

Puławy, 2019.05.15

dr hab. Krzysztof Niemczuk, prof. nadzwyczajny
Państwowy Instytut Weterynaryjny-
Państwowy Instytut Badawczy w Puławach

RECENZJA

osiągnąć **dr n. wet. Andrzeja Puchalskiego** - adiunkta w Zakładzie Prewencji i Chorób Ptaków Instytutu Biologicznych Podstaw Chorób Zwierząt wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, ubiegającego się o nadanie stopnia doktora habilitowanego nauk weterynaryjnych.

Recenzję wykonano zgodnie z decyzją Centralnej Komisji do Spraw Stopni i Tytułów z dnia 1 kwietnia 2019 r. na wniosek dziekana Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie prof. dr hab. Andrzeja Wernickiego na podstawie art. 18a ust. 5 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789) oraz w oparciu o Rozporządzenie Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 1 września 2011 r. w sprawie kryteriów oceny osiągnięć osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego (Dz. U. nr 196, poz. 1165) - zwanym dalej Rozporządzeniem Ministra.

I. Informacje ogólne o kandydacie

Dr Andrzej Puchalski, absolwent wydziału Medycyny Weterynaryjnej Akademii Rolniczej w Lublinie (obecnie Uniwersytet Przyrodniczy (UP) od 1996 r. zatrudniony jest w Zakładzie Prewencji Weterynaryjnej i Chorób Patków Instytutu Biologicznych Podstaw Chorób Zwierząt Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UP w Lublinie. Swoją pracę w tym Uniwersytecie rozpoczął na stanowisku starszego technika, a następnie przechodził poprzez poszczególne stopnie awansu zawodowego, aktualnie od 2018 r. jest starszym wykładowcą. W roku 2001 r. obronił pracę doktorską; pt. „Charakterystyka białek błony zewnętrznej terenowych szczepów *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica* oraz możliwości ich wykorzystania w swoistej immunoprofilaktyce syndromu oddechowego cieląt”.

II Ocena osiągnięć naukowo-badawczych

II.1. Ogólna ocena dorobku naukowego

Dr Andrzej Puchalski oprócz monografii stanowiącej oceniane osiągnięcie naukowe jest autorem lub współautorem 64 publikacji, z czego 42 publikacje, to prace oryginalne opublikowane w czasopismach z listy JCR, a jedna z nich to publikacja przeglądowa. Jednakże w załączonej dokumentacji pojawia się pewna rozbieżność danych. Z wykazu publikacji znajdującym się w załączniku Nr 3 do wniosku o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego Habilitant wykazał 42 prace, podczas gdy w załączonym zestawieniu wyników cytowań sporządzone przez Oddział Informacji Naukowej Biblioteki Głównej UP w Lublinie wg bazy Web of Science Core Collection – Basic Search, liczba prac wynosi 43, z kolei zgodnie ze szczegółowym wykazem, pochodzącym z tego samego źródła jest ich – 42. Jest to zgodne z załącznikiem Nr 2, gdzie stwierdza się 42 pozycje. Wg. Bazy Scopus – Author Search - jest to 51 prac indeksowanych. W swoim dorobku Habilitant posiada również 16 publikacji oryginalnych oraz jedną przeglądową opublikowaną w czasopismach z poza listy JCR. Habilitant w swoim dorobku naukowym może pochwalić się również czterema monografiami. Sumaryczny *impact factor* Pana dr. Andrzeja Puchalskiego wynosi 42,099, natomiast liczba punktów wg listy Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego wyniosła 934 pkt. Liczba cytowań według Web of Science wynosi 174, a bez autocytowań 135. Natomiast wg bazy Scopus jest to 227 cytowania, a bez autocytowań 180. Indeks Hirscha wg bazy Web of Science wynosi 6, a bazy Scopus 8.

Dr Andrzej Puchalski był współwykonawcą jednego projektu finansowanego przez Ministerstwo Nauki i Informatyki oraz wykonawcą 10 zadań badawczych w ramach działalności statutowej uczelni. Nie kierował projektami badawczymi z MNiSW i NCN oraz nie był ich wykonawcą, a z danych wskazanych w załączniku nr 3 do wniosku o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego wynika, że jedynie aplikował o dofinansowanie projektów, ale niestety nie uzyskały one jednak finansowania.

Habilitant brał czynny udział w międzynarodowych i krajowych konferencjach naukowych. W sumie w Jego dorobku naukowym znajduje się 12 doniesień, które samodzielnie prezentował głównie w formie plakatów lub doniesień ustnych, a w 34 doniesieniach konferencyjnych, był jedynie współautorem. Niestety pomimo wieloletniej pracy naukowej, zgodnie z przygotowaną dokumentacją, Habilitant nie wygłaszał referatów na konferencjach naukowych. Warto nadmienić, że dane z załącznika Nr 4 nie są spójne z załącznikiem Nr 2.

Dorobek naukowy dr Andrzeja Puchalskiego pod względem ilościowym jest dość znaczący, na podkreślenie zasługuje fakt opublikowania prac w czasopismach renomowanych posiadających znaczący współczynnik wpływu. Wkład Habilitanta w prace opublikowane po doktoracie, a nie będące przedmiotem ocenianego dzieła wynosi od 5% do 70%. Niestety w załączniku nr 3 „Wykaz innych prac naukowych oraz wskaźniki dokonań naukowych”, Habilitant nie dokonał podziału prac na te opublikowane przed doktoratem i po doktoracie, można jedynie na podstawie roku obrony pracy doktorskiej oraz dat opublikowania prac wnioskować, że liczba publikacji z listy JCR uległa znaczącemu wzrostowi, gdyż przed doktoratem zgodnie z załącznikiem nr 2 były to tylko trzy pozycje, a aktualnie to 42 publikacje. Za swoją działalność naukową dr Andrzej Puchalski otrzymał nagrody i wyróżnienia min. indywidualne i zespołowe nagrody Rektora UP w Lublinie, nagrodę III stopnia, i wyróżnienie PTNW.

II.2. Ocena osiągnięć naukowych będących przedmiotem postępowania habilitacyjnego

Dr Andrzej Puchalski przedstawił jako osiągnięcie wynikające z art. 16 ust. 2 z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki dzieło pt. „Syntetyczne oligodesoksynukleotydy klasy C z niemetylowanymi sekwencjami CpG jako składniki zwiększające immunogenność komercyjnej szczepionki dla cieląt zawierającej IROMP *Mannheimia haemolytica*” opublikowane przez UP w Lublinie w serii Rozprawy Naukowe, Zeszyt 396, 2019 r. (ISSN 978-83-7259-287-7, ISSN on-line 978-83-7259-288-0). Opracowanie liczy 79 stron, w którym wyszczególnionych zostało 7 rozdziałów oraz streszczenia w języku polskim oraz angielskim, piśmiennictwo i wykaz skrótów. W rozdziale „Wstęp” autor umieścił krótką informację na temat syndromu oddechowego bydła oraz dostępnych szczepień i adiuwantów w nich stosowanych. Rozdział 2 to „Przegląd piśmiennictwa”, gdzie Autor szczegółowo przedstawia rys historyczny dotyczący immunostymulujących właściwości bakteryjnego DNA, wpływu niemetylowanych sekwencji CpG na poszczególne grupy komórek układu immunologicznego. Ponadto, odnosi się do terapeutycznego zastosowania CpG ODN oraz zasad bezpieczeństwa związanych z ich zastosowaniem. Rozdział 3 „Cel pracy”, w którym w sposób jasny i precyzyjny Habilitant wskazuje założone cele i uzasadnia celowość podjętych badań. W rozdziale „Materiał i metody” opisano sposób organizacji badań z podziałem na etapy i szczegółowym opisem zastosowanych metod badawczych oraz zastosowanych metod analizy statystycznej. W rozdziale 5 „Wyniki” szczegółowo przedstawia uzyskane wyniki badań, zarówno w formie

opisowej, jak również graficznej pod postacią 11 rycin. Rozdział 6 „Dyskusja” w którym Autor porównuje uzyskane wyniki badań z danymi dostępnymi w literaturze. Rozdział 7 „Wnioski” przedstawia 7 szczegółowych wniosków, które zostały jasno i prawidłowo sprecyzowane przez Habilitanta. Jest to opracowanie, którego jedynym autorem jest dr Andrzej Puchalski, który deklaruje, że jego wkład w powstanie pracy wynosi 100%. Publikacja poddana była recenzji przez prof. dr hab. Dariusza Bednarka oraz dr hab. Jarosława Kabę. Opublikowane dzieło stanowią podstawę do wszczęcia postępowania habilitacyjnego. Podsumowując zawartość dzieła należy wskazać, że tematyka pracy jest ściśle powiązana z syndromem oddechowym bydła, który stanowi jeden z istotniejszych problemów zdrowotnych w odchowcie cieląt. Skuteczne działania immunoprofilaktyczne w odniesieniu do tego schorzenia są ograniczone, gdyż dostępne na rynku środki farmakologiczne nie zapewniają wystarczającej ochrony. Zwiększenie skuteczności szczepionek możliwe jest do osiągnięcia poprzez stosowanie wyselekcjonowanych adiuwantów, a jednym z nich mogą być syntetyczne dezoksynukleotydy, które zawierają niemetylowane sekwencje CpG, które z kolei w swoim działaniu naśladują bakteryjne DNA. Dane na temat ich zastosowania w preparatach dla bydła są bardzo ograniczone. Habilitant w prezentowanych badaniach przedstawił i ocenił możliwość zastosowania CpG ODN klasy C jako przykład skutecznego adiuwantu w szczepionce przeznaczonej dla bydła, co stanowi bardzo nowatorski element, gdyż do tej pory nikt nie podejmował się tego typu badań. Celem pracy było określenie immunostymulujących efektów CpG ODN klasy C w stosunku do bydłowej PBMC w badaniach *in vitro* i porównanie ich do rezultatów uzyskanych z innymi klasami syntetycznych oligodeoksynukleotydów, dla których aktywność taka została już potwierdzona. Ponadto, Habilitant postawił sobie za cel prześledzenie dynamiki kształtowania się odporności humoralnej i komórkowej po podaniu cielętom opracowanego biopreparatu celem jego porównania ze szczepionką komercyjną oraz ocenę stopnia bezpieczeństwa stosowania CpG ODN klasy C, jako dodatku do szczepionek dla cieląt. Habilitant w swoich badaniach na bydłowych PBMC ocenił zdolność do indukowania przez CpG ODN proliferacji tych komórek oraz wydzielania przez nie IFN- γ . Przy zastosowaniu cytometrii przepływowej określił typy komórek, które w największym stopniu ulegały immunostymulacji. Na szczególną uwagę zasługuje zastosowanie najnowszych narzędzi biologii molekularnej do oceny ekspresji genów dla cytokin charakterystycznych Th1- zależnej i Th2- zależnej oraz genów IP-10 i TLR9. W badaniach wykazał immunostymulujący wpływ CpG ODN klasy C w stosunku do bydłowych PBMC. W zasadniczym etapie eksperymentu podawał cielętom 0,5 mg CpG CpG razem z komercyjną szczepionką zawierającą antygen IROMP *M. haemolytica*. ODN CpG klasy C

okazał się najbardziej efektywny w stymulacji bydłych PBMC, głównym typem komórek proliferujących były limfocyty B. Habilitant wykazał, że średnie wartości IFN - gamma w supernatantach hodowli były istotnie statystycznie, niż te uzyskane w przypadku CpG ODN klasy A. Badania real-time PCR potwierdziły, że wszystkie badane geny w bydłych PBMC ulegały amplifikacji pod wpływem immunostymulacji przy zastosowaniu CpG ODN klasy C w dawce 8 µg/ml. Co ważne w swoich badaniach Habilitant wykazał, że połączenie komercyjnej szczepionki z CpG ODN klasy C spowodowało znaczący wzrost poziomu przeciwciał w poszczególnych klasach dla IROMP. W przeprowadzonym badaniu eksperymentalnym zaobserwował wzrost odpowiedzi komórkowej i humoralnej. Szczególnie należy natomiast podkreślić, że jako pierwszy wykazał, że IP-10 może stać się wiarygodnym biomarkerem zwiększonego wytwarzania interferony gamma w odpowiedzi na CpG ODN, który jak wykazały przeprowadzone badania kliniczne są względnie bezpieczne dla cieląt. Przeprowadzone przez Habilitanta badania są istotne nie tylko z naukowego punktu widzenia, niesłychanie istotny jest ich element aplikacyjny, który może przyczynić się do opracowania formuły szczepionki, która będzie umożliwiała indukować odpowiedź humoralną i komórkową w odniesieniu do antygeny szczepionkowego, co w praktyce będzie ograniczało zachorowalność cieląt na choroby układu oddechowego.

Reasumując, przedstawione dzieło cechuje się dużą wartością poznawczą, a podjęta tematyka jest bardzo aktualna zarówno z naukowego punktu widzenia, jak również w aspekcie wdrażania nowych rozwiązań mających na celu redukcję strat w hodowli bydła. Stwierdzam, że przedstawione do oceny dzieło prezentuje dobry poziom naukowy i spełnia warunki stawiane przez ustawę z dnia 14 marca 2003r. z późn. zm. o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki.

II.3. Ocena innych osiągnięć naukowo-badawczych niebędących przedmiotem postępowania habilitacyjnego

Od początku swojej pracy naukowej dr Andrzej Puchalski oprócz badań z obszaru, którego dotyczy dzieło będące podstawą do wszczęcia postępowania habilitacyjnego, swoje zainteresowania naukowe skupiał głównie na immunoprofilaktyce, diagnostyce i charakterystyce czynników wywołujących zakażenia układu oddechowego u przeżuwaczy ze szczególnym uwzględnieniem *Manheimia haemolytica*, jako patogenu izolowanego z przypadków syndromu oddechowego bydła (BRD). W tym okresie swojej aktywności opublikowała dane dotyczące udziału poszczególnych serotypów tego patogenu w etiologii syndromu oddechowego i dokonał oceny ich cech fenotypowych i genotypowych

oraz wrażliwości na stosowane chemioterapeutyki. Dokonała również oceny ich profili plazmidowych. W swoich badaniach zbadała właściwości immunogenne leukotoksyny i kompleksu białek zewnętrznej błony komórkowej poprzez ocenę odpowiedzi immunologicznej cieląt w warunkach terenowych. Pozwoliło to dokonać oceny skuteczności profilaktycznej wyizolowanych z komórek bakteryjnych podjednostek, które posłużyły jako komponenty antygenowe w szczepionkach eksperymentalnych. Wyniki badań Habilitanta dowiodły, że OMP mogą zostać wykorzystane jako antygeny szczepionkowe w immunoprofilaktyce syndromu oddechowego bydła. W dalszym etapie badań kontynuowała tematykę immunogenów szczepionkowych i prowadził badania nad IROMps będący białkiem błony zewnętrznej *M. haemolytica* oraz *P. multocida*. W badaniach własnych wykazał, że indukcja ekspresji IROMP. Na szczególną uwagę zasługuje zastosowanie spektrometrii mas i porównanie wybranych IROMP *P. multocida* ze znanymi już sekwencjami białek umieszczonymi w bazie NCBI. Ponadto, zespół badawczy w którym pracuje Habilitant na podstawie przeprowadzonych eksperymentów na cielętach i owcach potwierdził wysoką skuteczność leukotoksyny w formie natywnej oraz inaktywowanej formaliną i aldehydem glutarowym.

Do szczególnie istotnych osiągnięć należy zaliczyć również publikacja przypadku ostrego syndromu oddechowego, o nietypowym przebiegu u bydła opasowego w makroregionie lubelskim. Habilitant ze współpracownikami przeprowadził szczegółowe badania tkanki płucnej chorych zwierząt, a także badanie składu paszy pod względem zawartości substancji pneumotoksycznych metodą chromatografii wysokociśnieniowej. Badania wykazały, że poza czynnikami pokarmowymi istotną rolę odegrały czynniki wirusowe. Był to pierwszy tego typu przypadek opisany w Polsce. Należy zwrócić uwagę, że Habilitant w swojej pracy naukowej ciągle rozwija swój warsztat laboratoryjny i w kolejnych etapach sięga po coraz to nowsze techniki badawcze, czego doskonałym przykładem może być zastosowanie spektrometrii mas MALDI-TOF MS, który wykorzystał, jako strategię pojedynczego testu diagnostycznego do dokładnej i szybkiej identyfikacji szczepów *M. haemolytica* izolowanych z przypadków BRD. Przy współpracy z Panią prof. dr ha. Renatą Urban-Chmiel prowadził też badania dotyczące oceny czynników predysponujących do rozwoju BRD. Poprzez badanie czynników odpowiedzi immunologicznej badacze wykazali, że krótkotrwały stres związany z transportem zwierząt nie ma wpływu na odpowiedź humoralną. Natomiast ma istotny wpływ na przeżywalność leukocytów i zwiększoną wrażliwość na cytotoksyczne oddziaływanie Lkt oraz zwiększoną podatność na indukcję stresu oksydacyjnego wyrażanego we wzroście końcowych produktów peroksydacji lipidów. Badania dotyczyły też oceny przebiegu stresu oksydacyjnego poprzez

oznaczenia poziomu kortyzolu. Autorzy dowodzą, że brak równowagi pomiędzy obecnością reaktywnych form tlenu, a biologiczną zdolnością do ich szybkich detoksykacji jest powiązany z częstością występowania BRD. W kolejnym etapie pracy naukowej Habilitant realizował prace nad oceną wpływu antyoksydantów tj. witaminy C i E na rozwój procesu zapalnego oraz wybrane mechanizmy zapalne w infekcji *M. haemolytica*. Zespół badaczy zaobserwował, że stosowanie ww. witamin powoduje zwiększoną odporność na cytotoksyczne działanie leukotoksyny oraz stymulujące działanie na aktywność chemotaktyczną leukocytów oraz redukujący wpływ na ekspresję adhezyjnych receptorów $\beta 2$ -integryny. Przedmiotem Jego badań była również metafilaktyka infekcji układu oddechowego u cieląt. W badaniach nie potwierdzono istotnego wpływu megluminianu fluniksyny na żywotność limfocytów przy jednoczesnym stwierdzeniu zahamowania aktywności chemotaktycznej tych komórek i obniżeniu żywotności neutrofilów i monocytów. Badacze oceniali także wpływ chemioterapeutyków w połączeniu z określonymi witaminami na mechanizmy odporności oraz ograniczenie stresu oksydacyjnego i procesu zapalnego. Dowiedli, że zastosowanie takiego połączenia ogranicza zachorowalność cieląt na BRD. Prowadzone badania mają aplikacyjny charakter, który może zostać wykorzystany w zapobieganiu BRD, a pomiar stężenia białek ostrej fazy może być doskonałym wskaźnikiem diagnostycznym w ocenie wrażliwości cieląt na zachorowania. Habilitant zaangażowany był także w prowadzenie badań nad wpływem makrolidów np. tylozyny na aktywność metaboliczną i chemotaktyczną leukocytów oraz indukcję stresu oksydacyjnego i procesu apoptozy. W badaniach tych wykazał, że makrolidy wykazują działanie modulujące funkcję leukocytów izolowanych od bydła. Brał również udział w badaniach nad opracowaniem chromatograficznej metody izolacji konglutyniny z surowicy bydła i charakterystyki elektroforetycznej tego białka oraz oszacowaniu jego występowania u zwierząt. Zespół wykazał, że konglutynina występuje nie tylko w surowicy dorosłego bydła, ale także w sianie i surowicy płodowej, co wskazuje że odgrywa rolę w odporności nieswoistej noworodków. Wraz z Panią Profesor Renatą Urban-Chmiel prowadził badania nad diagnostyką zakażeń wirusowych wykorzystując do badań testy PCR oraz komercyjne testy paskowe. Przeprowadzone badania wykazały, że występowanie zakażeń BRSV u bydła poniżej 12 m-ca życia. W badaniach wykazano, że 33,9% bydła w regionie wschodniej i południowo-wschodniej Polski wykazuje obecność przeciwciał dla BHV-1, a u 36,5% obecność wirusa potwierdzono testem PCR.

Kolejny obszar badań naukowych Habilitanta związany był z zastosowaniem alternatywnych metod zwalczania infekcji u zwierząt tj. zastosowania w tym celu bakteriofagów. Zespół badawczy w którym pracuje Habilitanta przedstawił w 2015 r.

charakterystykę morfologiczną i genetyczną bakteriofagów łagodnych, swoistych dla *M. haemolitica*. Ponadto, poprzez zastosowanie techniki spektrometrii mas MALDI-TOF przedstawiono profile białkowe tych fagów. Badania nad fagami dotyczyły również izolacji i charakterystyki bakteriofagów swoistych dla shigatoksycznych szczepów *E. coli* izolowanych od bydła, które nie powodują choroby u zwierząt, ale są bardzo patogenne dla człowieka. Badania potwierdziły, że fagi izolowane z próbek środowiskowych wykazują swoistość względem shigatoksycznych izolatów *E. coli* i jako fagi lityczne mogą mieć zastosowanie kliniczne. Badania nad fagami dotyczyły również charakterystyki morfologicznej i genetycznej bakteriofagów swoistych dla *Campylobacter* spp. izolowanych od kurcząt. W wyniku prac nad bakteriofagami Habilitant wraz z zespołem badawczy złożyli trzy wnioski patentowe do Urzędu Patentowego RP. Dotyczą one preparatu probiotyczno-fagowego do stosowania w postaci czopków u bydła, preparat ten ma skutecznie redukować biegunki u cieląt wywołane przez *E. coli*. Dwa pozostałe dotyczą opracowania preparatów fagowych do leczenia bakteryjnych zapaleń spojówek wywoływanych przez *Staphylococcus aureus* u psów. Nie wiadomo jeszcze, czy zespół otrzyma paten w zgłoszonych zakresach. W swoich badaniach Habilitant wykonał również badanie cech fenotypowych i genotypowych szczepów *E. coli* izolowanych z przypadków ropomacicza suk, dane te są istotne z punktu widzenia epidemiologicznego mającego na celu określenie źródeł pochodzenia *E. coli*. Zagadnienia epidemiologii kontynuował w odniesieniu do zakażeń wywoływanych przez *Salmonella Enteritidis* u ludzi i zwierząt. Przeprowadził analizę profili elektroforetycznych białek błony zewnętrznej szczepów *Salmonella Enteritidis* oraz ocenę ich immunogenności. Stwierdził, że białka te mogą zostać wykorzystane, jako immunogeny w szczepionkach stosowanych w immunoprofilaktyce *S. Enteritidis*. Kontynuując badania związane z zastosowaniem alternatywnych metod zapobiegania i zwalczania zakażeń u zwierząt prowadził współpracę z dr Martą Dec dotyczącą doskonalenia metod identyfikacji oraz oceny właściwości probiotycznych i antybiotykowrażliwości bakterii *Lactobacillus* izolowanych od drobiu. Opublikowane wyniki badań dotyczące pałeczek *Lactobacillus* izolowanych od gęsi są jedynymi w literaturze. W swoich badaniach zespół zaproponowała zastosowanie MALDI-TOF do identyfikacji gatunkowej. Ponadto, określono też wrażliwość lactobacilli na szereg antybiotyków i chemioterapeutyków. Badania wykazały, że mikroflora jelitowa drobiu w Polsce jest rezerwuarem antybiotykoopornych szczepów *Lactobacillus* i genów oporności. Wynik badań są istotnymi danymi dla komitetów i instytucji kompetentnych w zakresie ustanawiania norm antybiotykowrażliwości drobnoustrojów. Badania te były kontynuowane przez Habilitanta, który wykazał również, że zwierzęta hodowlane i dziko żyjące są

rezerwuarem drobnoustrojów lekoopornych z rodzaju *Campylobacter*. Dowiedziono, że gołębie hodowlane i wolno żyjące są nosicielami bakterii *Campylobacter* spp., a zgromadzone izolaty charakteryzują się wysoką częstotliwością występowania oporności na antybiotyki stosowane w leczeniu ludzi i zwierząt.

Przedmiotem badań dr Andrzeja Puchalskiego były też badania nad boreliozą psów i metodami diagnostyki tego schorzenia. Uczestniczył też w badaniach and występowaniem boreliozy i erlichiozy u świń i krów, jak również badaniach dotyczących epidemiologicznej flory bakteryjnej *Enterobacteriaceae* związanej z przewodem pokarmowym ślimaków, które wykazały, że mikrodamki cynku i miedzi używane jako stymulatory indukują reakcję fizjologiczną ślimaków w postaci zmian gospodarki lipidowej oraz stymuluje obronę antyoksydacyjną.

Oceniająca okres pracy naukowej Habilitanta po doktoracie należy uznać za bardzo twórczy i efektywny poruszający bardzo istotne zagadnienia dotyczące głównie zapobiegania występowaniu schorzeń układu oddechowego u bydła poprzez zastosowanie różnych form w tym nowych alternatywnych np. fagów.

III. Osiągnięcia w zakresie dorobku dydaktycznego i popularyzatorskiego oraz współpracy międzynarodowej habilitanta we wszystkich obszarach wiedzy.

III.1. Uczestnictwo w programach europejskich i innych programach międzynarodowych lub krajowych

Dr Andrzej Puchalski uczestniczył dwukrotnie w programie szkoleniowym Erasmus w Uniwersytecie Kordoba w Hiszpanii oraz Uniwersytecie w Turynie we Włoszech.

III.2 Udział w krajowych i międzynarodowych konferencjach naukowych i udział w komitetach organizacyjnych tych konferencji

Doktor Andrzej Puchalski brał udział i prezentował wyniki swoich badań naukowych na konferencjach krajowych i zagranicznych. W sumie w swoim dorobku posiada 46 prezentacji, które prezentował w formie doniesień ustnych lub plakatowych. Był też Sekretarzem Sekcji Prewencji Weterynaryjnej, Dobrostanu Zwierząt i Higieny Pasz, XV Kongresu Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych w Lublinie w 2016r.

III.3 Nagrody i wyróżnienia

W 2018 r. Habilitant otrzymał Medal komisji Edukacji Narodowej, a w 2013r. Srebrny Medal za długoletnią służbę przyznany przez Prezydenta RP.

III.4 Udział w konsorcjach i sieciach badawczych

Habilitant współpracował z Vet-Agro Sp. z o.o. producentem leków weterynaryjnych w zakresie badania czystości mikrobiologicznej i jałowości leków przeznaczonych dla zwierząt w latach 2002-2010.

III.5 Kierowanie projektami realizowanymi we współpracy z naukowcami z innych ośrodków polskich i zagranicznych, a w przypadku badań stosowanych we współpracy z przedsiębiorcami

Niestety Habilitant nie kierował tego typu projektami.

III.6 Udział w komitetach redakcyjnych i radach naukowych czasopism

W dorobku Habilitanta nie ma tego typu aktywności.

III.7 Członkostwo w międzynarodowych lub krajowych organizacjach i towarzystwach naukowych

Dr Andrzej Puchalski jest członkiem Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych oraz Polskiego Stowarzyszenia Bujatrycznego.

III.8 Osiągnięcia dydaktyczne i w zakresie popularyzacji nauki

Habilitant od 1996 roku prowadzi zajęcia dydaktyczne na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej oraz Wydziale Nauk o żywności i Biotechnologii UP w Lublinie. Są to wykłady z: immunologii, higieny środków żywienia zwierząt, prewencji weterynaryjnej. Ponadto, prowadził zajęcia dydaktyczne na Uniwersytecie w Turynie, Włochy. Natomiast w latach 2008-2010 uczestniczył w organizacji Lubelskiego Festiwalu Nauki, podczas którego prezentował wykłady popularno-naukowe. Dr Andrzej Puchalski zaangażowany był też w działania popularyzujące naukę poprzez tworzenie i prezentowanie wykładów w ramach „Dolnośląskiego Festiwalu Nauki” oraz działalność organizacyjną związaną m.in. z organizacją warsztatów „Innowacje w nauczaniu Biochemii na Wydziałach Medycyny Weterynaryjnej”. Był też promotorem pięciu prac magisterskich, trzech prac inżynierskich

studentów kierunku Biotechnologia Wydziału Nauk o Żywieniu i Biotechnologii UP w Lublinie.

III.9 Opieka naukowa nad studentami i lekarzami w toku specjalizacji

Brak tego typu osiągnięć w dorobku Habilitanta.

III.10 Opieka naukowa nad doktorantami w charakterze opiekuna lub promotora

Habilitant występował w roli promotora pomocniczego w przewodzie doktorskim Pani Aleksandry Stęgierskiej.

III.11 Staże w zagranicznych i krajowych ośrodkach naukowych

Dr Andrzej Puchalski odbył dwa staże zagraniczne w Uniwersytecie w Kordobie, Hiszpania oraz Uniwersytecie w Turynie, Włochy.

III.12 Wykonanie ekspertyz lub inne opracowania na zamówienie

III.13 Udział w zespołach eksperckich i konkursowych

III.14 Recenzowanie projektów międzynarodowych i krajowych

III.15 Recenzowanie publikacji w czasopismach międzynarodowych i krajowych

Niestety w dorobku naukowych Habilitanta nie stwierdza się osiągnięć w wyżej wymienionych zakresach. Brak aktywności recenzenckiej, czy też udziału w zespołach np. eksperckich może świadczyć o słabej rozpoznawalności naukowej dr Andrzeja Puchalskiego na arenie naukowej.

IV. Inne osiągnięcia

Habilitant zaangażowany jest aktywnie w inne obszary aktywności na Wydziale Weterynaryjnym UP w Lublinie tj. pełni funkcję pełnomocnika Dziekana ds. Praktyki, jest sekretarzem komisji rekrutacyjnej, członkiem wydziałowej Komisji Oceniającej oraz Wydziałowej Komisji ds. Kadr. Jest też reprezentantem asystentów i adiunktów w Radzie Wydziału Medycyny Weterynaryjnej. Z załączonej dokumentacji wynika, że Pan dr Andrzej Puchalski jest współautorem trzech wniosków patentowych, zgłoszonych do Urzędu patentowego w 2018 r., ale nie wiadomo jeszcze czy wynalazki zostaną opatentowane.

Podsumowanie

Podsumowując stwierdzam, pomimo, że w dorobku naukowym Pana dr Andrzeja Puchalskiego w odniesieniu do niektórych kryteriów brak jest sprecyzowanych osiągnięć, to dorobek jest znaczący, wyraźnie powiększony w okresie po uzyskaniu stopnia naukowego doktora nauk weterynaryjnych. Cechuje go ponadto dobrze sprecyzowany obszar zainteresowań naukowych ukierunkowany na badania nad syntetycznymi oligonukleotydami klasy C z niemetylowanymi sekwencjami CpG jako składnik zwiększający immunogenności komercyjnej szczepionki dla cieląt zawierających IROMP *Mannheimia haemolytica*. Osiągnięcia naukowe Habilitanta stanowią oryginalny i wartościowy dorobek wnoszący nowe wartości poznawcze w rozwój nauk związanych z ograniczaniem szerzenia się chorób u cieląt. Opublikowane dzieło naukowe wyodrębnione do recenzji, będące przedmiotem postępowania habilitacyjnego spełniają wymagania stawiane rozprawom habilitacyjnym. Ponadto, należy podkreślić, że dr Andrzej Puchalski dysponuje bogatym warsztatem badawczym i posiada duże doświadczenie w pracy naukowej, a co ważne również w prowadzeniu badań eksperymentalnych z wykorzystaniem zwierząt oraz wykazuje się bardzo intensywnym zaangażowaniem w działalność dydaktyczną na uczelni.

Biorąc pod uwagę dotychczasowe osiągnięcia naukowe, szczególnie dzieło (monografia) będące podstawą ubiegania się o habilitację, jak też w odniesieniu do całego dorobku naukowego stwierdzam, że dr Andrzej Puchalski spełnia wymagania dla kandydatów ubiegających się o uzyskanie stopnia naukowego doktora habilitowanego zawarte w Ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule z zakresu sztuki (Dz.U. nr 65, poz. 695 z późn.zm.), a także Rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 1 września 2011r. w sprawie kryteriów oceny osiągnięć osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego (Dz.U. nr 196, poz. 1165), dlatego wnioskuję do Komisji Habilitacyjnej o podjęcie dalszych czynności w postępowaniu o nadanie dr. nauk weterynaryjnych Panu Andrzejowi Puchalskiemu stopnia naukowego doktora habilitowanego nauk weterynaryjnych.

z poważaniem,

dr hab. Krzysztof Niemczuk,

profesor nadzwyczajny

[Signature]
13.05.2019