

Prof. dr hab. Krzysztof Rypuła
Zakład Chorób Zwierząt i Administracji Weterynaryjnej
Katedra Epizootiologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Wrocław, 10 sierpnia 2023 r.

RECENZJA

całokształtu dorobku naukowego, dydaktycznego i organizacyjnego

dr n. wet. Anny Orłowskiej

Podstawą przygotowania recenzji były dokumenty umożliwiające wydanie opinii i zgodnie z art. 221 ust. 1 ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020 roku poz. 85 ze zm.) oraz uchwała nr 26/2023 Rady Naukowej PIWet-PIB z dnia 19 czerwca 2023 roku o powołaniu w skład komisji habilitacyjnej do przeprowadzenia postępowania o nadanie stopnia doktora habilitowanego dr n. wet. Annie Orłowskiej.

1. Informacje ogólne o przebiegu pracy zawodowej Kandydatki

Dr n. wet. Anna Orłowska ukończyła studia na Międzywydziałowym Studium Biotechnologii w roku 2004. W tym samym roku podjęła pracę w Instytucie Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego Polskiej Akademii Nauk w Warszawie. W roku 2005 podjęła pracę w Zakładzie Wirusologii Państwowego Instytutu Weterynaryjnego - Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach początkowo na stanowisku inżynierjno-technicznym, a od roku 2010 na stanowisku asystenta. Po uzyskaniu stopnia doktora nauk weterynaryjnych w roku 2012 na podstawie rozprawy doktorskiej „Charakterystyka molekularna szczepów terenowych i szczepionkowych wirusa wścieklizny w aspekcie doustnego uodparniania lisów w Polsce” została zatrudniona na stanowisku adiunkta w macierzystej jednostce.

W trakcie pracy zawodowej odbyła staże/szkolenia w ANSES (Malzeville, Francja) w roku 2006 i 2016, Duńskim Uniwersytecie Technicznym (Kopenhaga, Dania) w roku 2016, Instytucie Friedricha Loefflera (Insel Reims, Niemcy) w roku 2018, a także w szkoleniach z zakresu planowania procedur i doświadczeń na zwierzętach oraz

bioinformatyki – sekwencjonowanie nowej generacji (NGS) w roku 2007 i 2016. Zbobyta podczas staży wiedza, głównie z zakresu diagnostyki wścieklizny, została wykorzystana w prowadzonych przez Habilitantkę badaniach naukowych oraz w realizacji jednotematycznego cyklu publikacji będącego podstawą do ubiegania się o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego.

2. Ocena osiągnięć naukowo-badawczych Kandydatki

2.1. Ogólna ocena dorobku naukowego

Dorobek naukowy dr n. wet. Anny Orłowskiej stanowią prace doświadczalne i przeglądowe z zakresu zakażeń lyssawirusami, śledzeniem transmisji między gatunkami wrażliwymi oraz ustalania źródeł pochodzenia zakażeń. Zainteresowania naukowe dotyczą także zastosowania metod diagnostycznych w wykrywaniu i monitorowaniu zakażeń opartych na technikach biologii molekularnej. Realizacja badań nad wirusem wścieklizny prowadzona była wraz z zespołem z Zakładu Wirusologii PIW-PIB w Puławach we współpracy z europejskimi jednostkami naukowymi - program badawczy ASKLEPIOS – Advanced Studies Towards Knowledge on Lyssavirus Encephalitis Pathogenesis Improving Options for Survival dotyczący terapii zakażeń wirusem wścieklizny, a realizowane zadanie przez stronę polską dotyczyło wpływu TNF-alfa, IL-1, IL-6 i MAPK zastosowanych jako substancje lecznicze na przeżywalność myszy zakażonych lyssawirusem SHBRV-18 (publikacje z lat 2016-2018). Natomiast współpraca z Friedrich Loeffler Institut w Niemczech z PIW-PIB trwa od wielu lat, a w okresie zatrudniania Kandydatki dotyczyła biernego monitoringu nad wścieklizną u nietoperzy i opisu przypadku zakażenia lisa szczepem wirusa wścieklizny stosowanego do produkcji atenuowanych szczepionek doustnych (publikacje z lat 2020-2023).

Od roku 2007 zainteresowania naukowe, związane z miejscem pracy i z kierunkami nadzoru urzędowego w ramach krajowego laboratorium referencyjnego dotyczą zakażeń wirusem choroby niebieskiego języka (BTV). We współpracy z ośrodkami naukowymi z Europy prowadziła badania nad sezonowością i liczebnością występowania wektora choroby niebieskiego języka (BT), co pozwoliło na określenie sezonowości i dynamiki zakażeń w ujęciu sezonu i ukierunkowanie skutecznego nadzoru nad BT (publikacje z lat 2018-2020).

Od momentu wybuchu pandemii COVID-19 Habilitantka została włączona do zespołu odpowiedzialnego za wdrożenie diagnostyki SARS-CoV-2 na fermach norek. Po 2019 roku Jej aktywność naukowa dotyczy zakażeń CoV-2 u zwierząt z gatunków zwierząt udomowianych, jak i nieudomowionych w kontekście charakterystyki izolowanych wariantów CoV-2, oraz ich zmienności (publikacje z roku 2022).

Kandydatka jest autorem 52 publikacji, z czego 39 to publikacje w czasopiśmie z listy JCR. Sumaryczny IF to 80,644, a Index H 7 wg. Web of Science Core Collection i 8 wg. bazy Scopus. Liczba cytowań wg. powyższych baz to odpowiednio 178 i 215.

2.2. Ocena osiągnięcia naukowego będącego przedmiotem postępowania habilitacyjnego

Przedstawione przez Kandydatkę osiągnięcie naukowe, zgodnie z art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym (Dz. U. z 2021 poz. 478 z późn. zm.) stanowi jednotematyczny cykl publikacji zatytułowany "Występowanie wirusów zoonotycznych w populacji nietoperzy w Polsce" na który składa się sześć monotematycznych publikacji z lat 2018-2023 opublikowanych w recenzowanych czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym. Są to następujące pozycje:

1. Smreczak M., **Orłowska A.**, Marzec A., Paweł Trębas P., Müller T., Freuling C.M., Żmudziński J.F. Bokeloh bat lyssavirus isolation in a Natterer's bat, Poland. *Zoonoses Public Health* 2018, 65(8):1015-1019. DOI: [10.1111/zph.12519](https://doi.org/10.1111/zph.12519)
2. Smreczak M., **Orłowska A.**, Trębas P. Detection of BBLV in Natterer's bat in Poland. *Medycyna Wet.* 2020, 76(2):119-123. DOI: [10.21521/mw.6328](https://doi.org/10.21521/mw.6328)
3. **Orłowska A.**, Smreczak M., Freuling C.M., Müller T., Trębas P., Rola J. Serological Survey of Lyssaviruses in Polish Bats in the Frame of Passive Rabies Surveillance Using an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *Viruses* 2020, 12(3):271. DOI: [10.3390/v12030271](https://doi.org/10.3390/v12030271)
4. **Orłowska A.**, Smreczak M., Potyrało P., Bomba A., Trębas P., Rola J. 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, 13(2):158. DOI: [10.3390/v13020158](https://doi.org/10.3390/v13020158)
5. **Orłowska A.**, Smreczak M., Thor K., Niedbalska M., Pawelec D., Trębas P., Rola J. The Genetic Characterization of the First Detected Bat Coronaviruses in Poland Revealed SARS-Related Types and Alphacoronaviruses. *Viruses* 2022, 14(9):1914. DOI: [10.3390/v14091914](https://doi.org/10.3390/v14091914).
6. Dafalla M., **Orłowska A.**, Sinan Julian Keleş S.M., Straková P., Schlottau K., Jeske K., Hoffmann B., Wibbelt G., Smreczak M., Müller T., Freuling C.M., Wang X., Rola J., Drewes S., Fereidouni S., Heckel G., Ulrich R.G. Hantavirus Brno loanvirus is highly specific to the common noctule bat (*Nyctalus noctula*) and widespread in Central Europe. 2023, 59(2):323-332. DOI: [10.1007/s11262-022-01952-2](https://doi.org/10.1007/s11262-022-01952-2).

Łączna punktacja publikacji wchodzących w skład cyklu (punkty MSiN za rok opublikowania pracy) wynosi 470 pkt., a sumaryczny IF = 21,429. W trzech pracach Kandydatka jest pierwszym autorem z procentowym udziałem wkładu pracy od 60% do 70% i jak wynika z oświadczeń pozostałych współautorów w kolejnych trzech publikacjach jest drugim autorem, a Jej wkład wynosił po 40%. Kandydatka we wskazanych manuskryptach uczestniczyła w opracowaniu koncepcji badań, ich wykonaniu, analizie wyników i ich opracowaniu oraz w przygotowaniu i korekcie po recenzjach manuskryptów.

Dr n. wet. Anna Orłowska realizację osiągnięcia będącego przedmiotem

postępowania zawarła w badaniach nad występowaniem wybranych patogenów w populacji nietoperzy w Polsce zwłaszcza o potencjale zoonotycznym i określeniem pokrewieństwa filogenetycznego krajowych izolatów wirusów wścieklizny z sekwencjami izolatów izolowanych od nietoperzy w Europie. Celem podjętych badań mających swoje odniesienie w cyklu monotematycznych publikacji będących podstawą do ubiegania się o uzyskanie stopnia doktora habilitowanego były:

- określenie seroprewalencji oraz występowania lyssawirusów u różnych gatunków nietoperzy w Polsce, pozyskanych w ramach urzędowego nadzoru nad wścieklizną,
- badania nad występowaniem zakażeń astrowirusowych u nietoperzy w Polsce,
- badania nad występowaniem koronawirusów w populacji nietoperzy w Polsce, szczególnie gatunku uznawanego za rezerwuuar koronawirusów SARS-podobnych,
- badania nad występowaniem zakażeń hantawirusami w populacji nietoperzy w Polsce.

Uzyskanym osiągnięciem realizowanych badań w oparciu o powyżej opisane założenia było:

- potwierdzenie hipotezy międzygatunkowej transmisji lyssawirusów w populacji nietoperzy poza granice dotychczas opisywanych gatunków oraz możliwość występowania innych nieopisanych dotąd lyssawirusów w populacji nietoperzy w Polsce,
- ocena przydatności komercyjnego zestawu ELISA (Bio Pro ELISA Rabies Ab kit, BioMerieux) do wykrywania przeciwciał p/ko lyssawirusom w płynach ustrojowych pochodzących od nietoperzy, który może być użyty w ramach biernego urzędowego nadzoru nad wścieklizną, gdyż zastosowanie metod referencyjnych wykrywających materiał genetyczny lyssawirusów (mFAVN i RIFFT) ze względu na okresowe siewstwo wirusa może być obarczone błędem diagnostycznym,
- wykrycie po raz pierwszy Bokeloh bat Lyssavirus (BBLV) u nietoperza z gatunku nocek (*Natterera*) w Polsce,
- wykazanie obecności astrowirusów (BtAstVs) w populacji nietoperzy w Polsce na poziomie 12,24% oraz ich wysokiej zmienności genetycznej (od 54,4 do 100%), co sprzyja powstawaniu kolejnych rekombinantów o odmiennej charakterystyce genotypowej i fenotypowej,
- wykazanie obecności koronawirusów SARS-podobnych w populacji nietoperzy na poziomie 3,6%, przynależności ich do rodzaju *Betakoronawirus* i średnim dystansie między potwierdzonymi wynikami dodatnimi - 20 km oraz wysokim stopniu podobieństwa (99,2-100%) do koronawirusów izolowanych w Słowenii i Danii,
- wykazanie obecności u 15% badanej populacji nietoperzy hantawirusów oraz określenie podobieństwa do BRNV wykrytego w Czechach. Uczestnicząc w badaniach międzyośrodkowych wykazała, że borowiec wielki jest rezerwuarem hantawirusa Brno w Europie.

3. Ocena w zakresie innych osiągnięć naukowych

Badania naukowe realizowane przez dr n. wet. Annę Orłowską przed rozpoczęciem pracy w PIW-PIB w Puławach dotyczyły określenia potencjału oksydoredukcyjnego u pacjentów z nadczynnością tarczycy leczonych izotopem jodu. Badania te były realizowane pod kierownictwem dr hab. Bronisława Głody w Pracowni Farmakologii Doświadczalnej Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN w Warszawie. Natomiast od momentu zatrudnienia w Zakładzie Wirusologii PIW-PIB w Puławach zarówno przed, jak i po uzyskaniu stopnia doktora nauk weterynaryjnych, tematyka badawcza koncentrowała się wokół zagadnień związanych z zakażeniami lyssawirusami w populacji zwierząt i monitorowaniem częstości ich występowania u gatunków wrażliwych w toku dochodzenia epizootycznego, ponadto realizowała badania dotyczące:

- monitorowania w populacji gatunków wrażliwych na zakażenia wirusem choroby niebieskiego języka,
- występowania i charakterystyki izolatów SARS-CoV-2 u norek w Polsce,
- występowania CoV-2 w populacji nietoperzy na terenie Polski.

Realizacja kierunków badawczych możliwa była dzięki współpracy z laboratorium referencyjnym w Pirbright w Anglii (w zakresie zakażeń BTW) oraz realizacji projektów naukowych, w których Kandydatka jest partnerem: COVRIN – SARS-CoV2 Research Integration and Preparedness One Health research integration on SARS-CoV-2 emergence, risk assessment and preparedness oraz projektu MUSECoV – Multi-scale Eco-evolution of Coronaviruses: from surveillance toward emergence prediction. Oba wymienione projekty dotyczą badań nad rezerwuarem dla CoV-2 jakim jest populacja nietoperzy w Polsce i na terenie Europy.

Dr n. wet. Anna Orłowska w latach 2021-2022 była kierownikiem grantu w ramach konkursu MINIATURA, a w roku 2018 realizowała badania dotyczące ewolucji molekularnej wirusa wścieklizny finansowane w ramach Konsorcjum Naukowego KNOW. Realizowała 12 projektów badawczych finansowanych w ramach działalności statutowej PIW-PIB, które dotyczyły zakażeń, charakterystyki genetycznej i diagnostyki wirusa wścieklizny u gatunków wrażliwych i nietoperzy oraz zakażeń BTW.

4. Ocena dorobku dydaktycznego, popularyzatorskiego, organizacyjnego oraz współpracy krajowej i międzynarodowej

Dr n. wet. Anna Orłowska swoją pracę zawodową, związała z Zakładem Wirusologii Państwowego Instytutu Weterynaryjnego - Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach. Ze względu na profil jednostki, działalność dydaktyczna ukierunkowana jest na szkolenia specjalistyczne, głównie pracowników Inspekcji Weterynaryjnej oraz Zakładów Higieny Weterynaryjnej i prezentowanie uzyskanych wyników badań na konferencjach naukowych i seminariach.

Habilitantka była opiekunem stażu mgr Magdy Niedbalskiej i praktyk studenckich

(2015). Była promotorem pomocniczym w przewodzie doktorskim mgr Anny Marzec-Grządziel (nadanie stopnia naukowego doktora 17-12-2018). Obecnie jest promotorem pomocniczym w dwóch otwartych przewodach doktorskich: lek. wet. Konrada Kuczery (uchwała Rady Naukowej PIW-PIB 45/2021 z dnia 15-12-2021) i lek. wet. Janusza Ciołka (uchwała Rady Naukowej PIW-PIB 30/2022 z dnia 14-09-2022).

Uczestniczyła w 17 międzynarodowych i 12 krajowych kongresach, konferencjach i sympozjach naukowych prezentując wyniki badań własnych z zakresu zakażeń lyssawirusami oraz wyniki uzyskane w ramach pracy krajowego laboratorium referencyjnego ds. wścieklizny i choroby niebieskiego języka, który nadzoruje.

Była recenzentem 20 manuskryptów z listy JCR min.: International Journal of Veterinary Science (IF=6,208), Viruses (IF=5,818), Frontiers in Medicine (IF=5,058), Infection (IF=4,393), Diagnostics (IF=3,992) i Journal of Veterinary Research (IF=2,058).

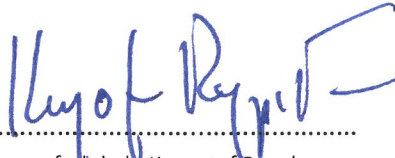
Za swoją działalność naukową otrzymała nagrodę Dyrektora PIWet-PIB w Puławach (2009) za najlepszą pracę oryginalną. W roku 2021 otrzymała nagrodę podczas XVI Kongresu PTNW za najlepszą prezentację.

5. Podsumowanie i wniosek końcowy

Dorobek naukowy dr n. wet. Anny Orłowskiej jest dorobkiem wartościowym. Obejmuje on ważne dla medycyny weterynaryjnej oraz medycyny człowieka zagadnienia epidemiologii, transmisji międzygatunkowej i diagnostyki zakażeń lyssawirusami i innymi wirusami, dla których nietoperz jest rezerwuarem. Podejmowana przez Habilitantkę w badaniach tematyka jest aktualna, ważna z punktu widzenia bezpieczeństwa zdrowia publicznego, a uzyskane wyniki wnoszą nową wiedzę do nauk weterynaryjnych.

Przedstawione przez Kandydatkę osiągnięcie w postaci cyklu sześciu publikacji nt.: „Występowanie wirusów zoonotycznych w populacji nietoperzy w Polsce” spełnia kryteria określone w art. 219 ust. 1 pkt 2b Ustawy z dnia 20 lipca 2018 Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t. j. Dz. U. z 2020 roku poz. 85 ze zm.) na tej podstawie wnioskuję o podjęcie dalszych czynności w postępowaniu o nadanie dr n. wet. Annie Orłowskiej stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk weterynaryjnych, dyspyplinie weterynaria.

Wrocław, 10 sierpnia 2023 r.


.....
prof. dr hab. Krzysztof Rypuła