

Lublin, 03.08.2023 r.

Prof. dr hab. Aneta Nowakiewicz

OCENA

**osiągnięcia naukowego, pozostałej aktywności naukowej, aktywności dydaktycznej,
organizacyjnej, popularyzatorskiej oraz współpracy międzynarodowej
dr n. wet. Anny Orłowskiej
z Zakładu Wirusologii, 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*
(*pismo wyjaśniające nr BRN-4211/01/2023 z dnia 1 sierpnia 2023r)**

Podstawowe dane o Habilitantce

Dr n. wet. Anna Orłowska uzyskała dyplom magistra inżyniera biotechnologii w 2004 roku, po obronie pracy magisterskiej zatytułowanej „Hipermetabolizm a stres oksydacyjny i potencjał oksydacyjny” w Międzywydziałowym Studium Biotechnologii, Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie. W tym samym roku została zatrudniona w Instytucie Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego, PAN w Warszawie na etacie specjalisty w Pracowni Farmakologii Doświadczalnej. W roku 2005 Habilitantka została zatrudniona w Państwowym Instytucie Weterynaryjnym- Państwowym Instytucie Badawczym w Puławach, który do dnia dzisiejszego jest Jej miejscem pracy. Habilitantka przez cały okres zatrudnienia pracowała w Zakładzie Wirusologii, początkowo zatrudniona na stanowisku specjalisty inżynierijno-technicznego do 2010 roku, następnie jako asystent, a po uzyskaniu stopnia doktora w 2012 roku, jako adiunkt. Pracę doktorską Pani dr Anna Orłowska realizowała pod kierunkiem prof. dr hab. Jana Żmudzińskiego. Tematyka pracy doktorskiej, zatytułowanej „Charakterystyka molekularna szczepów terenowych i szczepionkowych wirusa wścieklizny w aspekcie doustnego uodparniania lisów w Polsce” również obejmowała zagadnienia związane z wirusologią weterynaryjną, wokół której skupiają się zainteresowania badawcze Habilitantki.

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 7 czerwca 2023 r. o powołaniu w skład Komisji w charakterze recenzenta dorobku dr Anny Orłowskiej. 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. Anna Orłowska jako osiągnięcie naukowe, o którym mowa w art. 219 ust. 2 Ustawy, przedłożyła do oceny jednotematyczny cykl publikacji, zatytułowany: „*Występowanie wirusów zoonotycznych w populacji nietoperzy w Polsce*”. Zgodnie z przedstawioną dokumentacją cykl ten obejmuje łącznie sześć prac eksperymentalnych (4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5 i 4.6) :

4.1. Marcin Smreczak, **Anna Orłowska**, Anna Marzec, Paweł Trębas, Thomas Müller, Conrad M Freuling, Jan F Żmudziński: Bokeloh bat lyssavirus isolation in a Natterer's bat, Poland Zoonoses Public Health. 2018;65(8):1015-1019. doi: 10.1111/zph.12519.

(pkt-y MNiSW = 30, IF 2018: 2,164).

Udział własny Habilitantki polegał na współudziale w: opracowaniu koncepcji pracy, wykonaniu badań laboratoryjnych, w tym molekularnych, sekwencjonowaniu metodą NGS materiału genetycznego wirusów, analizie filogenetycznej oraz interpretacji uzyskanych wyników, przygotowaniu konspektu pracy i jej napisaniu, przeglądzie piśmiennictwa i korekcie po recenzji. Habilitantka szacuje swój udział na 40%.

4.2. Marcin Smreczak, **Anna Orłowska**, Paweł Trębas: Wykrycie BBLV u nocka Natterera w Polsce. Medycyna Wet. 2020, 76 (2), 119-123 DOI: dx.doi.org/10.21521/mw.6328

(pkt-y MNiSW = 70, IF 2020: 0,383).

Udział własny Habilitantki polegał na współudziale w: opracowaniu koncepcji pracy, wykonaniu badań laboratoryjnych, w tym molekularnych, sekwencjonowaniu metodą NGS materiału genetycznego wirusów, analizie filogenetycznej oraz interpretacji uzyskanych wyników, przygotowaniu konspektu pracy i jej napisaniu, przeglądzie piśmiennictwa i korekcie po recenzji. Habilitantka szacuje swój udział na 40%.

4.3. **Anna Orłowska**, Marcin Smreczak, Conrad Martin Freuling, Thomas Müller, Paweł Trębas, Jerzy Rola: Serological Survey of Lyssaviruses in Polish Bats in the frame of passive rabies surveillance using an enzyme-linked immunosorbent assay. Viruses 2020, 12, 271; doi:10.3390/v12030271

(pkt-y MNiSW = 100, IF 2020: 5,048).

Udział własny Habilitantki polegał na: opracowaniu koncepcji pracy, wykonaniu badań i interpretacji wyników; Habilitantka deklaruje również współodpowiedzialność za konspekt pracy, jej napisanie i korektę po recenzji. Habilitantka jest również jednym z dwóch autorów korespondencyjnych.

Habilitantka szacuje swój udział na 60%.

4.4. **Anna Orłowska**, Marcin Smreczak, Patrycja Potyrało, Arkadiusz Bomba, Paweł Trębas, Jerzy Rola: First detection of bat astroviruses (BtAstVs) among bats in Poland: The Genetic BtAstVs diversity reveals multiple co-infection of bats with different strains. Viruses 2021 22;13(2):158. doi: 10.3390/v13020158.

(pkt-y MEiN = 100, IF 2021: 5,818).



Udział własny Habilitantki polegał na współudziale w: opracowaniu koncepcji pracy, wykonaniu badań molekularnych, sekwencjonowaniu materiału genetycznego metodą NGS materiału genetycznego, analizie filogenetycznej i interpretacji uzyskanych wyników. Habilitantka deklaruje również odpowiedzialność za napisanie pracy, przegląd piśmiennictwa i korektę po recenzji. Habilitantka jest również jednym z dwóch autorów korespondencyjnych. Habilitantka szacuje swój udział na 70%.

4.5. Anna Orłowska, Marcin Smreczak, Katarzyna Thor, Magda Niedbalska, Dominika Pawelec, Paweł Trębas, Jerzy Rola: The Genetic Characterization of the First Detected Bat Coronaviruses in Poland Revealed SARS-Related Types and Alphacoronaviruses. *Viruses* 2022, 14, 1914. <https://doi.org/10.3390/v14091914>

(pkt-y MEiN = 100, IF 2022: 5,818).

Udział własny Habilitantki polegał na współudziale w: opracowaniu koncepcji pracy, wykonaniu badań molekularnych, sekwencjonowaniu materiału genetycznego metodą NGS materiału genetycznego, analizie filogenetycznej i interpretacji uzyskanych wyników. Habilitantka deklaruje również odpowiedzialność za napisanie pracy, przegląd piśmiennictwa i korektę po recenzji. Habilitantka jest również autorem korespondencyjnym.

Habilitantka szacuje swój udział na 70%.

4.6. Maysaa Dafalla, Anna Orłowska, Sinan Julian Keleş, Petra Straková, Kore Schlottau, Kathrin Jeske, Bernd Hoffmann, Gudrun Wibbelt, Marcin Smreczak, Thomas Müller, Conrad Martin Freuling, Xuejing Wang, Jerzy Rola, Stephan Drewes, Sasan Fereidouni, Gerald Heckel, Rainer G Ulrich: Hantavirus Brno loanvirus is highly specific to the common noctule bat (*Nyctalus noctula*) and widespread in Central Europe. *Virus Genes* 2023 Apr;59(2):323-332. doi: 10.1007/s11262-022-01952-2.

(pkt-y MEiN = 70, IF 2022: 2,198).

Udział własny Habilitantki polegał na współudziale w: opracowaniu koncepcji pracy, wykonaniu badań molekularnych, wstępnej analizie filogenetycznej i interpretacji uzyskanych wyników. Habilitantka deklaruje również współodpowiedzialność za konspekt pracy i przegląd piśmiennictwa.

Habilitantka szacuje swój udział na 40%.

Sumaryczny IF publikacji przedstawionych przez Habilitantkę jako osiągnięcie naukowe, wynosi 21,429, a suma punktów MNiSW lub MNiE zgodnie z wykazem w roku publikacji na dzień złożenia dokumentacji jest równa 470, przy czym tylko jedna z publikacji (4.1) posiada liczbę punktów przyporządkowaną zgodnie z Komunikatem Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 25 stycznia 2017 r. w sprawie wykazu czasopism naukowych wraz z liczbą punktów przyznanych za publikacje naukowe w tych czasopismach, ustalonego na podstawie wykazów ogłoszonych w latach 2013-2016 obowiązującego do 31 grudnia 2018 roku. Pozostałe publikacje posiadają liczbę punktów przyporządkowaną zgodnie z Komunikatem Ministra Nauki i

Szkolnictwa Wyższego z dnia 17 grudnia 2019 r. w sprawie wykazu wydawnictw publikujących recenzowane monografie naukowe oraz Komunikatem Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 18 grudnia 2019 r. w sprawie wykazu czasopism naukowych i recenzowanych materiałów z konferencji międzynarodowych obowiązujących od 1 stycznia 2019 roku, obowiązujących na dzień składania wniosku.

W trzech pracach eksperymentalnych, opublikowanych w czasopiśmie *Viruses- Basel*, Habilitantka jest pierwszym autorem; jednocześnie w publikacjach tych pełni rolę współautora/autora korespondencyjnego. W trzech pozostałych pracach, Pani dr A. Orłowska jest drugim w kolejności współautorem prac. Wszystkie publikacje są wieloautorskie i obejmują od trzech do siedemnastu autorów. Należy podkreślić, że znaczna część publikacji została przygotowana w zespołach międzynarodowych i multidyscyplinarnych, co potwierdza szeroką współpracę Habilitantki zarówno z naukowymi ośrodkami krajowymi jak i zagranicznymi. W trzech pracach Habilitantka pełni rolę wiodącą (ponad 50%), deklarując udział lub współudział w opracowaniu koncepcji pracy, realizacji badań laboratoryjnych w zakresie technik molekularnych, w tym sekwencjonowania materiału genetycznego oraz interpretacji wyników. Habilitantka w tychże pracach deklaruje także udział w przygotowaniu manuskryptów (napisaniu) i /lub korekcie po recenzji. W pozostałych trzech pracach zarówno z przedstawionego zakresu prac jak i udziału procentowego wynika, iż udział Habilitantki był niższy i głównie polegał na współudziale w realizacji poszczególnych zadań badawczych oraz przygotowaniu samej pracy do druku, niemniej również w przypadku tych prac Habilitantka deklaruje współudział w opracowaniu koncepcji pracy co jest jednym z istotnych elementów tworzenia eksperymentu. Przedstawione do oceny prace eksperymentalne zostały opublikowane w języku angielskim (z wyjątkiem jednej), w czasopismach o współczynniku wpływu od 0,383 do 5,818, co gwarantuje duży zasięg naukowy i rozpoznawalność Autorów w dyscyplinie weterynaria. Potwierdza to również łączna cytowalność prac anglojęzycznych, przedstawionych jako monotematyczny cykl publikacji

Oświadczenia pozostałych współautorów określające Ich udział zadaniowy i procentowy w powstawaniu prac potwierdzają w większości deklarowany przez Habilitantkę wkład. Niestety z przykrością muszę stwierdzić że Habilitantka nie przedstawiła wszystkich wymaganych oświadczeń; być może wynika to z chaotycznego załączenia oświadczeń (nie przyporządkowano oświadczeń w kolejności odpowiadającej współautorstwu w poszczególnych publikacjach) i Habilitantka nie załączyła oświadczenia dr hab. Marcina Smreczaka, dotyczącego udziału w ostatniej, wieloautorskiej pracy (4.6). Ponadto oświadczenie dr Thomasa Mueller nie zostało sygnowane ani odręcznym ani elektronicznym podpisem, pomimo, że jest On współautorem aż w trzech pracach Habilitantki.

Omówienie celu i wyników monotematycznego cyklu prac przedstawionych jako osiągnięcie naukowe, a także podsumowanie, Habilitantka przedstawiła w dość specyficznej formie pozbawionej odniesień do literatury, co niestety zubożyło przekaz znaczenia badań zrealizowanych przez Habilitantkę. W autoreferacie Habilitantka przedstawia bardzo wiele informacji, szczególnie we wprowadzeniu, które wymagają potwierdzenia czy odniesienia do powszechnie dostępnej literatury. Przykładem mogą być informacje dotyczące nietoperzy jako rezerwuarów różnych czynników patogennych dla człowieka, w tym również bakteryjnych. Z racji zainteresowań

badawczych Habilitantki (wirusologia weterynaryjna) nie realizowała. Ona badań w zakresie czynników bakteryjnych czy biologii *sensu lato* poszczególnych gatunków nietoperzy, zatem przedstawione informacje nie wynikają z Jej własnych doświadczeń badawczych. Ponadto powoływanie się na istniejące źródła informacji zdecydowanie podnosi wiarygodność przekazu.

Podsumowanie w postaci bardzo ogólnych stwierdzeń i brak konkretnych wniosków wynikających z przeprowadzonych analiz również nie przełożyło się na podkreślenie znaczenia badań przeprowadzonych przez Habilitantkę.

Pomimo niezaprzeczalnego, wieloletniego doświadczenia w zakresie wirusologii weterynaryjnej Habilitantka nie ustrzegła się kilku lapsusów językowych, np. z pierwszego zdania rozdziału zatytułowanego „Cel podjętych badań” nie wynika czy dotyczy ono nietoperzy czy wirusów. Również w przypadku skrótów spp. przy nazwach rodzajowych drobnoustrojów nie stosuje się kursywy, podobnie w przypadku nazw gatunkowych wirusów.

Nie ulega wątpliwości, że publikacje eksperymentalne stanowią monotematyczny zespół prac, które łączy trafnie tytuł cyklu. Habilitantka uzyskała ekskluzywną możliwość realizacji bardzo istotnych badań związanych z analizą szeroko pojętej populacji nietoperzy w Polsce w aspekcie roli rezerwuarów wybranych patogenów wirusowych, którą mogą pełnić właśnie te zwierzęta. Przeprowadzone badania mają unikatowy charakter z trzech względów:

- wszystkie gatunki nietoperzy w Polsce podlegają ochronie prawnej, zatem dostęp do nich jako materiału badawczego jest w dużej mierze ograniczony i nie pozwala na zaplanowanie i przeprowadzenie badań na dużą skalę. Dlatego wyniki uzyskane w oparciu o tę grupę badawczą mają również charakter unikatowy

- diagnostyka wirusologiczna jest złożonym procesem, obejmującym różne techniki, w tym serologiczne, molekularne oraz hodowlane, a ich zastosowanie wymaga ukierunkowanego doświadczenia badawczego, zupełnie odrębnego niż to wykorzystywane w badaniach bakteriologicznych, mikologicznych lub parazytologicznych. Przedstawione w cyklu prace obejmowały różne zakresy wykorzystania poszczególnych technik oraz interpretacji uzyskanych wyników, co potwierdziło, że Habilitantka legitymuje się dużym doświadczeniem praktycznym w wirusologii weterynaryjnej, a także swobodnie porusza się w bioinformatyce i zagadnieniach związanych z prawidłową interpretacją wyników w aspekcie epidemiologicznym. Znajomość zagadnień z tego zakresu stanowi niezbędny element pracy badawczej realizowanej w ramach współczesnej wirusologii

- możliwość realizacji pracy badawczej w Zakładzie Wirusologii PIWet-PIB Puławy, dysponującym odpowiednim poziomem zabezpieczeń BSL umożliwiła Jej również pracę z wirusami stanowiącymi potencjalne zagrożenie dla zdrowia publicznego

Dlatego analizując znaczenie uzyskanych przez Nią wyników opublikowanych w pracach przedstawionych jako monotematyczny cykl publikacji w globalnym kontekście, przedstawione wyniki stanowią oryginalny i istotny wkład w rozwój nauk weterynaryjnych, szczególnie w aspekcie uzupełnienia brakujących (lub nieistniejących dotychczas) danych odnośnie nietoperzy bytujących w Polsce jako rezerwuarów lyssawirusów, hantawirusów, astrowirusów i koronawirusów. Jest to szczególnie warte podkreślenia w kontekście ogólnoświatowych wydarzeń związanych z pandemią SARS-CoV-2 i działań prewencyjnych związanych z przewidywaniem i

zapobieganiem kolejnym globalnym infekcjom na tle innych wirusów RNA. Grupa ta jest szczególnie problematyczna ze względu na znacznie wyższe prawdopodobieństwo mutacji w porównaniu do wirusów DNA, a tym samym ewolucyjne, szybsze dostosowywanie się do nowych gospodarzy, w tym również człowieka. Biorąc pod uwagę dość liczną populację nietoperzy w Polsce, ich wysoki potencjał synantropizacji, długowieczność i relatywnie szeroki zasięg przemieszczania się, znajdują się one na szczytowym miejscu listy gatunków zwierząt stanowiących potencjalny rezerwuár patogenów zagrażających zdrowiu publicznemu.

Jednak analizując poszczególne prace przedstawione jako cykl jednotematycznych publikacji, pewne wątpliwości wzbudziły dwie pierwsze prace ww. cyklu. Obie prace dotyczą przypadku wykrycia u nietoperza z gatunku *Noctua Natterera* wirusa BBLV (*Bokeloh bat Lyssavirus*) w 2016 roku i jego charakterystyki. Pierwsza z prac została przygotowana w języku angielskim i opublikowana w 2018 roku jako *short communication* w czasopiśmie *Zoonoses and Public Health*. Druga praca została przygotowana w języku polskim jako *case report* została opublikowana w 2020 r., w czasopiśmie *Medycyna Weterynaryjna*. Zarówno w autoreferacie pojawia się informacja, iż był to pierwszy przypadek w Polsce, jak również w obu pracach taka informacja została zawarta. Nie do końca jest dla mnie zatem jasne czy autorzy opublikowali ten sam przypadek izolacji i charakterystyki molekularnej BBLV w dwóch kolejnych publikacjach, a jeśli tak to w jakim celu? Wątpliwości i niejasności pogłębiają również pewne różnice w rozdziale „Materiał” w obu pracach. W pierwszej z prac autorzy przedstawiają, iż nietoperz u którego wykryto BBLV został znaleziony żywy, a w drugiej że martwy. Również daty znalezienia zwierzęcia (zwierząt?) różnią się ale miejscowość jest ta sama. Skoro zatem przypadek był pojedynczy i unikatowy i tylko opisany dwukrotnie w dwóch różnych pracach dlaczego autorzy nie zacytowali wyników pierwszej pracy podając metodykę czy dlaczego nie powołali się te same wyniki w drugiej? Szkoda że Habilitantka nie przedstawiła w autoreferacie szerzej tej kwestii lub nie wskazała wyraźnie różnic (jeśli takowe są) w metodyce, wynikach czy ich interpretacji w obu pracach, skoro był to ten sam przypadek wykrycia wirusa u tego samego zwierzęcia. Jeśli natomiast zdarzył się tak niesamowity zbieg okoliczności, że w tej samej miejscowości w odstępie kilku dni znaleziono dwa różne osobniki należące do tego samego gatunku (*Noctua Natterera*), u których wykryto obecność BBLV, Habilitantka powinna wyraźnie wskazać, że były to dwa różne przypadki- niestety takiej informacji nie doszukałam się w autoreferacie.

Dodatkową komplikacją w tym przypadku jest również fakt, że pierwsza praca ma aż siedmiu autorów, druga już tylko trzech z tej samej grupy, w tym np. Pani dr Anna Marzec Grądział-współautorka pierwszej pracy deklaruje, iż Jej udział polegał na wykonaniu badań molekularnych w powyższym eksperymencie. Zatem nasuwa się pytanie czy te same badania molekularne przedstawione w drugiej pracy zostały powtórzone i wykonane przez inną osobę (współautora)?

W powyższej sytuacji, jeśli był to pojedynczy przypadek izolacji BBLV opisany dwukrotnie w dwóch kolejnych publikacjach trudno uznać aby praca opublikowana jako druga (w *Medycynie Weterynaryjnej*) wносиła jakąkolwiek wartość poznawczą czy aplikacyjną jest bowiem tylko i wyłącznie powtórzeniem i odtworzeniem wyników opublikowanych wcześniej w innym języku, zatem dla klarowności sytuacji wnoszę o wyłączenie jej z monotematycznego cyklu publikacji.

Opierając się na pozostałych publikacjach oraz treści, która nie budzi moich wątpliwości w

podsumowaniu osiągnięcia naukowego dr Anny Orłowskiej należy stwierdzić że:

- badania zostały przeprowadzone na reprezentatywnej puli zwierząt; w przypadku każdej analizy oceniano co najmniej 70-100 próbek. Co prawda badania obejmowały różne gatunki w obrębie grupy nietoperzy, niemniej ze względu na podobny behavior i fizjologię tych zwierząt, uzyskane wyniki należy ocenić jako reprezentatywne i faktycznie odzwierciedlające stan realny w przypadku analizowanych wirusów. Dodatkowym atutem przeprowadzonych badań jest fakt, iż autorzy pokusili się o genetyczną identyfikację gatunków nietoperzy, co zwiększa precyzję wyników i pozwala wnioskować o potencjalnej specyfice gatunek nietoperza-wirus, a także wprowadza multidyscyplinarność prowadzonych analiz
- ponieważ Polska wciąż nie jest krajem wolnym od wścieklizny, obligatoryjnie realizowane są zarówno badania bieżące, związane z podejrzeniem wystąpienia choroby, jak również badania przesiewowe. Wprowadzenie, ułatwienie lub ocena kolejnych metod lub testów umożliwiających przyspieszenie diagnostyki lub jej ukierunkowanie z pewnością ma charakter aplikacyjny. Ponadto próba dostosowania testu do niewielkiej ilości materiału lub próbki innej niż surowica, co może być częstym problemem w przypadku martwych zwierząt wolno żyjących dostarczanych do badania w różnym stanie, również jest działaniem wartym pozytywnego podkreślenia. Co więcej autorzy wykazali, że przeciwciała przeciwko lyssawirusom są obecne również u osobników należących do gatunków, które do tej pory nie były identyfikowane jako rezerwuary lyssawirusów. Może to wskazywać na kilka implikacji związanych ze zmianami ewolucyjnymi wirusa, a tym samym międzygatunkową transmisją. W badaniach wykazano również obecność innego niż dotychczas diagnozowane u nietoperzy, lyssawirusa BBLV, który dotychczas był notowany w Europie rzadko, a w Polsce po raz pierwszy. Uzyskane wyniki wskazują, iż wirus ten ma tendencję do rozprzestrzeniania się, co z kolei związane jest z potencjałem migracyjnym nietoperzy. Zatem wykazano, że nocek Natterera, gatunek bardzo powszechny w Polsce i dotychczas uważany za niegroźny pod względem epidemiologicznym może jednak również stanowić rezerwuariusz wirusa wścieklizny.
- po raz pierwszy wykazano w Polsce obecność astrowirusów u nietoperzy. Dotychczas dane z naszego kraju obejmowały informacje dotyczące obecności tej grupy patogenów u dzieci i ptactwa. Astrowirusy również należą do RNA wirusów, a jak wykazały badania Habilitantki cechują się one dość dużą heterogennością, także związaną z możliwością dostosowywania się do różnych gatunków gospodarzy, zatem nietoperze mogą stanowić rezerwuariusz zarówno dla człowieka jak i innych gatunków zwierząt domowych. Co prawda astrowirusy powodują najczęściej niezagrażające i samoograniczające się objawy grypopodobne (objawy tzw. grypy żołądkowej), niemniej w przypadku dzieci, osób starszych lub osób z niedoborami immunologicznymi mogą stanowić zagrożenie dla zdrowia. U zwierząt notowano również poważniejsze infekcje związane z zapaleniem w obrębie układu nerwowego czy moczowego, dlatego wykazanie obecności materiału genetycznego astrowirusów w przewodzie pokarmowym nietoperzy ma znaczenie poznawcze, uzupełniające dane epidemiologiczne
- wpisując się w aktualne trendy badawcze związane z poszukiwaniem nowych lub potwierdzeniem już znanych rezerwuariuszy koronawirusów, Habilitantka przeanalizowała próbki od ponad 500 osobników, wykazując materiał genetyczny koronawirusów u nietoperzy z rodziny

podkowcowatych i mroczkowatych. Nietoperze ze względu na sytuację pandemiczną związaną z SARS- CoV-2 stały się w ostatnim czasie „negatywnymi bohaterami” wielu historii związanych z rozprzestrzenianiem się zagrażających zdrowiu publicznemu wirusów. Dlatego analiza pod tym kątem naszych rodzimych gatunków nietoperzy stanowiła jedno z badań priorytetowych. Badanie tego typu zostało wykonane po raz pierwszy w Polsce i Habilitantka wykazała u zwierząt obecność sarbekowirusów, do których należy również SARS-CoV i SARS-CoV-2. Wyniki badań potwierdziły, iż podobnie jak w innych krajach Europy rodzime gatunki nietoperzy są nosicielami w około 4% koronawirusów, ale występowanie sarbekowirusów plasowało się na nieco wyższym poziomie, potwierdzając aktywną cyrkulację tej grupy wirusów. Wszystkie izolaty cechowały się dość dużą homologią, a zwierzęta u których wykryto sarbekowirusy należały do jednego gatunku, którego zasięg migracyjny jest niewielki, niemniej ze względu na fakt, iż koronawirusy należą do RNA wirusów oraz ostatnie wydarzenia związane z pandemią, uzyskane przez Habilitantkę wyniki stanowią istotny element poznawczy i potencjalnie możliwy do wykorzystania w trakcie badań epidemiologicznych

- stwierdzenie obecności materiału genetycznego nowego hantawirusa (BRNV) dotychczas dokumentowanego tylko w Czechach potwierdziło jego szersze występowanie u tego samego gatunku nietoperza (borowiec pospolity) również w innych krajach Europy. Badania realizowane przy współudziale Habilitantki wykazały, że u 3,9% nietoperzy wykryto materiał genetyczny BRNV. Zwierzęta te są w niewielkim odsetku rezerwuarami tego wirusa i pomimo, iż przypadki zakażeń hantawirusami w Polsce są rzadkie (odpowiednio 5 i 21 potwierdzonych przypadków w 2022 i 2021 roku) to jednak się zdarzają. Potwierdzenie niskiego odsetka pozytywnych izolacji materiału genetycznego BRNV u nietoperzy, również świadczy o niewielkim znaczeniu nietoperzy w potencjalnej transmisji hantawirusów, co ma znaczenie poznawcze.

- ważnym aspektem uzyskanych wyników było zdeponowanie wszystkich uzyskanych sekwencji w ogólnodostępnej bazie NCBI, co pozwala na szerokie, porównawcze wykorzystanie danych, szczególnie w zakresie zmienności wytypowanych do badań rodzin wirusów posiadających jako materiał genetyczny RNA

- stwierdzenie obecności wirusów u niewielkiego odsetka nietoperzy należy uznać również jako wynik bardzo korzystny nie tylko w kontekście zagrożenia dla zdrowia publicznego ale również dla samych zwierząt. Kreowanie negatywnej retoryki w związku z faktem iż nietoperze mogą stanowić istotny rezerwuuar patogenów niebezpiecznych dla zdrowia i życia człowieka może jednocześnie zagrozić siedliskom tych zwierząt, które według polskiego prawodawstwa podlegają prawnej ochronie. Ponadto relatywnie niski odsetek pozytywnych, ukierunkowanych izolacji materiału genetycznego wskazuje mimo wszystko na wysoki status zdrowotny nietoperzy.

- należy również mieć na uwadze, że większość badań realizowana była w oparciu o wykazanie obecności materiału genetycznego. Jest to oczywiście jedna z częściej stosowanych metod w wirusologii, niemniej należy pamiętać, że obecność materiału genetycznego nie jest w pełni tożsama z obecnością żywej i zdolnej do zakażenia cząstki wirusa, dlatego uzyskane wyniki należy traktować ostrożnie i jak wskazała Habilitantka uzyskane wyniki powinny być wstępem do kontynuacji dalszych, bardziej zaawansowanych badań nie tylko przesiewowych ale również związanych z charakterystyką wirusów pod względem ich potencjalnej patogenności i realnej

zdolności do wywoływania zakażeń.

Reasumując, wyniki uzyskane przez Habilitantkę są wynikami ważnymi zarówno w aspekcie ochrony zdrowia publicznego jak i analiz epidemiologicznych, zatem doskonale wpisują się w koncepcję jedno zdrowie. Ale jednocześnie stanowią odzwierciedlenie statusu zdrowotnego badanej grupy zwierząt, który wskazuje że żaden z badanych gatunków nie jest zagrożony ze względu na potencjalny wysoki odsetek występowania danego wirusa w populacji nietoperzy. Należy również podkreślić, iż badania prowadzone w kierunku wykrycia materiału genetycznego astrowirusów, koronawirusów czy hantawirusów u nietoperzy zostały po raz pierwszy przeprowadzone w Polsce co wskazuje na ich unikatowość zarówno ze względu na cel badawczy jak i badaną grupę zwierząt.

Wszystkie analizowane wirusy należą do RNA wirusów, zatem cechują się dużą zmiennością, a uzyskane obecnie wyniki będą mogły posłużyć do analizy porównawczej i wskazać potencjalne zmiany ewolucyjne i przystosowawcze wirusów po pewnym czasie, co jest szczególnie wartościowe w przypadku badań epidemiologicznych.

Zatem stwierdzam, iż pomimo wykazanych w opisie osiągnięcia braków, przedstawione publikacje przedłożone do oceny jako osiągnięcie naukowe (z wyłączeniem wskazanej publikacji), stanowią cykl prac powiązanych tematycznie, a przedstawione wyniki w ramach prac badawczych prezentowanych w cyklu, upoważniają do stwierdzenia iż osiągnięcie naukowe wnosi ważny 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.).

Ocena pozostałej aktywności naukowej

Dorobek naukowy Habilitantki wskazuje, iż Jej właściwie zainteresowania naukowe wykrystalizowały się dopiero od momentu zatrudnienia w Zakładzie Wirusologii PIWet-PIB Puławy. Początkowo, po obronie pracy magisterskiej Pani dr Anna Orłowska realizowała badania zgodne z profilem Pracowni Farmakologii Doświadczalnej Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN, która była Jej pierwszym miejscem zatrudnienia. Badania te obejmowały analizę potencjału oksydacyjnego u pacjentów o różnym statusie klinicznym, m. in. nadczynnością tarczycy czy chorobą Parkinsona. Efektem tej aktywności był współudział w publikacji pięciu prac eksperymentalnych i prezentacji siedmiu posterów.

Wydaje się, że profil badawczy Zakładu Wirusologii oraz dynamiczna sytuacja epidemiczna w Polsce i na świecie zdeterminował dalszą karierę naukową Habilitantki. Pani dr Anna Orłowska od początku swojej pracy w tej jednostce rozwijała się w dość wąskiej i wysoce specjalistycznej dziedzinie jaką jest wirusologia weterynaryjna. Pierwotne, a właściwie wiodące zainteresowania Habilitantki skupiły się wokół diagnostyki, charakterystyki i dynamiki rozprzestrzeniania się wirusa wścieklizny. Potwierdza to nie tylko zakres tematyczny Jej pracy doktorskiej ale również liczne publikacje z tego zakresu, ponieważ spośród 39 publikacji w czasopiśmie indeksowanych na liście JCR aż 22 dotyczą tematyki tej grupy wirusów. Warto nadmienić, że w 9 z nich dr Anna Orłowska jest pierwszym autorem. Jednymi z ciekawszych projektów były badania realizowane w międzynarodowym zespole naukowców, mające na celu poszerzenie dotychczasowej wiedzy z

zakresu patogenezы zakażeń lyssawirusami ale w aspekcie poszukiwania skutecznej terapii w przypadku wystąpienia wścieklizny. Badania te skupiły się przede wszystkim na modulacji odpowiedzi immunologicznej pacjenta w oparciu o model zwierzęcy. Drugim dość istotnym elementem tym razem w aspekcie diagnostycznym było opracowanie metody różnicowania tzw. szczepów ulicznych od szczepu szczepionkowego. Metoda została objęta patentem, którego pierwszym autorem jest właśnie Habilitantka. Metodyka ta ma istotne znaczenie aplikacyjne szczególnie w krajach gdzie prowadzone są szczepienia ochronne przeciwko wściekliźnie, a ze względu na potencjalną możliwość rewersji wirusa szczepionkowego do wersji zjadliwej, mogącej wywołać objawy kliniczne, opracowanie metody różnicowania jest niezwykle przydatnym i przyspieszającym diagnostykę działaniem. Warto również wspomnieć o licznych pracach współautorstwa Habilitantki dotyczących bieżącej sytuacji związanej z występowaniem i monitoringiem wirusa wścieklizny w Polsce, która jako jeden z krajów UE, graniczący bezpośrednio z krajami pozaunijnymi objęta jest monitoringiem obligatoryjnym.

Na badania w tym zakresie Habilitantka uzyskała fundusze w ramach programów pozainstytutowych, m. in. w międzynarodowym projekcie ASKLEPIOS (Advanced Studies towards Knowledge on Lyssavirus Encephalitis Improving Options for Survival) oraz Konsorcjum Naukowego KNOW, a także realizowała jako wykonawca projekty wewnętrzne w tej tematyce.

Drugi wiodący temat Jej badań wynikał niejako z bieżącej sytuacji, trwającej w latach 2019-2022 pandemii. Priorytetyzacja badań w kierunku koronawirusów przez Zakład Wirusologii była naturalną konsekwencją sytuacji związanej z SARS-CoV-2. W tym przypadku również w ramach badań w międzynarodowym zespole eksperckim Habilitantka realizowała i realizuje zadania badawcze związane z: diagnostyką molekularną potencjalnych zakażeń SARS-CoV-2 na fermach norek, zmiennością genetyczną wirusa, związaną z przystosowywaniem się do różnych gatunków gospodarzy, występowaniem zakażeń koronawirusowych u zwierząt domowych i wolno żyjących. Efektem tej aktywności były cztery prace opublikowane w ostatnich trzech latach oraz udział w co najmniej dwóch projektach międzynarodowych COVRIN-SARS-Cov-2 i MUSECoV.

Trzecim wiodącym tematem badawczym Habilitantki, który pojawił się również niejako w wyniku wystąpienia w Polsce choroby niebieskiego języka były analizy dotyczące występowania, rozprzestrzeniania się i charakterystyki BTV. Najciekawszym aspektem tej pracy jest analiza wektorów odpowiedzialnych za przenoszenie i rozprzestrzenianie się tej choroby. Badania w tym zakresie również realizowane były w zespole międzynarodowym. Habilitantka w tym przypadku również jest współautorką co najmniej siedmiu prac naukowych opublikowanych w czasopismach z listy JCR.

Podsumowując wskaźniki bibliometryczne warto wskazać, że prace współautorstwa Habilitantki ukazywały się przede wszystkim w czasopismach z listy JCR (z wyjątkiem prac zrealizowanych i opublikowanych przed zatrudnieniem w Zakładzie Wirusologii PIWet-Puławy). Spośród 39 prac z tej listy w 12 z nich Habilitantka jest pierwszym autorem (łącznie z trzema pracami wchodzącymi w skład osiągnięcia naukowego). Współczynnik wpływu w zależności od rozpoznawalności czasopisma oscyluje w bardzo szerokich granicach, tj od 0,218 do 6,208, sumarycznie dając wartość 80,644. Z pewnością należy podkreślić dużą cytowalność prac (bez autocytowań wartość ta wynosi 178) co świadczy o dużym zainteresowaniu pracą badawczą Habilitantki oraz umiejętności

wpasowywania się w bieżące potrzeby badawcze. Cytowalność ta przekłada się na indeks Hirscha o zadowalającej wartości równiej 7.

Pani dr Anna Orłowska prezentuje również wyniki swoich badań zarówno na arenie krajowej jak i międzynarodowej. Wyniki badań uzyskane z Jej udziałem były kilkunastokrotnie prezentowane w trakcie wystąpień ustnych, m. in. w trakcie kongresu organizowanego w Tarnopolu (Ukraina), czy Teramo (Włochy), jak również w ramach wystąpień w trakcie zjazdów naukowych Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych. Habilitantka została też dwukrotnie poproszona o przygotowanie i wygłoszenie wykładów naukowych o tematyce związanej z zagrożeniem wirusem wścieklizny w Europie oraz nadzorem nad wścieklizną i chorobą niebieskiego języka w Polsce z uwzględnieniem wykorzystania wyników badań naukowych i nowoczesnych rozwiązań technologicznych. Osiągnięcia badawcze Habilitantki były również wielokrotnie prezentowane w postaci doniesień plakatowych (w tym w 16 Habilitantka jest pierwszym autorem), na kongresach i konferencjach naukowych, m. in. W Budapeszcie (Węgry), Paryżu, Saint-Malo (Francja), Brescia (Włochy), Berlinie (Niemcy), Lwowie (Ukraina) i Arnheim (Holandia).

Jej aktywność naukowa została również dwukrotnie doceniona przez PIWet-PIB Puławy i Habilitantka w 2008 roku otrzymała nagrodę II stopnia za najlepszą publikację pracowników naukowych Instytutu, oraz przez PTNW, które doceniło wystąpienie ustne dr Anny Orłowskiej w trakcie XVI kongresu w 2021 roku.

Habilitantka, jak wspomniałam wcześniej, brała i bierze czynny udział w realizacji projektów, w tym międzynarodowych (ASKLEPIOS, COVRIN, ERA-NET, ICRAD), związanych z poszerzaniem wiedzy w zakresie występowania, charakterystyki, diagnostyki lyssawirusów, koronawirusów, arteriowirusów i wirusów grypy. Najczęściej charakter Jej udziału to wykonawca, niemniej należy podkreślić, że Habilitantka z powodzeniem aplikuje o fundusze i jako kierownik realizowała dwa granty, w ramach konkursu NCN MINIATURA oraz w ramach konsorcjum naukowego KNOW.

W dorobku naukowym Habilitantki, z pewnością na plus należy uznać bardzo ukierunkowaną tematykę badawczą, związaną z wirusologią weterynaryjną ale ograniczoną odnośnie najważniejszych chorób i czynników potencjalnie zagrażających zdrowiu publicznemu. Z drugiej strony publikacje ze współudziałem Habilitantki prezentują wysokiej jakości wyniki uzyskane w oparciu o reprezentatywną pulę próbek oraz szeroki panel metod badawczych wspartych dobrze rozbudowanym warsztatem bioinformatycznym. Warto podkreślić, iż część publikacji powstała w oparciu o zespół międzynarodowy, zatem uzyskane w Polsce wyniki są często porównywane z wynikami uzyskanymi w innych krajach, co jest niezwykle istotne w badaniach epidemiologicznych. Z pewnością warto również podkreślić, że wyniki swoich badań Habilitantka przekłada na aspekt aplikacyjny (np. uzyskany patent czy testowany w pracy nr 4.3 zestaw ELISA do oznaczania miana przeciwciał przeciwko lyssawirusom u nietoperzy), co jest elementem niezwykle pożądanym we współczesnej nauce. Zatem w podsumowaniu oceniam, że pozostała aktywność naukowa dr Anny Orłowskiej spełnia wymagane kryteria.

Ocena osiągnięć dydaktycznych, organizacyjnych i popularyzatorskich oraz współpracy międzynarodowej



Charakter zatrudnienia Pani dr Anny Orłowskiej nie przewiduje realizacji godzin dydaktycznych, niemniej Habilitantka starała się realizować tego typu aktywność nawet w minimalnym stopniu, sprawując opiekę nad studentami i stażystami realizującym praktyki zawodowe w Zakładzie Wirusologii PIWet-PIB Puławy,

Z drugiej strony z pewnością należy podkreślić, że Habilitantka spełnia się bardzo aktywnie w przygotowywaniu i prowadzeniu szkoleń dla pracowników Inspekcji Weterynaryjnej w zakresie przede wszystkim zwalczania choroby niebieskiego języka i przedstawiania aktualnej sytuacji epizootycznej w Polsce i w Europie, prowadzenia dochodzenia epidemiologicznego w przypadku epizootii wścieklizny, czy diagnostyki molekularnej SARS-Cov-2.

Habilitantka może legitymować się wkładem w kształcenie kadr sprawując opiekę naukową w charakterze promotora pomocniczego w przygotowaniu rozprawy doktorskiej mgr Anny Marzec-Grządziel, lek. wet. Konrada Kuczery i lek. wet. Janusza Ciołka.

Warto podkreślić bardzo bogatą aktywność dr Anny Orłowskiej przy przygotowywaniu różnego rodzaju opinii i ekspertyz nt. przydatności zestawów diagnostycznych oraz analizy i interpretacji wyników badań realizowanych w ramach diagnostyki wirusów, którymi Habilitantka zajmuje się w swoje pracy badawczej. Jest to również swego rodzaju wskazanie, iż Habilitantka jest postrzegana w środowisku nie tylko naukowym, jako osoba kompetentna i doświadczona w dziedzinie nauki, którą się zajmuje. Pani dr Anna Orłowska została również poproszona jako recenzent wniosku grantowego dotyczącego diagnostyki molekularnej wybranych patogenów u nietoperzy, przez Słowacką Akademię Nauk

Pewną rozpoznawalność Habilitantki w środowisku naukowym potwierdza również powierzenie Jej funkcji recenzenta kilkudziesięciu manuskryptów w czasopismach z listy JCR., m. in. *Viruses*, *Diagnostics*, *International Journals of Molecular Sciences* (MDPI), *Frontiers in Medicine*, *Future virology* czy *Infection*, *Genetics and Evolution* oraz rodzimym *Journal of Veterinary Research*. Ponieważ Habilitantka podała tytuły recenzowanych prac w dokumentacji, uczulam, iż w niektórych czasopismach nadal obowiązuje zasada tzw. double blind revision, dlatego ze zrozumiałych względów raczej powinno się podawać liczbę zrecenzowanych manuskryptów aniżeli ich pełne tytuły.

Współpraca międzynarodowa jest jednym z ważniejszych aspektów rozwoju naukowego młodego pracownika. Pani dr Anna Orłowska deklaruje realizację tylko trzech krótkoterminowych staży (Nancy Laboratory for Rabies and Wildlife, Francja 2006, Duński Uniwersytet techniczny, Dania 2016 oraz Friedrich Loeffler Institute, Niemcy 2018r), niemniej aktywność ta przede wszystkim odbywała się w znanych, referencyjnych ośrodkach badawczo-naukowych, a zakres tematyczny tych staży jest bardzo konkretny i wskazujący na to, iż Habilitantka uzyskała bardzo wymierne korzyści związane z rozwojem Jej umiejętności zawodowych. Ponadto szeroka współpraca z naukowcami z różnych ośrodków zagranicznych chociażby w trakcie realizacji badań do wspólnych publikacji czy uczestnictwo jako wykonawca w międzynarodowych grantach badawczych bezsprzecznie potwierdza szeroką współpracę międzynarodową Habilitantki.

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**. Dla pełnej transparentności wskazane jest jednak aby publikacje przedstawiające ten sam przypadek diagnozowany w taki sam sposób i za pomocą takich samych metod nie były dublowane w osiągnięciu, ponieważ podnosi to tylko sztucznie parametry naukometryczne ale nie wnosi nowych wartości.

Całkowity dorobek naukowy Habilitantki jest spójny i skoncentrowany na tematyce *stricto* dotyczącej wirusologii weterynaryjnej, a konkretnie kilku wybranych i najbardziej istotnych z epidemiologicznego punktu widzenia rodzin wirusów, co należy uznać za duży plus. Habilitantka ma bardzo ukierunkowany warsztat badawczy z dobrym zapleczem bioinformatycznym, a Jej badania posiadają nie tylko wartość poznawczą ale również aplikacyjną. Działalność dydaktyczna, organizacyjna i popularyzatorska oraz współpraca międzynarodowa, **również spełniają wymagania**, jakie stawiane są Kandydatowi ubiegającemu się o nadanie statusu samodzielnego pracownika naukowego.

Podsumowując ocenę szczególnego osiągnięcia naukowego oraz całokształtu pozostałego dorobku naukowego działalności dydaktycznej, organizacyjnej i popularyzatorskiej oraz współpracy międzynarodowej stwierdzam, że dr Anna Orłowska spełnia warunki do uzyskania stopnia doktora habilitowanego zawarte w art. 219 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2023 poz. 742 ze zm.). Warto podkreślić, iż badania Habilitantki związane z analizą populacji nietoperzy w Polsce jako potencjalnego rezerwuaru wirusów stanowiących zagrożenie zdrowia publicznego mają nie tylko wydźwięk związany z zapewnieniem bezpieczeństwa człowieka ale również wskazują, że relatywnie niski odsetek pozytywnych izolacji materiału genetycznego wirusa z próbek pochodzących od tych zwierząt nie stanowi zagrożenia dla statusu zdrowotnego samych nietoperzy. Ponadto zwierzęta te ze względu na specyficzny behavior często bytują w bliskim sąsiedztwie człowieka, a postrzeganie nietoperzy jako źródła kolejnych, zagrażających zdrowiu człowieka i innych zwierząt patogenów, mogłoby prowadzić do niszczenia ich siedlisk i niekontrolowanej depopulacji. W mojej ocenie obok faktu, iż badania nad obecnością materiału genetycznego koronawirusów, astrowirusów i hantawirusów u nietoperzy były przeprowadzone po raz pierwszy w Polsce, są to czynniki decydujące o wniesieniu oryginalnego i istotnego wkładu w rozwój nauk weterynaryjnych w dyscyplinie weterynaria.

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

Lublin, dn. 3 sierpnia 2023r



