



**UNIwersytet  
PRZYRODNICZY  
WE WROCLAWIU**

**KATEDRA EPIZOOTIOLOGII Z KLINIKĄ PTAKÓW I ZWIERZĄT EGZOTYCZNYCH**

Wrocław, 23.04.2019 r.

dr hab. Andrzej Gawęł, prof. nadzw.  
Wydział Medycyny Weterynaryjnej  
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu  
Pl. Grunwaldzki 45  
50-366 Wrocław

**Ocena osiągnięć naukowych, dydaktycznych i organizacyjnych  
dr n. wet. Dagmary Stępień-Pyśniak**

**Z**

**Zakładu Prewencji Weterynaryjnej i Chorób Ptaków, Instytutu Biologicznych Podstaw  
Chorób Zwierząt**

**Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie  
w związku z postępowaniem**

**o nadanie stopnia doktora habilitowanego nauk weterynaryjnych**

**Podstawa formalna oceny**

Ocenę opracowano w związku z postępowaniem w sprawie nadania stopnia naukowego doktora habilitowanego dr Dagmarze Stępień-Pyśniak na podstawie decyzji Centralnej Komisji do Spraw Stopni i Tytułów z dnia 04.03.2019r. (W.Dz. 532-20/2018-2019) i powołaniem mnie na recenzenta. Dokumentację zawierającą informacje na temat dorobku naukowego, popularyzatorskiego, dydaktycznego i organizacyjnego Habilitantki w postaci zwartego, starannie przygotowanego opracowania otrzymałem w dniu 02.04.2019 r.

Recenzję opracowano zgodnie z kryteriami określonymi w art. 16 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach naukowych i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2003 r., nr 65, poz. 595.; Dz. U. z 2005 r., nr 164, poz. 1365; Dz. U. z 2011 r., nr 84, poz. 455; Dz. U. z 2014 r., poz. 1852, ze zm. w Dz. U. z 2015 r. poz. 249)



i udzielono odpowiedzi czy osiągnięcie naukowe oraz dorobek naukowy, dydaktyczny i organizacyjny dr Dągmary Stępień-Pyśniak ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego nauk weterynaryjnych spełniają ustalone prawem kryteria (Dz. U. nr 196, poz. 1165 z dnia 1 września 2011 r.).

### **1. Informacje o kandydacie**

Dr Dągmara Stępień-Pyśniak urodziła się 3 czerwca 1978 roku w Jędrzejowie. W roku 2003 Habilitantka ukończyła Wydział Medycyny Weterynaryjnej Akademii Rolniczej w Lublinie uzyskując tytuł zawodowy lekarza weterynarii i w tym samym roku rozpoczęła studia doktoranckie. Stopień naukowy doktora nauk weterynaryjnych nadany uchwałą Rady Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie uzyskała w dniu 15 maja 2008 roku na podstawie rozprawy doktorskiej pt. „Ilościowa i jakościowa analiza mikroflory bakteryjnej jaj i jej aspekty epidemiologiczne”. Promotorem rozprawy doktorskiej był prof. dr hab. Jerzy Rzedziecki.

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk weterynaryjnych dr Dągmara Stępień-Pyśniak pracowała w latach 2008-2010 na stanowisku asystenta, a od 2010 roku do dnia dzisiejszego pracuje jako adiunkt w Zakładzie Prewencji Weterynaryjnej i Chorób Ptaków, Instytutu Biologicznych Podstaw Chorób Zwierząt, Wydziału Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie.

### **2. Charakterystyka dorobku naukowego**

#### **a) Ocena pod względem liczebności dorobku i czasopism w których publikowane były prace**

Na dorobek naukowy dr Dągmary Stępień-Pyśniak poza cyklem naukowym prezentującym szczególne osiągnięcie naukowe, składa się 18 prac opublikowanych w czasopismach z listy JCR, z których w 3 jest pierwszym autorem. Łączny Impact Factor czasopism w których opublikowano prace wynosi 22,853, a łączna suma punktów MNiSW 455.



**b) główne kierunki badawcze**

W przesłanej dokumentacji, Habilitantka zestawia dorobek dotyczący kilku obszarów badawczych z zakresu chorób ptaków – epidemiologia zakażeń u drobiu oraz analiza czynników wirulencji bakterii z rodzaju *Staphylococcus*, wykorzystanie metod fizyko-chemicznych do oceny adhezji enterokoków, ocena lekowrażliwości wybranych bakterii kolonizujących przewód pokarmowy u ptaków, alternatywne metody kontrolowania zakażeń u ptaków hodowlanych, a także problematykę diagnostyki izolowanych od ptaków i ludzi bakterii o nietypowych właściwościach biochemicznych, występowanie i zróżnicowanie mikrobioty układu oddechowego organizmu ludzkiego i opisy przypadków klinicznych.

**c) uczestnictwo w konferencjach naukowych**

Habilitantka bierze udział w licznych konferencjach, zarówno krajowych i zagranicznych na których prezentuje wyniki badań, czego efektem jest 35 zgłoszeń konferencyjnych, które prezentowane były w formie prezentacji ustnej bądź plakatu podczas 27 krajowych oraz 8 międzynarodowych kongresów i konferencji naukowych.

**d) udział w badaniach wykonanych w ramach grantów i zadań naukowych**

Dr Dagmara Stępień-Pyśniak była kierownikiem projektu finansowanego przez NCN w ramach konkursu Miniatura 1 nr 2017/01/X/NZ6/00430 pt. „Struktura klonalna oraz analiza czynników zjadliwości i antybiotykooporności szczepów *Enterococcus faecalis* wyizolowanych z woreczków żółtkowych piskląt brojlerów kurzych”.

Habilitantka była również kierownikiem i wykonawcą badań wykonywanych w ramach projektu nr WZC/MN/6 w 2013r. dla młodych naukowców pt. „Charakterystyka bakterii z rodzaju *Enterococcus* spp. izolowanych od różnych typów użytkowych kur” oraz głównym wykonawcą zadania badawczego pt.: „Analiza fenotypowa i genotypowa lekooporności i wybranych czynników zjadliwości określonych typów sekwencyjnych *Enterococcus faecalis* i *Enterococcus faecium* izolowanych od ptaków dzikich zasiedlających różne nisze ekologiczne” realizowanego w ramach tematu badawczego z działalności statutowej WCZ/DS/8.



### 3. Pozostała działalność naukowa, opracowania i ekspertyzy

Habilitantka odbyła 2 tygodniowe staże zagraniczne w University of Ondokuz Mayis w Samsun (Turcja, 2015) i University of Copenhagen w Kopenhadze (Dania, 2016) oraz 2 staże krajowe - czterotygodniowy staż naukowy w Laboratorium Zastosowań Optycznych Technik Pomiarowych Zakładu Biogeochemii Środowiska Przyrodniczego Instytutu Agrofizyki Państwowej Akademii Nauk w Lublinie oraz tygodniowy staż naukowy w Zakładzie Immunologii Katedry Immunologii Klinicznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu.

Habilitantka współpracuje z Katedrą Nauk Weterynaryjnych Uniwersytetu w Pizie (Włochy) w ramach badań dotyczących charakterystyki fenotypowej i genotypowej bakterii z rodzaju *Enterococcus* izolowanych od zwierząt dziko żyjących oraz Uniwersytetem Medycznym w Lublinie w zakresie lekooporności drobnoustrojów saprofitycznych i komensalnych, pochodzących z mikrobioty różnych układów makroorganizmu. Efektem współpracy z Uniwersytetem Medycznym są dwa zgłoszenia patentowe których Habilitantka jest współautorem - „Sposób otrzymywania preparatu do leczenia bakteryjnego zapalenia spojówek” (Nr zgłoszenia P.427797) oraz „Sposób otrzymywania kompozycji do leczenia bakteryjnego zapalenia spojówek” (Nr zgłoszenia P.427798).

Dr Dagmara Stępień-Pyśniak wykonała recenzję rozdziału w monografii dla Fundacji na rzecz promocji nauki i rozwoju Tygiel.

W 2013 roku Habilitantka uzyskała tytuł specjalisty chorób drobiu oraz ptaków ozdobnych.

### 4. Ocena jednotematycznego cyklu publikacyjnego stanowiącego szczególne osiągnięcie naukowe w postępowaniu habilitacyjnym

Do oceny osiągnięcia naukowego stanowiącego jednotematyczny cykl publikacyjny pt. „Zastosowanie fenotypowych i molekularnych metod w identyfikacji i charakterystyce wybranych patogenów oportunistycznych izolowanych od ptaków” Habilitantka przedłożyła 5 oryginalnych publikacji w indeksowanych w bazie JCR czasopismach: Acta Veterinaria Hungarica, Journal of Microbiology and Biotechnology, Journal of Wildlife Diseases, Poultry Science i Avian Pathology. We wszystkich pracach Habilitantka jest pierwszym autorem oraz



autorem korespondencyjnym. Prace opublikowano w latach 2016-2018, a ich sumaryczny współczynnik oddziaływania (IF) wynosi 7,981 i 150 punktów MNiSW.

Swoj wkład, polegający na opracowaniu koncepcji badań, określeniu celu badań, planowaniu zakresu badań, współudziale w opracowaniu metodyki badań, udziale w realizacji badań, współudziale w zbieraniu materiału, interpretacji wyników badań, przedstawieniu danych w formie tabelarycznej, napisaniu i redagowaniu manuskryptu, korespondencji z wydawnictwem, korekcie końcowej wersji manuskryptu zgodnie z uwagami recenzentów i edytora. Habilitantka ocenia na 80-85%. Zgodnie z deklaracjami współautorów udział Habilitantki w powstawaniu poszczególnych prac był decydujący i wyrazili Oni zgodę na ich uwzględnienie w osiągnięciu naukowym stanowiącym przedmiot postępowania habilitacyjnego.

W skład cyklu prac stanowiących osiągnięcie naukowe wchodzi następujące publikacje:

1. 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 (2), 148- 163
2. 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(6), 1128–1137
3. 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(2), 219-228
4. 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(4), 1141–1147
5. 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.

Drobnoustroje oportunistyczne są zaliczane do grupy mikroorganizmów, mogących powodować zakażenia endogenne oraz zróżnicowane schorzenia, niejednokrotnie przewlekłe



o ciężkim przebiegu, u osobników np. z zakłóconą równowagą immunologiczną, przewlekle chorych lub po antybiotykoterapii. Są one pomijane w czasie diagnostyki zarówno u ludzi, jak i u zwierząt. Wynika to z przekonania, że w materiale diagnostycznym stanowią one kontaminację i jako takie, nie wymagają izolacji ani identyfikacji. Habilitantka podjęła się przeprowadzenia badań nad występującymi u ptaków patogenami oportunistycznymi, które to wpisują się w aktualne trendy związane z określeniem znaczenia tych mikroorganizmów w powstawaniu infekcji o trudnej do sprecyzowania etiologii i sprawiających problemy terapeutyczne. Habilitantka swe badania przeprowadziła na izolatach *Enterococcus spp.*, *Gallibacterium anatis* oraz *Staphylococcus simulans*.

Rutynowa identyfikacja bakterii opiera się na metodach fenotypowych, głównie biochemicznych i jest najczęściej potwierdzana technikami molekularnymi. W przypadku gdy identyfikacja fenotypowa i specyficzny dla gatunku PCR są niewystarczające, stosuje się identyfikację opartą na sekwencji określonego genu, najczęściej 16S rRNA. Technika ta jest jednak pracochłonna i zbyt kosztowna w rutynowej diagnostyce mikrobiologicznej, a pewne gatunki mikroorganizmów, w tym enterokoki nie mogą być zróżnicowane na poziomie gatunku przez sekwencjonowanie 16S rRNA. W celu potwierdzenia poprawności identyfikacji izolowanych od ptaków bakterii z rodzaju *Enterococcus*, *G. anatis* oraz *S. simulans* z użyciem techniki MALDI-TOF, Habilitantka zastosowała więc sekwencjonowanie z wykorzystaniem odpowiednich sekwencji genów (*rpoA*, *rpoB* i *dnaJ*).

Nowatorskim osiągnięciem prezentowanym w cyklu publikacji przedstawionych do postępowania habilitacyjnego jest opisany po raz pierwszy na świecie przypadek zapalenia wsierdza w stadzie kurcząt brojlerów z udziałem *S. simulans*, a także opracowany i zastosowany test do identyfikacji drobnoustrojów *G. anatis* izolowanych od kur i indyków oparty na technice LAMP (ang. Loop-mediated isothermal AMPLification). Badania dr Dagmary Stępień-Pyśniak wykazały wysoki odsetek wieloopornych enterokoków w zakażeniach drobiu, co wskazuje na wzrost udziału tych bakterii w awiopatologii, a dzikie ptaki, pomimo braku bezpośredniego kontaktu z substancjami przeciwbakteryjnymi, stanowią źródło opornych na antybiotyki szczepów. Wykazana przez Habilitantkę wysoka wrażliwość badanych izolatów bakteryjnych wyosobnionych od drobiu na amoksycylinę, amoksycylinę z kwasem klawulanowym



i florfenikol ma charakter aplikacyjny i kliniczny, i może być wykorzystana w praktyce weterynaryjnej przy zwalczaniu zakażeń powodowanych przez enterokoki.

**Podsumowując, cykl publikacji ma wartość poznawczą i aplikacyjną uzupełniając także wiedzę na temat zakażeń bakteriami oportunistycznymi u drobiu.**

### **5. Charakterystyka dorobku dydaktycznego**

Dr Dagmara Stępień-Pyśniak od 2003 r. do chwili obecnej prowadzi zajęcia dydaktyczne dla studentów V roku kierunku Weterynaria z przedmiotów „Choroby ptaków” oraz „Choroby ptaków- staż”, oraz przedmiotów fakultatywnych „Choroby ptaków ozdobnych” oraz „Chów i choroby ptaków bezgrzebieniowych”. Habilitantka jest osobą odpowiedzialną za przygotowanie oraz realizację przedmiotu „Choroby ptaków ozdobnych” dla VI roku Medycyny Weterynaryjnej, w ramach programu Erasmus. Prowadziła również wykłady pt. „Mechanisms of bacteria resistance to antibiotics oraz “Types of intrinsic and acquired antibiotics resistance in *Enterococcus*” w języku angielskim dla słuchaczy studiów podyplomowych w Uniwersytecie w Pizie (Włochy). Habilitantka jest członkiem minimum kadrowego nowego kierunku „Analityka weterynaryjna” powstałego na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej UP w Lublinie i jest odpowiedzialna za przedmiot „Procedury laboratoryjne w diagnostyce chorób ptaków” na tym kierunku również jako autor sylabusów z tego przedmiotu.

Dr Dagmara Stępień-Pyśniak była promotorem pracy inżynierskiej Kamila Jaworskiego pt. „Znaczenie bakterii z rodzaju *Enterococcus*” na kierunku Biotechnologia Wydziału Nauk o Żywności i Biotechnologii UP w Lublinie oraz sprawowała opiekę naukową w charakterze promotora pomocniczego pracy doktorskiej dr Sylwii Andrzejczuk pt. „Fenotypowa i genotypowa ocena oporności na beta-laktamy szczepów *Haemophilus* spp. izolowanych z mikrobioty układu oddechowego”. Aktualnie Habilitantka sprawuje opiekę naukową w charakterze promotora pomocniczego pracy doktorskiej lek. wet. Jarosława Wilczyńskiego pt. „Charakterystyka molekularna czynników wirulencji oraz lekowrażliwość szczepów *Escherichia coli* (APEC) izolowanych od drobiu na terenie Polski zachodniej”.



Dr Dagmara Stępień-Pyśniak recenzowała manuskrypty dla czasopism międzynarodowych znajdujących się w bazie JCR (Avian Pathology, Journal of Wildlife Diseases, Environmental Microbiology) oraz kilkakrotnie dla czasopisma krajowego znajdującego się w wykazie B MNiSW (Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences).

## 6. Współpraca krajowa i zagraniczna

Habilitantka prowadzi szeroko zakrojona współpracę badawczą zarówno z jednostkami krajowymi jak i zagranicznymi, czego potwierdzeniem jest współautorstwo publikacji naukowych. Dr Dagmara Stępień-Pyśniak współpracuje z Uniwersytetem w Białymstoku (Zakład Mikrobiologii, Instytut Biologii, Wydział Biologiczno-Chemiczny); Uniwersytetem Medycznym w Lublinie (Katedra i Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej z Pracownią Diagnostyki Mikrobiologicznej, Katedra i Zakład Farmakognozji z Pracownią Roślin Leczniczych - Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej; Zakład Farmakologii - Wydział Nauk o Zdrowiu; Zakład Zintegrowanej Stomatologii Wieku Rozwojowego, Katedra Stomatologii Wieku Rozwojowego - I Wydział Lekarski z Oddziałem Stomatologicznym; Katedra i Klinika Położnictwa i Perinatologii – II Wydział Lekarski z Oddziałem Anglojęzycznym; Klinika Położnictwa i Perinatologii; Klinika Chirurgii Klatki Piersiowej - Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny Nr 4 w Lublinie); Państwową Akademią Nauk w Lublinie (Zakład Biogeochemii Środowiska Przyrodniczego z Laboratorium Zastosowań Optycznych Technik Pomiarowych; Zakład Fizycznych Właściwości Materiałów Roślinnych z Laboratorium Oceny Jakości Surowców Zbożowych i Oleistych; Zakład Fizykochemii Materiałów Porowatych - Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego); Szkołą Główną Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie (Katedra Technologii Żywności, Wydział Nauk o Żywności); Uniwersytetem Technologiczno- Humanistycznym im. Kazimierza Pułaskiego w Radomiu (Zakład Chemii i Technologii Polimerów - Wydział Materiałoznawstwa, Technologii i Wzornictwa); Instytutem Nowych Syntez Chemicznych, Puławy (Zakład Ekstrakcji Nadkrytycznej). Habilitantka prowadzi również współpracę międzyzakładową i międzywydziałową w obrębie macierzystego uniwersytetu. Habilitantka współpracuje także z Uniwersytetem w Pizie (Katedra Nauk Weterynaryjnych).





## 7. Wyróżnienia i odznaczenia

Habilitationka otrzymała Nagrodę Indywidualną III stopnia Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie z dnia 01.10.2018 za osiągnięcia naukowe w latach 2016 - 2017.

## Podsumowanie i wniosek końcowy

Na podstawie analizy i pozytywnej oceny udokumentowanego całokształtu dorobku naukowego, dydaktycznego, popularyzatorskiego i organizacyjnego, w tym jednotematycznego cyklu prac stanowiącego szczególne osiągnięcie naukowe, które wnosi wkład w rozwój nauk weterynaryjnych stwierdzam, że dr Dagmara Stępień-Pyśniak wykazuje istotną aktywność naukową i spełnia kryteria stawiane Kandydatom do stopnia naukowego doktora habilitowanego określone w art.16 ust.2 Ustawy z dnia 14 marca 2013 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65 poz.595 z późn. zmianami) oraz w Rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 1 września 2011 roku w sprawie kryteriów oceny osiągnięć naukowych osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego (Dz.U. nr 196, poz. 1165).

W związku z powyższym wnoszę o podjęcie dalszych czynności w postępowaniu o nadanie dr Dągmarze Stępień-Pyśniak stopnia doktora habilitowanego nauk weterynaryjnych.

dr hab. Andrzej Gawęł, prof. nadzw.