Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
ul. Wojska Polskiego 28
60-637 Poznań
tel. +48 61 848 70 01
e-mail: rektorat@up.poznan.pl

WYDZIAŁ MEDYCYNY WETERYNARYJNEJ I NAUK O ZWIERZĘTACH
Katedra Nauk Przedklinicznych i Chorób Zakaźnych

dr hab. lek. wet. Mirosław Różycki

Poznań, dnia 25.08.2026

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Marty Marii Sołtysiuk
Tytuł rozprawy: „Potencjał infekcyjny oraz wrażliwość na substancje przeciwdrobnoustrojowe szczepów *Listeria* spp. wyizolowanych z ryb"

Pracę wykonano w Katedrze Weterynaryjnej Ochrony Zdrowia Publicznego, Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie, pod kierunkiem dr hab. Agnieszki Wiszniewskiej-Łaszczych, prof. UWM, z udziałem promotora pomocniczego dr Pauliny Przyborowskiej

Podstawa formalna opracowania recenzji
Recenzję rozprawy doktorskiej mgr Marty Marii Sołtysiuk opracowałem w związku z powołaniem mnie, uchwałą Rady Naukowej Dyscypliny Weterynaria Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie z dnia 2 lipca 2026 r., na recenzenta przedmiotowej rozprawy, o czym zostałem poinformowany pismem z dnia 9 lipca 2026 r., znak WMW-DZ.5201.4.2026.

Oceny dokonano w odniesieniu do wymagań określonych w art. 187 ust. 1 - 4 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, dotyczących wykazania przez kandydata ogólnej wiedzy teoretycznej, umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej oraz przedstawienia oryginalnego rozwiązania problemu naukowego.
Dziedzina: nauki weterynaryjne
Dyscyplina: weterynaria
Ogólna charakterystyka recenzowanej rozprawy doktorskiej
Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska ma formę opracowania opartego na dwóch oryginalnych, powiązanych tematycznie publikacjach naukowych:
1. 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. IF-3,2
2. 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. IF-3,2

Doktorantka jest pierwszą autorką obu publikacji. Zgodnie z przedstawionymi deklaracjami wkładu autorów uczestniczyła w opracowaniu metodyki badań, pobieraniu i gromadzeniu materiału, wykonywaniu doświadczeń, walidacji wyników oraz przygotowaniu pierwotnych wersji obu manuskryptów. Zakres zadeklarowanych czynności wskazuje na jej istotny udział w przygotowaniu cyklu publikacyjnego stanowiącego podstawę rozprawy. Tematyka pracy mieści się w obszarze nauk weterynaryjnych i obejmuje zagadnienia z zakresu mikrobiologii, bezpieczeństwa żywności, zdrowia publicznego, oporności na substancje przeciwdrobnoustrojowe oraz zdolności do tworzenia biofilmu. Poszczególne części cyklu są ze sobą powiązane przedmiotowo i metodycznie, a ich wspólnym elementem jest rozbudowana charakterystyka szczepów bakterii *Listeria* spp. wyizolowanych z surowych ryb. Badania objęły występowanie bakterii z rodzaju *Listeria*, ich identyfikację gatunkową, fenotypową ocenę lekowrażliwości, analizę obecności wybranych genów związanych z opornością, identyfikację markerów wirulencji, genoserogrupowanie izolatów *L. monocytogenes*, ocenę zdolności tworzenia biofilmu oraz badanie aktywności cytotoksycznej wobec wybranych linii komórkowych. Tak szerokie podejście umożliwiło wielokierunkową charakterystykę zgromadzonej kolekcji izolatów i stanowi jedną z zalet rozprawy.

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
ul. Wojska Polskiego 28
60-637 Poznań
tel. +48 61 848 70 01
e-mail: rektorat@up.poznan.pl

Ocena oryginalności doboru i rozwiązania problemu naukowego

Bakterie z rodzaju *Listeria*, a zwłaszcza *L. monocytogenes*, pozostają istotnym zagrożeniem mikrobiologicznym związanym z żywnością. Szczególne znaczenie mają tu produkty gotowe do spożycia. Do tej grupy należą między innymi produkty rybne solone, marynowane, wędzone, pakowane próżniowo i przechowywane przez stosunkowo długi czas. Za dużą wartość pracy uważam objęcie badaniami materiału pochodzącego ze śledzi. W przeciwieństwie do łososia wędzonego, który był przedmiotem licznych badań dotyczących występowania, przeżywalności i wzrostu *L. monocytogenes*, bezpieczeństwo mikrobiologiczne produktów ze śledzia pozostaje relatywnie słabo rozpoznane. Ma to istotne znaczenie praktyczne, ponieważ śledzie są powszechnie spożywane jako produkty gotowe do spożycia. Na uwagę zasługują również wyniki dotyczące ryb słodkowodnych. Stwierdzona w badanym materiale obecność *L. monocytogenes* wskazuje na potrzebę uwzględnienia tej kategorii surowca w dalszych badaniach i systemach nadzoru nad bezpieczeństwem żywności. Badania wykonane w ramach rozprawy koncentrują się więc na grupach surowców słabiej rozpoznanych niż inne, co zwiększa poznawczą i aplikacyjną wartość uzyskanych wyników.

Aktualność jest kolejną zaletą rozprawy, ponieważ podejmuje problematykę zgodną z kierunkami rozwijanymi obecnie przez EFSA. Uzyskane wyniki dobrze wpisuje się w koncepcję „One Health", łączącą zagadnienia środowiska, żywności, zdrowia zwierząt i człowieka. Kolejnym wartościowym aspektem rozprawy jest objęcie badaniami nie tylko *L. monocytogenes*, ale również *L. innocua*, *L. seeligeri* i *L. welshimeri*. Pozwoliło to na scharakteryzowanie szerszej populacji bakterii z rodzaju *Listeria*, a nie wyłącznie gatunku uznawanego za główny czynnik etiologiczny listeriozy. Takie podejście może dostarczać informacji dotyczących ekologii rodzaju *Listeria*, dystrybucji wybranych genów oraz cech fenotypowych występujących również u gatunków uznawanych za niepatogenne lub mniej patogenne. W mojej ocenie należy zachować ostrożność w stosowaniu określenia „rezerwuar". Przeprowadzone badania potwierdzają występowanie *Listeria* spp. i określonych determinant genetycznych w badanych rybach, nie pozwalają jednak wykazać ich trwałego utrzymywania się w środowisku ani transmisji genów pomiędzy szczepami. W tym kontekście bardziej adekwatne byłoby określenie „potencjalne źródło" lub „potencjalny rezerwuar".

Pomimo wskazanej uwagi wybór problematyki badawczej oceniam bardzo pozytywnie. Dane dotyczące właściwości szczepów *Listeria* spp. izolowanych z surowych ryb w Polsce są ograniczone, a przedstawione badania poszerzają wiedzę na ten temat.

W świetle przedstawionych wyników uznaję, że rozprawa stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego w rozumieniu art. 187 ust. 2 ustawy.

Ocena piśmiennictwa

Piśmiennictwo wykorzystane w rozprawie odpowiada jej zakresowi tematycznemu i umożliwia przedstawienie aktualnego stanu wiedzy dotyczącego występowania, lekowrażliwości, wirulencji oraz zdolności tworzenia biofilmu przez bakterie z rodzaju Listeria. Dobór źródeł stanowi właściwą podstawę do interpretacji uzyskanych wyników i dyskusji z dotychczasowymi doniesieniami.

Ocena celów i hipotez badawczych

Cele i hipotezy badawcze pozostają zgodne z zakresem przeprowadzonych doświadczeń i zostały w większości bezpośrednio zweryfikowane za pomocą zastosowanych metod. Niektóre zależności, zwłaszcza dotyczące wpływu środowiska pochodzenia ryb oraz molekularnego podłoża obserwowanych fenotypów oporności, wymagają ostrożniejszej interpretacji. Nie podważa to jednak zasadności przyjętej koncepcji badawczej.

Ocena wiedzy teoretycznej zaprezentowanej przez doktorantkę

Rozprawa potwierdza dobrą znajomość przez Doktorantkę problematyki bakterii z rodzaju *Listeria*, ich znaczenia dla bezpieczeństwa żywności, mechanizmów oporności i wirulencji oraz zdolności tworzenia biofilmu. Zakres przeprowadzonych badań wymagał integracji wiedzy z mikrobiologii żywności, bakteriologii, biologii molekularnej i biologii komórki. Doktorantka wykazała umiejętność wykorzystania tej wiedzy do planowania i interpretacji wielokierunkowych badań. Pojedyncze uwagi dotyczące zakresu interpretacji wyników nie zmieniają pozytywnej oceny jej przygotowania teoretycznego. Niektóre sformułowania interpretacyjne wymagają jednak większej precyzji. Dotyczy to pojęcia rezerwuaru, interpretacji kategorii oporności ustalonych z wykorzystaniem kryteriów zastępczych, oraz wnioskowania o potencjale infekcyjnym na podstawie obecności genów i cytotoksyczności ekstraktów bezkomórkowych. Uwagi te odnoszą się głównie do zakresu wnioskowania, a nie do zasadniczej znajomości problematyki.

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
ul. Wojska Polskiego 28
60-637 Poznań
tel. +48 61 848 70 01
e-mail: rektorat@up.poznan.pl

Rozprawa dokumentuje odpowiedni poziom wiedzy teoretycznej Doktorantki w dyscyplinie weterynaria.

Ocena umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej

Materiał badawczy

Materiał badawczy obejmował 750 próbek surowych ryb pobranych w latach 2020 - 2022. Liczebność materiału wejściowego stanowi bardzo mocną stronę rozprawy. Badano ryby związane ze środowiskiem słodkowodnym, obejmującym wody stojące i przepływowe, oraz ze środowiskiem morskim. Z badanego materiału uzyskano 104 izolaty należące do czterech gatunków: *L. seeligeri* - 36, *L. welshimeri* - 30, *L. monocytogenes* - 24 oraz *L. innocua* - 14 izolatów. Interesującym elementem pracy jest porównanie izolatów pochodzących z różnych środowisk wodnych i od różnych gatunków ryb. Uzyskane wyniki wskazują na zróżnicowanie występowania poszczególnych gatunków *Listeria* spp. w analizowanych grupach i stanowią wartościowy punkt wyjścia do dalszych badań.

Izolacja i identyfikacja bakterii

Izolację bakterii prowadzono zgodnie z normą PN-EN ISO 11290-1:2017-07. Zastosowanie znormalizowanej metody jest właściwe i zwiększa porównywalność wyników co stanowi mocną stronę metodyczną badań. Uzyskane wyniki mają wartość porównawczą i mogą być wykorzystane w szerszych analizach bezpieczeństwa żywności i ocenie ryzyka, w tym w kontekście danych gromadzonych przez EFSA czy WHO.

Wyjaśnienia wymaga sposób określenia jednostki analizy. W części metodycznej podano, że z każdej płytki wybierano trzy typowe kolonie *Listeria* spp, traktowane następnie jako oddzielne izolaty. W wynikach natomiast 104 uzyskane izolaty utożsamiono z 104 dodatnimi próbkami, obliczając prewalencję na poziomie 13,9%.

Ocena lekowrażliwości

Lekowrażliwość oceniano metodą dyfuzyjno-krążkową zgodnie z wytycznymi EUCAST i CLSI, wykorzystując szeroki panel 17 substancji reprezentujących 13 grup środków przeciwdrobnoustrojowych. Pozwoliło to na uzyskanie rozbudowanego profilu fenotypowego badanych izolatów i stanowi wartościowy element rozprawy, szczególnie wobec ograniczonej liczby danych dotyczących oporności *Listeria* spp. izolowanych z ryb.

Analiza genów związanych z opornością

Metodą PCR analizowano 11 genów związanych z opornością na β-laktamy, makrolidy, glikopeptydy i sulfonamidy. Zakres analizy genetycznej był więc węższy niż zakres badania fenotypowego obejmującego 17 substancji. Stwierdzona niepełna zgodność pomiędzy genotypem a fenotypem jest jednak wartościowym wynikiem, wskazującym na udział innych mechanizmów oporności. Jednocześnie oznacza to, że na podstawie badanego panelu genów nie można w pełni wyjaśnić molekularnego podłoża wszystkich obserwowanych fenotypów oporności co zaznaczyła Doktorantka w swojej pracy.

Ocena zdolności tworzenia biofilmu

Na bardzo dobrą ocenę zasługuje zastosowanie przez Doktorantkę dwóch komplementarnych metod oceny zdolności tworzenia biofilmu oraz podjęcie próby określenia ich zgodności. Wartościowym elementem było również zbadanie związku pomiędzy fenotypem biofilmotwórczym a obecnością genu luxS. Takie podejście umożliwiło bardziej wszechstronną ocenę tej cechy i wykazało, że obecność pojedynczego genu luxS nie wyjaśnia w pełni zdolności badanych szczepów do tworzenia biofilmu. W opisie wyników dotyczących tworzenia biofilmu występują jednak drobne nieścisłości liczbowe. W analizie ilościowej podano 47 izolatów słabo produkujących biofilm (44,2%), podczas gdy odsetek ten odpowiada 46 spośród 104 izolatów; wartość 46 jest również zgodna z sumą wyników dla poszczególnych gatunków oraz z publikacją stanowiącą podstawę rozprawy. Ponadto w dyskusji rozprawy wskazano, że zdolność tworzenia biofilmu wykazywało 62,9% izolatów, podczas gdy w publikacji podano wartość 69,2%. Rozbieżności te nie wpływają na ogólną interpretację wyników, wymagają jednak wyjaśnienia.

Ocena cytotoksyczności

Zastosowanie czterech linii komórkowych oraz testu WST-1 stanowi wartościowy i wyróżniający element rozprawy, poszerzający charakterystykę badanych izolatów o ocenę ich aktywności biologicznej in vitro. Pewnego doprecyzowania wymaga jednak sposób przygotowania ekstraktów. W opisie metody podano końcowe stężenie wankomycyny wynoszące 15% w/v. Warto wyjaśnić, czy wartość ta została podana prawidłowo oraz w jaki sposób uwzględniono możliwość wpływu samej

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
ul. Wojska Polskiego 28
60-637 Poznań
tel. +48 61 848 70 01
e-mail: rektorat@up.poznan.pl

wankomycyny na żywotność i aktywność metaboliczną badanych linii komórkowych. Zastosowany model należy przy tym traktować jako użyteczne narzędzie do oceny aktywności cytotoksycznej produktów bakteryjnych in vitro, a nie jako pełne odtworzenie procesu zakażenia.

Ocena analizy statystycznej

W pracy zastosowano szeroki zestaw metod statystycznych, obejmujący m.in. testy chi-kwadrat i dokładne testy Fishera, korekty dla wielokrotnych porównań, współczynniki V Craméra, Phi i Spearmana, współczynnik kappa Cohena, testy nieparametryczne oraz modele regresji logistycznej wraz z analizą ROC i wartości AUC. Dobór metod był odpowiedni do charakteru analizowanych danych i umożliwił wieloaspektową ocenę zależności pomiędzy przynależnością gatunkową izolatów, obecnością badanych genów oraz ich właściwościami fenotypowymi. Szeroki zakres zastosowanych analiz statystycznych świadczy o dobrym przygotowaniu Doktorantki do samodzielnej analizy i interpretacji złożonych danych badawczych.

Prezentacja wyników lekowrażliwości

Uzyskane wyniki pozwoliły na szeroką charakterystykę badanej kolekcji izolatów oraz ocenę występowania fenotypów oporności wielolekowej. W publikacji z 2025 r. można jednak zauważyć różnice pomiędzy częstościami oporności przedstawionymi w tabeli 5 a wartościami zamieszczonymi w tekście (cefotaksym- 98,1% w tabeli/ 97,1% w tekście, klindamycyna - 92,3% / 96,2%, ampicylina - 43,3% i 47,1% w tekście). Rozbieżności mogą wynikać z wykorzystania kolejnych wersji zestawienia wyników albo mieć charakter redakcyjny. Dodatkowego wyjaśnienia wymaga zapis dotyczący enrofloksacyny, w którym taki sam odsetek izolatów *L. monocytogenes*, wynoszący 58,3%, przypisano zarówno do kategorii opornej, jak i średnio wrażliwej. Przy rozłącznych kategoriach interpretacyjnych wartości te nie mogą jednocześnie dotyczyć tej samej grupy 24 izolatów bez przekroczenia jej liczebności.

Wskazane różnice nie zmieniają zasadniczego obrazu uzyskanych wyników, ale mają znaczenie dla przejrzystości prezentacji danych.

Całość przedstawionych badań potwierdza umiejętność Doktorantki samodzielnego prowadzenia pracy naukowej.

Ocena omówienia wyników i wniosków

Omówienie wyników jest zasadniczo prawidłowe i odnosi uzyskane dane do aktualnego stanu wiedzy. Doktorantka podejmuje próbę interpretacji wyników w szerszym kontekście mikrobiologii i bezpieczeństwa żywności. Wskazane w recenzji zastrzeżenia dotyczą przede wszystkim zakresu niektórych interpretacji i nie wpływają na pozytywną ocenę tej części rozprawy.

Ocena znaczenia praktycznego

Uzyskane wyniki mają znaczenie praktyczne dla oceny zagrożeń związanych z występowaniem *Listeria* spp. w rybach oraz mogą wspierać ukierunkowanie dalszych badań i nadzoru nad bezpieczeństwem produktów rybnych.

Ocena strony formalnej i językowej opracowania

Rozprawa została przygotowana w układzie umożliwiającym zapoznanie się z założeniami badań, zastosowanymi metodami, wynikami i ich interpretacją. Cykl dwóch publikacji jest tematycznie spójny, a kolejne analizy tworzą logiczną charakterystykę zgromadzonej kolekcji izolatów.

W tekście występują drobne błędy składniowe, fleksyjne i literowe, między innymi: kompleksowe badania ... pozwoliło, określenie częstość występowania, należące go rodzaju, ujemy potencjał czy zastawu identyfikującego. W publikacji z 2025 r. w tabeli 5 pojawiają się również formy *L. seligeri* i *L. weshimeri* zamiast prawidłowych *L. seeligeri* i *L. welshimeri*. Wskazane uchybienia mają charakter głównie redakcyjny i porządkujący, nie wpływają na wartość merytoryczną ani naukową rozprawy.

Zagadnienia wymagające wyjaśnienia podczas obrony

W związku z przedstawionymi uwagami proszę Doktorantkę o odniesienie się podczas publicznej obrony do następujących zagadnień:

1. Ile spośród 750 badanych próbek było rzeczywiście dodatnich i jaka była relacja pomiędzy liczbą dodatnich próbek a liczbą 104 analizowanych izolatów?
2. Jak uzasadniono zastosowanie wartości granicznych opracowanych dla Staphylococcus spp. i Enterococcus spp. do interpretacji wyników uzyskanych dla *Listeria* spp.?
3. Który zestaw danych dotyczących lekowrażliwości należy uznać za ostateczny i jak należy interpretować rozbieżność dotyczącą enrofloksacyny (wartości przedstawione w abstrakcie, opisowej części wyników czy wartości zamieszczone w tabeli 5)?

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
ul. Wojska Polskiego 28
60-637 Poznań
tel. +48 61 848 70 01
e-mail: rektorat@up.poznan.pl

4. Z czego wynikało zastosowanie wankomycyny w stężeniu 15% (w/v) i w jaki sposób kontrolowano jej ewentualny wpływ na badane linie komórkowe?
5. Jak Doktorantka ocenia wpływ powiązania gatunku ryby ze środowiskiem jej pochodzenia na wnioski dotyczące różnic pomiędzy wodami stojącymi, wodami przepływowymi i środowiskiem morskim?
6. Które ograniczenie obecnej pracy Doktorantka uważa za najważniejsze do rozwiązania w pierwszej kolejności i dlaczego?

Wnioski końcowe

Stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr Marty Marii Sołtysiuk spełnia wymagania określone w art. 187 ust. 1 - 4 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce.

Oceniając całość przedstawionego osiągnięcia naukowego pozytywnie, wnoszę o dopuszczenie Doktorantki do publicznej obrony oraz dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora w dziedzinie nauk weterynaryjnych, w dyscyplinie weterynaria.

Wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej

Uwzględniając obszerny materiał badawczy obejmujący 750 próbek, kompleksowy i wielokierunkowy charakter przeprowadzonych badań, obejmujących zarówno analizy fenotypowe i genotypowe, jak również ocenę tworzenia biofilmu i aktywności cytotoksycznej, a także oryginalność wyników dotyczących słabiej dotychczas rozpoznanych grup ryb, uważam, że rozprawa doktorska mgr Marty Marii Sołtysiuk wyróżnia się wysoką wartością poznawczą i aplikacyjną. Na szczególne podkreślenie zasługuje połączenie szerokiego zakresu metod badawczych z rozbudowaną analizą statystyczną oraz uzyskanie danych mogących mieć znaczenie dla oceny zagrożeń mikrobiologicznych związanych z produktami rybnymi. W związku z powyższym wnoszę o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.

Mirosław Różycki

dr hab. Mirosław Różycki