

Warszawa, 15.11.2019r.

Prof. dr hab. Marek Gniadkowski  
Zakład Mikrobiologii Molekularnej  
Narodowy Instytut Leków  
Ul. Chełmska 30/34  
00-725 Warszawa

### **Ocena dorobku naukowego i działalności dydaktyczno-organizacyjnej dr. Krzysztofa Fiedoruka**

Pan dr Krzysztof Fiedoruk jest absolwentem Wydziału Biologiczno-Chemicznego Uniwersytetu w Białymstoku (UwB). Pracę magisterską wykonał w Zakładzie Mikrobiologii UwB pod kierunkiem Prof. dr. hab. Jana Buczka, uzyskując tytuł magistra biologii w 2001r. Następnie związał się z Zakładem Mikrobiologii Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Stomatologii i Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku (UMwB) i w 2009r. uzyskał stopień doktora nauk medycznych za rozprawę pt. „Przydatność różnych odmian technicznych metody PCR do wykrywania i identyfikacji *Listeria monocytogenes*”. Promotorem rozprawy doktorskiej była Prof. dr hab. Maria Lucyna Zaremba, wieloletnia kierownik wspomnianego Zakładu. Od chwili zakończenia studiów doktoranckich w 2003r., Kandydat jest pełnoetatowym pracownikiem Zakładu Mikrobiologii UMwB, łączącym działalność naukową, dydaktyczną i diagnostyczną. Odbył kilka szkoleń krajowych w zakresie technik biologii molekularnej, w tym, w 2017r., 4. miesięczny staż w Laboratorium Mikrobiologii Stosowanej UwB, kierowanym przez Prof. dr hab. Izabelę Święcicką, poświęcony różnym technologiom sekwencjonowania DNA nowej generacji (NGS). Z kolei, w związku z otwartą specjalizacją w zakresie mikrobiologii medycznej, P. dr Fiedoruk obecnie odbywa staż w Zakładzie Diagnostyki Mikrobiologicznej i Immunologii Infekcyjnej UMwB, kierowanym przez Prof. dr hab. Elżbietę A. Tryniszewską. Z przedstawionej dokumentacji wynika, że Kandydat nie posiada doświadczenia pobytu naukowego za granicą.

## **1. Ocena dorobku naukowego**

### **1a. Analiza bibliometryczna i projekty badawcze**

Analiza bibliometryczna dorobku naukowego P. dr. Fiedoruka, wykonana przez Bibliotekę UMwB w dniu 04.10.2019r., wykazała 19 oryginalnych prac naukowych, w tym 14 w czasopismach ze współczynnikiem oddziaływania IF, oraz trzy artykuły przeglądowe w czasopismach z IF. Łączna wartość IF wyniosła 41,197, a punktów MNiSW – 739. Prace te były cytowane 95/197 razy, dając indeks Hirscha 6/8 (baza Core Collection/wszystkie bazy danych). Na pierwszy rzut oka, tak zarysowany dorobek publikacyjny Kandydata nie jest imponujący, jednak w mojej opinii należy zwrócić uwagę na dwa elementy. Po pierwsze, na łączną liczbę 22 artykułów, 18 ukazało się w ciągu niecałych 10. lat po obronie doktoratu i nie miało związku z jego tematyką. Po drugie, 12 prac opublikowano w czasopismach z IF w zakresie 2 – ~5,5, co stanowi znaczący udział publikacji wartościowych, powstałych głównie we współpracy ze wspomnianą wyżej Prof. I. Świącicką w zakresie analizy molekularnej bakterii, oraz, w ostatnim czasie, z Prof. dr. hab. Robertem Buckim w obszarze badań aktywności biologicznych określonych substancji. Równie dobrze prezentuje się udział Kandydata w projektach badawczych po 2009r.: był wykonawcą dwóch projektów MNiSW, głównym wykonawcą dwóch projektów NCN OPUS oraz zdobył własny, niewielki grant NCN MINIATURA. Uważam, że ten ewidentny rozwój dorobku w okresie po obronie doktoratu poświadczył wysoką motywację P. dr. Fiedoruka do pracy naukowej, różnorodność jego zainteresowań i umiejętność współpracy, a także ujawnił duży potencjał badawczy i chęć doskonalenia się Kandydata, zarówno w aspekcie merytorycznym, jak i metodycznym.

### **1b. Szczególne osiągnięcie naukowe**

Jako szczególne osiągnięcie naukowe, „Filogenetyczne mechanizmy różnicowania się *Bacillus cereus sensu lato*”, P. dr Fiedoruk wybrał cztery spośród siedmiu publikacji poświęconych tym drobnoustrojom w swoim dorobku, które powstały we współpracy z zespołem Prof. Świącickiej, z jego znaczącym (P1) lub dominującym (P2-4) udziałem.

Gram-dodatnie, przetrwalnikujące laseczki *B. cereus sensu lato* stanowią grupę blisko spokrewnionych gatunków, które cieszą się na przemian szerszym lub węższym zainteresowaniem od samych początków mikrobiologii. W kontekście wspomnianego pokrewieństwa, wprost dramatycznie przedstawiają się różnice niektórych cech w obrębie grupy, która z jednej strony obejmuje jeden z najgroźniejszych, wręcz emblematycznych patogenów człowieka i ssaków, jakim jest *Bacillus anthracis*, a z drugiej *Bacillus toyonensis*,

drobnostrój stosowany w preparatach probiotycznych dla zwierząt. Od dawna obiektem żywej uwagi jest wytwarzający specyficzne, owadobójcze toksyny *Bacillus thuringiensis*, który jako masowo stosowany, bezpieczny dla człowieka biopestycyd przez kilka dekad przyczynił się m. in. do znacznego ograniczenia chemicznych środków ochrony roślin na całym świecie. Z kolei, część szczepów mocno z nim spokrewnionego *Bacillus cereus sensu stricto* może powodować zatrucia pokarmowe u ludzi, z których szczególnie poważne są zakażenia wywołane przez szczepy wytwarzające toksynę emetyczną (cereulidynę), zaliczane do istotnych czynników skażeń żywności. Zarysowane powyżej w największym możliwym skrócie informacje warunkują potrzebę uzyskania precyzyjnego obrazu taksonomii w obrębie *B. cereus s.l.* i klonalnych struktur populacji poszczególnych gatunków wraz z opracowaniem wiarygodnych metod identyfikacji gatunków i typowania szczepów, a także poznania zakresu i mechanizmów horyzontalnego transferu genów zjadliwości wśród *B. cereus s.l.* Poza głośnym precedensem użycia *B. anthracis* jako czynnika bioterrorystycznego, ciekawym przykładem praktycznego uzasadnienia tego rodzaju badań była niedawna opinia Europejskiej Agencji Bezpieczeństwa Żywności (EFSA), która na podstawie kwestionowanych przez część ekspertów podejrzeń rodzinnego ogniska biegunki o etiologii *B. thuringiensis* uznała ten drobnostrój za możliwe zagrożenie dla zdrowia publicznego. EFSA sformułowała postulat jednoznacznego zdefiniowania genetycznych różnic między *B. thuringiensis* i *B. cereus s.s.*, oraz między szczepami *B. thuringiensis* używanymi jako biopestycydy i podejrzanymi o wywołanie ogniska (EFSA Biohazard Panel. EFSA J 2016;14:99).

Ideą taksonomii i różnicowania szczepów jest możliwie ściśle oparcie ich na twardych danych filogenetycznych. Po wielu dekadach klasyfikacji fenotypowych, przewrotu w tej dziedzinie dokonała biologia molekularna, pozwalająca śledzić faktyczne podłoże i przebieg ewolucji drobnostrójów. Zmiana ta miała charakter stopniowy, w miarę rozwoju technik molekularnych, które przez dłuższy czas umożliwiały badania jedynie wybranych markerów genetycznych, stanowiących niekiedy znikomą część bakteryjnych genomów. Jednak w wielu sytuacjach trafny wybór markera doprowadził do weryfikacji taksonomii fenotypowej danej grupy, dokonując przeszerogowań istniejących gatunków, a często wzbogacając ją o nowe gatunki lub tzw. genogatunki. Dzięki biologii molekularnej, radykalnym zmianom uległo też typowanie wewnątrzgatunkowe drobnostrójów, zyskując walory m. in. uniwersalności, powtarzalności i zróżnicowanej w zależności od potrzeb rozdzielczości. Niezwykły postęp technologiczny ostatnich lat, w tym rozwój strategii NGS i spektrometrii mas (MS) z jednej strony oraz bioinformatyki z drugiej, w pewnym sensie zwieńczyły omawiany przewrót, wprowadzając badania pełnych genomów i proteomów do analiz filogenezy drobnostrójów

oraz zjawisk horyzontalnego transferu DNA. Szybkie upowszechnianie się tych podejść dzięki stałemu udoskonalaniu technologii NGS i MS oraz narzędzi bioinformatycznych, powstaniu wyspecjalizowanego rynku usług i postępującej redukcji kosztów, na wielką już skalę dynamizuje dociekania taksonomiczne i epidemiologiczne oraz rewolucjonizuje diagnostykę mikrobiologiczną.

Prace składające się na szczególne osiągnięcie naukowe P. dr. Fiedoruka mieszczą się w tym szkicowo nakreślonym tle merytorycznym i metodologicznym, co uzasadnia celowość ich podjęcia przed kilkoma laty. Lektura publikacji upewnia, iż w trakcie pracy Kandydat był doskonale i na bieżąco obeznany ze specjalistyczną wiedzą na temat *B. cereus s.l.*, wyprowadzając wprost z obserwacji innych grup szczegółowe cele projektów oraz lokując i bardzo wnikliwie dyskutując własne wyniki w ich kontekście. P. dr Fiedoruk osiągnął dużą biegłość metodyczną w zakresie analizy bioinformatycznej danych genomiczno-proteomicznych i wizualizacji ich wyników. Elementy te złożyły się na sukces prac, jakim było przyjęcie ich do druku w dobrych lub bardzo dobrych czasopismach.

Z kilku powodów prace P2 i P3 są ze sobą mocniej powiązane. Pierwszym z nich jest ogólna koncepcja, polegająca na przeprowadzeniu analizy klonalno-filogenetycznej grupy izolatów *B. cereus s.l.* z uwzględnieniem konkretnych, istotnych cech fenotypowych, uznawanych za typowe dla wyznaczonych wcześniej przez innych badaczy kładów lub pomniejszych linii filogenetycznych, takich jak wytwarzanie toksyny emetycznej (P2) lub zakres tolerancji temperaturowej (P3). Ponadto, w obu pracach Autor posłużył się podejściem proteomicznym (filoproteomika) i w obu krytyczną rolę odegrały białka rybosomalne. Praca P2 miała część laboratoryjną i istotny cel praktyczny, którym było zastosowanie techniki spektrometrycznej MALDI-TOF MS do identyfikacji emetycznych szczepów *B. cereus*, co wg mojej wiedzy było pierwszą tego typu próbą na świecie. W ciągu ostatnich lat technologia MALDI-TOF MS radykalnie usprawniła diagnostykę mikrobiologiczną dzięki bezprecedensowo szybkiej i precyzyjnej identyfikacji gatunków, a liczne grupy badawcze intensywnie pracują nad możliwościami innych jej zastosowań, zwłaszcza wykrywaniem kluczowych mechanizmów lekooporności lub czynników zjadliwości. Niektóre z tych usiłowań zakończyły się sukcesem. P. dr Fiedoruk wykorzystał ponad 120 izolatów *B. cereus s.l.*, w tym 38 wytwarzających toksynę emetyczną (*B. cereus s.s.* i *B. weihenstephanensis*), i zastosował wobec nich podejście pośrednie, tzn. nie wykrywał samej cereulidyny, a próbował zidentyfikować inne białka, które mogłyby się okazać markerami specyficznymi dla szczepów emetycznych. Było to uzasadnione wcześniejszymi danymi innych grup, sugerującymi, że emetyczne szczepy *B. cereus s.s.* tworzą zwartą, specyficzną linię filogenetyczną, silnie spokrewnioną z *B. anthracis*

i *B. thuringiensis*. W tym celu Kandydat wykonał wnikliwą analizę widm MS w zakresie  $m/z$  4000–12000 Da, identyfikując w nim 10 białek rybosomalnych wykazujących zmienność masy cząsteczkowej pomiędzy szczepami, potwierdzoną przez sekwencjonowanie ich genów. Wszystkie emetyczne izolaty *B. cereus s.s.* posiadały pojedynczy, specyficzny profil wariantów wspomnianych białek, ale jak zapewne można się było spodziewać, nie dotyczyło to *B. weihenstephanensis*, co oznaczało doskonałą czułość metody wyłącznie wobec *B. cereus s.s.* Z drugiej strony, identyczny profil wystąpił u dwóch nieemetycznych szczepów *B. thuringiensis*, a wyróżniające emetyczne izolaty *B. cereus s.s.* warianty niektórych białek obecne były też w innych izolatach *B. thuringiensis*, co obniżyło z kolei specyficzność podejścia. Autor pracy wysunął słuszny wniosek, że zaproponowany sposób użycia MALDI-TOF MS nie jest wiarygodną metodą identyfikacji wszystkich emetycznych *B. cereus s.l.*, natomiast może być stosowany przesiewowo do wykrywania takich szczepów wśród *B. cereus s.s.* Można nadmienić, że w ostatnim czasie ukazała się praca opisująca bezpośrednie podejście MALDI-TOF MS do wykrywania cereulidyny, które wydaje się bardziej obiecujące (Ulrich i wsp. Food Microbiol 2019:75-81).

Poza omówionym wątkiem, w pracy P2 P. dr Fiedoruk wykorzystał otrzymany materiał w postaci profili widm z 28. markerami (w tym 18. białkami rybosomalnymi) do przeprowadzenia analizy filoproteomicznej posiadanych szczepów. Do badania włączył też ok. 260 izolatów ze świata, których sekwencje genomowe zostały pozyskane z bazy PATRIC i użyte do ustalenia mas cząsteczkowych białek markerowych i rekonstrukcji ich widm. Analiza ta uzasadniona była powszechną wiedzą o przydatności genów białek rybosomalnych do badań filogenetycznych i typowania szczepów (tzw. rMLST). Na podstawie odpowiednich cech genetycznych wszystkie szczepy zostały też przypisane wspomnianym wyżej kladom i grupom filogenetyczno-ekologicznym *B. cereus s.l.*, wyróżnionym dawniej na podstawie analiz DNA (np. MLST, AFLP, sekwencji genów rybosomalnych) i szczegółowych danych fenotypowych, dotyczących tolerancji termicznej (tzw. termotypów). Drzewa filogenetyczne uzyskane przez Kandydata dla szczepów własnych i szczepów z bazy PATRIC dobrze korelowały z kladami i grupami, potwierdzając słuszność wcześniejszych koncepcji. Stało się to też punktem wyjścia do pracy P3, którą uważam za najbardziej wartościową w szczególnym osiągnięciu naukowym P. dr Fiedoruka.

Praca P3 jest dokonaniem niemal wyłącznie bioinformatycznym, w którym materiałem do badań były sekwencje genomowe ok. 420 szczepów różnych gatunków *B. cereus s.l.*, pozyskane z bazy PATRIC w lutym 2016r. Celem było wykonanie analizy filoproteomicznej tych szczepów na podstawie sekwencji aminokwasowych 55 białek rybosomalnych i sześciu

białek stresu termicznego oraz odniesienie wyników tej analizy do klasyfikacji tych samych szczepów do wspomnianych wyżej grup filogenetyczno-termicznych (termotypów). Autor podjął tutaj próbę weryfikacji wcześniejszej hipotezy dotyczącej ewolucji *B. cereus s.l.*, której istotnym czynnikiem miałyby być różnicowanie się tych drobnoustrojów w celu adaptacji do różnych nisz termicznych w środowisku, a swoje rozumowanie oparł także na dawniejszych publikacjach, wskazujących na wyraźne związki między strukturą i stabilnością rybosomów i białek rybosomalnych bakterii a warunkami temperaturowymi ich wzrostu.

P. dr Fiedoruk zdefiniował zmienność alleliczną wszystkich białek rybosomalnych w badanej próbie i określił profil obecności poszczególnych alleli dla każdego szczepu. Następnie otrzymał drzewo tych profili i za pomocą odpowiednio dobranych kryteriów podobieństwa podzielił je na tzw. „klastry rybosomalne”. Jak można się było spodziewać, układ klastrów zasadniczo dobrze odpowiadał podziałowi filogenetycznemu szczepów na typy sekwencyjne ST (analiza MLST) i termotypy. Niemniej, Autor dokonał kilku obserwacji, które w niektórych aspektach zmieniły lub dopełniły wspomniany wyżej, hipotetyczny obraz ewolucji *B. cereus s.l.*, zakładający najpierw wydzielenie się mezofilnej grupy I z najbardziej termotolerancyjnej grupy VII, a następnie zróżnicowanie grupy I do pięciu pozostałych, w tym dwóch psychrotolerancyjnych, II i VI. P. dr Fiedoruk dostrzegł większe podobieństwo grupy VI do wyjściowej VII niż do grupy II, a ponadto rozbił mezofilną grupę IV na dwa klastry rybosomalne, bardziej podobne do innych grup niż wzajemnie do siebie. Zaproponował nowy, bogatszy scenariusz ewolucji poszczególnych termotypów w obrębie *B. cereus s.l.*, zakładając możliwość niezależnego zajścia różnych zmian białek rybosomalnych w obrębie linii filogenetycznej, prowadzących jednak do podobnej adaptacji termiczno-środowiskowej. Wśród innych obserwacji dokonanych w pracy P3, warto też odnotować wyższą zawartość izoleucyny i seryny w stosunku do alaniny i waliny w białkach rybosomalnych grup/klastrów psychrotolerancyjnych oraz zakwestionowanie roli tzw. „motywu psychrotolerancji” w sekwencji białka szoku zimna CspA, wyznaczonego jeszcze w 1999r. jako jeden z genetycznych markerów tej cechy fenotypowej.

Pod kilkoma względami praca P4 jest całkowicie odmienna od wyżej omówionych, ponieważ dotyczy wyłącznie *B. thuringiensis* i genów entomotoksyn Cry, wchodzących w skład horyzontalnej puli genów tego gatunku. P. dr Fiedoruk wykorzystał tu analizę bioinformatyczną do aktualizacji obrazu bezpośredniego otoczenia genów *cry* na różnorodnych plazmidach, obecnych w szczepach *B. thuringiensis* z całego świata, których sekwencje dostępne były w bazach danych. Ze względu na wspomniane wyżej znaczenie toksyn Cry w ochronie roślin uprawnych, struktura kodujących je *loci* oraz ich lokalizacja w

obrębie ruchomych elementów genetycznych były przedmiotem intensywnych badań licznych grup już od lat 1980. Doprowadziły one m. in. do opisu tzw. wysp owadobójczej patogenności (PAI) z licznymi genami, w tym zespołami genów *cry* i innych toksyn (~100kb), związanych z tzw. megaplazmidami (~250-~750kb) o podwójnych replikonach (*orf156/orf157* i pOX-1/pOX1-14). W innych pracach opisywano także położenie genów *cry* na innych plazmidach oraz obecność w ich pobliżu różnorodnych ruchomych elementów genetycznych – sekwencji inercyjnych (IS) lub transpozonów (Tn).

P. dr Fiedoruk pozyskał wyjściowo ok. 400 sekwencji plazmidów *B. cereus s.l.* zdeponowanych w bazie GenBank, wśród których zidentyfikował 27 plazmidów z genami *cry*, obecnych w 15 szczepach *B. thuringiensis*. Sekwencje plazmidów zostały przeanalizowane za pomocą kilku standardowych narzędzi bioinformatycznych, które pozwoliły zidentyfikować replikony i *loci* z genami *cry*, a następnie porównać te ostatnie między sobą, z jednoczesnym wskazaniem elementów ruchomych. W badanym materiale Autor zaobserwował 13 wspomnianych wyżej megaplazmidów, zawierających warianty PAI. Pozostałe plazmidy były mniejsze (~65-~160kb) i posiadały różne replikony (*ori43*, *ori44*, *ori60*, *repA*) oraz różnej długości obszary wzajemnej homologii wokół pojedynczego genu *cryI*, obecnego w formie licznych wariantów. Najmniejszy wspólny fragment tych *loci* oraz PAI zawierał geny *cryI*, *ami* i częściowo *ant*, oflankowane różnymi elementami IS lub Tn, z których *IS231B* (rodzina *IS4*) znajdował się zawsze w tej samej pozycji od strony pseudogenu *ant*. P. dr Fiedoruk nazwał ten odcinek DNA „kasetą *cryI*” i zaproponował uznanie go jako ten fragment PAI, który uległ mobilizacji za pomocą *IS231B* i innych elementów ruchomych oraz przeniesieniu na inne typy plazmidów, pomiędzy którymi doszło następnie do dalszych transferów i w których nastąpiła mikroewolucja sekwencji genu *cryI*. Zarysowana w skrócie hipoteza z dużym prawdopodobieństwem może wyjaśniać obecność genów *cryI* na różnorodnych plazmidach i część ich zróżnicowania sekwencyjnego, przy czym ma ona charakter dość ogólny. Mogę sobie wyobrazić, że dostępny materiał nie dał Kandydatowi możliwości odpowiedzi na kilka dalszych, szczegółowych pytań, np. o przypuszczalną liczbę zdarzeń mobilizacji kasety *cryI* bezpośrednio z PAI, dokładną strukturę kaset(y) przy bezpośredniej mobilizacji [element(y) ruchomy(e) „downstream”] i jej mechanizm(y). Konsekwencje licznych wtórnych zjawisk transpozycji i rekombinacji w obrębie lub pobliżu *loci* z genami zjadliwości lub lekooporności, podlegających horyzontalnemu transferowi, bardzo często zacierają obraz zdarzeń leżących u początku zdumiewająco efektywnego rozprzestrzeniania się tych genów w populacjach bakterii. Sądzę, że praca P4 wniosła ciekawe obserwacje do obszernej wiedzy na temat genetyki toksyn Cry *B. thuringiensis*,

dokonując też swoistej aktualizacji i podsumowania obrazu *loci cryI* na pewnym etapie gromadzenia sekwencji plazmidów tego gatunku. Sądzę, że czytelnikowi publikacji znacznie łatwiej byłoby się z nią zapoznawać, gdyby do prezentacji zestawień struktur tych *loci* za pomocą narzędzia Easyfig, Autor układał je według tej samej orientacji kaset *cryI*.

Ostatnia z publikacji szczególnego osiągnięcia naukowego, P1, w mojej opinii odbiega wartością i znaczeniem od omówionych wyżej. Była to praca o charakterze czysto technicznym i polegała na skróceniu procedury techniki PFGE dla bakterii z grupy *B. cereus s.l.* do jednego dnia. Tego rodzaju modyfikacje dla różnych drobnoustrojów były opracowywane i publikowane już dużo wcześniej, i o ile okazywały się bardzo przydatne w sensie praktycznym, o tyle same w sobie często nie miały aspektu merytorycznego. Dodatkowo należy nadmienić, że wspomniane wyżej i udokumentowane pracami P2-P4 szybkie upowszechnianie się NGS i analiz genomowych, w obecnym czasie już ogranicza, a niedługo być może całkowicie wyeliminuje PFGE z badań mikrobiologicznych. Niemniej, chciałbym w tym miejscu podkreślić wysoką jakość zaprezentowanych w publikacji rozdziałów elektroforetycznych DNA.

Podsumowując, szczególne osiągnięcie naukowe P. dr. Fiedoruka oceniam pozytywnie. W mojej opinii, składające się na nie prace, głównie P2-P4, wskazują wyraźnie na jego silną motywację do pracy naukowej, a także wysokie kompetencje, obejmujące ekspercką wiedzę w obszarze biologii wybranego obiektu badań, bardzo dobre rozeznanie w dziedzinie genetyki molekularnej i ewolucyjnej bakterii w ogóle, oraz biegłość metodyczną, w zakresie zarówno klasycznych technik biologii molekularnej, jak i nowoczesnych podejść genomiczno-proteomicznych z analizą bioinformatyczną. Walory te dostrzegli też niezależni recenzenci poszczególnych publikacji. Niemniej, moja ocena samego osiągnięcia byłaby mniej umiarkowana, gdyby było ono pełniejsze i wносиło więcej do wiedzy o filogenezie *B. cereus s.l.* Sądzę, że na etapie pracy P3 Autor mógł wykorzystać materiał w postaci znaczącej liczby ok. 420 sekwencji genomowych *B. cereus s.l.* także do analizy filogenetycznej na poziomie sekwencji nukleotydowej genów białek rybosomalnych i genomu podstawowego, co mogłoby dać okazję do weryfikacji danych proteomicznych, a także wyjaśnienia przynajmniej niektórych niejasności taksonomicznych w obrębie grupy, o których mowa w Autoreferacie. Dopiero w połowie 2019r., a więc już po złożeniu dokumentacji habilitacyjnej P. dr. Fiedoruka, ukazała się tego rodzaju praca na ok. 900 genomach, która wydaje się znacząca dla współczesnej wiedzy o filogenezie i taksonomii *B. cereus s.l.*, a zwłaszcza *B. cereus s.s.* i *B. thuringiensis* (Baek i wsp. Front Microbiol 2019;10:1978).



### **1c. Pozostałe prace naukowe**

Na dorobek naukowy poza szczególnym osiągnięciem P. dr. Fiedoruka składa się 15 prac oryginalnych, w tym 10 w czasopismach z IF, i trzy publikacje przeglądowe z IF. Wśród prac oryginalnych są kolejne poświęcone drobnoustrojom z grupy *B. cereus s.l.*, w tym zgłoszenie i podstawowy opis sekwencji genomu szczepu *B. thuringiensis*, będący jedną z pierwszych tego rodzaju analiz w Polsce (2013r.). Są prace poświęcone typowym patogenom przewodu pokarmowego, w tym enteropatogennym *Escherichia coli* i *Campylobacter jejuni*, obejmujące badania przeglądowe ich występowania u pacjentów z biegunką w województwie podlaskim, wykrywanie drobnoustrojów w materiałach klinicznych za pomocą technik molekularnych oraz bardziej pogłębione analizy. Należy tu wyróżnić pierwszą w Polsce identyfikację szczepu *Escherichia albertii*, gatunku opisanego w 2003r., o uznanym dziś potencjale wywoływania zakażeń pokarmowych, w tym ognisk epidemicznych, pochodzenia zoonotycznego. P. dr Fiedoruk otrzymał jedną z pierwszych sekwencji genomowych tego gatunku na świecie i jest głównym autorem pierwszego opublikowanego, podstawowego jej opisu (2014r.). Bardzo wartościowym osiągnięciem Kandydata są pierwsze w Polsce molekularne badania epidemiologiczne szczepów *C. jejuni*, w których zastosował sekwencjonowanie genomowe i analizę bioinformatyczną, wykonaną w kontekście szczepów izolowanych w innych krajach. Będąca efektem tych prac publikacja ukazała się w 2019r. Owocna okazała się też trwająca od niedawna współpraca P. dr. Fiedoruka z Prof. R. Buckim w zakresie możliwości stosowania różnych substancji peptydowych (katelicyna, fragment gelsoliny) i niepeptydowych (cerageniny) do zwalczania drobnoustrojów i komórek nowotworowych. Jej efektem są już trzy publikacje oryginalne oraz jedna przeglądowa z 2019r. o łącznym IF=12.

Wysoko oceniam tę część dorobku P. dr. Fiedoruka. Chciałbym podkreślić jego różnorodność, bardzo dobrze świadczącą o wszechstronności Autora, jego umiejętnościach merytorycznych i metodycznych oraz zdolności stałego podejmowania nowych wyzwań naukowych i współpracy z różnymi specjalistami.

### **2. Ocena działalności dydaktyczno-organizacyjnej**

Jako pracownik naukowo-dydaktyczny wyższej uczelni, P. dr Fiedoruk jest zobowiązany prowadzić zajęcia ze studentami. Jednak w mojej opinii, przedstawiony dorobek dydaktyczny Kandydata znacznie wykracza ponad przeciętność. Składają się na to: 1) pełniona od 2004r. funkcja prowadzącego i koordynatora ćwiczeń z mikrobiologii oraz mikrobiologii i

parazytologii w j. angielskim, włącznie z przygotowaniem konspektów, skryptów i prezentacji; 2) prowadzenie wykładów z tych przedmiotów w j. angielskim od 2010r.; 3) opracowanie bazy pytań testowych na kolokwia i egzaminy w językach polskim i angielskim; 4) opieka naukowa nad pracą badawczą anglojęzycznych studentów UMwB w 2018r.; oraz 5) trwająca od 2018r. opieka naukowa nad pracą doktorską studentki międzynarodowych i interdyscyplinarnych studiów doktoranckich UMwB. Świadczy to o znakomitym opanowaniu przez P. dr. Fiedoruka j. angielskiego, a w połączeniu z faktem, że jednocześnie od 2003r. prowadzi on też liczne zajęcia obowiązkowe i fakultatywne dla studentów z Polski, oznacza wyjątkowe zaangażowanie w działalność dydaktyczną. Oceniam ją bardzo wysoko.

Przedstawiona dokumentacja wskazuje także na aktywne zaangażowanie się P. dr. Fiedoruka w działalność organizacyjną na rzecz Zakładu Mikrobiologii UMwB i Oddziału Białostockiego Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów (OB PTM). Kandydat był współorganizatorem mikrobiologicznego laboratorium diagnostycznego w Zakładzie, tworząc w nim pracownię diagnostyki molekularnej i przygotowując wnioski o pozyskanie funduszy na spektrometr masowy MALDI-TOF Biotyper. Od 2012r. P. dr Fiedoruk zasiada w Zarządzie OB PTM jako sekretarz, a w latach 2017-2019 zorganizował sześć warsztatów i posiedzeń naukowo-szkoleniowych OB PTM. Osobiście uważam, że do działalności organizacyjnej można zaliczyć również wspomnianą wyżej funkcję koordynatora zajęć dydaktycznych dla studentów anglojęzycznych UMwB. Całokształt tej aktywności Kandydata oceniam wysoko.

### **3. Podsumowanie**

Biorąc pod uwagę ogół dokonań P. dr. Krzysztofa Fiedoruka, w tym szczególne osiągnięcie naukowe, pozostały dorobek naukowy oraz działalność edukacyjno-organizacyjną, uważam, że jest on zdolnym, aktywnym, zmotywowanym i stale rozwijającym się zawodowo pracownikiem akademickim, dojrzałym do objęcia samodzielnego stanowiska. Sam dorobek naukowy oceniam jako znaczący i obiecujący na przyszłość. Niniejszym przedkładam Radzie Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Stomatologii i Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku wniosek o dopuszczenie P. dr. Krzysztofa Fiedoruka do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.

