

Puławy, 2020.12.29

dr hab. Katarzyna Domańska-Blicharz, prof. instytutu
Zakład Chorób Drobiu
Państwowy Instytut Weterynaryjny-
-Państwowy Instytut Badawczy
Al. Partyzantów 57
24-100 Puławy

RECENZJA

osiągnięć naukowych, dydaktycznych i organizacyjnych

dr n. wet. Beaty Izabeli Wysok

ubiegającej się o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego nauk rolniczych w
dyscyplinie weterynaria

przygotowana na podstawie pisma Rady Naukowej Dyscypliny Weterynaria Uniwersytetu
Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie nr WMW-DZ.6312.1.2020 z dnia 30 listopada 2020 r.
o powołaniu mnie w skład Komisji Habilitacyjnej w charakterze recenzenta.

Przesłany do oceny materiał składa się z kopii wniosku o przeprowadzenie
postępowania habilitacyjnego, odpisu dyplomu doktorskiego, autoreferatu w języku polskim,
dokumentów potwierdzających odbycie staży, realizowanie grantów i projektów oraz
otrzymanie nagród, oświadczeń współautorów publikacji kandydatki, wykazu osiągnięć
naukowych stanowiących znaczny wkład w rozwój dyscypliny weterynaria oraz prac
stanowiących główne osiągnięcie naukowe i wskazujących na aktywność naukową.

Materiał został przygotowany czytelnie i starannie, chociaż w niektórych aspektach
złożonej dokumentacji odczuwam pewien niedosyt, o czym poniżej.

1. Podstawowe dane o Kandydatce

Dr Beata Wysok tytuł lekarza weterynarii uzyskała w roku 2004 na Wydziale Medycyny
Weterynaryjnej Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie. W tym samym roku, w
październiku rozpoczęła studia doktorskie w Katedrze Weterynaryjnej Ochrony Zdrowia
Publicznego Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UWM w Olsztynie. W 2008 r. uzyskała
stopień doktora nauk weterynaryjnych na podstawie rozprawy doktorskiej pt: *Stopień
zanieczyszczenia mięsa bakteriami rodzaju Campylobacter podczas obróbki poubojowej
drobiu rzeźnego*. W lipcu 2008 r. rozpoczęła pracę jako asystent, a rok później, w lipcu 2009
r. jako adiunkt w Katedrze Weterynaryjnej Ochrony Zdrowia Publicznego Wydziału
Medycyny Weterynaryjnej UWM w Olsztynie gdzie pracuje do chwili obecnej. Ponadto, w
2018 r. uzyskała tytuł specjalisty z zakresu higieny zwierząt rzeźnych i produktów
pochodzenia zwierzęcego nadany przez Komisję do Spraw Specjalizacji Lekarzy Weterynarii.

2. Podstawa formalna oceny

Recenzję opracowano zgodnie z kryteriami określonymi w art. 219 Ustawy z dnia 20
lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2020 r. poz. 85 ze zm.) i
udzielono odpowiedzi czy osiągnięcia naukowe dr n. wet. Beaty Wysok ubiegającej się o
nadanie stopnia doktora habilitowanego nauk rolniczych w dyscyplinie weterynaria
odpowiadają określonym wymaganiom.

3. Ocena osiągnięć naukowych

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Dziekanat Wydziału Medycyny Weterynaryjnej

Wpł.
dnia 04-01-2021

L.dz. 112021

podpis osoby
przyjmującej Choroszcz

a) Ocena osiągnięcia naukowego stanowiącego podstawę ubiegania się o nadanie stopnia doktora habilitowanego

Prace Habilitantki poświęcone tematyce występowania *Campylobacter* spp. u wybranych zwierząt rzeźnych i u ludzi oraz charakterystyki ich właściwości patogennych uważam za bardzo cenne ze względu na zagrożenie jakie stanowi ta bakteria dla zdrowia ludzi i w związku z tym jest jednym z priorytetów w zakresie ochrony zdrowia publicznego. Na osiągnięcie naukowe zatytułowane: *Patogenność szczepów Campylobacter spp. wyizolowanych od zwierząt rzeźnych i ludzi* składają się 4 jednotematyczne prace współautorskie. We wszystkich pracach Habilitantka jest pierwszym autorem. Zgodnie ze złożonymi deklaracjami, udział Kandydatki w tych pracach polegał na opracowaniu koncepcji badań, zaplanowaniu i wykonaniu analiz laboratoryjnych, w zdecydowanej większości tych prac również na opracowaniu i interpretacji wyników, sformułowaniu wniosków i przygotowaniu prac do druku. W jednej z prac Habilitantka brała również udział w pobieraniu materiału do badań. Stosowne oświadczenia współautorów, stanowiące integralną część osiągnięcia naukowego będącego podstawą do uzyskania stopnia doktora habilitowanego, potwierdzają wiodący i pierwszoplanowy udział dr Wysok w powstaniu tych prac. Wszystkie prace zostały opublikowane w czasopiśmie z bazy *Journal Citation Reports* i posiadają IF od 0,719 do 4,235, przy czym łączny IF tych 4-rech prac wynosi 9,858, a MNiSW-240 pkt.

Głównymi celami badawczymi Habilitantki w zgłoszonym do oceny osiągnięciu naukowym **była ocena patogenności szczepów *Campylobacter* spp. wyizolowanych od i) bydła i trzody, ii) gęsi oraz iii) ludzi w Polsce.**

Załączone do wniosku o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego z dnia 10.08.2020 przez dr Beatę Wysok prace, stanowiące osiągnięcie naukowe, zostały w autoreferacie uzupełnione wprowadzeniem, materiałami i metodami, wynikami i omówieniem znaczenia kolejnych prac, wnioskami i wykazem piśmiennictwa (37 pozycji).

We wprowadzeniu Habilitantka przedstawia przyczyny, które skłoniły ją do podjęcia badań nad *Campylobacter* spp. u wybranych zwierząt i ludzi. Patogen ten jest najczęściej izolowanym bakteryjnym czynnikiem etiologicznym zatruc pokarmowych na całym świecie. Według raportów Europejskiego Urzędu ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) zachorowania spowodowane przez bakterie rodzaju *Campylobacter* są w ostatnich latach najczęściej występującymi w krajach Unii Europejskiej chorobami odzwierzęcymi, których źródłem jest zanieczyszczona żywność. Transmisja *Campylobacter* na ludzi odbywa się zwykle poprzez spożycie zanieczyszczonej tymi drobnoustrojami żywności pochodzenia zwierzęcego, a w szczególności mięsa drobiowego poddanego niewłaściwej obróbce termicznej, niepasteryzowanego mleka czy innych produktów wtórnie zanieczyszczonych tymi bakteriami w trakcie obróbki, transportu lub sprzedaży. Występowanie *Campylobacter* w mięsie drobiowym, szczególnie kurcząt i indyków od szeregu lat utrzymuje się na wysokim poziomie, chociaż obserwowane są znaczne różnice w poziomie zanieczyszczenia pomiędzy różnymi krajami (od 8,1% do 80%). Jednak, jak zauważa Kandydatka, również inne gatunki drobiu, jak gęsi i kaczki mogą być także źródłem zakażenia człowieka. Kolejnym czynnikiem występowania kamylobakteriozy u ludzi jest spożywanie surowego lub niedogotowanego mięsa wołowego czy wieprzowego. Związane jest to z występowaniem bakterii *Campylobacter* w przewodzie pokarmowym jako naturalnej flory bakteryjnej jelit tych zwierząt, a także na piórach, sierści czy skórze, skąd przenoszone są na tusze i surowce podczas uboju i obróbki poubojowej.

Krótko poruszone są zagadnienia związane z możliwymi dawkami infekcyjnymi dla człowieka, okresem inkubacji oraz objawami klinicznymi kamylobakteriozy. Zatrucie tą bakterią u ludzi zwykle nie wymaga ukierunkowanego leczenia i ustępuje samoistnie po kilku dniach. Jednak w poważniejszych przypadkach, np. u pacjentów z osłabionym układem

immunologicznym, konieczna jest antybiotykoterapia. Wzrastające występowanie szczepów opornych na czynniki przeciwbakteryjne w znaczący sposób wpływa na efektywność terapii u ludzi. Szczególnie niepokojące w tym aspekcie jest coraz liczniej pojawiające się bakterie odporne na chinoliny i tetracykliny.

W dalszej części wprowadzenia dr Wysok przedstawia mechanizmy patogenności *Campylobacter* spp u ludzi. W tym aspekcie kluczowe znaczenie ma ruchliwość bakterii (obecność jednej lub dwóch witek, których białka kodowane są m.in. przez geny *flaA* i *flaB*), zdolność do adhezji do enterocytów (determinowana m.in. obecnością białek CadF, RacR, DnaJ czy peroksydazy cytochromu C kodowane odpowiednio przez geny *cadF*, *racR*, *dnaJ* i *docA*), zdolność do inwazji enterocytów (zależy od obecności fosfolipazy A, markeru zjadliwości iam, białka CiaB czy białka układu wydzielniczego IV (geny odpowiednio *pldA*, *iam*, *ciaB* i plazmidowy *virB11*) oraz zdolność do produkcji toksyn (m.in. cytotoksyny wydłużającej komórki – tzw. CDT kodowanej przez geny *cdtA*, *B*, *C*). Założony cel badań czyli określenie patogenności szczepów *Campylobacter* spp. u wybranych gatunków zwierząt oraz ludzi Habilitantka poprzedziła próbami izolacji i identyfikacji tych bakterii wystandaryzowanymi metodami mikrobiologii klasycznej oraz biologii molekularnej. Z kolei ocenę zjadliwości przeprowadziła stosując metody molekularne umożliwiające wykrycie wybranych w/w genów białek odgrywających rolę w adhezji, inwazji i toksyczności a czasami również odpowiedzialnych za ruchliwość bakterii. W jednej pracy dr Beata Wysok poddała wyizolowane bakterie ocenie zdolności do adhezji i inwazji oraz aktywności cytotoksycznej w warunkach *in vitro* przy użyciu linii komórkowych HeLa, CHO oraz Vero. Z kolei izolaty bakteryjne od gęsi i ludzi zostały poddane ocenie wrażliwości na wybrane antybiotyki.

Odpowiedzi na postawiony **cel nr i**) Habilitantka zawarła w dwóch publikacjach. W pierwszej pracy cyklu, oznaczonej jako 4.1.1. dr Beata Wysok określiła zanieczyszczenie tusz wołowych i wieprzowych badanych po etapie mycia, przed ich schłodzeniem na poziomie odpowiednio 13,1% i 34%. Szczepy identyfikowane na tuszach wołowych należały do gatunku *C.jejuni*, z kolei z tusz wieprzowych zdecydowanie dominującym był *C.coli* (92%) przed *C.jejuni* (pozostałe 8%). W większości tych szczepów wykazano obecność genów determinujących produkcję cytotoksyny CDT. Habilitantka podjęła również próbę oceny zależności pomiędzy występowaniem poszczególnych genów odpowiedzialnych za wytwarzanie CDT a efektem cytotoksycznym obserwowanym w warunkach *in vitro*. Uzyskane przez nią badania wykazały jednoznacznie, że pełna aktywność cytotoksyczna bakterii *Campylobacter* zależy od ekspresji genów wszystkich trzech genów/obecności trzech podjednostek CDT A, B, C. W badaniach *in vitro* różne laboratoria stosują różne linie komórkowe, a wyniki uzyskane przez dr Beatę Wysok wyraźnie wskazują najwyższą wrażliwość w badaniu cytotoksyczności linii HeLa, co potwierdza ich większą przydatność do tych badań od pozostałych. W konkluzji Habilitantka stwierdziła, że bydło i trzoda mogą stanowić potencjalne źródło cytotoksycznych szczepów *Campylobacter* spp. oraz dokonała analizy występowania genów odpowiedzialnych za tę cytotoksyczność. Ponadto wykazała większą przydatność linii komórkowej HeLa do oceny cytotoksyczności w warunkach *in vitro*.

W drugiej pracy, oznaczonej jako 4.1.2 Habilitantka podjęła się zadania określenia kolejnych mechanizmów patogenności szczepów *Campylobacter* wcześniej wyizolowanych z tusz wołowych i wieprzowych, tj. zdolności do adhezji i inwazji. We wszystkich szczepach wieprzowych stwierdzono obecność trzech genów związanych z adhezją (*flaA*, *cadF* oraz *racR*). Taką właściwość fenotypową obserwowano także w testach *in vitro* w linii komórkowej HeLa. Natomiast obecność genów *flaA* i *racR* identyfikowano u wszystkich, natomiast gen *cadF* u 79,6% szczepów wołowych. Taki też odsetek szczepów wykazywał lepsze właściwości przylegania określone w testach *in vitro* niż szczepy, które miały tylko

dwa geny (20,4%). Z kolei obecność genów związanych z inwazją, tj. *iam*, *virB11* i *pldA* zidentyfikowano u 100%, 60% i 42% szczepów wieprzowych oraz u 91,8%, 46,9% i 57,1% szczepów wołowych. W testach *in vitro* zdolność tą wykazało 63% izolatów *C.coli* oraz 75% *C.jejuni* wyizolowanych u trzody oraz 55,1% izolatów *C.jejuni* zidentyfikowanych u bydła. Podobnie jak wcześniej w przypadku zdolności adhezji, szczepy posiadające wszystkie trzy geny związane z inwazją wykazywały lepsze właściwości inwazji niż szczepy zawierające dwa takie geny. Ponadto autorka zaobserwowała pozytywną korelację między zdolnością do adhezji i inwazji.

Obie te publikacje pozwoliły Habilitantce na sformułowanie wniosku, że izolaty *Campylobacter* zidentyfikowane u świń i bydła mogą odgrywać istotną rolę w patogeniezie kamylobakteriozy u ludzi.

Cel nr ii) - ocena patogenności szczepów *Campylobacter* spp. wyizolowanych od gęsi. Kandydatka opisała w trzeciej pracy cyklu, oznaczonej jako 4.1.3. Przeprowadziła ona 240 próbek jelit oraz wycinków skóry szyi pochodzących z 24 różnych stad poddanych ubojowi, przy czym próbki badane były po etapach patroszenia i schładzania. Obecność *Campylobacter* odnotowano w próbkach jelit z 20 tych stad, natomiast w próbkach wycinków skóry w 17 stadach, przy czym w przypadku jednego stada nie było korelacji pomiędzy obecnością bakterii w jelitach i na skórze, co dało Habilitantce asumpt do stwierdzenia, iż ubój drobiu będącego nosicielem patogenu na terenie hal ubojowych przyczynia się do kontaminacji tuszek ze stad wolnych od tego drobnoustroju, dlatego tak istotne jest wyeliminowanie tego patogenu już na etapie produkcji pierwotnej. Do badań oceny patogenności dr Beata Wysok wyselekcjonowała 163 izolatów bakterii. Dominującym gatunkiem był *C.jejuni*, a badane szczepy posiadały geny związane z ruchliwością (*flaA* i *flhA*), adhezją (*cadF*, *dnaJ*, *racR*, *docA*), inwazją (*pldA*, *iam*, *ciaB*) oraz odpowiedzialne za produkcję cytotoksyny (*cdtA*, *B*, *C*). Tylko 11,7% badanych szczepów posiadało gen *virB11* związany z inwazją, a 18,4% gen *wlaN* związany z występowaniem GBS, natomiast żaden nie miał genu *cgtB*. Pani Doktor podjęła się także określenia antybiotykowrażliwości zidentyfikowanych szczepów. Najwyższą oporność wykazywały one wobec ciprofloksacyny i kwasu nalidyksowego (88-93,6% izolatów pochodzących z tuszek i jelit) oraz tetracykliny (77,8-81% szczepów). Oporność na ampicylinę wykazywało 32-36,5% izolatów, natomiast na erytromycynę zaledwie 0,6% badanych szczepów. Żaden ze 163 szczepów nie wykazywał oporności na chloramfenikol i gentamycynę. Niestety, Habilitantka wykazała także, że wśród *Campylobacter* u gęsi istnieje problem wielooporności, gdyż 28-30,2% szczepów wykazywało oporność na trzy lub więcej antybiotyków.

Ostatnia publikacja zawarta w osiągnięciu naukowym Habilitantki oznaczona jako 4.1.4 dotyczyła postawionego **celu nr iii)** czyli oceny patogenności szczepów *Campylobacter* spp. wyizolowanych od ludzi w Polsce. Podała ona badaniom z użyciem sekwencjonowania nowej generacji (NGS) 43 izolaty *Campylobacter* pozyskane od ludzi wykazujących objawy biegunki (26 izolatów) oraz od osób bez takich objawów (17 izolatów). Uzyskane pełne sekwencje poddano wszechstronnym analizom molekularnym z użyciem najnowszego oprogramowania. Typowanie molekularne metodą MLST (ang. multi-locus sequence typing), polegającą na analizie porównawczej sekwencji wybranych genów metabolizmu podstawowego wykazały duże zróżnicowanie analizowanych szczepów, gdyż łącznie wyróżniono 37 takich typów. Jednak szczepy z obu grup ludzi głównie reprezentowane były przez typy ST-50 i ST-257, które uważa się za dominujące u ludzi i drobiu. Badania markerów patogenności wykazały obecność genów związanych z adhezją (*cadF*, *jlpA*, *porA* i *pebA*) i inwazją (*ciaB*, *pldA* i *flaC*), a układ wydzielniczy typu IV stwierdzono zarówno u szczepów izolowanych od osób z biegunką jak i bez biegunki (odpowiednio 15,4% i 23,5%). Z kolei procent szczepów posiadających jednocześnie geny cytotoksyny (*cdtA*, *B*, *C*) i układu wydzielania typu VI był wyższy od osób z biegunką (odpowiednio 96,2% i 26,9%) niż u osób

bez objawów klinicznych (odpowiednio 76,5% i 11,8%). Interesujące są także wyniki Habilitantki otrzymane w odniesieniu do badań genotypowych i fenotypowych odporności na antybiotyki. Badania genotypowe wykazały obecność markerów genetycznych determinujących oporność na amoksycylinę, fluorochinolony, tetracykliny i aminoglikozydy odpowiednio u 93,1%, 67,4%, 48,8% i 11,6%. Niektóre z tych cech genotypowych zostały potwierdzone w badaniach fenotypowych, gdyż oporność na tetracykliny i aminoglikozydy obserwowano w przypadku 48,8% i 58,1% szczepów. Z kolei oporność fenotypową na cyprofloksacynę, sulfametoksazol z trimetoprimem oraz ceftriakson wykazywało odpowiednio 74,4%, 67,4% oraz 46,5% izolatów. Tylko pojedyncze izolaty wykazywały oporność fenotypową na erytromycynę, gentamycynę oraz amoksycylinę z kawasem klawulanowym. W badaniach genotypowych nie znaleziono markerów molekularnych warunkujących oporność na erytromycynę. Jednak w badaniach wielolekowej pompy efluksowej CmeABC znaleziono szereg mutacji (m.in. substytucje lub delecje w regionie między genami *cmeR* i *cmeA*), które mogą wpływać na wzmocnienie tej pompy, co z kolei może sprzyjać zwiększeniu oporności na różne klasy antybiotyków.

W podsumowaniu należy stwierdzić, że recenzowane publikacje wyodrębnione jako szczególne osiągnięcie naukowe stanowią jednotematyczny cykl poświęcony ocenie zanieczyszczenia tusz zwierząt rzeźnych – bydła, trzody chlewnej oraz gęsi bakteriami *Campylobacter* wraz z oceną występowania genów warunkujących zjadliwość tej bakterii. W mojej ocenie ostatnia praca poświęcona zagadnieniu zakażeń *Campylobacter* u ludzi i wszechstronnej charakterystyki tego patogenu świadczy o świetnym zmyśle obserwacyjnym i analitycznym Autorki, w swoisty sposób zamykający cykl tych publikacji. Wyniki przeprowadzonych badań zostały opublikowane wyłącznie w uznanych czasopismach naukowych, znajdujących się na liście JCR oraz na liście MNIŚW (zakres punktowy od 20 do 100). Dwie ostatnie prace cyklu nie mają żadnych cytowań, co z całą pewnością wynika z krótkiego czasu jaki upłynął od momentu ich opublikowania do zgłoszenia prac w osiągnięciu naukowym (rok publikacji 2020). Pozostałe dwie prace mają 9-10 cytowań, co uważam za dobry wynik, szczególnie, że jedna z nich, mająca 10 cytowań zdobyła je w ciągu niespełna 2 lat (rok publikacji 2018). Na podkreślenie zasługuje nowoczesny warsztat badawczy.

Kończąc część autoreferatu poświęconą omówieniu jednotematycznego cyklu publikacji będącego przedmiotem postępowania habilitacyjnego dr Beata Wysok określa sześć głównych wniosków wynikających z przeprowadzonych przez nią badań. Moim zdaniem większość jest trafnie sformułowana, moją wątpliwość wzbudza jednakże wniosek nr 3, który sugeruje, że zdolność pałeczek *Campylobacter* do adhezji, inwazji i wytwarzania cytotoksyny może zależeć od czegoś innego niż od obecności genów odpowiedzialnych za te procesy. W moim odczuciu, wniosek ten powinien być inaczej sformułowany. Uwaga ta jednak nie umniejsza znaczenia przeprowadzonych przez Habilitantkę badań. Uważam, że prace przedstawione przez dr Beatę Wysok jako szczególne osiągnięcie naukowe, spełniają wymagane kryteria w myśl obowiązujących przepisów.

b) Ocena danych naukometrycznych kandydatki

Sumaryczny współczynnik wpływu (IF) dorobku dr Wysok wynosi 24,597, z czego 0,854 przypada na prace, które ukazały się przed obroną pracy doktorskiej, natomiast aż 23,743 przypada na dorobek po uzyskaniu stopnia naukowego dr n. wet., co wskazuje na prawidłowy rozwój naukowy Habilitantki po obronie pracy doktorskiej i świadczy o dbałości o publikowanie wyników badań własnych w renomowanych czasopismach naukowych. Fakt ten jest jednocześnie potwierdzeniem wysokiego poziomu merytorycznego Jej prac. Suma punktów MNIŚW wynosi 878 w tym dla publikacji po uzyskaniu stopnia doktora 831. Liczba cytowań wg Web of Science Core Collection 54 (w tym autocytowań tylko 3), wg bazy Scopus – 59 (w tym autocytowań 4), a Indeks Hirscha wg obu tych baz 5.

c) Informacja o liczbie publikacji naukowych, monografii i rozdziałów w monografiach autorstwa lub współautorstwa kandydatki

Łączna liczba publikacji Habilitantki w czasopismach wynosi 29, w tym z bazy *Journal Citation Reports* 26, przy czym 4 prace stanowią osiągnięcie habilitacyjne. Trzy z liczby 26 publikacji to prace przeglądowe. W 15 publikacjach dr Beata Wysok jest pierwszym autorem. Trzy publikacje zamieszczone w czasopismach znajdujących się w bazie JCR Habilitantka opublikowała przed uzyskaniem stopnia doktora, w tym w 1 pracy jest pierwszym autorem. Po uzyskaniu stopnia doktora Habilitantka wyraźnie zwiększyła swoją aktywność piśmienniczą, gdyż opublikowała 24 prace (w tym 23 z listy JCR), z czego w 12 jest pierwszym autorem.

W czasopismach popularnonaukowych dr Beata Wysok opublikowała 3 prace, dwie z nich ukazały się przed uzyskaniem stopnia doktora, a jedna po tym czasie. W jednej z tych prac, opublikowanej przed uzyskaniem stopnia doktora Habilitantka jest pierwszym autorem. Kandydatka jest także współautorką jednej monografii oraz pierwszym autorem rozdziału w monografii. Łączna liczba autorstwa w komunikatach konferencyjnych wynosi 29, w tym w 6 przed uzyskaniem stopnia doktora oraz w 23 po uzyskaniu stopnia doktora.

d) Informacja o najważniejszych czasopismach, w ramach których kandydatka publikowała swoje prace naukowe

Spośród 29 wszystkich publikacji Habilitantki, 26 ukazało się w czasopismach z listy JCR. Z liczby 5 publikacji, które ukazały się przed uzyskaniem stopnia doktora nauk weterynaryjnych, na tej liście znajdowały się trzy z nich. Dwie prace zostały opublikowane w *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy* (łączny współczynnik wpływu (IF) wg roku publikacji 2005 i 2007 r. wynosił 0,563), periodyk wydawany przez puławski Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy. Jedna praca ukazała się w *Polish Journal of Veterinary Science* (IF z 2007 r. to 0,291), a właścicielem czasopisma jest Komitet Nauk Weterynaryjnych Polskiej Akademii Nauk oraz macierzysta jednostka Habilitantki - Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie. Oba te krajowe kwartalniki, obok *Medycyny Weterynaryjnej*, miesięcznika wydawanego przez Wydział Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Rolniczego w Lublinie, o znanej od lat renomie publikują prace z zakresu bakteriologii, wirusologii, parazytologii, immunologii, biologii molekularnej, patologii, toksykologii, farmakologii i biochemii, a główny nacisk kładą na choroby zakaźne zwierząt, bezpieczeństwo żywności i zdrowie publiczne. Są one niezwykle ważnym źródłem wiedzy o tym, co dzieje się w weterynarii na terenie Polski i przez szereg lat były głównymi czasopismami, w których publikowali naukowcy z zakresu nauk weterynaryjnych w Polsce.

Z liczby 23 publikacji z listy JCR, które ukazały się po uzyskaniu stopnia doktora nauk weterynaryjnych, ponad 60% (15 prac, co stanowi 65,2%) ukazała się w krajowych czasopismach. Pięć prac Habilitantka opublikowała ponownie w macierzystym periodyku *Polish Journal of Veterinary Science*, którego IF systematycznie rosł, z 0,435 w 2009 r. do 0,719 w 2015 r. i nie można wykluczyć, że wzrost ten był także spowodowany udziałem prac dr Wysok. Kolejnych 8 publikacji Kandydatki ukazało się w *Medycynie Weterynaryjnej*, pięć z nich w języku polskim, trzy następne w języku angielskim. Publikacje te ukazywały się na przestrzeni 5 lat, pomiędzy 2014 a 2019. Jedna z publikacji dr Beaty Wysok z zakresu zanieczyszczeń bakteriami z rodzaju *Clostridium* oraz *Clostridioides* produktów pszczelich również ukazała się w krajowym czasopiśmie „pszczelarskim” - w periodyku wydawanym przez puławski Zakład Pszczelnictwa skierniewickiego Instytutu Ogródnictwa – *Journal of Apicultural Science*. Jedna praca ukazała się *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*.

Osiem pozostałych prac z dorobku Pani dr Wysok opublikowanych po uzyskaniu stopnia dr nauk weterynaryjnych ukazało się w czasopismach spoza listy krajowych czasopism i były

to: wydawany przez Czeską Akademię Nauk Rolniczych - *Czech Journal of Food Science*, irański periodyk wydawany przez Tarbiat Modares University - *Journal of Agricultural Science and Technology*, periodyk wydawany przez International Bee Research Association - *Journal of Apicultural Research*, czasopismo wydawane przez American Dairy Science Association - *Journal of Dairy Science*, czasopismo wydawane przez Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI) - *Animals*, periodyk *Microbial Pathogenesis* wydawany przez Elsevier oraz wydawany przez Frontiers Editorial Office - *Frontiers in Microbiology*.

Podsumowując chciałabym podkreślić, że aż 26 z dwudziestu dziewięciu prac będących wynikiem badań prowadzonych przez dr Beatę Wysok opublikowano w czasopismach z listy JCR, w tym 21 w języku angielskim. Ranga tych czasopism wskazuje, że uzyskane wyniki zyskały akceptację międzynarodowych recenzentów i zostały uznane za ciekawe naukowo i warte udostępnienia szerokiej grupie odbiorców.

e) Informacja, czy kandydatka odgrywała wiodącą rolę w ramach powstawania współautorskich prac naukowych

We wszystkich czterech pracach składających się na osiągnięcie naukowe zatytułowane: *Patogenność szczepów Campylobacter spp. wyizolowanych od zwierząt rzeźnych i ludzi*, zgodnie ze złożonymi deklaracjami, udział Habilitantki był wiodący i polegał na opracowaniu koncepcji badań, zaplanowaniu i wykonaniu analiz laboratoryjnych, w zdecydowanej większości tych prac również na opracowaniu i interpretacji wyników, sformułowaniu wniosków i przygotowaniu prac do druku. W jednej z prac Habilitantka brała również udział w pobieraniu materiału do badań. Stosowne oświadczenia współautorów, stanowiące integralną część osiągnięcia naukowego będącego podstawą do uzyskania stopnia doktora habilitowanego, potwierdzają pierwszoplanowy udział dr Wysok w powstaniu tych prac.

Jak wynika z przedłożonych deklaracji, również udział dr Beaty Wysok w tworzeniu większości pozostałych prac był wiodący. W jednej pracy opublikowanej przed uzyskaniem stopnia doktora wkład Habilitantki polegał na przeprowadzeniu doświadczeń, opracowaniu wyników oraz przygotowaniu manuskryptu, w czterech kolejnych mających bardziej charakter przeglądowy na opracowaniu zagadnienia w oparciu o literaturę i wiedzę własną oraz przygotowaniu wstępnej wersji manuskryptu, czasami też przygotowaniu odpowiedzi dla recenzentów. Publikacyjny dorobek po uzyskaniu stopnia doktora nauk weterynaryjnych także powstawał przy znaczącym wkładzie Kandydatki. W ośmiu pracach wkład Habilitantki polegał na uczestnictwie w niemal wszystkich etapach, począwszy od planowania badań, ich realizacji, analizie, interpretacji, po napisanie manuskryptu. Habilitantka opisała to tak: przeprowadzenie części analiz laboratoryjnych, analiza wyników otrzymanych badań, współudział w interpretacji i dyskusji wyników, czasami koordynacja badań oraz przygotowanie wstępnej wersji manuskryptu/edycji manuskryptu. W pięciu pracach udział dr Wysok był również istotny – polegał m.in na opracowaniu metodyki, analizie statystycznej oraz przygotowaniu rycin. W sześciu publikacjach Habilitantka uczestniczyła w pojedynczych etapach, np. w przygotowaniu korekty merytorycznej i edycji manuskryptu, opracowaniu metodyki badań, czasami wykonaniu części badań laboratoryjnych. W dwóch pracach mających bardziej charakter przeglądowy dr Beata Wysok uczestniczyła w rozpoznaniu zagadnienia w oparciu o literaturę i wiedzę własną oraz przygotowaniu wstępnej wersji manuskryptu. Uważam, że opisany przez Habilitantkę udział w powstawaniu poszczególnych jej prac w dorobku świadczy o wszechstronnych jej umiejętnościach, zarówno manualnych przy wykonywaniu badań, ale także obserwacyjnych/analytycznych umożliwiających prawidłowe wnioskowanie i prowadzenie dyskusji. Przede wszystkim zaś świadczy o dobrym opanowaniu warsztatu pisania publikacji naukowych i umiejętności współpracy w zespole.

f) Ocena wskazanego przez kandydatkę osiągnięcia naukowego

Po przeprowadzeniu kompleksowej oceny osiągnięcia naukowego dr Beaty Wysok zatytułowanego *Patogenność szczepów Campylobacter spp. wyizolowanych od zwierząt rzeźnych i ludzi*, muszę stwierdzić, że osiągnięcie to świadczy o świetnym zmyśle obserwacyjnym i analitycznym Autorki. W moim odczuciu prace wyszczególnione w cyklu świadczą o Jej swobodnym poruszaniu się w zagadnieniach związanych z zakażeniami *Campylobacter* a podjęta ocena patogenności tych szczepów wyizolowanych od zwierząt rzeźnych – potencjalnych źródeł tych zakażeń u ludzi, a następnie podjęcie takich badań w stosunku do bakterii wyizolowanych u ludzi świadczy o pasji badacza nakazującej badanie przyczyn i efektów, a także o rozległości zainteresowań. Prace przedstawione przez Habilitantkę świadczą również o wyjątkowo rzetelnym podejściu do zagadnienia, szczególnie w odniesieniu do badania mechanizmów patogenności tych bakterii. Jako recenzentka z tego powodu odnajduję materiał zawarty w pracach dr Beaty Wysok jako istotny wkład naukowy dotyczący mechanizmów patogenności *Campylobacter* u zwierząt rzeźnych – bydła, trzody chlewnej oraz gęsi, a także ludzi na terenie Polski.

g) Informacja o spełnieniu przez kandydatkę kryterium dotyczącego wykazania się istotną aktywnością naukową

Niemal całość dorobku publikacyjnego Habilitantki dotyczy higieny mikrobiologicznej żywności pochodzenia zwierzęcego i koncentruje się na zagadnieniach, które można ująć w kilku obszarach tematycznych.

Pierwszy z nich to podejście ogólne do higieny żywności pochodzenia zwierzęcego i zagrożeń jakie z tego powodu wynikają dla człowieka. Godnym podkreślenia jest fakt, że dr Wysok interesowała przede wszystkim metody eliminacji tych zagrożeń, co przełożyło się na praktyczny aspekt badań. Najpierw Kandydatka uczestniczyła w badaniach nad zastosowaniem ozonu do inaktywacji drobnoustrojów. Co ważne, prowadziła je we współpracy z sektorem przemysłowym - firmą produkującą urządzenia do dezynfekcji sprzętu za pomocą ozonu. Uzyskane wyniki na tym polu zostały opublikowane w dwóch pracach, w jednej z nich opisano eliminację takich bakterii jak *E.coli*, *S. Enteritidis* i *A.aureus* za pomocą ozonu już po 120 minut. Druga z kolei praca ma charakter przeglądowy, w której autorzy omawiają zalety ozonu stosowanego w dezynfekcji sprzętu, który jest skuteczny a przede wszystkim nie wywiera skutków ubocznych na zdrowie człowieka. Kolejne metody eliminacji zagrożeń, które tym razem dr Wysok widziała ze strony bakterii *Campylobacter*, zogniskowały się na chlorze. Wyniki badań laboratoryjnych opublikowane przez Habilitantkę w puławskim periodyku wykazały, że środek ten już po 2 minutach działania znacznie redukuje ilość żywych komórek na powierzchni tuszek drobiowych, a po 5 minutach całkowicie uśmierca bakterie. W kolejnej publikacji dr Wysok opisała oddziaływanie mikrofal generowanych w zwykłej kuchence mikrofalowej na przeżywalność *Campylobacter* w gotowych produktach drobiowych – nuggetsach. Już po 60-90 sekundach działania fal o mocy 760-340W skutecznie eliminowało tą bakterię. Zainteresowanie Habilitantki higieną żywności pochodzenia zwierzęcego miało także odzwierciedlenie w jej badaniach nad występowaniem seroprewalencji *Toxoplasma gondii* w mięsie dzików upolowanych w północno-wschodniej Polsce. Okazało się, że występowanie zakażeń tym pierwotniakiem jest bardzo częste, gdyż ponad 70% przebadanych dzików posiadało przeciwciała, co Autorka przekuła w konkluzję w opublikowanym w Medycynie Weterynaryjnym artykule, że spożywanie mięsa dzików może przyczynić się do zwiększenia częstości występowania toksoplazmozy wśród konsumentów.

Trzy publikacje Habilitantki były odzwierciedleniem jej zainteresowań w obszarze tematycznym związanym z zagrożeniami mikrobiologicznymi oraz chemicznymi

wynikającymi ze spożywania przede wszystkim ryb, ale także skorupiaków oraz mięczaków. Wszystkie mają charakter przeglądowy.

Kolejna grupa badań dotyczyła występowania bakterii z rodzaju *Campylobacter* u drobiu. Efektem tych badań było sześć publikacji, które ukazały się w latach 2009-2015. W dwóch pierwszych zawarte były wyniki uzyskane w ramach doktoratu i dotyczyły stopnia zanieczyszczenia tym patogenem tuszek drobiowych – kur oraz indyków podczas kolejnych procesów poubojowych. Dwa artykuły miały charakter przeglądowy z zakresu przeżywalności bakterii w środowisku i źródeł zakażenia oraz z zakresu epidemiologii kamylobakteriozy oraz mechanizmów warunkujących patogenność bakterii. Dwa ostatnie artykuły z tej grupy badań dotyczyły wpływu cyklu hodowlanego drobiu na częstotliwość występowania *Campylobacter* w przewodzie pokarmowym ptaków.

Czwarty obszar zainteresowań Habilitantki dotyczył badań nad opornością na środki przeciwdrobnoustrojowe bakterii z rodzaju *Campylobacter* i *Salmonella*. Efektem tych badań były cztery publikacje, przy czym trzy dotyczyły *Campylobacter*. W pierwszej dr Wysok opisuje wyniki badań mleka surowego na obecność tych bakterii i ich wrażliwości na wybrane antybiotyki. Okazało się, że niemal 5% próbek surowego mleka była zakażona *C.jejuni*, a część tych szczepów była oporna na takie antybiotyki jak doksycyklina, tetracyklina i cyprofloksacyna. W kolejnej pracy Habilitantka zainteresowała się antybiotykowrażliwością *Campylobacter* zidentyfikowanych u zwierząt rzeźnych i ludzi z objawami enteropatii, natomiast w trzeciej – tymi bakteriami w podrobach drobiowych (wątróbce, sercu, żołądku, a także w jelitach ślepych). Czwarta praca dotyczyła występowania pałeczek *Salmonella* w próbkach mleka.

Produkty pszczele jako źródło przetrwalników bakterii z rodzajów *Clostridium* oraz *Clostridioides* to kolejny istotny obszar zainteresowań Habilitantki. Badaniom na obecność *Clostridium botulinum* poddano szereg próbek miodu pochodzących z małych pasiek na terenie Śląska, ale i z całej Polski a także z Litwy. Wyniki tych badań przedstawiono w trzech publikacjach w dobrych czasopismach z zakresu pszczelarstwa lub higieny żywności. W czwartej pracy z tego obszaru Habilitantka opisała występowanie *Clostridium difficile* w produktach pszczelich pochodzących z północno-wschodniej Europy.

Szósty obszar tematyczny dotyczył zakażeń *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* (MAP) u bydła. Habilitantka opisała swoje wyniki w dwóch artykułach. W pierwszym jej badania dotyczyły zakażeń MAP u cieląt pochodzących od matek zakażonych i zdrowych, natomiast w drugim poruszono problem izolacji MAP.

Ostatni obszar tematyczny, będący w kręgu zainteresowań dr Wysok to uczestnictwo w badaniach ankietowych. Habilitantka uczestniczyła w dwóch takich badaniach – jedno dotyczyło określenia wrażliwości sensorycznej na różne bodźce smakowe lekarzy weterynarii, natomiast drugie – czynników wpływających na ogólną satysfakcję tej grupy zawodowej z wykonywanej pracy i zestawienie postrzeganych przez nich trudności i sytuacji kryzysowych. Efektem tych badań ankietowych było współautorstwo w dwóch publikacjach.

Opisane powyżej najważniejsze zakresy tematyczne działalności naukowej dr Beaty Wysok wskazują na szeroki zakres jej zainteresowań i znaczące zaangażowanie w prowadzenie badań. Jej dotychczasowa aktywność jest wartościowa, nowatorska, znacząca nie tylko ilościowo, ale przede wszystkim jakościowo, ukierunkowana na ważne zagrożenia epidemiologiczne. Na uznanie zasługuje fakt, że w dorobku naukowym Habilitantki widać aspekty aplikacyjne, wyrażające Jej przekonanie o potrzebie prowadzenia badań naukowych wychodzących naprzeciw potrzebom praktyki weterynaryjnej, szczególnie w aspekcie eliminacji zagrożeń mikrobiologicznej ze strony produktów zwierzęcego pochodzenia. Moim zdaniem osiągnięcia Habilitantki wnoszą duży wkład w badania nad zagrożeniem mikrobiologicznym ze strony produktów zwierzęcego pochodzenia oraz w szeroko pojęty rozwój nauk weterynaryjnych.

Niestety, nie odnalazłam większości prac wymienianych jako Informacja o aktywności naukowej w załączonej dokumentacji. W folderze „Prace wskazujące na aktywność naukową” znajdują się tylko cztery pozycje (powinno ich być 26?), przy czym pozycja oznaczona jako *Publikacja nr 4* jest tożsama z pozycją identycznie nazwaną w folderze „Prace stanowiące osiągnięcie naukowe”.

h) Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych i popularyzujących naukę kandydatki

Habilitantka odbyła staże w zagranicznych ośrodkach naukowych. W 2014 r. w Department of Food Hygiene and Environmental Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Helsinki była na trzytygodniowym stażu dydaktycznym, a w 2019 r. na trzymiesięcznym stażu naukowym, a jej badania dotyczyły problematyki występowania *Campylobacter* u zwierząt i w produktach pochodzenia zwierzęcego, a zastosowane techniki do badań były bardzo nowatorskie (NGS). W 2018 r. Habilitantka odbyła wizytę w ramach program Erasmus+ w Department of Food Safety and Quality, Lithuanian University of Health Sciences, Kaunas na Litwie. Podobną wizytę odbyła również w Institute of Biomedical Sciences of Abel Salazar University of Porto w Portugalii. W ich trakcie prowadziła zajęcia dydaktyczne.

Pani dr Wysok odbyła także staże w krajowych ośrodkach. W 2012 r. nawiązała współpracę z Wydziałem Medycyny Weterynaryjnej, UP we Wrocławiu, a badania w ramach tej współpracy dotyczyły jakości mikrobiologicznej produktów pszczelich. W 2013 r. realizowała też staż dydaktyczny na SGGW w Warszawie.

W latach 2011-2014 Habilitantka była kierownikiem projektu NCN pt. *Porównanie cech patogenności drobnoustrojów rodzaju Campylobacter wyizolowanych od zwierząt rzeźnych i ludzi* oraz brała udział w projekcie międzynarodowym realizowanym przez Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN, włoski Department of Agricultural, Forest and Food Science oraz hiszpański AZTI Tecnalia pt. „C-SNIPER: *Campylobacter*-specific nullification via innovative phage-mediated enteropathogen reduction. Celem tego projektu było opracowanie bakteriofagów niszczących *Campylobacter* w przemyśle drobiarskim, a rola dr Wysok polegała na wyborze szczepów do badań i ich dokładnej charakterystyce genetycznej i fenotypowej.

Od niemal 12 lat (od 2008 r.) Habilitantka prowadzi ćwiczenia ze studentami IV i V roku Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UWM w Olsztynie z przedmiotów *Higiena zwierząt rzeźnych i mięsa* oraz *Higiena produktów pochodzenia zwierzęcego* zarówno w języku polskim jak i angielskim. Ponadto w latach 2008-2013 prowadziła ćwiczenia oraz wykłady z przedmiotu *Diagnostyka zakażeń biologicznych w żywności* na studiach II stopnia na Wydziale Biologii UWM w Olsztynie, kierunku biotechnologia, specjalność biotechnologia w medycynie weterynaryjnej. Przez 4 lata (2014-2018) prowadziła zajęcia *Diagnostyka zagrożeń biologicznych w żywności zwierzęcego pochodzenia* na studiach III stopnia na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej UWM w Olsztynie. Dwukrotnie głosiła wykłady w trakcie studium specjalizacyjnego „Higiena zwierząt rzeźnych i żywności pochodzenia zwierzęcego”. Od 2013 r. jest opiekunem Koła Naukowego Higienistów Żywności, niezwykle aktywnego pod jej przewodnictwem, gdyż dwukrotnie uzyskało ono finansowanie projektów w konkursie Rektora UWM w Olsztynie.

Umiejętności dydaktyczne Habilitantki wykorzystane zostały także do wygłaszania wykładów w ramach spotkań oddziałów PTNW (wykład w 2017 r. w Gdańsku) czy spotkaniach szkoleniowych organizowanych przez komercyjne firmy, ale także dla uczniów szkół podstawowych.

Habilitantka brała aktywny udział w 23 krajowych i międzynarodowych konferencjach naukowych. Jest także współautorem 6 artykułów w czasopismach popularno-naukowych.

Była członkiem w Komitecie organizacyjnym krajowej konferencji naukowej „Kampylobakterioza – stan obecny i perspektywy zmian” w Olsztynie (2015 r.).

Z innych osiągnięć Habilitantki należy wymienić współpracę przy organizacji 10. Olsztyńskich Dni Nauki i Sztuki, a także udział w charakterze członka Wydziałowej Komisji ds. Programu Studiów (od stycznia 2020 r.) oraz Senatu UWM w Olsztynie (od listopada 2019 r.).

Ponadto, Dr Wysok jest członkiem Polskiego Towarzystwa Mikrobiologicznego. Była recenzentem 6 publikacji naukowych w czasopismach krajowych (3) i zagranicznych (3).

Pani dr Wysok ustawicznie podnosi swoje kwalifikacje dydaktyczne i zawodowe poprzez uczestnictwo w szeregu kursów i szkoleń. W latach 2012-2019 odbyła w sumie 6 takich szkoleń. Dodatkowo, sama także prowadzi szkolenia – w 2017 r. prowadziła szkolenia dla pracowników prywatnego laboratorium Biolab.

Podsumowanie i opinia końcowa

Przyjmując za podstawę mojej oceny cykl powiązanych tematycznie publikacji oraz całokształt dorobku naukowo-badawczego w przesłanej do oceny dokumentacji uważam wkład dr n. wet. Beaty Wysok w rozwój nauk rolniczych w dyscyplinie weterynaria za oryginalny, nowy i cenny. Podobnie pozytywnie oceniam Jej dokonania w zakresie osiągnięć dydaktycznych, popularyzatorskich i organizacyjnych oraz współpracę z innymi jednostkami badawczymi. Drobne, powyższe uwagi w moim odczuciu mają charakter edycyjny i w żaden sposób nie umniejszają osiągnięć Habilitantki. Stwierdzam, że przedstawiony w ocenianej dokumentacji dorobek spełnia kryteria określone w art. 219 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2020 r. poz. 85 ze zm.) w obszarze nauk rolniczych w dyscyplinie weterynaria.

Zatem wnioskuję o podjęcie dalszych czynności w postępowaniu o nadanie dr n. wet. Beacie Izabeli Wysok stopnia naukowego doktora habilitowanego w dyscyplinie weterynaria.



dr hab. Katarzyna Domańska-Blicharz, prof. instytutu

