

Warszawa, 11.03.2024 r.

dr hab. Beata Dolka
Instytut Medycyny Weterynaryjnej
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

Recenzja

osiągnięcia naukowego pt.:

**„RÓZNORODNOŚĆ BAKTERYJNA MIKROBIOMU UKŁADU ODDECHOWEGO
WYBRANYCH GATUNKÓW DROBIU HODOWLANEGO ZE SZCZEGÓLNYM
UWZGLĘDNIENIEM BAKTERII PATOGENNYCH”**

**oraz ocena dorobku naukowego, aktywności dydaktycznej, organizacyjnej,
popularyzatorskiej i współpracy naukowej DR N. WET. OLIMPII KURSY
w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego
w dziedzinie nauk weterynaryjnych w dyscyplinie weterynaria**

I. Podstawa formalna oceny

Podstawą formalną przygotowania recenzji jest pismo BRN-0411/04/2023 z dnia 19 stycznia 2014 r. od Dyrektora Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach (PIWet-PIB) prof. dr hab. Stanisława Winiarczyka, informujące o powołaniu mnie na recenzenta w skład Komisji Habilitacyjnej na podstawie Uchwały nr 2/PIWet-PIB/2024 63/2023 Rady Naukowej PIWet-PIB w Puławach z dnia 17 stycznia 2024 r. w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego Pani dr n. wet. Olimpii Kursie.

Recenzję sporządziłam zgodnie z kryteriami określonymi w rozdziale 3 „Stopień doktora habilitowanego” art. 219 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2023 r., poz.742 z późn. zm.), w oparciu o dostarczoną dokumentację postępowania habilitacyjnego, składającą się z:

- załącznik 1 - Wniosek o przeprowadzenie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego;
- załącznik 3 - Autoreferat;
- załącznik 4 - Wykaz osiągnięć naukowych stanowiący znaczny wpływ w rozwój określonej dyscypliny;
- załącznik 5 - Wykaz osiągnięć przed i po uzyskaniu stopnia doktora;
- uwierzytelniona kopia dyplomu;
- kopii czterech publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego;
- oświadczenia współautorów prac stanowiących jednotematyczny cykl publikacji określające ich indywidualny wkład;
- załącznik 8 – analiza bibliometryczna UP Lublin - zaświadczenie potwierdzające dorobek naukowy.

II. Sylwetka Habilitantki – informacje ogólne z życiorysu zawodowego

1. Wykształcenie, posiadany stopień doktora i tytuły zawodowe oraz informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych.

Pani dr n. wet. Olimpia Kursa jest absolwentką Wydziału Zdrowia Publicznego na Uniwersytecie Medycznym w Łodzi. W 2007 r. uzyskała tytuł zawodowy epidemiologa. W dniu 28 lutego 2018 r. uchwałą Rady Naukowej Państwowego Instytutu Weterynaryjnego –

Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach uzyskała stopień naukowy doktora nauk weterynaryjnych w dziedzinie nauk weterynaryjnych na podstawie rozprawy doktorskiej pt. „Charakterystyka terenowych szczepów *Mycoplasma synoviae* w zakresie ich genotypu oraz patogenności w przebiegu klinicznych przypadków syndromu anomalii skorupy jaj u kur” zrealizowanej pod opieką naukową promotora dr hab. Grzegorza Tomczyka prof. Instytutu.

Przebieg pracy naukowo-badawczej Pani dr n. wet. Olimpii Kursy od 2005 r. związany jest z Zakładem Chorób Drobiu w PIWet-PIB w Puławach. W okresie 2005–2014 dr Kursy była zatrudniona na stanowisku specjalisty inżynieryjno-technicznego, a przez kolejne lata na stanowisku asystenta. Od 2019 do chwili obecnej pracuje na stanowisku adiunkta.

III. Ocena prac stanowiących szczególne osiągnięcia naukowe będące przedmiotem postępowania habilitacyjnego

Odwołując się do rozdz. 3, art. 219 ust. 1. pkt 2b ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2023 r., poz. 742 z późn. zm.) Pani dr n. wet. Olimpia Kursy wskazała do oceny cykl powiązanych tematycznie **4 artykułów naukowych** pod wspólnym tytułem: „**Różnorodność bakteryjna mikrobiomu układu oddechowego wybranych gatunków drobiu hodowlanego ze szczególnym uwzględnieniem bakterii patogennych**”. W skład jednotematycznego cyklu publikacyjnego przedłożonego do postępowania habilitacyjnego wchodzi:

Publikacja 1

Kursa O., Tomczyk G., Sawicka-Durkalec A., Giza A., Słomiany-Szwarc M.: Bacterial communities of the upper respiratory tract in turkey. *Scientific Report*, 2021, 11 (!):2544
IF=4,966; MNiSW=140 pkt; liczba cytowań (Web of Science) – 14

Publikacja 2

Kursa O., Tomczyk G., Adamska K., Chrzanowska J., Sawicka-Durkalec A.: The Microbial community of the respiratory tract of commercial chickens and turkeys. *Microorganisms*, 2022, 10(5), 987.
IF=4,926; MNiSW=40 pkt; liczba cytowań (Web of Science) – 3

Publikacja 3

Kursa O., Tomczyk G., Sawicka-Durkalec A.: Occurrence of *Ornithobacterium rhinotracheale* in Polish turkey flocks. *Journal of Veterinary Research*, 2022, 66, 77-84.
IF=1,744; MNiSW=140 pkt; liczba cytowań (Web of Science) – 2

Publikacja 4

Kursa O., Tomczyk G., Sieczkowska A., Sawicka -Durkalec A.: Prevalence, identification and antibiotic resistance of *Gallibacterium anatis* isolates from chickens in Poland. *Pathogens*, 2023, 12, 992.
IF=3,7; MNiSW=100 pkt; liczba cytowań (Web of Science) – 0

Tematyka przedstawionych publikacji stanowiących osiągnięcia naukowe jest merytorycznie spójna. Wszystkie prace stanowią oryginalne artykuły napisane w języku angielskim i opublikowane w latach 2021-2023 w recenzowanych czasopismach naukowych umieszczonych w bazie JCR (Journal Citation Report). Podany przez Habilitantkę sumaryczny współczynnik wpływu Impact Factor (IF) publikacji to **15,336**. Suma punktów ministerialnych wynosi **420**. Podana liczba cytowań publikacji tworzących cykl to **19** (wg bazy Web of Science).

Prace wchodzące w skład cyklu stanowią 22% (4/18) całości dorobku Habilitantki w zakresie publikacji w czasopiśmie z listy JCR oraz 26% (420/1645) w zakresie punktów za publikacje po uzyskaniu stopnia doktora, co świadczy o wysokiej jakości czasopism wchodzących w skład cyklu publikacyjnego. Na uwagę zwraca wysoka wartość cytowania pierwszej pracy (14 razy) biorąc pod uwagę czas od jej ukazania się (2021) do dnia złożenia wniosku.

We wszystkich czterech pracach składających się na osiągnięcia naukowe będące podstawą do nadania stopnia doktora habilitowanego, Pani dr n. wet. Olimpia Kursa była pierwszym i korespondencyjnym autorem.

Deklaracje o wkładzie własnym oraz oświadczenia współautorów wskazują na pierwszoplanową rolę dr n. wet. Olimpii Kursy w powstaniu wszystkich publikacji. Współautorzy zgodnie oświadczyli, że prace są wyrazem własnych i oryginalnych hipotez naukowych Habilitantki. Dr n. wet. Olimpia Kursa pełniła funkcję pomysłodawcy badań (publikacja 1 i 2). W realizacji wszystkich prac odgrywała główną rolę w gromadzeniu materiału do badań, wykonywaniu badań laboratoryjnych, opracowywaniu i analizie wyników, formułowaniu wniosków przygotowywaniu manuskryptów. We wszystkich pracach Habilitantka była odpowiedzialna za cały proces edytorski jako autor korespondencyjny tj. za wysłanie manuskryptów do redakcji, wykonywanie korekt po recenzjach.

Należy podkreślić, że wyniki zamieszczone w cyklu publikacji będących podstawą do ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego zostały poddane krytycznemu opiniowaniu przez uznanych specjalistów z tej dziedziny zgodnie z procesem recenzowania peer review.

W uzasadnieniu tematyki podjętych badań i omówieniu celów naukowych przedstawionych w cyklu prac dr n. wet. Olimpia Kursa na wstępie wyjaśniła czym jest mikrobiom i co wpływa na kształtowanie się mikrobiomu bakteryjnego układu oddechowego drobiu. Autorka bardzo przekonująco uzasadniła potrzebę podjęcia przeprowadzonych badań, podkreślając rolę mikrobiomu układu oddechowego. Poznanie składu mikrobiomu układu oddechowego drobiu ma kluczowe znaczenie w utrzymaniu jego stabilności, a tym samym dla stanu zdrowia oraz w zapobieganiu kolonizacji przez patogeny. Dziś już wiadomo, że mikrobiom układu oddechowego czy przewodu pokarmowego wpływa także na parametry produkcyjne ptaków. Ponadto biorąc pod uwagę, że układ oddechowy stanowi jedną z głównych dróg zakażenia i rozprzestrzeniania drobnoustrojów zasadnym jest szczegółowe zbadanie składu tego mikrobiomu.

Habilitantka zwróciła również uwagę na czynniki powodujące destabilizację mikrobiomu i konsekwencje z tym związane. Nakreśliła problem związany z infekcjami układu oddechowego drobiu, występowanie koinfekcji (wirus+bakteria) oraz interakcji patogenów bakteryjnych. Każde zaburzenie składu mikrobiomu ptaków może prowadzić do infekcji, a z drugiej strony, każde wniknięcie bakterii patogennych do układu oddechowego zaburza skład mikrobiomu powodując jego dysfunkcję, umożliwiając rozwój już obecnych bakterii chorobotwórczych lub oportunistycznych.

Brak wystarczających danych w piśmiennictwie na temat mikrobiomu układu oddechowego drobiu, niejako „zmusił” ją jako naukowca, do zbadania i poznania różnorodności bakteryjnej układu oddechowego kur i indyków. Dodatkowo o dociekliwości naukowej Habilitantki świadczy podjęcie badań z uwzględnieniem występowania oraz charakterystyki wybranych gatunków bakterii wchodzących w skład mikrobiomu układu oddechowego. Habilitantka jako obszar swoich zainteresowań wybrała *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT) u indyków oraz *Gallibacterium anatis* u kur niosek i brojlerów, co jest

bardzo zasadne, bowiem bakterie te mają istotne znaczenie w patologii drobiu. Habilitantka wskazała, że dotychczas nie przeprowadzono analizy filogenetycznej szczepów *O. rhinotracheale* wyizolowanych od indyków w Polsce, a co więcej nie zbadano różnorodności bakteryjnej dróg oddechowych indyków z postacią kliniczną ornitobakteriozy. Habilitantka dostrzegła również konieczność uzupełnienia wiedzy z zakresu zjadliwości i wzrastającej lekooporności *G. anatis* – bakterii oportunistycznej u drobiu (komensal dróg oddechowych, pokarmowych i rozrodczych), a jednocześnie izolowanej również z przypadków zakażeń u ludzi.

Kolejnym ważnym aspektem, którym Habilitantka przekonywująco uzasadnia podjęte badania jest konieczność zastosowania nowoczesnych technik diagnostycznych w identyfikacji patogenów zwłaszcza przy jednoczesnych mieszanych infekcjach bakteryjnych ze względu na ograniczoną zdolność metod tradycyjnych stosowanych w bakteriologii (hodowla) w identyfikacji wszystkich występujących bakterii w badanej próbce. Habilitantka w swoich badaniach wykorzystywała sekwencjonowanie nowej generacji (NGS) przeprowadzając sekwencjonowanie metagenomiczne w oparciu o gen 16S rRNA, co dodatkowo świadczy o jej dobrym warsztacie naukowo-badawczym z zakresu nowoczesnych technik.

Cele jakie postawiła sobie dr n. wet. Olimpia Kursa przy realizacji cyklu prac przedstawionych w ramach osiągnięć naukowych to:

- 1) Charakterystyka społeczności bakterii górnych dróg oddechowych u indyków komercyjnych.
- 2) Porównanie różnorodności bakteryjnej dróg oddechowych kur i indyków oraz identyfikacja bakterii patogennych.
- 3) Ocena prewalencji i charakterystyka filogenetyczna izolatów *O. rhinotracheale* w populacji indyków oraz analiza składu bakteryjnego układu oddechowego w trakcie infekcji tym patogenem.
- 4) Ocena występowania i analiza antybiotykooporności szczepów *G. anatis* izolowanych z układu oddechowego kur.

Do realizacji pierwszego celu dr n. wet. Olimpia Kursa użyła łącznie 540 próbek (wymazów) z jamy nosowo-gardłowej i tchawicy pobranych z 9 stad indyków z różnych ferm komercyjnych przeważnie w ramach badań diagnostycznych lub monitoringowych. Badania zostały przeprowadzone przy użyciu sekwencjonowania metagenomicznego poprzez amplifikację genu 16S rRNA ze starterami zaprojektowanymi dla hiper zmiennych regionów V3 i V4. Osiągnięcia wynikające z realizacji pierwszego celu zostały przedstawione w publikacjach nr 1, 2 i 3 wchodzących w cykl habilitacyjny. W toku molekularnych analiz (publikacja 1) dr n. wet. Olimpia Kursa zidentyfikowała 9 typów (*phylum*) bakterii (T-URT-1 do T-URY-9) i jeden niesklasyfikowany oraz 68 rodzin i 144 rodzajów bakterii wchodzących w skład mikrobiomu górnych dróg oddechowych indyków (**upper respiratory tract – URT**). Habilitantka odnotowała istotne różnice w składzie mikrobiomu na poziomie klasy ($p=0.042$) i rodziny ($p=0.0067$). **Ważnym osiągnięciem jest wykazanie, że mikrobiom układu oddechowego indyków składa się głównie z typów *Firmicutes* ($69.11\% \pm 20.53\%$) i *Proteobacteria* ($26.41\% \pm 16.90\%$), dalej z *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Tenericutes*, *Cyanobacteria* i niesklasyfikowanego typu.** W pojedynczych stadach odnotowano bakterie należące do typu *Patescibacteria*, *Synergistetes* i *Verrucomicrobia*. Habilitantka zaznaczyła w dyskusji, że bakterie należące do tych typów nie są czynnikami zakażeń układu oddechowego indyków. Co ciekawe w 3 stadach dominowały bakterie należące do typu *Bacteroidetes* i *Actinobacteria*. We wszystkich stadach *Firmicutes* był zdominowany przez klasę *Bacilli* i *Clostridia*. Typ *Proteobacteria* stanowiły klasy *Gammaproteobacteria* i *Alphaproteobacteria*. Typ *Bacteroidetes* reprezentowany był przez klasę *Bacteroidia*, a typ

Actinobacteria przez klasę *Actinobacteria*. W stadzie gdzie w składzie mikrobiomu dominowały bakterie z typu *Firmicutes*, stwierdzano *Enterococcus*, a także *Actinobacter*, *Psychrobacter*, *Neisseria* oraz gatunki *O. rhinotracheale* *Mycoplasma gallisepticum*.

W ramach swoich badań, Habilitantka wykazała, że w skład mikrobiomu tchawicy indyków wchodzi następujące rodzaje *Ornithobacterium*, *Mycoplasma*, *Gallibacterium*, *Avibacterium*, *Escherichia-Shigella*, *Staphylococcus* i *Streptococcus*. Ważnym osiągnięciem jest stwierdzenie, że w układzie oddechowym indyków najczęściej występuje *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Escherichia-Shigella* (publikacja 1, 2).

Dodatkowo Habilitantka przeanalizowała skład mikrobiomu oddechowego w zależności od wieku indyków (publikacja 1, 2) i pochodzenia geograficznego (publikacja 1). Habilitantka wykazała, że enterokoki występowały częściej u starszych indyków, podczas gdy *Lactobacillus* sp. występowały częściej u młodszych indyków. U indyków zróżnicowanie w liczbie bakterii tworzących warianty sekwencji amplikonu (amplicon sequence variants – ASV) stopniowo wzrastało od 30 tygodnia życia (publikacja 2). Na podstawie otrzymanych wyników Habilitantka wnioskuje, że wraz z wiekiem zmiany w zróżnicowaniu mikrobiomu u starszych ptaków mogą wynikać z ciągłej ekspozycji na liczne stresory związane z zarządzaniem stadem oraz zmianami fizjologicznymi podczas dojrzewania ptaków. Nie bez znaczenia są czynniki związane z nowym środowiskiem, zmianą paszy, a także wpływ stosowanego leczenia (antybiotykoterapii).

W toku analizy geograficznej Habilitantka odnotowała, że spośród 4 województw (wielkopolskie, lubelskie, kujawsko-pomorskie, warmińsko – mazurskie) liczba grup bakterii (tzw. operacyjna jednostka taksonomiczna – OTU, operational taxonomic unit) uzyskanych od indyków była wyższa w stadach z województwa lubelskiego, natomiast najniższa u indyków z województwa warmińsko – mazurskiego (publikacja 1).

W kolejnym etapie pracy dr n. wet. Olimpia Kursa przeanalizowała występowanie dwóch patogenów *Ornithobacterium rhinotracheale* i *Mycoplasma* w próbkach pobranych od indyków. Na podstawie analiz Habilitantka wykazała występowanie *O. rhinotracheale* w 5 stadach w wieku 3 do 30 tygodni, *Mycoplasma* w 3 stadach w wieku od 3 do 22 tygodni (publikacja 1). W trzech 3 stadach występowała *Mycoplasma*, jak i *O. rhinotracheale*. Zaobserwowała również występowanie taksonów bakteryjnych na poziomie rodzajów, które były unikalne lub wspólne dla różnych stad indyków.

Różnorodność mikrobiomu jest determinowana przez szereg czynników. Habilitantka udowodniła, że wiek ptaków jest jednym z czynników wpływających na mikrobiotę układu oddechowego ptaków (publikacja 1, 2). Interesującym i ważnym osiągnięciem jest wykazanie, że skład bakteryjnego mikrobiomu tchawicy zmienia się stopniowo wraz z wiekiem indyków, a różnorodność bakterii może być inna pomiędzy ptakami w tym samym wieku. Na podstawie analizy składu mikrobiomu (ANCOM) identyfikowała kluczowe rodzaje różnicujące mikrobiom układu oddechowego stad indyków. Spośród wszystkich obserwowanych taksonów, *Enterococcus* i *O. rhinotracheale* wykazały istotną różnicę w liczebności mikrobiomu w stadach gdzie stwierdzono również taksony *Mycoplasma* (publikacja 1).

Ponadto Autorka odnotowała, że wraz z wiekiem indyków liczba bakterii tworzących warianty sekwencji amplikonu (ASV) jest wyższa, natomiast u kurcząt wzrost liczby zaobserwowanych ASV był wyższy wraz z rozpoczęciem nieśności kurcząt (publikacja 2). Na podstawie uzyskanych wyników Habilitantka wywnioskowała, że rozpoczęcie nieśności jest czynnikiem stresowym, który może osłabić układ odpornościowy ptaka i umożliwić kolonizację układu oddechowego.

W dalszym etapie pracy dr n. wet. Olimpia Kursa porównała skład mikrobiomu dróg oddechowych kur niosek i indyków rzeźnych (publikacja 2). Materiał stanowiły wymazy z tchawicy od kur z 28 stad i 26 stad indyków (5 ptaków/stado). Na podstawie wykonanej

analizy sekwencjonowania genu kodującego 16S rRNA Habilitantka udowodniła, że **mikrobiom bakteryjny dróg oddechowych kur jest bardziej zróżnicowany niż indyków**, odnotowała że pewne taksony bakterii występują unikalnie u kur, inne u indyków. Co ciekawe, tylko u kur stwierdzono występowanie bakterii z rodzaju *Coenonia*, natomiast tylko u indyków stwierdzono rodzaje *Serratia* i *Stenotrophomonas*. Badania dr Olimpii Kursy wykazały, że dominującym typami w drogach oddechowych kur są kolejno: *Proteobacteria* (66,4%), *Firmicutes* (24,06%), *Actinobacteriota*, *Bacteroidota*. Natomiast u indyków dominowały bakterie należące do typu *Firmicutes* (43,2%) i *Proteobacteria* (42,6%). U kur dominowały bakterie należące do rodziny *Enterobacteriaceae* (52,8%), kolejno *Enterococcaceae* (8,57%), *Staphylococcaceae* (6,27%) i inne. U indyków – odwrotnie niż u kur – bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae* (11,28%) były na drugim miejscu, a dominowały *Enterococcaceae* (19,66%), na trzecim miejscu były *Lactobacillaceae* (8,55%). Na poziomie rodzaju u kur w skład mikrobiomu bakteryjnego górnych dróg oddechowych wchodzi głównie *Escherichia-Shigella*, *Enterococcus*, *Proteus*, a u indyków dominującymi rodzajami bakterii były kolejno *Enterococcus*, *Escherichia-Shigella* i *Lactobacillus*.

W toku badań dr n. wet. Olimpia Kursa zidentyfikowała, za pomocą technik molekularnych, spektrofotometrii mas, obecność w układzie oddechowym kur i indyków bakterii patogennych lub potencjalnie patogennych, wśród nich *Ornithobacterium rhinotracheale*, *Mycoplasma synoviae* i *Mycoplasma gallisepticum*, *Gallibacterium anatis*, *Avibacterium* sp. oraz *Escherichia coli*, *Enterococcus faecium* i *Enterococcus faecalis* (publikacja 1, 2, 3, 4). Kandydatka wykazała wyższą częstość występowania taksonów *Mycoplasma* u kur (17 stad) niż u indyków (2 stada). Natomiast częstość występowania taksonów *Ornithobacterium* była wyższa u indyków (16 stadach) niższa u kur (3 stada). Jednym z najczęstszych stwierdzanych rodzajów bakterii u kurcząt był *Staphylococcus*, natomiast u indyków *Enterococcus*. Wyniki otrzymane przez Panią dr Olimpię Kursę wskazują, że **subkliniczne występowanie patogenów jest powszechne w komercyjnych stadach kurczaków i indyków**, a ich obecność może wpływać na wyniki produkcyjne ptaków (publikacja 2).

Dodać również należy, że Habilitantka wykazała się umiejętnością krytycznej i wyważonej oceny uzyskanych wyników. Habilitantka stwierdziła na podstawie analiz, że drogi oddechowe indyków mogą zawierać bakterie, których rola jest wciąż niejasna lub całkowicie nieznaną. Niektóre bakterie układu oddechowego indyków były zidentyfikowane tylko do poziomu klasy *Gammaproteobacteria* i *Betaproteobacteria*. Kandydatka dostrzegła potrzebę dalszych badań, aby zrozumieć rolę niezidentyfikowanych bakterii w etiopatogenezie chorób układu oddechowego ptaków (publikacja 3).

Ważnym aspektem prac prowadzonych przez dr n. wet. Olimpię Kursę było określenie występowania i charakterystyka *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT) u indyków. Materiał stanowiły wymazy z tchawicy i fragmenty tchawicy pobierane w latach 2015-2020 z 133 stad indyków w Polsce, z czego tylko w 9,8% stad (13/133) obserwowano objawy kliniczne ornitobakteriozy. Diagnostyka za pomocą real-time PCR potwierdziła ORT w 30,83% stadach (41/133), a za pomocą klasycznego PCR (gen 16S rRNA) w 28,57% stadach (38/133). Łącznie sekwencje 38 szczepów zdeponowano w bazie danych GenBank. **Przeprowadzone badania wskazały na wysoką prewalencję ORT w stadach indyków. Habilitantka wnioskuje, że infekcja pierwotna wywołana przez *O. rhinotracheale* występuje subklinicznie.** Przeprowadzona analiza filogenetyczna sekwencji 16S rRNA nie podzieliła izolatów uzyskanych od kur i indyków na osobne grupy. Nie stwierdzono wyraźnego związku między rokiem izolacji a grupą filogenetyczną badanych izolatów *O. rhinotracheale*. Wyniki sekwencjonowania genu 16S rRNA, wykazały **obecność zróżnicowanych społeczności bakterii z rodzaju *Ornithobacterium***.

W mojej opinii dr n. wet. Olimpia Kursa przedstawiła niezwykle interesujący aspekt występowania koinfekcji *O. rhinotracheale* z innymi patogenami bakteryjnymi u indyków

(publikacja 3). Otrzymane wyniki wskazały na **jednoczesne występowanie zakażeń ORT i *Mycoplasma* spp.** oraz na **brak *Bordetella avium***. Obecność *Mycoplasma gallisepticum* i *M. synoviae* stwierdzono w próbkach pobranych z naturalnych ognisk ORT, ptaki wykazywały objawy ze strony układu oddechowego i nerwowego. Praca ma także znaczenia praktyczne, bowiem zakażenia te przyczyniają się do strat ekonomicznych w produkcji drobiarskiej i często przebiegają w postaci bezobjawowej z tego też powodu bardzo istotna jest szybka i precyzyjna diagnostyka.

W publikacji 2 i 4 wyszczególnionej w osiągnięciu naukowym dr n. wet. Olimpia Kursa dokonała oceny występowania i antybiotykooporności szczepów *Gallibacterium anatis* izolowanych z tchawicy kur niosek (162 stad) i kurcząt brojlerów (20 stad) w latach 2022-2023. Habilitantka prowadziła identyfikację za pomocą PCR ze starterami dla genu *gyrB* i 16-23S rRNA oraz przy wykorzystaniu spektrometrii masowej MALDI-TOF. Potwierdziła **występowanie *G. anatis* (*G. anatis* biovar *haemolytica*) u kur niosek (41 stad)** co stanowiło 22.5% wszystkich badanych stad (41/182). W niektórych stadach odnotowano spadek nieśności oraz objawy ze strony układu oddechowego.

Pani dr n. wet. Olimpia Kursa w swoich badaniach wykazała **wysoką oporność *G. anatis*** na enrofloksacynę, tylmikozyne, tylozynę, amoksyliny, tetracyklinę oraz wrażliwość na kolistyne i ceftazydym (cefalosporynę III generacji). Habilitantka potwierdziła oporność wszystkich izolatów *G. anatis* na co najmniej 4 antybiotyki (z 11) oraz 20% izolatów na co najmniej 8 antybiotyków. Najwyższy odsetek izolatów był oporny na co najmniej pięć antybiotyków (43,3%). Zdaniem Pani doktor szczepy *G. anatis* izolowane od kur niosek w Polsce cechuje wielolekooporność, co jest szczególnie niepokojące ze względu na ich rozprzestrzenienie.

W swoich badaniach, oprócz analizy antybiotykooporności, dr n. wet. Olimpia Kursa skupiła się również na ocenie występowania genów kodujących czynniki zjadliwości u *G. anatis* oraz genów warunkujących oporność na antybiotyki. Ponadto badała zależność między opornością a występowaniem czynników zjadliwości u tej bakterii. Dr n. wet. Olimpia Kursa przebadła 36 izolatów za pomocą PCR w kierunku 3 genów zjadliwości (*gyrB*, *gtxA* i *flfA*) i 4 genów oporności na antybiotyki, w tym na tetracykliny (*tetB*, *tetH*), β -laktamy (*bla_{ROB}*) i aminoglikozydy (*aphA*). Efektem było **stwierdzenie obecności genów wirulencji *gyrB* u wszystkich szczepów, genu *gtxA* u 89%, a *flfA* u 14% szczepów. Najczęściej występującym genem u *G. anatis* był gen warunkujący oporność na tetracyklinę *tetB* (61%) i *tetH* (36%)**. Obecność genu *aphA* Habilitantka potwierdziła u 16,7% izolatów, a genu *bla_{ROB}* u 5,6%. Odnotowała, że izolaty z genem *bla_{ROB}* posiadały również gen *tetB* i *tetH*. Wyniki uzyskane przez Habilitantkę wskazały na występowanie istotnych różnic pomiędzy izolatami *G. anatis* związanych z obecnością genów wirulencji *gtxA* i *gyrB* oraz obecnością genów oporności.

Podsumowując, na podstawie przeglądu literatury, według mojej wiedzy są to pierwsze badania nad mikrobiomem bakteryjnym górnych dróg oddechowych indyków w Polsce. Dr n. wet. Olimpia Kursa wykazała różnorodny skład bakteryjny tego mikrobiomu, przedstawiła występujące najważniejsze typy bakterii oraz zidentyfikowała bakterie, których dotychczas nie wykrywano i nie wiązano z układem oddechowym u tego gatunku ptaka. Wykazała wpływ wieku na zmianę składu mikrobiomu w tchawicy indyków.

Habilitantka odnotowała różnice w występowaniu populacji bakterii kur i indyków oraz występowanie szerokiego spektrum bakterii patogennych w układzie oddechowym, których sama obecność nie warunkuje wystąpienia choroby.

Określiła prewalencję zakażeń *Ornithobacterium rhinotracheale* (28.57% w PCR; 30.83% w real-time PCR) w stadach indyków w Polsce i wykazała ich zróżnicowanie. Ponadto odnotowała wysoką wielolekooporność szczepów *Gallibacterium anatis* izolowanych z układu

oddechowego kur niosek, występowanie 3 genów wirulencji oraz genów oporności na tetracykliny, β -laktamy i aminoglikozydy u tych izolatów.

Z obowiązku recenzenta jestem zmuszona zwrócić uwagę na niedociągnięcia Kandydatki podczas przygotowywania dokumentacji

Podany przez Habilitantkę współczynnik IF przy 3 z 4-ech czasopism jest niewłaściwy zgodnie z rokiem opublikowania prac: Scientific Report 2021, Microorganisms 2022, Journal of Veterinary Research 2022. Należy dodać, że aktualizacja wskaźników IF dla publikacji z 2022 roku rozpoczęła się wraz z ukazaniem się najnowszej edycji Journal Impact Factor (JIF2022) w dniu 28 czerwca 2023 r., czyli po złożeniu przez Habilitantkę wniosku do Rady Doskonałości Naukowej o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego (wniosek z datą 13.09.2023 r.), zatem możliwe było zaktualizowanie tych danych. Podana suma IF jest wyższa o 0,339.

Publikacja	Czasopismo	Podany IF	Jaki powinien być
Nr 1	Scientific Report, 2021	4,966	IF 2021 = 4,997
Nr 2	Microorganisms, 2022	IF 2021 = 4,926	IF 2022 = 4,5
Nr 3	Journal of Veterinary Research, 2022	IF 2020 = 1,744	IF 2022 = 1,8
Nr 4	Pathogens, 2023	IF 2022 = 3,7	tu jest poprawnie IF 2022 = 3,7
	Suma	15,336	14,997

Ponadto należy pamiętać, aby stosować właściwą nazwę Ministerstwa dla punktów czasopism z wykazów opublikowanych w okresie 1 stycznia 2021 – 31 grudnia 2023 r. tj. Ministerstwa Edukacji i Nauki (MEiN)

Należy podać datę, na który dzień pochodzi podana liczba cytowań z bazy Web of Science.

Habilitantka używa wymiennie sformułowań..... „mikrobiom oddechowy” i „mikrobiomu układu oddechowego”. Sformułowanie „mikrobiom oddechowy” jest stosowane powszechnie i jest krótszym określeniem dla „mikrobiomu układu oddechowego”. Moim zdaniem przy pierwszym jego użyciu należy wprowadzić wyjaśnienie w tekście np.: ...mikrobiom układu oddechowego określane również jako/znany pod nazwą mikrobiom oddechowy.... lub w nawiasie mikrobiom układu oddechowego (mikrobiom oddechowy).....

W celach badawczych Habilitantka napisała

„Cel 1:u indyków komercyjnych.”

„Cel 2:dróg oddechowych kur i indyków...”

„Cel 3: charakterystyka w populacji indyków..”

„Cel 4: szczepówizolowanych z układu oddechowego kur..”

W mojej opinii w celach pracy należy sformułować bardziej precyzyjnie jakich ptaków badania dotyczą w odniesieniu do typu produkcyjnego, bowiem w różnych publikacjach były to indyki rzeźne, hodowlane, brojlery kurze oraz kury nioski.

Habilitantka przy realizacji celu 1 (publikacja 1, 2, 3) napisała, że „...wykorzystano wymazy z jamy nosowo-gardłowej i tchawicy...”, jednakże w publikacjach w rozdziałach materiały i metody (sample collection, sampling procedures) podano, że próbki pochodziły tylko z tchawicy. Dalej, w wynikach i dyskusji Habilitantka opisuje społeczność bakterii górnych

dróg oddechowych (tchawicy), nie rozdzielając na jamę nosowo-gardłową i tchawicę. W kontekście badań mikrobiomu układu oddechowego istotne jest uściślenie miejsca próbkobrania.

Habilitantka napisała (załącznik 3, na str. 11 w wersji elektronicznej): „...*Enterokoki występowały częściej u starszych indyków, podczas gdy Lactobacillus występowały częściej u młodszych indyków (publikacja 1, 2, 3)...*”, jednakże w publikacji nr 3 nie przeprowadzono analiz pod względem wieku indyków, w metodyce (Sampling procedures) nie podawano wieku ptaków, od których pobierano próbki.

W publikacji 4 Habilitantka wykrywała *Gallibacterium anatis* w próbkach od kur, w tym ze 162 stad niosek i 20 stad brojlerów. *Gallibacterium anatis* zidentyfikowała tylko u kur niosek. W mojej opinii stwierdzenie braku występowania *G. anatis* w stadach brojlerów powinno zostać przedyskutowane.

Autoreferat nie podlega ocenie, jednakże przy omawianiu osiągnięć zabrakło mi informacji od jakich ptaków – chorych czy zdrowych – pochodziły analizowane próbki oraz zakresu czasowego badanych stad. Informacje te były podane w publikacjach wchodzących w skład cyklu.

Habilitantka w autoreferacie napisała (załącznik 3, na str. 11 w wersji elektronicznej): „...*Wymazy z tchawicy zawierały taksony sklasyfikowane jako Ornithobacterium (1,58 ± 1,87%), Mycoplasma (0,01 ± 0,02%), Gallibacterium (0,81 ± 2,19%), Avibacterium (0,01 ± 0,03%), Staphylococcus (1,05 ± 1,6%) i Streptococcus (0,36 ± 0,93%) (publikacja 1, 2, 3)...*” Według mojej opinii taki sposób zapisu nie jest właściwy, sugeruje bowiem, że identyczny wynik składu procentowego taksonów otrzymano we wszystkich trzech publikacjach (nr 1, 2 oraz w 3).

Powtórzenie treści na str. 14 oraz str. 15

str. 14: „...Wiele patogenów związanych z infekcjami dróg oddechowych u drobiu zostało wykrytych poprzez sekwencjonowanie genu 16S rRNA. Jednak drogi oddechowe indyków mogą zawierać bakterie, których rola jest niejasna lub całkowicie nieznaną, takie jak te, które nie zostały sklasyfikowane poniżej klasy *Betaproteobacteria* - klasy, która obejmuje ponad 400 gatunków (45). Innymi bakteriami układu oddechowego, które stwierdzono u indyków były te zidentyfikowane tylko do poziomu klasy jako *Gammaproteobacteria*.....(publikacja 1, 2, 3)”.

str. 15: „...Wiele patogenów związanych z infekcjami dróg oddechowych u drobiu zostało wykrytych poprzez sekwencjonowanie genu 16S rRNA. Jednak drogi oddechowe indyków mogą zawierać bakterie, których rola jest niejasna lub całkowicie nieznaną, takie jak te, które nie zostały sklasyfikowane poniżej klasy jak np.: *Betaproteobacteria* czy *Gammaproteobacteria*, która obejmuje różne grupy bakterii o dużym znaczeniu w weterynarii i medycynie (publikacja 1, 2)...”.

Uwagi edytorskie:

Habilitantka nie ustrzegła się literówek oraz niepoprawnych sformułowań w trakcie pisania autoreferatu, np.

- brak ponumerowanych stron w załączniku 3 przedłożonego autoreferatu i inne rozmieszczenie tekstu w wersji książkowej i elektronicznej utrudnia odnośnienie się do konkretnych fragmentów.

- Habilitantka kilkakrotnie używa określenia „antybiotykoodporność” zamiast „antybiotykoooporność” (załącznik 3; na str. 9 i 16 w wersji elektronicznej).

-Habilitantka napisała „...*Stada ognisk choroby miały objawy kliniczne ze strony układu oddechowego, takie jak zapalenie pęcherzyków płucnych...*”.

Błędem jest użycie określenia „pęcherzyki płucne” w odniesieniu do ptaków, bowiem płuca ptaków (w odróżnieniu do płuc ssaków) nie posiadają pęcherzyków płucnych, zatem nie stanowią one miejsca wymiany gazowej u ptaków. Ponadto, „...zapalenie pęcherzyków płucnych..” nie jest objawem (załącznik 3; na str. 5 i 16 w wersji elektronicznej);

- wymieniając wirusowe patogeny układu oddechowego, powinno być wirus rzekomego pomoru drobiu (a nie nazwa choroby: rzekomy pomór drobiu) (załącznik 3; na str. 5 w wersji elektronicznej);

- styl: „...nie wystąpiły żadne poważne ogniska choroby...”(załącznik nr 3, na str. 14 w wersji elektronicznej);

-„układu jelitowego” zamiast „jelit lub układu/przewodu pokarmowego” (załącznik 3; na str. 6 w wersji elektronicznej);

-„te dwie bakterie” zamiast „te dwa gatunki bakterii” (załącznik 3; na str. 9 w wersji elektronicznej);

-„różnorodność składu bakteriologicznego” zamiast „składu bakteryjnego” (załącznik 3; na str. 11 w wersji elektronicznej);

-„wielokrotne infekcje *Ornithobacterium*” należy doprecyzować czy chodzi o infekcje nawracające, reinfekcje czy raczej o liczne przypadki zakażeń *Ornithobacterium rhinotracheale* u indyków (załącznik 3; na str. 9 w wersji elektronicznej).

- uważam, że w kontekście obowiązującego od blisko 20 lat (od 1 stycznia 2006 r.) w Polsce i w całej Unii Europejskiej całkowitego zakazu stosowania antybiotykowych stymulatorów wzrostu jako dodatków paszowych w żywieniu zwierząt, należałoby doprecyzować lub zmodyfikować fragment „...*użycie antybiotyków jako stymulatorów wzrostu doprowadziło do wzmocnienia i rozpowszechnienia oporności u bakterii...(Gallibacterium anatis)*” (załącznik 3; na str. 7 w wersji elektronicznej).

-zgodnie z zasadami nomenklatury genetycznej, nazwy genów powinny być pisane małą literą i kursywą (załącznik 3; na str. 17 w wersji elektronicznej);

- „spp.” nie powinno być pisane kursywą (załącznik 3; na str. 3 w wersji elektronicznej);

- literówki: „grypy” zamiast „grupy” (załącznik 3; na str. 6 w wersji elektronicznej);

W spisie piśmiennictwa dwie pozycje zostały zdublowane.

nr 4 i 5 Choi et al. 2015.: Metagenomic Analysis of Chicken Gut Microbiota for Improving Metabolism and Health of Chickens - A Review. *Asian-Australas J Anim Sci*.

oraz 16 i 20 Abd El-Ghany W.A. 2021: An Updated Comprehensive Review on Ornithobacteriosis: A Worldwide Emerging Avian Respiratory Disease. *Open Vet J*.

Powyższe uwagi mają charakter porządkowy i konstruktywny oraz nie umniejszają wartości ocenianego dorobku naukowego Kandydatki, ani nie wpływają na poziom prowadzonych przez nią badań.

Podsumowując uważam, że publikacje naukowe przedstawione mi do oceny jako osiągnięcia naukowe dr n. wet. Olimpii Kursy tworzą logiczny i spójny cykl z zakresu różnorodności mikrobiomu układu oddechowego drobiu ze szczególnym uwzględnieniem występowania i charakterystyki bakterii istotnych w patologii układu oddechowego. Autorka wykonała obszerną pracę, uzyskała oryginalne wyniki, które wnoszą znaczący wkład w rozwój nauk weterynaryjnych, zwłaszcza z zakresu awiopatologii. Uzyskane wyniki ze względu na aktualność problematyki badawczej mają charakter poznawczy, naukowy, ale wartością dodaną jest także ich praktyczny aspekt, bowiem mogą być pomocne w ocenie składu mikrobiomu układu oddechowego ptaków, potwierdzają istotność wpływu właściwego składu mikrobiomu dla zdrowia ptaków. Stwierdzam, że osiągnięcia naukowe będące przedmiotem postępowania habilitacyjnego dr n. wet. Olimpii Kursy spełniają w pełni wymaganiom stawianym rozprawom habilitacyjnym.

IV. Informacja o spełnieniu przez Kandydatkę kryterium dotyczącego wykazania się istotną aktywnością naukową lub artystyczną

1. Ocena pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych dr n. wet. Olimpii Kursy

Dorobek naukowy dr n. wet. Olimpii Kursy **poza cyklem** prac prezentującym osiągnięcia habilitacyjne obejmuje **19 publikacji** naukowych, w tym **14 publikacji z listy JCR i 5 publikacji spoza JCR (bez IF)**.

W podsumowaniu całości dorobku **wraz z cyklem (4)** Pani Doktor jest autorem **23 publikacji (19+4), w tym 18 publikacji z listy JCR (14+4)**.

Spośród 19 publikacji, 2 prace opublikowano przed doktoratem i były to prace w czasopismach z listy JCR.

Spośród 19 publikacji, 17 prac opublikowano po doktoracie: 12 oryginalnych z listy JCR i 5 publikacji bez współczynnika IF.

Kandydatka w swoim dorobku posiada współautorstwo w **1 monografii i w 4 rozdziałach** z monografii naukowych.

Oceniając aktywność naukową Kandydatki na konferencjach naukowych, należy wspomnieć o łącznie **65 doniesień konferencyjnych** w tym **33** prezentowanych na konferencjach krajowych oraz **32** na konferencjach międzynarodowych. Przed doktoratem Kandydatka była autorką 28 doniesień konferencyjnych, po doktoracie 37.

Całkowita **suma punktów** ministerialnych za publikacje naukowe wraz z cyklem habilitacyjnym to **1680 pkt.**

Suma punktów uzyskanych za publikacje z **wyłączeniem cyklu habilitacyjnego to 1260 pkt.** (1680-420). Suma punktów **za publikacje naukowe przed uzyskaniem stopnia doktora to 35 pkt.** Suma punktów za publikacje naukowe **po uzyskaniu stopnia doktora bez cyklu habilitacyjnego to 1225 pkt., wraz z cyklem habilitacyjnym to 1645 pkt.** (1225 pkt. + 420 pkt. cykl habilitacyjny). Dorobek punktowy za publikacje po uzyskaniu stopnia doktora (bez cyklu) stanowi 97% całości dorobku publikacyjnego (1225/1260). Liczba punktów za monografię i rozdziały w monografiach naukowych to 80 punktów ministerialnych.

Uwzględniając korektę odnośnie obliczonego przez Kandydatkę współczynnika IF za prace wchodzące w cykl habilitacyjny (14,997, a nie 15,336), to sumaryczny **Impact Factor** (wg

listy JCR zgodnie z rokiem opublikowania) dorobku naukowego Habilitantki wynosi **50,763**, a po wyłączeniu prac wchodzących w skład cyklu habilitacyjnego 35,766 (50,763-14,997).

Wartość wskaźnika IF za prace opublikowane przed uzyskaniem stopnia naukowego to **1,921**, zaś po uzyskaniu stopnia naukowego doktora to **IF 48,842**, co świadczy o zwiększonej aktywności publikacyjnej Habilitantki po doktoracie.

Liczba cytowań opublikowanych prac według bazy Web of Science (WoS) Core Collection (z dnia 30.08.2023) to 111 (82 bez autocytowań), według bazy Scopus 122 (92 bez autocytowań).

Indeks Hirscha (z dnia 30.08.2023) według bazy Web of Science Core Collection i bazy Scopus 6.

Z obowiązku recenzenta muszę zwrócić uwagę na niedociągnięcie Kandydatki podczas przygotowywania analizy dorobku bibliograficznego. Podana w tabeli wartość wskaźnika Impact Factor (IF=1,921) za publikacje przed uzyskaniem stopnia doktora (n=2; załącznik 4). różni się od wartości otrzymanej po zsumowaniu IF za te publikacje (IF=2,279; załącznik nr 4, str. 6; załącznik nr 5, str. 2).

Po zapoznaniu się z dorobkiem naukowym Pani dr n. wet. Olimpii Kursy można stwierdzić, że jest ona dojrzałym pracownikiem naukowym. W pierwszym okresie zatrudnienia w Zakładzie Chorób Drobni PIWet-PIB w Puławach Pani Doktor zajmowała się **diagnostyką grypy ptaków**, skupiając się na serologii. Obok głównych prac, aktywnie włączyła się też w badania laboratoryjne związane z **mykoplazmami drobiu**. W tym czasie rozwijała i doskonaliła swoje umiejętności co przełożyło się na opanowanie szerokiego zakresu metod i technik badawczych. Efektem pierwszych prac było współautorstwo w 3 rozdziałach monografii. Habilitantka wyznaczyła sobie w tym czasie wiodący kierunek prac badawczych, jakim stały się zakażenia bakteryjne, a przede wszystkim diagnostyka, epidemiologią i charakterystyka mykoplazm u drobiu, gołębi i ptaków dzikich.

Zainteresowania naukowe dr n. wet. Olimpii Kursy koncentrowały się na następujących tematach badawczych:

1) Diagnostyka i charakterystyka *Mycoplasma synoviae* u drobiu w Polsce

Habilitantka dostrzegła potrzebę poszukiwania nowych rozwiązań w zakresie wykrywania zakażeń *Mycoplasma* u drobiu. Zagadnienia z tego zakresu były w centrum jej zainteresowań jeszcze przed uzyskaniem stopnia doktora nauk weterynaryjnych. Habilitantka udoskonaliła diagnostykę *M. synoviae* u drobiu, co ma duże znaczenie praktyczne ze względu na częste zakażenia bezobjawowe prowadzące do immunosupresji, obniżenia skuteczności szczepień przeciwko innym chorobom oraz strat ekonomicznych. Dr n. wet. Olimpia Kursy opracowała metodę amplifikacji w warunkach stałej temperatury (Loop-mediated isothermal amplification - LAMP) do szybkiej diagnostyki *M. synoviae*. Dzięki prostocie wykonania i braku konieczności użycia specjalistycznej i drogiej aparatury metoda ta może być stosowana przez małe laboratoria badawcze. Rezultaty badań opublikowała w 2 publikacjach, w których była pierwszym autorem, a jej wkład obejmował opracowanie koncepcji badań, opracowanie metodyki, zaplanowanie i wykonanie analiz laboratoryjnych, opracowanie i interpretację wyników, sformułowanie wniosków oraz przygotowanie i korektę manuskryptu.

Ważnym efektem prac badawczych dr n. wet. Olimpii Kursy nad *M. synoviae* u drobiu była rozprawa doktorska pod kierunkiem profesora Grzegorza Tomczyka, który jest niekwestionowanym ekspertem w obszarze zakażeń drobiu mykoplazmami. Dr Kursy wykazała wysoką prewalencję zakażeń *M. synoviae* (30%) w stadach kur w Polsce, które głównie miały przebieg subkliniczny. Na podstawie przeprowadzonej analizy filogenetycznej

udowodniła zróżnicowania szczepów *M. synoviae* sugerując ewolucyjną dynamikę tego genu *vlhA* wśród krajowych szczepów na przestrzeni 6 lat badań. Wykazała, że zmiany w regionie PRR mogą wskazywać na swoistą zdolność szczepów izolowanych z przypadków chorobowych do kolonizacji układu rozrodczego kury i następowego wywoływania anomalii wierzchołka skorupy jaja (Eggshell Apex Abnormalities – EAA). Dr n. wet. Olimpia Kursa scharakteryzowała patogenność szczepów *M. synoviae* w oparciu o model zakażenia zarodków kurzych SPF, a także opisała aspekty kliniczne u kur niosek, produkcyjne, patomorfologiczne w odniesieniu do dwóch szczepów *M. synoviae* reprezentujących różne typy genetyczne. Efekty badań opublikowała w 3 publikacjach.

2) Badania nad jakością skorupy jaja i wykrywanie zmian w skorupie spowodowanych zakażeniem *Mycoplasma synoviae*.

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk weterynaryjnych w 2018 roku, dr n. wet. Olimpia Kursa kontynuowała prace związane ze zmianami skorup jaj spowodowanymi zakażeniem *M. synoviae* u kur. Podczas realizacji tych prac badawczych podjęła współpracę z zespołem z Wydziału Mechatroniki i Fotoniki Politechniki Warszawskiej, z Wydziałem Nowych Technologii i Chemii Wojskowej Akademii Technicznej oraz z Instytutem Optoelektroniki Wojskowej Akademii Technicznej. Efektem są multidyscyplinarne prace badawcze i wysoko punktowane publikacje. W ramach badań stosowała różnorodne techniki:

➤ metoda optycznej tomografii koherentnej.

Po raz pierwszy zastosowano tą metodę do analizy skorupy jaja. Jej zaadaptowanie pozwoliło zobrazować zmiany ultrastrukturalne w warstwach wapiennych skorupy jaj wywołane przez *M. synoviae*. Wykazano deformacje porów skorupy jaj, co może prowadzić do ich niedrożności i wpływać na wymianę gazową, a w konsekwencji przyczynić się do zamieralności zarodków w trakcie inkubacji. Efektem była publikacja w BMC Veterinary Research, w przygotowaniu. której jest widoczny wiodący wkład Pani Doktor, obejmujący m.in. opracowanie koncepcji badań, metodyki, zaplanowanie i wykonanie analiz laboratoryjnych, opracowanie i interpretacja wyników, sformułowanie wniosków oraz przygotowanie i korekta manuskryptów.

➤ Spektralna technika wykrywania zmian w skorupkach jaj spowodowanych przez *M. synoviae*.

Dzięki zastosowaniu techniki spektralnej VIS i analizie opartej na metodzie drzewa klasyfikacyjnego-CTM, była możliwa identyfikacja zmian skorupy jaj. Habilitantka przeprowadzała doświadczenia na zwierzętach celem pozyskania prób do badań oraz współredagowała manuskrypt publikacji. Otrzymane wyniki mają znaczący aspekt aplikacyjny bowiem mogą być pomocne w rozróżnianiu jaj zakażonych *M. synoviae*. Efektem naukowej współpracy była publikacja w Poultry Science.

➤ Spektrometria światła odbitego i analiza danych oparta na sztucznej inteligencji do wykrywania zmian skorupy jaja kur spowodowanych przez *M. synoviae*.

Habilitantka przy współpracy z zespołem z Politechniki Warszawskiej zastosowała rozwiązanie optyczne, w którym analiza danych spektralnych uzyskanych ze światła odbitego od skorup jaj została wykorzystywana do określenia, czy pochodzą one od zdrowych kur, czy od kur zakażonych *M. synoviae*. Efekty badań opublikowała w 1 publikacji (Applied Sciences).

➤ Wielospektralny przenośny reflektometr światłowodowy do klasyfikacji skorupek jaj kurzych z przypadków zakażeń *M. synoviae*.

Efektem badań prowadzonych przez Habilitantkę wraz z zespołami z Politechniki Warszawskiej i Wojskowej Akademii była praca w Sensors. Habilitantka pobierała i zabezpieczała materiał do badań oraz brała udział w redagowaniu manuskryptu publikacji. Otrzymane wyniki współczynnika F-score dla klasyfikacji pochodzenia próbek wykazały,

że odsetek jaj pochodzących od kur zakażonych *M. synoviae* wynosi do 87% dla białych i 96% dla brązowych skorup jaj.

3) Występowanie *Mycoplasma* spp. u gołębi pocztowych i gołębi ozdobnych w Polsce.

Temat ten dr n. wet. Olimpia Kursa realizowała wspólnie z Katedrą Chorób Ptaków z Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego. Udział Habilitantki polegał na dostarczeniu próbek do badań i redakcji manuskryptu przygotowanego do publikacji. Po raz pierwszy określono związek między występowaniem *Mycoplasma* spp. w odniesieniu do rasy i stanu zdrowia gołębi. Badania potwierdziły zakażenie u 92% gołębi pocztowych i 85% gołębi ozdobnych. Infekcje pojedynczym gatunkiem stwierdzono u 40% gołębi, wieloma u 49% gołębi. Ogółem częstość zakażeń wśród gołębi wynosiła odpowiednio 79% dla *M. columborale*, 49% *M. columbinum*, 23% *M. columbinasale*. U żadnego gołębia nie wykryto materiału genetycznego *M. gallisepticum* i *M. synoviae*. Są to ciekawe i ważne osiągnięcia, bowiem potwierdziły wysoką prewalencję *Mycoplasma* spp. u gołębi domowych, a jednocześnie wykazały, że gołębie domowe nie są wektorem i rezerwuarem *M. gallisepticum* i *M. synoviae*, dwóch gatunków mykoplazm, które mają najważniejsze znaczenie w patologii drobiu. Rezultatem była praca oryginalna w *Avian Diseases*.

4) Występowanie zakażeń *Mycoplasma* spp. u dzikich ptaków.

Kolejne prace badawcze, w których była zaangażowana dr n. wet. Olimpia Kursa dotyczyły tematów:

- **Występowanie *Mycoplasma gallisepticum* u dzikich ptaków: przegląd systematyczny i metaanaliza.**
- **Występowanie *Mycoplasma* spp. u dzikich ptaków: analiza filogenetyczna i potencjalne czynniki wpływające na dystrybucję.**
- ***Mycoplasma* spp. u dzikich gęsi.**

Efektom podjętych badań były 3 publikacje, w których Kandydatka była drugim współautorem lub autorem na dalszych pozycjach, a jej wkład w powstanie tych publikacji polegał na współredagowaniu manuskryptu. Wyniki badań potwierdziły, że dzikie wędrowne ptaki wodne mogą być rezerwuarem i wektorem różnych gatunków z rodzaju *Mycoplasma*, które mogą powodować straty ekonomiczne w hodowli gęsi.

5) Diagnostyka molekularna i analiza filogenetyczna *Riemerella anatipestifer* u drobiu i dzikich gęsi w Polsce.

Celem badań prowadzonych przez zespół badawczy, do którego należała dr n. wet. Olimpia Kursa było określenie występowania infekcji *Riemerella anatipestifer* u różnych rodzajów drobiu komercyjnego w Polsce oraz weryfikacja potencjalnej roli dzikich gęsi jako wektorów. Temat jest bardzo aktualny i ważny w aspekcie klinicznym, jaki i ekonomicznym, gdyż *Riemerella anatipestifer* jest jednym z najistotniejszych patogenów bakteryjnych drobiu. Za pomocą technik molekularnych stwierdzono zakażenie w 35,7% stadach kaczek, 30% stad gęsi i 3,2% indyków. Wyniki badań wykazały wysoką prewalencję zakażeń *R. anatipestifer* u dzikich gęsi (94,7%). Stwierdzono, że izolaty *R. anatipestifer* od drobiu komercyjnego krążą w populacjach dzikich ptaków, ale nie są przenoszone z powrotem na drób. Habilitantka była współautorką publikacji (ostatni autor).

6) Kompozycja bakteryjna jajowodów u indyków.

Obok prac nad mikrobiomem bakteryjnym układu oddechowego drobiu, Habilitantka swoje zainteresowania badawcze poszerzyła o badania różnorodności składu bakteryjnego układu rozrodczego. Według najlepszej wiedzy, Pani dr n. wet. Olimpia Kursa dokonała po raz pierwszy charakterystyki mikrobiomu bakteryjnego jajowodu indyczek. Do badań

wykorzystano próbki z jajowodu indyczek BUT-6 (w 49-52 tyg. życia). Habilitantka dokonała analizy sekwencji fragmentu V3-V4 bakteryjnego genu 16S rRNA. Na podstawie wyników zidentyfikowała zbiorowiska bakterii w jajowodzie indyczek, porównała je ze składem różnorodności bakteryjnej jajowodu kur. Opisała 19 rodzajów wykrytych w jajowodach indyków w tym unikalne taksony. Habilitantka odnotowała różnice w składzie różnorodności bakteryjnej na poziomie rodzin i rodzajów. Po raz pierwszy odnotowała występowanie pewnych bakterii u indyków, które dotychczas nie były u nich stwierdzane. Otrzymane wyniki mają znaczenie poznawcze, jak i praktyczne. Znajomość składu bakterii w jajowodzie może być przydatna w kontrolowaniu, diagnozowaniu i leczeniu infekcji. Bakterie zasiedlające układ rozrodczy (jajowód) mogą wpływać na jego prawidłowe funkcjonowanie, nieśność oraz jakość jaj. Efektem była publikacja w Scientific Reports, w której dr Olimpia Kursa była pierwszym i korespondencyjnym autorem. Przy realizacji pracy przebiega się pierwszoplanowa rola Pani Doktor, która polegała na opracowaniu koncepcji badań, metodyki, zaplanowaniu i wykonaniu analiz laboratoryjnych, opracowaniu i interpretacji wyników, sformułowaniu wniosków oraz na przygotowaniu i korekcie manuskryptu.

Całą aktywność naukową dr n. wet. Olimpii Kursy oceniam pozytywnie. W okresie po uzyskaniu stopnia naukowego doktora, znacznie wzmożyła swoją aktywność naukową. Ranga czasopism naukowych w których Habilitantka publikowała swoje wyniki wskazuje na wysoką jakość badań przez nią prowadzonych.

2. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.

Pani dr n. wet. Olimpia Kursa odbyła 3 staże szkoleniowe w jednostkach zagranicznych, w których zdobywała doświadczenie i podnosiła umiejętności w zakresie diagnostyki mykoplazm drobiu. Szkoda tylko, że były to pobyty krótkoterminowe (7-10 dni): w 2015 r. Weybridge, Wielka Brytania, Mycoplasma Team, Animal and Plant Health Agency; w 2018 r. w USA, University of Georgia, Poultry Diagnostic & Research Center, w 2019 r. w University of Melbourne w Australii, w Asia-Pacific Centre for Animal Health, Melbourne Veterinary School, Faculty of Science.

Ponadto Habilitantka doskonalila również wiedzę i umiejętności z zakresu narzędzi bioinformatycznych uczestnicząc w 2 szkoleniach (2022, 2023). Odbyła również szkolenie „dla osób odpowiedzialnych za planowanie procedur i doświadczeń oraz za ich przeprowadzanie, dla osób wykonujących procedury, dla osób uśmiercających zwierzęta”

3. Współpraca z krajowymi i zagranicznymi ośrodkami naukowymi oraz sektorem gospodarczym

Habilitantka nawiązała współpracę naukową z jednostkami w Polsce:

- 1) z zespołem **Wydziału Mechatroniki i Fotoniki** Politechniki Warszawskiej w Warszawie
- 2) z **Wydziałem Nowych Technologii i Chemii** Wojskowej Akademii Technicznej w Warszawie
- 3) z **Instytutem Optoelektroniki** Wojskowej Akademii Technicznej w Warszawie.

Habilitantka uczestniczyła w badaniach nad jakością skorupy jaj pochodzących od kur zakażonych *Mycoplasma synoviae*. Dzięki nawiązanej współpracy do analizy skorupy jaj po raz pierwszy zastosowano innowacyjną metodę optycznej tomografii koherentnej (OTC). Jej zaadaptowanie pozwoliło zobrazowanie zmian ultrastrukturalnych w warstwach wapiennych skorupy jaj wywołanych przez *M. synoviae*.

4) z **Katedrą Chorób Ptaków**, Wydziału Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie w zakresie mykoplazm u gołębi i gęsi.

Habilitantka nawiązała współpracę naukową z **2 jednostkami zagranicznymi**:

- 1) z Instytutem Weterynaryjnych Badań Medycznych, Centrum Badań Rolniczych w **Budapeszcie (Węgry)** w zakresie szczepów *Mycoplasma* spp. pochodzących od gęsi.
- 2) oraz z zespołem Narodowego Centrum Naukowym Instytutu Doświadczalnej i Klinicznej Medycyny Weterynaryjnej w **Charkowie (Ukraina)** w zakresie diagnostyki *Riemerella anatipestifer*.

Współprace naukowe zaowocowały łącznie 7 pracami opublikowanymi w czasopismach z listy JCR o wysokim współczynniku IF i wartości punktowej, takich jak: BMC Veterinary Research, Sensors, Poultry Science, Pathogens.

Żałować należy, że dr n. wet. Olimpia Kursa nie omówiła współpracy z sektorem gospodarczym, chociaż brała udział w kilku zadaniach badawczych (PIWet-PIB) o takim charakterze, m.in. opracowanie testu immunoenzymatycznego do identyfikacji mykoplazm u drobiu (2012-2013), opracowanie szczepionki przeciwko mykoplazmozie u gęsi (2020-2021). Istotny jest również wkład Habilitantki w zakresie opracowania i zastosowania metod diagnostycznych do wykrywania patogenów bakteryjnych u drobiu, o czym może świadczyć nagroda Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi (2019) za osiągnięcia w zakresie wdrażania postępu w rolnictwie, rozwoju wsi, rynkach rolnych: „Innowacyjna diagnostyka *Mycoplasma synoviae* oraz ograniczenie występowania zakażeń mykoplazmami w stadach drobiu”.

Ważnym elementem jest wykonanie przez dr Kursę ekspertyz, opracowań na zamówienie instytucji publicznych lub przedsiębiorców oraz przeprowadzenie kontroli, opracowanie i wydawanie opinii dla Głównego Inspektoratu Weterynarii w związku z zatwierdzeniem lub utrzymaniem statusu Urzędowego Laboratorium do przeprowadzania badań serologicznych w kierunku mykoplazmozy drobiu.

4. Kierowanie oraz udział w międzynarodowych i krajowych projektach badawczych

Dr n. wet. Olimpia Kursa pełniła funkcję **kierownika w 1 projekcie krajowym (NCN)**. **Nie pełniła funkcji kierownika w projektach międzynarodowym**. Pełniła funkcję wykonawcy w **5 projektach** (w tym jeden jest w trakcie realizacji), m.in. w projekcie krajowym KNOW. Habilitantka powinna zaznaczyć, który projekt jest krajowy i międzynarodowy, bo akronimy i numery projektów nie dostarczają takiej informacji.

Ponadto brała udział w 13 zadaniach badawczych w ramach działalności PIWet-PIB w Puławach, w tym w jednym jako kierownik tematu.

5. Nagrody i wyróżnienia

Dr n. wet. Olimpia Kursa otrzymała w 2019 r. nagrodę wdrożeniową od Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi Rzeczypospolitej Polskiej za osiągnięcia w zakresie wdrażania postępu w rolnictwie, rozwoju wsi i rynkach rolnych: „Innowacyjna diagnostyka *Mycoplasma synoviae* oraz ograniczenie występowania zakażeń mykoplazmami w stadach drobiu”

V. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę.

1. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych

Na wstępie chcę zaznaczyć, że aktywność dydaktyczna pracownika instytutu badawczego, wyraźnie odbiega od obowiązków nauczyciela akademickiego pracującego na uczelni wyższej, z tego też względu działalność dydaktyczna dr n. wet. Olimpii Kursy jest skromna. Omawiając działalność dydaktyczną Kandydatki należy wspomnieć, że jest ona współautorką monografii i 4 rozdziałów monografii, które mogą być dobrymi pomocami dydaktycznymi. Habilitantka ma doświadczenie w wygłaszaniu wykładów na konferencjach, sympozjach, kongresach, których celem jest także edukacja, jednakże brakuje w jej dorobku np. wykładów głoszonych w celu prowadzenia zajęć dydaktycznych czy w celach szkoleniowych lub sprawowania opieki jako promotor pomocniczy. Należy uznać, że jest to dziedzina nad rozwojem, której Habilitantka musi poświęcić więcej uwagi podczas planowania swojej dalszej aktywności.

2. Informacja o osiągnięciach organizacyjnych

Działalność organizacyjna Pani dr n. wet. Olimpii Kursy jest skromna i obejmuje udział w komitetach organizacyjnych **2 konferencji** o zasięgu międzynarodowym oraz członkostwo w Europejskim Stowarzyszeniu Weterynaryjnych Diagnostów Laboratoryjnych. Warty podkreślenia jest pełnienie **funkcji recenzenta** manuskryptów prac w czterech czasopismach z listy JCR. Kandydatka nie podała ogólnej liczby recenzowanych manuskryptów.

3. Informacja o osiągnięciach popularyzatorskich

Podkreślenia wymaga aktywne i regularne uczestnictwo dr n. wet. Olimpii Kursy w konferencjach naukowych krajowych i międzynarodowych. Pani Doktor jest doskonale rozpoznawana przez środowisko patologów drobiu w obszarze chorób bakteryjnych zwłaszcza mykoplazm. Imponująca jest liczba 65 doniesień konferencyjnych prezentowanych w formie wykładów, posterów, z czego 33 było prezentowanych na konferencjach krajowych i 32 na konferencjach międzynarodowych (załącznik nr 4). W zakresie osiągnięć dotyczących popularyzacji nauki Habilitantka publikowała prace w czasopiśmie branżowym, popularno-naukowych „Polskie Drobiarstwo”, „Polskie Drobiarstwo Suplement Zdrowie”.

VI. Podsumowanie i wniosek końcowy

Na podstawie analizy i pozytywnej oceny osiągnięć naukowych Pani dr n. wet. Olimpii Kursy w przedłożonym cyklu czterech monotematycznych publikacji, stwierdzam z pełnym przekonaniem, że są one bardzo wartościowe i stanowią duży wkład w rozwój dyscypliny weterynarii. Dr n. wet. Olimpia Kurasa wykazuje dużą aktywność naukową i jej osiągnięcia są istotne z naukowego punktu widzenia, ale także dostarczają ważnych i praktycznych danych dla lekarzy weterynarii.

Podsumowując, całokształt dorobku naukowego oraz dydaktycznego, organizacyjnego, popularyzatorskiego, a także współpracy krajowej i międzynarodowej, stwierdzam, że dr n. wet. Olimpia Kurasa spełnia kryteria stawiane Kandydatom do stopnia naukowego doktora habilitowanego określone w art. 219 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2023 r., poz. 742 z późn. zm.).

