

Lublin, 11.03.2024 r.

Prof. dr hab. Aneta Nowakiewicz

OCENA

osiągnięcia naukowego oraz istotnej aktywności naukowej dr n. wet. Olimpii Kursy z Zakładu Chorób Drobiu, Państwowego Instytutu Weterynaryjnego -Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach

w związku z postępowaniem o nadanie Jej stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie
nauk weterynaryjnych w dyscyplinie weterynaria

Podstawowe dane o Habilitantce

Dr n. wet. Olimpia Kursa jest absolwentką Wydziału Zdrowia Publicznego, Uniwersytetu Medycznego w Łodzi (2007). Niestety z załączonej dokumentacji nie wynika czy uzyskany tytuł zawodowy wynika z ukończonego kierunku studiów czy uzyskanej specjalizacji. Habilitantka w 2005 roku została zatrudniona w Zakładzie Chorób Drobiu, PIW-PIB Puławy, początkowo na stanowisku specjalisty inżyniersko- technicznego, do 2014 roku, następnie w latach 2015-2018 w tej samej jednostce kontynuowała zatrudnienie jako asystent. Po uzyskaniu stopnia doktora w 2018 r, do chwili obecnej pracuje nadal w tej samej jednostce jako adiunkt. Habilitantka realizowała pracę doktorską pt. „, Charakterystyka terenowych szczepów *Mycoplasma synoviae* w zakresie ich genotypu oraz patogenności w przebiegu klinicznych przypadków syndromu anomalii skorupy jaj u kur”, pod kierunkiem dr hab. Grzegorza Tomczyka, prof. instytutu. Z przedstawionej przez Habilitantkę dokumentacji nie wynika aby ubiegała się Ona wcześniej o nadanie stopnia doktora habilitowanego.

Podstawa formalna oceny

Podstawą sporządzenia oceny jest decyzja Rady Naukowej Państwowego Instytutu Weterynaryjnego -Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach z dnia 17 stycznia 2024 r. w sprawie powołania w skład Komisji habilitacyjnej w charakterze recenzenta dorobku dr Olimpii Kursy. Opinię przygotowano celem przeprowadzenia postępowania habilitacyjnego, oceniając czy przedstawione osiągnięcia Kandydatki spełniają wymagania określone w art. 219 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2023 poz. 742 ze zm.).

Ocena osiągnięcia naukowego

Dr n. wet. Olimpia Kursa jako osiągnięcie naukowe, o którym mowa w art. 219 ust.1 pkt 2 Ustawy, przedłożyła do oceny jednotematyczny cykl publikacji, zatytułowany:

„Różnorodność bakteryjna mikrobiomu układu oddechowego wybranych gatunków drobiu hodowlanego ze szczególnym uwzględnieniem bakterii patogennych”.

Zgodnie z przedstawioną dokumentacją cykl ten obejmuje łącznie cztery prace eksperymentalne:

1. O Kursa, G. Tomczyk, A. Sawicka-Durkalec, A. Giza, M. Słomiany-Szwarc: Bacterial



- communities of the upper respiratory tract in turkey. Scientific Report. 2021, 11(1) (IF=4,966; pkt.= 140).
2. O Kursa, G. Tomczyk, K. Adamska, J. Chrzanowska, A. Sawicka-Durkalec: The microbial community of the respiratory tract of commercial chickens and turkeys. Microorganisms. 2022, 10(5), 987 (IF=4,926; pkt.= 40).
 3. O Kursa, G. Tomczyk, A. Sawicka-Durkalec: Occurrence of *Ornithobacterium rhinotracheale* in Polish turkey flocks. Journal of Veterinary Research. 2022, 66, 77-84. (IF=1,744; pkt.= 140).
 4. O Kursa, G. Tomczyk, A. Sieczkowska, A. Sawicka-Durkalec: Prevalence, identification and antibiotic resistance of *Gallibacterium anatis* isolates from chickens in Poland. Pathogens. 2023, 12, 992 (IF=3,7; pkt.= 100).

Sumaryczny IF publikacji przedstawionych przez Habilitantkę jako osiągnięcie naukowe, wynosi 15,336, a suma punktów MNiSW lub MNiE zgodnie z wykazem w roku publikacji na dzień złożenia dokumentacji jest równa 420.

Wszystkie prace w ramach cyklu są pracami eksperymentalnymi, opublikowanymi w czasopiśmie z listy JCR. Habilitantka jest pierwszym autorem i jednocześnie we wszystkich publikacjach pełni rolę autora korespondencyjnego. Wszystkie publikacje są wieloautorskie i obejmują od trzech do pięciu autorów. Z deklaracji Habilitantki wynika, iż we wszystkich pracach miała identyczny zakres zadaniowy, tj. gromadzenie materiału do badań, wykonywanie badań laboratoryjnych (lub ich części), opracowanie i analizę wyników, sformułowanie wniosków i przygotowanie manuskryptu, przesłanie pracy do czasopisma oraz przeprowadzenie korekty po recenzji we wszystkich pracach. Wszyscy pozostali autorzy imiennie podpisanymi deklaracjami również potwierdzili swój udział w powstawaniu publikacji, m. in jako: przeprowadzenie sekwencjonowania lub reakcji amplifikacji wybranych genów oporności i wirulencji, przeprowadzenie analiz bioinformatycznych, pozyskanie próbek do badań, a w większości przypadków Autorzy deklarowali tylko zaangażowanie w przygotowanie manuskryptu do publikacji (co jak rozumiem ograniczało się jedynie do udziału w przygotowaniu ostatecznych, pisemnych wersji manuskryptów). Zatem można stwierdzić, iż rola Habilitantki była rolą wiodącą w powstawaniu niniejszych prac.

Wszystkie przedstawione do oceny prace zostały opublikowane w języku angielskim, w czasopiśmie o współczynniku wpływu od 1,74 do 4,96. Publikacje są opracowaniami relatywnie nowymi, ponieważ zostały opublikowane w latach 2021-2023. Niemniej, co najmniej jedna z tych publikacji cieszy się dość dużym zainteresowaniem i pomimo opublikowania pracy zaledwie przed trzema laty, praca osiągnęła już 14 cytowań, co potwierdza zainteresowanie tematyką badawczą, którą zajmuje się Habilitantka.

Pani dr O. Kursa zawarła omówienie celu naukowego prac i osiągniętych wyników w 14-stronicowym autoreferacie, podzielonym na kilka części (wprowadzenie, uzasadnienie podjętych badań, cele badawcze, omówienie wyników osiągnięcia naukowego oraz podsumowanie w postaci sześciu wniosków końcowych. Niestety w powyższym opracowaniu znalazło się bardzo wiele niezręcznych sformułowań lub zdań, zamiennie i niewłaściwie stosowanych pojęć (np.



mikrobiom/mikrobiota/mikroflora), bezpośrednich tłumaczeń z języka angielskiego lub niefortunnie zastosowanych skrótów myślowych (*genetyka gospodarza, zjadliwa infekcja, pleomorficzna morfologia komórek, O. rhinotracheale....może powodować predylekcję do stawów i układu rozrodczego.....,stada ognisk choroby miały objawy kliniczne ze strony układu oddechowego.....,kolonie G. anatis zostały zidentyfikowane za pomocą spektrometrii mas....., różnice w różnorodności, itp.*). Taka forma autoreferatu bardzo zubożyła przekaz znaczenia badań Habilitantki, a w niektórych miejscach wręcz nie pozwoliła na całościowe dostrzeżenie znaczenia osiągnięcia. Przykładowo, omawiając pierwszy cel, obejmujący charakterystykę „społeczności bakterii” górnych dróg oddechowych indyków (co również jest dosłownym tłumaczeniem określenia stosowanego w języku angielskim „bacterial community”; zdecydowanie lepszym określeniem w przypadku tej części badań Habilitantki byłby mikrobiom), Habilitantka powołując się na 1, 2 i 3 pracę, wskazuje jako materiał badawczy tylko liczbę przebadanych stad z pracy nr 1, przy czym jak się okazuje, w pracy nr 2 przebadano kolejne 30 stad indyków, a w pracy nr 3 było to kolejne 13 próbek ze stad, w których zaobserwowano kliniczne objawy infekcji. Zatem w oparciu o informacje zawarte w tak przygotowanym autoreferacie bardzo trudno było docenić osiągnięcie naukowe Habilitantki.

Niewątpliwie język angielski jest obecnie jednym z najczęściej używanych w komunikacji naukowej języków, a anglojęzyczna forma publikacji wyników zdecydowanie zwiększa możliwości prezentacji własnych badań przed szerszym grmem badawczym, niemniej ze względu na zdecydowanie inne zasady gramatyczne i składniowe w języku polskim i angielskim niemożliwym jest zastosowanie bezpośredniego i dosłownego przełożenia tekstów, bo grozi to zmianą, niezrozumieniem lub zatarciem znaczenia ostatecznie formułowanej myśli, co niestety wielokrotnie również miało miejsce w autoreferacie Habilitantki.

Niemniej treść załączonych do dokumentacji kopii prac stanowiących osiągnięcie naukowe Habilitantki pozwoliła na uporządkowanie zawartych w autoreferacie informacji oraz właściwą ocenę przeprowadzonych badań i analiz.

Z pewnością należy stwierdzić, iż prace naukowe przedstawione jako osiągnięcie naukowe, stanowią jednotematyczny cykl publikacji, w których tematem wiodącym jest charakterystyka oraz analiza porównawcza mikrobiomu górnych dróg oddechowych indyków i kur w wybranych stadach, zlokalizowanych na terenie naszego kraju. W co najmniej dwóch spośród wszystkich czterech prac, Habilitantka skupiła się również na analizie występowania i/lub charakterystyce najważniejszych patogenów, istotnych w hodowli drobiu, tj. wybranych gatunkach *Mycoplasma* spp. (*M. gallisepticum*, *M. synoviae*, *M. meleagridis*), *Bordetella avium*, *Gallibacterium anatis* i *Ornithobacterium rhinotracheale*.

Habilitantka wykorzystała możliwości jakie niesie ze sobą praca w referencyjnej jednostce laboratoryjnej i w oparciu o próbki pobierane w ramach badań przesiewowych, stworzyła reprezentatywne pule badawcze, umożliwiające wygenerowanie istotnych statystycznie, wiarygodnych wyników, w oparciu o które można było przedstawić realne wnioski.

Większość eksperymentalnej części badań Habilitantki oparta była na analizach molekularnych, zamykających się do poziomu materiału genetycznego (jedynie w ostatniej pracy Habilitantka pokusiła się o uzyskanie szczepów metodą hodowlaną), co oczywiście ma swoje dobre strony ale



również pewne ograniczenia, niemniej w przypadku analiz porównawczych dotyczących składu mikrobiomu, metody oparte na sekwencjonowaniu są metodami z wyboru.

Tematyka osiągnięcia naukowego wskazana przez Habilitantkę wydaje się dosyć istotna, nie tylko ze względu na możliwość aplikacyjnego wykorzystania wyników badań ale również ze względu na fakt, iż dotychczasowy opublikowany wykaz prac naukowych dotyczący mikrobioty/ mikrobiomu górnych dróg oddechowych, szczególnie indyków, wskazuje na pewien niedosyt informacyjny danych, nie tylko z obszaru Polski ale również w literaturze światowej. Dlatego biorąc pod uwagę właściwie zaplanowane i przeprowadzone zadania badawcze (z wykorzystaniem adekwatnych metod i narzędzi) oraz przeprowadzone wnioski należy stwierdzić, iż osiągnięcie naukowe Habilitantki stanowi oryginalny i istotny wkład w rozwój nauk weterynaryjnych w dyscyplinie weterynaria.

Jako najistotniejsze elementy osiągnięcia wskazać należy:

- wykazanie zróżnicowania taksonomicznego drobnoustrojów, w oparciu o materiał genetyczny, które z jednej strony okazało się powtarzalne dla próbek we wszystkich badanych stadach (powtarzalność tych samych taksonów), z drugiej zaś większa heterogenność taksonomiczna była charakterystyczna dla próbek z pobranych tylko z kilku stad. Zarówno dla praktyków klinicystów jak i w aspekcie poznawczym istotny jest fakt wykazania dominujących taksonów drobnoustrojów na poziomie klas, rzędów i rodzajów. W przypadku próbek pochodzących od wszystkich stad dominującymi taksonami były bakterie należące do klasy: Bacilli, Clostridia (Firmicutes), natomiast tylko w przypadku kilku stad obok wymienionych pojawiały się taksony Bacteroidetes i Proteobacteria, natomiast tylko w pojedynczych stadach liczebność gromad do których klasyfikowano bakterie przekraczała trzy. Przełożyło się to oczywiście na skład rodzajów, a nawet istotnych pod względem zdrowotnym dla ptaków gatunków bakterii. Autorzy zaobserwowali zróżnicowanie zależne od wieku zwierząt, tj. bakterie z rodzaju *Lactobacillus* częściej dominowały u młodszych zwierząt, natomiast bakterie należące do rodzaju *Enterococcus*, statystycznie częściej były związane z mikrobiomem ptaków starszych. Co ciekawe, Autorzy wykazali również obecność taksonów bakterii stanowiących jednocześnie składnik mikrobioty określonych odcinków przewodu pokarmowego ptaków, takich jak *Ruminococcus*, *Brevibacterium*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, które wykazują relatywnie szeroką niszę odnośnie preferencji kolonizacji zróżnicowanych pod względem warunków kompartmentów ciała. Autorzy wykazali także obecność taksonów, dla których u innych gatunków ptaków potwierdzono ich potencjalnie pozytywną aktywność, tj. właściwości probiotyczne lub polepszenie wartości współczynnika zależności zużywanej paszy na przyrost masy ciała. Autorzy potwierdzili również pewną stopniową zmienność składu mikrobiomu, ewoluującą wraz z wiekiem zwierząt, co jest naturalną konsekwencją narastającej ekspozycji i kolonizację różnymi grupami drobnoustrojów. Pewnym *novum* badań było również wykazanie w pojedynczych stadach zwierząt jako elementu wchodzącego w skład mikrobiomu górnych dróg oddechowych indyków, taksonów które dotychczas nigdy nie zostały wykazane w tego typu próbkach (Verrucomicrobia, Synergistetes), natomiast były stwierdzane u innych gatunków zwierząt oraz w środowisku. Oczywiście aby z większą dokładnością móc przewidzieć kierunek tych zmian (bardziej lub mniej korzystnych) należałoby przeanalizować bardzo wiele różnych czynników środowiskowych, o których



wspomniała również Habilitantka, oraz status immunologiczny zwierząt, które dopiero jako całość tworzą określone tło do możliwości przewidywania wystąpienia określonych jednostek chorobowych w stadach w zależności od gatunku, wieku, typu użytkowego, diety, sposobu utrzymania, stosowanego programu profilaktyki i bioasekuracji. Delikatna równowaga mikrobiomu układu oddechowego indyków oraz specyfika schorzeń związana z układem oddechowym tych zwierząt (istotny wpływ czynników środowiskowych, bakteryjne i wirusowe współistniejące infekcje), sprawia, iż znajomość składu mikrobiomu u potencjalnie zdrowych klinicznie zwierząt, przynajmniej w orientacyjnym stopniu pozwala przewidzieć prawdopodobieństwo wystąpienia infekcji. Dlatego tak ważnym jest, iż Autorom udało się wykazać również taksony odpowiedzialne lub współodpowiedzialne za wywoływanie objawów klinicznych infekcji, które w przypadku hodowli wielkotowarowych mają ogromne znaczenie nie tylko pod względem klinicznym ale również ekonomicznym. W oparciu o wykorzystane metody Autorzy wykazali w zależności od stada różny zakres występowania patogennych rodzajów/gatunków bakterii, stanowiących od 7 do 0,003% mikrobiomu, w tym bakterie z rodzaju *Mycoplasma* (3 stada), *Ornitobacterium* (5 stad), *Gallibacterium* (2 stada), *Avibacterium* (1 stado).

- W pracy nr 2, w oparciu o identyczne metody badawcze, Autorzy pokusili się o przeprowadzenie analizy porównawczej mikrobiomu górnych dróg oddechowych indyków i kur. Wykazano, iż mikrobiomy tych dwóch gatunków nie różnią się w dużym stopniu, i w obu przypadkach jako dominujące taksony stwierdzono m.in. bakterie z rodzaju *Enterococcus*, *Lactobacillus* oraz *Escherichia-Shigella*. Z drugiej jednak strony, wykazano również pewne grupy bakterii charakterystyczne wyłącznie dla kur (*Coenonia* spp) lub indyków (*Serratia* spp i *Stenotrophomonas* spp). U obu gatunków zwierząt wykazano również bakterie należące do tych samych rodzajów, niemniej w zależności od gatunku gospodarza i/lub wieku występowały one w różnych proporcjach. Podobnie jak w pierwszej publikacji, Habilitantka wykazała w badanych próbkach obecność materiału genetycznego należącego do potencjalnie patogennych dla drobiu gatunków, tj. *Ornithobacterium* spp, *Mycoplasma* spp i *Avibacterium* spp. Co ciekawe, w tym przypadku bakterie z rodzaju *Mycoplasma* dominowały w próbkach od kur (2 stada indyków vs 17 stad pozytywnych od kur), natomiast obecność dwóch pozostałych rodzajów bakterii zdecydowanie przeważała w próbkach pobranych od indyków. Uzyskane przez Habilitantkę wyniki ponownie potwierdziły występowanie określonych taksonów w mikrobiomie układu oddechowego indyków i wskazały, iż w zależności od gatunku drobiu, mikrobiom ten może znacznie różnić się, szczególnie w aspekcie występowania gatunków/taksonów potencjalnie patogennych.

- w dwóch kolejnych pracach Habilitantka skupiła się na ocenie występowania i charakterystyce molekularnej i/lub fenotypowej dwóch gatunków drobnoustrojów, które mają istotne znaczenie epidemiologiczne w hodowli drobiu, również w Polsce. W pracy nr 3, w zależności od metody (PCR w czasie rzeczywistym vs klasyczna reakcja amplifikacji), Habilitantka wykazała obecność charakterystycznych dla *Ornitobacterium rchinoatracheale* sekwencji w 30,8 – 28,5% badanych próbek (z wyższym, aczkolwiek bez znaczenia statystycznego, odsetkiem wykrywalności z zastosowaniem RT-PCR). Uzyskane sekwencje (n=38) poddano następnie dalszej analizie, która umożliwiła ich przyporządkowanie do dwóch głównych grup (G1 i G2), w tym pięciu podgrup (G1.1, 1.2, 1.3 oraz G2.1, 2.2), pozycjonując wszystkie uzyskane sekwencje w aspekcie ich



podobieństwa do sekwencji szczepów z ogólnoswiatowej puli, a tym samym wzbogacając ogólnodostępną bazę danych o prawie 40 nowych sekwencji charakterystycznych dla *O. rhinotracheale*, pochodzących z naszego kraju. Dodatkową wartością dodaną w niniejszym badaniu była analiza pobranych próbek pod kątem występowania sekwencji charakterystycznych dla innych patogenów, tj. *Mycoplasma gallisepticum*, *M. synoviae*, *M. meleagridis*) i *Bordetella avium*. Badania te wykazały współwystępowanie *M. gallisepticum* w przypadku 13 ORT-dodatnich stad oraz *M. synoviae*-dodatnich wyników, odpowiednio w przypadku ośmiu stad. Co więcej, próbki ORT-dodatnie/*Mycoplasma*-dodatnie pochodziły ze stad, w których u indyków wystąpiły kliniczne objawy infekcji, co po raz kolejny potwierdziło częste występowanie wieloczynnikowych infekcji układu oddechowego u drobiu oraz dużą zależność obrazu klinicznego od gatunków drobnoustrojów odpowiedzialnych za przebieg choroby. Niemniej, w przypadku niniejszej publikacji chciałabym wyrazić również pewne obiekcje odnośnie posługiwania się określeniem „izolat” lub „izolaty” odnośnie amplifikowanych i sekwencjonowanych regionów kodujących 16sRNA, wykorzystanych w niniejszym badaniu. W kontekście znaczeniowym określenie to raczej używane jest w odniesieniu do uzyskanej, czystej kultury bakteryjnej, a nie materiału genetycznego, zatem lepszym rozwiązaniem byłoby pozostanie przy określeniu „sekwencja”.

-Zarówno w pierwszej, drugiej jak i trzeciej pracy Habilitantka oparła całość metodyki na sekwencjonowaniu i analizie bioinformatycznej, co z jednej strony należy uznać za wartość dodaną, ponieważ jedynie taki typ badań pozwala na wykazanie pełnego zróżnicowania mikrobiomów, z uwzględnieniem taksonów, które uzyskanie drogą tradycyjnych metod hodowlanych jest bardzo trudne lub wręcz niemożliwe. Z drugiej jednak strony z klinicznego punktu widzenia najbardziej istotne wydaje się potwierdzenie obecności żywych, zdolnych do podziału drobnoustrojów, które jako takie mogą być zdolne do wywołania infekcji. Zatem bardzo dobrym posunięciem było przeprowadzenie pełnej procedury izolacyjnej *Gallibacterium anatis* w czwartej, ostatniej z cyklu pracy. W tym przypadku Habilitantka pokusiła się o analizę występowania i charakterystykę tego gatunku bakterii u kur, poddając badaniu ponad 180 pobranych z tchawicy wymazów. Badanie hodowlane zostało przeprowadzone w odniesieniu do próbek, w których wcześniej przy udziale metod molekularnych stwierdzono materiał genetyczny charakterystyczny dla *G. anatis*. Identyfikacji gatunkowej uzyskanych izolatów dokonano z udziałem metody MALDI TOF-MS, a następnie metodą fenotypową określono lekowrażliwość. Dopełnieniem charakterystyki było określenie występowania wybranych genów oporności i wirulencji w genomie badanych szczepów. Przy udziale metod molekularnych Habilitantce udało się wykazać obecność materiału genetycznego *G. anatis* w przypadku ponad 22% próbek (n=41), niestety tylko w przypadku 30 próbek osiągnięto sukces w hodowli drobnoustroju. Przyznam, iż w tej pracy zabrakło mi wielu istotnych informacji, związanych z przeprowadzeniem oceny lekowrażliwości, bowiem Autorka nie odniosła się do żadnych kryteriów interpretacyjnych, podając jedynie, iż „strefy zahamowania interpretowano wizualnie”. Ponadto sposób przeprowadzenia badania w kierunku lekowrażliwości również został przedstawiony bez jakiegokolwiek odniesienia do obowiązujących standardów CLSI lub EUCAST (np. VET06), zatem wszystko wskazuje, iż była to autorska metodyka i wyniki w taki sposób uzyskane bardzo trudno odnieść do jakichkolwiek klinicznych kryteriów interpretacji. Dodatkowo, w przeprowadzonym badaniu nie wskazano szczepu referencyjnego,



który stanowiłby kontrolę jakości przeprowadzonego badania. W mojej opinii jest to spory błąd, ponieważ brak takich informacji uniemożliwia powtórzenie eksperymentu co powinno być obligatoryjnym założeniem dla prac badawczych, oraz nie zapewnia powtarzalnych standardów jakości umożliwiających właściwą interpretację wyników. Zarówno poszczególne elementy wykorzystanej metodyki (rodzaj użytego podłoża- przykładowo zmiana podłoża MH z dodatkiem 5% KB na podłoże Columbia z dodatkiem 5% KB znacząco wpływa na uzyskiwane strefy zahamowania, gęstość inokulum, dobór badanych substancji przeciwbakteryjnych) jak i zastosowane kryteria służące do określenia klinicznych wartości granicznych mają ogromny wpływ na końcową interpretację odnośnie zaklasyfikowania szczepu jako oporny, wrażliwy bądź średniowrażliwy, podobnie jak wprowadzenie do badania substancji przeciwdrobnoustrojowych, na które dany gatunek bakterii może wykazywać oporność naturalną, a to z kolei może bezpośrednio przełożyć się na osiągnięcie lub brak sukcesu terapeutycznego. Bakterie należące do gatunku *G. anatis* należą do tzw. wybrednych pod względem hodowli gatunków, a kryteria kliniczne lekowrażliwości dotyczące tego gatunku są bardzo skąpe, dlatego pomimo, iż praca została już opublikowana (a zatem również była poddana recenzji), z dużą rezerwą odnoszę się do tej części wyników, uzyskanych przez Habilitantkę, a stwierdzenie tak wysokiego poziomu wielolekooporności wśród badanych szczepów traktowałabym z dużą ostrożnością. Natomiast w pewnym sensie braki te mogą być zrekompensowane przez ocenę profilu genów oporności, których obecność co prawda nie może być bezpośrednio ekstrapolowana na ekspresję fenotypu, natomiast może wskazywać na pewną przewidywalność odnośnie niewrażliwości na określone substancje przeciwbakteryjne. Warto podkreślić, iż izolacja z materiału klinicznego szczepów *G. anatis* nie należy do łatwych, natomiast Habilitantka osiągnęła w tym zakresie spory sukces, dlatego mimo pewnych braków, również wyniki tej pracy w pozostałej, poza sporną częścią, należy uznać za wartościowe.

Podsumowując znaczenie uzyskanych przez Habilitantkę wyników opublikowanych w pracach przedstawionych jako monotematyczny cykl publikacji, stwierdzam, że powyższe osiągnięcie stanowi oryginalny i istotny wkład w rozwój nauk weterynaryjnych w dyscyplinie weterynaria zatem spełnia wymogi określone w art. 219 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2023 poz. 742 ze zm.).

Biorąc pod uwagę szeroką charakterystykę mikrobiomu górnych dróg oddechowych wybranych gatunków drobiu, ze szczególnym uwzględnieniem patogenów odpowiedzialnych za problemy zdrowotne i ekonomiczne w tej grupie zwierząt, wykorzystanie metodyki umożliwiającej relatywnie głęboką i porównawczą analizę bioinformatyczną oraz przeprowadzenie badań na reprezentatywnej puli próbek, pochodzących z różnych regionów geograficznych Polski, można stwierdzić, iż wyniki badań uzyskane przez dr Olimpię Kursę mają znaczenie zarówno poznawcze jak i aplikacyjne.

Ocena pozostałej, istotnej aktywności naukowej

Dr Olimpia Kursa z racji zatrudnienia w specjalistycznej jednostce badawczej (Zakład Chorób Drobiu) od początku swojej kariery naukowej zajmowała się zagadnieniami związanymi z diagnostyką chorób drobiu, ze szczególnym ukierunkowaniem na badania związane z szeroko



pojętą mykoplazmozą. Należy podkreślić, iż wyniki pierwszych badań naukowych, w których Habilitantka brała udział zostały opublikowane jeszcze w latach kiedy była Ona zatrudniona na stanowisku specjalisty inżynierijno-technicznego (przed 2014 rokiem). Początkowo uczestniczyła Ona w badaniach nad grypą ptaków oraz pasożytami w chowie wolierowym ptaków ozdobnych i łownych. W kolejnym etapie kariery, Jej zainteresowania naukowe skryształizowały się wyraźnie w kierunku zagadnień związanych z mykoplazmozą drobiu, ze szczególnym uwzględnieniem diagnostyki i wirulencji *Mycoplasma synoviae*. Ze względu na problemy diagnostyczne i nie zawsze jednoznaczny status występowania *M. synoviae* w organizmie gospodarza, Habilitantka skoncentrowała się na opracowaniu szybkiej i powtarzalnej metody diagnostycznej w oparciu o technikę LAMP, umożliwiającej uzyskanie wyniku zaledwie w przeciągu godziny. Efektem tych badań były również dwie publikacje (przeładowa i eksperymentalna), w których Habilitantka jest pierwszym autorem. Kolejne badania, których tematyka była ściśle związana z tematyką rozprawy doktorskiej, również dotyczyły problematyki zakażeń *M. synoviae*, niemniej w dość aplikacyjnym aspekcie ukierunkowanym na analizę zmian patologicznych w układzie rozrodczym, zamieralność zarodków oraz anomalie w skorupie jaj (EAA) powstające w trakcie zakażenia tym patogenem. Habilitantka uzyskała interesujące wyniki, w których wykazała korelację pomiędzy zmiennością określonego regionu genomu (region PRR genu *vIhA*), a zwiększeniem tropizmu bakterii do układu rozrodczego, bezpośrednio przełożenie efektów eksperymentalnego zakażenia na zmiany patologiczne w obrębie układu rozrodczego, a tym samym spadek nieśności i/lub produkcję jaj o zmienionej niekorzystnie strukturze skorupy (m. in z deformacją porów skorupy jaj). Habilitantka do wizualizacji wyników badań użyła metody optycznej tomografii koherentnej, korzystając z doświadczenia zespołu badawczego pod kierunkiem dr inż. Anny Pakuły, Wydziału Mechatroniki i Fotoniki, Politechniki Warszawskiej.

Wyniki uzyskanych badań Habilitantka opublikowała w postaci trzech kolejnych prac eksperymentalnych o łącznym IF 3,3.

W oparciu o uzyskane wyniki wykazujące, iż nie we wszystkich przypadkach zakażeń *M. synoviae* możliwe jest bezpośrednio uwidocznienie zmian związanych z syndromem EAA, Habilitantka poszła o krok dalej, wprowadzając do badań kolejną technikę spektralną, umożliwiającą w oparciu o specyficznie opracowane i dobrane parametry klasyfikacyjne zaklasyfikować próbki skorupy jaj na pochodzące od kur zakażonych *M. synoviae* lub zdrowych klinicznie. Autorzy stworzyli różne algorytmy w zależności od koloru skorupki, wskazując najwyższą swoistość oznaczenia (88%) dla skorupki brązowych. W praktyce, takie nieinwazyjne badanie wykorzystujące odpady z ferm w postaci skorupki może być użyte do wskazania stad o podwyższonym ryzyku zakażenia *M. synoviae*, a to z kolei upoważnia lekarza weterynarii do przeprowadzenia bardziej ukierunkowanych badań na obecność nosicielstwa tego patogenu w danym stadzie. O dużym zainteresowaniu powyższą pracą, która ma z pewnością charakter aplikacyjny, świadczy wysoka liczba cytowań (ponad 20). We współpracy z tym samym zespołem badawczym (Wydział Mechatroniki i Fotoniki, Politechnika Warszawska), Habilitantka prowadziła badania w zakresie możliwości wykorzystania innych metod optycznych, umożliwiających ocenę anomalii strukturalnych skorupki jaj pochodzących od kur zakażonych *M. synoviae*. Zespół badawczy wykorzystał metodę spektrometrii światła odbitego i analizę danych w oparciu o AI oraz urządzenie



w postaci wielospektralnego, przenośnego reflektometru światłowodowego. Wyniki badań zostały opublikowane łącznie w trzech pracach o łącznym IF 9,3, a efekty tej multidyscyplinarnej współpracy Habilitantki cieszą się dużym zainteresowaniem w środowisku naukowym, co potwierdza liczba cytowań powyższych prac.

Kolejny temat badawczy realizowany przez Habilitantkę dotyczy analizy występowania bakterii z rodzaju *Mycoplasma* u różnych gatunków ptaków, ze szczególnym uwzględnieniem specyfiki gatunek gospodarza- gatunek *Mycoplasma*. We współpracy z zespołem badawczym Katedry Chorób Ptaków, Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UWM przeprowadzono badania u gołębi pocztowych i ozdobnych oraz u dzikich gęsi, ukierunkowane na wykrycie obecności materiału genetycznego charakterystycznego dla specyficznych gatunków *Mycoplasma*, tj. *M. columbium*, *M. columborale*, *M. columbinasale* u gołębi oraz *M. anserisalpingitidis*, *M. anseris*, *M. anatis*, *M. cloacale* u dzikich gęsi. Co prawda nie wykazano obecności materiału genetycznego *M. gallisepticum* i *M. synoviae*, niemniej odsetek występowania innych gatunków *Mycoplasma*, specyficznych dla danego gospodarza kształtował się na wysokim poziomie, tj nawet ponad 70%, przy czym u gołębi dominowały zakażenia wielogatunkowe, natomiast u dzikich gęsi dominował jeden gatunek *M. anserisalpingitidis* (ponad 60%). Efektem tych badań była publikacja dwóch prac eksperymentalnych o łącznym IF 4,84

Habilitantka brała również udział w badaniach nad występowaniem bakterii z rodzaju *Mycoplasma* u kilkudziesięciu różnych gatunków ptaków wolno żyjących, analizując tę grupę zwierząt jako potencjalny rezerwuuar *Mycoplasma* dla ptaków hodowlanych. Wyniki badań opublikowanych w publikacji Sci Rep (2021) wydają się niezwykle wartościowe ze względu na reprezentatywną pulę próbek pobranych do badania, dodatkowo zróżnicowaną pod względem gatunkowym oraz różne miejsca pobrania próbek. Co prawda nie znaleziono materiału genetycznego *M. gallisepticum* i *M. synoviae*, niemniej wykazanie ponad 50% nosicielstwa *Mycoplasma* spp. oraz dużej zmienności w obrębie sekwencji, a także wskazanie na duże powinowactwo gatunek nosiciela- gatunek *Mycoplasma* oraz pewnych prawidłowości związanych z typem diety, behawiorem czy wzorcem migracyjnym różnych gatunków ptaków dostarcza bardzo wielu cennych informacji. W powyższej tematyce, Habilitantka partycypowała również w przygotowaniu i publikacji pracy przeglądowej, dotyczącej występowania *M. gallisepticum* u dzikich gatunków ptaków. Praca ta, opublikowana w czasopiśmie PLOSOne w 2020 roku cieszy się bardzo dużym zainteresowaniem, co przełożyło się już na ponad 40 cytowań.

Pani dr Olimpia Kursa swoje dotychczas zdobyte doświadczenie badawcze i metodyczne w zakresie analizy mikrobiomu górnych dróg oddechowych u drobiu, przełożyła na badania związane z podobną tematyką, niemniej dotyczącą mikrobiomu układu rozrodczego (jajowodu) indyków. Habilitantka wykazała obecność kilkunastu różnych taksonów, w tym potencjalne patogeny, tj. *Staphylococcus*, *Escherichia-Shigella* czy *Ornithobacterium*. Wyniki dotychczasowych badań Habilitantka opublikowała w czasopiśmie Sci Rep.

Zainteresowania naukowe Habilitantki objęły również dość specyficzny patogen występujący u hodowlanych i dzikich gęsi, jakim jest *Riemerella anatipestifer*. Badania zrealizowano we współdziałaniu z Narodowym Centrum Naukowym Instytutu Doświadczalnej i Klinicznej Medycyny Weterynaryjnej w Charkowie. Efektem badań wskazujących na dość wysoki odsetek występowania



(ponad 30%) tego drobnoustroju u gęsi hodowlanych i ponad 90% u dzikich gęsi, jest publikacja pracy eksperymentalnej w czasopiśmie Pathogens (MDPI).

Podsumowując dokonania Habilitantki warto wskazać, że do najważniejszych osiągnięć badawczych należą:

- ocena prewalencji u kur i charakterystyka *M. synoviae*, ze szczególnym uwzględnieniem zmian patologicznych w układzie rozrodczym powstających w trakcie zakażenia, badania nad wpływem na zamieralność zarodków oraz anomalie w skorupie jaj (EAA) powstające w trakcie zakażenia tym patogenem. Anomalie strukturalne przekładają się zarówno na zaburzenia w prawidłowym rozwoju zarodków jak i wytrzymałość mechaniczną skorupy jaj. Badania multidyscyplinarne w zakresie szybkiej i powtarzalnej metodyki umożliwiającej wykrycie takich zmian związanych z zakażeniem *M. synoviae*, Habilitantka prowadziła we współpracy z zespołem Wydziału Mechatroniki i Fotoniki Politechniki Warszawskiej.

W powyższej tematyce badawczej, Habilitantka podnosiła swoje kompetencje oraz umiejętności badawcze w trakcie trzech krótkoterminowych szkoleń w wiodących ośrodkach zagranicznych: Animal and Plant Health Agency (2015, Wielka Brytania)- szkolenie z zakresu izolacji i określania antybiotykowrażliwości szczepów *M. synoviae*

Poultry Diagnostics and Research Center in University of Georgia (2018, USA)-doskonalenie umiejętności z zakresu diagnostyki mykoplazmozy drobiu

Asia-Pacific Centre for Animal Health (2019, Australia) - doskonalenie warsztatu z zakresu badań nad *M. synoviae*

- analiza występowania *Mycoplasma* spp u różnych gatunków ptaków wolno żyjących w aspekcie potencjalnego rezerwuaru tej grupy zwierząt dla drobiu. Badania te były prowadzone we współpracy z zespołem badawczym Katedry Chorób Ptaków, Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego oraz Institute for Veterinary Medical Research, Centre for Agricultural Research, Budapest, Węgry

Aktywność naukowa Habilitantki przełożyła się na dość wysokie wskaźniki naukowemu oraz publikacje prac w czasopismach w przeważającej większości indeksowanej na liście JCR; Habilitantka jest współautorem 24 prac eksperymentalnych i przeglądowych opublikowanych w czasopismach z listy JCR (z wyłączeniem prac stanowiących osiągnięcie naukowe), współautorką 5 monografii lub rozdziału w monografii oraz pięciu publikacji o charakterze popularnonaukowym w czasopismach nieposiadających współczynnika wpływu.

Kilkudziesięciokrotnie wyniki badań realizowanych przy współudziale Habilitantki były prezentowane w trakcie krajowych i międzynarodowych kongresów naukowych. Habilitantka siedmiokrotnie przedstawiała wyniki swoich badań jako prelegent w trakcie wystąpień ustnych, w tym większość w trakcie kongresów zagranicznych, m. in. Cheshire, (Wielka Brytania), Prato, (Włochy), Amersfoort, (Holandia) i Londyn, (Wielka Brytania). Jest współautorką ponad 50 doniesień konferencyjnych i plakatów plenarnych (w tym w ponad 20 występuje w charakterze pierwszego autora).

Tematyka prac Habilitantki cieszy się również dużym zainteresowaniem w międzynarodowym świecie naukowym, co przekłada się na liczbę cytowań, która według bazy WoS wynosi 82 bez autocytaowań, a ta wartość z kolei odzwierciedla indeks Hirscha równy 6, co jest dobrym



osiągnięciem na tym etapie kariery naukowej. Większość prac została opublikowana w czasopiśmie międzynarodowych, z kategorii Q1, co przekłada się na wartość współczynnika wpływu równego 51,102.

Analizując przebieg kariery naukowej Habilitantki należy przyznać, iż tematyka badawcza, którą się Ona zajmuje jest dobrze skanalizowana. Habilitantka przez wiele lat doskonaliła swój warsztat badawczy w zakresie drobnoustrojów z rodzaju *Mycoplasma* spp, prowadząc analizy zarówno o znaczenia poznawczym jak i aplikacyjnym, szczególnie w kontekście szybkiego wykrywania obecności materiału genetycznego. Habilitantka sprawnie wykorzystuje analizy bioinformatyczne, co z kolei przekłada się na możliwość zastosowania nowoczesnych metod badawczych, związanych z analizą mikrobiomu u drobiu. Dr Olimpia Kursa nie boi się również wkraczać w zakres tematyczny innych drobnoustrojów bakteryjnych związanych z patologią drobiu, m. in. prowadząc prace z zakresu prewalencji i charakterystyki *Ornithobacterium rhinotracheale*, *Gallibacterium anatis* czy *Riemerella antipastifer*. Habilitantka nawiązuje przy tym współpracę z innymi ośrodkami badawczymi, nie wahając się korzystać z doświadczenia specjalistów z innych dziedzin.

Habilitantka aplikowała również samodzielnie z powodzeniem o fundusze badawcze, zdobywając w 2019 roku projekt NCN w ramach konkursu MINIATURA (kierownik projektu), Jako wykonawca projektu uczestniczy i uczestniczyła w dwóch innych projektach badawczych: KNOW (2018-2019)- „Identyfikacja i charakterystyka *Mycoplasma* spp. u drobiu i ptaków wolno żyjących z zastosowaniem metagenomiki i sekwencjonowania genomowego”, międzynarodowy projekt JPIAMR-ACTION (Joint Programming Initiative on Antimicrobial Resistance) (2021-2025)- Kokcydiostatyki jonoforowe: ryzyko selekcji ko-oporności na środki przeciwdrobnoustrojowe- wpływ kliniczny i strategie interwencji.

Dr O. Kursa kilkakrotnie recenzowała również prace m. in. w takich czasopiśmie zagranicznych jak: Avian pathology (wyd Taylor and Francis), Pathogens, Animals, Poultry (wyd MDPI).

Za swoją aktywność dr O. Kursa została doceniona w 2019 roku nagrodą wdrożeniową Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi RP za osiągnięcia w zakresie wdrażania postępu w rolnictwie, rozwoju wsi i rynkach rolnych.

W podsumowaniu oceniam, iż **Habilitantka wykazuje się istotną aktywnością naukową**, nie tylko w macierzystej jednostce Jej zatrudnienia ale również aktywnie realizuje i realizowała zadania badawcze we współpracy z innymi ośrodkami naukowymi, co przekłada się na liczne, wspólne publikacje. Doświadczenie badawcze, które zdobyła w trakcie krótkoterminowych szkoleń w renomowanych ośrodkach zagranicznych, również zostało wykorzystane w pracach badawczych z zakresu, którym zajmuje się Habilitantka. zatem w mojej ocenie pozostała aktywność naukowa dr Olimpii Kursy spełnia wymagane kryteria.

Podsumowanie i wniosek końcowy

Przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe w postaci jednotematycznego cyklu publikacji, wskazanego przez Habilitantkę jako podstawy do ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego, **oceniam pozytywnie**. Badania Habilitantki w zakresie charakterystyki mikrobiomu górnych dróg oddechowych u wybranych gatunków drobiu stanowią oryginalne opracowanie, przygotowane z wykorzystaniem nowoczesnych technik i w oparciu o



reprezentatywną pulę próbek badawczych. Pomimo pewnych braków wskazanych powyżej, wyniki uzyskane przez Habilitantkę stanowią cenne uzupełnienie informacji związanych z charakterystyką porównawczą mikrobiomów, które mają znaczenie zarówno poznawcze jak i aplikacyjne.

Całkowity dorobek naukowy Habilitantki jest dobrze ukierunkowany i świadczy o solidnym warsztacie badawczym, przekładającym się na dobre wskaźniki naukometryczne i publikacje w renomowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Habilitantka potrafi realizować badania w zespołach multidyscyplinarnych, co prawda w większości krajowych, ale uzyskane wyniki mają charakter aplikacyjny.

Podsumowując ocenę szczególnego osiągnięcia naukowego oraz istotnej aktywności naukowej **stwierdzam, że osiągnięcia naukowe dr Olimpii Kursy spełniają kryteria określone w art. 219 ust.1 pkt. 2 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2023 poz. 742 ze zm.).**

W związku z powyższym, wnioskuję o podjęcie dalszych czynności w postępowaniu o nadanie Pani dr Olimpie Kursie stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk weterynaryjnych, dyscyplinie weterynaria

Lublin, dn. 11 marca 2024r

