

Olsztyn, 5.04.2017 r.

dr hab. Aleksandra Platt-Samoraj, prof. UWM
Katedra Epizootiologii
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

RECENZJA

osiągnięć, dorobku naukowego, dydaktycznego i organizacyjnego

dr n. wet. Anety Małgorzaty Nowakiewicz

w związku z postępowaniem w sprawie nadania stopnia naukowego doktora habilitowanego oraz powołaniem na recenzenta przez Centralną Komisję do Spraw Stopni i Tytułów pismem z dnia 6 marca 2017 r. (W. Dz. 532-1/2016-2017)

1. Informacje ogólne o Kandydatce

Dr n. wet. Aneta Małgorzata Nowakiewicz ukończyła studia i uzyskała tytułu lekarza weterynarii na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej Akademii Rolniczej w Lublinie w 2001 r. Swoją działalność zawodową rozpoczęła już w 2000 r. związała z Zakładem Mikrobiologii Weterynaryjnej Instytutu Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych macierzystego Wydziału.

Stopień naukowy doktora nauk weterynaryjnych, specjalność - mikrobiologia weterynaryjna uzyskała w dniu 20 września 2005 r. na podstawie rozprawy doktorskiej pt. „Współczesne metody różnicowania diagnostycznego szczepów *Malassezia* izolowanych z przypadków klinicznych” wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. Grażyny Ziółkowskiej. W latach 2005 – 2006 dr Aneta Nowakiewicz zatrudniona była w Zakładzie Mikrobiologii Weterynaryjnej, Instytutu Biologicznych Podstaw Chorób Zwierząt na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej, AR w Lublinie jako asystent a od roku 2006 do chwili obecnej jako adiunkt (od 2008 r. na Uniwersytecie Przyrodniczym w Lublinie).

2. Ocena osiągnięć naukowo-badawczych

2.1. Formalna ocena dorobku naukowego

Dorobek naukowy dr A. Nowakiewicz, zgodnie z przedstawioną dokumentacją, która została starannie przygotowana, obejmuje łącznie 51 pozycji, w tym 5 prac oryginalnych wchodzących w skład cyklu jednotematycznego, wskazanego przez Kandydatkę jako osiągnięcie naukowe stanowiące podstawę postępowania habilitacyjnego, 33 inne prace oryginalne obejmujące 14 prac z bazy Journal Citation Reports (JCR), jedną publikację znajdującą się w recenzowanych materiałach z konferencji międzynarodowej opublikowaną w czasopiśmie z listy JCR i 18 prac spoza listy JCR oraz 13 doniesień na krajowe konferencje naukowe.

W grupie prac z listy JCR prawie wszystkie prace (12 z 14) zostały opublikowane w języku angielskim w czasopismach o zasięgu międzynarodowym i współczynniku wpływu (IF) od 0,285 do 2,332 – takich jak Canadian Journal of Microbiology, Research in Veterinary Science, Poultry Science, Journal of Wildlife Diseases, Mycoses, Letters in Applied Microbiology, Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases, PLoSOne, oraz w polskich indeksowanych czasopismach, takich jak Polish Journal of Veterinary Sciences, Acta Poloniae Pharmaceutica, Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy oraz Medycyna Weterynaryjna.

Pozostałe prace, spoza listy JCR, zostały opublikowane głównie w języku polskim w Magazynie Weterynaryjnym, Medycynie Weterynaryjnej, Mikologii Lekarskiej ale też w Central European Journal of Immunology, Annales UMCS, co oczywiście nie umniejsza ich wartości, ponieważ prace takie stanowią bardzo ważne popularyzatorskie źródło informacji dla lekarzy praktyków zarówno weterynarii jak i medycyny.

Większość opublikowanych prac, tj. 30 z 33 (90,9%), w tym 12 z listy JCR, 17 spoza tej listy oraz 12 z 13 doniesień (92,3%) opublikowano po uzyskaniu stopnia doktora n. wet., co dowodzi znacznego powiększenia dorobku naukowego po ostatnim awansie zawodowym. W 8 z 33 (24,2%) prac w tym 5 (35%) z listy JCR i 3 (16%) spoza tej listy Kandydatka jest pierwszym autorem oraz w 3 (21,4%) pracach z listy i 5 (27,8%) spoza listy jest drugim autorem. W przypadku doniesień naukowych w 6 z 13 (46,2%) kandydatka jest pierwszym, a w 4 (30,8%) drugim autorem. Dane te oraz opisy procentowego wkładu autorskiego kandydatki świadczą o Jej zaangażowaniu w powstawaniu tych publikacji.

Sumaryczny IF według listy JCR publikacji dr n. wet. Anety Nowakiewicz wraz z publikacją materiałów zjazdowych znajdującą się w recenzowanym czasopiśmie wynosi 33,393. Ogólna liczba punktów wynosi 547,4 za publikacje + 15 za publikację materiałów zjazdowych znajdującą się w recenzowanym czasopiśmie – łącznie 562,4, w tym za publikacje z pierwszym autorstwem odpowiednio IF 8,328 i 165 pkt. Liczba cytowań podana w autoreferacie wynosi 47 (styczeń 2017), (liczba cytowań bez autocytowań 42) a indeks Hirscha 4.

Analizując liczbę publikacji oryginalnych (33 prace), której Habilitanta jest głównym autorem (8 prac) lub współautorem nasuwa się refleksja, że nie jest to liczba bardzo wysoka, jednakże sumaryczny impact factor oraz sumę uzyskanych punktów MNiSW (IF 29,997 i 547,4 pkt) można uznać za w pełni wystarczające.

2.2. Ocena osiągnięcia naukowego będącego przedmiotem postępowania habilitacyjnego.

Podstawę wszczęcia postępowania habilitacyjnego dr n. wet. Anety Nowakiewicz stanowi cykl pięciu powiązanych tematycznie publikacji pod wspólnym tytułem „Fenotypowa i genotypowa analiza oporności szczepów *Enterococcus* spp. w aspekcie gatunku drobnoustroju i źródła pochodzenia”, przedstawiony przez habilitantkę jako osiągnięcie naukowe wynikające z art. 16 ust. 2 z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2003 r., Nr 65, poz. 595 ze zm.). W skład cyklu wchodzi następujące prace oryginalne opublikowane w latach 2014 – 2017:

1. **Nowakiewicz A.,** Ziółkowska G., Zięba P., Kostruba A.: Undomesticated animals as a reservoir of multidrug resistant *Enterococcus* in Eastern Europe. JOURNAL OF WILDLIFE DISEASES. 2014; 50(3): 645-650.
2. **Nowakiewicz A;** Ziółkowska, G; Zięba, P; Trościańczyk, A; Banach, T; Kowalski, C.: Modified 16S-23S rRNA intergenic region restriction endonuclease analysis for species identification of *Enterococcus* strains isolated from pigs, compared with identification using classical methods and matrix-assisted laser desorption/ ionization time of flight mass spectrometry. JOURNAL OF MEDICAL MICROBIOLOGY. 2015; 64: 217-223.

3. **Nowakiewicz A., Ziółkowska G., Trościańczyk A., Zięba P., Gnat S.:** Determination of resistance and virulence genes in *Enterococcus faecalis* and *E. faecium* strains isolated from poultry and their genotypic characterization by ADSRRS-fingerprinting. POULTRY SCIENCE (po raz pierwszy opublikowany online 4 października 2016) doi.:10.3382/ps/pew365.
4. **Nowakiewicz A., Ziółkowska G., Trościańczyk A., Zięba P., Gnat S.:** Determination of antimicrobial resistance of *Enterococcus* strains isolated from pigs and their genotypic characterization by method of amplification of DNA fragments surrounding rare restriction sites (the ADSRRS-fingerprinting). JOURNAL OF MEDICAL MICROBIOLOGY (po raz pierwszy opublikowany online 28 listopada 2016) doi.: 10.1099/jmm.0.000400.
5. **Nowakiewicz A., Ziółkowska G., Zięba P., Gnat S. Trościańczyk A., Adaszek Ł.:** Characterization of multidrug resistant *E. faecalis* strains from pigs of local origin by ADSRRS-fingerprinting and MALDI -TOF MS; evaluation of the compatibility of methods employed for multidrug resistance analysis. PLoSOne 12(1): e0171160. doi:10.1371/journal.pone.0171160.

Wszystkie prace przedstawionego cyklu zostały opublikowane w języki angielskim w wysoko punktowanych czasopismach z listy JCR. Sumaryczny IF tych prac wynosi 10,635, a łączna liczba punktów według listy Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego – 145 pkt. We wszystkich publikacjach stanowiących osiągnięcie naukowe Kandydatka jest pierwszym autorem, a jej wkład w powstanie prac oceniony jest na 85% w czterech i na 80% w jednej pracy. Stanowi to dowód zdecydowanie pierwszoplanowej roli Habilitantki w opracowaniu koncepcji i planu badań, określeniu celów i wyborze metodyki badawczej, wykonaniu oznaczeń i przeprowadzeniu analiz, interpretacji wyników badań, wyciągnięciu wniosków oraz napisaniu manuskryptu i przygotowaniu go do druku, co zostało potwierdzone przez pozostałych współautorów w stosownych oświadczeniach.

Tematyka przedstawionych publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe jest merytorycznie spójna. Wspólnym mianownikiem prac są identyfikacja, różnicowanie i ocena lekooporności szczepów *Enterococcus* u zwierząt wolnożyjących, egzotycznych i hodowlanych.

Celem prowadzonych w ramach osiągnięcia naukowego badań było:

- opracowanie prostej, powtarzalnej i wiarygodnej metody identyfikacji

gatunków *Enterococcus* najczęściej izolowanych od zwierząt z uwzględnieniem gatunków najbardziej istotnych epidemiologicznie

- określenie zróżnicowania gatunkowego i oporności fenotypowej szczepów

Enterococcus

- analiza geno-profilu oporności i wirulencji u szczepów izolowanych od drobiu i trzody chlewnej

- dobór i standaryzacja warunków molekularnej metody typowania

lekoopornych szczepów *Enterococcus*; analiza i ocena korelacji fenotypowych

profilu oporności z genotypami uzyskanymi metodą ADSRRS-fingerprinting i

profilami proteomicznymi uzyskanymi metodą MALDI-TOF MS

Problem, którego podjęła się Habilitantka jako podstawy osiągnięć naukowych jest ważny i aktualny. Bakterie z rodzaju *Enterococcus* z jednej strony stanowią istotny element naturalnej flory jelitowej u ludzi i zwierząt, z drugiej strony są trzecią co do częstości występowania przyczyną zakażeń szpitalnych na całym świecie. Dodatkowo sytuację komplikuje fakt, że drobnoustroje te łatwo nabywają oporności na wiele środków przeciwbakteryjnych.

Badania opisywane w cyklu artykułów są bardzo szerokie, kompleksowe, dobrze zaplanowane a ich wyniki odpowiednio zinterpretowane.

Przeprowadzając analizę gatunkową stosunkowo dużej puli szczepów *Enterococcus* Habilitantka opracowała i wystandaryzowała własną metodykę identyfikacji gatunkowej opartą o analizę restrykcyjną regionu 16S-23S rRNA cechującą się wysoka dokładnością, powtarzalnością wyników i stosunkowo krótkim czasem wykonania. Istotną zaletą opracowanego rozwiązania jest również możliwość identyfikacji dziewięciu gatunków *Enterococcus* najczęściej izolowanych od zwierząt (*E. faecium*, *E. faecalis*, *E. durans*, *E. hirae*, *E. avium*, *E. columbae*, *E. casseliflavus*, *E. gallinarum*, *E. thailandicus*) w tym również tych, które stanowią potencjalne zagrożenie dla zdrowia publicznego. W przeprowadzonych badaniach wykazano, że u różnych gatunków zwierząt dominują różne gatunki *Enterococcus*, u świń był to *E. faecium*, u bydła *E. casseliflavus*, *E. mundtii* i *E. hirae* oraz izolowane z mleka *E. faecalis*, u drobiu *E. faecium* a u zwierząt wolno żyjących *E. faecalis*. Analiza fenotypowa profili oporności szczepów *Enterococcus*, ze szczególnym uwzględnieniem *E. faecalis* i *E. faecium* wykazała, że w przypadku drobiu, świń i bydła, najczęściej notowano oporność na erytromycynę i tetracyklinę oraz wysokie stężenie kanamycyny i streptomycyny. U zwierząt wolno żyjących i egzotycznych dominowały natomiast szczepy odporne na fluorochinolony i rifampicynę. Wykazano również, że pochodzące od świń izolaty odporne na tylozynę cechowały się w każdym przypadku

krzyżową opornością na erytromycynę, a oporności na enrofloksacynę towarzyszyła niewrażliwość na ciprofloksacynę. Poza tym wykazano znacząco wysoki odsetek szczepów klasyfikowanych jako wielolekooporne, również w puli szczepów izolowanych od zwierząt wolno żyjących. Wykazano też, że jedno zwierzę może być nosicielem kilku odrębnych klonów należących do tego samego gatunku *Enterococcus* zróżnicowanych pod względem oporności, w tym również dwóch- lub trzech różnych klonów szczepów wielolekoopornych.

Wykazany w badaniach typ i zakres oporności fenotypowej szczepów *Enterococcus* został potwierdzony w badaniach molekularnych obecnością przynajmniej jednego specyficznego genu determinującego określony typ oporności. Wśród najczęściej wykrywanych genów, większość stanowiły molekularne determinanty obecne również u wysoce opornych szczepów izolowanych z przypadków infekcji szpitalnych, zarówno w Polsce jak i na świecie. Wykazano również wysoki stopień korelacji fenotypowych profili oporności badanych szczepów z ich genotypowymi profilami uzyskanymi metodą ADSSRS-fingerprinting potwierdzając tym samym przydatność wyżej wymienionej metody w epidemiologicznych analizach porównawczych wielolekoopornych szczepów *Enterococcus*, oraz że technika MALDI-TOF MS stanowi znakomite i wiarygodne narzędzie identyfikacji gatunkowej szczepów *Enterococcus*.

Podsumowując jednotematyczny cykl publikacji, którego pierwszym i dominującym autorem jest dr n. wet. Aneta Nowakiewicz, będący podstawą wszczęcia postępowania o nadanie stopnia doktora habilitowanego, należy stwierdzić, że stanowi on w pełni oryginalne, wielowątkowe, kompleksowe opracowanie, dotyczące identyfikacji, różnicowania oraz fenotypowej i genotypowej analizy oporności szczepów *Enterococcus* spp. u różnych gatunków zwierząt z zastosowaniem nowoczesnych technik badawczych. Przeprowadzone badania mają duże znaczenie poznawcze poszerzające aktualny stan wiedzy w tym zakresie, jak również znaczenie aplikacyjne w badaniach diagnostycznych i analitycznych dotyczących oceny oporności antybiotykowej drobnoustrojów, wnoszą zatem istotny wkład w rozwój nauk weterynaryjnych.

2.2. Ocena pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

Dotychczasowa działalność naukowo-badawcza dr Anety Nowakiewicz była ściśle związana z miejscem pracy w Zakładzie Mikrobiologii Weterynaryjnej macierzystego Wydziału i obejmowała różne zagadnienia związane z identyfikacją drobnoustrojów bakteryjnych i grzybiczych, procesami dotyczącymi zakażeń oportunistycznych oraz zjawiskami lekooporności patogenów odzwierzęcych. W okresie studiów doktoranckich

tematyka badań dotyczyła zakażeń oportunistycznych wywoływanych przez grzyby z rodzaju *Malassezia*. Badania obejmowały analizę problemów diagnostycznych, opracowanie metod identyfikacji gatunkowej oraz analizę potencjalnych markerów patogenności *Malassezia pachydermatis*. Rezultatem badań była rozprawa doktorska obroniona w 2005 r. oraz 7 prac oryginalnych i 4 doniesienia konferencyjne.

Kolejny obszar badawczy Habilitantki dotyczył alternatywnych metod terapeutycznych w stosunku do wybranych gatunków grzybów drożdżopodobnych i bakterii, w tym analizy aktywności przeciwdrobnoustrojowej antywitamin, antymetabolitów i ekstraktów roślinnych. Efektem badań były 2 prace oryginalne.

Poza wyżej wymienioną tematyką badawczą Habilitantka uczestniczyła w badaniach nad zjawiskami oporności drobnoustrojów, w tym w badaniach nad problemami związanymi z określaniem wrażliwości grzybów pleśniowych na preparaty przeciwgrzybiczne, oraz oporności fenotypowej i genotypowej bakterii z rodzaju *Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp., *E. coli*, *Aeromonas* spp. izolowanych od zwierząt wolno żyjących. Wyniki tych badań zostały zawarte w 5 pracach oryginalnych oraz w formie publikacji konferencyjnych.

Osobny obszar aktywności naukowej dotyczył badań nad rolą zwierząt wolno żyjących i egzotycznych jako potencjalnego rezerwuaru drobnoustrojów stanowiących zagrożenie zdrowia publicznego. Przeprowadzono badania lisów, kun, szopów, jeleni i żółwi w kierunku nosicielstwa bakterii z rodzaju *Salmonella* spp, *Yersinia* spp, *Listeria* spp, enteropatogennych *E. coli* i koagulazo dodatnich gatunków *Staphylococcus*. Efektem tych badań są 4 publikacje oryginalne, 3 doniesienia konferencyjne oraz 1 praca magisterska realizowana pod kierunkiem Habilitantki.

Jako ostatni obszar aktywności naukowej wymienione zostały zagadnienia dotyczące dermatofitów, w tym diagnostyka i identyfikacja gatunkowa w oparciu o fenotyp i genom heterogennej grupy grzybów *Trichophyton mentagrophytes*. Badania były prowadzone w oparciu o tradycyjne metody oraz molekularne, takie jak ITS-RFLP. Wyniki badań zostały zamieszczone w 1 artykule oryginalnym i 1 doniesieniu konferencyjnym oraz w pracy magisterskiej realizowanej pod kierunkiem dr Anety Nowakiewicz.

Podsumowując, aktywność naukowa Kandydatki jest znaczna, jednakże realizowana głównie zespołowo, jako współautor. Tylko w kilku pracach jest pierwszym autorem, co może wskazywać na średni wkład koncepcyjny. Jednakże, dobre przygotowanie metodyczne daje nadzieję, że po habilitacji sytuacja ulegnie zmianie.

3. Ocena dorobku dydaktycznego, popularyzatorskiego, organizacyjnego i współpracy międzynarodowej

Od 2002 r. dr Aneta Nowakiewicz prowadzi zajęcia ze studentami II i III roku Wydziału Medycyny Weterynaryjnej z przedmiotu Mikrobiologia weterynaryjna. W latach 2006 – 2010 prowadziła również przedmiot Mikologia a w latach 2007 – 2008 Zatrucia i zakażenia pokarmowe pochodzenia bakteryjnego dla słuchaczy podyplomowego studium Analizy laboratoryjnej w ochronie środowiska. W latach 2006-2008 prowadziła również zajęcia z przedmiotu Mikrobiologia dla studentów Wydziału Biologii i Hodowli Zwierząt, kierunku Biologia. Wielokrotnie była współautorem lub kierownikiem projektów prezentowanych w trakcie Lubelskiego Festiwalu Nauki.

Dr A. Nowakiewicz jest promotorem 4 prac dyplomowych, w tym trzech magisterskich i jednej inżynierskiej studentów wydziału Nauk o Żywności i Biotechnologii i Wydziału Biologii i Hodowli Zwierząt UP w Lublinie. Pełni też funkcję promotora pomocniczego dwóch doktorantów realizujących prace badawcze w Instytucie Biologicznych Podstaw Chorób Zwierząt na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej UP w Lublinie: lek. wet. Aleksandry Trościańczyk pt. „*Enterococcus* spp. izolowane od zwierząt towarzyszących jako potencjalne źródło zagrożenia zdrowia publicznego” i lek. wet. Krzysztofa Puka pt. „Występowanie oraz oporność na chemioterapeutyki prątków izolowanych od ryb ozdobnych”.

Kandydatka w latach 2009 – 2013 odbyła pięć kilkudniowych staży krajowych: 3 razy na Politechnice Gdańskiej oraz na Uniwersytecie w Łodzi i PAN w Warszawie. Brała też udział w czterodniowych warsztatach szkoleniowych dotyczących wdrażania nowych środków dydaktycznych – e-learning „Novice Summerschool 2011” na wydziale Medycyny Weterynaryjnej Szent Istvan University w Budapeszcie oraz odbyła dwutygodniowy staż w 2014 r. w National University Institute w Uppsali.

Kandydatka od 2004 r. jest członkiem Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych.

W latach 2004 – 2016 Kandydatka brała udział w ośmiu konferencjach krajowych, czego efektem jest 13 doniesień. Niestety, ani razu Habilitantka nie głosiła referatu, co uważam za słabszą stronę w przypadku kandydatury na samodzielny pracownika naukowego.

Podsumowując, aktywność organizatorska i dydaktyczna odpowiada charakterowi zatrudnienia Habilitantki. Ma ona mocne strony, czego dowodem jest otrzymana w 2010 r.

nagroda I⁰ Rektora UP w Lublinie za osiągnięcia w pracy naukowej i dydaktycznej, słabszą stroną jest brak kierowania grantami i brak udziału w konferencjach zagranicznych.

4. Podsumowanie i wniosek końcowy

Na podstawie szczególnie wysokiej oceny jednotematycznego cyklu publikacji, stanowiącego istotny wkład w rozwój nauk weterynaryjnych, oraz oceny całokształtu dorobku naukowego, dydaktycznego i popularyzatorskiego uważam, że dr Aneta Nowakiewicz spełnia kryteria stawiane kandydatom do stopnia naukowego doktora habilitowanego zawarte w art.16 pkt 2 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach 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 2010 r. Nr 96, poz. 620, Nr 182, poz.1228, Dz. U. z 2011 r. Nr 84, poz. 455, Dz. U. z 2014 r. poz. 1198), a także w Rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 1 września 2011 r. w sprawie kryteriów oceny osiągnięć osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego.

Wnioskuje o podjęcie dalszych czynności w postępowaniu o nadanie dr n. wet. Anecie Małgorzacie Nowakiewicz stopnia naukowego doktora habilitowanego.

Aleksandra Platt-Samoraj

