

Lublin, 08.02.2024 r.

Prof. dr hab. Aneta Nowakiewicz

OCENA

osiągnięcia naukowego oraz istotnej aktywności naukowej dr n. wet. Magdaleny Florek z Zakładu Mikrobiologii, Katedry Patologii, Wydziału Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, w związku z postępowaniem o nadanie Jej stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk weterynaryjnych w dyscyplinie weterynaria

Podstawowe dane o Habilitantce

Dr n. wet. Magdalena Florek uzyskała dyplom lekarza weterynarii w 2000 roku, na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. W latach 2001-2006 realizowała pracę naukową pod kierunkiem prof. dr hab. Zdzisława Staroniewicza jako słuchaczka studiów doktoranckich w Katedrze Patologii macierzystego Wydziału. W 2006 roku Habilitantka uzyskała stopień doktora nauk weterynaryjnych. Tematyka rozprawy doktorskiej pt. „Charakterystyka grzybów drożdżopodobnych izolowanych od psów” również obejmowała tematykę z zakresu mykologii weterynaryjnej, wokół której skupiają się główne ale nie jedyne zainteresowania badawcze dr M. Florek. Po uzyskaniu stopnia doktora została Ona zatrudniona jako pracownik techniczny w dotychczasowym miejscu realizacji pracy naukowej. Od 2009 roku do chwili obecnej, Habilitantka realizuje działalność badawczo-dydaktyczną na stanowisku adiunkta w Zakładzie Mikrobiologii, Katedrze Patologii, Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UP we Wrocławiu.

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 Dyscypliny Weterynaria Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu z dnia 19 grudnia 2023 r. w sprawie powołania w skład Komisji habilitacyjnej w charakterze recenzenta dorobku dr Magdaleny Florek. 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. Magdalena Florek jako osiągnięcie naukowe, o którym mowa w art. 219 ust.1 pkt 2 Ustawy, przedłożyła do oceny jednotematyczny cykl publikacji, zatytułowany:

„Występowanie, struktura genetyczna oraz lekowrażliwość grzybów należących do kompleksów gatunków *Cryptococcus neoformans*/*C. gattii* w Polsce, na podstawie analizy populacji środowiskowej oraz weterynaryjnej izolatów pochodzących od zwierząt wskaźnikowych”.



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

1. **Florek Magdalena**, Korzeniowska-Kowal Agnieszka, Wzorek Anna, Włodarczyk Katarzyna, Marynowska Maja, Pogorzelska Aleksandra, Brodala Maria, Ploch Sebastian, Buczek Daniel, Balon Katarzyna, Nawrot Urszula: Prevalence, genetic structure, and antifungal susceptibility of the *Cryptococcus neoformans/C. gattii* species complex strains collected from the arboreal niche in Poland. *Pathogens*, 2022, 11, 1-15 (IF=3,7; pkt. MNiSW 100).
2. **Florek Magdalena**, Nawrot Urszula, Korzeniowska-Kowal Agnieszka, Włodarczyk Katarzyna, Wzorek Anna, Woźniak-Biel Anna, Brzozowska Magdalena, Galli Józef, Bogucka Anna, Król Jarosław: An analysis of the population of *Cryptococcus neoformans* strains isolated from animals in Poland, in the years 2015–2019. *Scientific Reports*, 2021, 11, 1-12 (IF=4,997; pkt. MNiSW 140).
3. Florek Magdalena, Król Jarosław, Woźniak-Biel Anna: Atypical URA5 gene restriction fragment length polymorphism banding profile in *Cryptococcus neoformans* strains. *Folia Microbiologica*, 2019, 64, 857-860. (IF=1,730; pkt. MNiSW 40).

Sumaryczny IF publikacji przedstawionych przez Habilitantkę jako osiągnięcie naukowe, wynosi 10,427, a suma punktów MNiSW lub MNiE zgodnie z wykazem w roku publikacji na dzień złożenia dokumentacji jest równa 280.

Wszystkie prace w ramach cyklu są pracami eksperymentalnymi, opublikowanymi w czasopismach z listy JCR. Habilitantka jest pierwszym autorem i jednocześnie we wszystkich publikacjach pełni rolę autora korespondencyjnego. Wszystkie publikacje są wieloautorskie i obejmują od trzech do jedenastu autorów. Należy podkreślić, że eksperymenty opisane w publikacjach były realizowane w multidyscyplinarnych zespołach badawczych, co wynikało z szeroko zakrojonej tematyki oraz zróżnicowanego charakteru badanych próbek. Potwierdza to umiejętność współpracy dr Magdaleny Florek z wieloma różnymi ośrodkami naukowymi oraz sektorem diagnostycznym. Habilitantka we wszystkich pracach pełni rolę wiodącą, deklarując autorstwo hipotezy badawczej oraz projektu układu badawczego, udział lub współudział realizacji części eksperymentalnej, dokumentacji, a także przygotowaniu manuskryptu i koordynacji procesu wydawniczego prac. Powyższa aktywność zdecydowanie wskazuje na Jej wiodący udział w powstaniu osiągnięcia naukowego przedłożonego do oceny. Przedstawione do oceny prace zostały opublikowane w języku angielskim, w czasopismach o współczynniku wpływu od 1,73 do 4,99, co zdecydowanie zwiększa zasięg naukowy i rozpoznawalność Habilitantki pośród niewielkiej grupy ekspertów zajmujących się mykologią weterynaryjną w ramach dyscypliny weterynaria. Zainteresowanie niszową ale jakże wyjątkową tematyką, którą zajmuje się Habilitantka potwierdzają również cytowania Jej prac w literaturze międzynarodowej.

Wiodący udział dr Magdaleny Florek w realizacji badań przedstawionych w cyklu w większości potwierdza również treść oświadczeń pozostałych współautorów. Dwie spośród cyklu prac są opracowaniami wieloautorskimi (10 lub 11 autorów), niemniej po przeanalizowaniu zakresu prac przeprowadzonych przez poszczególnych współautorów (m.in. kolekcjonowanie próbek środowiskowych, próbek klinicznych oraz przeprowadzanie procedury izolacyjnej na szeroką skalę, a także wykorzystanie metodyki MALDI TOF-MS, analiza bioinformatyczna oraz ocena



izolatów w kontekście lekooporności), tak szeroka kooperacja ze specjalistami z różnych dziedzin wydaje się nieodzowna. O ile w przypadku identyfikacji i oceny lekowrażliwości większości gatunków bakteryjnych odpowiednie procedury i algorytmy zostały w pełni opracowane, o tyle diagnostyka grzybów, szczególnie gatunków rzadko izolowanych z przypadków klinicznych, czy w ramach badań monitoringowych lub z próbek środowiskowych, stanowi nadal spore wyzwanie. Grzyby z rodzaju *Cryptococcus* spp, których występowanie i charakterystykę Habilitantka przedstawia w ramach prac stanowiących osiągnięcie naukowe, do takiej właśnie grupy drobnoustrojów należą.

Niestety należy wskazać, że Habilitantka nie przedstawiła wszystkich wymaganych oświadczeń; do przedstawionej dokumentacji nie dołączono bowiem oświadczeń Pani Katarzyny Włodarczyk-współautorki pierwszej i drugiej publikacji.

Omówienie celu i wyników monotematycznego cyklu prac przedstawionych jako osiągnięcie naukowe, a także podsumowanie, Habilitantka przedstawiła w zwięzłej i jasnej formie, umożliwiającą zaznajomienie z problematyką występowania, chorobotwórczości, diagnostyki, a także historii zmian w taksonomii grzybów należących do rodzaju *Cryptococcus*.

W mojej ocenie jedynym, niewielkim mankamentem wydaje się bardzo złożony i nadmiernie rozbudowany tytuł osiągnięcia. Być może wystarczyłoby ograniczyć go do pierwszej części i uprościć drugą, tj. „*Występowanie, struktura genetyczna oraz lekowrażliwość grzybów należących do kompleksów gatunków Cryptococcus neoformans/ C. gattii w Polsce: analiza populacji środowiskowej i odzwierzęcej*”. Ale ta drobna korekta nie umniejsza znaczenia osiągnięcia.

Dotychczas opublikowane w tym zakresie relatywnie skąpe dane, zarówno na arenie międzynarodowej jak i w naszym kraju, wyraźnie wskazują, że Habilitantka podjęła się analiz w obrębie bardzo niszowej tematyki, co związane jest z niewielką liczbą przypadków potwierdzonej kryptokokozy, zarówno u człowieka jak i u zwierząt. W Polsce, (na co wskazuje również Habilitantka), zaledwie w pojedynczych publikacjach, wykazywane są potwierdzone przypadki kryptokokozy u ludzi, natomiast brak tego typu danych w odniesieniu do zwierząt. Ze względu na środowiskowy charakter rezerwuarów, niespecyficzny przebieg choroby oraz problemy diagnostyczne, kryptokokoza jest realną chorobą o wysokim odsetku śmiertelności, dotykającą rocznie kilkuset osób na świecie. W przypadku zwierząt, kryptokokoza jest chorobą najczęściej kojarzoną z kotowatymi, niemniej również inne gatunki zwierząt są wrażliwe na zakażenie grzybami z tego rodzaju.

Mając powyższe na uwadze, z dużym uznaniem odnoszę się do koncepcji pionierskich badań podjętych przez Habilitantkę, a zarazem do podjęcia przez Nią potencjalnego ryzyka uzyskania wyników negatywnych, tj. niewykazania obecności *Cryptococcus* w badanych przez Nią próbkach odzwierzęcych i środowiskowych. Zaplanowała Ona bardzo szeroką analizę rezerwuarów, która umożliwiła wykazanie zupełnie nowych środowisk naturalnych i nisz ekologicznych, w których dotychczas nie wykazano obecności *Cryptococcus*, a jak wykazały badania Habilitantki nisze pierwotne mogą być dość zróżnicowane. Z tego też względu przeprowadzone przez Habilitantkę badania mają unikatowy charakter.

Badania zostały przeprowadzone na reprezentatywnej puli próbek (ponad 1200), zarówno środowiskowych jak i odzwierzęcych. Habilitantka zaplanowała badania przesiewowe nie tylko



gatunków zwierząt uważanych dotychczas za „żelazne” rezerwuary grzybów z rodzaju *Cryptococcus*, jakimi są gołębie domowe i dzikie (*Columba livia /domestica*) ale również objęte zostały nimi inne gatunki zwierząt, w tym domowe (psy, koty, kurczęta) oraz wolno żyjące (badania prowadzono w oparciu o próbki pozyskane z ogrodu zoologicznego). Po uzyskaniu 36 szczepów, aby zwiększyć analizowaną pulę polskich szczepów Habilitantka włączyła do badań wcześniej uzyskane w laboratorium komercyjnym izolaty, pochodzące przede wszystkim od gołębi, co pozwoliło na łączną analizę kilkudziesięciu szczepów należących wyłącznie do *Cryptococcus neoformans* species complex (CNSC).

Habilitantka wykazała występowanie CNSC na porównywalnym poziomie (około 2%) w rezerwuarach pierwotnych (roślinnych) jak i wtórnych (zwierzęcych), co z jednej strony potwierdza występowanie potencjalnego ryzyka wystąpienia zakażenia ze środowiska grzybami z rodzaju *Cryptococcus* zarówno dla człowieka i zwierząt, a z drugiej wskazuje, że ryzyko to jest niewielkie. Ponadto izolacja szczepów praktycznie tylko od gołębi, przy niemalże zerowym odsetku izolacji od ssaków (wykazano zaledwie jeden przypadek izolacji od przedstawiciela lemurowatych), potwierdza, iż również w Polsce to gołębie stanowią jedyny rezerwuar zwierzęcy izolowanego dotychczas w Europie kompleksu *C. neoformans* ale co należy podkreślić, gołębie domowe, zatem bliżej związane z człowiekiem.

Wykazanie unikatowych gatunków drzew, z którymi powiązano występowanie CNSC na terenie naszego kraju (dąb, brzoza, daglezwia, sosna), również stanowi pionierskie wyniki, które uzupełniają, a właściwie tworzą nowe, nie publikowane dotychczas dane z terenu Polski. Jak wskazała Habilitantka, do chwili obecnej opublikowano zaledwie dwa doniesienia dotyczące występowania *Cryptococcus* w próbkach środowiskowych pochodzących z terenu naszego kraju, przy czym dane te pochodzą sprzed co najmniej piętnastu lat albo zostały opublikowane tylko w języku polskim.

Drugim, wartym podkreślenia elementem stanowiącym o wartości cyklu jest ocena zasadności wykorzystania techniki MALDI TOF-MS do identyfikacji grzybów z rodzaju *Cryptococcus*. Metoda ta w ostatnich latach znalazła ogromne zastosowanie w mikrobiologii i głównie wykorzystywana jest do identyfikacji gatunkowej mikroorganizmów, dzięki czemu stale rozwijają się bazy danych wykorzystywane przez diagnostów do analizy porównawczej. W przypadku przeprowadzonych badań Habilitantka wykazała wysoką czułość powyższej metody identyfikacyjnej, pozwalającej na określenie głównych typów molekularnych (MMT) *Cryptococcus*, a szczególnie z najwyższym prawdopodobieństwem zgodności MMT VNI (typ ten jest najczęściej izolowany z próbek klinicznych), niemniej w przypadku szczepów hybrydowych Habilitantka wykazała, że identyfikacja ta nie jest jednoznaczna lub niemożliwa nawet po uzupełnieniu bazy danych oferowanej przez producenta, widmami własnych szczepów. Zatem uzyskane wyniki wskazują z jednej strony na problemy z identyfikacją hybryd w oparciu tę technikę, a z drugiej mają również charakter aplikacyjny ponieważ mogą być wykorzystane do uzupełnienia baz danych oraz tworzenia protokołów identyfikacji szczepów *Cryptococcus* z wykorzystaniem techniki MALDI TOF, uzyskanych z próbek klinicznych.

Za kolejną, aplikacyjną wartość osiągnięcia należy uznać analizę lekowrażliwości szczepów *Cryptococcus*. O ile problemu nie stanowi metodyczna strona oceny lekowrażliwości wśród grzybów drożdżopodobnych (w tym *Cryptococcus*), o tyle interpretacja uzyskanych wyników ze względu na



brak jednoznacznych kryteriów niejednokrotnie prowadzi do błędnych wniosków, co jest szczególnie niebezpieczne w przypadku szczepów izolowanych z przypadków klinicznych kryptokokozy, bowiem rodzi to konsekwencje w postaci nieskutecznej terapii. W tym przypadku należy podkreślić, że Habilitantka przeprowadziła ocenę lekowrażliwości w odniesieniu do dużej i zróżnicowanej pod względem aktywności, grupy antymikotyków (przebadano siedem różnych substancji, w tym także leków używanych wyłącznie w medycynie człowieka). Do kwalifikacji szczepów wykorzystano dostępne kryteria epidemiologiczne, które są bardziej czułe w porównaniu do klinicznych i kategoryzują szczepy do dwóch grup, tj. szczepy posiadające nabyte mechanizmy oporności (non-wild type) lub nieposiadające takowych (wild type). Badania Habilitantki wykazały relatywnie niski poziom lekooporności szczepów *Cryptococcus* izolowanych od bezobjawowych nosicieli i ze środowiska. Niewiele ponad 8% spośród wszystkich przebadanych szczepów zakwalifikowano jako odporne jedynie na 5-fluorocytozynę, co rokuje pozytywnie co do terapii w przypadku wystąpienia zakażenia. Biorąc jednak pod uwagę, że lek ten jest stosowany jako pierwszego rzutu przy leczeniu kryptokokozy u ludzi, należy mieć na uwadze, że niekliniczne szczepy *Cryptococcus* izolowane z rodzimych rezerwuarów mogą być potencjalnie niewrażliwe na ten lek i w przypadku zakażenia i wystąpienia klinicznych objawów kryptokokozy, terapia w oparciu o 5-fluorocytozynę może okazać się nieskuteczna.

Dopełnieniem badań Habilitantki była analiza molekularna wszystkich szczepów w oparciu o URA5-RFLP, pozwalająca na przyporządkowanie szczepów do podgatunku, a zarazem głównych typów molekularnych, co jest niezwykle istotne nie tylko z punktu widzenia prawidłowej identyfikacji ale również analizy epidemiologicznej. Większość izolatów została zakwalifikowana jako *C. neoformans* var. *neoformans*, natomiast zaledwie 14 szczepów przyporządkowano do *C. neoformans* var. *grubbi*. Najciekawszym aspektem badań okazało się jednak wykazanie wśród izolatów obecności hybryd (n=4), które przyporządkowano jako VIII/AD i które należały do szczepów odzwierzęcych. Wykazanie hybryd cechujących się atypowym wzorem restrykcyjnym oraz 6 „atypowych” izolatów należących do MMTIV stało się podstawą do głębszej analizy molekularnej. Analiza mapy restrykcyjnej szczepów wykazała obecność dodatkowego miejsca restrykcyjnego dla enzymu HhaI, co poskutkowało wizualizacją atypowego profilu restrykcyjnego. Wykorzystanie techniki MLST pozwoliło natomiast na przyporządkowanie tych szczepów do typu allelicznego #32, który jak się okazało, był wcześniej notowany wśród szczepów *Cryptococcus* w innych krajach, niemniej dopiero w oparciu o badania Habilitantki zostały opisane mechanizmy molekularne powyższej aberracji.

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

Na podkreślenie zasługuje również fakt, iż Habilitantka nie zamknęła się jedynie wokół rezerwuarów zwierzęcych ale w szerokiej, multidyscyplinarnej kooperacji podjęła się oceny rezerwuarów roślinno-środowiskowych i jak wykazały Jej badania, mogą one być równie istotne epidemiologicznie jak rezerwuary zwierzęce, stanowiąc źródło infekcji zarówno dla człowieka jak

i wrażliwych gatunków zwierząt.

Biorąc pod uwagę szeroką charakterystykę, po raz pierwszy przeprowadzoną na tak reprezentatywnej puli izolatów *Cryptococcus*, można stwierdzić, iż wyniki badań uzyskane przez dr Magdalenę Florek są unikatowe, a zarazem pionierskie w odniesieniu do populacji grzybów *Cryptococcus neoformans* kompleks, występującej na terenie naszego kraju i z pewnością uzupełnią dotychczasową ogromną lukę nie tylko w zakresie mykologii weterynaryjnej.

Ocena pozostałej, istotnej aktywności naukowej

Dr Magdalena Florek od początku zatrudnienia w Zakładzie Mikrobiologii realizowała pracę badawczą związaną z szeroko pojętą mikrobiologią weterynaryjną. W obrębie Jej zainteresowań naukowych znalazła się dość zróżnicowana tematyka, zarówno z zakresu bakteriologii, mykologii jak i wirusologii, niemniej była i jest to tematyka zawsze związana z bieżącymi problemami diagnostyki, charakterystyki bądź wirulencji czynników infekcyjnych występujących u zwierząt. Jednym z istotnych tematów badawczych były zagadnienia związane z występowaniem grzybic u zwierząt oraz analiza czynników etiologicznych tychże. Habilitantka skupiła się przede wszystkim na grzybach drożdżopodobnych powodujących infekcje oportunistyczne u różnych gatunków zwierząt. Tematyka z tego zakresu stanowiła również zagadnienia omówione w Jej pracy doktorskiej ze szczególnym uwzględnieniem *Malassezia pachydermatis* izolowanych od zdrowych i chorych zwierząt. W latach 2000-2010 oportunistyczne zakażenia na tle *M. pachydermatis* stanowiły jeden z tematów wiodących szczególnie w przypadku problematyki czynników odpowiedzialnych za *otitis externa* u psów. Dynamicznie zmieniająca się systematyka w obrębie rodzaju *Malassezia* (znanego dotychczas jako *Pityrosporum* spp.) oraz próba znalezienia zależności pomiędzy właściwościami szczepu a potencjalnym wystąpieniem infekcji, przyczyniły się do znaczącego wzrostu zainteresowania tymi grzybami. Habilitantka wykazała co prawda jednakowy odsetek występowania *M. pachydermatis* u psów zdrowych i z objawami *otitis externa*, ale za to wyodrębniła dwa typy morfologiczne w obrębie tego samego gatunku, oraz wykazała różnice w procesie adhezji komórek grzyba izolowanych od zwierząt chorych i zdrowych, co może być związane z większą zdolnością do wywoływania objawów klinicznych przez pierwszą, wymienioną grupę. Habilitantka przeprowadziła również analizę molekularną badanych izolatów z wykorzystaniem SDS-PAGE oraz bardzo nowoczesnej jak na ówczesne czasy metody ADSRRS-fingerprinting. Jej badania dotyczące grzybów drożdżopodobnych nie zamknęły się jednak *stricto* w obrębie rodzaju *Malassezia*, ponieważ w dorobku publikacyjnym Habilitantki znajdują się również analizy dotyczące występowania i charakterystyki innych gatunków grzybów drożdżopodobnych (głównie *Candida*), izolowanych od psów oraz z przypadków *mastitis* u bydła. Warty podkreślenia jest również zaangażowanie Habilitantki w prace kazuistyczne, które stanowią nieocenione źródło wiedzy dla lekarzy praktyków i diagnostów. Efektem prac nad zagadnieniami związanymi z grzybami drożdżopodobnymi były: obroniona w 2006 roku rozprawa doktorska oraz kilkanaście prac eksperymentalnych i doniesień kongresowych, w których w większości dr M. Florek pełniła rolę autora wiodącego.

Tematyką kryptokokozy u zwierząt dr M. Florek zainteresowała się już w 2008 roku, rozpoczynając ten temat badawczy od zgłębienia aktualnej literatury i podzielenia się swoją wiedzą w rozdziale

książki pod red. E. Barana „Grzybnice w praktyce weterynaryjnej, Mikologia co nowego?”. Poza publikacjami stanowiącymi osiągnięcie naukowe, dr M Florek opublikowała w tym zakresie jeszcze trzy inne publikacje/doniesienia kongresowe, związane z metodyką izolacji *Cryptococcus* spp z próbek klinicznych i środowiskowych oraz genotypowaniem szczepów należących do *C. neoformans* species complex w oparciu o MLST. Warto podkreślić, iż badania z zakresu genotypowania były realizowane we współpracy międzynarodowej w ramach istniejącej przy międzynarodowej organizacji ISHAM grupy roboczej o nazwie „Genotyping of *Cryptococcus neoformans* and *C. gatti*” w ramach której tworzona jest ogólnodostępna baza danych odnośnie typów sekwencyjnych, a do której dzięki badaniom Habilitantki udało się wprowadzić 17 nowych ST i 11 typów allelicznych grzybów CNSC. Habilitantka również w oparciu o zgromadzoną kolekcję własną grzybów, przeprowadziła genotypowanie izolatów hybrydowych należących do CNSC (badanie *Cryptococcus* Hybrids Sequencing) we współpracy z dr Massimo Cogliatim, założycielem międzynarodowego projektu SCrEEN. Wyniki tych badań zostały częściowo przedstawione w publikacjach należących do osiągnięcia naukowego, natomiast dane wprowadzone dzięki tym badaniom do ogólnodostępnych baz danych związanych z typowaniem hybryd metodą MLST stanowią solidną bazę do badań epidemiologicznych populacji CNSC występujących na świecie.

Bardzo interesującym aspektem badawczym działań naukowych podejmowanych przez Habilitantkę w Jej dotychczasowej pracy badawczej, była analiza mechanizmów lekooporności u wybranych patogenów bakteryjnych oraz badanie aktywności przeciwdrobnoustrojowej nowo syntetyzowanych związków chemicznych. Na przełomie lat 2020/2011 Habilitantka zrealizowała 5-ciomiesięczny staż zagraniczny w renomowanym ośrodku University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno (Czechy) pod kierunkiem prof. Ivana Literaka i dr Moniki Dolejskiej. W ramach stażu Dr Magdalena Florek realizowała badania z zakresu mechanizmów oporności na poszerzone spektrum antybiotyków β -laktamowych bakterii rodziny *Enterobacteriaceae*, określanych jako ESBL. Jest to jeden z bardziej istotnych pod względem epidemiologicznym typów oporności, który ze względu na horyzontalne mechanizmy szerzenia się, w chwili obecnej odpowiada za pojawianie się infekcji stanowiących zagrożenie dla zdrowia publicznego zarówno u człowieka jak i zwierząt. Wymiernym efektem kilkumiesięcznej współpracy Habilitantki z zespołem naukowców z Brna była praca eksperymentalna opublikowana w *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* potwierdzająca jako jedna z pierwszych na świecie występowanie szczepów *E.coli* posiadających mechanizmy oporności na poszerzone spektrum β -laktamów w materiale pochodzącym ze ścieków. Uzyskane przez zespół badawczy wyniki potwierdziły brak skuteczności procesów odpowiedzialnych za inaktywację wielolekoopornych bakterii na poziomie oczyszczalni ścieków i wskazały na kolejną drogę zanieczyszczenia środowiska naturalnego i realną możliwość transmisji klinicznie istotnych, wielolekoopornych szczepów do środowiska.

Zdobywszy doświadczenie badawcze pod opieką wybitnych specjalistów, Habilitantka nie porzuciła całkowicie swoich zainteresowań związanych z aktywnością przeciwdrobnoustrojową i umiejętności oraz warsztat badawczy zdobyty w trakcie stażu wykorzystała w szeroko zakrojonych badaniach realizowanych we współpracy z zespołem dr Radosława Starosty z Wydziału Chemii



Uniwersytetu Wrocławskiego, w zakresie testowania aktywności przeciwdrobnoustrojowej nowo syntetyzowanych związków chemicznych. Powyższa współpraca zaowocowała imponującą liczbą kilkunastu publikacji oraz międzynarodowych doniesień konferencyjnych, opublikowanych w renomowanych czasopismach naukowych.

Habilitantka również bardzo aktywnie włącza się od początku swojej kariery naukowej w nurt badań realizowanych w macierzystej jednostce, m. in. dotyczących analizy porównawczej składu mikrobioty występującej w jamie ustnej zdrowych psów, ze szczególnym uwzględnieniem bakterii z rodziny *Pasteurellaceae*. Jest to grupa bakterii dość problematyczna z diagnostycznego punktu widzenia ze względu na wciąż nie do końca ustabilizowaną pozycję taksonomiczną oraz dość dużą zmienność właściwości fizjologicznych, co uniemożliwia na ogół zastosowanie w diagnostyce rutynowo stosowanych testów typu API, opartych na ocenie właściwości biochemicznych. Dodatkowo biorąc pod uwagę relatywnie częste przypadki zakażeń, będących efektem ukąszeń człowieka przez psy lub koty, bakterie należące do tej grupy dość często stanowią główny czynnik etiologiczny w takich sytuacjach, a zespół badawczy wraz z udziałem Habilitantki opracował m. in. metodykę molekularną do różnicowania populacji odzwierzęcych *P. dagmatis*, którą można z powodzeniem stosować w diagnostyce tej grupy drobnoustrojów. Wymiernym efektem tych badań jest współautorstwo dr M. Florek w dziewięciu opracowaniach naukowych.

Choroby zakaźne koni oraz analiza mechanizmów odpowiedzi immunologicznej u tych zwierząt, stanowi od wielu lat jeden z wiodących tematów badawczych jednostki, w której zatrudniona jest Habilitantka, zatem Jej udział w pracach badawczych obejmujących powyższe zagadnienia na przestrzeni lat Jej aktywności naukowej również był znaczący. Początkowo Habilitantka uczestniczyła w badaniach mających na celu ocenę poziomu odpowiedzi immunologicznej na ekspozycję na zróżnicowane drobnoustroje bakteryjne (m. in. *M. sciuri*, *S. xylosum*, *S. aureus*) występujące w jamie nosowej u koni, szczególnie u źrebiąt. Analiza objęła również te drobnoustroje, na które najczęściej mogą być ekspozycjonowane źrebięta, tj. *R. equi* i *S. Typhimurium*. Zespół badawczy z udziałem Habilitantki wykazał dość zróżnicowany poziom przeciwciał w zależności od gatunku drobnoustrojów, co może świadczyć o większej lub mniejszej ekspozycji, na poszczególne gatunki, a nawet szczepy drobnoustrojów.

Zakład Mikrobiologii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej we Wrocławiu od wielu lat jest wiodącym ośrodkiem badawczym, specjalizującym się w diagnostyce chorób wirusowych u koni, zatem i w tej tematyce badawczej Habilitantka od początku swojej kariery naukowej miała czynny udział. Badania prowadzone pod kierunkiem prof. W. Golnika, a następnie dr hab. B. Bażanów pozwoliły na bardzo szeroką analizę epidemiologiczną ronień u klaczy i niepłodności u ogierów, związanych z infekcjami wirusowymi, notowanymi na terenie naszego kraju, m. in. na tle wirusa zapalenia tętnic u koni (EAV) czy herpeswirusów (EHV). W oparciu o klasyczną i serologiczną metodykę wykorzystywaną w diagnostyce wirusologicznej, Zespół badawczy ze współudziałem Habilitantki przeprowadził ocenę statusu immunologicznego konia huculskiego jednej z prymitywnych ras, potencjalnie odpornej na gorsze warunki środowiskowe, a tym samym teoretycznie cechującej się również wyższą odpornością na czynniki zakaźne, w tym wirusowe. Zespół badawczy jako jeden z pierwszych w Polsce określił zatem poziom przeciwciał w odniesieniu do wybranych wirusów odpowiedzialnych za ronienia u klaczy, wirusowego zapalenia



nosa koni, wirusa grypy czy wybranych arbowirusów (wirus zachodniego Nilu, wirus Usutu i wirus niedokrwistości zakaźnej). Autorom nie udało się co prawda potwierdzić obecności wirusa metodami klasycznymi, niemniej u badanych zwierząt stwierdzono relatywnie wysoki odsetek występowania przeciwciał przeciwko wirusom grypy, wirusowi Usutu i wirusowi zapalenia nosa u koni. Efektem tych badań było współautorstwo Habilitantki w siedmiu pracach eksperymentalnych. Podsumowując dokonania Habilitantki warto wskazać, że do najważniejszych osiągnięć badawczych należą:

- charakterystyka morfologiczno-fizjologiczna oraz molekularna, a także analiza porównawcza szczepów *M. pachydermatis* komensalicznych i potencjalnie chorobotwórczych izolowanych od psów- Habilitantka była jednym z pierwszych badaczy na arenie krajowej, którzy podjęli się wyjaśnienia zależności pomiędzy właściwościami szczepów *M. pachydermatis*, a ich chorobotwórczością, w tym udziałem w wywoływaniu zapalenia zewnętrznego kanału słuchowego u psów.
- badania Habilitantki w zakresie izolacji, diagnostyki i charakterystyki molekularnej grzybów z rodzaju *Cryptococcus* należą do wiodących nie tylko na arenie badań krajowych, ale, co należy podkreślić, współpraca dr M. Florek w tym zakresie z wiodącymi ośrodkami zagranicznymi zaowocowała powstaniem i ciągłym rozbudowywaniem bazy danych odnośnie typów sekwencyjnych *Cryptococcus* oraz badań nad hybridami tych grzybów.
- duże doświadczenie badawcze Habilitantki, nabyte w trakcie kilkumiesięcznego stażu zagranicznego w wiodącym ośrodku naukowym zostało wykorzystane w licznych badaniach o charakterze multidyscyplinarnej współpracy w zakresie analizy aktywności przeciwdrobnoustrojowej nowych związków chemicznych. W kontekście narastającej lekooporności ta aktywność Habilitantki wpisuje się szczególnie mocno w bieżące potrzeby badawcze.

Tak szeroka aktywność naukowa przełożyła się na relatywnie wysokie wskaźniki naukometryczne Habilitantki oraz publikacje prac w czasopismach w przeważającej większości indeksowanej na liście JCR; Habilitantka jest współautorem 24 prac eksperymentalnych i przeglądowych opublikowanych w czasopismach z listy JCR, współautorką monografii i rozdziału w monografii oraz siedmiu publikacji w czasopismach nieposiadających współczynnika wpływu.

Kilkunastokrotnie wyniki badań realizowanych przy współudziale Habilitantki były prezentowane w trakcie krajowych i międzynarodowych kongresów naukowych (jako pierwszy autor Habilitantka występowała kilkakrotnie). Być może pewien niedosyt budzi fakt, iż poza pracami przedstawionymi jako osiągnięcie naukowe, Habilitantka występuje sporadycznie w roli pierwszego autora, niemniej jak wskazuje tematyka publikacji, Jej doświadczenie i warsztat badawczy był nieodzowny, a udział znaczący w powstawaniu prac badawczych, realizowanych m. in. pod kierunkiem prof. Z. Staroniewicza, dr Starosty, dr hab. B. Bażanów, prof. W. Golnika oraz dr hab. J Króla.

Znaczenie i zainteresowanie tematyką badawczą, którą zajmowała się i zajmuje dr M. Florek przekłada się również na dość wysoki indeks Hirscha, który według WoS wynosi 11 i koreluje z dużą liczbą cytowań (647). Z pewnością warto podkreślić, iż zaledwie 5% tej wartości stanowią autocytywania. Prace współautorstwa Habilitantki publikowane są w czasopismach o



zróżnicowanym współczynniku wpływu; od 0,259 do 5,436, co jest zjawiskiem naturalnym, związanym ze zmieniającymi się pod względem tematyki trendami badawczymi.

Analizując przebieg kariery naukowej Habilitantki należy wskazać, iż pomimo że od uzyskania stopnia doktora upłynęło relatywnie wiele lat, Habilitantka przez cały ten okres zdobywała wielostronne doświadczenie badawcze, nie zamykając się tylko i wyłącznie w jednotematycznej analizie, co zaowocowało powolnym aczkolwiek stałym progresem, wynikającym ze zdobycia wszechstronnego doświadczenia, które z kolei zostało przekute na bardzo szeroką współpracę krajową i międzynarodową oraz liczbę i wysoką jakość publikacji. W mojej ocenie należy uznać to za wartość dodaną, świadczącą o dużej dojrzałości naukowej, wymaganej od przyszłego pracownika samodzielnego.

Obok wspomnianej wcześniej współpracy z ośrodkami zagranicznymi, z których za najistotniejsze uznać należy współpracę z grupą roboczą istniejącą przy ISHAM, oraz prof. M. Cogliatim- liderem projektu SCrEEN, jako równie wartą podkreślenia wymienić należy współpracę krajową z pracownikami Wydziału Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego, która poza licznymi publikacjami zaowocowała również współrealizacją grantu NCN w latach 2013-2016, w którym Habilitantka pełniła rolę wykonawcy. W latach 2011-2014 oraz 2019-2020, Habilitantka jeszcze dwukrotnie realizowała zadania badawcze jako wykonawca w grantach finansowanych przez NCN oraz województwo dolnośląskie. Warto podkreślić, iż ostatnia z wymienionych inicjatyw miała charakter aplikacyjny, związany z opracowaniem preparatu na bazie naturalnych ekstraktów roślinnych, wykorzystywanego do wspomagania leczenia *mastitis* i racic u krów.

Z pewnością wartą podkreślenia jest współpraca realizowana z Uniwersytetem Medycznym we Wrocławiu (dr Urszula Nawrot) oraz Instytutem Immunologii Doświadczalnej i Klinicznej im. Ludwika Hirszfelda PAN we Wrocławiu (dr Agnieszka Korzeniowska -Kowal). Doświadczenie badawcze w zakresie izolacji, identyfikacji oraz charakterystyki profilu lekowrażliwości grzybów z rodzaju *Cryptococcus*, z którego skorzystała Habilitantka, zaowocowało ciągłą współpracą badawczą oraz możliwością poszerzenia rodzimej kolekcji PCM (Polish Collection of Microorganism)- Habilitantka zdeponowała 58 scharakteryzowanych dotychczas izolatów grzybów.

Habilitantka aplikowała również samodzielnie z powodzeniem o fundusze badawcze, zdobywając w 2016 roku projekt w ramach KNOW „Analiza typów molekularnych szczepów grzybów, należących do kompleksu *Cryptococcus neoformans/C. gatti*, izolowanych na terenie województwa dolnośląskiego”.

Rozpoznawalność naukowca w środowisku krajowym i międzynarodowym przekłada się również na ilość zaproszeń do recenzji artykułów naukowych lub udziału w wystąpieniach eksperckich, wykonanych ekspertyz badawczych z zakresu specjalizacji naukowca, czy uczestnictwo w gremiach decydujących o przyznaniu wyróżnień lub nagród za aktywność naukową. Dr M. Florek kilkakrotnie recenzowała prace m. in. w takich czasopismach zagranicznych jak: Medical Mycology (wyd Oxford Academic), Scientific Reports (wyd. Nature), Pathogens, Antibiotics (wyd MDPI) ale również krajowych: Journal of Veterinary Research, Postępy Mikrobiologii (wyd Sciendo). Na marginesie uczulam, iż w niektórych czasopismach nadal obowiązuje zasada tzw. double blind revision, dlatego ze zrozumiałych względów raczej powinno się podawać liczbę

zrecenzowanych manuskryptów i nazwę czasopisma, do którego zostały złożone, aniżeli pełne tytuły recenzowanych prac.

Habilitantka realizowała również zadania badawcze na potrzeby przedsiębiorców, współpracując z Euroimpex Polska, Centrum Technologii Inhibitorowych sp z o. o., oraz BioRepair GmbH (Niemcy). W latach 2017-2019 aktywnie uczestniczyła również w pracach komisji wydziałowej ds. nagród i odznaczeń.

Aktywność naukowa dr M. Florek została kilkakrotnie doceniona, m. in. przez Rektora UP we Wrocławiu i Habilitantka w 2012 roku otrzymała nagrodę zespołową I stopnia za osiągnięcia naukowe, co przełożyło się na otrzymanie dodatku projakościowego, przyznawanego za działalność naukową; w 2006 Habilitantka została wyróżniona nagrodą II stopnia, w tym samym roku otrzymała również I nagrodę Polskiego Towarzystwa Dermatologicznego -Seksja Mikologiczna za prezentację pracy w sesji plakatowej.

W podsumowaniu oceniam, iż **Habilitantka wykazuje się istotną aktywnością naukową**, nie tylko w macierzystej jednostce zatrudnienia ale również aktywnie realizowała i realizuje zadania badawcze w innych jednostkach naukowych lub współpracując prężnie zarówno z ośrodkami krajowymi jak i zagranicznymi, zatem w mojej ocenie pozostała aktywność naukowa dr Magdaleny Florek spełnia wymagane kryteria.

Poza aktywnością naukową, Habilitantka realizuje również aktywność dydaktyczną, co wynika z charakteru zatrudnienia na macierzystym Wydziale (pracownik badawczo-dydaktyczny). Dr Magdalena Florek realizuje zajęcia dydaktyczne zarówno dla studentów polskich jak i zagranicznych (English division) kierunku weterynaria, jak i studentów innych kierunków studiów prowadzonych przez Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu. Poza podstawową działalnością, dr M. Florek angażuje się również w opiekę naukową nad Studenckim Kołem Naukowym Anthrax oraz koordynuje pracę studenckiej grupy badawczej, realizującej badania z zakresu charakterystyki oporności gramujemnych pałeczek jelitowych w wodach oczyszczalni ścieków we Wrocławiu. W latach 2014-20 Habilitantka sprawowała również opiekę nad studentami studiów stacjonarnych English division.

Warto podkreślić bardzo bogatą aktywność organizacyjną dr Magdaleny Florek, która poza wcześniej wymienionymi aktywnościami obejmuje lub obejmowała: członkostwo i funkcja sekretarza w Radzie Programowej kierunku weterynaria, funkcja sekretarza Komisji ds. sprawozdawczości i informacji o działalności badawczej przy radzie Dyscypliny Weterynaria, członkostwo w Komisji Dziekańskiej ds. informacji o działalności naukowej Wydziału, członkostwo jury XIV Międzynarodowej Konferencji Studenckich Kół Naukowych

Za swoją ponadprzeciętną aktywność dydaktyczną i organizacyjną dr Magdalena Florek została dwukrotnie nagrodzona przez Rektora UP we Wrocławiu oraz komitet organizacyjny XIV Kongresu PTNW.

Podsumowanie i wniosek końcowy

Przedstawione do oceny osiągnięcia naukowe w postaci jednotematycznego cyklu publikacji, wskazanego przez Habilitantkę jako podstawy do ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego, **oceniam pozytywnie**. Badania Habilitantki w zakresie występowania i



charakterystyki rodzimych szczepów należących do rodzaju *Cryptococcus* należą do badań unikatowych, szczególnie w aspekcie rezerwarów odzwierzęcych i środowiskowych, dlatego uważam, że wnoszą one oryginalny i wartościowy wkład do dziedziny nauk weterynaryjnych dyscypliny weterynaria

Całkowity dorobek naukowy Habilitantki jest co prawda wielokierunkowy ale wynika to z bogatego doświadczenia badawczego Habilitantki oraz zróżnicowanego profilu badawczego jednostki, w której dr Magdalena Florek jest zatrudniona, zatem naturalną kolejną rzeczą jest Jej udział w pracach realizowanych przez zespół badawczy Zakładu Mikrobiologii. Z pewnością tak szerokie i bogate doświadczenie naukowe przekłada się na bardzo dobrą realizację procesu dydaktycznego przez Habilitantkę, a co ważniejsze umiejętność współpracy w multidyscyplinarnych zespołach badawczych zarówno na gruncie krajowym jak i międzynarodowym, co Habilitantka udowodniła wielokrotnie.

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

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

Lublin, dn. 8 lutego 2024r

Amesto Nowakiewicz

