

**Recenzja osiągnięcia naukowego w postępowaniu habilitacyjnym
dr. inż. Igora Buzalewicza
pt.: „Badania nad wieloparametrycznym fenotypowaniem obiektów biologicznych i zachodzących
w nich zmian do celów diagnostycznych”**

oraz ocena aktywności naukowej Habilitanta

Recenzja została przygotowana w związku z postępowaniem habilitacyjnym dr. inż. Igora Buzalewicza prowadzonym przez Politechnikę Wrocławską, na podstawie pisma Przewodniczącej Rady Naukowej Dyscypliny Inżynieria Biomedyczna, prof. dr hab. inż. Małgorzaty Kotulskiej wskazującego, że Rada Dyscypliny powołała mnie do pełnienia funkcji recenzenta komisji habilitacyjnej we wskazanym wyżej postępowaniu (nr 193/33/RDND04/2021-2024, uchwała z dnia 17 października 2023 roku).

Habilitanta wnioskował o przeprowadzenie postępowania w dziedzinie nauk inżynieryjno-technicznych w dyscyplinie inżynieria biomedyczna. W celu przygotowania recenzji otrzymałem komplet dokumentów, w szczególności w wersji elektronicznej, zawierający kopię dyplomu uzyskania stopnia naukowego doktora (nauk technicznych, dyscyplina Biocybernetyka i Inżynieria Biomedyczna, Instytut Biocybernetyki i Inżynierii Biomedycznej PAN im. Macieja Nałęcz w Warszawie), autoreferat wraz z kopiami prac stanowiącymi cykl powiązanych tematycznie publikacji jak i wykaz osiągnięć z informacjami o aktywności naukowej Habilitanta oraz inne załączniki.

1. Ocena osiągnięcia naukowego

Dr inż. Igor Buzalewicz przedstawił jako osiągnięcie naukowe cykl dziewięciu, powiązanych tematycznie, publikacji. Wskazany jako osiągnięcie cykl publikacji jest związany z dyscypliną inżynieria biomedyczna, a łączny wskaźnik wpływu czasopism, w których opublikowano prace cyklu (impact factor) wynosi 51,672. W przypadku listy czasopism MEiN/MNiSW sumaryczna lista punktów dla czasopism wynosi 1205,00.

Poniżej przedstawiona zostanie ocena osiągnięcia poprzez odniesienie się do poszczególnych pozycji cyklu, a następnie w ujęciu syntetycznym. W przedstawionej charakterystyce zostaną zastosowane odwołania do poszczególnych publikacji cyklu według numeracji przedstawionej przez Habilitanta w autoreferacie (H1-H9). Warto podkreślić, że dr inż. Igor Buzalewicz opisał swój udział w poszczególnych publikacjach cyklu i na tej podstawie, oraz na podstawie treści przedstawionych w oświadczeniach współautorów można określić zakres merytorycznego udziału Habilitanta w publikacjach.

Analiza prac ze wskazanego cyklu publikacji

W pozycji H1 zespół autorów podjął próbę wykorzystania dwuwieżkowej techniki DHM do fenotypowania kolonii bakterii *Escherichia coli*. Habilitant przeprowadził pomiary profilu i chropowatości powierzchni kolonii z wykorzystaniem skaningowego mikroskopu konfokalnego dla potrzeb weryfikacji wyników profilometrycznych wykonanych za pomocą techniki cyfrowej mikroskopii holograficznej DHM. Autorzy wykazali m.in. że zastosowanie DHM umożliwia czasowo-rozdzielczą charakteryzację morfometryczną kolonii wyznaczając szereg parametrów jak średnica, promień krzywizny, grubość centralna, zależnych od stadium rozwoju kolonii bakterii. Ponadto wykazano właściwości ogniskujące kolonii bakterii oraz fakt, że odległość ogniskowa może być wykorzystana jako dodatkowa cecha różnicująca kolonie bakterii. Wykazano zatem, że technika DHM może zostać wykorzystana o analizy morfometrycznej kolonii bakterii i ich właściwości ogniskujących (co potwierdzono eksperymentalnie).

Praca H1 jest powiązana z dyscypliną inżynieria biomedyczna i uważam, że jest wartościowa. Habilitant jest pierwszym autorem publikacji i wskazał wystarczająco precyzyjnie swoje zaangażowanie w część merytoryczną. Opublikowana praca jest interesująca, chociaż nie jest często cytowana (dwa cytowania obce, na podstawie Google Scholar).

Kolejna publikacja cyklu, H2, jest ściśle powiązana z poprzednią. W pracy tej Habilitant badał dwa gatunki bakterii Gram-ujemnych *Escherichia coli* oraz Gram-dodatnich *Staphylococcus intermedius*. Ponownie zastosowano technikę holograficzną, tym razem z zastosowaniem mikroskopu PSDIHM i lasera o długości fali 405 nm. Przeprowadzono również pomiary spektrofotometryczne. Zastosowano technikę PCA w celu oceny możliwości różnicowania bakterii na podstawie uzyskanych wielu wzorców holograficznych z pojedynczych hologramów uzyskiwanych z zastosowaniem PSDIHM. Co ciekawe, wyniki PCA dla wszystkich rodzajów sygnatur pokazują 100% możliwość różnicowania klastrów bakterii obu gatunków. Przeprowadzone badania potwierdziły również możliwość rekonstrukcji obrazów amplitudowych i fazowych kolonii.

Warto podkreślić, że w wyniku przeprowadzonych prac badawczych Habilitant uzyskał w 2019 patent (wspólnie z Panią prof. Haliną Podbielską) na „*Sposób charakteryzacji i identyfikacji kolonii bakterii oraz osiowy układ holografii cyfrowej do charakteryzacji i identyfikacji kolonii bakterii.*”.

Praca H2 jest powiązana z dyscypliną inżynieria biomedyczna. Habilitant jest pierwszym autorem publikacji i wskazał wystarczająco precyzyjnie swoje zaangażowanie w część merytoryczną. Opublikowana praca jest wartościowa i jest cytowana przez innych naukowców (dziewięć cytowań obcych, na podstawie Google Scholar).

Metody i wyniki badań opisane w H1 i H2 oceniam jako oryginalne o istotnym, potencjalnym wpływie na rozwój diagnostyki mikrobiologicznej.

W pracy H3 Habilitant przedstawia wyniki w zakresie opracowanej koncepcji badań i eksperymentów związanych z dwukanałową charakteryzacją kolonii i pozyskiwaniem wzorców dyfrakcyjnych oraz wzorca związanego z dwuwymiarowym rozkładem współczynnika transmisji. Metoda badawcza została zweryfikowana do charakteryzacji bakterii glebowych. Zaproponowany, nowy algorytm, dzieli obrazy dyfrakcyjne na rozłączne obszary, umożliwiając w ten sposób wyodrębnienie cech reprezentujących zróżnicowanie w rozkładzie tekstury i morfologii wzorców dyfrakcyjnych dostarczając informacji o całkowitej liczbie bakterii z rozróżnieniem na poszczególne gatunki/szczepy bakterii. Zgadzam się z Habilitantem, że opracowana metoda „*może przyczynić się do lepszego zrozumienia ich [moje: bakterii] bioróżnorodności, interakcji (sygnalizacji, działania promującego wzrost roślin, ograniczenia chorób roślin itp.), które zachodzą pomiędzy roślinami i bakteriami.*”. I z tych względów uważam, że praca ta jest tylko pośrednio związana z inżynierią biomedyczną. Z punktu widzenia znaczenia zastosowania opracowanych metod, zdecydowanie bardziej związana jest z dyscypliną „biologia medyczna” (obejmująca działy nauki i techniki z pogranicza biologii i medycyny) niż z inżynierią biomedyczną. Niemniej ze względu na aspekty inżynierskie występujące w pracy, treść pracy jest w pewnym zakresie związana z inżynierią

biomedyczną. Habilitant jest pierwszym autorem publikacji i wskazał wystarczająco precyzyjnie swoje zaangażowanie w część merytoryczną. Opublikowana praca jest wartościowa i jest cytowana przez innych naukowców (pięć cytowań obcych, na podstawie Google Scholar).

Pozycja H4 cyklu kontynuuje tematykę analiz sygnatur optycznych w ocenie bakterii. Habilitant zaproponował nową konfigurację układu dyfraktometrycznego do identyfikacji bakterii z eksperymentalną weryfikacją przeprowadzoną na 100 000 widm dyfrakcyjnych dla 12 gatunkach mikroorganizmów (bakterii i grzybów). W publikacji H4 dokonano analizy skuteczności klasyfikacji binarnych (oddzielnie dla poszczególnych mikroorganizmów). Prezentowana w publikacji dokładność metody równa 1 dla wartości czułości 0,94 i swoistości 1, jest, jak rozumiem, zaokrągleniem związanym z dużym niezbalansowaniem klas przy podziale binarnym stosowanym w konwencji „one-vs-all” dla 12 gatunków i 100 000 widm dyfrakcyjnych. Część próbek reprezentowała próbki weterynaryjne. Opracowanie stosownego układu pomiarowego i metody związanej z identyfikacją mikroorganizmów uważam za wartościowe i oryginalne. Świadczą o tym również przyznane patenty.

Habilitant jest ponownie pierwszym autorem publikacji i wskazał wystarczająco precyzyjnie swoje zaangażowanie w część merytoryczną. Opublikowana praca jest wartościowa i jest cytowana przez innych naukowców (sześć cytowań obcych, na podstawie Google Scholar).

Kolejna publikacja cyklu, H5, przedstawia nową technikę i system fenotypowania bakterii zapewniający jednoczesną profilometrię interferometryczną i przechwytywanie wielu wielospektralnych wzorów optycznych dla różnych kolonii bakterii. Opracowany wielokanałowy (dwa moduły) układ i metoda do charakterystyki i identyfikacji bakterii umożliwiły optymalizację warunków pomiarowych oraz wysoką dokładność rezultatu klasyfikacji (las losowe + SVM) bakterii (dokładność > 0,99, czułość > 0,98). Pokazano również możliwość zastosowania proponowanej techniki do oceny skuteczności działania czynników bakteriobójczych. Habilitant jest również w tej pozycji pierwszym autorem publikacji i wskazał wystarczająco precyzyjnie swoje zaangażowanie w część merytoryczną pracy. Opracowane i opublikowane układ i metoda są wartościowe, a artykuł jest najczęściej cytowaną pozycją z cyklu (czternaście cytowań obcych, na podstawie Google Scholar).

Szósta publikacja cyklu, H6, przedstawia zastosowanie techniki wieloparametrycznej do oceny wpływu czasu od zgonu (interwał pośmiertny, PMI, ang. postmortem interval) na optyczną charakterystykę molekularną próbek błony śluzowej jelita grubego i tkanki limfoidalnej GALT związanej z jelitem. Habilitant jasno przedstawia zakres prac dotyczących pobrania i pomiaru próbek przez inne zespoły i współautorów. Jako własny udział w pracy wskazuje wykorzystanie DHT oraz trójwymiarowych rozkładów RI do fenotypowania preparatów błony śluzowej i tkanki limfoidalnej, przeprowadzając stosowne pomiary i analizę uzyskanych rozkładów 3D (przeprowadzono stosowną analizę statystyczną). Ciekawa jest również analiza cyfrowego wybarwienia struktur tkankowych i jej różnicowanie bez potrzeby wybarwienia chemicznego.

Habilitant jest trzecim współautorem publikacji i wskazał wystarczająco precyzyjnie swoje zaangażowanie w część merytoryczną pracy. Metody, badania i rezultaty są wartościowe i oryginalne i powiązane z inżynierią biomedyczną. Pozycja ta aplikacyjnie różni się od prac H1-H5, niemniej wciąż jest powiązana tematycznie i jej włączenie do cyklu jest akceptowalne. Artykuł opublikowany w 2021 jest już cytowany przez innych naukowców (trzy cytowania obce, na podstawie Google Scholar).

Pozycja H7 cyklu kontynuuje tematykę z H6 w zakresie pomiaru i analizy danych pomiarowych preparatów histopatologicznych. W tej pracy przeprowadzono fenotypowanie pęcherzyków zewnątrzkomórkowych pobranych w czasie endoskopii dolnego odcinka przewodu pokarmowego. Autor deklaruje swoją merytoryczną rolę w tej pracy w zakresie opracowania metodologii pomiarów holotomograficznych (holotomograf 3D Cell-Explorer, Nanolive) oraz analizy uzyskanych danych RI (rekonstrukcja 3D, cyfrowe wybarwienie, analiza wyników i charakterystyka statystyczna). Na podstawie przeprowadzonych badań przez Habilitanta, wskazano zróżnicowanie pęcherzyków na

dwie frakcje (większa lub mniejsza wartość średnia RI) oraz różnice wartości średnich RI dla próbek raka jelita grubego CRC i próbek wrzodziejącego zapalenia jelita grubego.

Habilitant jest drugim współautorem publikacji i wskazał wystarczająco precyzyjnie swoje zaangażowanie w część merytoryczną pracy. Metoda i rezultaty są wartościowe, oryginalne i powiązane z inżynierią biomedyczną. Pozycja ta jest powiązana tematycznie z H6 i jej włączenie do cyklu jest akceptowalne. Artykuł opublikowany pod koniec 2021 roku jest już cytowany przez innych naukowców (dziewięć cytowań obcych, na podstawie Google Scholar). W mojej ocenie jest to wyjątkowo ciekawe badanie i niezwykle interesująco i czytelnie przedstawiona praca.

Ósma publikacja cyklu, H8, dotyczy metod detekcji i charakteryzacji biofilmów. Jest zatem powiązana z głównym blokiem publikacji H1-H5 cyklu dotyczących badań bakterii. Zaproponował zastosowanie sondy skanującej Kelvina SKP, cyfrowej tomografii DHT i mikrospektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera μ FTIR do pomiaru i analizy dynamiki formowania się biofilmu, bezpośrednio na powierzchniach, na którym powstaje. Do badania kolonizacji powierzchniowej na stosowanych powierzchniach wykorzystano bakterię *E. coli*, prowadząc obserwacje biofilmu po 24, 48 i 72 godzinach z zastosowaniem również metody klasycznych. Wykazane, że zastosowanie metody pozwalają na wieloparametrową charakterystykę dynamiki tworzenia biofilmu oraz żywotności komórek bakteryjnych. Prace opisane w publikacji związane były z grantem NCN OPUS 21, którym kierował Habilitant.

Dr inż. Igor Buzalewicz jest pierwszym autorem publikacji i wskazał precyzyjnie swoje zaangażowanie w część merytoryczną pracy. Metoda i rezultaty są wartościowe i oryginalne. Pozycja ta jest ściśle powiązana tematycznie z H1-H5. Artykuł opublikowany został w 2023 roku i jest już cytowany przez inny zespół naukowców (jedno cytowanie obce, na podstawie Google Scholar).

Ostatnia pozycja cyklu, H9, ponownie dotyczy wykorzystania techniki DHT oraz analizy wzorców RI, tym razem w celu fenotypowania zmian indukowanych w komórkach glejaka. W tej wieloautorskiej pracy Habilitant opracował metodologię pomiaru oraz analizy uzyskanych danych holotomograficznych. Ponownie wykorzystano cyfrowe barwienie obiektów, w tym przypadku komórek oraz organelli oraz analizę wartości średnich RI dla komórek i organelli z wykorzystaniem odpowiedniej charakterystyki statystycznej. Generalnie zaobserwowano, że inhibitor powoduje spadek wartości RI. Jednak przy zastosowaniu inhibitora o największym stężeniu wyróżniono włókna w cytoplazmie o większej wartości RI.

Habilitant jest drugim autorem publikacji i wskazał precyzyjnie swoje zaangażowanie w część merytoryczną pracy. Metoda i rezultaty są wartościowe i oryginalne. Zakres prac jest powiązany z dyscypliną inżyniera biomedyczna. Artykuł opublikowany został w 2023 roku i na razie nie zarejestrowano cytowań obcych.

Syntetyczne podsumowanie osiągnięcia

Cykl publikacji wskazany jako osiągnięcie wyraźnie obejmuje prace dedykowane koloniom bakterii (H1-H5, H8) oraz fenotypowaniu komórek i zachodzących w nich zmian (H6, H7, H9). Pierwsza grupa publikacji jest bardzo ściśle powiązana i wskazuje dojrzałość Habilitanta w zakresie pomiarów optycznych i analizy danych w ocenie bakterii. Druga grupa prac to ciekawe analizy w zakresie badań komórek, niezwykle istotne w badaniach preparatów medycznych. Obie grupy prac są powiązane metodami badawczymi oraz obszarem aplikacji jakim jest biomedycyna. Warto wskazać jednak, że publikacje można powiązać z dwoma dyscyplinami: biologią medyczną oraz inżynierią biomedyczną. Ponieważ charakter pracy w cyklu publikacji ma cechy inżynierskie oraz pierwsza ze wskazanych dyscyplin jest stosunkowo nowa uważam, że słusznie Habilitant wnioskował o przeprowadzenie postępowania w dziedzinie nauk inżyniersko-technicznych w dyscyplinie inżynieria biomedyczna.

Dr inż. Igor Buzalewicz wyraźnie przedstawił w dokumentacji (w autoreferacie, wykazie osiągnięć oraz poprzez załączone deklaracje) jednoznaczny, indywidualny i merytoryczny udział w osiągnięciu.

Dlatego mogę pozytywnie ocenić znaczący, osobisty wkład Habilitanta w rozwój dyscypliny inżynieria biomedyczna. Należy ponadto podkreślić, że prace badawcze opublikowano w wysokopunktowanych czasopismach i aż w sześciu z nich Habilitant jest pierwszym autorem. Co prawda, łączna liczba jakichkolwiek cytowań obcych dla publikacji cyklu nie jest wysoka (46 na podstawie Google Scholar, 14.12.2023 r., H1 -2, H2 - 9, H3 – 5, H4 – 6, H5 – 14, H6 – 3, H7 – 9, H8 – 1, H9-0) jednak wiele z tych prac to pozycje nowe. Prawdopodobnie zyskają zainteresowanie innych zespołów badawczych w przyszłości, a przez to, oddziaływanie prac Habilitanta na rozwój nauki w obszarze inżynierii biomedycznej (w tej formie) będzie większy. Należy także podkreślić, że wyniki badań związane z publikacjami cyklu zostały również ujęte we wnioski patentowe, w wyniku czego, Habilitant uzyskał 2 patenty krajowe oraz patent zagraniczny.

2. Ocena istotnej aktywności naukowej, w szczególności realizowanej w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej

Habilitant w przesłanej dokumentacji wskazał różne formy podejmowanej aktywności naukowej. Oprócz bardzo wartościowych publikacji w cyklu dr inż. Igor Buzalewicz opublikował i przedstawił:

- dwanaście rozdziałów w monografiach,
- siedemnaście publikacji w czasopismach,
- trzydzieści prezentacji konferencyjnych.

Ponadto kierował lub uczestniczył w dziesięciu projektach badawczych (w tym jeden europejski) oraz przygotował 9 zgłoszeń patentowych i uzyskał 8 patentów.

Znakomita większość powyższych efektów aktywności naukowej jest związana z głównym obszarem badań Habilitanta i dotyczy inżynierii biomedycznej (oraz biologii medycznej).

Dr inż. Igor Buzalewicz był również aktywny w innych formach związanych z aktywnością naukową, w tym jako recenzent (98 recenzji) czy jako członek komitetów organizujących konferencje naukowe.

Na podkreślenie zasługuje także szczególnie duża aktywność Habilitanta w zakresie współpracy z sektorem gospodarczym i w obszarze wdrożeń. Działalność ta jest dobrze udokumentowana patentami i projektami realizowanymi wspólnie z firmami.

Wskaźniki naukometryczne pokazują, że Habilitant znacznie zwiększył dorobek po uzyskaniu doktoratu. Łącznie opublikował 26 prac w czasopismach, 17 w materiałach konferencyjnych, 12 rozdziałów w monografiach. W efekcie liczba cytowań zgodnie z dokumentacją wynosi 96 (WoS) i 118 (Scopus). Wszystkie te wskaźniki pokazują, że aktywność naukowa Habilitanta jest dobrze potwierdzona efektami publikacyjnymi oraz odpowiednim wkładem w rozwój nauki w obszarze inżynierii biomedycznej.

Należy jednocześnie podkreślić, że dr inż. Igor Buzalewicz dobrze udokumentował swoją aktywność naukową w więcej niż jednej uczelni i instytucji naukowej. W szczególności:

- odbył 4. miesięczny staż naukowy w ramach stypendium stażowego Politechniki Wrocławskiej,
- odbył szereg krótkoterminowych pobytów w ośrodkach naukowych, wspólnie z którymi opublikował prace badawcze,

- był zatrudniony (17 miesięcy) i prowadził prace badawcze w Ośrodku Badawczo-Rozwojowym Wojewódzkiego Szpitala Specjalistycznego we Wrocławiu
- odbył 6. miesięczny staż w firmie OPTICHP, był zatrudniony przez 18 miesięcy w firmie Synaptise S.A. i 32 miesiące w firmie Bivlee S.A.

W ramach powyższej współpracy (oraz innej) realizowano wspólne projekty badawcze, opublikowane prace naukowe i uzyskano patenty. Dlatego pozytywnie oceniam istotną aktywność naukową, w szczególności realizowaną w więcej niż w jednej uczelni czy instytucji naukowej.

3. Konkluzja

Habilitant spełnia wszystkie przesłanki stawiane kandydatom do stopnia naukowego doktora habilitowanego. Posiada stopień naukowy doktora, przedstawił jeden cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych opublikowanych w materiałach znajdujących się wykazie MEiN.

W mojej ocenie eksperckiej uważam, że jest możliwe wyodrębnienie jednoznacznego, indywidualnego i merytorycznego udziału Habilitanta w osiągnięciu i pozytywnie znaczący, osobisty wkład dr. inż. Igora Buzalewicza w rozwój dyscypliny inżynieria biomedyczna. Dlatego recenzja jest jednoznacznie pozytywna. Jednocześnie mogę pozytywnie ocenić aktywność naukową realizowaną w więcej niż jednej uczelni jako istotną.

Stwierdzam, że Habilitant spełnia wymagania stawiane kandydatom do stopnia naukowego doktora habilitowanego zawartych w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, w szczególności opisane w art. 219 ust. 1 pkt 2; Dz. U. z 2022 r. poz. 574 z późn. zm.



prof. dr hab. inż. Jacek Rumiński