

Warszawa 20. 05. 2020 r.

Dr hab. Krzysztof Anusz, prof. Uczelni

Instytut Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie

Katedra Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Publicznego

Ocena

Osiągnięcia naukowego oraz dorobku naukowo-badawczego, dydaktycznego i popularyzatorskiego dr Ewy Wałęckiej - Zacharskiej jako osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego

Sylwetka habilitantki

Dr Ewa Wałęcka - Zacharska ukończyła Wydział Nauk o Żywności Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu w roku 2008, uzyskując tytuł magistra biotechnologii (w roku 2006 uzyskała tytuł inżyniera biotechnologii). W roku 2012 obroniła na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu pracę doktorską pt. **”Badanie wpływu stresu środowiskowego na wirulencję *Listeria monocytogenes*”**. W latach 2011-2013 była zatrudniona w Katedrze Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Konsumenta Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UP we Wrocławiu w charakterze asystenta. Obecnie jest adiunktem tej Katedry. Po uzyskaniu stopnia doktora zainteresowania badawcze dr E. Wałęckiej – Zacharskiej koncentrowały na kilku tematach, tym niemniej nadal w bardzo szerokim zakresie prowadziła badania nad występowaniem, antybiotykoopornością, opornością na dezynfektanty oraz wirulencją *L. monocytogenes*. W latach 2013 – 2019 była

nagradzana Nagrodami Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu (Nagrody I stopnia w dziedzinie badań naukowych), była laureatką Stypendium Fundacji na rzecz Nauki Polskiej dla Młodych Uczonych START.

Tak więc, oceniane osiągnięcie naukowe, będące podstawą ubiegania się o nadanie stopnia doktora habilitowanego pt. „, **Badania molekularnych podstaw inwazyjności *L. monocytogenes* i jej zmian indukowanych stresem środowiskowym**” jest wynikiem ciągłego rozwijania i pogłębiania badań nad *L. monocytogenes*. Pragnę podkreślić widoczną konsekwencję badawczą Habilitantki.

Należy podkreślić, że dr E. Wałęcka – Zacharska odbyła 3 staże naukowe - ponad 12 miesięczny oraz 8 miesięczny w Augusta University, Georgia, USA (badania na *Campylobacter jejuni*), oraz 5 miesięczny w University of British Columbia, Vancouver, Kanada (badania nad opornością *L. monocytogenes*). Staże naukowe uzupełniała stażami szkoleniowymi w University of Pittsburgh, Pennsylvania, USA (4 dni) oraz w The Jackson Laboratory, Bar Harbor, USA (5 dni).

Ocena osiągnięcia naukowego

Jako osiągnięcie naukowe stanowiące podstawę do ubiegania się o nadanie stopnia doktora habilitowanego dr E. Wałęcka – Zacharska przedstawiła monotematyczny cykl 4 prac zatytułowany, „, **Badania molekularnych podstaw inwazyjności *L. monocytogenes* i jej zmian indukowanych stresem środowiskowym**”. W skład cyklu wchodzi następujące publikacje:

1. Wałęcka – Zacharska E., Kosek – Paszkowska K., Bania J., Karpiskova R., Stefaniak T. Salt stress - induced invasiveness of of major *Listeria monocytogenes* serotypes. Lett Appl Microbiol 2013, 56, 216-221 (MNiSW 20, IF 1,622)

2. Wałęcka – Zacharska E., Kosek – Paszkowska K., Bania J., Staroniewicz Z., Bednarski M., Wieliczko A. Invasiveness of *L. monocytogenes* strains isolated from animals in Poland. Pol J Vet Sci 2015, 18, 697-702 (MNiSW 20, IF 0,719)
3. Wałęcka – Zacharska E., Gmyrek R., Skowron K., Kosek – Paszkowska K., Bania J. Duration of heat stress effect on invasiveness of *Listeria monocytogenes* strains. BioMed Res Int 2018, 1457480 (MNiSW 25, IF 2,197)
4. Wałęcka – Zacharska E., Korkus J., Skowron K., Wietlicka – Piszcz M., Kosek – Paszkowska K., Bania J. Effect of temperatures used in food storage on duration of heat stress induced invasiveness of *L. monocytogenes*. Microorganisms 2019, 7, 467 (MNiSW 20, IF 4, 167).

Udział własny habilitantki w powstaniu powyższych publikacji zawsze obejmował opracowanie koncepcji badań, intensywne zaangażowanie w prace laboratoryjne z użyciem różnorodnych metod molekularnych, interpretację wyników i przygotowanie manuskryptu. Wszystkie publikacje zostały opublikowane w czasopiśmie naukowych bazy JCR (Journal Citation Reports) W każdej z publikacji Habilitantka jest pierwszym autorem. Publikacje posiadają znaczące współczynniki wpływu (IF), o maksymalnej wartości 4, 167 oraz łącznej wartości 8, 705. Suma punktów MNiSW wynosi 85. Tematyka publikacji jest niezwykle ważna zarówno z punktu widzenia rozwijania badań podstawowych, jak również biorąc pod uwagę ochronę zdrowia publicznego. *L. monocytogenes* jest patogenem przenoszonym przez żywność. Jest drobnoustrojem szczególnie groźnym dla ludzi z obniżoną odpornością, między innymi dla osób starszych, kobiet ciężarnych, noworodków, nosicieli wirusów

immunosupresyjnych. Spożywanie żywności nie wymagającej obróbki termicznej jest przyczyną większości przypadków listeriozy u ludzi. Badania prowadzone przez dr E. Wałęcką – Zacharską można umieścić w ważnym kierunku badawczym, rozpoznającym zmiany wirulencji *L. monocytogenes* w niekorzystnych warunkach środowiskowych – szczególnie groźny jest wzrost wirulencji w warunkach stresu. Celem osiągnięcia naukowego dr E. Wałęckiej – Zacharskiej było określenie zakresu zmian inwazyjności w odpowiedzi na stres w grupie szczepów reprezentujących zasadnicze grupy genetyczne oraz najważniejsze serotypy *L. monocytogenes*, zbadanie ekspresji najważniejszych internalin w odpowiedzi na wybrane rodzaje stresu w szczepach *L. monocytogenes*, analizę polimorfizmu sekwencji białek In1A i In1B w szczepach *L. monocytogenes* różniących się zdolnością do wnikania do ludzkich komórek raka okrężnicy, określenie czasu utrzymywania się zmian inwazyjności wywołanych stresem w warunkach optymalnych dla wzrostu *L. monocytogenes* i w warunkach spotykanych w trakcie przechowywania żywności.

Habilitantka wraz ze współautorami wykazali, że szczepy *L. monocytogenes* należące do serotypu 4b cechują się najwyższą inwazyjnością, zwiększającą się w wyniku oddziaływania stresu osmotycznego. Autorzy przypuszczają, że szczepy serotypu 4b charakteryzują się bardzo efektywną odpowiedzią na stres, co może być istotne dla ich wysokiego potencjału zakaźnego. W wyniku badań wykazano również, że wzrost inwazyjności *L. monocytogenes* w wyniku działania stresu cieplnego może być związany ze zwiększoną ekspresją białek In1A oraz In1B. Niezwykle interesujące są również obserwacje odnoszące się do szczepów *L. monocytogenes* o bardzo niskiej inwazyjności, które częściej występują u zwierząt niż w środowisku klinicznym. Habilitantka i współautorzy uważają, że może to wskazywać na ludzi uczestniczących w produkcji żywności (a nie na zwierzęta), jako źródło wysoce inwazyjnych

szczepów *L. monocytogenes*. Zwracają również uwagę na możliwość prowadzenia badań, wykorzystujących ukierunkowaną mutagenezę, które doprowadzą do wyłonienia markerów niskoinwazyjnych szczepów *L. monocytogenes*. Wnioski wpływające z badań Habilitantki i współautorów mają również ważne znaczenie dla przechowywania żywności. Autorzy wykazali, że inwazyjność szczepów *L. monocytogenes* nie poddanych działaniu podwyższonych temperatur maleje wraz z upływem czasu, jeśli bakterie są utrzymywane w temperaturach 20 oraz 37°C, podczas gdy w temperaturze 5°C inwazyjność utrzymuje się na podobnym poziomie. Można więc wnioskować, że przechowywanie produktów zanieczyszczonych *L. monocytogenes* w warunkach chłodniczych sprzyja zachowaniu inwazyjności bakterii, pomimo redukcji tempa ich proliferacji. Habilitantka i współautorzy wykazali, że ekspozycja *L. monocytogenes* na temperatury w żywności poddanej niewystarczającej obróbce termicznej zmniejsza inwazyjność szczepów drobnoustroju, która w czasie jest jednak uzależniona od temperatury dalszego przechowywania bakterii po ekspozycji na podwyższoną temperaturę. Indukowane stresem cieplnym zmiany inwazyjności *L. monocytogenes* utrzymują się od 7 do 14 dni, jeśli bakterie są utrzymywane w temperaturze 5°C oraz 20°C, natomiast od 24 do 72 godzin jeśli bakterie utrzymywane są w temperaturze 37°C.

Na podkreślenie zasługuje bardzo wysokie zaawansowanie metodyczne habilitantki, wykorzystującej w badaniach metody mikrobiologiczne, molekularne (m. in. RT-PCR), czy też test *in vitro* tworzenia lysinek (ang. Plaque Forming Assay, PFA) oceniający inwazyjność i zdolność rozprzestrzeniania się *L. monocytogenes* w ludzkich liniach komórek. Cechą charakterystyczną publikacji jest bardzo staranna analiza statystyczna.

Osiągnięcie naukowe dr Ewy Wałęckiej – Zacharskiej oceniam jako bardzo wartościowe, zarówno w odniesieniu do rozwoju badań podstawowych, jak i zagadnień ochrony zdrowia publicznego, ze szczególnym uwzględnieniem bezpieczeństwa żywności. Podsumowując, cykl publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe Habilitantki cechuje duża wartość poznawcza i wysoki poziom naukowy. Uzyskane wyniki stanowią istotny wkład do wiedzy w zakresie bezpieczeństwa żywności, a także w szerszym zakresie.

Ocena pozostałego dorobku naukowego

Przedstawiony przez dr Ewę Wałęcką – Zacharską dorobek świadczy o Jej konsekwentnym rozwoju jako biotechnologa, biologa molekularnego, mikrobiologa zajmującego się problemami bezpieczeństwa żywności. Analiza całego dorobku (wraz z publikacjami stanowiącymi osiągnięcie naukowe) wskazuje, że bardzo skutecznie rozwiązuje problemy naukowe, jednocześnie odnosząc się do możliwości praktycznego wykorzystania wyników badań i wniosków z nich wynikających w dziedzinach związanych z bezpieczeństwem żywności (przechowalnictwo, obróbka termiczna).

Wśród tematów badawczych zrealizowanych przez Habilitantkę zwracają uwagę badania zróżnicowania genetycznego oraz występowania czynników wirulencji w populacji *Enterococcus sp.*, które pozwoliły poprzez zastosowanie metody genotypowania MLVA na scharakteryzowanie ponad 50 szczepów pochodzących z oddziałów szpitalnych. Badania wykazały istotne powiązania występowania niektórych czynników wirulencji z genotypem MLVA *E. faecalis*. Habilitantka uczestniczyła również w opracowaniu metody ilościowego określania zawartości mleka krowiego w mleku kozim (fałszowanie żywności, potencjalnie groźnej dla

zdrowia dzieci dotkniętych alergią pokarmową). Bardzo interesujące są również wyniki badań nad występowaniem, antybiotykoopornością, opornością na dezynfektanty oraz wirulencją *L. monocytogenes*. Badania te koncentrowały się nad wyspą genomową LG1, zidentyfikowaną w 32 szczepach *L. monocytogenes* serotypu 1/2a odpowiedzialnych za największe zbiorowe zatrucia pokarmowe. Wyspa zawiera geny wpływające na antybiotykooporność, odpowiedź na stres oraz wirulencję *L. monocytogenes*. Bardzo przydatne są wyniki badań Habilitantki, które miały na celu ocenę występowania pałeczek *L. monocytogenes* w środowisku produkcji żywności, charakterystykę genotypową szczepów, określenie zdolności tworzenia biofilmu, ocenę lekooporności oraz wrażliwości na środki dezynfekcyjne. Dr E. Wałęcka – Zacharska uczestniczyła w bardzo różnorodnych pracach badawczych np. w badaniach nad oddziaływaniem ekstraktów z chmielu, flawonoidów i ich pochodnych na wybrane patogenne mikroorganizmy, czy też w badaniach nad skutecznością promieniowej jonizacji katalitycznej w eliminacji pałeczek *Klebsiella pneumoniae* NDM, co jest niezwykle ważne dla jej usuwania ze środowiska szpitalnego.

Dr E. Wałęcka – Zacharska jest współautorką zgłoszenia patentowego „Zastosowanie α,β – dihydroksantohumolu” (2018). Była również wykonawcą w 3 projektach badawczych NCN. Przygotowała recenzje publikacji dla 9 czasopism międzynarodowych.

O wysokiej wartości dorobku naukowego dr E. Wałęckiej – Zacharskiej świadczą również wartości parametrów stosowanych do oceny. Jest autorką i współautorką 28 oryginalnych prac twórczych, w tym 20 po doktoracie. Sumaryczny Impact factor, którym się legitymuje, obecnie wynosi 62,183, przy czym 51, 425 osiągnęła po doktoracie. Liczba cytowań według bazy Web of Science wynosi 174, a Index Hirscha 7.

Wyrazem dużej aktywności naukowej Habilitantki jest czynny udział w wielu międzynarodowych i krajowych konferencjach naukowych (referaty, plakaty, doniesienia). Dr E. Wałęcka – Zacharska ma ugruntowaną pozycję w środowisku naukowym.

Ocena dorobku dydaktycznego i popularyzatorskiego oraz działalności organizacyjnej

Dr E. Wałęcka – Zacharska jako adiunkt w Katedrze Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Konsumenta UP we Wrocławiu prowadzi zajęcia w przedmiotach „Higiena mięsa i zwierząt rzeźnych” oraz „Bezpieczeństwo pasz” dla studentów Wydziału Medycyny Weterynaryjnej, w języku polskim i angielskim. Dla tych przedmiotów opracowała materiały dydaktyczne. Jest również wykładowcą specjalizacyjnych studiów podyplomowych „Higiena Zwierząt Rzeźnych i Żywności Zwierzęcego Pochodzenia” prowadzonych w macierzystej Katedrze. Prowadzi wykłady na temat zastosowania metod biologii molekularnej oraz szkolenia z zakresu technik PCR. Popularyzuje wiedzę, między innymi na temat *L. monocytogenes*, także poprzez publikowanie w „Życiu Weterynaryjnym”. Jest promotorem 3 prac magisterskich oraz promotorem pomocniczym 2 prac doktorskich.

Habilitantka w latach 2016 – 2019 uczestniczyła w pracach Komisji ds. informacji o działalności badawczej i rozwojowej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UP we Wrocławiu, a obecnie jest członkiem Komisji ds. sprawozdawczości i informacji o działalności badawczej przy Radzie Dyscypliny Weterynaria w kadencji 2019 – 2020.

Wniosek końcowy

Mając na uwadze całokształt dorobku naukowego, działalność dydaktyczną, organizacyjną i popularyzującą wiedzę, stwierdzam, że osiągnięcie naukowe dr Ewy Wałęckiej – Zacharskiej spełnia kryteria określone w art. 219 ust. 1 pkt 2 Ustawy z dnia 20 lipca 2019 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t. j. Dz. U. z 2020 r. poz. 85 ze zm.). Na tej podstawie wnioskuję o dopuszczenie dr Ewy Wałęckiej – Zacharskiej do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego.

Podpisał:

Dr hab. Krzysztof Anusz, prof. Uczelni