/fped.2018.00323>
4. Wesołowska A, Brys J, Barbarska O, Strom K, Szymanska-Majchrzak J, Karzeł K, Pawlikowska E, Zielinska MA, Hamulka J, Olędzka G. Lipid Profile, Lipase Bioactivity, and Lipophilic Antioxidant Content in High Pressure Processed Donor Human Milk. *Nutrients*. 2019;11(9):1-15. <https://doi.org/10.3390/nu11091972>
5. Jarzynka S, Strom K, Barbarska O, Pawlikowska E, Minkiewicz-Zochniak A, Rosiak E, Olędzka G, Wesołowska A. Combination of High-Pressure Processing and Freeze-Drying as the Most Effective Techniques in Maintaining Biological Values and Microbiological Safety of Donor Milk. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2021; 18(4):2147. <https://doi.org/10.3390/ijerph18042147>
6. Strom K, Jarzynka S, Minkiewicz-Zochniak A, Wesołowska A, Olędzka G. Effect of holder pasteurization and storage of donor human milk on *Bacillus cereus* survival. *Advances in Hygiene and Experimental Medicine*. 2024;78(1):13-21. <https://doi.org/10.2478/ahem-2023-0027>

Pani Doktorantka opisała swój wkład w powstanie kolejnych publikacji na: 40, 15, 5, 15, 20, 55% Oprócz wartości procentów, które w mojej opinii nie są wystarczająco informatywne, dostarczony został opis wkładu w powstawanie poszczególnych prac, który po porównaniu z zadeklarowanym wkładem pozostałych współautorów, uznaję za istotny i wystarczający na uznanie go za materiał będący podstawą rozprawy doktorskiej.

Recenzowana rozprawa doktorska ma układ typowy dla rozpraw opartych na publikacjach.

Po spisie treści umieszczony jest spis publikacji, których współautorem jest Pani Doktorantka.

Kolejne rozdziały rozprawy zawierają wykaz używanych skrótów, streszczenie w języku polskim, streszczenie w języku angielskim, wprowadzenie, cele badań, materiały i metody użyte w badaniach przedstawionych w publikacjach, wyniki wraz z dyskusją, wnioski, bibliografię kopie opublikowanych prac oraz oświadczenia współautorów. Bibliografię tworzą dwadzieścia cztery odpowiednio dobrane publikacje naukowe. Ich liczba może budzić wątpliwości, jednakże należy wziąć pod uwagę, że dotyczy ona jedynie treści zawartych w opisie badań przedstawionych w rozprawie, a nie w całości rozprawy, którą tworzą opublikowane artykuły naukowe.

Mleko kobiece uznawane jest za aktywną biologicznie substancję, a karmienie mlekiem kobiecym za optymalny sposób nie tylko żywienia, ale również zapewnienia dziecku osłony immunologicznej. WHO zaleca wyłączne karmienie mlekiem matki przez pierwsze 6 miesięcy życia, a następnie uzupełniające do 2 roku życia. Dla noworodków o niskiej masie urodzeniowej, które nie mogą być karmione mlekiem własnej matki, WHO zaleca mleko od dawczyń z banków mleka kobiecego. Banki te działają według wytycznych Europejskiego Stowarzyszenia Banków Mleka, aby zapewnić bezpieczeństwo i jakość mleka. Stosowany szeroko proces pasteryzacji mleka kobiecego, typu holder jest stosowany w celu eliminacji drobnoustrojów, ale może obniżyć ilość i aktywność niektórych bioaktywnych składników. Współczesne badania koncentrują się na alternatywnych metodach pasteryzacji, takich jak HTST, HPP, czy UV-C, które mogą lepiej zachować właściwości mleka. W procesie pracy banków mleka istotne jest utrzymanie odpowiednich warunków przechowywania, aby zminimalizować negatywny wpływ na bioaktywność mleka. Liofilizacja mleka pasteryzowanego może wydłużyć jego przydatność do spożycia i obniżyć koszty przechowywania. Obecnie trwają badania nad optymalnymi parametrami paskalizacji oraz kombinacji ciśnieniowania i liofilizacji, które mogłyby stanowić alternatywę dla tradycyjnej pasteryzacji. Te nowe metody mogą lepiej zachować składniki bioaktywne mleka kobiecego i poprawić jego mikrobiologiczną jakość.

W świetle pojawiających się nowych doniesień dotyczących istotności składu mleka kobiecego na jego właściwości, tematyka rozprawy doktorskiej p. mgr Kamili Strom jest zasadna i celowa, jako, że nadrzędnym celem rozprawy jest ocena możliwości zastosowania paskalizacji i liofilizacji jako metod utrwalania mleka kobiecego, które mogłyby być rutynowo wykorzystywane w bankach mleka kobiecego do przygotowania jałowej porcji mleka o wartościowym składzie czynników bioaktywnych.

Pierwsza publikacja tworząca rozprawę doktorską „Microbiological Quality of Milk Donated to the Regional Human Milk Bank in Warsaw in the First Four Years of Activity” analizuje jakość mikrobiologiczną mleka dawczyń z Regionalnego Banku Mleka Kobiecego w Warszawie w pierwszych czterech latach jego działalności. Analiza mikrobiologiczna pozwoliła na identyfikację głównie koagulazo-ujemne gronkowców i paciorkowców, w tym *Staphylococcus epidermidis* (68,35% próbek) i *Streptococcus mitis/oralis* (10,79% próbek). W próbkach wykryto również takie gatunki bakterii jak *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* i *Escherichia coli*. Reasumując wykazano, że analiza mikrobiologiczna stosowana w Regionalnym Banku Mleka Kobiecego w Warszawie pozwala na szybkie i precyzyjne badanie charakterystyki mikrobioty mleka kobiecego.



Kolejna publikacja „Effect of Nonthermal Processing on Human Milk Bactericidal Activity Against Escherichia coli” przedstawia porównanie stopnia zachowania własności bakteriobójczych mleka po zastosowaniu standardowo używanej w bankach mleka kobiecego metody pasteryzacji typu holder oraz proponowanej w rozprawie doktorskiej metody paskalizacji. Jako, że wyniki przedstawione w tej publikacji nie są istotne statystycznie, niestety nie mogę uznać tego artykułu, jako znaczącego dla wartości rozprawy doktorskiej. W tym miejscu proszę Panią Doktorantkę o przedstawienie planu eksperymentów, które umożliwiłyby otrzymanie statystycznie znaczących wyników.

W mojej opinii największą wartość rozprawy doktorskiej stanowią pozostałe publikacje. Wyniki badań przedstawione w nich potwierdziły, że termiczna pasteryzacja w znacznie większym stopniu niż paskalizacja prowadzi do zmniejszenia stężenia wielu białek i komponentów mleka kobiecego, wpływając negatywnie na jego wartość. Pomimo zachowania bezpieczeństwa mikrobiologicznego, pasteryzacja typu holder powoduje znaczną redukcję czynników stymulujących układ pokarmowy i odpornościowy dziecka.

W celu oceny wpływu paskalizacji na białka znajdujące się w mleku kobiecym, przeanalizowano kilka wariantów wysokociśnieniowej pasteryzacji (HPP). Najlepszymi okazały się warianty 200 + 400 MPa oraz 450 MPa, które pozwoliły na zachowanie wysokich stężeń większości białek obecnych w mleku, jednocześnie zapewniając bezpieczeństwo mikrobiologiczne. Wyniki dla wszystkich tych wariantów wysokociśnieniowej pasteryzacji były znacznie lepsze w porównaniu do pasteryzacji typu holder i wskazały na zasadność stosowania zaproponowanej w rozprawie metody.

Przechowywanie mleka kobiecego jest kluczowym aspektem jego przygotowywania w bankach mleka. Standardowo pasteryzowane mleko przechowuje się w zamrożeniu, co może prowadzić do utraty wartości odżywczych. Dlatego w czasie realizacji doktoratu przebadano proces liofilizacji, jako alternatywę dla przechowywania mleka w warunkach chłodniczych i potwierdzono zasadność stosowania tej metody. Zastosowanie wyłącznie procesu liofilizacji nie było wystarczające do zapewnienia bezpieczeństwa mikrobiologicznego, jako że w próbkach zaszczepionych bakteriami wykrywano je po procesie liofilizacji próbek. Zaproponowano zatem zastosowanie liofilizacji mleka po uprzednim zastosowaniu HPP. Wykazano, że zastosowanie procesu liofilizacji nie wpływa znacząco na stężenie białek i innych bioaktywnych składników. Potwierdzono też, że parametry te pozostają stabilne przez co najmniej trzymiesięcznym okresie przechowywania. Potwierdzono brak wzrostu patogenów w mleku poddanemu kombinacji HPP i liofilizacji. Co istotne w rozprawie przedstawiono również konieczność badania obecności przetrwalników w przechowywanym mleku kobiecym.

Podsumowując, jestem przekonana, że postawione cele recenzowanej rozprawy doktorskiej mają istotne znaczenie, a opublikowane wyniki badań wskazują na ich realizację. Mam nadzieję, że uzyskane wyniki przyczynią się po przeprowadzeniu dalszych badań do modyfikacji protokołów utrwalania i przechowywania mleka kobiecego. Na uwagę zasługuje zaangażowanie Doktorantki w różne etapy pracy nad poszczególnymi publikacjami: od opracowanie koncepcji badań, poprzez prowadzenie procesu badawczego, wykonywanie eksperymentów oraz zbieranie danych z doświadczeń, udział interpretacji wyników doświadczeń, po przygotowanie manuskryptu oraz edycję ostatecznej wersji artykułu do druku. Przedstawione wyniki badań oraz udział Pani Doktorantki we wszystkich etapach powstawania publikacji sprawiają, że jestem przekonana, że



p. mgr Kamili Strom posiada wiedzę i umiejętności pozwalające na dopuszczenie do kolejnych etapów przewodu doktorskiego.

Z obowiązku recenzenta zwracam uwagę na brak objaśnienia skrótu HoP oraz niepotrzebne (a co za tym idzie nieprecyzyjne, bo wynikające ze źródła skrótu, a nie jego faktycznego znaczenia) wyjaśnienie skrótu pH.

W tym miejscu zaznaczam, że moje prośby dotyczące dodatkowego omówienia pewnych aspektów oraz wskazanie przeze mnie błędów wynikające z obowiązku recenzenta, nie mają na celu krytyki rozprawy doktorskiej. Mając to na uwadze z przekonaniem stwierdzam, że rozprawa p. mgr Kamili Strom pt.: „Wpływ metod utrwalania mleka kobiecego na wybrane składniki bioaktywne i bezpieczeństwo mikrobiologiczne” spełnia warunki określone Ustawą z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (tekst jednolity Dz. U. z 2017 r., poz. 1789), jak również art. 187 Ustawy z 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2022 r. poz. 574 z późn. zm.). W związku z powyższym, przedstawiam Wysokiej Radzie Rady Dyscypliny Nauk o Zdrowiu WUM, wniosek o dopuszczenie Pani mgr Kamili Strom do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

dr hab. inż. Anna Brillowska-Dąbrowska