

Olsztyn, 2023-06-014

dr hab. Łukasz Zielonka, prof. UWM
Katedra Prewencji Weterynaryjnej I Higieny Pasz
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

RECENZJA

osiągnięć naukowych i aktywności naukowej
dr. n. wet. Tomasza Grendy

w związku z postępowaniem o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dyscyplinie
weterynaria

1. Podstawa przygotowania recenzji

Podstawą formalną sporządzenia niniejszej recenzji jest pismo BRN-0411/03/2022 z dnia 16 marca 2023 r. podpisane przez Pana Dyrektora Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach (PIWet-PIB) prof. dr. hab. Stanisława Winiarczyka. W piśmie poinformowano mnie, że zgodnie z uchwałą Rady Naukowej PIWet-PIB Nr 6/2023 z dnia 8 marca 2023 wyznaczono mnie jako recenzenta w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego dr. n. wet. Tomaszowi Grendzie, jednocześnie obligując mnie do przygotowania recenzji.

Podstawą prawną oceny osiągnięć naukowych Habilitanta ubiegającego się o stopień doktora habilitowanego jest art. 221 ust. 8 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U.2023 poz. 742), a w zakresie kryteriów branych pod uwagę przy tej ocenie – art. 219 wspomnianej ustawy.

2. Sylwetka naukowa i zawodowa Wnioskodawcy.

Dr n. wet. Tomasz Grenda jest zatrudniony na stanowisku adiunkta w Zakładzie Higieny Pasz Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach. Stopień doktora nauk weterynaryjnych uzyskał na podstawie rozprawy doktorskiej pt. „Wykrywanie *Clostridium botulinum* w paszach i żywności metodami biologii molekularnej” wykonanej pod kierunkiem prof. dr. hab. Krzysztofa Kwiatka (Uchwała Rady Naukowej Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego z dnia 30 listopada 2011 r.). **Tym samym spełnia warunek opisany w artykule 219. punkt 1.1. Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce.**

Z załączonej dokumentacji wynika, że Wnioskodawca od początku swojej kariery naukowej jest związany z Zakładem Higieny Pasz PIWet-PIB. W latach 2011-2012 był zatrudniony w na stanowisku specjalisty inżynierjno-technicznego, a następnie w latach 2012-2014 – głównego specjalisty badawczo-technicznego.

W 2007 roku Wnioskodawca ukończył studia podyplomowe „Zarządzanie jakością w produkcji żywności” na Akademii Rolniczej w Lublinie (obecna nazwa: Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie). Wnioskodawca ukończył również liczne szkolenia i kursy (również zagraniczne) związane głównie z technikami biologii molekularnej (PCR, NGS) oraz z zakresu stosowania narzędzi bioinformatycznych, co dowodzi ciągłego rozwijania warsztatu badawczego i doskonalenia umiejętności badawczych.

3. Ocena cyklu powiązanych tematycznie artykułów jako głównego osiągnięcia naukowego będącego podstawą wszczęcia postępowania o nadanie stopnia doktora habilitowanego.

Dr n. wet. Tomasz Grenda jako osiągnięcie naukowe, zgodnie z art. 219 ust. 1. pkt 2b ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, stanowiące znaczący wkład w rozwój dyscypliny weterynaria, wskazuje cykl publikacji pod wspólnym tytułem „**Patogenne Clostridia – występowanie i znaczenie epidemiologiczne w łańcuchu żywnościowym**”. Na cykl składa się 6 prac oryginalnych i 1 artykuł przeglądowy; prace opublikowane zostały w latach 2017-2022 w czasopismach z obszaru nauk weterynaryjnych. W sześciu publikacjach Habilitant był pierwszym autorem; ponadto, jak wynika z załączonej dokumentacji, był autorem korespondencyjnym we wszystkich pracach stanowiących jednotematyczny cykl. Publikacje posiadają współczynniki wpływu (IF), o łącznej wartości 12,523; liczba punktów zgodnie z klasyfikacją MEiN wynosi 480.

Cykl powiązanych tematycznie artykułów stanowią następujące prace oryginalne:

1. Grenda T., Grabczak M., Kwiatek K., Bober, A. Prevalence of *C. botulinum* and *C. perfringens* spores in food products available on Polish market. *J Vet Res* 2017, 61(3) 287-291.
2. Grenda T., Grabczak M., Sieradzki Z., Kwiatek K., Pohorecka K., Skubida M., Bober A.: *Clostridium botulinum* spores in Polish honey samples. *J Vet Sci* 2018, 19(5), 635-642.

3. Grenda T., Grabczak M., Goldsztejn M., Kozieł N., Kwiatek K., Pohorecka K., Skubida M., Bober A. Clostridium perfringens spores in Polish honey samples. J Vet Res 2018, 62(3), 281–284.
4. Maikanov B., Mustafina R., Auteleyeva L., Wiśniewski J., Anusz K., Grenda T., Kwiatek K., Goldsztejn M., Grabczak M. Clostridium botulinum and Clostridium perfringens occurrence in Kazakh honey samples. Toxins. 2019; 11(8):472, 1-14.
5. Grenda T., Kwiatek K, Goldsztejn M, Sapała M, Kozieł N, Domaradzki P. Clostridia in Insect Processed Animal Proteins—Is an Epidemiological Problem Possible? Agriculture. 2021; 11(3):270; 1-21.
6. Grenda T., Goldsztejn, M., Kwiatek, K., Kozak, B., Grenda, A. Animal botulism in Poland – laboratory and epidemiological investigations. J Vet Res 2022, 66, 2022; 189-197.

oraz praca przeglądowa:

7. Grenda T., Kwiatek K., Goldsztejn M. Botulizm bydła – niedoceniony problem epidemiologiczny. Med. Weter. 2020, 76 (11), 615-620. DOI: [dx.doi.org/10.21521/mw.6456](https://doi.org/10.21521/mw.6456).

Przedstawione prace stanowią spójny cykl publikacyjny, który stanowi istotny wkład naukowy w zakresie oceny narażenia na obecność patogenów *Clostridium spp.* (*C. botulinum* i *C. perfringens*) w produktach spożywczych, ze szczególnym uwzględnieniem produktów pszczelich. Istotnym elementem ciągu prac jest również odniesienie się do warsztatu analitycznego z wykazaniem punktów krytycznych oraz walidacją metod.

Analizując wartość naukową publikacji stanowiących oceniany cykl należy uznać, że stanowi on istotny wkład w rozwój koncepcji *One Health* -jednego z podstawowych filarów badawczych Unii Europejskiej. Ludzie, zwierzęta i środowisko, w którym żyjemy — wspólnie tworzymy nierozzerwalną całość, gdzie każdy z elementów odgrywa równie istotną rolę. Wzajemnie i nieustannie wpływamy na siebie, a nasze relacje niosą nam wiele korzyści, ale nie są wolne od zagrożeń. Dbając o zdrowie własne i innych osób wpływamy korzystnie na zdrowie zwierząt. Lecząc zwierzęta i zapewniając im profilaktykę, wspieramy ochronę zdrowia publicznego i działamy odpowiedzialnie na rzecz środowiska. Troszcząc się o środowisko, zapewniamy sobie i zwierzętom warunki do prawidłowego rozwoju i zachowania naszego i ich dobrostanu.

Clostridium to szeroka grupa bezwzględnych beztlenowców należących do gromady bakterii *Firmicutes*, z których większość posiada strukturę ściany komórkowej Gram-dodatnią. Rodzaj ten obejmuje głównie saprofity, ale także znaczące patogeny ludzkie i zwierzęce, powodujące niebezpieczne schorzenia tj.: botulizm, gangrenę czy tężec. Formy wegetatywne Clostridium mają kształt wrzecionowatej laseczki. Wytwarzają one przetrwalniki odporne na działanie temperatur pasteryzacyjnych. Laseczki te zasiedlają glebę i przewód pokarmowy zwierząt oraz ludzi, są naturalnym składnikiem mikroflory układu rozrodczego samic. Rodzaj Clostridium

stanowi niezwykle heterogeniczną grupę bakterii, w której rozróżnia się ponad 200 gatunków. Z większością z nich nie są związane żadne procesy patogenne. Większą część stanowią saprofity, jednak niektóre gatunki wytwarzają bardzo silne toksyny, o których wiadomo, że są odpowiedzialne za ciężkie choroby u ludzi i zwierząt oraz stanowią kluczowe zagrożenie biologiczne wymagające uwagi klinicystów, diagnostów i epidemiologów.

Z punktu widzenia epidemiologicznego i klinicznego, za najistotniejszych przedstawicieli rodzaju *Clostridium* uznawane są gatunki *C. botulinum* i *C. perfringens*.

Clostridium botulinum stanowi wysoce heterogenny gatunek, który jest zdolny do produkcji najsilniejszych spośród naturalnie występujących w przyrodzie toksyn biologicznych, zwanych toksynami botulinowymi – BoNTs (ang. botulinum neurotoxins).

Gatunek *C. perfringens* związany jest z różnymi środowiskami, takimi jak gleba, żywność, ścieki, jest także składnikiem mikroflory przewodu pokarmowego chorych oraz zdrowych ludzi i zwierząt. Występowanie *C. perfringens* jest stale związane z różnego rodzaju poważnymi schorzeniami ogólnoustrojowymi oraz jelitowymi ludzi i zwierząt, takimi jak zgorzel gazowa, zatrucia pokarmowe oraz zapalenie jelit. Wiadomo, że szczepy tego oportunistycznego patogenu wydzielają ok. 30 zidentyfikowanych toksyn, które są uznawane za główne czynniki wirulencji. Szczepy *C. perfringens* stanowią bakterie beztlenowe, mogą jednak przetrwać także w obecności tlenu i przy niskich stężeniach nadtlenu. Krótki czas generacji, zdolność do jednoczesnego wydzielania wielu toksyn oraz opornych przetrwalników, lokalizacja wielu genów wirulencji na ruchomych elementach genetycznych oraz zdolność do zasiedlania różnych rodzajów nisz ekologicznych sprawiają, że *C. perfringens* jest mikroorganizmem bardzo istotnym pod względem epidemiologicznym.

Celem podjętych przez Habilitanta badań było:

1. Ocena występowania *Clostridium spp.*, w szczególności *C. botulinum* i *C. perfringens* w próbkach żywnościowych pochodzących od polskich producentów;
2. Ocena występowania *Clostridium spp.*, w szczególności *C. botulinum* i *C. perfringens*, w miodach pochodzących z polskich i kazachskich pasiek;
3. Wstępna ocena występowania zanieczyszczenia przez *Clostridium spp.*, w szczególności *C. botulinum* i inne potencjalnie patogenne szczepy tego rodzaju, pasz z dodatkiem nowych materiałów paszowych (IPAP – ang. *Insect Processed Animal Proteins*- przetworzone białko zwierzęce pochodzenia owadziego);
4. Ocena epidemiologiczna występowania botulizmu zwierząt w Polsce oraz trudności analitycznych w wykrywaniu *C. botulinum*.

W wyniku przeprowadzonych badań Habilitant sformułował następujące wnioski:

1. Środki spożywcze, w szczególności miód pozyskiwany bezpośrednio z pasiek, charakteryzuje znaczący odsetek próbek zanieczyszczonych przetrwalnikami *C. perfringens* (14%) oraz *C. botulinum* (2,3%).

2. Miody polskie i kazachskie pozyskiwane bezpośrednio z pasiek wykazują znaczną częstotliwość obecności przetrwalników z rodzaju *Clostridium*, w szczególności *C. perfringens*, ale także sporadyczną obecność *C. botulinum*. Istnieje potrzeba analizy ryzyka występowania patogennych przedstawicieli rodzaju *Clostridium* w procesie produkcji miodów.

3. Szczepy fenotypowo-podobne do *C. botulinum* izolowane z żywności i pasz wymagają szczególnej uwagi, ze względu na potencjalną patogenność. Mogą one także stwarzać trudności w postępowaniu laboratoryjnym związanym z diagnostyką botulizmu.

4. Przetworzone białko zwierzęce pochodzenia owadziego- IPAP (ang. Insect Processed Animal Protein) stosowane w żywieniu zwierząt jako materiał paszowy powinno być przedmiotem szerszych badań i oceny ryzyka ze względu na podwyższony poziom zanieczyszczenia beztlenowymi laseczkami przetrwalnikującymi z rodzaju *Clostridium*.

5. Diagnostyka laboratoryjna i ocena sytuacji epidemiologicznej botulizmu u zwierząt w Polsce wymaga wdrożenia kompleksowego i precyzyjnego postępowania bazującego na obserwacjach klinicznych, pobieraniu próbek od osobników wykazujących objawy, oraz w jak najkrótszym czasie poddaniu ich badaniu pod kątem obecności toksyny, a także przetrwalników *C. botulinum*. Spójna procedura pobierania próbek i postępowania laboratoryjnego przyczyniłaby się do sprawniejszej diagnostyki botulizmu u zwierząt oraz zapewnienia wyższego poziomu bezpieczeństwa w łańcuchu żywnościowym.

Sformułowane wnioski są rzeczywistym i istotnym efektem prowadzonych prac badawczych.

Reasumując, cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych pod wspólnym tytułem „Patogenne Clostridia – występowanie i znaczenie epidemiologiczne w łańcuchu żywnościowym” wskazany przez Wnioskodawcę jako osiągnięcie naukowe będące podstawą ubiegania się o nadanie stopnia doktora habilitowanego, oceniam jako bardzo interesujące i wartościowe opracowanie naukowe, które stanowi znaczący wkład w rozwój dyscypliny weterynaria.

4. Ocena aktywności naukowej realizowanej w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.

W ocenie aktywności naukowej Wnioskodawcy należy zwrócić uwagę na kilka istotnych czynników, które mają na tą ocenę znaczący wpływ.

- Po pierwsze aktywność naukowa Habilitanta po uzyskaniu stopnia doktora nauk weterynaryjnych uległa znaczącej intensyfikacji. Dotyczy to zarówno ilości prac, jak również ich znaczenia określanego poprzez współczynnik wpływu (IF) czasopism.
- Tematyka badawcza prac naukowych skupiona jest wokół problemu oceny narażenia obecności szczepów patogennych bakterii rodzaju *Clostridium* w wybranych rodzajach żywności, tj. mięsie wieprzowym, produktach mlecznych, przetworach warzywno-owocowych, daniach gotowych, przetworach rybnych, oraz w miodach pochodzących z polskich i kazachskich pasiek. Habilitant

wykazał w swoich pracach wagę problemu oraz rozwinął metodykę badań analitycznych z tego zakresu. Poprzez bardzo dokładne określenie tematu możliwe było podniesienie jakości prowadzonych badań i ich efektywność naukowa oraz znaczenie wpływu społecznego.

W analizie wskaźników bibliometrycznych należy zwrócić uwagę, że przy ogólnych parametrach H- index = 7, ilość cytowań 120 (na dzień obecny), aż w 60 % artykułów Wnioskodawca jest pierwszym autorem. Świadczy to o istotnym zaangażowaniu w organizację i prowadzenie badań naukowych oraz wysokim poziomie specjalizacji tematycznej.

- Habilitant odbył dwa długoterminowe staże naukowe o ośrodkach zagranicznych:

04.04.2016 – 03.10.2016 r. – Institute of Food Research, Norwich Research Park, Colney, Norwich NR4 7UA, Wielka Brytania – sześciomiesięczny staż podoktorski; Staż podoktorski w Institute of Food Research (IFR, obecnie Quadram Institute) w Wielkiej Brytanii miał na celu uczestnictwo w badaniach dotyczących toksynotwórczości oraz ekspresji genów klastra botulinowego u szczepów *C. botulinum* w różnych matrycach żywnościowych.

07.05.2019 – 07.08.2019 r. – Soil and Water Research Infrastructure, Biology Centre CAS (SoWa CAS) Na Sádkách 7, 370 05 České Budějovice, Czechy – trzymiesięczny staż podoktorski;

-wdrożenie metod służących hodowli i charakterystyki genetycznej szczepów *Clostridium* spp. izolowanych z gleby.

5. Ocena osiągnięć dydaktycznych, organizacyjnych, popularyzujących naukę oraz z zakresu współpracy Kandydata z podmiotami otoczenia zewnętrznego.

Ze względu na miejsce pracy Habilitanta ocena jego **działalności dydaktycznej** opiera się głównie o przekazywanie wiedzy uczestnikom kursów i szkoleń organizowanych dla osób pracujących w obszarze szeroko rozumianej ochrony Zdrowia Publicznego.

Habilitant prowadzi wykłady na szkoleniach dla Inspektorów Weterynarii w ramach Programu Wieloletniego: Krajowy Program Urzędowej Kontroli w Zakresie Bezpieczeństwa Pasz.

Jest również współodpowiedzialny za coroczne szkolenia personelu laboratoryjnego skierowanego dla laboratoriów urzędowych (ZHW) w ramach działalności referencyjnej Instytutu.

Brał czynny udział w prowadzeniu wykładów na szkoleniach specjalizacyjnych skierowanych dla lekarzy weterynarii (Specjalizacja Nr 15, Higiena zwierząt rzeźnych i żywności pochodzenia zwierzęcego).

Jest również promotorem pomocniczym przewodu doktorskiego mgr inż. Zbigniewa Osińskiego, pt. „Substancje przeciwbakteryjne w nawozach naturalnych i organicznych – badanie i ocena ryzyka”.

Osiągnięcia organizacyjne Habilitanta to przede wszystkim organizacja spotkań z laboratoriami urzędowymi, a także badania biegłości w zakresie zanieczyszczeń mikrobiologicznych pasz. Aktywność ta wynika z działalności referencyjnej laboratorium mikrobiologicznego Zakładu

Higieny Pasz, zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 27 lipca 2022 r., w sprawie krajowych laboratoriów referencyjnych.

Habilitant pełni również funkcję „Guest Editor” i jest współodpowiedzialny za organizację numeru specjalnego pt. "Diversity, occurrence and distribution of foodborne pathogens in food chain" w czasopiśmie „Diversity” (ISSN: 1424-2818, IF=3,029, Q2).

Habilitant brał również czynny udział w realizacji badań naukowych w 5 projektach naukowych, w tym w dwóch z nich jako kierownik projektu.

Wnioskodawca jest również autorem 25 recenzji w czasopismach z określonym współczynnikiem wpływu (głównie z wydawnictwa MDPI).

W ramach współpracy z sektorem gospodarczym Habilitant, w latach 2018-2021, uczestniczył jako wykonawca w realizacji projektu NCBiR pt. "Opracowanie strategii wykorzystania alternatywnych źródeł białka owadów w żywieniu zwierząt umożliwiającej rozwój jego produkcji na terenie RP" – projekt w ramach programu „GOSPOSTRATEG”. Wyniki uzyskane w ramach realizacji tego projektu są elementem publikacji wliczonej w skład osiągnięcia.

Problem bezpieczeństwa mikrobiologicznego związanego z stosowaniem przetworzonego białka owadziego w żywieniu zwierząt (oraz bezpośrednim żywieniu ludzi) wydaje się niedoceniany na początkowych etapach wprowadzania IPAP do łańcucha żywieniowego. Tym bardziej docenić należy pierwsze opracowania opublikowane w tym temacie.

Elementem współpracy z otoczeniem gospodarczym jest również istotny wkład Habilitanta w opracowanie metod diagnostycznych. Wnioskodawca opublikował prace dotyczące opracowania, wdrożenia, walidacji oraz zastosowania metod biologii molekularnej do wykrywania *C. botulinum*. Opisał także szereg metod służących diagnostyce laboratoryjnej botulizmu przy zastosowaniu metod real – time PCR, multiplex PCR oraz PCR.

Elementy te nie zostały opisane przez Habilitanta jako współpraca z otoczeniem gospodarczym, jednak wpływ rozwoju metod analitycznych stosowanych w diagnostyce patogenów występujących w materiałach paszowych, paszach i produktach spożywczych stanowi ważny element oddziaływania na społeczeństwo i jego bezpieczny rozwój.

Oceniając dokonania w zakresie współpracy z gospodarką i wpływ na społeczeństwo, należy uznać, że jest to jedna z dziedzin nad rozwojem której Habilitant musi poświęcić więcej uwagi podczas planowania swojego dalszego rozwoju naukowego.

W złożonym wniosku Habilitant nie ustrzegł się drobnych błędów językowych, redakcyjnych. Nie zmienia to jednak w żadnym stopniu jednoznacznie pozytywnej oceny zarówno dorobku naukowego, jak również znaczenia osiągnięcia dla rozwoju dyscypliny weterynaria.

6. Podsumowanie i wniosek końcowy

Na podstawie szczegółowej analizy dorobku naukowego i osiągnięć dydaktycznych, organizacyjnych i oceny współpracy międzynarodowej stwierdzam, że wszystkie wymogi

opisane w art. 219 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r.- Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U.2023 poz. 742 t.j.) zostały spełnione.

Dorobek dr n. wet. Tomasza Grendy oceniam jednoznacznie pozytywnie i wnioskuję o podjęcie dalszych czynności w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dyscyplinie weterynaria.



KIEROWNIK KATEDRY

dr hab. Łukasz Zielonka, prof. UWM