dr hab. Anna Gajda, prof. instytutu
Dział Badań Chemicznych Żywności i Pasz
Państwowy Instytut Weterynaryjny –
Państwowy Instytut Badawczy w Puławach

Puławy, 02.09.2026

Recenzja

rozprawy doktorskiej Pani mgr Marty Marii Sołtysiuk

„Potencjał infekcyjny oraz wrażliwość na substancje przeciwdrobnoustrojowe szczepów Listeria spp."

Przedłożona do recenzji praca została wykonana pod kierunkiem Promotora Pani dr hab. Agnieszki Wiszniewskiej - Łaszczych, prof. UWM w Katedrze Weterynaryjnej Ochrony Zdrowia Publicznego, Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Warmińsko – Mazurskiego w Olsztynie oraz Promotora Pomocniczego Pani dr Pauliny Przyborowskiej z Katedry Weterynaryjnej Ochrony Zdrowia Publicznego, Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Warmińsko – Mazurskiego w Olsztynie.

Podstawą formalną wykonania niniejszej recenzji jest Uchwała Nr 22/2026 Rady Naukowej Dyscypliny Weterynaria Uniwersytetu Warmińsko – Mazurskiego w Olsztynie z dnia 2 lipca 2026 r. oraz pismo Zastępcy Przewodniczącego Rady Naukowej Dyscypliny Weterynaria Uniwersytetu Warmińsko – Mazurskiego w Olsztynie, prof. dr hab. Krzysztofa Wąsowicza z dnia 9 lipca 2026 r.

Szerokie rozpowszechnienie w środowisku oraz rosnąca liczba zachorowań u ludzi sprawiają, że bakterie z rodzaju *Listeria* znajdują się w centrum uwagi świata nauki. Raport EFSA z 2025 roku wskazuje listeriozę jako czwartą najczęściej rejestrowaną zoonozę w Unii Europejskiej.

Listeria spp. wykazuje wyjątkowe zdolności adaptacyjne, które pozwalają jej przetrwać i namnażać się nawet w skrajnie niekorzystnych warunkach. Cecha ta ułatwia bakteriom bytowanie w zakładach produkcyjnych i przetwórczych (zarówno w sektorze spożywczym, jak i paszowym), co istotnie podnosi ryzyko skażenia żywności. Kolonizacja środowiska produkcyjnego przez te drobnoustroje staje się coraz poważniejszym wyzwaniem dla producentów, dla których stanowi to kluczowe zagrożenie mikrobiologiczne. Głównym źródłem zakażeń u ludzi pozostaje spożycie skażonej żywności – zwłaszcza gatunkiem *Listeria monocytogenes*. Ze względu na wysoką śmiertelność, listerioza jest uznawana za jedną z najgroźniejszych chorób przewodu pokarmowego o podłożu bakteryjnym.

Rozprawa doktorska Pani mgr Marty Sołtysiuk dotycząca potencjału infekcyjnego oraz wrażliwości na substancje przeciwdrobnoustrojowe szczepów *Listeria* spp. wpisuje się w kluczowe wyzwania współczesnej mikrobiologii, weterynarii oraz bezpieczeństwa żywności: monitorowanie i ograniczanie zagrożeń zoonotycznych związanych z opornością drobnoustrojów na leki (AMR) w łańcuchu „od pola do stołu".

Doktorantka postawiła sobie za cel uzupełnienie istniejących luk poznawczych dotyczących epidemiologii, oporności przeciwdrobnoustrojowej, potencjału wirulencji oraz zdolności adaptacyjnych bakterii *Listeria* spp. występujących w surowych rybach. Szczegółowym celem badań była charakterystyka bakterii z rodzaju *Listeria* izolowanych z ryb pochodzących z wód słodkowodnych Warmii i Mazur oraz wód Morza Bałtyckiego, określenie częstość występowania *Listeria* spp. i *L. monocytogenes* w analizowanym materiale, jak również identyfikacja grup serologicznych oraz ocena potencjału patogennego na podstawie obecności genów wirulencji, zdolności do tworzenia biofilmu i aktywności cytotoksycznej. Dokonano także oceny lekowrażliwości szczepów względem substancji przeciwdrobnoustrojowych stosowanych w terapii listeriozy w celu określenia znaczenia izolatów pod względem epidemiologicznym i potencjalnego zagrożenia dla zdrowia publicznego.

Praca doktorska stanowi zbiór dwóch oryginalnych publikacji, które zostały opublikowane w latach 2025-2026 o łącznym IF równym 6,2 z punktacją MEiN wynoszącą 280 pkt. Stosowne oświadczenia współautorów znajdują się w dokumentacji rozprawy doktorskiej. Wszystkie prace przeszły rygorystyczny proces oceny przez recenzentów, co już świadczy o ich jakości i naukowym poziomie. Każdy z artykułów przedstawia oryginalne dane przedstawione w klasycznym układzie dla publikacji badań eksperymentalnych, tj. w podziale na wstęp, materiał i metody, wyniki oraz dyskusję z wnioskami.

Pierwsza praca: ***Sołtysiuk M., Przyborowska P., Wiszniewska – Łaszczych A., Tobolski D.: Prevalence and antimicrobial resistance profile of Listeria spp. isolated from raw fish. BMC Veterinary Research. 2025. 21:333 - https://doi.org/10.1186/s12917-025-04792-y*** podejmuje istotny i aktualny problem z zakresu bezpieczeństwa żywności, weterynarii oraz zdrowia publicznego i stanowi cenny wkład w naukę o bezpiecznej żywności oraz epizootiologii. Pracę cechuje wysoka wartość aplikacyjna oraz uzyskanie niezwykle istotnych wyników. Wykazanie, że aż 98,1% izolatów *Listeria* spp. spełniało kryteria wielolekooporności (MDR), stanowi wyraźny sygnał dla organów nadzoru sanitarnego i sektora akwakultury. Wykazanie obecności szczepów wielolekoopornych wskazuje, że surowa ryba może być istotnym wektorem transmisji lekoopornych drobnoustrojów na konsumentów. W prezentowanej pracy autorzy użyli połączenia metod konwencjonalnych, identyfikacji fenotypowej, testów lekowrażliwości (metoda krążkowo-dyfuzyjna) oraz technik molekularnych (PCR), co świadczy o kompleksowym podejściu metodologicznym. Jednak jak sami autorzy przyznają w dyskusji, przeprowadzenie sekwencjonowania nowej generacji (NGS) czy też zastosowanie metody mikrorozcieńczeń (określenie MIC – *Minimum Inhibitory Concentration*) w ocenie lekowrażliwości, zamiast przesiewowej metody krążkowo-dyfuzyjnej, umożliwiłoby uzyskanie pełniejszego obrazu oraz dokładniejszych wyników ilościowych, lecz są to metody wysoce zaawansowane metodologicznie i technologicznie o bardzo wysokim stopniu złożoności. Na duże uznanie zasługuje przeprowadzenie zaawansowanej analizy statystycznej i bioinformatycznej. W pracy przebadano 750 próbek ryb z różnorodnych środowisk (zbiorniki stojące, płynące, środowisko słodkowodne, słonowodne) w okresie 3 lat (2020–2022), co stanowi dużą i reprezentatywną próbę badawczą. Wynik przedstawione w postaci 3 Rycin w przejrzysty sposób prezentują skomplikowane dane korelacyjne oraz rozkład oporności.

W drugiej pracy: ***Sołtysiuk M., Przyborowska P., Wiszniewska – Łaszczych A., Tobolski D.: Virulence, cytotoxicity potential and biofilm production ability of Listeria spp. isolated from raw fish in Poland. BMC Veterinary Research. 2026. 22:220 - https://doi.org/10.1186/s12917-026-05323-z,*** dokonano charakterystyki fenotypowej i genotypowej 104 izolatów z rodzaju *Listeria* (*L. monocytogenes* n=24, *L. seeligeri* n=36, *L. welshimeri* n=30, *L. innocua* n=14) wyizolowanych z surowych ryb w północnej Polsce. Autorzy ocenili profil genów zjadliwości (PCR), genoserogrupy *L. monocytogenes*, zdolność do tworzenia biofilmu metodą jakościową i ilościową, potencjał cytotoksyczny w stosunku do czterech linii komórkowych (*Caco-2*, *Vero*, *HT-29*, *Hep-G2*).

Doktorantka wykazała wysoki potencjał chorobotwórczy *L. monocytogenes*. Oznaczenie obecności genów wirulencji pozwoliło na charakterystykę molekularną izolatów *Listeria* spp. pozyskanych z ryb surowych. Wykazano wysoki poziom cytotoksyczności oraz pełny profil genów zjadliwości u szczepów *L. monocytogenes*. Interesującym aspektem przeprowadzonych analiz było wykrycie genów wirulencji, takich jak *plcA*, *iap* oraz *mpl* u gatunków powszechnie uznawanych za niepatogenne, w tym u *L. innocua* i *L. welshimeri*. Gen *plcA* stwierdzono u 78,6% izolatów *L. innocua* oraz 43,3% *L. welshimeri*. W kontekście zagrożenia epidemiologicznego określono również zdolność tworzenia biofilmu. Aż 69.2% wszystkich izolatów (niezależnie od gatunku) tworzyło biofilm w teście ilościowym. Zdolność ta nie była jednak statystycznie powiązana z obecnością genu *luxS*. Przeprowadzona analiza molekularna wyizolowanych szczepów uznawanych za niepatogenne dowodzą, że bakterie te stanowią środowiskowy rezerwuar genów wirulencji.

Na uwagę zasługuje fakt kompleksowego podejścia badawczego. Połączenie analizy genetycznej (PCR) z funkcjonalnymi testami fenotypowymi (cytotoksyczność na 4 liniach komórkowych oraz dwa niezależne testy oceniające produkcję biofilmu) znacząco podnosi wartość naukową pracy. Również tutaj warto podkreślić przejrzystą wizualizacja dużej ilości, złożonych danych. Rycina 1 doskonale przedstawia zależność między gatunkami, profilem genów wirulencji a poziomem wytwarzania biofilmu. Rycina 2 czytelnie prezentuje dynamikę cytotoksyczności w czasie.

Doktorantka słusznie zauważa w dyskusji, że warunki badania produkcji biofilmu przeprowadzono w temperaturze 37° C w celu ujednolicenia warunków z testami cytotoksyczności. Należy jednak zaznaczyć, że w środowisku przetwórstwa rybnego bakterie te funkcjonują jednak w temperaturach chłodniczych, gdzie ekspresja genów i struktura biofilmu mogą wyglądać inaczej.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska zawiera także polskojęzyczny komentarz będący częścią prezentowanego zagadnienia badawczego, które podjęła Doktorantka. Omówienie tematu liczy 56 stron i zawiera 135 starannie dobranych pozycji literaturowych. Tekst jest spójny, logiczny, poprawny merytorycznie, obejmujący uzasadnienie naukowe, opis metod badawczych, wyniki złożonych badań oraz rozbudowaną dyskusję.

Wstęp doskonale wprowadza w tematykę zagrożeń związanych z patogenami z rodzaju *Listeria* w żywności pochodzenia morskiego i słodkowodnego. Dobrze zarysowano tło epidemiologiczne i mechanizmy lekoorporności. Cele pracy są sformułowane precyzyjnie, logicznie i jednoznacznie. Część „Materiał i Metody" jest obszerna z bardzo szczegółowym opisem metodycznym, zgodnym ze standardami ISO i EUCAST. Zastosowanie szczegółowej

analizy statystycznej zasługuje na bardzo wysoką ocenę. W sekcji „Wyniki", przedstawiono dane w sposób przejrzysty z wykorzystaniem ustrukturyzowanych podpunktów i tabel. Wyniki są obszerne i kompleksowe – łączą dane hodowlane, molekularne oraz testy fenotypowe. W punkcie 6.2 tej części znajduje się jednak niedokończone zdanie (brak nazwy antybiotyku i wartości: *„...oraz u , natomiast w przypadku cefotaksymu..."*). W „Dyskusji" doktorantka w dojrzały naukowo sposób zinterpretowała uzyskane wyniki na tle światowych badań. Trafnie uwypuklono problem krytycznie wysokiej wielolekoorporności oraz zagrożeń wynikających z obecności wysp patogenności w izolatach pochodzących z ryb surowych. Opracowanie zostało podsumowane 6 wnioskami. Przedstawione wnioski stanowią spójne, merytoryczne i wartościowe podsumowanie badań. Wnioski jasno identyfikują rezerwuar bakterii w zależności od środowiska oraz zwracają uwagę na istotne zagrożenie dla zdrowia publicznego - wysoki poziom oporności na antybiotyki i wielolekooporność. Badania trafnie wiążą cechy fenotypowe z podłożem genetycznym.

Rozprawa doktorska mgr Mart Sołtysiuk podejmuje aktualny temat badawczy. Ryby surowe i słabo przetworzone stanowią znany wektor zakażeń *Listeria monocytogenes*, a dane dotyczące polskich izolatów pochodzących z tego surowca były dotychczas ograniczone. Według szacunków konsumpcja produktów akwakultury do roku 2050 może zwiększyć się nawet o 80%. Prowadzi to do wzrostu znaczenia zapewnienia bezpieczeństwa zdrowotnego żywności tego rodzaju, jako potencjalnego źródła patogenów. Szczególnie istotny jest fakt, iż badane izolaty *Listeria* pochodziły z ryb świeżych przeznaczonych do spożycia. Wzrost popularności produktów spożywanych bez obróbki termicznej, takich jak sushi, sashimi czy ryby marynowane, zwiększa prawdopodobieństwo ekspozycji konsumentów na szczepy *Listeria,* wykazujące oporność na wiele grup substancji przeciwbakteryjnych.

W mojej ocenie doktorantka w swoich badaniach uzyskała wiele cennych obserwacji. Recenzowana praca charakteryzuje się istotnym znaczeniem naukowym, poznawczym i aplikacyjnym w trzech kluczowych obszarach dotyczących: 1) Oceny zagrożenia dla zdrowia publicznego; 2) Monitorowania narastającej oporności na antybiotyki; 3) Bezpieczeństwa żywności i nadzoru higienicznego.

1) Określenie wirulencji oraz mechanizmów infekcyjnych lokalnych szczepów baterii z rodzaju *Listeria* (w szczególności *Listeria monocytogenes)* pozwala na dokładniejsze szacowanie ryzyka dla konsumentów. Ze względu na możliwość wywoływania ciężkich postaci listeriozy, szczególnie u osób należących do grupy wysokiego ryzyka, identyfikacja oraz ograniczenie

zagrożeń związanych z obecnością *Listeria* spp. w produktach rybnych mają kluczowe znaczenie dla zdrowia publicznego

2) Wzrastająca oporność bakteryjna na standardowo stosowane leki (np. ampicylinę czy trimetoprim z sulfametoksazolem) stanowi poważne zagrożenie kliniczne. Badanie profilu wrażliwości umożliwia wykrycie nowych wzorców oporności oraz ocenę skuteczności alternatywnych substancji przeciwdrobnoustrojowych. W badaniach własnych stwierdzono bardzo wysoki odsetek szczepów *L. monocytogenes* opornych na cyprofloksacynę (91,7%), erytromycynę (75,0%) oraz tetracyklinę (75,0%). Szczególnie niepokojący jest fakt, że wszystkie izolaty *L. monocytogenes* wykazały oporność na oksacylinę, meropenem, ryfampicynę, klindamycynę, cefoksytynę, cefotaksym oraz trimetoprim/sulfametoksazol, które należą do różnych klas substancji przeciwbakteryjnych, co może stanowić znaczący problem w terapii listeriozy. Część tych wyników jest związana z naturalną opornością charakterystyczną dla rodzaju *Listeria*, zwłaszcza wobec cefalosporyn, skala obserwowanego zjawiska wskazuje na szerokie rozpowszechnienie mechanizmów ograniczających skuteczność terapeutyczną tej grupy antybiotyków.

3) W pracy wykazano, ze większość (ponad 60%) izolatów *Listeria* spp., bez względu na gatunek, wykazywała zdolność do tworzenia biofilmu w warunkach *in vitro*. Zrozumienie zdolności do tworzenia biofilmu oraz przetrwania szczepów *Listeria* spp. w środowisku produkcyjnym pozwala na opracowanie skuteczniejszych metod prewencyjnych w przemyśle spożywczym i przetwórstwie mięsnym oraz mleczarskim. Jednak produkcja biofilmu jest zjawiskiem wieloczynnikowym, zależnym od wielu mechanizmów i kwestia ta wymaga dalszych badań.

Wartość naukową recenzowanej rozprawy oceniam wysoko, jednak prosiłabym o ustosunkowanie się do kliku kwestii (pytań):

- Badania ograniczono wyłącznie do terenu północnej Polski, tym samym izolaty pochodziły z ograniczonego regionu. W jakim stopniu zdaniem doktorantki można uogólnić uzyskane wyniki na cały kraj czy też rynek międzynarodowy?
- W jakich dokładnie miesiącach/porach roku pobierano próbki ryb i czy zaobserwowano sezonowość w częstości izolacji szczepów *Listeria*?
- Czy jakość oraz parametry fizykochemiczne wody (temperatura, pH, zasolenie, stężenie tlenu) mogą mieć wpływ, zdaniem doktorantki, na częstość izolacji i różnorodność gatunkową *Listeria* spp.?

- W jakich warunkach chłodniczych/zamrażalniczych i jak długo przechowywano próbki od momentu pobrania do analizy i czy można określić wpływ czasu przechowywania ryb na ekspresję genów wirulencji?
- Jaka była dokładna nazwa antybiotyku oraz brakujący odsetek oporności w niedokończonym zdaniu w sekcji 6.2?

Podsumowując, recenzowana praca jest innowacyjna i wnosi istotny wkład w naukę o bezpieczeństwie żywności i epizootiologii. Uzyskane wyniki dostarczyły istotnych danych dotyczących znaczenia epidemiologicznego bakterii z rodzaju *Listeria* wyizolowanych z ryb, stanowiąc nowatorski i oryginalny wkład w badania nad tymi drobnoustrojami. Szczególną wartością przedstawionej pracy jest kompleksowa charakterystyka izolatów *Listeria* spp., dotychczas nie opisywana w tak szerokim zakresie badawczym. Uzyskane wyniki potwierdziły, iż surowe ryby mogą stanowić rezerwuar szczepów *L. monocytogenes* o wysokim potencjale patogennym i znacznym poziomie lekooporności. Podjęcie badań związanych z określeniem zdolności do tworzenia biofilmu jest niezwykle istotnym elementem oceny potencjału adaptacyjnego *Listerii* i przetrwania w środowisku przetwórstwa żywności.

Kompleksowe badania izolatów *Listerii spp* pozwoliły na uzyskanie nowych danych istotnych zarówno z punktu widzenia zdrowia publicznego, jak i bezpieczeństwa żywności, wpisując się w aktualne światowe kierunki badań nad zagrożeniami związanymi z *Listeria* spp. w produktach rybołówstwa.

W związku z powyższym, jednoznacznie stwierdzam że recenzowana przez mnie rozprawa doktorska Pani mgr Marty Marii Sołtysiuk pt. „ *Potencjał infekcyjny oraz wrażliwość na substancje przeciwdrobnoustrojowe szczepów Listeria spp.*", odpowiada warunkom określonym w art. 187 ust. 1-4 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2024, poz. 1571, z późn. zm.) i przedkładam Wysokiej Radzie Naukowej Dyscypliny Weterynaria Uniwersytetu Warmińsko – Mazurskiego w Olsztynie wniosek o dopuszczenie Pani mgr Marty Marii Sołtysiuk do publicznej obrony recenzowanej rozprawy doktorskiej.

Jednocześnie, uwzględniając oryginalność oraz nowatorski charakter badań, rekomenduje wyróżnienie tej pracy stosowną nagrodą.

Anna Gajda