Prof. dr hab. n. med. Stefania Giedrys-Kalemba
em. kierownik Katedry i Zakładu Mikrobiologii i Immunologii
Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie

OCENA

całokształtu dorobku naukowego, monotematycznego cyklu prac stanowiącego podstawę habilitacji pt. „Sekwencjonowanie nowej generacji w mikrobiologii medycznej: od ulepszonej identyfikacji bakterii do zwiększonych możliwości charakterystyki gatunku *Staphylococcus aureus*" oraz działalności dydaktycznej, organizacyjnej i popularyzatorskiej dr n. biol. Artura Sabata

Niniejsza ocena została opracowana na podstawie kompletu materiałów przesłanych przez Dziekana Wydziału Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie, dotyczących dr n. biol. Artura Sabata ubiegającego się o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk biologicznych, w dyscyplinie biochemia.

1. Dane osobowe oraz rozwój zawodowy i naukowy

Dr n. biol. Artur Sabat jest absolwentem kierunku biologia, specjalność biologia molekularna Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Jagiellońskiego, gdzie w 1994 r. uzyskał dyplom magistra biotechnologii z wyróżnieniem.

Początkowo, w latach 1994-2003 pracował jako starszy referent na Wydziale Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii UJ, potem, w latach 2003-2006, jako adiunkt w Narodowym Instytucie Zdrowia Publicznego w Warszawie. Od 2007 r. pracuje na Uniwersytecie Medycznym w Groningen, w Holandii (University Medical Center Groningen), od 2010 r. jako Senior Researcher.

W 2003 r. uzyskał stopień doktora nauk biologicznych, specjalność biochemia z wyróżnieniem, nadany Uchwałą Rady Wydziału Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii UJ za pracę pt. „Molekularna analiza genu kodującego aureolizynę, sekrecyjną metaloproteinazę *Staphylococcus aureus*", której promotorem był prof. dr hab. Jan Potempa. W trakcie realizacji pracy doktorskiej odbył 4 dłuższe staże naukowe w Holandii, USA i Danii (2).

2. Ocena dorobku naukowego

Dorobek dr n. biol. Artura Sabata jest znaczny i znaczący. Łącznie jest współautorem 33 prac oryginalnych i 3 poglądowych, o sumarycznym Impact Factor według listy *Journal Citation Reports* zgodnie z rokiem opublikowania = **136,506,** zaś suma punktów zgodnie z wykazem $MNiSW_{2016}$ dla tych czasopism = **1195.** Liczba cytowań (bez autocytowań) według bazy *Web of Science Core Collection* wynosi **808** i posiada wysoki indeks Hirscha = **15**.

A. Ocena dorobku naukowego stanowiącego szczególne osiągnięcie naukowe

Przedstawionym do oceny osiągnięciem naukowym wskazanym jako podstawa habilitacji dr n. biol. Artura Sabata jest monotematyczny cykl publikacji zatytułowany **„Sekwencjonowanie nowej generacji w mikrobiologii medycznej: od ulepszonej identyfikacji bakterii do zwiększonych możliwości charakterystyki gatunku *Staphylococcus aureus*".**

Na cykl ten składa się **6** publikacji z lat 2013-2017, z których **5** stanowią prace oryginalne, jedna jest pracą poglądową. Wszystkie ukazały w czasopismach z listy filadelfijskiej. Sumaryczny *Impact factor* prac podany zgodnie z rokiem ukazania się wynosi **27,466**, suma punktów zgodnie z wykazem $MNiSW_{2016}$ = **240**, liczba cytowań = **158.**

Dr n. biol. Artur Sabat we wszystkich publikacjach jest pierwszym autorem. Posiada dominujący udział (50-70%) w koncepcji i zaplanowaniu badań, opracowaniu metodyki i realizacji eksperymentów oraz analizie i interpretacji wyników, wyciągnięciu wniosków i przygotowaniu prac do publikacji. Wiodący udział Habilitanta w pracach wchodzących w skład osiągnięcia naukowego potwierdzają oświadczenia, jakie złożyli współautorzy publikacji stanowiących podstawę habilitacji, bez zastrzeżeń wyrażający zgodę na włączenie wspólnych publikacji do zestawu dorobku stanowiącego podstawę postępowania habilitacyjnego.

Problem badawczy podjęty i zrealizowany przez Habilitanta w ocenianym cyklu prac jest niezwykle istotny zarówno z poznawczego jak i praktycznego punktu widzenia. Dotyczy opracowania nowoczesnych metod molekularnych, które pozwalają na wiarygodną i szybką identyfikację gatunków bakteryjnych bezpośrednio w próbkach klinicznych, niezbędną do podjęcia decyzji terapeutycznych, jak również umożliwiają dokonanie kompleksowej charakterystyki i porównania szczepów wywołujących klonalne zakażenia szpitalne, które to informacje stanowią podstawę do opracowania odpowiednich strategii zapobiegawczych.

Swoje badania Habilitant opiera na technologiach sekwencjonowania nowej generacji (NGS), wykorzystywanych m.in. do sekwencjonowania całego genomu i kompleksowej analizy cech biologicznych szczepów. Szczegóły techniczne i zalety nowych technik w porównaniu z dotychczas stosowanymi metodami sekwencjonowania Sangera i klasycznymi mikrobiologicznymi są omówione w pracy poglądowej (*Euro Surveill* 2017,18(4):20380).

Badania prowadzone były w Zakładzie Mikrobiologii Medycznej Uniwersyteckiego Centrum Medycznego Groningen, ośrodku bardzo dobrze wyposażonym w nowoczesne sekwenatory.

Szczegółowe cele badawcze obejmowały:

1. opracowanie niezależnej od hodowli metody identyfikacji bakterii opartej na NGS regionu 16S-23S rRNA z podwyższoną dyskryminacją blisko spokrewnionych gatunków bakterii – do oceny skuteczności wykorzystano próbki moczu, ortopedyczne oraz dodatnie hodowle krwi; w porównaniu z innymi konwencjonalnymi metodami molekularnymi wykazano wyższą rozdzielczość i czułość NGS regionu 16S-23S rRNA, metoda okazała się łatwa w użyciu i pozwoliła prawidłowo zidentyfikować czynniki infekcyjne w badanych próbkach (*Sci Rep* 2017, 7(1):3434)
2. wykorzystanie sekwencjonowania całego genomu (WGS) do analizy klonalności szczepów CA-MRSA USA300 odpowiedzialnych za epidemię w Surinamie – zastosowana metoda WGS wykazała większą rozdzielczość niż konwencjonalne molekularne metody typowania, heterogenną strukturę krążących w szpitalu szczepów i egzogenne źródło wariantów genomowych MRSA USA300 (*Sci Rep* 2017, 7:41050)
3. wykorzystanie sekwencjonowania całego genomu (WGS) do wyjaśnienia mechanizmów kryptycznej oporności na klindamycynę (gen *emrC*) i oksacylinę/metycylinę (gen *mecA*) – wykazano, że za różnice w oporności na klindamycynę odpowiada brak lub obecność sekwencji liderowej o długości 58 pz w regionie regulacyjnym genu *emrC*, a oporność na penicylinę i oksacylinę/metycylinę wiąże się z usunięciem systemu regulacyjnego *bla* znajdującego się na plazmidzie pGR2A – utrata tego plazmidu może zachodzić *in vivo* podczas terapii betalaktamami (*Sci Rep* 2017, 7:41050; *J Antimicrob Chemother* 2015, 70(11):2956-64)

4. wyznaczenie wśród izolatów MRSA genetycznej organizacji wysp zawierających element ACME (arginine catabolic mobile element), który w klonie USA300 zlokalizowany jest w chromosomie poniżej kasety SCC*mec* typu IVa tworząc złożoną wyspę ACME-SCC*mec*-CI; znane są 3 typy ACME: I (geny *arc* i opp), II (tylko geny *arc*), III (tylko *opp*) – porównując struktury ACME w różnych szczepach Habilitant wykazał m.in.: region z ACME II poza kasetą SCC*mec,* identyczne ACME-SCC*mec*-CI w genetycznie odległych liniach, skróconą sekwencję ACME II w izolatach o różnych genotypach, ACME w klonie MRSA powiązanym ze zwierzętami hodowlanymi oraz w izolacie MSSA (*J Antimicrob Chemother* 2013, 57(11):5774-7; *J Antimicrob Chemother* 2015, 70(5):1298-302)

Po zapoznaniu się z całością żmudnych badań wykonanych z wykorzystaniem licznych nowoczesnych technik molekularnych oraz uzyskanych wyników, uważam, że do istotnych osiągnięć Habilitanta upoważniających do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego należy:

a/ opracowanie nowej metody identyfikacji bakterii opartej na NGS regionu 16S-23S rRNA, która posiada wyższą czułość i rozdzielczość niż metody klasyczne, pozwala wykryć patogeny niedające się wyhodować, jest łatwa w użyciu i może być stosowana w różnych dyscyplinach mikrobiologii,

b/ zastosowanie metody pełnych i zamkniętych genomów (WGS) w analizie epidemicznych izolatów, pozwalającej niezwykle szczegółowo zróżnicować badane szczepy i ustalić ich drogi transmisji nie tylko w środowisku szpitalnym; z powodzeniem zastąpić ona może metodę PFGE, uważaną dotychczas za *gold standard* w kontroli zakażeń szpitalnych,

c/ wyjaśnienie na poziomie molekularnym mechanizmów odpowiedzialnych za oporność gronkowców na klindamycynę i oksacylinę/metycylinę,

d/ szczegółowa analiza genetyczna organizacji złożonych wysp zawierających region ACME wśród szczepów *S. aureus* - wykazano ogromny stopień ich mozaikowatości oraz możliwość transmisji wśród ludzi i zwierząt.

Reasumując, problem badawczy podjęty i przedstawiony przez Habilitanta w ocenianym cyklu prac jest niezwykle nowoczesny, oryginalny (większość tematów i zastosowanych technik jest opisana po raz pierwszy) i istotny zarówno z poznawczego jak i praktycznego punktu widzenia. Wybór tematyki badawczej, uzyskane wyniki, wnioski oraz nakreślenie dalszych tematów badawczych wpisują się w aktualne trendy i programy związane z szybką identyfikacją, charakterystyką i epidemiologią szczepów bakterii na poziomie molekularnym. Modelowym drobnoustrojem wykorzystywanym w badaniach przez Habilitanta jest gatunek *S. aureus,* jeden z najczęstszych czynników etiologicznych zakażeń u ludzi i zwierząt, sprawiający jednak wiele problemów terapeutycznych ze względu na ogromną plastyczność genomu i łatwą zmienność cech.

Całość materiału przedstawionego do oceny wskazuje na głęboką znajomość technik molekularnych i umiejętność ich szerokiego wykorzystania w nowoczesnej diagnostyce mikrobiologicznej i epidemiologii zakażeń, co pozwala zaliczyć dr n. biol. Artura Sabata do grona światowych specjalistów w tej dziedzinie.

Oceniany cykl prac zgłoszonych do postępowania habilitacyjnego spełnia więc wszystkie kryteria i wymagania stawiane do uzyskania stopnia doktora habilitowanego.

B. Ocena pozostałego dorobku naukowego, który nie został włączony do szczególnego osiągnięcia naukowego

Dorobek ten obejmuje 28 prac oryginalnych i 2 poglądowe. Wszystkie są opublikowane w czasopismach z IF, który wynosi 109,040, co daje sumę 955 punktów zgodnie z wykazem MNiSW$_{2016}$ dla tych czasopism. Liczba cytowań (bez autocytowań) wynosi 650.

W pracach oryginalnych, które nie wchodzą w skład osiągnięcia naukowego będącego podstawą habilitacji, wkład Habilitanta w postawanie publikacji jest różny, od 5% do 70% i polega głównie na zaplanowaniu wszystkich eksperymentów lub współudziale w opracowaniu koncepcji, zaprojektowaniu/doborze metodyki i/lub wykonaniu części doświadczalnej, opracowaniu wyników i przygotowaniu manuskryptu. Pierwszym autorem Habilitant jest w 7 publikacjach, drugim w 9.

Większość publikacji została zrealizowana we współpracy z wieloma jednostkami naukowo-badawczymi krajowymi i zagranicznymi, wiodącymi w zakresie badań genetycznych, co świadczy o umiejętności nawiązywania kontaktów i bardzo dobrej pracy zespołowej.

Tematy badawcze dotyczyły różnych aspektów związanych z technikami molekularnymi i ich wykorzystaniem w diagnostyce, określaniu czynników zjadliwości i oporności oraz pokrewieństwa genetycznego szczepów *S. aureus* izolowanych w różnych regionach Europy. Wiodącą rolę Habilitant pełnił w tematach dotyczących:

a/ wykrycia szczepów MRSA posiadających kasetę SCC*mec* typu XI i określenie ich czynników zjadliwości oraz ocena przydatności komercyjnego testu multipleks PCR wykrywającego geny *mecA* i *mecC* (2 publikacje)

b/ porównania metod MLVA/MLVF w połączeniu z technologią mikroprzepływów z metodami PFGE, *spa-typing* i MLST i określenie ich przydatności do szybkiego różnicowania izolatów *S. aureus* w ogniskach epidemicznych (9 prac)

c/ występowania genów *sdr* wśród szczepów *S. aureus* izolowanych od nosicieli oraz z zakażeń inwazyjnych – wykazano duże zróżnicowanie (jedna praca)

d/ genetycznej analizy genu *aur* kodującego aureolizynę – wykazano jego polimorficzność i możliwości rekombinacji asortatywnych i intragenowych (jedna praca)

Habilitant współuczestniczył także w badaniach w zakresie zjadliwości gronkowców, a także charakterystyki proteaz serynowych, oporności na metycylinę i analizy klonalnej szczepów *S. aureus* izolowanych lokalnie oraz w Regionie Europejskim (12 prac).

Temat badawczy dotyczący regulacji operonu metaloproteinazy *S. aureus* był realizowany w latach 2004-2007 w ramach grantu KBN, w którym Habilitant był głównym wykonawcą.

O zainteresowaniu środowiska naukowego badanymi zagadnieniami świadczą zaproszenia Habilitanta do udziału i prezentacji wyników na licznych zjazdach i konferencjach międzynarodowych w formie doniesień ustnych (4) oraz posterów (9). Ponadto publikacja: Golonka E, Filipek R, **Sabat A**, Sinczak A, Potempa J. Genetic characterization of staphopain genes in *Staphylococus aureus*. *Biol Chem* 2004, 385(11):1059-67 została wyróżniona przez Komitet Mikrobiologii PAN w konkursie na najlepszą pracę eksperymentalną z zakresu mikrobiologii, wykonaną w polskim laboratorium, opublikowaną w 2004 r.

4. Działalność dydaktyczna, organizacyjna i popularyzatorska

Dr n. biol. Artur Sabat przez 4 lata prowadził zajęcia dydaktyczne ze studentami III roku kierunku biologia na Uniwersytecie w Groningen.

Brał czynny udział jako koordynator, wykładowca lub prowadzący zajęcia laboratoryjne i komputerowe w specjalistycznych kursach podyplomowych w Groningen (2) i Pekinie (1) z zakresu stosowania technik genetycznych w kontroli zakażeń.

Wykłady na temat nowoczesnych metod molekularnych w mikrobiologii prowadził także na XXXII Szkole Zimowej w Zakopanem oraz V Pomorskich Spotkaniach z Mikrobiologią w Pogorzelicy, gdzie był również członkiem komisji oceniającej prezentacje ustne i plakatowe.

W ramach europejskiego programu edukacyjnego Erasmus + Practice był opiekunem naukowym dwóch magistrantek z Wydziału Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii UJ, a następnie ich promotorem pomocniczym - prace doktorskie zostały obronione w 2016 i 2017. Był także w 2009 r. opiekunem pracy magisterskiej studenta biologii w Groningen.

Brał udział w organizacji międzynarodowej sieci laboratoriów zajmujących się typowaniem bakterii z wykorzystaniem sekwencjonowania - SeqNet.org (2003 r.). Pracując w NIZP w Warszawie był odpowiedzialny za wykonanie typów *spa S. aureus,* co spowodowało włączenie do sieci także laboratorium polskiego. Obecnie jest odpowiedzialny za włączanie do sieci nowych laboratoriów, popularyzację i aktualizację bazy sieci oraz przygotowywanie popularyzatorskich prezentacji plakatowych na kongresach ECCMID.

Od 2014 r. czynnie uczestniczy w konsorcjum badawczym the ESCMID Study Group for Staphylococci and Staphylococcal Diseases (ESGS) zajmującym się identyfikacją i typowaniem *S. aureus.*

Aktywnie współpracuje z Zakładem Mikrobiologii i Zakładem Biochemii Analitycznej Wydziału Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii UJ oraz podobnymi jednostkami uniwersytetów we Freiburgu, Atenach i Rzymie, co owocuje wspólnymi projektami badawczymi, publikacjami i wymianą pracowników. Z firmą Abbott w Jenie Habilitant współpracuje w ramach technik mikromacierzy DNA i mikromacierzy białkowych produkowanych przez Alere Technologies GmH.

Dr n. biol. Artur Sabat jest członkiem towarzystwa naukowego ESCMID (European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.

Pełni także funkcję recenzenta w 9 czasopismach z listy filadelfijskiej, łącznie zrecenzował 22 manuskrypty.

5. Wniosek końcowy

Całokształt dorobku naukowego, dydaktycznego i organizacyjno-popularyzatorskiego, w tym osiągnięcie naukowe zatytułowane „Sekwencjonowanie nowej generacji w mikrobiologii medycznej: od ulepszonej identyfikacji bakterii do zwiększonych możliwości charakterystyki gatunku *Staphylococcus aureus*", stanowiące monotematyczny cykl 6 prac, upoważniają mnie do stwierdzenia, że dr n. biol. Artur Sabat spełnia wszystkie kryteria określone w Ustawie z dnia 14 marca 2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017, poz. 1789) i zasługuje na uzyskanie stopnia doktora habilitowanego nauk biologicznych w dyscyplinie biochemia.

Mam więc zaszczyt przedłożyć Panu Dziekanowi i Radzie Wydziału Wydziału Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii UJ oraz Wysokiej Komisji powołanej przez Centralną Komisję ds. Stopni i Tytułów wniosek o dopuszczenie dr n. biol. Artura Sabata do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego.

Szczecin, 17 marca 2018 r.

Prof. dr hab. n. med.
Stefania Giedrys-Kalemba
specjalista mikrobiolog
1012475