

Warszawa, 20.12.2023 r.

Prof. dr hab. inż. Piotr Ładyżyński
Instytut Biocybernetyki i Inżynierii Biomedycznej
im. Macieja Nałęcz Polskiej Akademii Nauk
ul. Księcia Trojdena 4, 02-109 Warszawa

Recenzja w postępowaniu w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego dr. inż. Igorowi Buzalewiczowi w dziedzinie nauk inżynieryjno-technicznych w dyscyplinie inżynieria biomedyczna

1. Podstawa przygotowania recenzji

Niniejsza recenzja została sporządzona w odpowiedzi na pismo prof. dr. hab. inż. Małgorzaty Kotulskiej, Przewodniczącej Rady Dyscypliny Naukowej Inżynieria Biomedyczna Politechniki Wrocławskiej z dnia 24 października 2023 r., w związku z powołaniem mnie przez Radę Dyscypliny Naukowej Inżynieria Biomedyczna Politechniki Wrocławskiej uchwałą 193/33/RDND04/2021-2-24 z dnia 17 października 2023 r. w skład komisji habilitacyjnej i powierzeniem mi funkcji recenzenta w postępowaniu w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego dr. inż. Igorowi Buzalewiczowi w dziedzinie nauk inżynieryjno-technicznych w dyscyplinie inżynieria biomedyczna.

Recenzja została przygotowana zgodnie z przepisami prawa obowiązującymi na dzień wszczęcia ocenianego postępowania habilitacyjnego, w tym obowiązującymi kryteriami oceny, zawartymi w art. 219 i art. 221 ust. 1 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. 2018 poz. 1668 z późn. zm.), zwanej dalej Ustawą.

Art. 219 Ustawy stanowi, że:

„Art. 219. 1. Stopień doktora habilitowanego nadaje się osobie, która:

- 1) posiada stopień doktora;*
 - 2) posiada w dorobku osiągnięcia naukowe albo artystyczne, stanowiące znaczny wkład w rozwój określonej dyscypliny, w tym co najmniej:*
 - a) 1 monografię naukową wydaną przez wydawnictwo, które w roku opublikowania monografii w ostatecznej formie było ujęte w wykazie sporządzonym zgodnie z przepisami wydanymi na podstawie art. 267 ust. 2 pkt 2 lit. a, lub*
 - b) 1 cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych opublikowanych w czasopiśmie naukowych lub w recenzowanych materiałach z konferencji międzynarodowych, które w roku opublikowania artykułu w ostatecznej formie były ujęte w wykazie sporządzonym zgodnie z przepisami wydanymi na podstawie art. 267 ust. 2 pkt 2 lit. b, lub*
 - c) 1 zrealizowane oryginalne osiągnięcie projektowe, konstrukcyjne, technologiczne lub artystyczne;*
 - 3) wykazuje się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.*
- 2. Osiągnięcie, o którym mowa w ust. 1 pkt 2, może stanowić część pracy zbiorowej, jeżeli opracowanie wydzielonego zagadnienia jest indywidualnym wkładem osoby ubiegającej się o stopień doktora habilitowanego.*

3. *Obowiązek publikacji nie dotyczy osiągnięć, których przedmiot jest objęty ochroną informacji niejawnych.*"

Art. 221 ust. 8 Ustawy stanowi, że:

„Art. 221 8. *Recenzenci, w terminie 8 tygodni od dnia doręczenia im wniosku, oceniają, czy osiągnięcia naukowe osoby ubiegającej się o stopień doktora habilitowanego odpowiadają wymaganiom określonym w art. 219 ust. 1 pkt 2, i przygotowują recenzje.*”

2. Podstawowe dane Habilitanta

Dr inż. Igor Buzalewicz ukończył z wynikiem bardzo dobrym 5-letnie studia jednolite na kierunku fizyka techniczna w specjalności inżynieria biomedyczna na Wydziale Podstawowych Problemów Techniki Politechniki Wrocławskiej, uzyskując w dniu 12 lipca 2007 r. tytuł zawodowy magistra inżyniera. W dniu 15 września 2009 r. uzyskał z wyróżnieniem tytuł zawodowy magistra w specjalności optometria, kończąc z wynikiem celującym kolejne studia na tym samym wydziale Politechniki Wrocławskiej.

W dniu 15 stycznia 2013 r. Habilitant obronił z wyróżnieniem rozprawę doktorską pt. *„Optyczne metody identyfikacji i charakteryzacji bakterii”*, uzyskując stopień doktora nauk technicznych w dyscyplinie biocybernetyka i inżynieria biomedyczna. Funkcję promotora pełniła prof. n. tech. dr hab. n. fiz. inż. lek. Halina Podbielska, a przewód doktorski był prowadzony przez Radę Naukową Instytutu Biocybernetyki i Inżynierii Biomedycznej im. Macieja Nałęczu PAN w Warszawie. Uzyskanie stopnia doktora spowodowało spełnienie przez dr. inż. I. Buzalewicza warunku stawianego kandydatom do stopnia doktora habilitowanego, określonego w art. 219 ust. 1 pkt 1 Ustawy.

Kariera naukowa Habilitanta związana jest z Wydziałem Podstawowych Problemów Techniki Politechniki Wrocławskiej, gdzie począwszy od stycznia 2009 r. był zatrudniony z niewielkimi przerwami, początkowo na stanowisku starszego referenta inżynierijno-technicznego w Instytucie Inżynierii Biomedycznej i Pomiarowej, następnie na stanowisku asystenta naukowo-dydaktycznego, a od października 2014 r. do chwili obecnej – na stanowisku adiunkta naukowo-badawczego w Katedrze Inżynierii Biomedycznej. Pracę w Politechnice Wrocławskiej Habilitant łączył z zatrudnieniem w firmie Synaptise S.A., gdzie w latach 2014 i 2015 przez 18 miesięcy uczestniczył jak ekspert ds. optyki i członek zespołu badawczo-rozwojowego w realizacji projektu badawczo-rozwojowego dotyczącego innowacyjnego systemu identyfikacji bakterii, bazującego na zjawisku dyfrakcji laserowej. Następnie Habilitant był zatrudniony w firmie Bioavlee S.A., gdzie w latach 2016-2019 łącznie przez 32 miesiące brał udział w pracach lub koordynował prace zespołu badawczo-rozwojowego podczas opracowywania i optymalizacji torów optycznych oraz prowadzenia testów technicznych i funkcjonalnych m.in. urządzenia do identyfikacji bakterii oraz licznika kolonii bakterii. W latach 2020-2022 przez 17 miesięcy był zatrudniony jako wykonawca-badacz w Ośrodku Badawczo-Rozwojowym Wojewódzkiego Szpitala Specjalistycznego we Wrocławiu.

Habilitant prowadzi bardzo intensywną działalność dydaktyczną w Politechnice Wrocławskiej. Przygotował programy i materiały dydaktyczne oraz prowadził przez wiele lat zajęcia dla studentów studiów licencjackich na kierunku Inżynieria Biomedyczna, dotyczące tematyki takiej jak: *„Metody Numeryczne w Optyce Biomedycznej”*, *„Przyrządy i Układy Optyczne”*, *„Biomedycyna Laserowa”*, *„Optyczna Diagnostyka Medyczna”*, *„Konstrukcje i Pomiar Optyczne”* czy *„Podstawy Biofotoniki”* oraz dla studentów studiów magisterskich na tym samym kierunku, dotyczące tematyki takiej jak: *„Metody Optyczne w Diagnostyce”*, *„Zaawansowane Techniki Optyki Biomedycznej”* czy *„Badania Mikroskopowe Biomateriałów*

oraz *Tkanek*". Habilitant był promotorem szesnastu studentów przygotowujących prace licencjackie oraz siedmiu – prace magisterskie, a także pełnił funkcję promotora pomocniczego w jednym zakończonym przewodzie doktorskim (stopień został nadany z wyróżnieniem), a obecnie pełni funkcję promotora pomocniczego w kolejnym przewodzie doktorskim.

Dodatkowo, należy wspomnieć o dużej aktywności organizacyjnej i popularyzatorskiej dr. inż. I. Buzalewicza. Habilitant jest członkiem jednego krajowego i dwóch międzynarodowych towarzystw naukowych, tj. *Optical Society of America – OSA* (obecnie OPTICA), *International Society for Optical Engineering – SPIE* i Polskiego Towarzystwa Inżynierii Biomedycznej. Dr inż. I. Buzalewicz jest również członkiem *Topical Advisory Panel* oraz *Reviewer Board* czasopisma naukowego *Sensors*. Wskaźnik *Impact Factor* (IF) tego czasopisma wynosi 3,8 (2021 r.).

W przekazanej dokumentacji Habilitant wymienił siedemnaście aktywności organizacyjnych, w tym m.in. kierowanie laboratorium Technik Pomiarowych Optyki Biomedycznej na Wydziale Podstawowych Problemów Techniki Politechniki Wrocławskiej, członkostwo w komitetach organizacyjnych kilku konferencji czy też przygotowanie i oprawę graficzną materiałów promujących studia I/II stopnia na kierunku Inżynieria Biomedyczna w Politechnice Wrocławskiej. Aktywność popularyzatorska Habilitanta przejawia się Jego zaangażowaniem w takie działania jak: Pikniki Nauki, konferencje studenckie, Dni Otwarte Politechniki Wrocławskiej czy zajęcia dla dzieci i młodzieży pt. „*Odkrywamy Mikroświat*”.

Przebieg kariery zawodowej Habilitanta oraz inne formy jego działalności wskazują, że umiejętnie godzi On pracę naukowo-dydaktyczną ze współpracą z otoczeniem gospodarczym nakierowaną na praktyczną implementację i komercjalizację wyników prac badawczo-rozwojowych, znajdując dodatkowo czas na aktywność organizacyjną i popularyzatorską.

3. Ocena cyklu powiązanych tematycznie artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych lub w recenzowanych materiałach z konferencji międzynarodowych, wymienionego w art. 219. ust. 1 pkt 1 lit. b Ustawy

W dorobku dr. inż. I. Buzalewicza znajduje się cykl dziewięciu powiązanych tematycznie artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych, dla którego Habilitant zaproponował w Autoreferacie tytuł: „*Badania nad wieloparametrycznym fenotypowaniem obiektów biologicznych i zachodzących w nich zmian do celów diagnostycznych*”. Wspomniany tytuł niezbyt precyzyjnie oddaje zawartość tematyczną artykułów składających się na ten cykl. Brakuje w nim informacji na temat metod stosowanych przez Habilitanta do fenotypowania obiektów biologicznych – a są to głównie metody optyczne. Podczas stosowania tych metod wzajemne oddziaływanie światła z obiektami biologicznymi prowadzi, poprzez transformację światła, do powstawania wieloparametrycznych wzorców optycznych, wykorzystywanych do charakteryzowania ich właściwości. Dodatkowo, w większości artykułów składających się na ten cykl fenotypowanie obiektów biologicznych nie jest wykorzystywane „do celów diagnostycznych”, ale do ich detekcji, identyfikacji, charakteryzowania czy różnicowania.

W tym miejscu z recenzenckiego obowiązku muszę zauważyć, że opisując cykl publikacji Habilitant omyłkowo przytoczył niewłaściwy tytuł ustawy (por. Autoreferat, str. 6). Jest to jednak, prócz kilku literówek, jedyna pomyłka, jaką udało mi się zauważyć w dokumentacji przygotowanej przez dr. inż. I. Buzalewicza. Cała dokumentacja opracowana jest w sposób

bardzo staranny, skrupulatny i przejrzysty, co nie jest normą w postępowaniach habilitacyjnych i dlatego zasługuje na podkreślenie i wyróżnienie.

Powyższe uwagi dotyczące sformułowań użytych w tytule cyklu artykułów naukowych Habilitanta oraz zauważona pomyłka w tytule powołanej w Autoreferacie ustawy nie zmieniają faktu, że wszystkie artykuły składające się na ten cykl są powiązane tematycznie i mieszczą się w zakresie tematyki badawczej dyscypliny inżynieria biomedyczna. W dalszej części recenzji przedstawiam wyniki oceny, czy zaproponowany przez Habilitanta cykl dziewięciu artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych stanowi znaczny wkład w rozwój dyscypliny inżynieria biomedyczna.

Analizując zawartość przedstawionego przez Habilitanta cyklu artykułów naukowych można stwierdzić, że dotyczą one opracowywania i wykorzystywania bezkontaktowych, bezznacznikowych, nieniszczących technik i systemów pomiarowych do wieloparametrycznego charakteryzowania lub obrazowania (Habilitant używa słowa: fenotypowania) różnych obiektów biologicznych, w szczególności: bakterii i formowanych przez bakterie struktur (biofilmów, kolonii) [H1-H5, H8], tkanek, komórek eukariotycznych i organelli komórkowych [H6, H7] oraz zmian zachodzących w komórkach pod wpływem wybranych substancji [H9] (numeracja cytowanych prac w recenzji jest zgodna z numeracją zastosowaną w dokumentacji Habilitanta).

Najobszerniejsza część cyklu, złożona z sześciu artykułów, dotyczy zastosowania metod optycznych do fenotypowania bakterii i charakteryzowania tworzonych przez nie struktur takich jak kolonie czy biofilmy [H1-H5, H8].

W pracy [H1] Habilitant jako pierwszy zaproponował wykorzystanie dwuwiązkowej techniki cyfrowej mikroskopii holograficznej (DHM) do fenotypowania kolonii bakterii. Wykorzystał On DHM, bazując na konfiguracji interferometru Macha-Zehndera, który wcześniej był stosowany jedynie do charakteryzowania mikroobektów metrologicznych. Wyniki eksperymentów przeprowadzonych na koloniach bakterii *Escherichia coli* po raz pierwszy potwierdziły, że kolonie działają jak soczewki biologiczne ogniskujące światło. Wyniki te pozwoliły również wykazać słuszność tezy Habilitanta, dotyczącej możliwości zastosowania DHM do analizy morfometrycznej kolonii i ich właściwości ogniskujących. W pracy tej Habilitant wykazał, że możliwa jest rejestracja hologramów cyfrowych kolonii bakterii, które zawierają pełną trójwymiarową informację amplitudowo-fazową dotyczącą kolonii, ale także zespolonego pola optycznego na nich ugiętego / rozproszonego. Ograniczeniem tej pracy było przeprowadzenie eksperymentów na koloniach tylko jednego gatunku bakterii.

Na podstawie wyników pracy [H1], Habilitant sformułował hipotezę, że zastosowanie holografii cyfrowej może przyczynić się do zwiększenia skuteczności identyfikacji kolonii bakterii, gdyż prowadzi do multiplikacji liczby potencjalnych wzorców kolonii zrekonstruowanych z pojedynczego hologramu cyfrowego. Celem weryfikacji tej hipotezy były eksperymenty, których wyniki opisano w pracy [H2]. Badania przeprowadzono na koloniach dwóch gatunków bakterii należących odpowiednio do grupy bakterii Gram-ujemnych i Gram-dodatnich. Wykorzystano prostszy niż w pracy [H1] system optyczny, tj. bezsoczewkowy, osiowy, cyfrowy, mikroskop holograficzny z punktowym źródłem światła (PSDIHM). Wyniki pomiarów wykonanych przez Habilitanta potwierdziły, że PSDIHM pozwala na rejestrację hologramów cyfrowych kolonii oraz daje możliwość rekonstrukcji ich obrazów amplitudowych i fazowych. Jednak kontrast hologramów był uzależniony od właściwości transmisyjnych kolonii, ich morfologii i sposobu przygotowania próbek. Wpływało to na jakość zrekonstruowanych wzorców kolonii. Niemożliwa była zadowalająca rekonstrukcja profilu kolonii. Możliwa była natomiast analiza propagacji zespolonych pól optycznych transformowanych przez kolonie w dowolnych płaszczyznach w przestrzeni obserwacji za

nimi. W eksperymentach opisanych w pracy [H2] wykazano, że zastosowanie PSDIHM umożliwia multiplikację wzorców fenotypowych kolonii bakterii. Metoda i układ pomiarowy opracowane na potrzeby tej pracy są chronione patentem krajowym, którego Habilitant jest współautorem. Badania opisane w pracy [H2] prowadzono z wykorzystaniem bakterii tylko dwóch gatunków, co ogranicza możliwość formułowania bardziej ogólnych wniosków na temat stosowalności opracowanej metody do różnicowania kolonii bakterii innych gatunków niż te przebadane.

W ramach prac badawczych, których wyniki przedstawiono w pracy [H4], Habilitant zaproponował nową konfigurację dwukanałowego układu dyfraktometrycznego do identyfikacji bakterii, która zapewnia m.in. uzyskanie jednolitych warunków oświetlenia kolonii. Badania przeprowadzono na 88 szczepach 12 gatunków mikroorganizmów (bakterii i grzybów). Badania te uwzględniały nie tylko wpływ równomierności oświetlenia, ale również takich czynników jak, np. właściwości ogniskujące kolonii (które wykazano w opisanej wyżej pracy [H1]) na skuteczność klasyfikacji. Najważniejszym wynikiem tej pracy było opracowanie nowego układu dyfraktometrycznego, umożliwiającego skuteczną identyfikację mikroorganizmów. Dzięki zastosowaniu w trakcie eksperymentów dużej grupy mikroorganizmów oraz obszernej bazy wzorców widm dyfrakcyjnych uzyskano przekonujące potwierdzenie przydatności zaproponowanej przez Habilitanta metody do identyfikacji mikroorganizmów, m.in. w zastosowaniach klinicznych. Opracowane rozwiązanie, obejmujące zarówno układ dyfraktometryczny jak i nową metodę identyfikacji bakterii było technicznie nowatorskie, co zostało potwierdzone uzyskaniem ochrony praw własności przemysłowej tego rozwiązania w postaci patentu krajowego oraz patentów w kilku innych krajach, których współautorem jest Habilitant.

Zgodnie z wynikami zaprezentowanymi w pracach [H1] i [H2] dr inż. I. Buzalewicz wykazał możliwość multiplikacji wzorców optycznych kolonii bakterii dzięki wykorzystaniu technik holograficznych. Stwierdził również, że transmisja światła przez kolonie powinna być relatywnie wysoka, aby zapewnić odpowiednio wysoki kontrast rejestrowanych hologramów, umożliwiającą rekonstrukcję wysokiej jakości wzorców. W artykułach [H3, H5, H8] Habilitant kontynuował prace nad rozwijaniem i badaniem metod fenotypowania bakterii i tworzonych przez nie struktur z wykorzystaniem multiplikacji wzorców optycznych. W pracach [H3, H5] zaproponował wykorzystanie innych układów pomiarowych niż DHM, a w szczególności innych niż PSDIHM, które powalałyby na uzyskanie multiplikacji wzorców optycznych przy mniejszej transparentności badanych obiektów biologicznych. W efekcie zaprojektował w tym celu układy dyfraktometryczne z dodatkowymi kanałami pomiarowymi. W pracy [H8] kontynuował badania z wykorzystaniem techniki holograficznej, ale w odniesieniu do wielomodowej detekcji formowania się biofilmu bakteryjnego na wybranych powierzchniach.

W ramach badań opisanych w pracy [H3] Habilitant przetestował możliwość scharakteryzowania kolonii bakterii w systemie dwukanałowym, pozwalającym na wyodrębnienie ich wzorców dyfrakcyjnych, a także dwuwymiarowego rozkładu współczynnika transmisji (2D-T). W tym celu Habilitant skonstruował nowy układ dyfraktometryczny. Układ ten oprócz dodatkowego modułu do rejestracji obrazów odbiciowych całej szalki Petriego z koloniami posiadał również moduł do rejestracji powiększonych obrazów transmisyjnych pojedynczych kolonii. Opracowany układ posłużył do przebadania siedmiu różnych gatunków bakterii występujących w środowisku, a zwłaszcza w glebie. Dla każdej kolonii badanego gatunku Habilitant zarejestrował monochromatyczne widma dyfrakcyjne i obrazy transmisyjne oraz opracował algorytm przetwarzania obrazu, który posłużył do wyznaczenia i znormalizowania rozkładów 2D-T kolonii z obrazów transmisyjnych. Habilitant zaproponował oryginalną metodykę

wyznaczania rozkładu 2D-T kolonii, uwzględniając ich cechy morfologiczne z wykorzystaniem pojedynczego obrazu mikroskopowego. Metodyka ta pozwala pozyskiwać wysokorozdzielczą informację przestrzenną, dostarczając dodatkowych danych na temat właściwości morfologicznych i optycznych. Do klasyfikacji widm dyfrakcyjnych Habilitant zaproponował użycie wskaźników liczbowych bazujących na cechach morfologicznych i teksturze, z wykorzystaniem momentów statystycznych. Dodatkowo zastosował dwustopniowe rankingowanie cech w celu wyboru zestawu o największym potencjale predykcyjnym. Uzyskane wyniki potwierdziły, że rozkłady 2D-T badanych gatunków wykazują unikalne cechy. Wynikiem zastosowania zaproponowanej przez Habilitanta oryginalnej metodyki było wyznaczenie wzorców transmisyjnych charakteryzujących się znacznie lepszą rozdzielczością niż w przypadku użycia skaningowych technik pomiaru. W związku z tym, istnieje możliwość ich wykorzystania do analizy cech kolonii bakterii, pozwalających na ich rozpoznawanie i różnicowanie.

Badania, których wyniki opisano w artykule [H5] są kontynuacją prac przedstawionych w artykule [H3]. Dr inż. I. Buzalewicz zaproponował dalsze udoskonalenia wcześniej wykorzystywanego układu dyfraktometrycznego, polegające na opracowaniu trójkanałowego układu optycznego w celu rejestracji nowych wzorców fenotypowych kolonii. Habilitant zaprojektował i skonstruował nowy układ pomiarowy bazujący na konfiguracji interferometru Macha-Zehndera, złożony z trzech modułów: dyfraktometrycznego, profilometrycznego oraz obrazowania multispektralnego. Nowy układ pomiarowy uzupełniała nowa metodyka analizy numerycznej danych pomiarowych. Badania przeprowadzono z wykorzystaniem kolonii pięciu gatunków bakterii Gram-ujemnych i Gram-dodatnich, a ich celem było potwierdzenie tezy Habilitanta, że multiplikacja wzorców fenotypowych kolonii uzyskanych dzięki nowemu układowi pomiarowemu umożliwi zwiększenie skuteczności identyfikacji bakterii. W wyniku przeprowadzonych eksperymentów powyższa teza została skutecznie potwierdzona. Warto wspomnieć, że zaproponowany w pracy [H5] zestaw cech optycznych wzorców fenotypowych kolonii bakterii nie był wcześniej stosowany przez innych badaczy. Wyniki opisane w pracy [H5] wskazują na możliwość wykorzystania opracowanej metodyki fenotypowania kolonii bakterii do oceny efektywności działania środków bakteriobójczych.

W ostatniej pracy dotyczącej systemów opracowanych do fenotypowania bakterii i tworzonych przez nie struktur Habilitant zaproponował metodę badania formowania się biofilmów bakteryjnych, która nie wymaga stosowania kosztownych procedur przygotowania próbek, używania dodatkowych odczynników chemicznych ani znaczników fluorescencyjnych i pozwala na detekcję i ocenę dynamiki formowania biofilmów bezpośrednio na powierzchni, na której one powstają w sposób nieniszczący i bezkontaktowy [H8]. Zaproponowana przez dr. inż. I. Buzalewicza metoda bazuje na zastosowaniu: sondy skanującej Kelvina SKP, cyfrowej tomografii holograficznej (DHT) oraz mikrospektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (μ FTIR). Badania przeprowadzono wykorzystując bakterie *Escherichia coli*. Wyniki eksperymentów opisanych w pracy [H8] pozwoliły na pozytywną weryfikację hipotezy sformułowanej przez Habilitanta, że zastosowanie zaproponowanych technik pomiarowych umożliwia utworzenie wzorców biofilmów bakteryjnych na podstawie ich wybranych właściwości optycznych, elektrycznych, składu chemicznego, objętości i suchej masy. Opracowana metoda umożliwia dodatkowo ocenę żywotności komórek bakterii, tj. ich zdolności do podziału komórkowego i produkcji kwasów nukleinowych. W Autoreferacie Habilitant podkreślił, że nieniszczący charakter pomiaru pozwala na weryfikację uzyskanych wyników za pomocą konwencjonalnych metod diagnostycznych, ale w pracy [H8] nie znalazłem wyników takiej weryfikacji.

W kolejnych trzech pracach [H6, H7, H9] składających się na cykl opublikowanych artykułów naukowych Habilitant wykorzystał technikę DHT do badania i obrazowania pęcherzyków zewnątrzkomórkowych, organelli komórkowych, pojedynczych komórek, tkanek oraz zachodzących w nich zmian.

W pracy [H6] potwierdzono tezę Habilitanta, że technika DHT może być skutecznie wykorzystana do pozyskania i analizy trójwymiarowych rozkładów współczynników załamania (3D-RI) poszczególnych struktur komórkowych w preparatach tkankowych błony śluzowej jelita grubego i tkanki limfoidalnej (uzyskanych przyżyciowo i *post-mortem*). Habilitant opracował metodykę pomiarów i analizy uzyskanych rozkładów 3D-RI, przeprowadził pomiary za pomocą holotomografu, zrekonstruował rozkłady 3D-RI, przeprowadził cyfrowe barwienie struktur tkankowych oraz dokonał analizy ilościowej wyników za pomocą samodzielnie opracowanych algorytmów. Wyniki przedstawione w pracy [H6] stanowią wkład w rozwój inżynierii biomedycznej i patologii cyfrowej. Ograniczeniem tej pracy jest niewielka liczba badanych preparatów tkankowych oraz brak próby powiązania rozkładów 3D-RI z wynikami innych analiz przeprowadzonych w ramach wykonanych eksperymentów, prócz stwierdzenia, że odwodnienie komórek i tkanek może wpływać na rozkłady 3D-RI.

Kontynuując badania nad zastosowaniami techniki DHT do charakteryzowania tkanek, komórek i ich struktur wewnętrznych, a także wytwarzanych przez nie struktur zewnątrzkomórkowych Habilitant w pracy [H7] zweryfikował tezę o możliwości wykorzystania rozkładów 3D-RI i wzorców pochodnych do wieloparametrycznego różnicowania pęcherzyków zewnątrzkomórkowych (EVs). EVs pozyskano poprzez ich izolację z osocza, tkanek oraz linii komórkowych pobranych od osób, u których zdiagnozowano raka jelita grubego lub wrzodziejące zapalenie jelita grubego. Habilitant badał EVs za pomocą holotomografu, wykorzystując opracowaną przez siebie metodykę. Wyniki eksperymentów opisane w pracy [H7] potwierdziły stosowalność opracowanej metodyki do charakteryzowania i obrazowania EVs, organelli komórkowych i komórek. Habilitant stwierdził jednak, że dla zapewnienia skutecznej i powtarzalnej charakteryzacji i różnicowania EVs konieczna jest standaryzacja procedur ich izolacji. Opracowana metodyka jest oryginalna i może stanowić alternatywę dla konwencjonalnych technik badania pęcherzyków zewnątrzkomórkowych. Opracowanie wzorców fenotypowych EVs na bazie zaproponowanej przez Habilitanta metodyki może pozwolić w przyszłości na różnicowanie stanów chorobowych albo ocenę stopnia zaawansowania czy stopnia złośliwości nowotworów.

Ostatnia z prac składających się na cykl artykułów naukowych Habilitanta, która wykorzystuje technikę DHT poświęcona jest analizie jej przydatności do charakteryzowania zmian zachodzących w komórkach glejaka wielopostaciowego indukowanych przez różne stężenia inhibitora białka CHI3L1(YKL-40) [H9]. Rekonstrukcja rozkładów 3D-RI i cyfrowego wybarwienia struktur zewnątrzkomórkowych umożliwiła wizualizację cytoplazmy, jąder, jąderek, autofagosomów i kropli lipidowych. Wyniki przeprowadzonych analiz pozwoliły wykazać, że procesy zachodzące w badanych komórkach pod wpływem zastosowanego inhibitora wpływały na zmianę wyznaczonych wzorców 3D-RI i pochodnych dla całych komórek i ich poszczególnych organelli. Wskazuje to na możliwość zastosowania techniki DHT do bezkontaktowego badania wpływu środków farmakologicznych na procesy zachodzące w komórkach.

Analizowany cykl publikacji Habilitanta składa się wyłącznie z prac wieloautorskich, co jest akceptowalne i powszechne w odniesieniu do badań w tak interdyscyplinarnym obszarze jak inżynieria biomedyczna. W pierwszych sześciu pracach cyklu [H1-H6] dr inż. I. Buzalewicz

jest pierwszym spośród trzech, czterech (w trzech pracach), pięciu i dziewięciu współautorów. Jednocześnie pełnił On rolę autora korespondującego z wydawnictwami czasopism, w których ukazały się te prace. W pozostałych trzech artykułach Habilitant jest odpowiednio trzecim współautorem z dwunastu [H7], drugim z siedmiu (ale z wkładem równym wkładowi pierwszego współautora) [H8] i drugim z trzynastu [H9]. Ze względu na wieloautorskość wszystkich prac składających się na cykl Habilitanta istnieje konieczność oceny Jego indywidualnego wkładu w powstanie tych dzieł. Ułatwia to bardzo skrupulatnie przygotowany przez Habilitanta opis, którego treść jest zgodna z zawartością oświadczeń współautorów artykułów składających się na oceniany cykl. Na podstawie analizy zawartości tych dokumentów można stwierdzić, że Habilitant w większości prac był autorem lub współautorem koncepcji badawczej, brał udział w opracowywaniu metodyki badań i metod analizy wyników oraz projektowaniu i wykonywaniu systemów pomiarowych, a także wykonywaniu eksperymentów, przeprowadzaniu analizy i dyskusji wyników. W związku z tym stwierdzam, że dr inż. I. Buzalewicz wniósł istotny twórczy wkład w powstanie wszystkich prac ocenianego cyklu. We wszystkich pracach wkład ten był wiodący z punktu widzenia aspektów dotyczących rozwoju dyscypliny inżynieria biomedyczna.

Ranga czasopism, w których opublikowano artykuły wchodzące w skład cyklu Habilitanta jest wysoka, co znajduje potwierdzenie w wartościach wskaźnika IF tych czasopism wg bazy *Journal Citation Reports*, mieszczących się w pierwszym kwartylu wartości dla poszczególnych obszarów tematycznych w roku publikacji. Sumaryczna wartość wskaźnika IF dla wszystkich dziewięciu czasopism, w których opublikowano artykuły składające się na cykl Habilitanta jest znacząca (wynosi 51,7), podobnie jak sumaryczna punktacja Ministerstwa Edukacji i Nauki (1205 pkt).

Podsumowując wyniki analizy merytorycznej i naukometrycznej osiągnięć Habilitanta opisanych w cyklu powiązanych tematycznie artykułów naukowych stwierdzam, że dr inż. I. Buzalewicz doprowadził do znaczącego postępu w dyscyplinie inżynieria biomedyczna poprzez opracowanie oryginalnych rozwiązań technicznych umożliwiających optyczne charakteryzowanie obiektów biologicznych. Techniki rozwijane przez Habilitanta, bazujące np. na dyfraktometrii, mikroskopii holograficznej czy holotomografii, wykorzystują interakcje światła z różnymi typami obiektów biologicznych, co prowadzi do modulacji światła związanej z właściwościami tych obiektów, skutkującej zakodowaniem informacji o nich we wiązce świetlnej. Następnie informacja ta jest dekodowana, w wyniku czego uzyskuje się nowe wzorce fenotypowe różnych obiektów biologicznych, takich jak kolonie bakterii, biofilmy bakteryjne, tkanki, komórki eukariotyczne (zdrowe i nowotworowe) oraz organelle komórkowe czy pęcherzyki zewnątrzkomórkowe. Najważniejszym aspektem osiągnięć Habilitanta jest to, że dzięki zaproponowanym i rozwijanym przez Niego metodom możliwe jest identyfikowanie tych obiektów i charakteryzowanie zachodzących w nich zmian indukowanych, np. przez środki farmakologiczne czy procesy nowotworowe. Większość prac wchodzących w skład cyklu ma charakter studiów wykonalności lub badań wstępnych ze względu na ograniczoną liczbę badanych typów próbek. Mocną stroną badań zrealizowanych przez Habilitanta jest opracowanie, wykonanie i zastosowanie, zgodnie z opracowaną przez Niego metodyką, oryginalnych systemów pomiarowych oraz wiarygodna weryfikacja oryginalnych hipotez badawczych.

Warto zaakcentować bardzo wysoką wartość wyników uzyskanych przez dr. inż. I. Buzalewicza z punktu widzenia możliwości ich praktycznych zastosowań. Wszystkie metody rozwijane przez Habilitanta, opisane w cyklu publikacji, mogą w przyszłości zostać wykorzystane do charakteryzowania różnorodnych obiektów

biologicznych, w tym kolonii bakterii, biofilmów bakteryjnych, tkanek czy komórek hodowanych *in vitro*. Na podkreślenie zasługuje fakt, że zastosowania przedstawione w artykułach składających się na cykl prac Habilitanta, szczególnie w odniesieniu do metod holotomograficznych, stanowią raczej zbiór przykładów niż pełen katalog możliwych zastosowań praktycznych. Niewątpliwą zaletą rozwijanych przez dr. inż. I. Buzalewicza metod jest ich nieniszczący i bezkontaktowy charakter oraz brak konieczności wykorzystywania dodatkowych sond, co jest konsekwencją zastosowania światła jako nośnika informacji o badanych obiektach.

Część z metod i rozwiązań opracowanych przez Habilitanta jest oryginalna, czego m.in. dowodzą patenty uzyskane na wynalazki opisujące te rozwiązania. W pozostałych przypadkach Habilitant współtworzył i twórczo rozwijał koncepcje wykorzystania istniejących metod w nowych zastosowaniach, np. koncepcję wykorzystania pomiarów holotomograficznych do różnicowania tkanek kontrolnych i *post mortem*, do charakteryzowania pęcherzyków zewnątrzkomórkowych czy do monitorowania rozwoju filmu bakteryjnego.

W związku z powyższym stwierdzam, że osiągnięcia naukowe Habilitanta odpowiadają wymaganiom określonym w art. 219 ust. 1 pkt 2 Ustawy.

4. Ocena dorobku naukowego Habilitanta z wyłączeniem cyklu powiązanych tematycznie artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych lub w recenzowanych materiałach z konferencji międzynarodowych, wymienionego w pkt. 3.

Na dorobek naukowy dr. inż. I. Buzalewicza, obejmujący inne osiągnięcia niż wchodzące w skład cyklu powiązane tematycznie artykuły naukowe opublikowane w czasopismach naukowych, składa się:

- Dwanaście współautorskich rozdziałów w monografiach naukowych, w tym pięć opublikowanych po uzyskaniu stopnia doktora. Habilitant jest pierwszym współautorem w ośmiu z tych rozdziałów.
- Siedemnaście współautorskich artykułów naukowych, w tym jedenaście opublikowanych po uzyskaniu stopnia doktora. W dziewięciu spośród tych prac Habilitant jest pierwszym współautorem. Sumaryczna wartość wskaźnika IF czasopism, w których ukazały się te artykuły wynosi 51,3 (w tym 43,75 dla artykułów opublikowanych po uzyskaniu stopnia doktora).
- Trzydzieści wystąpień podczas krajowych i międzynarodowych konferencji naukowych, w tym dziesięć po uzyskaniu stopnia doktora. Trzy spośród wystąpień po uzyskaniu przez Habilitanta stopnia doktora odbyły się na zaproszenie organizatorów konferencji – jednej krajowej i dwóch międzynarodowych. Dodatkowo, Habilitant brał udział w komitetach organizacyjnych i naukowych ośmiu konferencji krajowych lub międzynarodowych, w tym czterech po uzyskaniu stopnia doktora.
- Dziewięćdziesiąt osiem recenzji w szesnastu recenzowanych międzynarodowych czasopismach naukowych.

Ponadto, Habilitant jest współautorem ośmiu patentów i jednego zgłoszenia patentowego na wynalazki, w tym pięciu przyznanych patentów i jednego zgłoszenia patentowego złożonego po uzyskaniu stopnia doktora. Dwa spośród patentów zapewniają ochronę wynalazków poza Polską. Warto również dodać, że Habilitant aktywnie współpracuje z otoczeniem gospodarczym. W dokumentacji Habilitanta wymieniono łącznie siedem firm, z którymi Habilitant współpracował lub współpracuje nadal. Efektem tej współpracy było opracowanie

prototypowych systemów pomiarowych, wynalazków chronionych patentami, ale także przygotowanie manuskryptów publikacji naukowych.

Artykuły naukowe opublikowane po uzyskaniu przez Habilitanta stopnia doktora dotyczyły m.in. następujących zagadnień badawczych:

- opracowanie i optymalizacja różnych metod rozpoznawania i różnicowania kolonii bakterii z zastosowaniem wybranych metod i systemów optycznych;
- rozwijanie metod dozymetrycznych w diagnostyce fotodynamicznej z niską dawką fotouczulacza;
- opracowanie nanoporowatego materiału fotoaktywnego o działaniu antybakteryjnym oraz bezkontaktowej i bezznacznikowej metody wykrywania wolnych rodników;
- opracowanie metody wykrywania zmian wywołanych niedotlenieniem w zdrowych i nowotworowych ludzkich komórkach nabłonka okrężnicy.

Wyniki badań opisanych w powyższych pracach pozwoliły, np. wykazać po raz pierwszy, że technika DHT umożliwia scharakteryzowanie procesu podziału komórek bakterii i efektywności akumulacji w nich fotouczulaczy w trakcie antybakteryjnej terapii fotodynamicznej. Umożliwiły one również wykazanie, że technika DHT może być skutecznie wykorzystywana w badaniu wpływu stresu oksydacyjnego na komórki eukariotyczne. Wprawdzie w dokumentacji dostarczonej przez Habilitanta nie znalazłem opisu Jego wkładu w powstanie ww. prac, ale na podstawie miejsc zajmowanych przez Habilitanta na listach współautorów poszczególnych prac oraz zawartości znajdujących się w nich rozdziałów pt. „*Author Contributions*” można stwierdzić, że był to wkład istotny.

Wyniki opublikowane w pracach naukowych, których Habilitant jest autorem wzbudzają zainteresowanie środowiska naukowego, gdyż były one cytowane (bez autocytowań) 96 razy w czasopismach indeksowanych w bazie *Web of Science* oraz 118 razy w czasopismach indeksowanych w bazie *Scopus*. Są to wartości dość wysokie wśród badaczy przed habilitacją, prowadzących prace naukowe w interdyscyplinarnym obszarze inżynierii biomedycznej.

Indeks Hirscha dr. inż. I. Buzalewicz wynosi 8 wg bazy *Web of Science* i 9 wg bazy *Scopus*. Są to wartości typowe dla osób ubiegających się o stopień doktora habilitowanego w dyscyplinie inżynieria biomedyczna.

Podsumowując dorobek naukowy dr. inż. J. Buzalewicz, nienależący do cyklu powiązanych tematycznie artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych, analizowanego szczegółowo w pkt. 3 recenzji, stwierdzam, że jest to dorobek obszerny, oryginalny, przedstawiający wyniki dobrze zaplanowanych i właściwie przeprowadzonych badań, stanowiący istotny wkład w rozwój dyscypliny naukowej inżynieria biomedyczna.

5. Aktywność naukowa Habilitanta realizowana w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej, w szczególności zagranicznej

Jak wspomniano w pkt. 2 tej recenzji, kariera naukowa Habilitanta związana jest z Wydziałem Podstawowych Problemów Techniki Politechniki Wrocławskiej, gdzie zatrudniony jest od 2009 r., obecnie – na stanowisku adiunkta naukowo-badawczego w Katedrze Inżynierii Biomedycznej. Jednak dr inż. I. Buzalewicz realizuje swoją aktywność naukową w więcej niż jednej uczelni.

Tuż po przygotowaniu rozprawy doktorskiej Habilitant rozpoczął współpracę z zespołem prof. dr hab. Małgorzaty Kujawińskiej z Zakładu Inżynierii Fotonicznej Instytutu

Mikromechaniki i Fotoniki na Wydziale Mechatroniki Politechniki Warszawskiej, gdzie odbył 4-miesięczny staż naukowy oraz 2 krótkoterminowe pobyty badawcze. Wynikiem tej współpracy były dwie wspólne publikacje [H1, H2], patent [T6] oraz nagroda zespołowa JM Rektora Politechniki Warszawskiej za osiągnięcia naukowe.

Dr inż. I. Buzalewicz współpracuje z zespołem prof. dr hab. Aliny Wieliczko z Katedry Epizootiologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu w ramach prac badawczych dotyczących multiplikacji wzorców fenotypowych kolonii bakterii. Efektem tej współpracy było dziesięć artykułów naukowych [H3, H5, A2-A5, A11, A13, A14, A18], rozdział w monografii [R6], osiem referatów konferencyjnych ([K1, K2, K13, K15-K17, K29, K30] oraz obroniona z wyróżnieniem rozprawa doktorska mgr inż. Agnieszki Suchwałko, w której Habilitant pełnił funkcję promotora pomocniczego.

W 2009 r. Habilitant rozpoczął współpracę z grupą *Modelling, Simulation and Innovative Characterisation (MOSAIC)*, którą kieruje prof. Tofail Syed z *Department of Physics, Faculty of Science and Engineering, University of Limerick, Limerick, Irlandia* w ramach projektu UE 7 PR pt. „*Electrically Modified Biomaterials' surfaces: From Atoms to Applications*”. Efektem tej współpracy jest artykuł naukowy [A10], wystąpienie konferencyjne [K20] oraz metoda osadzania nanocząstek na termoplastycznych polimerach [T7]. Kontynuacja współpracy z zespołem prof. Tofaila Syeda zaowocowała opracowaniem dwóch rozdziałów w monografii naukowej [R3, R4] i zdobyciem przez Habilitanta wiedzy w zakresie charakteryzacji antybakteryjnych materiałów o właściwościach fotokatalitycznych, która została wykorzystana w pracach dr. Inż. I Buzalewicza opisanych w trzech artykułach naukowych [A2-A4].

Opracowane przez Habilitanta techniki fenotypowania kolonii bakterii były wykorzystane do identyfikacji bakterii glebowych w ramach współpracy z zespołem prof. dr hab. Lidii Sas-Paszt z Pracowni Rizosfery Zakładu Agrotechniki Instytutu Ogrodnictwa w Skierniewicach oraz dr. hab. Ryszardem Kozera z Wydziału Informatyki Stosowanej i Matematyki Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie oraz *School of Computer Science and Software Engineering, University of Western Australia*. Wyniki tej współpracy podsumowano w jednym artykule naukowym [H3].

W ramach projektu w Konkursie OPUS 5 z NCN pt. „*Fotoaktywna formuła nanoliposomowa jako nowa strategia w terapii fotodynamicznej niestabilnej blaszki miażdżycowej*” Habilitant współpracował z dr. Dariuszem Białym i dr. Magdaleną Wawrzyńską z Katedry i Kliniki Kardiologii Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, co przyczyniło się do opracowania dwóch artykułów naukowych [A6, A10] oraz patentu krajowego [T1].

Współpraca z zespołem prof. dr. hab. Piotra Dzięgła z Zakładu Histologii i Embriologii Katedry Morfologii i Embriologii Człowieka Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu (UMWr) pozwoliła Habilitantowi zbadać możliwości wykorzystania cyfrowej tomografii holograficznej do fenotypowania komórek eukariotycznych, ich organelli i struktur tkankowych. Współpraca ta pozwoliła nawiązać kolejne kontakty z zespołem dr. hab. n. med. Mgr. prawa Tomasza Jurka, prof. UMWr z Zakładu Medycyny Sądowej UMWr, dr. Ireneuszem Ceremugą z Zakładu Biochemii Lekarskiej UMWr, zespołem prof. Dr. hab. Marzeny Podhorskiej-Okołów z Zakładu Badań Ultrastrukturalnych UMWr, czy też z zespołem dr. hab. Kamilli Małek prof. UJ z Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie. Efektem tej multidyscyplinarnej współpracy, która trwa nadal, są 4 artykuły naukowe [H6, H7, H9, A1] oraz wystąpienie konferencyjne [K5].

Habilitant prowadzi również badania we współpracy z dr Anną Matczuk z Zakładu Mikrobiologii Katedry Patologii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczy we Wrocławiu, która dotyczy fenotypowania pojedynczych komórek bakterii, charakteryzacji interakcji komórek z fotouczulaczami oraz opracowywania nowych rozwiązań dla antybakteryjnej terapii fotodynamicznej. W wyniku tej współpracy powstały trzy artykuły naukowe [A2-A4] oraz dwa referaty na konferencjach naukowych [K1, K5].

W ostatnich latach dr inż. I. Buzalewicz prowadził prace badawcze w zespole prof. dr. hab. Wojciecha Witkiewicza w Ośrodku Badawczo-Rozwojowym Wojewódzkiego Szpitala Specjalistycznego we Wrocławiu. Dotyczyły one m.in. wykorzystania techniki cyfrowej tomografii holograficznej do badania materiałów na soczewki kontaktowe oraz zachodzących w nich zmian pod wpływem działania eksperymentalnych środków farmakologicznych.

Habilitant brał również udział w pracach badawczych prowadzonych w ramach projektów badawczo-rozwojowych realizowanych przez spółki prawa handlowego: OPTICHIP sp. z o.o. (dyfraktometryczne metody identyfikacji bakterii), Synaptise S.A. (opracowanie nowego urządzenia i metody identyfikacji mikroorganizmów [T4]) oraz Biovlee S.A. (opracowanie i skonstruowanie prototypu urządzenia do identyfikacji bakterii Avlee650TM, opartego na patencie [T4] oraz uzyskanie trzech patentów zagranicznych w Wielkiej Brytanii, Korei Południowej oraz Brazylii [T5]). Ponadto, dr inż. I. Buzalewicz w ramach współpracy z Biovlee S.A. brał udział w opracowaniu automatycznego licznika kolonii bakterii Quantica 500/500+ [T2], oraz inkubatora do hodowli komórkowych – Inomate 100k [T3]. W ramach tej współpracy powstał również artykuł naukowy [H4]. Dzięki opracowanym we współpracy z Habilitantem rozwiązaniom technologicznym, firma Bioavlee zajęła II miejsce w konkursie start-upów *Master of Innovation* podczas *Central European BIO FORUM 2016*.

Powyższe zestawienie potwierdza, że Habilitant prowadzi istotną aktywność naukową, realizowaną w kilku uczelniach i instytucjach naukowych, w tym w uczelni zagranicznej, co pozwala uznać, że dr inż. I. Buzalewicz spełnia warunek stawiany kandydatom do stopnia doktora habilitowanego, określony w art. 219 ust. 1 pkt 3 Ustawy.

6. Ocena końcowa

Podsumowując niniejszą ocenę stwierdzam, że osiągnięcia naukowe dr. inż. I. Buzalewicza odpowiadają wymaganiom określonym w art. 219 ust. 1 pkt 2 Ustawy. Habilitant posiada w dorobku naukowym osiągnięcia stanowiące znaczny wkład w rozwój dyscypliny inżynieria biomedyczna, w tym cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych opublikowanych w czasopiśmie naukowych. Dr inż. I. Buzalewicz spełnia również warunek określony w art. 219 ust. 1 Ustawy, gdyż posiada stopień doktora oraz warunek określony w art. 219 ust. 3 Ustawy, gdyż wykazuje się istotną aktywnością naukową realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej, w szczególności zagranicznej.

W związku z powyższym, wnoszę o dopuszczenie dr. inż. Igora Buzalewicza do dalszych, przewidzianych przepisami, etapów postępowania habilitacyjnego.

