

Puławy, 2019-04-26

Dr hab. Grzegorz Tomczyk, prof. nadzwyczajny
Państwowy Instytut Weterynaryjny
- Państwowy Instytut Badawczy
Al. Partyzantów 57
24-100 Puławy

Ocena

**osiągnięć naukowo – badawczych, dorobku dydaktycznego i popularyzatorskiego
oraz współpracy międzynarodowej
dr nauk. wet. Dagmary Anny Stępień-Pyśniak ubiegającej się o nadanie stopnia doktora
habilitowanego
nauk weterynaryjnych,**

**przygotowana w związku z postępowaniem w sprawie nadania stopnia naukowego
doktora habilitowanego na podstawie wniosku do Centralnej Komisji do Spraw Stopni
i Tytułów z dnia 11. 12. 2018 r. o wszczęcie postępowania habilitacyjnego
w dziedzinie nauk weterynaryjnych i powołaniem mnie na Recenzenta
Komisji Habilitacyjnej**

Ocena formalna

Otrzymane materiały dokumentują dorobek i osiągnięcia Kandydatki **Pani dr Dagmary Anny Stępień-Pyśniak** do stopnia naukowego doktora habilitowanego w stopniu wystarczającym do wykonania analizy do celów postępowania w przewodzie habilitacyjnym. Spełniają wymogi formalne określone w Ustawie z dn. 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule naukowym w zakresie sztuki (Dz U 65 poz. 595 ze zmianami Dz U z 2005 r. nr 164 poz. 1365 Dz U z 2010 r nr 96 poz. 620 i nr 182 poz. 1228 oraz Dz. U z 2011 r. nr 84 poz. 455).

Informacje ogólne (wykształcenie i przebieg pracy zawodowej)

Doktor nauk weterynaryjnych Dagmara Anna Stępień-Pyśniak uzyskała dyplom lekarza weterynarii na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej Akademii Rolniczej w Lublinie w 2003 roku.

Bezpośrednio po odbyciu studiów rozpoczęła studia doktoranckie (2003-2007) a następnie pracę w Zakładzie Chorób Ptaków, Instytut Chorób Inwazyjnych, Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Akademii Rolniczej w Lublinie (obecnie Uniwersytet Przyrodniczy) gdzie pracuje do dnia dzisiejszego, początkowo jako asystent (2008-2010), a od 2010 r. po uzyskaniu stopnia dr nauk wet. na podstawie rozprawy doktorskiej pt. „*Wpływ antybiotykoterapii niosek na wykrywalność pałeczek Salmonella w jajach oraz poziom swoistych przeciwciał żółtkowych*”, jako adiunkt w Zakładzie Prewencji Weterynaryjnej i Chorób Ptaków, Instytut Biologicznych Podstaw Chorób Zwierząt, Wydziału Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie.

Ocena osiągnięcia naukowego wymienionego w Art. 16 Ustawy (znowelizowanej w 2011 r.) oraz pozostałego opublikowanego dorobku naukowego

Ocena prac stanowiących szczególne osiągnięcia naukowe wynikające z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule naukowym w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65 poz. 595 ze zmianami)

Osiągnięcie naukowe prezentowane przez dr nauk wet. **Dagmarę Annę Stępień-Pyśniak** to cykl publikacji pod wspólnym tytułem „*Zastosowanie fenotypowych i molekularnych metod w identyfikacji i charakterystyce wybranych patogenów oportunistycznych izolowanych od ptaków*”.

Cykl ten składa się z 5 oryginalnych, monotematycznych publikacji o łącznej liczbie IF równej **7,981** wg bazy *Journal Citation Reports* (JCR) i **150** punktów według listy czasopism punktowanych MNiSW. Udział Habilitantki w powstawaniu tych prac był znaczący. W wszystkich pięciu prezentowanych pracach, dr **Dagmara Anna Stępień-Pyśniak** pełniła rolę pierwszego autora, a Jej szacunkowy udział w ich powstawaniu wg przedłożonych deklaracji samej Autorki wyniósł w większości 80-85 % (Załącznik nr 6). Do wszystkich prac przedłożonego do oceny cyklu dołączono odpowiednie oświadczenia pozostałych współautorów, a ich fotokopie wraz z odpowiednimi odbitkami prac załączono w przygotowanym autoreferacie przedłożonym Recenzentowi.

Pracami wchodzącymi w skład omawianego cyklu są:

- 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, DOI 10.1556/004.2016.016.
(Punkty MNiSW2016 = 20, IF2016 = 0,814)
- 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, DOI 10.4014/jmb.1612.12036.
(Punkty MNiSW2016 = 20, IF2017 = 1,65)
- 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, DOI 10.7589/2017-05-118.
(Punkty MNiSW2016 = 30, IF2017 = 1,247)
- 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, DOI 10.3382/ps/pex420.
(Punkty MNiSW2015 = 40, IF2017 = 2,216)
- 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, DOI 10.1080/03079457.2016.1203392.
(Punkty MNiSW2014 = 40, IF2017 = 2,054)

Wszystkie wykazane powyżej prace stanowią tematyczny cykl badawczy w wyraźnie wyrażonym postępie wiedzy n/t problematyki zakażeń i ich następstw u drobiu w kraju, wdrożenie nowoczesnych metod ich wykrywania i identyfikacji (także co istotne dla zdrowia ludzkiego) problemów wywoływanych przez zakażenia bakteriami oportunistycznymi i problematyki dotyczącej ograniczenia możliwości terapii w związku z ich rolą w narastaniu oporności na antybiotyki. Powyższe ma znamiona tzw. dzieła i spełnia kryteria stawiane tego typu wymaganiom. Należy dodać, że wszystkie prace są opublikowane w dobrych czasopismach naukowych co oczywiście dodaje im rangi badań naukowych związanych z tymi mikroorganizmami, ich dotychczas nie do końca rozpoznanej roli w patologii, rozprzestrzenieniu w populacji drobiu, cech fenotypowych i genetycznych wykazanych z użyciem najnowszych metod badawczych. Prezentowane wyżej publikacje powstały w oparciu o badania finansowane ze projektów grantowych (jak wyniki badań dotyczących *Enterococcus faecalis*) a także ze środków dotacji statutowej celowej dla Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UP w Lublinie.

Zaprezentowany przez dr. **Dagmarę Annę Stepień-Pyśniak**, jako szczególne osiągnięcie naukowe przedstawione w toku postępowania habilitacyjnego, to cykl publikacji z zakresu badań nad rolą bakterii oportunistycznych w tym z rodzaju *Enterococcus* i *Staphylococcus* oraz bakterii *Gallibacterium anatis* w epidemiologii zakażeń u drobiu oraz charakterystyka feno i genotypowa w tym w zakresie czynników narastania oporności tych bakterii związanych ze zdolnością do przekazywania genów oporności innym bakteriom w tym także do mikrobiomu człowieka. Autorka wybrała słusznie do badań drobnoustroje oportunistyczne, które mogą wywoływać zakażenia u ptaków a wśród nich enterokoki, gronkowce koagulazo-ujemne, a także bakterie należące do rodziny *Pasteurellaceae*, w tym *Gallibacterium anatis*. Rzadko te bakterie traktowane są jako czynniki etiologiczne zakażeń czy chorób infekcyjnych w organizmach eukariotycznych. Zakażenia bakteriami oportunistycznymi często są pomijane w czasie diagnostyki zarówno u ludzi, jak i u zwierząt. Również diagnostyka bakterii oportunistycznych jest trudna i niejednokrotnie niedoceniana, ponieważ większość znanych technik diagnostyki i metod identyfikacji mikroorganizmów, zwłaszcza nowszej generacji, koncentruje się na tzw. patogenach absolutnych o znacznym potencjale chorobotwórczym, pomijając problem udziału bakterii oportunistycznych w patomechanizmie zakażeń, zwłaszcza u ptaków. Obecnie coraz częściej mówi się na temat bakterii z rodzaju *Enterococcus* w patologii chorób ptaków ich roli w patomechanizmie chorób. *Enterococcus faecalis* jest przyczyną *endocarditis* u kurcząt, zmian wytwórczych w wątrobie (hepatic granuloma) u indyków, wodobrzusza u kur, nadciśnienia płucnego u

brojlerów zespołu śmiertelności niosek w pierwszym tygodniu życia, artropatii amyloidowej ze współistniejącą amyloidozą układową u kur i broilerów a także *arthritis* u kaczek oraz *septicaemii* u kacząt. Izolowano *Enterococcus cecorum* w przebiegu *arthritis*, *spondylitis*, *osteomyelitis* oraz martwicy główki kości udowej u brojlerów i w stadach rodzicielskich brojlerów. *Enterococcus durans* izolowano od kurcząt z bakteriami, a także z encephalomalacją natomiast gatunek *Enterococcus hirae* został wyosobniony z ogniskowej martwicy mózgu, *osteomyelitis* oraz *endocarditis*. Najczęściej izolowanymi od drobiu gronkowcami CoNS były *Staphylococcus xylosum*, *Staphylococcus lentus*, *Staphylococcus cohnii* i *Staphylococcus hyicus* a w ostatnich latach od drobiu z różnymi objawami klinicznymi izolowano także gatunek *Staphylococcus simulans*. Kolejnym obiektem zainteresowań Habilitantki była Gram-ujemna pałeczka *Gallibacterium anatis* bakteria z rodziny *Pasteurellaceae*. Obecność tego gatunku bakterii stwierdzano w układzie oddechowym ptaków (górne odcinki) i dolnym odcinku układu rozrodczego u ptaków nie wykazujących objawów chorobowych. Podobnie jak wcześniej wymienione mikroorganizmy bakteria ta należy do grupy mikroorganizmów wybrednych i charakteryzujących się szczególnymi wymaganiami wzrostowymi. Poprzednio bakteria ta sklasyfikowana była jako *Actinobacillus salpingitidis*, *Pasteurella haemolytica-like*, czy *Pasteurella anatis*.

W ogólnych zarysach podjęty cykl badań miał na celu:

- w pierwszym etapie badań cel obejmował identyfikację wybranych odzwierzęcych drobnoustrojów oportunistycznych u drobiu
- ocenę częstości występowania poszczególnych gatunków enterokoków u drobiu i ptaków dzikich w Polsce a także różnicowania blisko spokrewnionych gatunków tych bakterii z zastosowaniem metod fenotypowych oraz metody wykorzystującej technikę opartą na określeniu swoistego dla mikroorganizmu profilu białkowego z użyciem spektrometrii mas (*ang. Mass Spectrometry*) typu MALDI-TOF (*ang. Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight*)
- kolejnym celem była identyfikacja i określenie pokrewieństwa genetycznego bakterii oportunistycznych izolowanych od ptaków na przykładzie *Enterococcus* spp. z możliwością zastosowania i ocena przydatności wykorzystania do tego celu metod typowania molekularnego – PCR, PFGE oraz MLST
- ocenę roli ptaków dzikich z terenów Polski jako rezerwuaru i źródła lekoopornych klonów *E. faecalis*

- celem kolejnym była ocena występowania lekoopornych bakterii *Enterococcus* spp. wśród izolatów pochodzących od drobiu i ptaków dzikich wykonana z użyciem metod fenotypowych i genotypowych
- włączony do osiągnięcia naukowego kolejny cel badań obejmował charakterystykę fenotypową *Staphylococcus simulans* jako istotnego elementu diagnostyki zapalenia wsierdza u kurcząt
- cel wyznaczony w kolejnym etapie badań dotyczył zaprojektowania i walidacji testu opartego na technice LAMP do szybkiej i wiarygodnej identyfikacji bakterii *Gallibacterium anatis*.

Należy zaznaczyć, że zagadnienia związane z patogenezą, diagnostyką i zwalczaniem chorób bakteryjnych stanowią szeroki zakres zainteresowań Habilitantki już od 2004 roku w tym zakażeń wywołanych przez pałeczki *Salmonella* spp. u drobiu a następnie zakażeń *Staphylococcus* spp. (od 2009). Habilitantka swoją uwagę skupia zarówno na epidemiologii zakażeń tymi bakteriami z precyzyjną identyfikacją gatunkową oraz ich wrażliwości na chemioterapeutyki co może mieć istotne znaczenie w ratowaniu życia ludzkiego w sytuacji zagrożeń i zakażeń tzw. szpitalnych. Występowanie w mikrobiomie organizmów wyższych atypowych cech fenotypowych u niektórych mikroorganizmów może prowadzić do błędnej identyfikacji tych drobnoustrojów co oznacza, że wykrywalność wybrednych lub nietypowych gatunków bakterii (w tym oportunistycznych) za pomocą rutynowych i standardowo stosowanych metod nie zawsze jest wiarygodna. Ponadto charakterystyczne dla niektórych bakterii wymagania odżywcze, ich aktywność metaboliczna nie zawsze pozwalają na ich namnożenie co skłania do wykorzystania metod biologii molekularnej opierających się w większości na wykryciu DNA tych bakterii.

Podjęte przez Habilitantkę szczegółowe i dobrze zaplanowane a także, głęboko przemyślane badania, których rezultaty opublikowano w pracach stanowiących w miarę monotematyczny cykl ocenianego osiągnięcia naukowego przedstawiony w postępowaniu habilitacyjnym pozwoliły na wykazanie w poszczególnych chronologicznie po sobie następujących publikacjach treści:

Praca (1) zatytułowana „Prevalence and antibiotic resistance of strains of the genus *Enterococcus* isolated from poultry”. *Acta Veterinaria Hungarica*, 2016, 64 (2), 148-163, DOI10.1556/004.2016.016. W pracy tej Habilitantka dokonała oceny częstości występowania poszczególnych gatunków enterokoków u drobiu i ptaków dzikich żyjących w Polsce. Wykazała częste występowanie zakażeń bakteriami z rodzaju *Enterococcus* w

materiale biologicznym pochodzącym od drobiu hodowanego w Polsce. Reprezentatywną pulę 911 izolatów *Enterococcus* spp. pozyskała z 580 stad drobiu, w tym 420 stad brojlerów, 80 stad indyckich, 73 stad kur niosek i hodowlanych oraz 7 stad gęsi. Praca przedstawia wyniki badań dotyczące izolacji bakterii z rodzaju *Enterococcus*. Najczęściej wykrywano je u brojlerów (88,1%), kur niosek (5,3%), indyków (3,9%), kur hodowlanych (2,2%) i gęsi (0,4%), od ptaków w wieku 1-3 dni (87,3%), ale także 4 - 10 dni (3,2%), 2 - 4 tygodni (5,5%), 5 - 7 tygodni (1,8 %) i 12 - 60 tygodni (2,2%). Dominujące gatunki zidentyfikowano jako *E. faecalis* (74,7%), *E. faecium* (10,1%), *E. gallinarum* (5,5%), *E. hirae* (4,6%) i *E. cecorum* (4,1%). *E. faecalis*, który był gatunkiem najczęściej izolowanym z próbek pobranych z serc kurcząt brojlerów w wieku do 10 dnia życia. Odnotowano również przypadki *endocarditis* z udziałem *E. faecalis* u drobiu. Wykazano też, że znaczący wzrost występowania *E. faecalis* w przewodzie pokarmowym w ciągu pierwszej doby życia piskląt wiąże się z horyzontalną transmisją tych bakterii w wylęgarni. Autorka stwierdziła, że częstość występowania u drobiu także innego gatunku *E. cecorum*, podobnie jak *E. faecalis*, jest zależna od wieku. Najwyższy odsetek *E. cecorum* wykazała u brojlerów w wieku 2 - 5 tygodni a u kur niosek w wieku 22 - 35 tygodni zaś kur reprodukcyjnych (28-37tygodni) i u gęsi (50 dni). Wg badań autorki te dwa najczęściej izolowane enterokoki a dodatkowo *E. hirae* wywołują zapalenie stawów kręgosłupa, zapalenie stawów i zakażenie szpiku kostnego (*E. cecorum*) oraz zapalenie wsierdza (*E. hirae*). Nie wykazano w tych badaniach obecności tego gatunku u drobiu poniżej 2 tygodnia życia. Inne gatunki, tj. *E. casseliflavus* (0,8%), *E. avium* (0,1%) i *E. columbae* (0,1%) Autorka izolowała sporadycznie. Dodatkowo w pracy tej określono fenotypową lekowrażliwość *Enterococcus* spp. u drobiu. Autorka użyła zarówno metody dyfuzyjno-krążkowej oraz metody mikrorozcieńczeń w bulionie, polegającej na określeniu wartości MIC (*ang.* Minimal Inhibitory Concentration) - minimalnego stężenia hamującego wzrost mikroorganizmów. Wyniki badań wykazały powszechne występowanie szczepów antybiotykoopornych wśród enterokoków izolowanych od drobiu i ptaków dzikich w Polsce (dane z kolejnej publikacji- nr 3 Autorki). Dodatkowo, niepokojący jest fakt występowania szczepów wieloopornych wśród izolatów pozyskanych od ptaków. Izolaty pochodzące od drobiu wykazały wysoką oporność (>50%) na sulfametoksazol z trimetoprimem - SXT (88%), tylozynę (71,4%), enrofloksacynę (69,4%), doksycyklinę (67,3%) i linkomycynę ze spektynomycyną (56,1%). Część izolatów była średnio wrażliwa na enrofloksacynę (6,7%), linkomycynę ze spektynomycyną (4,5%), florfenikol (3,3%), doksycyklinę (3%) i tylozynę (2,3%). Oporność na wankomycynę (0,11%; tylko jeden izolat *E. cecorum*), amoksycylinę (4%), amoksycylinę z kwasem klawulanowym (4,5%) i

florfenikol (15,7%) została sklasyfikowana jako niska (<25%). Wśród analizowanych bakterii z rodzaju *Enterococcus* pochodzących od ptaków dzikich, 100% było opornych na linkomycynę, a prawie połowa szczepów (48%) na tetracyklinę i doksycyklinę. Oporność na erytromycynę i ciprofloksycynę wykazano odpowiednio u 44% i 22% izolatów *Enterococcus* spp. Okazało się, że odpowiednio 18% i 14% izolatów było opornych na streptomycynę i kanamycynę.

W publikacji drugiej „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, DOI 10.4014/jmb.1612.12036. W ramach badań Habilitantka poszerzyła swój warsztat diagnostyczny (identyfikacyjny) o bardzo użyteczną i łatwiejszą do wykorzystania w badaniach identyfikacyjnych metodę MALDI-TOF-MS opartą o spektrometrię mas pozwalającą na analizę białek komórek bakteryjnych jako niepowtarzalny, unikatowy profil białkowy tzw. molekularny „odcisk palca”. Zastosowanie tej metody potwierdziło zgodność na poziomie 80% z wynikami uzyskanymi innymi metodami w tym opartej na analizie w wykorzystaniem sekwencjonowania genu *rpoB*. Przeprowadzone i opublikowane w tej pracy wyniki wykazały jak istotne jest wykorzystanie właściwych metod diagnostycznych do identyfikacji szczepów o nietypowych właściwościach. Dr Dagmara Anna Stepień-Pyśniak wykorzystując nowoczesną metodę opartą na spektrometrii mas typu MALDI-TOF przeprowadziła identyfikację zróżnicowanych gatunków *Enterococcus* spp., które mogą występować w materiale diagnostycznym pozyskiwanym z różnych narządów badanych ptaków. Wykazała że wśród 54 izolatów *Enterococcus* spp. (izolaty wyizolowane z wymazów pobranych z kloaki) od 25 gatunków ptaków dzikich, *E. faecalis* był najbardziej rozpowszechnionym gatunkiem (50%). Nieco rzadziej występował *E. faecium* (33,3%), a następnie *E. hirae* (9,3%), *E. durans* (3,7%) i *E. casseliflavus* (3,7%). Najbardziej rozpowszechnionymi gatunkami zarówno u ptaków hodowlanych, jak i dzikich były *E. faecalis* i *E. faecium*. Potwierdza to tezę, że inne gatunki bakterii z rodzaju *Enterococcus* mają duże zdolności adaptacyjne i mogą kolonizować gatunki ptaków, które nie są ich naturalnymi gospodarzami.

W kolejnej publikacji (3) pt. „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, DOI 10.7589/2017-05-118 habilitantka przeprowadziła analizę genotypowych profili lekowrażliwości *Enterococcus faecalis* izolowanych od ptaków dzikich oraz określiła ich pokrewieństwo genetyczne przy wykorzystaniu metod PFGE oraz

MLST. Antybiotykooporne szczepy *E. faecalis* Autorka badała za pomocą PCR w celu wykrycia następujących genów oporności w tym dla:

- glikopeptydy: *vanA*, *vanB*, *vanD* – dipeptyd końcowy D-Ala-D-Lac; *vanC1*, *vanC2/C3*, *vanE*, *vanG* – dipeptyd końcowy D-Ala-D-Ser
- penicyliny: *pbp5* – zmiany w białkach PBP (*ang.* Penicilin Binding Protein), co skutkuje zmniejszonym powinowactwem tych białek do β -laktamów; *blaZ* – gen kodujący wytwarzanie enzymów hydrolizujących pierścień β -laktamowy w cząsteczce antybiotyku
- aminoglikozydy: *aph(3')-IIIa* - gen kodujący fosfotransferazę APH(3')IIIa modyfikującą kanamycynę; *ant(6)-Ia* - gen kodujący nukleotydylotransferazę ANT(6)-Ia modyfikującą streptomycynę
- tetracykliny: *tet(M)*, *tet(O)* - geny kodujące białka chroniące rybosomy przed działaniem tetracykliny; *tet(L)*, *tet(K)* - geny kodujące białka błony cytoplazmatycznej o charakterze pomp
- makrolidy: *erm(A)*, *erm(B)* - geny kodujące enzymy modyfikujące lek o aktywności metylazy; *msr(A/B)*, *msr(C)* - geny kodujące białka z rodziny transporterów ABC odpowiedzialne za aktywne wypompowywanie leku z komórki
- linkozamidy: *lnuA* - gen kodujący O-nukleotydylotransferazę modyfikującą antybiotyk.

Ważnym jest wykazanie przez dr Dagmarę Annę Stepień-Pyśniak w oparciu o analizę obecności poszczególnych genów (co może być istotne), że wśród izolatów *E. faecalis* pochodzących od ptaków dzikich w Polsce oporność na tetracykliny jest wynikiem obecności genów *tet(M)* i/lub *tet(L)*. Geny te wykryto u 85% izolatów opornych na tetracykliny. Żaden z badanych izolatów bakteryjnych nie posiadał genu *tet(K)* ani *tet(O)*. Podczas analizy wzorców genetycznej oporności stwierdzono, że geny *tet(M)* i *tet(L)* występowały zwykle jednocześnie i w tym samym szczepie z genem *erm(B)*. Gen *erm(B)* wykryto je u wszystkich opornych na erytromycynę szczepów *E. faecalis*, podczas gdy dwa z nich dodatkowo zawierały gen *erm(A)*, a jeden izolat posiadał także gen *msr(A/B)*. Obecność genu *msr(C)* nie została potwierdzona w żadnym z izolatów opornych na makrolidy. Żaden z opornych na linkomycynę izolatów bakteryjnych nie posiadał genu *lnuA*. Autorka wykazała także, że oporność fenotypowa na kanamycynę i streptomycynę u badanych izolatów *E. faecalis* warunkowana była obecnością odpowiednio genu *aph(3')-IIIa* i *ant(6)-Ia*. W pracy tej Habilitantka określiła zróżnicowanie genetyczne izolatów *E. faecalis*, wykazując, że oparta na sekwencjonowaniu genów metoda MLST cechowała się nieco mniejszą siłą dyskryminującą w porównaniu do typowania metodą PFGE, co wykazano przy pomocy

indeksu Simpsona. Typy sekwencyjne zostały poprawnie zdefiniowane i mogą być wykorzystane w laboratoriach na całym świecie. W badanych przez Autorkę izolatach *E. faecalis* stwierdzono 22 pulsotypy i 18 typów sekwencyjnych (ST), wśród których ustalonych zostało siedem nowych ST (ST748-ST753 i ST764). Cennym stwierdzeniem jest to, że nowe typy sekwencyjne u ptaków dzikich zostało znalezionych w pobliżu dużych aglomeracji miejskich co może być związane ze tzw. „zrzutem” pozostałości antybiotyków do środowiska. Typami sekwencyjnymi najczęściej występującymi były ST290, ST374, ST287 oraz ST34 podczas gdy pozostałych osiem ST wykryto tylko jednokrotnie (ST81, ST175, ST753, ST165, ST16, ST21, ST35, ST232). Typowanie metodą MLST wykazało, że badane szczepy *E. faecalis* nie są ze sobą powiązane, z wyjątkiem trzech par izolatów, oznaczonych jako ST81 i ST752, ST175 i ST753 oraz ST165 i ST748. Dr D. Stepień –Pyśniak w tych badaniach wykazała, że izolaty pochodzące od ptaków dzikich w Polsce były bardziej zróżnicowane w typowaniu PFGE, niż szczepy *E. faecalis* należące do tych samych ST lub CC, które były nieodróżnialne lub przynajmniej blisko spokrewnione (na co wskazują prace innych autorów). Analizując powiązania pulsotypowe pomiędzy izolatami wskazała nie tylko na wysoką plastyczność klonów enterokokowych i ich zdolności do ewolucji w wyniku transferu horyzontalnego różnych genów i ew. występujących mutacji ale na wynikające z tego trudności w dochodzeniach epidemiologicznych w odniesieniu do tych bakterii. Osiągnięciem własnym Autorki jest wykazanie, że niektóre z badanej puli szczepów *E. faecalis* od ptaków dzikich były wcześniej związane z zakażeniami u ludzi a dodatkowo występowały w przypadkach zapalenia wsierdza i posocznicy u drobiu. Oznacza to, że ptactwo dzikie może być źródłem *E. faecalis* w przypadku zakażeń u ludzi, zwierząt domowych i zwierząt w produkcji wielkotowarowej. Obecność licznych determinant oporności, zwłaszcza tych, które mogą być zlokalizowane na ruchomych elementach genetycznych, stanowi zagrożenie rozprzestrzeniania się lekooporności w obrębie bakterii tworzących mikrobiotę oraz pojawienie się patogenów kolonizujących m.in. przewód pokarmowy i środowiska, z udziałem ptaków dzikich.

Analizując czwartą (4) wskazaną w dziele publikację zatytułowaną „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, DOI 10.3382/ps/pex420 należy zauważyć nowatorskie wykorzystanie w oparciu o dobre warunki i zastosowanie metody LAMP w czasie rzeczywistym (real-time LAMP) do szybkiej i bardzo specyficznej identyfikacji *G. anatis* wyizolowanych od kur i indyków. Jest to pierwsze opracowanie na ten temat nie tylko w polskiej, ale również zagranicznej

literaturze naukowej w odniesieniu do bakterii *G. anatis*. Badając 120 izolatów terenowych tej bakterii Autorka ich identyfikację przeprowadziła w oparciu o technikę MALDI-TOF MS, konwencjonalnej techniki PCR, a w sytuacjach wątpliwych również sekwencjonowania opartego na genie *rpoB*. Określenie gatunkowe z wykorzystaniem LAMP w czasie rzeczywistym Autorka wykonała w oparciu o sekwencję genu *sodA* dla szczepu *G. anatis*. Wszystkie 120 izolatów terenowych *G. anatis* i szczep referencyjny *G. anatis* ATCC 43329 zostało poprawnie zidentyfikowanych za pomocą testu *G. anatis*-LAMP. Nie wykazano także znaczących różnic między bakteriami *G. anatis* za pomocą analizy krzywej topnienia, co sugerowało występowanie amplikonów o podobnej sekwencji, a tym samym że był to jeden gatunek bakterii, czyli *G. anatis*. Powyższe badania poza wartością naukową, mają również aspekt praktyczny i aplikacyjny, czego rezultatem było opracowanie bardzo czułego i specyficznego testu do identyfikacji *G. anatis*. Opracowany własny test z użyciem techniki LAMP w czasie rzeczywistym, w objętości 13 µl mieszany reakcyjnej, który jest mniej czasochłonny i mniej kosztowny niż ilościowy PCR został skomercjalizowany jako własny test diagnostyczny, który aktualnie dostępny jest w ofercie jednej z firm w kraju. Stanowi alternatywę dla bardziej czasochłonnych i kosztownych metod molekularnych, w tym sekwencjonowania, w czasie których wykonywano ekstrakcję DNA, amplifikację genu, oczyszczanie produktu PCR, elektroforezę w żelu agarozowym, etapy samego sekwencjonowania oraz analizę danych.

Publikacja piąta(5) zatytułowana *Staphylococcus simulans* associated with endocarditis in broiler chickens. *Avian Pathology*, 2017, 46, 44-51, DOI 10.1080/03079457.2016.1203392.

Z uwagi na fakt, iż aż 24 gatunki gronkowców było izolowanych od ptaków hodowlanych (a najczęściej były to *Staphylococcus cohnii*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus lentus*) istnieje wysokie ryzyko kontaminacji produktów pochodzenia zwierzęcego, a nawet niebezpieczeństwo zakażenia się ludzi pracujących z drobiem na różnych szczeblach produkcji. Jednym z tych zagrożeń jest wysoka oporność badanych bakterii na antybiotyki stosowane u drobiu, które należą do tych samych grup leków wykorzystywanych w terapii ludzi. Autorka po raz pierwszy w kraju (na świecie) wyizolowała, zidentyfikowała oraz scharakteryzowała *Staphylococcus simulans* jako czynnik etiologiczny *endocarditis* u kurcząt brojlerów. Do wystąpienia zapalenia wsierdza przyczyniła się w badanym stadzie prawdopodobnie obniżona odporność na skutek stresu wynikającego z upalnej i burzowej pogody podczas odchowu ptaków. W celu potwierdzenia poprawności identyfikacji izolowanej od ptaków bakterii *Staphylococcus simulans* z użyciem techniki MALDI-TOF Habilitantka zastosowała także sekwencjonowanie z wykorzystaniem odpowiednich

sekwencji genów *rpoB* i *dnaJ*. Ocena wybranych czynników wirulencji wykazała, że badane izolaty nie wytwarzały hemolizyny/cytolizyny, koagulazy i DNAzy, ale produkowały proteazy i zewnątrzkomórkowe polisacharydy (śluz). Przeprowadzona w pracy charakterystyka fenotypowa tego gatunku bakterii wnosi ważne dane w aspekcie potencjalnego zagrożenia dla zdrowia i życia ludzi. Uważa się, że zwierzęta są potencjalnym rezerwuarem gronkowców opornych na metycylinę. Wyizolowane przez Autorkę szczepy odporne były na metycylinę, rifampicynę, sulfadimetoksynę i sulfatiazol. Zatem można przyjąć, że istnieje realne zagrożenie przeniesienia zakażenia *S. simulans* (szczepy odporne) od drobiu na ludzi.

W końcowej części omówienia celu prac jak również uzyskanych wyników wraz z omówieniem Habilitantka wymieniła szereg bardzo istotnych wniosków. Sprowadzają się one do zrozumienia roli zakażeń z rodzaju *Enterococcus* i *Staphylococcus* oraz bakterii *Gallibacterium anatis* u drobiu, skali zagrożeń jakie stanowią enteropatie/enterotoksemie przez nich wywoływane ale także co bardzo istotne zrozumienie mechanizmów wirulencji i antygenowości szczepów oraz mechanizmów nabierania oporności z udziałem populacji ptaków wolnożyjących. Dodatkowo badania te przybliżają nas do wiedzy o roli i znaczeniu bakteriofagów, która to mogą stanowić nowy oręż w ograniczaniu i eliminowaniu zakażeń jako alternatywa do obecnie mocno eksponowanej konieczności ograniczania stosowania antybiotykoterapii oraz innych alternatywnych metod podnoszących zdrowotność drobiu.

Reasumując monotematyczny cykl 5 prac doświadczalnych pt. „**Zastosowanie fenotypowych i molekularnych metod w identyfikacji i charakterystyce wybranych patogenów oportunistycznych izolowanych od ptaków**” przedstawiony do oceny należy podkreślić, że jest osobistym osiągnięciem Habilitantki o dużym i ważnym znaczeniu oraz Jej niekwestionowanym wkładem w rozwój nauk weterynaryjnych w dziedzinie patologii zwierząt (szczególnie u drobiu w produkcji wielkotowarowej). Nie jest również bez znaczenia dla zdrowia konsumentów produktów drobiarskich i zdrowia ludzi oraz spełnia on wszystkie kryteria ustawowe szczególnego osiągnięcia naukowego stanowiącego podstawę o ubieganie się o nadanie stopnia naukowego dr hab. nauk wet. w świetle wymaganych prawem przepisów.

Ocena pozostałych osiągnięć naukowo – badawczych

Analiza pozostałych osiągnięć naukowych dr Dąmmary Anny Stepień-Pyśniak stanowi cenne źródło wiedzy o całej karierze naukowej, paście zainteresowań naukowych i osiągniętych wynikach badań. Były one uwarunkowane zakresem tematyki naukowej jaką na przestrzeni lat kreowano w jej macierzystej Katedrze. Habilitantka w swoich badaniach w

ramach ocenianego zakresu tematycznego była też żywo zainteresowana potrzebą rozwoju zagadnień z zakresu patologii drobiu w produkcji wielkotowarowej co łączy się szczególnie w ostatnich latach z bardzo dynamicznym rozwojem tej produkcji zwierzęcej. Poza pracami stanowiącymi osiągnięcie naukowe Habilitantka brała udział w realizacji innych badań naukowych.

Główne kierunki tych badań obejmują takie zagadnienia jak:

- problematykę diagnostyki izolowanych od ptaków i ludzi bakterii o nietypowych właściwościach biochemicznych
- epidemiologia zakażeń u drobiu oraz analiza czynników wirulencji bakterii z rodzaju *Staphylococcus* groźnych także dla ludzi w której porównano identyfikację wybranych izolatów bakterii wyosobnionych od ptaków hodowlanych oraz ludzi w oparciu o rutynowo stosowane metody diagnostyczne i technikę MALDI-TOF MS.
- wykorzystanie metod fizyko-chemicznych do oceny adhezji enterokoków
- ocena lekowrażliwości wybranych bakterii kolonizujących przewód pokarmowy u ptaków
- alternatywne metody kontrolowania zakażeń u ptaków hodowlanych
- występowanie i zróżnicowanie mikrobioty układu oddechowego organizmu ludzkiego
- opis przypadków klinicznych.

Zakres działalności naukowej dr Dągmary Anny Stepień-Pyśniak charakteryzuje się dużą różnorodnością tematyczną obejmującą epidemiologię i rolę różnych czynników bakteryjnych w patologii drobiu, opracowaniem i wdrażaniem technik diagnostycznych i terapii drobiu (antybiotykoterapii) a także w opracowaniu alternatywnych metod kontrolowania zakażeń bakteryjnych u drobiu co zmierza do ograniczenia stosowania antybiotyków oraz modyfikacji czynników żywieniowych (suplementacji diety) u drobiu i ich wpływu na jego zdrowotność i parametry odporności. Całość, w miarę jednak spójnych zainteresowań naukowych Habilitantki w okresie około 16-tu lat pracy naukowej, można skupić w obszary tematyczne takie jak:

- techniki diagnostyczne w rozpoznawaniu i zwalczaniu chorób bakteryjnych i ukierunkowania terapeutyczne (wdrożenie szeregu nowoczesnych technik diagnostycznych i opracowanie własnego testu skomercjalizowanego).

- występowanie, charakterystyka i ocena właściwości antygenowych patogenów bakteryjnych w zakażeniach u drobiu oraz innych ptaków (ozdobnych i wolnożyjących) a w szczególności rola zakażeń pałeczkami *Salmonella* spp., metody wykrywania i identyfikacji oraz transmisja pałeczek *Salmonella* z uwzględnieniem antybiotykoterapii

- występowanie, charakterystyka i ocena właściwości antygenowych bakterii oportunistycznych w zakażeniach u drobiu oraz innych ptaków (ozdobnych i wolnożyjących)
- oceny adhezji enterokoków z wykorzystaniem metod fizyko-chemicznych, co dotyczyło głównie badań nad oceną wpływu fizyko-chemicznych właściwości powierzchni komórek *E. faecalis* wyizolowanych z serc jednodniowych piskląt brojlerów kurzych niewykazujących objawów klinicznych choroby na zdolność do tworzenia biofilmu z uwzględnieniem obecności genetycznych determinant zjadliwości i znaczenia potencjału elektrokinetycznego w pierwszym etapie patogenezы *Enterococcus faecalis*.
- oceny lekowrażliwości wybranych bakterii kolonizujących przewód pokarmowy u ptaków hodowlanych oraz wolnożyjących, w kontekście ewentualnego zagrożenia rozwoju i rozprzestrzeniania oporności, w tym wśród bakterii patogennych zarówno dla ptaków jak i dla ludzi. W badaniach tych wykazano np. , że gołębie sportowe oraz dziko żyjące są nosicielami głównie *C.jejuni* a izolaty tego patogenu odznaczały się wysoką częstotliwością występowania oporności na makrolidy, streptomycynę, tetracykliny i penicyliny, ograniczając tym samym możliwości terapeutyczne w przypadkach zakażeń tymi drobnoustrojami ludzi czy zwierząt. Udowodniono również, że przewód pokarmowy kurcząt brojlerów i indyków stanowi źródło wieloopornych *Lactobacillus* spp.
- ocena złożonego wpływu suplementacji żywieniowych substancjami probiotycznymi a także innymi substancjami naturalnymi (działanie dietetyczno-terapeutyczne) oraz zastosowanie alternatywnych dla antybiotyków metod zwalczania zakażeń u ptaków na wybrane parametry odpornościowe organizmu ptaków (humoralne i komórkowe), zdrowotność oraz na efekty produkcyjne u drobiu.

Badania które prowadziła i w których uczestniczyła Habilitantka w zakresie tego ostatniego obszaru były związane także z izolacją oraz charakterystyką bakteriofagów swoistych dla szczepów *Campylobacter* spp. izolowanych od drobiu. Wymiernym efektem tych badań jest zaakceptowana do druku publikacja w czasopiśmie znajdującym się w bazie JCR.

Efektom prowadzonych we wszystkich wymienionych powyżej obszarach badań Habilitantki były wydane drukiem publikacje (23) w czasopismach z listy JCR posiadających Impact Factor (IF) w oraz 605 punktów MNiSW, wykazanych w autoreferacie (Załącznik nr 2a do wniosku), co daje łączny współczynnik wpływu 30,834 i 649 punktów ministerstwa MNiSW. Łącznie habilitantka opublikowała 42 publikacji których tematyka dotyczyła prowadzonej aktywności naukowej. Składają się one na tematyczne dzieło (5 publikacji) o współczynniku wpływu (IF) od 0,814 do 2,216 (sumaryczny IF 7,981)- 150 pkt MNiSW oraz

pozostałe 37 publikacji w tym 18 z listy JCR, 11 artykułów nie posiadających IF, 7 popularno-naukowych i 1 rozdział w monografii (Zał. Nr 3 , IIA1, IID1 i 2).

Habilitantka w swoich badaniach w ramach ocenianego zakresu tematycznego potrafiła efektywnie współpracować z innymi badaczami (nie zajmującymi się patologią drobiu) a dotyczącymi występowania i zróżnicowania mikrobioty układu oddechowego organizmu ludzkiego. Dzięki nawiązanej współpracy międzyuczelnianej, zwłaszcza z Katedrą i Zakładem Mikrobiologii Farmaceutycznej z Pracownią Diagnostyki Mikrobiologicznej, Uniwersytetu Medycznego w Lublinie, prowadzi badania nad rolą drobnoustrojów zasiedlających różne ekosystemy organizmu ludzkiego i tworzących ich mikrobiotę, w tym bakterii należących do rodziny *Pasteurellaceae* oraz innych rodzin i gatunków o zróżnicowanym potencjale patogennym dla ludzi. Mikroorganizmy te, w tym pałeczki *Pasteurellaceae*, które należą do mikroorganizmów wybrednych o dużych wymaganiach wzrostowych, stanowią ważne składniki mikrobioty gospodarza. Większość badań koncentruje się na mikrobiocie oddechowej osób zdrowych i pacjentów z chorobami przewlekłymi. Dotychczasowe wyniki badań nad mikrobiotą pacjentów z chorobami przewlekłymi i osób zdrowych opublikowano w postaci 3 publikacji w czasopismach znajdujących się w wykazie A i B MNiSW oraz jako 4 komunikaty przedstawiono na konferencyjnych krajowych i międzynarodowych. Wspólnie z naukowcami z Instytutu Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego PAN w Lublinie podjęła badania nad oceną wpływu fizyko-chemicznych właściwości powierzchni komórek *E. faecalis* wyizolowanych z serc jednodniowych piskląt brojlerów kurzych niewykazujących objawów klinicznych choroby na zdolność do tworzenia biofilmu z uwzględnieniem obecności genetycznych determinant zjadliwości.

Inne osiągnięcia, nie wymienione w pkt. IIIA-III P.

Dr. Dagmara Anna Stepień-Pyśniak jest specjalistą w dziedzinie- Choroby drobiu i ptaków ozdobnych. Dyplom specjalisty został wydany przez Komisję ds. Specjalizacji Lekarzy Weterynarii, Weterynaryjne Centrum Kształcenia Podyplomowego dyplom nr 5/362/2013 z dnia 07.12.2013r.

Podsumowując dotychczasowy bardzo owocny okres działalności naukowej Habilitantki, należy podkreślić Jej duże zaangażowanie w dziedzinie patologii drobiu zarówno na poziomie badań oceniających szeroko wpływ poszczególnych patogenów bakteryjnych na zdrowie drobiu i wynikających z tego ew. zagrożeń zoonotycznych dla ludzi, bezpieczeństwa żywnościowego produktów drobiarskich ale także w zakresie wybranych aspektów antybiotykoterapii z uwzględnieniem narastania oporności na leki stosowane w

medycynie ludzkiej. Dodatkowo należy wskazać wkład Habilitantki w stan wiedzy dotyczącej podniesienia ogólnej zdrowotności drobiu opartej o analizę odporności humoralnej i komórkowej po suplementacji alternatywnej jego diety śladowymi pierwiastkami i innymi naturalnymi substancjami.

Wskazując na wysokie ale też równe zaangażowanie jakiemu poświęciła się Habilitantka w pracy nauko-badawczej osiągając przy tym istotne wyniki badań udokumentowane znaczącymi pozycjami bibliograficznymi, zarówno pod względem ich jakości, jak też liczby, jej udziałem w licznych konferencjach naukowych, interesującymi możliwościami współpracy badawczej jej dorobek oceniam wysoko.

Dotychczasowy dorobek dr Dąmmary Anny Stepień-Pyśniak (*vide tabela w autoreferacie*) obejmuje w sumie 77 pozycje (z tego 5 prac stanowiących tematyczny cykl publikacji składających się na szczególne osiągnięcie naukowe) i 72 pozostałych publikacji). W tej liczbie współautorstwo 42 publikacji, w tym 23 prac oryginalnych opublikowanych w czasopismach z listy filadelfijskiej, 18 artykułów w czasopismach spoza tej listy. Habilitantka jest w 15 publikacjach pierwszym autorem. Dodatkowo wykazuje współautorstwo 35 komunikatów zjazdowych prezentowanych na konferencjach krajowych i międzynarodowych oraz aktywny udział w 10 konferencjach naukowych. Habilitantka była recenzentką manuskryptów dla redakcji czasopism naukowych z listy A i B MNiSW (w tym w czasopismach angięzycznych) oraz recenzję rozdziału w monografii.

Łączny sumaryczny Impact factor tych publikacji wg listy Journal Citation Reports (JCR), zgodnie z rokiem opublikowania wynosi **30,834**

Łączna sumaryczna punktacja MNiSW za te publikacje **649,0** pkt

Liczba cytowań publikacji wg bazy Web of Science (WoS) wynosi **60**

Index Hirsha według bazy Web of Science (WoS) wynosi **4**.

Przed uzyskaniem stopnia doktora nauk weterynaryjnych lek. wet. Dąmmary Anna Stepień-Pyśniak, opublikowała 2 prace oraz 3 publikacje popularno naukowe. Jeśli dokonamy porównania aktywności publikacyjnej Kandydatki na dra habil. przed (ogółem 5 prac) i po uzyskaniu stopnia naukowego doktora n. wet. to widać znaczący postęp w tej aktywności bowiem opublikowanie 40 prac w tym drugim etapie rozwoju naukowego stanowi wielokrotny wzrost tej liczby (z czego 23 prace znalazło się na liście JCR jako oryginalne o łącznym IF 30,834). Ranga tych czasopism w których opublikowano ponad połowę prac oryginalnych świadczy o wysokiej jakości prowadzonych przez Habilitantkę badań i o uzyskanych istotnych wynikach. Habilitantka w okresie po doktoracie prezentowała

część wyników z prowadzonych przez nią badań na konferencjach naukowych (Naukowe Konferencje Drobiarskie)- 32 komunikaty. Podsumowując liczne aktywności naukowe w jakie była dotychczas zaangażowana Habilitantka wpisywały się najczęściej w aktualną problematykę badawczą Jej rodzimej jednostki naukowej, jednak nie przesłoniły dr Dagmarze Stepień-Pyśniak horyzontu naukowego związanego z tematyką dotyczącą epidemiologii zakażeń i roli bakterii oportunistycznych w patologii drobiu a głównie na określeniu ich oporności na antybiotyki, wirulencji w oparciu o ich cechy fenotypowe i genotypowe, czemu się szczególnie poświęciła.

Kształcenie kadry naukowej

Kandydatka 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” realizowanej w Katedrze i Zakładzie Mikrobiologii Farmaceutycznej z Pracownią Diagnostyki Mikrobiologicznej, Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego w Lublinie (Zał. Nr 4, K1).

Była opiekunem naukowym i promotorem jednej pracy inżynierskiej pt. „Znaczenie bakterii z rodzaju *Enterococcus*” na kierunku Biotechnologia Wydziału Nauk o Żywności i Biotechnologii UP w Lublinie, (inż. Kamila Jaworskiego), (Zał. Nr 4, J).

Obecnie sprawuje opiekę naukową w charakterze promotora pomocniczego w kolejnej pracy doktorskiej lek. wet. Jarosława Wilczyńskiego pt. „Charakterystyka molekularna czynników wirulencji oraz lekowrażliwość szczepów *Escherichia coli* (APEC) izolowanych od drobiu na terenie Polski zachodniej” realizowanej w Zakładzie Prewencji Weterynaryjnej i Chorób Ptaków na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej UP w Lublinie (Zał. Nr 4, K2).

W zakresie dorobku dydaktycznego i popularyzatorskiego

Habilitantka recenzowała manuskrypty dla czasopism międzynarodowych znajdujących się w bazie JCR (Avian Pathology, Journal of Wildlife Diseases, Environmental Microbiology) a także kilkakrotnie dla czasopisma krajowego znajdującego się w wykazie B MNiSW (Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences) oraz rozdziału w monografii dla Fundacji na rzecz promocji nauki i rozwoju Tygiel. W ramach działalności popularyzującej naukę jest współautorką siedmiu publikacji o tematyce związanej z patologią drobiu (Zał. nr 3, IID3).

Działalność dydaktyczna

Habilitantka, przez cały okres zatrudnienia tj. od 2003 r. do chwili obecnej, w ramach działalności dydaktycznej prowadzi zajęcia z patologii drobiu i ptaków ozdobnych ze

studentami na Wydziale Med. Wet. UP w Lublinie, co obejmuje tematykę „Choroby ptaków” oraz „Choroby ptaków –staż” a dodatkowo w ramach Zakładu Prewencji Weterynaryjnej i Chorób Ptaków, Instytutu Biologicznych Podstaw Chorób Zwierząt, Wydziału Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie jest osobą współodpowiedzialną za powyższe przedmioty i realizację programu wykładów. Uczestniczy również w prowadzeniu przedmiotów fakultatywnych „Choroby ptaków ozdobnych” oraz „Chów i choroby ptaków bezgrzebieniowych”. Dodatkowo jest osobą odpowiedzialną za przygotowanie oraz realizację przedmiotu „Choroby ptaków ozdobnych”. W ramach programu Erasmus prowadziła wykłady pt. „Mechanisms of bacteria resistance to antibiotics. Types of intrinsic and acquired antibiotics resistance in *Enterococcus*” w języku angielskim dla słuchaczy studiów podyplomowych w Uniwersytecie w Pizie (Włochy) (Zał. Nr 4, I).

Jest członkiem minimum kadrowego nowego kierunku „Analityka weterynaryjna” powstałego na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej UP w Lublinie gdzie jest odpowiedzialna za przedmiot „Procedury laboratoryjne w diagnostyce chorób ptaków”.

Pewien niedosyt uwidaczniający się po analizie kariery naukowej Habilitantki może wynikać z ograniczonej możliwości odbycia (udziału) staży, szczególnie zagranicznych co w powszechnym odbiorze ma istotny wpływ na rozwój młodego naukowca a były one z reguły bardzo krótkoterminowe - pewnie ograniczone były różnymi czynnikami. Można mieć także uwagi co do staranności przygotowania autoreferatu (dość liczne literówki) czy nafortunne sformułowania jak: „patomechanizm chorób oportunistycznych”- to chodzi o mikroorganizmy oportunistyczne a nie choroby . Jest to jednak luźna uwaga Recenzenta i w żaden sposób nie umniejsza poziomowi i efektywności prowadzonych badań w ramach prac składających się na dzieło przedłożone we wniosku habilitacyjnego. Świadczy to dodatkowo pozytywnie o osobie Habilitantki albowiem stanowi przykład możliwości osiągnięcia celu naukowego także bez powyżej wspomnianych uwarunkowań.

Wniosek końcowy

Analiza przedłożonego do oceny dorobku naukowego **dr Dagmary Anny Stepień-Pyśniak**, w tym monotematycznego cyklu publikacji jako tzw. „osiągnięcie naukowe”- stanowiące znaczący wkład Kandydatki w rozwój nauk weterynaryjnych, upoważnia mnie do stwierdzenia, że Jej osiągnięcia spełniają kryteria określone w art.16 ust. 2 ustawy z dn. 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule naukowym w zakresie sztuki (Dz. U. 65. poz. 595 ze zmianami Dz. U 2005 r nr 164.poz. 1365 Dz. U. z 2010 r. nr.96 poz. 620 i nr 182 poz. 1228 oraz Dz. U. z 2011 r. nr 84 poz. 455), a także w Rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 1 marca 2011 r. w sprawie

kryteriów oceny osiągnięć osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego (Dz. U. nr 196, poz. 1165).

Wniosuję więc o podjęcie dalszych czynności w postępowaniu o nadanie **dr n. wet. Dąmmary Anny Stepień-Pyśniak** stopnia naukowego doktora habilitowanego nauk weterynaryjnych.

Dr hab. Grzegorz Tomczyk,
profesor nadzwyczajny

