

# **AUTOREFERAT**

**dr n. wet. Agnieszka Marek**

**Zakład Prewencji Weterynaryjnej i Chorób Ptaków**

**Instytut Biologicznych Podstaw Chorób zwierząt**

**Wydział Medycyny Weterynaryjnej**

**Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie**

**Lublin 2018**

## **Dane osobowe**

**Imię i nazwisko:** Agnieszka (Kolasa) Marek

**Data urodzenia:** 29 maja 1975 r.

**Obecnie zajmowane stanowisko:** adiunkt UP w Lublinie

**Miejsce pracy:** Zakład Prewencji Weterynaryjnej i Chorób Ptaków

Instytut Biologicznych Podstaw Chorób Zwierząt

Wydział Medycyny Weterynaryjnej UP w Lublinie

### **1. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/artystyczne z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej**

- Stopień naukowy: doktor nauk weterynaryjnych nadany 8 czerwca 2006 roku uchwałą Rady Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Akademii Rolniczej w Lublinie na podstawie rozprawy doktorskiej pt.: „Wpływ antybiotykoterapii niosek na wykrywalność pałeczek *Salmonella* w jajach oraz poziom swoistych przeciwciał żółtkowych”  
Promotor: Prof. dr hab. Jerzy Rzedzicki
- tytuł zawodowy: lekarz weterynarii: Wydział Medycyny Weterynaryjnej Akademii Rolniczej, Lublin 2001.
- specjalizacja: specjalista krajowy w dziedzinie choroby drobiu oraz ptaków ozdobnych, dyplom nr 5/329/2011 z dnia 02.07.2011r wydany przez Komisję do Spraw Specjalizacji Lekarzy Weterynarii, Weterynaryjne Centrum Kształcenia Podyplomowego

### **2. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych**

Od roku 2001 do 2017 - Akademia Rolnicza, a następnie Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie na stanowiskach:

2.1 **2001-2002** - studia doktoranckie- Wydział Medycyny weterynaryjnej AR w Lublinie

2.2 **2002 - 2006** - Zakład Chorób Ptaków, Akademia Rolnicza w Lublinie, asystent.

2.3 **2006 – do chwili obecnej** - Zakład Prewencji Weterynaryjnej i Chorób Ptaków, Instytut Biologicznych Podstaw Chorób Zwierząt Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, adiunkt.

**3. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust.2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych, tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017r poz 1789, z późn. zm.).**

**4.1 Jednotematyczny cykl pięciu publikacji:**

**„Epidemiologia zakażeń oraz fenotypowa i genotypowa charakterystyka czynników wirulencji bakterii z rodzaju *Staphylococcus* u drobiu”**

**publikacje:**

4.1.1. **Marek A.**, Pyzik E., Stępień-Pyśniak D., Hauschild T., Banach T. Identification of strains with phenotypes similar to those of *Staphylococcus aureus* isolated from table chicken eggs using MALDI-TOF MS and genotyping methods. Bull Vet Inst Pulawy 59, 235-239, 2015, DOI 10.1515/bvip-2015-0035

**(Punkty MNiSW<sub>2015</sub> 15, IF<sub>2015</sub> = 0.468)**

Wkład w autorstwo 80%

Moja rola: opracowanie koncepcji badań, określenie celu badań, współudział w opracowaniu metodyki badań, współudział w zbieraniu materiału, interpretacja wyników badań, przygotowanie publikacji.

4.1.2. **Marek A.**, Stępień-Pyśniak D., Pyzik E., Adaszek Ł., Wilczyński J., Winiarczyk S. Occurrence and characterization of *Staphylococcus* bacteria isolated from poultry in Western Poland. Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift 129, Heft 3/4, Seiten 147-152, 2016, DOI 10.2376/0005-9366-129-147

**(Punkty MNiSW<sub>2016</sub> 20, IF<sub>2016</sub> = 0.609)**

Wkład w autorstwo 80%

Moja rola: opracowanie koncepcji badań, określenie celu badań, współudział w opracowaniu metodyki badań, współudział w zbieraniu materiału, interpretacja wyników badań, przygotowanie publikacji.

4.1.3. **Marek A.**, Pyzik E., Stępień-Pyśniak D., Wilczyński J, Adaszek Ł. Phenotypic evaluation of the ability to produce enterotoxin in staphylococci isolated from

broiler chickens and turkeys in Poland. Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift. 131, Heft ½, 53-57, 2018, DOI 10.2376/0005-9366-16050

**(Punkty MNiSW<sub>2017</sub> 20, IF<sub>2017</sub> = 0.609)**

Wkład w autorstwo 80%

Moja rola: opracowanie koncepcji badań, określenie celu badań, współudział w opracowaniu metodyki badań, współudział w zbieraniu materiału, interpretacja wyników badań, przygotowanie publikacji.

4.1.4. **Marek A.**, Pyzik E., Stępień-Pyśniak D., Urban-Chmiel R., Nowaczek A. Characterization of bacteriophages and their carriage in *Staphylococcus aureus* isolated from broilers in Poland. British Poultry Sciences, DOI: 10.1080/00071668.2018.1426831

**(Punkty MNiSW<sub>2017</sub> 30, IF<sub>2017</sub> = 0.884)**

Wkład w autorstwo: 80%

Moja rola: opracowanie koncepcji badań, określenie celu badań, współudział w opracowaniu metodyki badań, współudział w zbieraniu materiału, interpretacja wyników badań, przygotowanie publikacji.

4.1.5. **Marek A.**, Pyzik E., Stępień-Pyśniak D., Urban-Chmiel R., Jarosz Ł. Association between the methicillin resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from slaughter poultry, their toxin gene profiles and prophage patterns. Current Microbiology, DOI:10.1007/s00284-018-1518-9

**(Punkty MNiSW<sub>2017</sub> 15, IF<sub>2017</sub> = 1,322)**

Wkład w autorstwo: 80%

Moja rola: opracowanie koncepcji badań, określenie celu badań, współudział w opracowaniu metodyki badań, współudział w zbieraniu materiału, interpretacja wyników badań, przygotowanie publikacji.

**Łączna punktacja 5 prac wchodzących w skład jednotematycznego cyklu publikacji,**

**zgodnie z rokiem opublikowania, wynosi:**

– wg listy czasopism punktowanych MNiSW – 100 pkt

– sumaryczny Impact Factor (IF) według listy Journal Citation Reports (JCR) – 3,892

**Fotokopie publikacji oraz oświadczenia współautorów, określające indywidualny wkład każdego z nich w powstaniu pracy zostały zamieszczone w załącznikach.**

#### **4.2. Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.**

##### Wstęp

Drobnoustroje z rodzaju *Staphylococcus* występują ubikwitarne w środowisku, między innymi w wodzie, glebie, powietrzu i są izolowane od różnych gatunków zwierząt w tym także od ptaków zaliczanych do drobiu. Obecnie do rodzaju *Staphylococcus* zalicza się ponad 52 gatunki, a w obrębie niektórych wyodrębniono również podgatunki (<http://www.bacterio.net/s/staphylococcus.html>), które ze względu na zdolność do wytwarzania koagulazy zostały podzielone na gronkowce koagulazododatnie (coagulase-positive staphylococci – CPS) i koagulazo-ujemne (coagulase-negative staphylococci – CNS). Istotnym elementem ich chorobotwórczości jest zdolność omijania mechanizmów obronnych, a także ekspresja zewnątrzwydzielniczych białek, w tym enterotoksyn gronkowcowych – SEs (ang. staphylococcal enterotoxins), charakteryzujących się wyjątkowymi właściwościami biologicznymi i fizykochemicznymi. Wśród gatunków szczególnie niepożądanych z punktu widzenia klinicznego wymienia się gronkowce koagulazododatnie takie jak: *S. aureus*, *S. intermedius*, *S. schleiferi* subsp. *coagulans*, *S. pseudointermedius*, *S. lutrae*, *S. delphini* oraz niektóre szczepy zaliczane do gatunku *S. hyicus* (Pottumarthy i wsp., 2004, van Hoovels i wsp., 2006). Spośród siedmiu gatunków gronkowców koagulazododatnich najlepiej poznanym i scharakteryzowanym gatunkiem jest gronkowiec złocisty – *Staphylococcus aureus* (Rosenbach 1884). Gatunek ten uznawany jest za jeden z najważniejszych czynników etiologicznych zakażeń ludzi i zwierząt. Może on wywoływać zarówno zakażenia miejscowe, ograniczone do miejsca wniknięcia patogenu, jak też rozprzestrzeniać się w organizmie, wywołując procesy patologiczne, dotyczące wielu tkanek i narządów. Wytwarzane przez *S. aureus* enterotoksyny stanowią jedną z najczęstszych przyczyn bakteryjnych zatruc pokarmowych, mających nierzadko masowy charakter (Le Loir i wsp. 2003; Hennekinne i wsp., 2012). W przeciwieństwie do *S. aureus*, gronkowce koagulazo-ujemne od wielu dekad uważane były za drobnoustroje umiarkowanie bądź zupełnie niepatogenne. Obecnie fakt, że gronkowce koagulazo-ujemne mogą powodować poważne zachorowania ludzi i zwierząt nie budzi już wątpliwości (Kloos i Bannerman, 1994). Coraz więcej wiadomo jest o udziale takich gatunków gronkowców koagulazo-ujemnych, jak: *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* czy *S. saprophyticus*, w zakażeniach szpitalnych oraz patologii zwierząt

gospodarskich a według niektórych badaczy potencjał chorobotwórczy wymienionych gatunków zdaje się zbliżony do *S. aureus* (Crass i Bergdoll, 1986; von Eiff i wsp., 2006; da Cunha i wsp., 2007; Piette i Verschraegen, 2009). Ze względu na wszechobecność gronkowców w środowisku ludzi i zwierząt, istnieje duże ryzyko wywołania stanu chorobowego oraz kontaminacji produktów spożywczych. Rosnący udział gronkowców w zakażeniach ludzi i zwierząt stwarza również konieczność prawidłowej ich identyfikacji, co z kolei umożliwia precyzyjne określenie roli poszczególnych gatunków w wywoływaniu procesów chorobowych. Przyczyniają się do tego coraz lepsze techniki identyfikacji tych mikroorganizmów, a zwłaszcza połączenie metod bazujących na analizie ich fenotypu i genotypu. Co więcej, identyfikacja i charakterystyka szczepów *Staphylococcus* izolowanych od zwierząt gospodarskich oraz z próbek żywności ma decydujące znaczenie w badaniach epidemiologicznych i opracowania skutecznych metod leczenia zakażeń i zatruc pokarmowych wywołanych przez te bakterie (Bystron i wsp., 2010).

Zjawisko przełamywania barier międzygatunkowych, pojawianie się nowych gatunków oraz zmiany taksonomii już odkrytych wymagają nowego spojrzenia na systematykę, diagnostykę i epidemiologię wywoływanych przez nie zakażeń. Głównym celem badań własnych, których wyniki składają się na cykl publikacji powiązanych tematycznie, była epidemiologia zakażeń u drobiu oraz analizą czynników wirulencji bakterii z rodzaju *Staphylococcus* w różnych aspektach. Należy podkreślić, że poznawanie patogenez, opracowywanie profilaktyki i zwalczania zakażeń bakteryjnych u drobiu stanowią główny cel naukowy oraz profil badawczy realizowany przeze mnie od 2002 roku. Początkowo były to zagadnienia związane z problematyką zakażeń pałeczkami *Salmonella* u drobiu, natomiast począwszy od 2011r. moje zainteresowania skupiają się wokół problemu zakażeń bakteriami z rodzaju *Staphylococcus* spp. pochodzących od ptaków z wielkotowarowych ferm drobiu w różnych częściach Polski.

Celem badań przedstawionych w pracy pod tytułem „**Identification of strains with phenotypes similar to those of *Staphylococcus aureus* isolated from table chicken eggs using MALDI-TOF MS and genotyping methods**” (4.1.1), była identyfikacja na poziomie gatunku szczepów *Staphylococcus* charakteryzujących się fenotypem podobnym do szczepów *Staphylococcus aureus*. Szczepy te wyizolowano z jaj kurzych konsumpcyjnych i zidentyfikowano za pomocą testu API ID32 Staph jako *S. aureus*, niemniej jednak wykazano ich ujemną reakcję w teście na obecność wolnej

koagulazy i na tej podstawie nadano im nazwę roboczą *Staphylococcus aureus*-like. Ponieważ test na obecność wolnej i związanej koagulazy (ang. clumping factor) jest podstawą identyfikacji gatunku to pojawienie się szczepów *S. aureus*, które fenotypowo nie wykazują pewnych cech (tutaj wytwarzanie koagulazy), stwarza trudności w rutynowej diagnostyce laboratoryjnej. Według badań Luczak-Kadłubowskiej i wsp., (2006), około 4,5% badanych szczepów *S. aureus* nie wytwarza jednego z białek specyficznych dla tego gatunku. Jak wykazano we wcześniejszych badaniach, występowanie w Polsce szczepów *S. aureus*, które nie wytwarzają czynnika wirulencji, który jest odpowiedzialny za wykrzepianie osocza (koagulaza związana- ang. clumping factor), jest zjawiskiem rzadko występującym, a odsetek takich szczepów stanowi około 1% (Szymanowska i wsp., 1993). Liczne techniki oparte na analizie bakteryjnego DNA, umożliwiają precyzyjną identyfikację drobnoustrojów zaliczanych do poszczególnych gatunków *Staphylococcus* (Mellman i wsp., 2006; Młynarczyk i wsp., 2000). W obrębie gatunku *S. aureus* obserwuje się dużą różnorodność wśród badanych szczepów. Ze względu na wzrost liczby doniesień naukowych dotyczących izolacji bakterii o fenotypie utrudniającym rozpoznanie gatunku, w wielu laboratoriach wprowadzono testy identyfikacji genetycznej oparte na wykrywaniu konserwatywnych sekwencji genowych charakterystycznych dla danego gatunku *Staphylococcus*. W przypadku *S. aureus*, takim celem może być gen *coa*- warunkujący wytwarzanie koagulazy przez dany szczep.

Uwzględniając przedstawioną powyżej problematykę w badaniach będących przedmiotem w/w pracy (4.1.1.) przeprowadzono również identyfikację szczepów określonych jako *Staphylococcus aureus* –like wyizolowanych z jaj kurzych konsumpcyjnych, które wykazywały fenotyp odpowiadający (zbliżony do) *S. aureus*. Próba ustalenia obecności genu *coa* u badanych szczepów nie ujawniła specyficznego produktu PCR o wielkości 500-900 par zasad, co oznacza, że żaden ze zbadanych szczepów nie posiada tego genu. Uzyskane wyniki skłoniły mnie do poszukiwania innej metody, która mogłaby w wiarygodny sposób zidentyfikować dane izolaty na poziomie gatunku. W niniejszym badaniu metodą zastosowaną do dalszej analizy było sekwencjonowanie genu *rpoB*, kodującego wysoce konserwatywną podjednostkę  $\beta$  polimerazy RNA bakteryjnej, która wcześniej okazała się odpowiednim celem do identyfikacji bakterii jelitowych, *Spirochaetes*, *Bartonella* i *Rickettsia*. Analiza pełnej sekwencji genu *rpoB* u kilku gatunkach *Staphylococcus* wykazała również, że może być

użytecznym markerem w badaniach taksonomicznych w obrębie tego rodzaju (Drancourt i Raoult, 2002; Mellmann i wsp., 2006). Wyniki przeprowadzonych badań własnych pozwoliły na ustalenie, że wśród badanych szczepów dominowały trzy gatunki *Staphylococcus*: *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* i *S. chromogenes*. Próba zidentyfikowania jednego ze szczepów nie powiodła się. Jednocześnie podjęto próbę zidentyfikowania tych samych szczepów *Staphylococcus* przy użyciu spektrometrii masowej MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry). Obejmuje ona analizę składu białek komórkowych, głównie tych występujących w dużych ilościach w komórce bakteryjnej, takich jak białka rybosomalne i umożliwia automatyczną identyfikację mikroorganizmów na podstawie ich profilu białkowego (Eigner i wsp., 2009; Wang i wsp., 2013). Metoda ta oparta jest na analizie unikatowego, niepowtarzalnego profilu białkowego drobnoustrojów, określanego jako molekularny „odcisk palca”, która umożliwia przeprowadzenie wiarygodnej identyfikacji wyhodowanych drobnoustrojów. W przypadku gronkowców aktualne dostępne dane literaturowe potwierdzają nawet 99,3% poprawnie zidentyfikowanych szczepów, dostępnych w bazie danych spektrometru mas (Heikens i wsp., 2005; Fox, 2006; Dubois i wsp., 2010). Analiza porównawcza uzyskanych rezultatów z wynikami poprzednio przeprowadzonych testów wykazała, że w 80% badanych szczepów wyniki identyfikacji były takie same jak w analizie opartej na sekwencjonowaniu genu *rpoB*. Jedynie w przypadku 20% szczepów zaobserwowano pewne niezgodności. Szczep, który nie mógł zostać zidentyfikowany za pomocą sekwencjonowania, został zidentyfikowany jako *S. chromogenes* przy użyciu spektrometrii masowej, a uzyskany wynik mieścił się w zakresie prawdopodobieństwa poprawnej identyfikacji. Przedstawione wyniki wskazują, że identyfikacja bakterii przy użyciu MALDI-TOF-MS w oparciu o analizę widm białek wewnątrzkomórkowych jest porównywalna z metodami opartymi na analizie sekwencji jednego z czterech genów (*rpoB*) stanowiących podstawę genetycznej identyfikacji gatunkowej gronkowców. Ponadto zaletą tej techniki jest prostota i szybkość analizy. Zarówno technika MALDI-TOF-MS jak i sekwencjonowanie genu *rpoB* pozwoliły na bardziej precyzyjną i szybką identyfikację szczepów *Staphylococcus* o nietypowych właściwościach.

W kolejnej pracy pt: „**Occurrence and characterization of *Staphylococcus* bacteria isolated from poultry in Western Poland**” (4.1.2), stanowiącej jednotematyczny cykl publikacji zaprezentowano zagadnienia dotyczące oceny



częstotliwości występowania zakażeń gronkowcowych u różnych gatunków drobiu w chowie wielkotowarowym oraz ocena wrażliwości wyizolowanych szczepów na wybrane antybiotyki. Powyższe zagadnienia stały się przedmiotem badań z uwagi na istotne znaczenie kliniczne bakterii z rodzaju *Staphylococcus* jako patogenów oportunistycznych. Coraz powszechniejsze stosowanie w wielkotowarowym chowie drobiu chemioterapeutyków o szerokim spektrum działania przeciwbakteryjnego niejednokrotnie pozwala na ujawnienie się chorobotwórczego potencjału mikroorganizmów uważanych dotąd za niezdolne do wywołania zakażeń (von Eiff i wsp., 2006). Wśród gatunków gronkowców koagulazo-ujemnych (ang. coagulase-negative staphylococci – CoNS) obecnie największe znaczenie chorobotwórcze przypisuje się szczepom zaliczanym do gatunku *S. epidermidis*, który jest określany jako drobnoustrój „na granicy patogenności i komensalizmu” (Queck i Otto, 2008). Właśnie w obrębie tego gatunku coraz częściej stwierdza się obecność szczepów o obniżonej wrażliwości na wankomycynę, antybiotyku stosowanego w leczeniu zamkniętym, zarezerwowanego do leczenia najcięższych zakażeń bakteryjnych (Veach i wsp., 1990). Znane są także szczepy *S. haemolyticus* wykazujące oporność na linezolid, który podobnie jak wankomycyna, zaliczany jest do grupy „leków ostatniej szansy” wykorzystywany do klinicznego zwalczania zakażeń wielolekoopornymi gronkowcami (Rodríguez-Aranda i wsp., 2009; Shinabarger, 1999). Również w patologii drobiu zakażenia powodowane przez *Staphylococcus* spp. nabierają coraz większego znaczenia i najczęściej izoluje się: *S. intermedius*, *S. sciuri*, i *S. hyicus* (Aarestrup i wsp., 2000; Piette i Verschraegen, 2009; Pottumarthy i wsp., 2004; Tate i wsp., 1993). Wysoki odsetek zakażeń gronkowcowych u drobiu wynika z powszechnego występowania tych mikroorganizmów w środowisku oraz na skórze ludzi jak również ze zdolności do wytwarzania przez nie wielowarstwowych aglomeracji zespolonych zewnątrzkomórkowymi polimerami, tj. biofilmu (de Silva i wsp. 2002; Otto, 2013).

W prezentowanej pracy (4.1.2) materiał stanowiły próbki zebrane na przestrzeni od grudnia 2013 do listopada 2014 roku od stad kurcząt brojlerów, indyków, kur kierunku nieśnego oraz kur hodowlanych, a także niewielkiego odsetka innych gatunków drobiu (kaczki i gęsi). Wielkość stad, z których pobierano próby do badań wahała się w granicach: od 8 do 500 tys. sztuk (w tym: stada brojlerów od 8 do 44 tys.; niosek od 50 do 500 tys., stada rodzicielskie od 20 do 120 tys.). Następnie określono wrażliwości wyizolowanych szczepów na wybrane chemioterapeutyki. Wyniki badań wykazały

stosunkowo wysoki wskaźnik zakażenia drobnoustrojami z rodzaju *Staphylococcus*. Łącznie z badanego materiału wyizolowano 302 szczepy bakterii należących do rodzaju *Staphylococcus*, co stanowi 10,7% badanych prób, z czego zidentyfikowano 24 gatunki *Staphylococcus*. Najwyższy odsetek stanowiły szczepy zaliczane do gatunku *S. cohnii* (23,50%), mniejszy odsetek (15,89%) szczepy *S. aureus*, a najmniej liczny szczepy *S. lentus* (13,90%). Pozostałe 22 gatunki występowały w znacznie niższym odsetku (od 5,96 do 0,33%). Badanie antybiotykowrażliwości wyizolowanych szczepów w warunkach *in vitro* nie wykazało 100% wrażliwości w stosunku do żadnego z dziewięciu zastosowanych chemioterapeutyków. Wyniki badań własnych wykazały również, że 30,7% badanych szczepów *S. aureus* wykazywało oporność na kilka (pięć lub więcej) z badanych antybiotyków. Wśród najczęściej obserwowanych profilów oporności można wymienić: enrofloksacynę, tylozynę, doksycyklinę i amoksycylinę. W przypadku szczepów należących do gatunku *S. cohnii* i *S. lentus* aż 49,1% i 44,4% (odpowiednio) wykazywało oporność na pięć lub więcej badanych chemioterapeutyków, takich jak: enrofloksacyna, doksycyklina, sulfametoksazol potencjalizowany trimetoprimem, linco-spectin i tylozyna. W dostępnych raportach z innych państw Europy odsetek opornych szczepów *Staphylococcus* nieznacznie różni się w poszczególnych latach jednak ogólna tendencja wskazuje, że ponad połowa wyizolowanych CoNS wykazuje oporność na jeden lub więcej z badanych antybiotyków (DANMAP, 2002; NORM-VET, 2005). Uzyskane wyniki wskazują na wzrastający udział gronkowców koagulazo-ujemnych w zakażeniach drobiu co wskazuje, że zagrożenie bezpieczeństwa związane z ich występowaniem nie tylko w środowisku klinicznym, ale także w żywności może być wyższe, niż wcześniej sądzono.

W kolejnej publikacji pt.: „**Phenotypic evaluation of the ability to produce enterotoxin in staphylococci isolated from broiler chickens and turkeys in Poland**” (4.1.3), stanowiącej cykl osiągnięcia naukowego, celem badań, była charakterystyka fenotypowa koagulazo-dodatnich szczepów *Staphylococcus* wyizolowanych od drobiu rzeźnego w Polsce ze szczególnym uwzględnieniem ich zdolności do wytwarzania w warunkach *in vitro* czterech podstawowych enterotoksyn (SEA-SED). Powyższy cel uwarunkowany był m.in. faktem, że drobnoustroje zaliczane do rodzaju *Staphylococcus* mogą wytwarzać liczne czynniki wirulencji, do których zalicza się białka powierzchniowe niezbędne w procesie kolonizacji oraz toksyny zewnątrzkomórkowe odpowiedzialne za destrukcję tkanek oraz inaktywację

mechanizmów obronnych gospodarza (Le Loir i wsp., 2003). Najnowsze dane wskazują, że gama obecnie rozpoznanych enterotoksyn *S. aureus* (SES / SEIS) zawiera 22 substancje. Są to klasyczne toksyny SEA, SEB, SEC (SEC1, SEC2 i SEC3, również SEC wariant owczy i bydłocy), SED i SEE, które wykryto podczas badania szczepów *S. aureus* wyizolowanych z ognisk zatruc pokarmowych a następnie sklasyfikowanych w odrębne typy serologiczne oraz nowe rodzaje SEs (SEG, SEH, SEI, SER, SES, SET) i SEIS (SEIJ, SeIk, SeIM, SEIN, SeIO, SEIP, SEIQ, SeIU, SEIU2 i SEIV) (Cremonesi 2005). Wszystkie wykazują aktywność superantygenów i są kodowane m.in. przez plazmidy, profagi, wyspy patogenności, wyspy genomowe vSA, lub geny zlokalizowane na chromosomie obok gronkowcowej kasety (SCC) na której znajdują się geny oporności na metycylinę (Argudín i wsp., 2010). Enterotoksyny gronkowcowe wykazują znaczną termostabilność, zachowując aktywność biologiczną nawet po przeprowadzeniu procesu pasteryzacji. Standardowa obróbka termiczna mięsa drobiowego podczas przygotowywania posiłku nie jest ich w stanie inaktywować, a skażone nimi mięso nie różni się pod względem organoleptycznych od produktów zdrowych (Holeckova i wsp., 2004). Enterotoksyny charakteryzują się również opornością na działanie wielu enzymów proteolitycznych takich jak pepsyna i tripsyna, dzięki czemu zachowują swoją aktywność w przewodzie pokarmowym (Le loir i wsp., 2003). Pierwotnie uważano, że jedynie gronkowce koagulazo-dodatnie, a przede wszystkim *S. aureus* posiadają zdolność wytwarzania enterotoksyn. W ostatnich latach stwierdzono jednak, że geny odpowiedzialne za możliwość wytwarzania niewielkich ilości enterotoksyn posiadają także inne koagulazo-dodatnie gatunki, takie jak *S.intermedius*, *S.hyicus*, *S. schleiferi* subsp. *coagulans*, *S. delphini*, a nawet niektóre gatunki gronkowców koagulazo-ujemnych np. *S. epidermidis* i *S. xylosus*, *S. simulans*, *S. haemolyticus*, *S. lugdunensis*, *S. hominis*, *S. warneri* i *S. caprae* (Becker i wsp., 2001; da Cuhna i wsp., 2007; Weir, 2007). Wymienione gatunki mogą również być przyczyną zatruc pokarmowych u ludzi czego przykładem jest *S. intermedius* izolowany od ludzi we wschodniej części Stanów Zjednoczonych (Khambaty i wsp., 1994). Dane literaturowe wskazują na duże zróżnicowanie pod względem częstości występowania szczepów enterotoksycznych bakterii należących do rodzaju *Staphylococcus* w danym środowisku (Genigeorgis, 1989; Mossel i Van Netten, 1990). Szczepy posiadające geny odpowiedzialne za produkcję enterotoksyn *sea-see* i *seh* stanowią poważne zagrożenie dla zdrowia konsumenta z uwagi na możliwość zanieczyszczenia nimi za

pośrednictwem rąk osoby zakażonej lub też drogą kropelkową produktów spożywczych w czasie ich obróbki (Leloir i wsp., 2003). Dane epidemiologiczne według raportu Europejskiego Urzędu do Spraw Bezpieczeństwa Żywności (European Food Safety Authority - EFSA) za 2009 rok wskazują, że prawdopodobną przyczyną 5,7% wszystkich zatruc pokarmowych spowodowanych przez toksyny gronkowcowe było spożywanie mięsa drobiowego lub produktów pochodzenia drobiowego (Anonymous, 2011).

W przedstawionej do osiągnięcia pracy (4.1.3) do oceny szczepów w kierunku zdolności wytwarzania enterotoksyn wykorzystano standardowy test lateksowy SET-RPLA (TD0900, Thermo Scientific), w którym potwierdzono zdolność do wytwarzania enterotoksyn w warunkach *in vitro* u 35,9% przebadanych izolatów. Na podstawie przeprowadzonych badań potwierdzono, przynależność wszystkich szczepów enterotoksycznych uzyskanych od drobiu do gatunku *S. aureus*. Inne gatunki gronkowców poddane badaniu (w tym *S. hyicus*, *S. schleiferi* subsp. *coagulans* i *S. delphini*), które w dostępnej literaturze (Adesiyum i wsp., 1984; Sledge i wsp., 2010), opisywane są jako potencjalnie enterotoksyczne, w badaniach własnych nie wykazały tej zdolności. Wśród wszystkich ocenianych izolatów (89 szczepów), 9% było zdolnych do produkcji toksyny A i aż 23,6% szczepów wytwarzało toksynę D. Enterotoksyny B i C wytwarzane były odpowiednio przez jeden i dwa szczepy co stanowiło niewielki odsetek badanych izolatów. Obecność enterotoksycznych szczepów *S. aureus* w próbkach pobranych od kurcząt i indyków rzeźnych stanowi potencjalne zagrożenie dla zdrowia konsumentów. Fakt, że niektóre spośród badanych izolatów mogą wytwarzać enterotoksynę A jest szczególnie niepokojący, ponieważ szacuje się, że w niektórych rejonach świata jest ona odpowiedzialna za ponad 75% przypadków zatruc pokarmowych u ludzi (Wieneke i wsp., 1993). Co więcej, jest ona toksyczna nawet w bardzo niskich stężeniach (0,6 ng/ml). Podsumowując wyniki uzyskane w prezentowanej publikacji (4.1.3) można stwierdzić, że drób może być nosicielem enterotoksycznych szczepów *S. aureus*. Ponadto, porównując dane zawarte w literaturze prezentowanej przez inne ośrodki naukowe wskazujące na możliwość wytwarzania enterotoksyny przez różne gatunki gronkowców, w prezentowanych badaniach własnych taką zdolność potwierdzono jedynie w przypadku szczepów *S. aureus*.

W kolejnym etapie prowadzonych badań została przeprowadzona analiza obecności poszczególnych genów enterotoksyn (A-E), toksyny zespołu szoku

toksycznego (TSST-1), eksfoliatyn (A i B), stafylokinazy, oznaczanie wrażliwości badanych szczepów *S. aureus* na oksacylinę w testach MIC (ang. Minimal Inhibitory Concentration), badanie metodą dyfuzyjno-krażkową wrażliwości na jedenaście wybranych antybiotyków oraz wykrywanie obecności genu *mecA* warunkującego oporność na metycylinę. Do różnicowania szczepów opornych na metycylinę (ang. methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* –MRSA) zastosowano endonukleazy Sma I i Apa I mające unikalne miejsca restrykcji w genomie *Staphylococcus*. Ponadto podjęto również próbę określenia profilu profagowego badanych szczepów. Wyniki badań opublikowano w pracy pod tytułem **“Association between the methicillin resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from slaughter poultry, their toxin gene profiles and prophage patterns”** (4.1.4) W badaniach wykorzystano 85 szczepów *Staphylococcus aureus* wyizolowanych z próbek pobranych z narządów wewnętrznych (serce, wątroba, stawy i szpik kostny) od drobiu rzeźnego w Polsce. Wykorzystano molekularne techniki multiplex PCR stosując specyficzne pary starterów dla docelowych genów; oporności na metycylinę (*mecA*), pięciu klasycznych enterotoksyn (*sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*), toksyny zespołu wstrząsu toksycznego (*tst*), toksyn złuszcających (*eta* i *etb*) oraz stafylokinazy (*sak*). Ponieważ ogromna większość szczepów *S. aureus* zawiera profagi włączone do ich chromosomu, w omawianej pracy podjęto również próbę określenia profili profagowych badanych szczepów. Ponadto dwadzieścia sześć izolatów MRSA po uprzednim trawieniu enzymami restrykcyjnymi SmaI i ApaI typowano przy zastosowaniu elektroforezy w zmiennym polu elektrycznym (PFGE -Pulsed-Field Gel Electrophoresis). Przedmiot badań został opracowany z uwagi na powszechne występowanie licznych czynników wirulencji wśród szczepów *S. aureus* izolowanych od zwierząt gospodarskich, co sprawia, że mogą one stwarzać niebezpieczeństwo dla zdrowia konsumentów oraz generować wysokie koszty leczenia (de Boer, 2009; El-Adawy, 2016; Mehrotra, 2000). Analizy genomów gronkowcowych wykazały, że horyzontalny transfer genów ma fundamentalne znaczenie dla różnicowania w obrębie gatunku *S. aureus*. Przypuszcza się, że nawet do 22% genomowego DNA stanowią sekwencje zmienne składające się z mobilnych lub niegdyś mobilnych elementów genetycznych (Lindsay, 2004). Gronkowcowe czynniki wirulencji o najważniejszym znaczeniu klinicznym, których źródłem może być transmisja bakteriofagowa to enterotoksyny i toksyna zespołu wstrząsu toksycznego (TSST-1), które są egzotoksynami należącymi do rodziny superantygenu (Dinges,

2000; Schlievert, 1993). Mechanizm działania superantygenów obejmuje zdolność indukowania niespecyficznego stymulacji proliferacji limfocytów T i wydzielania cytokin. Nagromadzenie cytokin w zakażonym gronkowcami organizmie może prowadzić do wstrząsu toksycznego. Pojedynczy szczep bakteryjny może wytwarzać dowolną z tych toksyn oddzielnie lub w różnych kombinacjach (Baba-Moussa 2010; Rooijackers, 2005). Kolejnym czynnikiem wirulencji jest stafylokinaza (SAK) wytwarzana przez niektóre szczepy *S. aureus*, jako aktywator ludzkiego plazminogenu specyficznego względem fibryny. Podczas procesu zakażenia, SAK hamuje fagocytozę komórek bakteryjnych, a powstanie kompleksu stafylokinazy z plazminogenem prowadzi do powstania aktywnej fibrynolizyny, enzymu proteolitycznego o szerokim spektrum działania, ułatwiającego penetrację komórek gronkowca do sąsiednich tkanek oraz ich destrukcję podczas infekcji (Bokarewa, 2006). Zdolność szczepów *S. aureus* do produkcji stafylokinazy będącej produktem genu *sak* można wykorzystać do śledzenia ekologicznego pochodzenia szczepu, ponieważ tylko szczepy zaliczane do biotypu ludzkiego są zdolne do jej produkcji. Jednak niektórzy naukowcy twierdzą, że również szczepy pochodzące od drobiu są zdolne do wytwarzania tego białka (De Buyser, 1987). Większość bakterii *S. aureus* jak również drobnoustroje innych gatunków zawierają w swoim genomie więcej niż jednego bakteriofaga wbudowanego w postaci ruchomego elementu genetycznego nazywanego profagiem. Taksonomia bakteriofagów według Międzynarodowego Komitetu ds. Taksonomii Wirusów (ICTV) opiera się na wielu parametrach fenotypowych i genotypowych, w tym morfologii, infekcyjności i organizacji genomu. Umiarkowane fagi *S. aureus* należące do rodziny *Siphoviridae* są klasyfikowane na podstawie ich aktywności litycznej, morfologii i właściwości serologicznych na sześć rodzajów fagów: 3A-likevirus, 11-likevirus, 77-likevirus i 187-likevirus. Fagi typu 77 dzielą się na dwie podgrupy serologiczne, Fa i Fb (Ackermann, 1987). Fagi typu Twort-like są fagami litycznymi i należą do rodziny *Myoviridae*. Bakteriofagi odgrywają ważną rolę w biologii tego gatunku. Wykazano, że profagi mogą uczestniczyć w zjawisku patogenezy infekcji bakteryjnej. Niektóre ważne czynniki wirulencji kodowane są przez te ruchome elementy genetyczne i mogą być przekazywane na drodze horyzontalnego przepływu genów innym drobnoustrojom. Wynika to z faktu, że geny przenoszone przez fagi mogą kodować nawet kilka spośród gronkowcowych czynników wirulencji, takich jak wyżej wymienione enterotoksyny (A,B,C,K,L,P,Q), stafylokinaza, toksyna zespołu szoku toksycznego (TSST-1),

gronkowcowy inhibitor dopełniacza,  $\beta$ -hemolysina, leukocydyna Panton'a-Valentin'a, gronkowcowe białko inhibitorowe chemotaksji lub białko odpowiedzialne za powstawanie biofilmu (Argudín, 2010; Rooijackers, 2005). Kluczową rolę w patogenezie i zjadliwości gatunku *Staphylococcus aureus* przypisuje się umiarkowanym bakteriofagom z rodziny *Siphoviridae* należących do rzędu *Caudovirales* (Ackermann, 1987). Uważa się, że bakteriofagi, poprzez przemiany lizogeniczne i udział w rozprzestrzenianiu się chorobotwórczych wysp, przyczyniają się do zmienności *S. aureus* i do tworzenia bardzo zjadliwych szczepów (Coleman, 1989). Mogą one również wpływać na adaptację *S. aureus* do gospodarzy, zarówno ludzi, jak i zwierząt udomowionych, dostarczając nowe informacje genetyczne lub ułatwiając utratę niepotrzebnego DNA w nowej niszy ekologicznej. Wykazano, że szczepy *S. aureus* pochodzenia zwierzęcego mogą być podatne na takie same bakteriofagi jak szczepy ludzkie, a tym samym poprzez fagi mogą pozyskiwać czynniki wirulencji charakterystyczne dla szczepów ludzkich (Chen, 2009). Co ciekawe, toksyny superantygenów są wykrywane częściej wśród gronkowców opornych na metycylinę. Na przykład, enterotoksyna A jest częściej wytwarzana przez szczepy MRSA (Kim, 2006).

Na podstawie wyników uzyskanych w prezentowanych badaniach własnych (4.1.4) potwierdzono, obecność genu *mecA* (odpowiedzialnego za oporność na metycylinę) u 30,6% badanych szczepów *S. aureus* pochodzących od drobiu rzeźnego. Natomiast obecność genów odpowiedzialnych za wytwarzanie stafylokokowej enterotoksyny A (SEA) wykazano u jednego ze szczepów metycylinoopornych (MRSA) i u dwóch wrażliwych na metycylinę (ang. methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* MSSA). Tylko jeden szczep MRSA i dwa szczepy MSSA wykazywały obecność genu toksyny zespołu wstrząsu toksycznego (TSST-1). Żaden ze szczepów MRSA nie posiadał genów odpowiedzialnych za wytwarzanie eksfoliatyny A i B, a tylko jeden MSSA posiadał gen eksfoliatyny A. Obecność genu stafylokinazy (*sak*) obserwowano u 13 szczepów MRSA i 5 szczepów MSSA. Wyniki badań wskazują na dużą częstość występowania profagów wśród badanych izolatów *Staphylococcus aureus*. U wszystkich badanych szczepów udało się wyodrębnić 15 wzorców profagowych. Typ 11-like był dominującym wzorcem. Uzyskane wyniki zdecydowanie sugerują, że osoby pracujące z żywym inwentarzem są potencjalnie narażone na kontakt ze szczepami *S. aureus* opornymi na metycylinę a tym samym na zwiększone ryzyko zakażeń

wywołanych przez szczepy MRSA. Badane w prezentowanej pracy (4.1.4) szczepy *S. aureus* zawierały od jednego do trzech profagów. W konsekwencji, duża różnorodność wśród profagów wbudowanych w genom badanych bakterii stwarza wysoki potencjał do wytwarzania różnych czynników wirulencji przenoszonych przez bakteriofagi. Izolaty MRSA pochodzące od ludzi (ang. community-acquired, CA-MRSA) mogą być typowane przy użyciu elektroforezy pulsacyjnej (PFGE), wykorzystując *SmaI* jako enzym restrykcyjny (Murchan i wsp., 2003). Zalety stosowania PFGE to dobra moc dyskryminacyjna i dobra powtarzalność na poziomie międzylaboratoryjnym, jeśli stosowane są standardowe protokoły badania. Jednak aktywność enzymu *SmaI* w stosunku do szczepów pochodzących od zwierząt gospodarskich (ang. livestock-associated, LA-MRSA) może być zablokowana z powodu metylacji miejsca restrykcyjnego w genomie bakteryjnym (bens i wsp., 2006). W moim badaniu tylko trzy izolaty MRSA można było opracować na podstawie trawienia enzymem *SmaI*. Jest wysoce prawdopodobne, że dwadzieścia trzy izolaty MRSA, które nie zostały strawione przez enzym *SmaI* natomiast poddały się trawieniu enzymem *ApaI* są pochodzenia zwierzęcego. Badanie z użyciem enzymu *ApaI* stanowiącego alternatywę dla *SmaI*, jak wspomniano powyżej pozwoliło na określenie stopnia podobieństwa w obrębie wszystkich dwudziestu sześciu szczepów MRSA wyizolowanych od drobiu.

Celem kolejnej pracy pt: „**Characterization of bacteriophages and their carriage in *Staphylococcus aureus* isolated from broilers in Poland.**” (4.1.5) włączonej do osiągnięcia naukowego, była izolacja i charakterystyka morfologiczna umiarkowanych bakteriofagów indukowanych ze szczepów *S. aureus* izolowanych z próbek klinicznych brojlerów kurzych i indyckich. Należy podkreślić, że w/w publikacja stanowi efekt najnowszego kierunku badań realizowanego w ramach mojej działalności naukowo-badawczej obejmującej zagadnienia dotyczące zagrożeń i korzyści związane z występowaniem bakteriofagów specyficznych dla gatunku *S. aureus*.

Bakteriofagi mogą być izolowane z wielu źródeł, ale zwykle bytują w organizmach, które są obecne w naturalnym środowisku. Co więcej są one wysoce plastyczne i posiadają wysokie tempo ewolucji. Przebieg cyklu replikacji jest kryterium podziału bakteriofagów na lityczne i lizogeniczne. Wszystkie opisane bakteriofagi, dla których gospodarzem jest *S. aureus* należą do rzędu *Caudovirales* (posiadające ogonki) (Ackermann, 1987). Bakteriofagi gronkowcowe w większości cechują się wysoką specyficznością lub też określoną swoistością (spektrum lityczne) wobec jednego



gospodarza a bakterie mają określony wzór fagowy (phage pattern), gdyż lizowane są przez określone fagi. Oznacza to, że działanie bakteriofagów gronkowcowych wiąże się z wąskim spektrum bakterii, ograniczającym się zazwyczaj do jednego gatunku, co czyni je przydatnym narzędziem diagnostycznym. Bakteriofagi gronkowców złocistych w dużej mierze wpływają na różnorodność szczepów należących do tego gatunku. Dzieje się tak dzięki możliwości wbudowywania się materiału genetycznego bakteriofaga do genomu gospodarza. W przypadku fagów *S. aureus* mogą one być narzędziem, które pomaga przetrwać w niekorzystnych warunkach lub odwrotnie, mogą zmniejszyć lub wyeliminować wrażliwe patogeny z danego organizmu (Iandolo, 2002). Przesyłając przypadkowe fragmenty DNA z komórek, w których się replikują, fagi stanowią główne nośniki horyzontalnego przenoszenia genów. Dzięki temu zjawisku mają one wpływ na ewolucję bakterii oraz specyficzność względem gospodarza. Opisane właściwości posiadają fagi należące do rodziny *Siphoviridae* określane jako fagi lizogeniczne (Francki, 1995). Zakażenie lizogeniczne komórki bakteryjnej może kończyć się namnożeniem faga i lizą komórki gospodarza lub też integracją genomu faga z komórką gospodarza – przejście w stan profaga i co za tym idzie nabycie przez bakterię nowej lub nowych dla niej informacji genetycznych. Zintegrowany z chromosomem bakteryjnym profag jest replikowany i przekazywany potomnym komórkom bakteryjnym podczas podziałów (Brabban 2005). W przypadku bakterii *S. aureus* udowodniono, że większość izolatów zawiera w swoim genomie od jednego do kilku profagów. W przypadku innych gatunków należących do rodzaju *Staphylococcus* obecność profagów nie jest regułą. Niemniej jednak potencjał chorobotwórczy niektórych gatunków gronkowców koagulazo-ujemnych może być zbliżony do reprezentowanego przez gatunki koagulazo-dodatnie. W związku z tym nie wyklucza się możliwości zakażenia innych gatunków gronkowców przez bakteriofagi specyficzne dla *S. aureus*. Jak dotąd, nieliczne doniesienia wskazują na możliwość lizowania komórek innych gatunków gronkowców przez bakteriofagi specyficzne dla *S. aureus*. W badaniach własnych wyizolowano trzydzieści jeden fagów poprzez indukcję mitomycyną C z profagów. Fagi scharakteryzowano pod względem morfologii, stabilności i aktywności bakteriologicznej wobec szczepów MRSA i MSSA. Podjęto również próbę oceny zakresu gospodarzy dla charakteryzowanych bakteriofagów. W teście wykorzystano również inne gatunki *Staphylococcus* oraz bakterie należące do innych rodzajów. Wszystkie użyte szczepy wyizolowano z próbek klinicznych

pobrane od drobiu oraz zidentyfikowano przy użyciu metod biochemicznych i MALDI-TOF MS. Były to: dwa kliniczne izolaty koagulazo-dodatnich szczepów *Staphylococcus* (*S. delphini* i *S. schleiferi*), dziesięć klinicznych izolatów koagulazo-ujemnych szczepów *Staphylococcus* (*S. sciuri*, *S. lentus*, *S. cohnii*, *S. xylosus*, *S. epidermidis*, *S. arlettae*, *S. saprophiticus*, *S. hominis*, *S. condiment* i *S. vitulinus*) oraz cztery szczepy bakterii innych niż *Staphylococcus* izolowanych z drobiu (dwa szczepy *Escherichia coli* i dwa szczepy *Enterococcus faecalis*). Badane bakteriofagi wykazywały aktywności lityczne wobec części z badanych szczepów *S. aureus*. Na podstawie obecności specyficznej sekwencji nukleotydowej przeprowadzono identyfikację molekularną bakteriofagów. Zbadano również obecność genów odpowiedzialnych za produkcję klasycznych enterotoksyn (A-E). Ustalono, że wszystkie wyizolowane bakteriofagi miały izomeryczną głowę i długi, cienki, niekurczliwy elastyczny ogon, charakterystyczny dla rodziny *Siphoviridae* z rzędu *Caudovirales*. Wyniki wskazują, że bakteriofagi indukowane w naszym badaniu mają swoistość wobec gospodarza i nie mają szerokiego zakresu gospodarza. Oznacza to, że ich działanie wiąże się z wąskim spektrum bakterii, ograniczonym do jednego gatunku, co czyni je użytecznym narzędziem diagnostycznym. Niektóre z analizowanych fagów niosą pojedyncze geny wirulencji (odpowiedzialne za wytwarzanie enterotoksyn). Jest to wysoce niepożądane zjawisko, ponieważ stwarza możliwość horyzontalnego transferu tych genów do innych gospodarzy. Obecność lizogennych bakteriofagów w szczepach *S. aureus* i ich potencjał do wprowadzenia do innych szczepów tego samego gatunku może znacząco wpływać na adaptację bakterii do środowiska i specyficzność bakterii względem gospodarza. W przypadku zakażenia takim szczepem bakteryjnym obecność fagów może również wpływać na określone objawy kliniczne w organizmie gospodarza. Możliwość niekorzystnych skutków wynikających z lizogenezy wyklucza zastosowanie tych bakteriofagów do celów terapeutycznych.

Na podstawie przeprowadzonych badań zaprezentowanych w postaci 5 publikacji stanowiących dzieło opracowano następujące wnioski końcowe:

1. Wzrastający udział gronkowców, w tym również gatunków koagulazo-ujemnych w zakażeniach drobiu wskazuje, że zagrożenie bezpieczeństwa związane z występowaniem tych drobnoustrojów nie tylko w środowisku życia ptaków, ale także w żywności pochodzenia zwierzęcego może być wyższe, niż wcześniej zakładano.

2. Potwierdzony wysoki odsetek wyizolowanych od drobiu szczepów z rodzaju *Staphylococcus* opornych w warunkach *in vitro* na zastosowane antybiotyki i chemioterapeutyki wskazuje na istotnie wzrastające zjawisko lekooporności wśród patogenów. Wśród najczęściej obserwowanych profilów oporności można wymienić brak wrażliwości na: ampicylinę, penicylinę G, amoksycylinę, enrofloksacynę, tylozynę, doksycylinę i tetracyklinę.
3. Wykazanie w badaniach molekularnych obecności genu *mecA*, warunkującego oporność na metycylinę u 30,6% badanych szczepów *S. aureus* u drobiu rzeźnego, potwierdza możliwość potencjalnego wzrostu ryzyka zakażenia u ludzi mających bezpośredni kontakt z żywym inwentarzem, a tym samym ze szczepami *S. aureus* opornymi na metycylinę (MRSA - ang. methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*).
4. Na podstawie przeprowadzonych badań własnych potwierdzono, że odporne na metycylinę *S. aureus* pochodzące od ludzi i zwierząt mogą być typowane przy użyciu elektroforezy pulsacyjnej (ang. pulsed field gel electrophoresis PFGE) z wykorzystaniem enzymu restrykcyjnego *SmaI*. Zaproponowane działania umożliwiły zakwalifikowanie wybranych izolatów pochodzących od zwierząt jako typowe dla CA-MRSA (ang. community-acquired MRSA) i co może sugerować bezpośrednią ich transmisję z ludzi na zwierzęta.
5. Ze względu na dużą różnorodność wśród badanych szczepów *S. aureus* oraz możliwość izolacji bakterii o fenotypie utrudniającym rozpoznanie gatunku w rutynowej diagnostyce laboratoryjnej tych drobnoustrojów, zasadne wydaje się zastosowanie testów identyfikacji genetycznej opartych na wykrywaniu konserwatywnych sekwencji genowych charakterystycznych dla danego gatunku *Staphylococcus*.
6. W przeprowadzonych badaniach własnych potwierdzono również zasadność identyfikacji wyizolowanych bakterii z rodzaju *Staphylococcus* przy użyciu MALDI-TOF-MS (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry). Zastosowana metoda identyfikacji drobnoustrojów, wykorzystująca analizę widm białek wewnątrzkomórkowych jest porównywalna z metodami opartymi na analizie sekwencji jednego z czterech genów (*rpoB*), stanowiących podstawę genetycznej identyfikacji gatunkowej gronkowców. Ponadto zaletą tej techniki jest łatwość i szybkość analizy, a także bardziej precyzyjną i szybką

identyfikację szczepów *Staphylococcus* zwłaszcza o nietypowych właściwościach biochemicznych.

7. Na podstawie rezultatów uzyskanych w ramach kompleksowej fenotypowej oraz genotypowej charakterystyki szczepów *S. aureus* izolowanych od drobiu potwierdzono zdolność wytwarzania enterotoksyn, toksyny zespołu wstrząsu toksycznego, toksyn złuszcających A i B oraz stafylokinazy, a także obecność genów warunkujących wytwarzanie w/w czynników wirulencji przez niektóre izolaty. Na szczególne podkreślenie zasługuje wykazanie zdolności wytwarzania enterotoksyny A, z uwagi na jej istotny (ponad 75%) udział w wywoływaniu przypadków zatruc pokarmowych u ludzi na świecie.
8. Analizy genomów gronkowcowych wykazały, że horyzontalny transfer genów ma fundamentalne znaczenie dla zróżnicowania w obrębie gatunku *S. aureus*. Większość bakterii *S. aureus* jak również drobnoustroje innych gatunków zawierają w swoim genomie więcej niż jednego bakteriofaga wbudowanego w postaci ruchomego elementu genetycznego nazywanego profagiem. Geny przenoszone przez bakteriofagi mogą kodować nawet kilka spośród gronkowcowych czynników wirulencji, takich jak wymienione powyżej enterotoksyny, stafylokinazę, toksynę zespołu szoku toksycznego TSST-1 (ang. toxic shock syndrome toxin), eksfoliatyny A i B. Należy podkreślić, że toksyny superantygenów są wykrywane częściej wśród gronkowców opornych na metycylinę.
9. Bakteriofagi należące do rodziny *Siphoviridae* określane jako fagi lizogeniczne wykazują powinowactwo do wąskiego spektrum bakterii, ograniczającego się zazwyczaj do jednego gatunku, co czyni je przydatnym narzędziem diagnostycznym. Bakteriofagi gronkowców złocistych w dużej mierze wpływają na różnorodność szczepów należących do tego gatunku. Dzieje się tak dzięki możliwości wbudowywania się materiału genetycznego bakteriofaga do genomu gospodarza. W przypadku fagów *S. aureus* mogą one być narzędziem, które pomaga przetrwać w niekorzystnych warunkach lub odwrotnie, mogą zmniejszyć lub wyeliminować wrażliwe patogeny z danego organizmu. Obecność lizogennych bakteriofagów w szczepach *S. aureus* i ich potencjał do wprowadzenia do innych szczepów tego samego gatunku może znacząco wpływać na adaptację bakterii do środowiska i specyficzność bakterii względem gospodarza.

Piśmiennictwo

1. Aarestrup FM, Agersal Y, Ahrens P, Jirgensen JC, Madsen M, Jensen LB (2000) Antimicrobial susceptibility and presence of resistance genes in staphylococci from poultry. *Vet Microbiol* 74: 353-364.
2. Ackermann HW, DuBow MS (1987) Viruses of procaryotes, vol 2. Natural groups of bacteriophages. CRC Press, Boca Raton, Florida.
3. Adesiyun AA, Tatini SR, Hoover DG (1984) Production of enterotoxin by *Staphylococcus hyicus*. *Vet Microbiol* 9: 487-495.
4. Anonymous (2011) The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents, Antimicrobial Resistance and Foodborne Outbreaks in the European Union in 2009. EFSA J 2090, 1-378.
5. Argudín M.Á., Mendoza M.C., Rodicio M.R (2010) Food poisoning and *Staphylococcus aureus* enterotoxins. *Toxins*, 2, 1751-73.
6. Baba-Moussa L, Ahissou H, Azokpota P, Assogba B, Atindéhou MM, Anagonou S, Keller D, Sanni A, Prévost G (2010) Toxins and adhesion factors associated with *Staphylococcus aureus* strains isolated from diarrheal patient in Benin. *Afr J Biotechnol* 9: 604-611.
7. Becker K, Haverkämper G., von Eiff C., Roth R., Peters G (2001) Survey of staphylococcal enterotoxin genes, exfoliative toxin genes, and toxic shock syndrome toxin 1 gene in non-*Staphylococcus aureus* species. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 20, 407-9.
8. Bens CPM, Voss A, Klaassen CHW (2006). Presence of a novel DNA methylation enzyme in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates associated with pig farming leads to uninterpretable results in standard pulsed-field gel electrophoresis analysis. *J. Clin. Microbiol.* 44:1875–1876.
9. Bokarewa M.I, Jin T, Tarkowski A (2006) *Staphylococcus aureus*: Staphylokinase. *Int J Biochem Cell Biol*, 38, 504-509.
10. Brabban A.D., Hite E., Callaway T.R (2005) Evolution of foodborne pathogens via temperate bacteriophage-mediated gene transfer. *Foodborne Pathogens and Disease*, 2: 287– 303.
11. Bystroń J., Podkowik M., Piasecki T., Wieliczko A., Molenda J., Bania J (2010) Genotypes and enterotoxin gene content of *S. aureus* isolated from poultry. *Vet Microbiol*, 144, 498–501.
12. Chen J, Novick R.P (2009) Phage-mediated intergeneric transfer of toxin genes. *Sciences*, 323, 139-141.
13. Coleman D.C, Sullivan D, Russell R.J (1989) *Staphylococcus aureus* bacteriophages mediating the simultaneous lysogenic conversion of  $\beta$ -lysin, staphylokinase and enterotoxin A: molecular mechanism of triple conversion. *Journal of General Microbiology*, 135, 1679-1697.
14. Crass B., Bergdoll M (1986) Involvement of coagulase-negative staphylococci in toxic shock syndrome. *J Clin Microbiol.* 23, 43-45
15. Cremonesi P, Luzzana M., Brasca M, Morandi S, Lodi R, Vimercati C, Agnellini D, Caramenti G, Moroni P, Castiglioni B (2005) Development of a multiplex PCR assay for the identification of *Staphylococcus aureus* enterotoxigenic strains isolated from milk and dairy products. *Mol Cell Probes* 19: 299–305.

16. da Cunha Mde L., Calsolari R.A., Júnior J.P (2007) Detection of enterotoxin and toxic shock syndrome toxin 1 genes in *Staphylococcus*, with emphasis on coagulase-negative staphylococci. *Microbiol Immunol*, 51, 381-90.
17. DANMAP (2002) Use of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from food animals, foods and humans in Denmark. Available at: [http://www.danmap.org/pdfFiles/Danmap\\_2002.pdf](http://www.danmap.org/pdfFiles/Danmap_2002.pdf)
18. de Boer E, Zwartkruis-Nahuis JT, Wit B, Huijsdens XW, de Neeling AJ, Bosch T, van Oosterom RA, Vila A, Heuvelink AE (2009) Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in meat. *Int J Food Microbiol* 134: 52–56.
19. de Buyser ML, Dilasser F, Hummel R, Bergdoll MS (1987) Enterotoxin and toxic shock syndrome toxin-1 production by staphylococci isolated from goat's milk. *Int J Food Microbiol* 5: 301-309.
20. de Silva GD, Kantzanou M, Justice A, Massey RC, Wilkinson AR, Day NP, Peacock SJ (2002) The *ica* operon and biofilm production in coagulase-negative Staphylococci associated with carriage and disease in a neonatal intensive care unit. *J Clin Microbiol* 40: 382–388.
21. Dinges MM, Orwin PM, Schlievert PM (2000) Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clinical Microbiology Reviews*, 13: 16-34.
22. Drancourt M., Raoult D (2002) *rpoB* gene sequence-based identification of *Staphylococcus* species. *J Clin Microbiol*, 40, 1333–1338.
23. Dubois D., Leyssene D., Chacornac J. P., Kostrzewa M., Schmit P. O., Talon R., et al (2010) Identification of a variety of *Staphylococcus* species by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J. Clin. Microbiol.* 48 941–945.
24. Cho S., Naber K., Hacker J., Ziebuhr W (2002) Detection of the *icaADBC* gene cluster and biofilm formation in *Staphylococcus epidermidis* isolates from catheter-related urinary tract infections. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 19, 570-575.
25. Eigner U., Holfelder M., Oberdorfer K., Betz-Wild U., Bertsch D., Fahr A.M (2009) Performance of a matrix-assisted laser desorption ionization-time-of-flight mass spectrometry system for the identification of bacterial isolates in the clinical routine laboratory. *Clin Lab*, 55, 289–296.
26. El-Adawy H, Ahmed M, Hotzel H, Monecke S, Schulz J, Hartung J, Ehrlich R, Neubauer H, Hafez M (2016) Characterization of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from healthy turkeys and broilers using DNA microarrays. *Front Microbiol* Published online 19 December 2016. doi: 10.3389/fmicb.2016.02019
27. Fox A (2006) Mass spectrometry for species or strain identification after culture or without culture: past, present, and future. *J. Clin. Microbiol.* 44:2677–2680.
28. Francki R.I.B., Fauquet C.M., Knudson D.L., Brown F. Eds, (1995) Classification and Nomenclature of Viruses—5th Report of the International Committee for Virus Taxonomy, 5th ed.; Springer: Verlag Wien, Austria, p. 95.
29. Genigeorgis C.A (1989) Present state of knowledge on staphylococcal intoxication. *Int J Food Microbiol*, 9, 327–360.

30. Gotz, F., Bannerman, T., Schleifer, K.H (2006). The genera *Staphylococcus* and *Micrococcus*. In The Prokaryotes, 3rd edn, Vol. 4 Bacteria: Firmicutes, Cyanobacteria, pp. 5–75. Edited by M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K. H. Schleifer & E. Stackebrandt. New York, NY: Springer.
31. Heikens E., Fleer A., Paauw A., Florijn A., Fluit A.C (2005) Comparison of genotypic and phenotypic methods for species-level identification of clinical isolates of coagulase negative staphylococci. J Clin Microbiol, 43, 2286–2290.
32. Hennekinne J., de Buyser M., Dragacci S (2012) *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. FEMS Microbiol. Rev. 36, 815-836.
33. Holeckova B, Holoda E, Fotta M, Kalinocova V, Gondol C, Grolmus J (2002) Occurrence of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in food. Ann Agric Environ Med, 9, 179–182.
34. Iandolo J.J., Worrell V., Groicher K.H, Qian Y., Tian R., Kenton S., Dorman A., Ji H., Lin S., Loh P., Qi S., Zhu H., Roe B.A (2002) Comparative analysis of the genomes of the temperate bacteriophages phi 11, phi 12 and phi 13 of *Staphylococcus aureus* 8325. Gene ,289, 109–118.
35. Khambaty F.M , Bennett R.W, Shah D.B (1994) Application of pulse field gel electrophoresis to the epidemiological characterisation of *Staphylococcus intermedius* implicated in a food-related outbreak. *Epidemiol Infect* 113: 75–81.
36. Kim JS, Song W, Kim HS, Cho HC, Lee KM, Choi MS, Kim EC (2006) Association between the methicillin resistance of clinical isolates of *Staphylococcus aureus*, their staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*), subtype classification, and their toxin gene profiles. *Diagn Microbiol Infect Dis* 56: 289-295.
37. Kloos W., Bannerman T (1994) Update on clinical significance of coagulase-negative staphylococci. *Clin. Microbiol. Rev.*, 7, 117-140.
38. Le Loir Y, Baron F, Gautier M (2003) *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genet Mol Res* 2: 63–76.
39. Lindsay J.A, Holden MT (2004) *Staphylococcus aureus*: superbug, super genome? *Trends Microbiol*, 12, 378-85.
40. Luczak-Kadlubowska A., Krzyszton-Russjan J., Hryniewicz W (2006) Characteristics of *Staphylococcus aureus* strains isolated in Poland in 1996 to 2004 that were deficient in species-specific proteins. *Journal of Clinical Microbiology* 44, 4018-24.
41. Mehrotra M, Wang G, Johnson WM (2000) Multiplex PCR for detection of genes for *Staphylococcus aureus* enterotoxins, exfoliative toxins, toxic shock syndrome toxin 1, and methicillin resistance. *J Clin Microbiol* 38: 1032–1035
42. Mellmann K., Becker K., von Eiff C., Keckevoet U., Schumann P., Harmsen D (2006) Sequencing and staphylococci identification. *Emerg Infect Dis*, 12, 333–336.
43. Mlynarczyk A., Mlynarczyk G., Szymanowska A., Stanczak J., Luczak M., Jeliaszewicz J (2000) Application of PCR for detection of *coa* and *nuc* genes in methicillin-resistant, coagulase-negative strains of *Staphylococcus aureus* (MRSA-CN). *Med Dosw Mikrobiol*, 52, 217–222.
44. Mossel D.A.A, van Netten P (1990) *Staphylococcus aureus* and related staphylococci in foods: ecology, proliferation, toxinogenesis, control and monitoring. *J. Appl. Bacteriol. Symp. Suppl.*, 69 , 123-145.

45. Murchan S, Kaufmann ME, Deplano A, de Ryck R, Struelens M, Zinn CE, Fussing V, Salmenlinna S, Vuopio-Varkila J, El Solh N, Cuny C, Witte W, Tassios PT, Legakis N, van Leeuwen W, van Belkum A, Vindel A, Laconcha I, Garaizar J, Haeggman S, Olsson-Liljequist B, Ransjo U, Coombes G, Cookson B (2003) Harmonization of pulsed-field gel electrophoresis protocols for epidemiological typing of strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a single approach developed by consensus in 10 European laboratories and its application for tracing the spread of related strains. *J. Clin. Microbiol.* 41:1574–1585.
46. NORM-VET (2005) Usage of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in Norway, 2006. Available at: [http://www.vetinst.no/arkiv/Zoonosesenteret/NORM\\_NORM-Vet\\_2005.pgf](http://www.vetinst.no/arkiv/Zoonosesenteret/NORM_NORM-Vet_2005.pgf)
47. Otto M (2013) Staphylococcal infections: mechanisms of biofilm maturation and detachment as critical determinants of pathogenicity. *Annu. Rev. Med.* 64, 175-188.
48. Piette A, Verschraegen G (2009) Role of coagulase-negative staphylococci in human disease. *Vet Microbiol* 134: 45–54.
49. Pottumarthy, S., Schapiro, J.M., Prentice, J.L., Houze, Y.B., Swanzy, S.R., Fang, F.C. and Cookson, B.T. (2004) Clinical isolates of *Staphylococcus intermedius* masquerading as methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 42, 5881–5884.
50. Queck S., Otto M (2008) *Staphylococcus epidermidis* and other Coagulase-Negative Staphylococci. W: Lindsay J. (red.): *Staphylococcus. Molecular Genetics*. Caister Academic Press, Norfolk, UK.
51. Rodríguez-Aranda A., Daskalaki M., Villar J., Sanz F., Otero J., Chaves F (2009) Nosocomial spread of linezolid-resistant *Staphylococcus haemolyticus* infections in an intensive care unit. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 63, 398-402.
52. Rooijackers SH, van Kessel KP, van Strijp JA (2005) Staphylococcal innate immune evasion. *Trends in Microbiology*, 13, 596–601.
53. Schlievert P M (1993) Role of superantigens in human diseases. *The Journal of Infectious Diseases*, 167, 997–1002.
54. Sledge DG, Danieu PK, Bolin CA, Bolin SR., Lim A, Anderson BC, Kiupel M (2010) Outbreak of Neonatal Diarrhea in Farmed Mink Kits (*Mustella vison*) Associated With Enterotoxigenic *Staphylococcus delphini*. *Vet Pathol* 47: 751–757.
55. Shinabarger D (1999) Mechanism of action of oxazolidinone antibacterial agents. *Expert. Opin. Investig. Drugs*, 8, 1195-2002.
56. Szymanowska A., Sawicka-Grzelak A., Mlynarczyk A., Mlynarczyk G (1993) Evaluation of drug sensitivity and biochemical properties of coagulase -negative *S. aureus* strains isolated from clinical specimens. *Med Dosw Mikrobiol*, 45, 11–14.
57. Tate CR, Mitchell WC, Miller RG (1993) *Staphylococcus hyicus* associated with turkey stifle joint osteomyelitis. *Avian Dis* 37: 905-907.
58. Van Hoovels L., Vankeerberghen A., Boel A., Van Vaerenbergh K., De Beenhouwer H (2006) First case of *Staphylococcus pseudintermedius* infection in a human. *J Clin Microbiol.* 44, :46094612.



59. Veach L., Pfaller M., Barrett M., Koontz F., Wenzel R (1990) Vancomycin resistance in *Staphylococcus haemolyticus* causing colonization and bloodstream infection. J. Clin. Microbiol, 28, 2064-2068
60. von Eiff C., Arciola C., Montanaro L., Becker K., Campoccia D (2006) Emerging *Staphylococcus* species as new pathogens in implant infections. Int. J. Artif. Organs, 29, 360-367.
61. Wang Y.R., Chen Q., Cui S.H., Li F.Q (2013) Characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from clinical specimens by Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-flight Mass Spectrometry. Biomed Environ Sci, 26, 430–436.
62. Weir D, Jones C, Ammerman L, Dybdahl K, Tomlinson S (2007) Report of a strain of *Staphylococcus caprae* with the genes for enterotoxin A and enterotoxin-Like Toxin Type P. J Clin Microbiol 45: 3476–3477.
63. Wieneke AA, Roberts D, Gilbert RJ (1993) Staphylococcal food poisoning in the United Kingdom, 1969–90. Epidemiol Infect, 110, 519–531.

## 5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

### 5.1. Dorobek naukowy przed uzyskaniem stopnia doktora nauk weterynaryjnych

Po ukończeniu studiów na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej AR w Lublinie w 2001 roku rozpoczęłam studia doktoranckie a następnie zostałam zatrudniona w na stanowisku asystenta w Zakładzie Profilaktyki Ogólnej i Chorób Ptaków pod kierownictwem prof. dr hab. Jerzego Rzedzickiego.

Pierwszy okres mojej pracy naukowo-badawczej i klinicznej obejmował zapoznanie się z technikami diagnostycznymi i terapeutycznymi wykorzystywanymi w rozpoznawaniu i leczeniu chorób drobiu oraz ptaków ozdobnych oraz ich zastosowaniem w praktyce lekarsko-weterynaryjnej. Jednocześnie pracując, jako lekarz w gabinecie chorób ptaków, rozpoczęłam badania nad zakażeniami *Salmonella* spp. u drobiu, których wyniki przedstawiłam w pracy doktorskiej.

Efektom prowadzonych badań i obserwacji poczynionych w tym czasie są publikacje, które ukazały się drukiem przed uzyskaniem tytułu doktora nauk weterynaryjnych w czasopismach posiadających Impact Factor (IF) oraz w czasopismach naukowych nieposiadającym IF (część B wykazu MNiSW):

- 5.1.1. Rzedzicki J., Kolasa<sup>1</sup> A.: Metody wykrywania pałeczek *Salmonella* w jajach. *Medycyna Weterynaryjna* 2003, Vol. 59, 956-960, (10 pkt MNiSW, IF – 0.236)
- 5.1.2. Rzedzicki J., Boś M., Kolasa<sup>1</sup> A., Skowron M.: Wpływ antybiotyków na zmienność właściwości biochemicznych salmonelli. *Medycyna Weterynaryjna* 2004, Vol. 60, 1045-1048, (10 pkt MNiSW, IF 0.285)
- 5.1.3. Rzedzicki J., Kołodziejczyk A., Gliński Z., Dudzic T., Kolasa<sup>1</sup> A.: Studies on diagnostics of salmonellosis poultry including PCR technique. *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska, DD Medicina Veterinaria* 2002, Vol. 57, 193-202, (4 pkt. MNiSW)
- 5.1.4. Rzedzicki J., Skowron M., Kolasa<sup>1</sup> A.: Acquiring the drug-resistance by *Salmonella* Enteritidis rods under in vitro conditions. *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska, DD Medicina Veterinaria* 2004 Vol. 59, 197-204, (4 pkt MNiSW)

---

<sup>1</sup>praca opublikowana przed zmianą nazwiska

- 5.1.5. Rzedzicki J., Kolasa<sup>1</sup> A., Boś M., Gliński Z.: Influence of chemiotherapeutics on plasmid profile and phage types of salmonellae. *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska, DD Medicina Veterinaria* 2004 Vol. 59, 20, 179-188, (4 pkt MNiSW)
- 5.1.6. Rzedzicki J., Boś M., Kolasa<sup>1</sup> A.: Influence of antibiotics on growth dynamics and movement ability of *Salmonella* rods. *Polish Journal of Veterinary Sciences* 2004, Vol. 7, No. 4, 267-274, (6 pkt MNiSW)
- 5.1.7. Rzedzicki J., Kolasa<sup>1</sup> A., Gliński Z.: Diseases of the respiratory tract of birds a threat to human health. *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska, DD Medicina Veterinaria* 2004, Vol. 59, 171-177, (4 pkt. MNiSW)
- 5.1.8. Rzedzicki J., Kolasa<sup>1</sup> A., Gliński Z: Detection of transmission of Salmonellas from laying hens to eggs. *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska, DD Medicina Veterinaria* 2004, Vol. 59, 189-195, (4 pkt. MNiSW)
- 5.1.9. Skowron M., Rzedzicki J., Kolasa<sup>1</sup> A.: Identification of Salmonella rods in tissues of hens treated with selected antibiotics. *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska, DD Medicina Veterinaria* 2006, Vol. 61, 229-238, (6 pkt MNiSW)
- 5.1.10. Rzedzicki J., Skowron M., Kolasa<sup>1</sup> A., Pyzik E.: Influence of selected antibiotics on serological tests results at hens infected with *Salmonella* Enteritidis rods. *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska, DD Medicina Veterinaria* 2005, Vol. 60, 141-148, (4 pkt MNiSW)
- 5.1.11. Wymiernym efektem moich zainteresowań naukowo- badawczych jest również współautorstwo w podręczniku dofinansowanym przez Ministerstwo Edukacji Narodowej i Sportu pod tytułem „Choroby drobiu” pod redakcją Michała Mazurkiewicza. Należy podkreślić, że w/w monografia została wyróżniona zespołową nagrodę Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 2 października 2006 roku (za współautorstwo podręcznika pt.: „Choroby drobiu”).
- Mój udział jako współautora dotyczył następujących rozdziałów:
- Rozdział 4: Choroby z niedoboru składników pokarmowych. Aut. Jerzy Rzedzicki, Agnieszka Kolasa<sup>1</sup>

---

<sup>1</sup>praca opublikowana przed zmianą nazwiska

Rozdział 9: Choroby metaboliczne i choroby o niewyjaśnionej etiologii. Aut. Jerzy Rzedzicki, Agnieszka Kolasa<sup>1</sup>

Choroby Drobiu”. Wrocław, 2005. Wydawnictwo Akademii Rolniczej we Wrocławiu ISBN 83-89189—76-3

Choroby Drobiu”. Wrocław, 2011. Wydawnictwo Akademii Rolniczej we Wrocławiu ISBN 978-83—7717-078-6

## **5.2 Działalność aplikacyjna**

Moje badania naukowe mają również charakter aplikacyjny oraz wymiar praktyczny, co potwierdza współdziałanie w uzyskanych patentach nadanych przez w Urząd Patentowy Rzeczypospolitej Polskiej. Jest to efekt współpracy nawiązanej z dr hab. Zbigniewem Sroka, pracownikiem Katedry i Zakładu Farmakognozji Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, co pozwoliło na opracowanie dwóch wynalazków w dziedzinie: „Środki farmaceutyczne zwiększające odporność na infekcje i stres u ptaków”.

Poniżej przedstawiono opis uzyskanych patentów.

5.2.1 .Sroka. Z, Kolasa<sup>1</sup> A. Środki farmaceutyczne do pomocniczego leczenia chorób infekcyjnych u ptaków. WUP 2011.04.29, PL208366 (B1); BUP 2007.03.05, PL376876 (A1). Zgłoszenie 2005.09.02, (15 pkt. MNiSW)

5.2.2.Sroka Z., Kolasa<sup>1</sup> A., Koncicki A., Franciczek R., Słupski M. Środki farmaceutyczne zwiększające odporność na infekcje oraz stres u ptaków. WUP 2014.02.28, PL216035 (B1); BUP 2007.10.29, PL379577 (A1). Zgłoszenie 2006.04.28, (15 pkt. MNiSW)

## **5.3. Udział w kongresach i konferencjach naukowych**

W ramach prowadzonej działalności naukowej uczestniczyłam również czynnie w kongresach oraz konferencjach naukowych obejmujących zagadnienia z zakresu chorób ptaków, czego potwierdzeniem jest współautorstwo w zgłoszeniach konferencyjnych:

5.3.1. Rzedzicki J., Kolasa<sup>1</sup> A.: Warunki środowiskowe a odporność organizmu ptaków. Opublikowane w materiałach z Konferencji naukowej „Immunosupresja i immunomodulacja układu odpornościowego ptaków – możliwości immunoprofilaktyki” Polanica Zdrój 19-20.09.2003 r. str.17.

---

<sup>1</sup>praca opublikowana przed zmianą nazwiska

- 5.3.2. Rzedzicki J., Kolasa<sup>1</sup> A.: Choroby układu oddechowego ptaków potencjalnym zagrożeniem zdrowia człowieka. Konferencja naukowa „Schorzenia układu oddechowego ptaków – etiologia, diagnostyka i zwalczanie” Polanica Zdrój 20-22.09.2002 r. Materiały konferencyjne, str.66.
- 5.3.3. Stępień-Pyśniak D., Kolasa<sup>1</sup> A.: Występowanie i rola flory bakteryjnej w jajach oraz układzie rozrodczym ptaków. Konferencja naukowa „Patologia narządu rozrodczego ptaków – etiologia, diagnostyka i zwalczanie” Polanica Zdrój 16-18. 09. 2005 r. Materiały konferencyjne, str.139-148.
- 5.3.4. Kolasa<sup>1</sup> A., Rzedzicki J., Stępień-Pyśniak D.: Kolonizacja jajnika i jajowodu oraz białka i żółtka u kur zakażonych pałeczkami *Salmonella*. Konferencja naukowa „Patologia narządu rozrodczego ptaków – etiologia, diagnostyka i zwalczanie” Polanica Zdrój 16-18. 09. 2005 r. Materiały konferencyjne, str. 131-139.

#### **5.4. Działalność popularno-naukowa**

W ramach prowadzonej działalności popularyzującej naukę byłam również współautorem publikacji przeglądowych o tematyce związanej z patologią drobiu:

- 5.4.1. Rzedzicki J., Kolasa<sup>1</sup> A.: Warunki środowiskowe a odporność organizmu ptaków. *Magazyn Weterynaryjny* 2004, Suplement- drób, kwiecień-maj, s. 55-56
- 5.4.2. Kolasa<sup>1</sup> A. Skutki niedoboru niezbędnych składników mineralnych u drobiu. *Magazyn Weterynaryjny* 2005, Suplement- drób, maj, s. 39-41
- 5.4.3. Kolasa<sup>1</sup> A. Choroba zielonych mięśni. *Polskie Drobiarstwo* 2006, 14: 40-41

Efektem wymiernym kończącym ten etap mojej działalności naukowej było uzyskanie w dniu 08.06.2006 r., stopnia doktora nauk weterynaryjnych na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej AR w Lublinie, na podstawie dysertacji doktorskiej pt.: „Wpływ antybiotykoterapii niosek na wykrywalność pałeczek *Salmonella* w jajach oraz poziom swoistych przeciwciał żółtkowych”. Promotorem mojej pracy doktorskiej był prof. dr hab. Jerzy Rzedzicki, a rozprawa doktorska została wyróżniona indywidualną nagrodą III stopnia Rektora UP (Akademii Rolniczej) z dnia 01.10.2007 r.

---

<sup>1</sup>praca opublikowana przed zmianą nazwiska

### 5.5. Dorobek naukowy po uzyskaniu stopnia doktora nauk weterynaryjnych.

Dorobek po uzyskaniu stopnia dr obejmuje 55 publikacji, w tym 22, w czasopismach wyszczególnionych w JCR.

W tabeli przedstawiono szczegółowy wykaz danych bibliometrycznych

	Przed uzyskaniem stopnia doktora			Po uzyskaniu stopnia doktora		
	Ilość	Sum. IF	Punkty MNiSW	Ilość	Sum IF	Pkt MNiSW
Czasopisma z listy JCR Prace oryginalne	-	-	-	22	24,154	525
Czasopisma z listy JCR Prace przeglądowe	2	0,521	20	-	-	-
Pozostałe czasopisma Prace oryginalne	7	-	28	5	-	27
Pozostałe czasopisma Prace przeglądowe	1	-	3	6	-	13
Publikacja popularnonaukowe	3	-	-	6	-	-
Komunikaty zjazdowe	4	-	-	15	-	-
Podręczniki	1	-	-	1	-	-
Patenty	2	-	30	-	-	-
Razem	20	0,521	81	54	24,154	565
<b>Łączny IF</b>			24.675			
<b>Łączna liczba pkt MNiSW</b>			646			

Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora nauk weterynaryjnych wyniki badań zawarte w rozprawie doktorskiej zostały przedstawione w dwóch publikacjach naukowych w czasopismach z listy A i B MNiSW.

5.5.1. Kolasa<sup>1</sup> A, Rzedzicki J, Skowron M. Influence of the therapy of laying hens with selected antibiotics on the presence of *Salmonella* Enteritidis in the contents of the eggs. *Medycyna Weterynaryjna* 2007, 63 : 1168-1171, (10 pkt MNiSW)

5.5.2. Marek<sup>1</sup> A., Stępień-Pyśniak D., Rzedzicki J. Analysis of the correlation between the level of anti-*Salmonella* antibodies in egg yolks and the presence of these microorganisms in egg contents following experimental infection of hens with *Salmonella* Enteritidis and after treatment with selected antibiotics. *Polish Journal of Veterinary Science* 2009,12: 485-490, (15 pkt MNiSW, IF 0.435)

<sup>1</sup>praca opublikowana przed zmianą nazwiska

W kolejnym etapie rozwoju naukowego oprócz charakterystyki zakażeń drobiu pałeczkami *Salmonella* spp, realizowanej po uzyskaniu stopnia doktora brałam także czynny udział we wspólnych badaniach prowadzonych w Zakładzie Prewencji Weterynaryjnej i Chorób Ptaków, obejmujących takie zagadnienia jak: występowanie, charakterystyka i ocena właściwości antygenowych patogenów bakteryjnych i pasożytów występujących u drobiu oraz ptaków ozdobnych i wolno żyjących, czego efektem jest 20 publikacji opublikowanych w czasopismach wyszczególnionych w JCR oraz w czasopismach naukowym nieposiadającym IF (część B wykazu MNiSW)

5.5.3. Pyzik E., Rzedzicki J., Kolasa<sup>1</sup> A. Etiopatogeneza i diagnostyka ornitobakteriozy ptaków. *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska, DD Medicina Veterinaria* 2007, Vol. 62, 32-39, (2 pkt MNiSW)

5.5.4. Puchalski A, Kolasa<sup>1</sup> A., Dec M, Urban-Chmiel R, Kowalczyk-Pecka D. Charakterystyka elektroforetyczna białek błony zewnętrznej szczepów oraz *Salmonella* Enteritidis hodowanych w zróżnicowanych warunkach oraz ocena ich właściwości antygenowych. *Medycyna Weterynaryjna* 2008, 64: 193-196, (10 pkt MNiSW)

5.5.5. Stępień-Pyśniak D., Marek A., Rzedzicki J. Occurrence of bacteria of the genus *Staphylococcus* in table eggs descended from different sources. *Polish Journal of Veterinary Science* 2009, 12: 481-484, (15 pkt MNiSW, IF 0.435)

5.5.6. Marek A. Parazytoza górnego odcinka układu oddechowego - syngamoza drobiu. *Magazyn Weterynaryjny* 2010, Suplement Choroby Ptaków - Monografia, s. 414-417, (2 pkt MNiSW)

5.5.7. Pyzik E, Marek A. Characterization of bacteria of the genus *Staphylococcus* isolated from the eggs of Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) *Polish Journal of Veterinary Science* 2012, 15: 767-772, (20 pkt MNiSW, IF 0.570)

5.5.8. Pyzik E, Marek A. Plasmid profile analysis and evaluation of antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* strains isolated from table chicken eggs. *Polish Journal of Veterinary Science Vol. 16, nr 2, 2013, 307-313*, (20 pkt MNiSW, IF 0.712)

---

<sup>1</sup>praca opublikowana przed zmianą nazwiska

- 5.5.9. Stępień-Pyśniak D, Marek A, Pyzik E. Makrorabdoza- drożdżycza żołądka ptaków. *Magazyn Weterynaryjny* 2013, Suplement Choroby Ptaków - Monografia, s. 654-657, (3 pkt MNiSW)
- 5.5.10. Marek A, Pyzik E, Stępień-Pyśniak D. Aspergiloza-najczęściej występująca systemomykoza u ptaków gospodarskich i domowych. *Magazyn Weterynaryjny* 2013, Suplement Choroby Ptaków - Monografia, s. 654-658, (3 pkt MNiSW)
- 5.5.11. Pyzik E, Marek A, Hauschild T. Characterisation of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus aureus* – like strains isolated from table eggs. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy* 58, 57-63, 2014, (15 pkt MNiSW, IF 0.357)
- 5.5.12. Marek A, Pyzik E, Stępień-Pyśniak D. Patogeneza oraz profilaktyka martwiczego zapalenia jelit drobiu. *Magazyn Weterynaryjny* 2014, Suplement Choroby Ptaków - Monografia, s. 654-657, (3 pkt MNiSW)
- 5.5.13. Marek A, Stępień-Pyśniak D, Pyzik E. Przegląd stanu wiedzy na temat immunoprofilaktyki martwiczego zapalenie jelit u drobiu. *Magazyn Weterynaryjny* 2015, Suplement Choroby Ptaków - Monografia, s.12-15, (2 pkt MNiSW)
- 5.5.14. Marek A, Pyzik E, Stępień-Pyśniak D. Wyzwania w immunoprofilaktyce pasterelozy drobiu. *Polskie Drobiarstwo- Suplement Zdrowie*, 2015, s. 60-64, (3 pkt MNiSW)
- 5.5.15. Stępień-Pyśniak D., Marek A., Dębiak P., Łopuszyński W., Kosikowska U. Zatrucie ołowiem papugi nimfy (*Nymphicus hollandicus*). *Magazyn Weterynaryjny*, 2015, s. 12-16, (2 pkt MNiSW)
- 5.5.16. Stępień-Pyśniak D, Puk K, Guz L, Wawrzyniak A, Marek A, Kosikowska U. Avian mycobacteriosis caused by *Mycobacterium avium* subspecies *avium* in four ornament al birds and in vitro drug sensitivity testing of isolates. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift* 2016, 129: 65-71, (20 pkt MNiSW, IF 0.609)
- 5.5.17. Stępień-Pyśniak D., Marek A., Banach T., Adaszek Ł., Pyzik E., Wilczyński J., Winiarczyk S. Prevalence and antibiotic resistance of strains of the genus *Enterococcus* isolated from poultry. *Acta Veterinaria Hungarica*, 2016, 64:148-63, (20 pkt MNiSW, IF 0.814)
- 5.5.18. Łyp P, Banach T, Wilczyński J, Stępień-Pyśniak D, Marek A, Furmaga B, Winiarczyk S, Adaszek Ł. Mikroflora bakteryjna izolowana od ubitych



brojlerów w Polsce w aspekcie zdrowia człowieka. *Weterynaria* 2016, Nr 11-12, s. 22-25, (2 pkt MNiSW)

5.5.19. Stępień-Pyśniak D., Wilczyński J., Marek A., Śmiech A., Kosikowska U., Hauschild T. *Staphylococcus simulans* associated with *endocarditis* in broiler chickens. *Avian Pathology*, 2017, 46: 44-51, (35 pkt MNiSW, IF 1.596)

5.5.20. Stępień-Pyśniak D, Hauschild T, Różański P, Marek A. MALDI-TOF Mass Spectrometry as a Useful Tool for Identification of *Enterococcus* spp. from Wild Birds and Differentiation of Closely Related Species. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 2017, 27: 1128-1137, (20 pkt MNiSW, IF 1.750)

5.5.21. Stępień-Pyśniak D, Hauschild T, Nowaczek A, Marek A., Dec M. Wild Birds as a Potential Source of Known and Novel Multilocus Sequence Types of Antibiotic-Resistant *Enterococcus faecalis*. *Journal of Wildlife Diseases*, 2018, 54: 219-228, (30 pkt MNiSW, IF 1,552)

5.5.22. Stępień-Pyśniak D, Kosikowska U, Hauschild T, Burzyński A, Wilczyński J, Kolińska A, Nowaczek A, Marek A. A loop-mediated isothermal amplification procedure targeting the *sodA* gene for rapid and specific identification of *Gallibacterium anatis*. *Poultry Science*, 2018, 97: 1141-1147, (35 pkt MNiSW, IF 1.908)

Kolejnym tematem badawczym, na którym skupiają się moje zainteresowania jest ocena wpływu suplementacji paszy organicznymi i nieorganicznymi związkami pierwiastków śladowych oraz preparatami naturalnymi o charakterze dietetyczno-terapeutycznym na wybrane humoralne i komórkowe parametry odpornościowe u kurcząt brojlerów oraz wyniki odchowu i wydajność rzeźną drobiu. W tym temacie powstał cykl 6 publikacji opublikowanych w czasopiśmie wyszczególnionych w JCR o łącznym IF= 9,365 , który jest efektem współpracy nawiązanej z dr Łukaszem Jaroszem z Katedry Epizootologii i Kliniki Chorób Zakaźnych UP w Lublinie oraz dr hab. Bożeną Kiczorowską z Instytut Żywienia Zwierząt i Bromatologii Wydziału Biologii, Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki UP w Lublinie:

5.5.23. Kiczorowska B, Al-Yasiry A.R.M., Samolińska W., Marek A., Pyzik E. The effect of dietary supplementation of the broiler chicken diet with *Boswellia serrata* resin on growth performance, digestibility, and gastrointestinal characteristics, morphology, and microbiota. *Livestock Science*, 2016, 191: 117–124, (30 pkt MNiSW, IF 1.377)

- 5.5.24. Jarosz Ł, Kwiecień M, Marek A, Grądzki Z, Winiarska-Mieczan A, Kalinowski M, Laskowska E. Effects of feed supplementation with glycine chelate and iron sulfate on selected parameters of cell-mediated immune response in broiler chickens. *Research in Veterinary Science*, 2016, 107: 68-74, (35 pkt MNiSW, IF 1.298)
- 5.5.25. Jarosz Ł, Marek A, Grądzki Z, Kwiecień M, Kalinowski M. The effect of feed supplementation with zinc chelate and zinc sulphate on selected humoral and cell-mediated immune parameters and cytokine concentration in broiler chickens. *Research in Veterinary Science*, 2016, 112: 59–65, (35 pkt MNiSW, IF 1.298)
- 5.5.26. Jarosz Ł, Marek A, Grądzki Z, Kwiecień M, Żylińska B, Kaczmarek B. "Effect of feed supplementation with zinc glycine chelate and zinc sulfate on cytokine and immunoglobulin gene expression profiles in chicken intestinal tissue" *Poultry Science*, 2017, 96: 4224–4235, (35 pkt MNiSW, IF 1.908)
- 5.5.27. Jarosz Ł, Marek A, Grądzki Z, Kwiecień M, Kaczmarek B. The effect of feed supplementation with a copper glycine chelate and copper sulphate on selected humoral and cell-mediated immune parameters, plasma superoxide dismutase activity, ceruloplasmin and cytokine concentration in broiler chickens. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2018, 102: e326-e336, (30 pkt MNiSW, IF 1.244)
- 5.5.28. Jarosz Ł, Marek A, Grądzki Z, Laskowska E, Kwiecień M. Effect of zinc sulfate and zinc glycine chelate on concentrations of acute phase proteins in chicken serum and liver tissue. *Biological Trace Element Research*, 2018, DOI : 10.1007/s12011-018-1346-6 (15 pkt MNiSW, IF 2.399)

## 5.6. Udział w konferencjach naukowych

Efektym czynnego udziału w konferencjach naukowych z zakresu chorób ptaków, jest współautorstwo w 15 doniesieniach naukowych na krajowe i międzynarodowe konferencje naukowe:

- 5.6.1. Rzedzicki J., Kolasa<sup>1</sup> A.: Chemioterapia, chemioprophylaktyka, zagrożenia i postępowanie alternatywne"- referat. Konferencja naukowa „Aktualne problemy w patologii ptaków” Polanica Zdrój 15-16. 09.2006.

- 5.6.2. Kolasa<sup>1</sup> A, Rzedzicki J, Skowron M. Ocena wybranych metod diagnostycznych stosowanych do wykrywania zakażeń pałeczkami *Salmonella* u kurcząt po antybiotykoterapii. Konferencja naukowa „Aktualne problemy w patologii drobiu” Wrocław, 2006. Materiały konferencyjne, s. 46-48.
- 5.6.3. Kolasa<sup>1</sup> A, Rzedzicki J, Skowron M. Wpływ terapii kur niosek wybranymi antybiotykami na przekazywanie pałeczek *Salmonella* do treści jaj. Konferencja naukowa „Aktualne problemy w patologii drobiu” Wrocław, 2006. Materiały konferencyjne, s. 40-45.
- 5.6.4. Kolasa<sup>1</sup> A, Rzedzicki J, Skowron M. Antybiotykooporność pałeczek *Salmonella*. Konferencja naukowa „Monitoring zagrożeń w produkcji drobiarskiej - aspekty bezpieczeństwa żywności” Wrocław 2007. Materiały konferencyjne s. 61-72.
- 5.6.5. Rzedzicki J, Stępień-Pyśniak D, Kolasa<sup>1</sup> A. Ptaki poważnym ogniwem w transmisji chorób odzwierzęcych. XIII Kongres Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych, Olsztyn, 2008. Materiały konferencyjne, s. 39-40.
- 5.6.6. Stępień-Pyśniak D, Kolasa<sup>1</sup> A, Rzedzicki J. Występowanie bakterii rodzaju *Staphylococcus* w żółtkach jaj konsumpcyjnych. XIII Kongres Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych. Olsztyn 2008. Materiały konferencyjne, s. 50-51.
- 5.6.7. Marek A, Dudzic A, Stępień-Pyśniak D, Pyzik E. Mikroflora bakteryjna izolowana z zapłodnionych jaj kurzych, zmarłych zarodków i od nowo wyklutych piskląt oraz jej znaczenie w patologii drobiu. Konferencja naukowa „Aktualne problemy w patologii drobiu ze szczególnym uwzględnieniem embriopatologii i okresu około lęgowego” Wrocław 2010. Materiały konferencyjne, s. 119-130.
- 5.6.8. Pyzik E, Marek A, Stępień-Pyśniak D, Dudzic A. Parazytozy ptaków ze szczególnym uwzględnieniem schorzeń przebiegających z objawami ze strony układu oddechowego. Konferencja Polskiego Towarzystwa Nauk weterynaryjnych Sekcja Patologii Drobiu „Aktualne problemy w patologii drobiu ze szczególnym uwzględnieniem parazytoz”. Wrocław 2011. Materiały konferencyjne, s. 16-29.

---

<sup>1</sup> praca opublikowana przed zmianą nazwiska

- 5.6.9. Dudzic A., Marek A., Pyzik E. Ektopasożyty jako wektor chorób Zakaźnych ptaków. Konferencja Polskiego Towarzystwa Nauk weterynaryjnych Sekcja Patologii Drobiu „Aktualne problemy w patologii drobiu ze szczególnym uwzględnieniem pasożytów”. Wrocław 2011. Materiały konferencyjne, s. 30-41.
- 5.6.10. Pyzik E, Marek A. Charakterystyka fenotypowa szczepów gronkowców koagulazo-ujemnych izolowanych z jaj kurzych. XIV Kongres Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych. Wrocław 2012. Materiały konferencyjne. s. 429.
- 5.6.11. Stępień-Pyśniak D., Marek A., Pyzik E. Mechanizmy oporności bakterii. Przykłady wrodzonej i nabytej antybiotykooporności u enterokoków. Konferencja naukowa “Aktualne problem w patologii drobiu ze szczególnym uwzględnieniem lekooporności drobnoustrojów” Wrocław 2013. Materiały konferencyjne, s. 61-72.
- 5.6.12. Marek A., Pyzik E, Stępień-Pyśniak D. Przegląd aktualnego stanu wiedzy na temat patogenezы oraz kontroli zakażeń *Clostridium perfringens* u drobiu. Konferencja naukowa „Enteropatie u drobiu” Puławy 2013. Materiały konferencyjne, s. 72-86.
- 5.6.13. Stępień-Pyśniak D., Marek A., Nowaczek A., Dec M. Profile antybiotykooporności bakterii izolowanych z materiału klinicznego badanego w Zakładzie Prewencji Weterynaryjnej i Chorób Ptaków UP w Lublinie. Teoria i praktyka koncepcji "Jedno zdrowie" w zrównoważonej produkcji drobiarskiej. II Międzynarodowa Konferencja Techniczna PROHEALTH, Jachranka 2016 r. Materiały konferencyjne, s. 179-192.
- 5.6.14. Marek A., Pyzik E, Urban-Chmiel R, Stępień-Pyśniak D. Izolacja i charakterystyka bakteriofagów swoistych dla patogennych szczepów *Staphylococcus aureus* izolowanych od brojlerów kurzych i indyczych w Polsce. XV Kongres Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych, Lublin 2016. Materiały kongresowe, s. 503.
- 5.6.15. Pyzik E, Marek A., Stępień-Pyśniak D, Nowaczek A. Występowanie i Charakterystyka szczepów z rodzaju *Staphylococcus* izolowanych od drobiu. „Aktualne problemy w patologii drobiu - stare i nowe wyzwania istotne w produkcji drobiarskiej” Wrocław 2017. Materiały konferencyjne, s. 90-96.

### 5.7. Działalność popularno-naukowa

W tym okresie uczestniczyłam też w opracowaniu szeregu publikacji przeglądowych o tematyce związanej z patologią drobiu. Łączna liczba artykułów przeglądowych wynosi 6:

- 5.7.1. Kolasa<sup>1</sup> A. Współczesne metody diagnostyki zakażeń pałeczkami *Salmonella* u drobiu. *Magazyn weterynaryjny 2007 Suplement- Choroby ptaków*, s. 10-12
- 5.7.2. Kolasa<sup>1</sup> A. Antybiotykooporność pałeczek *Salmonella*. *Weterynaria w terenie 2008*, 2: 16-20
- 5.7.3. Kolasa<sup>1</sup> A. Kolonizacja narządów układu rozrodczego oraz zakażenia jaj kurzych pałeczkami z rodzaju *Salmonella*. *Magazyn Weterynaryjny 2008 Suplement Choroby Ptaków - Monografia*, s. 383-387
- 5.7.4. Marek A. Choroby zakaźne ptaków potencjalnym zagrożeniem zdrowia człowieka. *Magazyn Weterynaryjny 2009*, Suplement Choroby Ptaków - Monografia, s. 424-427
- 5.7.5. Marek A. Zakażenia wirusem ospy u drobiu i ptaków ozdobnych. *Magazyn Weterynaryjny 2011*, Suplement Choroby Ptaków - Monografia, s. 406-410
- 5.7.6. Marek A., Pyzik E, Stępień-Pyśniak D, Nowaczek A. Bakteriofagi specyficzne dla gatunku *Staphylococcus aureus*- zagrożenia i korzyści związane z ich występowaniem. *Polskie Drobiarstwo-Suplement Zdrowie*, 2017, s. 75-78

### 6. Działalność dydaktyczna

- W roku 2001 ukończyłam kurs w Studium Doskonalenia Dydaktyczno-Pedagogicznego Nauczycieli Akademickich, uprawniający do prowadzenia zajęć dydaktycznych na wyższej uczelni.
- W ramach studiów doktoranckich od 2001 roku prowadziłam zajęcia dydaktyczne w formie ćwiczeń z przedmiotu „Choroby ptaków”, dla studentów V roku Wydziału Medycyny Weterynaryjnej.
- W ramach działalności dydaktycznej prowadzę wykłady oraz ćwiczenia z przedmiotu „Choroby ptaków” oraz „Choroby ptaków- staż”. Od roku 2011 jestem osobą odpowiedzialną za przedmiot „Choroby ptaków” oraz „Choroby ptaków-staż”.

---

<sup>1</sup>praca opublikowana przed zmianą nazwiska

Ponadto uczestniczę również w prowadzeniu przedmiotów fakultatywnych „Choroby ptaków ozdobnych” oraz „Chów i choroby ptaków bezgrzebieniowych”

## 7. Działalność organizacyjna i popularyzująca naukę

- Od roku 2004 do 2014 byłam członkiem Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych.
- Od roku 2008 jestem członkiem międzynarodowej organizacji World Veterinary Poultry Association.
- W roku 2016 w ramach XV Kongresu Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych byłam członkiem komitetu naukowego kongresu oraz przewodniczyłam sekcji chorób ptaków.
- Wielokrotnie przewodniczyłam sesjom w krajowych konferencjach drobiarskich: Konferencja naukowa pt: Aktualne problemy w patologii drobiu ze szczególnym uwzględnieniem embriopatologii i okresu około lęgowego, Wrocław, Katedra Epizootiologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego, 2010; Konferencja Polskiego Towarzystwa Nauk weterynaryjnych Sekcja Patologii Drobiu pt.” Aktualne problemy w patologii drobiu ze szczególnym uwzględnieniem pasożytów”. Wrocław 2011; Konferencja naukowa „Enteropatie u drobiu” Puławy, 2013;
- Byłam również recenzentem publikacji zamieszczanych do czasopism z listy JCR: *Journal of Veterinary Research; Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology; Scientific Reports*.
- W latach 2017-2018 trzykrotnie złożyłam projekty do NCN Nr 374532, Nr 381345, Nr 407347, w ramach konkursów MINIATURA 1 oraz MINIATURA 2 pt.: „Charakterystyka bakteriofagów swoistych dla *Staphylococcus aureus* oraz ocena możliwości przeniesienia czynników wirulencji *Staphylococcus aureus* na inne gatunki *Staphylococcus* za pośrednictwem lizogenizacji bakteriofagowej” oraz „Izolacja i charakterystyka bakteriofagów swoistych dla szczepów *S. aureus* oraz oznaczanie możliwości przeniesienia czynników wirulencji *S. aureus* na inne gatunki *Staphylococcus* za pośrednictwem lizogenizacji bakteriofagowej”

## 8. Staże naukowe krajowe i zagraniczne oraz szkolenia

- W latach 2010-2014 współpracowałam z zespołem Katedry Epizootiologii z Kliniką Ptaków Egzotycznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu oraz odbyłam 3 krótkoterminowe staże naukowe, w trakcie których brałam czynny udział w realizacji badań naukowych w zakresie izolacji oraz charakterystyki drobnoustrojów izolowanych od drobiu hodowlanego, ptaków ozdobnych oraz wolno żyjących.
- W październiku 2017r odbyłam miesięczny staż naukowy w Clinic of Birds, Exotic and Wild Animals, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Kosice, Slovakia.
- Ukończyłam również szkolenie „dla osób wykonujących czynności związane z wykorzystaniem zwierząt do celów naukowych lub edukacyjnych” uzyskując certyfikat z dnia 22.12.2015 o numerze 166/2015, o ukończeniu szkolenia dla osób wykonujących czynności związane z wykorzystaniem zwierząt do celów naukowych lub edukacyjnych.

## 9. Wyróżnienia i nagrody

- Nagroda indywidualna III stopnia Rektora Akademii Rolniczej w Lublinie z dnia 01.10.2007 za wyróżniającą się rozprawę doktorską pt.: „Wpływ antybiotykoterapii niosek na wykrywalność pałeczek *Salmonella* w jajach oraz poziom swoistych przeciwciał żółtkowych”
- Dyplom Uznania Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie z dnia 01.10.2010 za osiągnięcia naukowe w 2009 roku.
- Zespołowa Nagroda Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 02.10.2006 za współautorstwo podręcznika pt.: „Choroby drobiu”

Pełny wykaz opublikowanych przeze mnie prac naukowych znajduje się w załączniku nr 3 do wniosku o wszczęcie postępowania habilitacyjnego. Szczegółowe informacje o dorobku dydaktycznym i popularyzatorskim oraz współpracy naukowej międzynarodowej i krajowej jak również innej działalności (wg DzU. Nr 196, poz 1165) zebrałam i przedstawiłam w załączniku nr 4 do wniosku o wszczęcie postępowania habilitacyjnego.

30.05.2018

Dejmiana Marek