

Prof. dr hab. Piotr Młynarz
Katedra Biochemii, Biologii Molekularnej i Biotechnologii
Wydział Chemiczny
Politechnika Wrocławska
Wybrzeże Wyspiańskiego 27
50-370 Wrocław

Wrocław, 10.01.2025 r.

Ocena wniosku habilitacyjnego Pana dr. Michała Złocha w związku z postępowaniem habilitacyjnym

Pan dr Michał Złoch ukończył studia licencjackie z biologii na Uniwersytecie Mikołaja Kopernika w Toruniu w latach 2006–2009, a następnie kontynuował edukację na studiach magisterskich na tym samym wydziale w latach 2009–2011. Jego praca magisterska, przygotowana pod opieką prof. dr hab. Hanny Dahm, dotyczyła ekstrakcji i wstępnej analizy egzopolisacharydów (EPS) oraz lipopolisacharydów (LPS) wytwarzanych przez mikrosymbionty brodawkowe robinii akacjowej (*Robinia pseudoacacia*). W latach 2011–2016 Autor wniosku habilitacyjnego realizował studia doktoranckie w Interdyscyplinarnym Studium Doktoranckim Matematyczno-Przyrodniczym na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska oraz Wydziale Chemii UMK. Jego rozprawa doktorska, zatytułowana „Wybrane aspekty mikrobiologicznie wspomaganą fitoremediacji metali ciężkich”, powstała pod kierunkiem dr hab. Katarzyny Hryniewicz oraz dr hab. Tomasza Kowalkowskiego. Od 2016 roku dr Michał Złoch pracował jako adiunkt na Wydziale Chemii UMK. W latach 2018–2021 pełnił tę funkcję w Interdyscyplinarnym Centrum Nowoczesnych Technologii UMK, a w latach 2021–2023 pracował jako specjalista inżynierjno-techniczny na Wydziale Chemii UMK. Od 2022 roku ponownie podjął pracę jako adiunkt w Interdyscyplinarnym Centrum Nowoczesnych Technologii UMK. W ramach swojej kariery naukowej odbył trzy staże zagraniczne oraz jeden miesięczny staż krajowy.

Ocena dorobku naukowego

Pan dr Michał Złoch przedstawił do oceny osiągnięcie naukowe zatytułowane „**Technika laserowej desorpcji/ionizacji wspomagana matrycą jako kluczowe narzędzie w bioanalityce**”, które obejmuje sześć publikacji naukowych o łącznym współczynniku wpływu **IF = 20,965**, które odpowiadają **550 punktom według listy czasopism MNiSW**. W czterech z sześciu publikacji dr Złoch jest pierwszym autorem, pełniąc jednocześnie rolę autora korespondencyjnego. W dwóch pozostałych pracach zajmuje drugą pozycję wśród autorów, przy czym w jednej z nich również występuje jako autor korespondencyjny. Na podstawie załączonych oświadczeń dotyczących wkładu merytorycznego, udział Habilitanta w publikacjach należy uznać za znaczący i kluczowy dla ich powstania. Chociaż ocena dorobku naukowego nie powinna opierać się wyłącznie na wskaźnikach scjentometrycznych, to ich analiza pozostaje istotnym elementem weryfikacji aktywności badawczej i dorobku osób ubiegających się o stopień doktora habilitowanego. Całkowity dorobek naukowy dr Michała Złocha obejmuje prace opublikowane przed uzyskaniem stopnia doktora nauk biologicznych, natomiast po doktoracie jego lista publikacji liczy 34 pozycje, w tym 6 publikacji składających się na przedłożoną rozprawę habilitacyjną. Jest współautorem 6 monografii naukowych wydanych zarówno w języku polskim, jak i angielskim. Ponadto 43 razy występował jako współautor różnego rodzaju prezentacji konferencyjnych. W zakresie działalności projektowej Habilitant uczestniczył, w 11 grantach finansowanych z różnych źródeł, przy czym w trzech pełnił rolę kierownika projektu. Autor wniosku posiada również 4 mikrobiologiczne depozyty patentowe oraz jedno wdrożenie przemysłowe. Jego aktywność recenzencka obejmuje recenzję manuskryptów w następujących

czasopismach: Chemical Papers (1), European Journal of Inflammation (1), Food Science & Nutrition (1), Informatics (1), Microorganisms (1), Pathogens (1) oraz Toxins (4).

Nadrzędnym celem badań prowadzonych przez Habilitanta było poszerzenie użyteczności techniki MALDI-TOF MS w analizie mikrobiologicznych próbek klinicznych (H1-H4) oraz środowiskowych (H5-H6). Cel ten został podzielony na dwa główne obszary badawcze: (i) Zwiększenie wiedzy na temat wpływu zmiennych parametrów analizy MALDI w charakterystyce mikroorganizmów, co pozwala na lepsze zrozumienie i optymalizację tej techniki. (ii) Adaptacja techniki MALDI do pogłębionej analizy różnych próbek biologicznych poprzez opracowanie nowych procedur analitycznych, co zwiększa możliwości jej zastosowania w diagnostyce i badaniach środowiskowych. Z perspektywy recenzenta warto również podkreślić znaczenie badań nad hodowlą bakteryjną - kulturomiką, które w mojej ocenie stanowią istotny element prezentowanego osiągnięcia naukowego i mogłyby zostać wydodrębnione jako kolejny, odrębny aspekt badań.

Głównym celem pracy **H1** było wykorzystanie podejścia kulturomicznego do określenia składu mikrobiologicznego wymazów pobranych z infekcji tzw. stopy cukrzycowej u pacjentów cierpiących na tę niezwykle uciążliwą i groźną chorobę. W badaniu wykazano, że rodzaj zastosowanego podłoża (uniwersalne, wzbogacone, selektywne i różnicujące) znacząco wpływa na uzyskany skład gatunkowy bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych, a także na efektywność charakterystyki mikrobiologicznej próbek. Analizy wykazały, że różnice w wynikach pomiędzy użytymi podłożami sięgały nawet 32%, co może mieć istotne znaczenie w diagnostyce zakażeń polimikrobiologicznych, właśnie takich jak infekcje stopy cukrzycowej.

Celem następnej pracy **H2** było zastosowanie techniki MALDI-TOF MS w połączeniu z różnorodnymi warunkami hodowli, w celu określenia wzorców mikrobiologicznych oraz identyfikacji mechanizmów lekooporności wśród izolatów bakterii Gram-ujemnych. Otrzymane wyniki porównano z metodami sekwencjonowania genu 16S rDNA, techniką multiplex PCR ukierunkowaną na geny, oporności na antybiotyki oraz konwencjonalną metodą oznaczania wrażliwości na antybiotyki z wykorzystaniem pasków Etest. Habilitant wykazał, że metoda MALDI-TOF MS, w połączeniu z odpowiednimi protokołami hodowlanymi oraz szybką detekcją antybiotykooporności – w szczególności na antybiotyki β -laktamowe – za pomocą testu MBT STAR-BL, stanowi narzędzie porównywalne pod względem skuteczności z metodami sekwencjonowania DNA.

W kolejnej pracy **H3** ponownie wykorzystano materiał kliniczny pochodzenia mikrobiologicznego, tym razem izolowany ze śliny, w celu opracowania alternatywnego protokołu do molekularnej analizy sekwencjonowania 16S DNA. W ramach badań przeprowadzono charakterystykę mikrobiologiczną pobranych izolatów przy użyciu analizy MALDI-TOF MS, obejmującej profilowanie białek i lipidów, a także dodatkowo zastosowano spektroskopię w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR). Dr Michał Złoch wykazał, że analiza lipidomiczna oparta na technice MALDI-TOF MS umożliwia precyzyjne różnicowanie blisko spokrewnionych mikroorganizmów, takich jak *Streptococcus salivarius* i *Streptococcus vestibularis*. Dodatkowo, autor pracy przedstawił metodę FTIR jako skuteczną w klasyfikacji rodzajów bakterii, jednak zwrócił uwagę na jej złożoność oraz czasochłonność w porównaniu do innych metod analitycznych.

Praca **H4** stanowi ostatnią z serii badań dotyczących problemu lekooporności bakterii. Celem przeprowadzonych analiz była ocena możliwości zastosowania testu MBT STAR-Carba, opartego na technice laserowej desorpcji i jonizacji (MALDI), do charakterystyki szczepów bakterii z rodziny *Enterobacterales* oraz *Pseudomonas aeruginosa* pod kątem wytwarzanych przez nie klas karbapenemaz. W badaniach zastosowano zmodyfikowany protokół, uwzględniający gradient gęstości zawiesin bakteryjnych oraz zróżnicowane czasy inkubacji.

W pracy **H5** przeanalizowano próbki miodów pod kątem ich mikrobiologicznej charakterystyki. Do badań wykorzystano technikę spektrometrii mas MALDI-TOF MS oraz sekwencjonowanie 16S

rDNA w celu identyfikacji obecnych w miodzie bakterii, w tym ich form przetrwalnikowych. Analizie poddano szczepy należące do rodzajów *Bacillus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Lysinibacillus spp.*, *Micrococcus spp.* oraz *Brevibacillus spp.*. Zastosowanie obu metod pozwoliło na dokładną identyfikację różnorodnych mikroorganizmów obecnych w badanych próbkach miodów. Habilitant wykazał, że technika MALDI-TOF MS umożliwia nie tylko identyfikację bakterii, ale także rozróżnianie międzygatunkowe oraz różnicowanie poszczególnych szczepów. Opisane badania są istotne z punktu widzenia bezpieczeństwa mikrobiologicznego miodu jako produktu spożywczego.

Ostatnia z serii prac wchodzących w skład ocenianego wniosku, **H6**, poświęcona była porównaniu możliwości dwóch systemów do analizy mikrobiologicznej: MALDI Biotyper firmy Bruker (USA) oraz MALDI-EXS 2600 firmy Zybio Inc. (Chiny). Badania koncentrowały się na ocenie skuteczności tych systemów w analizie mikrobiologicznej próbek mleczarskich. Dr Michał Złoch wraz ze współpracownikami wykazał, że spośród 196 izolatów bakteryjnych pochodzących z przetworów mleczarskich oraz ścieków mleczarskich zgodność identyfikacji na poziomie rodzaju i gatunku wynosiła odpowiednio 99% i 74%. Ponadto, dokładność identyfikacji na poziomie gatunku była wyższa w przypadku systemu MALDI-EXS 2600 firmy Zybio w porównaniu do systemu MALDI Biotyper firmy Bruker, jednak wynik ten był zależny od rodzaju identyfikowanych mikroorganizmów.

Podsumowując ocenę dorobku naukowego Autora zawartego w przedłożonym wniosku uważam, że przedstawione badania opisane w załączonych publikacjach niewątpliwie stanowią osiągnięcie naukowe, które w dużym stopniu przyczynia się do rozwoju dyscypliny nauki chemicznej, w obszarze bioanalitiky związanej z wykorzystaniem spektrometrii mas w analizach mikrobiologicznych. Habilitant posiadając odpowiednie wykształcenie biologiczne wykorzystał je do połączenia chemicznej metody analitycznej z wiedzą mikrobiologiczną w wyniku czego powstały załączone do wniosku prace. Opracowane i wykorzystane narzędzia badawcze w niniejszej dysertacji habilitacyjnej kreują Pana dr. Michała na lidera w zakresie oznaczeń mikrobiologicznych oraz szeroko pojętej bioanalitiky.

Ocena dorobku dydaktycznego i organizacyjnego

Dr Michał Złoch od roku akademickiego 2011/2012, tj. od rozpoczęcia studiów doktoranckich, prowadził i współprowadził liczne laboratoria mikrobiologiczne. Po uzyskaniu stopnia naukowego kontynuował działalność dydaktyczną, angażując się w przygotowanie laboratoriów z Mikrobiologii ogólnej, Fizykochemicznych metod rozdzielania, Podstaw chemii procesów biologicznych i bioanalitiky, Chemii środowiska i ekologii oraz Environmental chemistry and ecology. Jest współautorem skryptu do ćwiczeń laboratoryjnych z fizykochemicznych metod rozdzielania w medycynie i farmacji oraz współautorem rozdziału pt. „Nowoczesne metody identyfikacji mikroorganizmów” w szerszym opracowaniu zbiorowym. W okresie od 1 lipca do 30 września 2019 roku pełnił funkcję opiekuna stażu studenckiego realizowanego w ramach programu AS KIER. W 2020 roku został promotorem pomocniczym rozprawy doktorskiej zatytułowanej „Istotność rozwoju metod spektrometrycznych w procesie identyfikacji mikroorganizmów”.

W ramach działalności organizacyjnej współorganizował pięć konferencji. Aktywnie popularyzował naukę, wygłaszając wykłady oraz organizował warsztaty. Był laureatem zespołowych nagród i wyróżnień Rektora UMK oraz stypendystą Rektora za wysoko punktowane publikacje.

Podsumowanie

Reasumując stwierdzam, że przedstawiony całościowy dorobek dr Michała Złocha spełnia na wszystkich płaszczyznach kryteria wymagań jakie powinny być stawiane kandydatom do stopnia naukowego doktora habilitowanego. Wobec pozytywnej oceny całokształtu dorobku wnioskuje o dopuszczenie Pana dr. Michała Złocha do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego.