

Dr n. med. Robert D. Wojtyczka
Katedra i Zakład Mikrobiologii i Wirusologii,
Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu,
Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Załącznik nr 2

AUTOREFERAT

1. Imię i nazwisko:

Robert Dariusz Wojtyczka

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe - z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.

- 1994 r. - magister analityki medycznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Śląska Akademia Medyczna w Katowicach.
- 2002 r. - doktor nauk medycznych w dyscyplinie biologia medyczna, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Śląska Akademia Medyczna w Katowicach. Tytuł rozprawy doktorskiej: „*Oporność szczepów Mycobacterium tuberculosis z terenu województwa śląskiego na wybrane tuberkulostatyki*”, promotor: dr hab. n. przyr. Jerzy Pacha, recenzenci: prof. dr hab. n. med. Wojciech Król, prof. dr hab. n. med. Marian Mulczyk (praca wyróżniona przez Radę Wydziału)
- 2005 r. - studia podyplomowe w zakresie biologii molekularnej. Wydział Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński, Kraków.
- w trakcie - specjalizacja z mikrobiologii medycznej

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

- 1994-2002 r. asystent, Katedra i Zakład Mikrobiologii, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Śląska Akademia Medyczna w Katowicach.
- 2009-2011 r. adiunkt, Bielska Szkoła Wyższa im. Józefa Tyszkiewicza w Bielsku-Białej
- 2002 r. - nadal adiunkt, Katedra i Zakład Mikrobiologii i Wirusologii, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu,

4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.):

a) tytuł osiągnięcia naukowego:

„Wrażliwość gronkowców na antybiotyki oraz inne substancje pochodzenia naturalnego i syntetycznego w aspekcie ich różnorodności gatunkowej oraz zdolności tworzenia biofilmu”.

Osiągnięcie będące podstawą do wnioskowania o stopień naukowy doktora habilitowanego obejmuje cykl 5 publikacji o sumarycznym wskaźniku Impact Factor = **11,064**; liczba punktów MNiSW – **145**.

4.1. Autorzy i tytuły publikacji:

1) Wojtyczka RD, Orlewska K, Kępa M, Idzik D, Dziedzic A, Mularz T, Krawczyk M, Mikłasińska M, Wąsik TJ. *Biofilm formation and antimicrobial susceptibility of Staphylococcus epidermidis strains from hospital environment*. Int J Environ Res Publ Health. 2014; 11: 4619-4633. DOI:10.3390/ijerph110504619.

Impact Factor: 1,993 MNiSW: 25 pkt.

Mój udział w pracy obejmował koncepcję, opracowanie metodyki badania, nadzorowanie i współwykonanie wszystkich eksperymentów, analizę i interpretację otrzymanych wyników, zebranie i analizę piśmiennictwa oraz przygotowanie manuskryptu. Wkład własny oceniam na 75%.

2) Wojtyczka RD, Kępa M, Idzik D, Kubina R, Kabała-Dzik A, Dziedzic A, Wąsik T. *In vitro antimicrobial activity of ethanolic extract of Polish propolis against biofilm forming Staphylococcus epidermidis strains*. Evid Based Complement Alternat Med. 2013; vol.2013: ID590703, 1-11. DOI: 10.1155/2013/590703.

Impact Factor: 2,175 MNiSW: 30 pkt.

Mój udział w pracy polegał na zaproponowaniu koncepcji, opracowaniu metodyki badania, nadzorowanie i współwykonanie wszystkich eksperymentów z wyjątkiem przygotowania ekstraktu etanolowego propolisu, analizie i interpretacji wyników, zebraniu i analizie piśmiennictwa oraz przygotowaniu manuskryptu. Wkład własny oceniam na 85%.

- 3) **Wojtyczka RD**, Dziedzic A, Idzik D, Kępa M, Kubina R, Kabała-Dzik A, Smoleń-Dzirba J, Stojko J, Sajewicz M, Wąsik TJ. *Susceptibility of Staphylococcus aureus clinical isolates to propolis extract alone in combination with antimicrobial drugs*. *Molecules*, 2013; 18(8): 9623-9640. DOI: 10.3390/molecules18089623.

Impact Factor: 2,095 **MNiSW: 30 pkt.**

Mój udział w pracy polegał na sformułowaniu hipotezy badawczej, opracowaniu metodyki badania, nadzorowaniu i współwykonaniu wszystkich eksperymentów z wyjątkiem przygotowania ekstraktu etanolowego propolisu i analizy HPLC, analizie i interpretacji wyników, zebraniu i analizie piśmiennictwa oraz przygotowaniu manuskryptu. Wkład własny oceniam na 75%.

- 4) **Wojtyczka RD**, Dziedzic A, Kępa M, Kubina R, Kabała-Dzik A, Mularz T, Idzik D. *Berberine enhances the antibacterial activity of selected antibiotics against coagulase-negative Staphylococcus strains in vitro*. *Molecules*, 2014; 19(5): 6583-6596. DOI: 10.3390/molecules19056583.

Impact Factor: 2,095 **MNiSW: 30 pkt.**

Mój udział w pracy polegał na opracowaniu koncepcji i metodyki badania, nadzorowaniu i współwykonaniu wszystkich eksperymentów, analizie i interpretacji wyników, zebraniu i analizie piśmiennictwa oraz przygotowaniu manuskryptu. Wkład własny oceniam na 85%.

- 5) **Wojtyczka RD**, Zięba A, Dziedzic A, Kępa M, Idzik D. *An activity of thioacyl derivatives of 4-aminoquinolinium salts towards biofilm-producing and planktonic forms of coagulase-negative staphylococci*. *BioMed Res Int*. 2015; ID: 725939, 1-10. (przyjęta do druku 22.11.2014 r.)

Impact Factor: 2,706 **MNiSW: 30 pkt.**

Mój udział w pracy obejmował koncepcję, opracowanie metodyki badań, nadzorowanie i współwykonanie wszystkich eksperymentów dotyczących oceny aktywności przeciwbakteryjnej, analizie i interpretacji wyników, zebraniu i analizie piśmiennictwa oraz przygotowaniu manuskryptu. Wkład własny oceniam na 85%.

b) omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.

Bakterie z rodzaju *Staphylococcus* są rozpowszechnione w przyrodzie i zajmują różne nisze ekologiczne. Wskutek ich powszechnego występowania i przystosowalności do warunków

środowiska, gronkowce są główną grupą bakterii zasiedlających skórę, gruczoły skóry i błony śluzowe ludzi oraz innych ssaków i ptaków [1]. Populacja gronkowców na skórze i błonach śluzowych ulega ciągłej zmianie m. in. poprzez częsty kontakt z drobnoustrojami zasiedlającymi środowisko.

Powszechne i szerokie stosowanie antybiotyków prowadzi do narastania oporności i rozprzestrzeniania się wielu patogennych drobnoustrojów, co stanowi poważny problem medyczny. Obecne w środowisku naturalnym drobnoustroje, w tym również flora fizjologiczna człowieka, mogą stanowić źródło genów oporności na wiele antybiotyków. Dlatego obecnie w celu skutecznej terapii zakażeń bakteryjnych poszukuje się innych, oprócz standardowej antybiotykoterapii, metod zwalczania i zapobiegania infekcji. Opracowywanie i konstrukcja nowych antybiotyków nie zawsze prowadzi do otrzymania skutecznych środków wykazujących działanie przeciwbakteryjne *in vitro*. W licznych badaniach ciągle poszukuje się nowych substancji wykazujących działanie przeciwbakteryjne lub działanie wspomagające istniejących już związków [2], co ma szczególnie istotne znaczenie w przypadku szczepów tworzących biofilm.

Standardowa terapia antybiotykowa jest zdolna głównie do niszczenia planktonicznych form bakterii. Bakterie będące w formie biofilmu nie są wtedy eliminowane, i dopiero ich stopniowe uwalnianie z tej struktury umożliwia eliminację. Po zakończeniu antybiotykoterapii formy biofilmowe mogą być przyczyną nawrotu infekcji [3]. Infekcje z udziałem biofilmu stanowią także przyczynę schorzeń o charakterze przewlekłym wykazując - mimo różnorodności ich umiejscowienia - pewne podobieństwa kliniczne. Występują najczęściej na powierzchniach obojętnych, abiotycznych, oraz na obumarłych fragmentach tkanek, chociaż mogą także dotyczyć żywych tkanek. Rozwijają się wolno i często dają objawy kliniczne dopiero w późnym okresie od momentu zakażenia. Terapia antybiotykowa przynosi krótkotrwałą poprawę stanu klinicznego, gdyż powoduje tylko zniszczenie uwolnionych form planktonicznych, a jej zaprzestanie jest przyczyną wielokrotnych nawrotów, często aż do momentu chirurgicznego usunięcia ogniska infekcji [4,5].

Pomimo, że gronkowce koagulazujemne (CoNS) stanowią florę fizjologiczną człowieka, to obecnie uznawane są za czynniki etiologiczne wielu zakażeń. Zakażenia CoNS występują najczęściej u osób z obniżoną odpornością oraz u ludzi, których leczenie zazwyczaj związane jest z obecnością lub implantacją ciał obcych takich jak cewniki, protezy czy implanty ortopedyczne [6-8]. Gronkowce koagulazujemne w porównaniu do *Staphylococcus aureus* nie wytwarzają tak wielu rodzajów pozakomórkowych toksyn i enzymów. Ich zjadliwość jest uwarunkowana zdolnością do kolonizacji biomateriałów i wytwarzania biofilmu, a co z tym jest ściśle związane zmniejszenie penetracji antybiotyków czy utrudniony dostęp komórek fagocytarnych i przeciwciał opsonizujących [9,10]. W istocie, kolonizacja szczepami gronkowców tworzących biofilm, przyczynia się do rozwoju

infekcji stanowiących istotny problem kliniczny, stąd głównym moim zainteresowaniem jest poszukiwanie związków wykazujących aktywność w stosunku do szczepów gronkowców o różnych zdolnościach tworzenia biofilmu, w celu ich potencjalnego wykorzystania w zwalczaniu kolonizacji lub zakażeń wywoływanych tymi szczepami.

Celem pracy (Int J Environ Res Publ Health, 2014) była ocena zdolności tworzenia biofilmu wśród szczepów *S. epidermidis* izolowanych ze środowiska szpitalnego oraz ocena ich wrażliwości na chemioterapeutyki.

W pracy tej przeanalizowano 122 szczepy gronkowców koagulazoujemnych wyizolowane ze środowiska szpitalnego, zarówno z próbek powietrza jak i z powierzchni sprzętu medycznego. W wyniku przeprowadzonych badań hodowlanych i prób biochemicznych szczepy te zidentyfikowano do gatunku zgodnie z obowiązującą metodyką badań mikrobiologicznych. W wyniku czego do dalszych badań użyto: 32 szczepy *S. epidermidis*, 31 szczepów *S. haemolyticus*, 21 szczepów *S. capitis* subsp. *capitis*, 11 szczepów *S. hominis*, 9 szczepów *S. cohnii* subsp. *cohnii*, 5 szczepów *S. saprophyticus*, po 4 szczepy *S. warneri* i *S. kloosii*, 2 szczepy *S. cohnii* subsp. *urealyticum* oraz po 1 szczepie *S. lugdunensis* i *S. chromogenes*. W kolejnym etapie badań określono profile lekooporności poszczególnych szczepów CoNS. Wyizolowane szczepy wykazywały wysoką wrażliwość na linezolid (99,2%), rifampicynę i chloramfenikol (odpowiednio 98,4% i 91,85%), klindamycynę (70,5%), oraz trimetoprim z sulfametaksazolem (68,9%). Szczepy CoNS wykazały ponadto słabą wrażliwość na erytromycynę, która wynosiła tylko 45,9%. Wśród badanej grupy CoNS największe zainteresowanie dotyczyło jednak szczepów *S. epidermidis* ze względu na ich najliczniejsze występowanie oraz potencjalne zdolności do tworzenia biofilmu. Stwierdzono, że szczepy te tylko nieznacznie różniły się lekowrażliwością od pozostałych gronkowców koagulazoujemnych. Szczepy *S. epidermidis* w 100% były wrażliwe na chloramfenikol, rifampicynę i ciprofloksacynę, oraz - podobnie jak inne CoNS - najmniejszą wrażliwość wykazywały na erytromycynę (56,3%) i trimetoprim z sulfametaksazolem (7,9%). W kolejnych etapach badań dokonano fenotypowej oceny zdolności do wytwarzania biofilmu. W tym celu zastosowano dwie klasyczne metody: z wykorzystaniem podłoża CRA wg. Freemana [11] oraz technikę opisaną przez Christensena [12]. Stosując pierwszą metodę stwierdzono, że tylko 7,4% szczepów wykazywało fenotypową zdolność do tworzenia biofilmu, natomiast stosując metodę Christensena wykazano, że zdolność taką miało 20,6% szczepów *S. epidermidis*. Otrzymane wyniki badań potwierdziły doniesienia literaturowe o niskiej skuteczności metody CRA. W przypadku 32 szczepów *S. epidermidis* dokonano także analizy genotypowej poprzez ocenę częstotliwości występowania genów operonu *icaADBC*, jako głównych czynników genetycznych odpowiedzialnych za produkcję adhezyjny PIA. Analiza molekularna szczepów *S. epidermidis* wykazała obecność poszczególnych genów operonu *icaADBC* w 15 przypadkach (46,9%). Geny *icaA* i *icaD* były obecne

w 34,4% i 28,1% szczepów, gen *icaC* w 37,5%, natomiast gen *icaB* w 21,9%. Współobecność wszystkich genów operonu *icaADBC* stwierdzono jedynie w przypadku 5 szczepów (15,6%). Współwystępowanie genów *icaA/icaC* potwierdzono w przypadku 4 szczepów *S. epidermidis* (12,5%), a współwystępowanie genów *icaB/icaD*, *icaA/icaD/icaB* i *icaA/icaB/icaC* była na poziomie 3,1%. Dokonując oceny zależności pomiędzy występowaniem biofilmu a wrażliwością szczepów *S. epidermidis* na badane chemioterapeutyki stwierdzono zmniejszoną wrażliwość szczepów tworzących biofilm na cefoksytynę, klindamycynę, erytromycynę, tetracyklinę, gentamycynę oraz linezolid. Szczepy *S. epidermidis* tworzące biofilm wykazywały 100% wrażliwość tylko na rifampicynę, ciprofloksacynę i chloramfenikol. Otrzymane w tej pracy wyniki wyraźnie wskazują, że szczepy środowiskowe *S. epidermidis* mogą być rezerwuarem genów odpowiedzialnych za tworzenie się biofilmu, a w prawdopodobnym następstwie ich przekazywania, mogą być przyczyną infekcji szpitalnych związanych z drobnoustrojami tworzącymi biofilm. Ponadto szczepy tworzące biofilm wykazują zmniejszoną wrażliwość na badane chemioterapeutyki w warunkach *in vitro*, więc kolonizacja tymi szczepami może stanowić poważny problem w postaci trudnych do leczenia zakażeń.

Liczne badania wykazują, że zakażenia spowodowane szczepami CoNS są w większości zakażeniami szpitalnymi lub zakażeniami związanymi z opieką zdrowotną [13,14]. Większość zakażeń szczepami CoNS ma charakter endemiczny. Kolonizacja pacjentów i personelu medycznego CoNS, w tym lekoopornymi, następuje już po kilku dobach pobytu pacjenta w szpitalu, co prowadzić może do nosicielstwa lub poprzedzać zakażenie wywoływane tymi drobnoustrojami.

Problemy kliniczne związane z zakażeniami szczepami CoNS wskazują na potrzebę poszukiwania związków wykazujących działanie przeciwdrobnoustrojowe, które można by zastosować do zwalczania nosicielstwa lub do wspomaganie stosowanej antybiotykoterapii, a jednocześnie, które nie powodowałyby zwiększenia lekooporności drobnoustrojów.

W tym celu, w kolejnej pracy [Evid Based Complement Alternat Med. 2013] poddano ocenie działanie etanolowego ekstraktu propolisu (EEPP) na szczepy *S. epidermidis* o różnych zdolnościach tworzenia biofilmu.

Tradycyjna analiza gatunkowa gronkowców koagulazoujemnych jest trudna, i w wielu przypadkach - stosując różne komercyjne testy biochemiczne - uzyskuje się odmienne wyniki. Ze względu na planowane badania molekularne, oparte na ocenie obecności genów operonu *icaADBC* charakterystycznego tylko dla *S. epidermidis*, w pierwszym etapie prowadzonych w ramach tej pracy badań dokonano potwierdzenia identyfikacji gatunkowej wyizolowanych szczepów z wykorzystaniem techniki PCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction – Restriction Fragment Length Polymorphism). Analizie restrykcyjnej poddano fragmenty genu *dnaJ* wykorzystując enzymy restrykcyjne *BspI* i *XapI*. W wyniku tej analizy otrzymano we wszystkich przypadkach jednorodny wzór prążkowy zgodny ze

szczeniami wzorcowymi *S. epidermidis* ATCC 12228 (nie tworzącym biofilmu) oraz *S. epidermidis* ATCC 35983 (tworzącym biofilm), co umożliwiło potwierdzenie jednorodności gatunkowej badanych szczepów. Kolejnym etapem była ocena genetycznych uwarunkowań tworzenia biofilmu, jak i ocena fenotypowej zdolności do jego tworzenia. W przypadku badań genetycznych poddano ocenie częstość występowania poszczególnych genów operonu *icaADBC* za pomocą techniki PCR z wykorzystaniem starterów komplementarnych dla tych genów występujących wśród szczepów *S. epidermidis*. Obecność wszystkich genów operonu *icaADBC* stwierdzono w przypadku 50% szczepów badanych oraz w szczepie wzorcowym *S. epidermidis* ATCC 35983. W 6 przypadkach wykazano współobecność genów *icaA* i *icaD*, jako dwóch najważniejszych genów zaangażowanych w syntezę adhezyjny PIA. W kolejnym etapie dokonano oceny fenotypowej zdolności tworzenia biofilmu, wykorzystując zmodyfikowaną metodę opisaną przez Christensena. W wyniku przeprowadzonych tą metodą badań wszystkie analizowane szczepy wykazywały absorbancję przy długości fali 490 nm w zakresie od 0,12-3,85, co świadczyło o średniej i silnej zdolności tworzenia biofilmu. Wartość absorbancji dla szczepu wzorcowego ATCC35983 (tworzącego biofilmu) wynosiła 3,08.

W kolejnym etapie dokonano oznaczenia minimalnego stężenia hamującego (MIC) etanolowego ekstraktu propolisu (EPP) dla badanych szczepów *S. epidermidis*. Wartości MIC etanolowego ekstraktu propolisu szczepów *S. epidermidis* tworzących biofilm mieściły się w zakresie 0,78-1,56 mg/ml (MIC₅₀ =0,78mg/ml; MIC₉₀=1,56 mg/ml), co wskazuje na wysoką aktywność EPP w stosunku do tych szczepów. Dokonując następnie analizy kinetyki wzrostu badanych szczepów po 2, 6, 12 i 24 godzinach ekspozycji EPP, już po 12 godzinach zaobserwowano znaczną redukcję drobnoustrojów. W pracy tej także podjęto próbę wykorzystania testu AlamarBlue do oceny stopnia redukcji liczby bakterii żyjących w formie planktonicznej, pochodzących ze szczepów tworzących biofilm. Wykorzystany w badaniach AlamarBlue jest wskaźnikiem reagującym tylko z żywymi drobnoustrojami, które posiadają zdolność do jego redukcji wyrażającej się zmianą zabarwienia z granatowego na czerwony. Otrzymane wyniki badań wykazały, że już w niższych zakresach stężeń w przedziale od 0,025 do 0,039 mg/ml po 12 i 24 godzinach działania, EPP wykazuje silne działanie hamujące wzrost form planktonicznych badanych szczepów, a w zakresie stężeń 0,78-1,56 mg/ml redukcja AlamarBlue w badanych czasach wynosiła od 18 do 80%. W przeprowadzonych badaniach wprowadzono więc pojęcie MIC_{AB}, czyli minimalnego stężenia hamującego wzrost drobnoustrojów w metodzie z wykorzystaniem AlamarBlue, do oceny stopnia aktywności przeciwgronkowcowej EPP. Wartość MIC_{AB} dla badanych szczepów *S. epidermidis* wynosiła od 0,2 do 1,56 mg/ml, co może sugerować, że MIC_{AB} lepiej opisuje aktywność przeciwgronkowcową EPP, niż tradycyjna metoda oznaczania MIC.

W pracy tej dokonano także oceny wpływu stężenia EEPP na zdolność narastania biofilmu *S. epidermidis*. Wykazano, że w zakresie stężeń od 0,39 do 1,56 mg/ml, EEPP silnie redukuje zdolności tworzenia się biofilmu, a dokonując oceny statystycznej otrzymanych wyników wykazano, że zdolność ta jest ściśle zależna od czasu jego działania (12 i 24 godzina).

Podsumowując otrzymane wyniki badań stwierdzono, że EEPP wykazuje silne działanie przeciwdrobnoustrojowe na szczepy *S. epidermidis* tworzące biofilm i docelowo może być stosowany w celu redukcji tych szczepów, w przypadku np. kolonizacji lub nosicielstwa.

Wśród pacjentów przygotowywanych do zabiegów operacyjnych, poważny problem stanowi nosicielstwo szczepów metycylinoopornych gronkowca złocistego (MRSA). Brak wrażliwości tych szczepów na antybiotyki β -laktamowe oraz coraz częstsze pojawianie się wśród nich szczepów wielolekoopornych powodują, że dysponuje się coraz bardziej ograniczonymi opcjami terapeutycznymi. Dlatego ważnym elementem, podobnie jak w przypadku zakażeń wielolekoopornymi szczepami CoNS, wydaje się poszukiwanie alternatywnych do antybiotykoterapii metod, umożliwiających zwalczanie nosicielstwa tych szczepów, w celu zapobiegania późniejszym zakażeniom.

Celem kolejnej pracy [Molecules, 2013] była ocena przeciwdrobnoustrojowego działania EEPP w odniesieniu do szczepów *S. aureus* wrażliwych i opornych na metycylinę, oraz próba określenia wpływu subinhibicyjnych stężeń EEPP w korelacji z chemioterapeutykami przeciwgronkowcowymi w badaniach *in vitro*.

W pierwszym etapie dokonano oceny działania EEPP na kliniczne szczepy *S. aureus* wrażliwe (MSSA) jak i oporne na metycylinę (MRSA). W celu potwierdzenia klasycznej identyfikacji gatunkowej szczepów przeprowadzono analizę molekularną za pomocą techniki PCR-RFLP z użyciem fragmentów genu *dnaJ* i wykorzystaniem enzymów restrykcyjnych *BspI* i *XapI*. Następnie dokonano oceny oporności szczepów *S. aureus* na metycylinę przy użyciu testu z cefoksytyną oraz za pomocą techniki PCR z wykorzystaniem oceny obecności genu *mecA*. W kolejnym etapie wyznaczono wartości minimalnego stężenia EEPP hamującego wzrost drobnoustrojów metodą seryjnych mikrorozcieńczeń w stosunku do szczepów metycylinowrażliwych jak i metycylinoopornych. W wyniku przeprowadzonych badań potwierdzono jednorodność gatunkową wybranych do badań izolatów oraz dokonano podziału szczepów gronkowca złocistego na szczepy MSSA i MRSA. Oceniając wartości MIC badanych szczepów stwierdzono, że wartości te mieściły się w zakresie 0,39 mg/ml do 0,78 mg/ml, z wartością średnią MIC równą $0,54 \pm 0,22$ mg/ml. Wartości MIC₅₀ oraz MIC₉₀ wynosiły odpowiednio 0,39 mg/ml i 0,78 mg/ml. Zarówno szczepy MSSA jak i MRSA wykazały zbliżoną wrażliwość na EEPP, a średnie wartości MIC dla tych szczepów wynosiły odpowiednio $0,59 \pm 0,21$ mg/ml oraz $0,52 \pm 0,20$ mg/ml. Kolejnym etapem badań była ocena wpływu

działania subinhibicyjnych stężeń EEPP (1/4 wartości MIC), w stosunku do penicyliny, erytromycyny, klindamycyny, cefoksytyny, ciprofloksacyny, tobramycyny, chloramfenikolu, linezolidu, tetracykliny oraz trimetoprimu z sulfometaksazolem przy użyciu zmodyfikowanej metody dyfuzyjno-krażkowej opisaną przez Fernandez Jr i wsp. [15]. Dla wszystkich badanych chemioterapeutyków, z wyjątkiem chloramfenikolu i ciprofloksacyny, zaobserwowano znaczne zwiększenie strefy zahamowania wzrostu wokół krążków z antybiotykami, po dodaniu do podłoża EEPP o stężeniu 1/4 wartości MIC₉₀. Oceniając aktywność przeciugronkowcową EEPP wykazano jego wysoką aktywność na szczepy *S. aureus* już po 6 godzinach działania, porównywalną w przypadku szczepów MSSA jak i MRSA.

W celu uzyskania najskuteczniejszego działania przeciugronkowcowego, za konieczne wydaje się stosowanie nie jednego, lecz kilku związków/preparatów wykazujących aktywność w stosunku do tych szczepów. W kolejnej pracy [Molecules, 2014] postanowiono dokonać oceny wpływu działania przeciugronkowcowego berberyny poprzez określenie minimalnego stężenia berberyny hamującego wzrost wybranych wzorcowych szczepów gronkowców oraz ocenę potencjalnego synergistycznego działania subinhibicyjnych dawek berberyny w skojarzeniu z wybranymi lekami przeciugronkowcowymi..

Ocena objęła aktywność przeciwbakteryjną berberyny w odniesieniu do 14 wzorcowych szczepów gronkowców takich jak: *S. epidermidis* ATCC 12228, *S. haemolyticus* ATCC 29970, *S. hominis* subsp. *hominis* ATCC 27844, *S. warneri* ATCC 49454, *S. saprophyticus* ATCC 15303, *S. capitis* subsp. *capitis* ATCC 35661, *S. intermedius* ATCC 29663, *S. lentus* ATCC 700403, *S. lugdunensis* ATCC 49576, *S. simulans* ATCC 27851, *S. galinarium* ATCC 700401, *S. sciuri* ATCC 29060 i *S. xylosus* ATCC 700404 oraz dla tworzącego biofilm szczepu *S. epidermidis* ATCC35983. W przeprowadzonych badaniach wykazano wysoką aktywność berberyny w zakresie wartości MIC od 16 do 512 µg/ml (mediana 126 µg/ml) do badanych szczepów gronkowców. Aktywność ta była jednak bardzo zróżnicowana i wynosiła od 16 µg/mL dla *S. capitis* subsp. *capitis* i 32 µg/ml dla *S. epidermidis* ATCC 12228 do 512 µg/ml dla *S. warneri* ATCC 49454 oraz *S. saprophyticus* ATCC 15303 i 256 µg/ml dla *S. haemolyticus* ATCC 29970. W przypadku 9 badanych szczepów wartość MIC berberyny mieściła się w przedziale od 64 µg/ml do 128 µg/ml. W pracy tej stwierdzono, że niewytwarzający biofilmu szczep *S. epidermidis* (ATCC 12228) w porównaniu do szczepu produkującego biofilm *S. epidermidis* ATCC 35983, wykazywał 4-ktrotnie mniejszą wartość MIC (odpowiednio 32 µg/ml do 128 µg/ml).

Dokonano także oceny wpływu berberyny na siłę działania wybranych chemioterapeutyków. Badania te wykazały, że dodatek do podłoża berberyny o stężeniu 1/4 wartości MIC, wyraźnie zwiększa strefę zahamowania wzrostu wszystkich badanych szczepów. Największy efekt

wspomagający berberyny zaobserwowano w skojarzeniu z linezolidem, cefoksytiną i erytromycyną, a najmniejszy w skojarzeniu z ciprofloksacyną, chloramfenikolem i trimetoprimem z sulfometaksazolem.

Oprócz substancji naturalnych wspomagających aktywność przeciwgonkowców w badaniach swoich poszukiwałem syntetycznych substancji wykazujących działanie na szczepy gronkowców koagulazoujemnych tworzących i nietworzących biofilmu.

W kolejnej pracy wchodzącej w cykl [BioMed Res Int. 2014], dokonałem oceny działania nowo zsyntezowanych pochodnych chinolinowych takich jak: chlorek 1-metylo3-benzoilotio-4-(4-chlorofenyloamino)chinoliniowy oraz chlorek 1-metylo3-benzoilotio-4-(4-fluorofenylo)chinoliniowy. Badania obejmowały 33 szczepy CoNS pochodzące ze środowiska szpitalnego oraz 8 szczepów wzorcowych z kolekcji ATCC takie jak: *S. epidermidis* ATCC 12228, *S. saprophyticus* ATCC 15305, *S. hominis* ATCC 27844, *S. haemolyticus* ATCC29970, *S. capitis* subsp. *capitis* ATCC 35661, *S. warneri* ATCC 49454, *S. lugdunensis* ATCC 49567 oraz tworzący biofilm szczep *S. epidermidis* ATCC35983. W celu dokonania oceny zróżnicowania gatunkowego szczepów środowiskowych, wykorzystano techniki hodowlane oraz testy biochemiczne API20Staph (bioMérieux). W wyniku czego stwierdzono obecność 19 szczepów *S. epidermidis*, 5 szczepów *S. haemolyticus*, 3 szczepów *S. warneri*, 2 szczepów *S. cohnii* subsp. *cohnii*, oraz po 1 szczepie *S. saprophyticus*, *S. kloosii*, *S. cohnii* subsp. *urealyticum* i *S. capitis* subsp. *capitis*. Ocena zdolności tworzenia biofilmu badanych szczepów CoNS przeprowadzono z użyciem metod z wykorzystaniem podłoża CRA wg. Freemana [11] oraz metodą opisaną przez Christensena [12]. W przeprowadzonych badaniach z wykorzystaniem metody CRA tylko w 5% szczepów (w dwóch przypadkach) otrzymano wzrost w postaci charakterystycznych czarnych, szorstkich koloni świadczących o zdolności do tworzenia biofilmu. W przypadku zastosowania metody Christensena, 11 z 30 badanych środowiskowych szczepów CoNS oraz szczep *S. epidermidis* ATCC 35984, zakwalifikowano jako szczepy tworzące biofilm. Wśród tych szczepów 10 należało do gatunku *S. epidermidis* oraz jeden do gatunku *S. kloosii*. W dalszym etapie wśród szczepów *S. epidermidis* przeprowadzono analizę obecności genów *icaA/icaD* odpowiedzialnych za tworzenie się polisacharydowej adhezyny PIA. Obecność przynajmniej jednego genu *icaA* lub *icaD* wykazano w 9 na 10 szczepów *S. epidermidis* tworzących biofilm. Kolejnym etapem badań była ocena aktywności chlorku 1-metylo3-benzoilotio-4-(4-chlorofenyloamino)chinoliniowego i chlorku 1-metylo3-benzoilotio-4-(4-fluorofenyloamino) chinolinowego poprzez określenie wartości minimalnego stężenia hamującego wzrost badanych szczepów. Obie pochodne wykazywały wysoką aktywność hamującą wzrost szczepów gronkowców koagulazoujemnych. Wartości MIC dla chlorku 1-metylo3-benzoilotio-4-(4-chlorofenyloamino)chinoliniowego mieściły się w zakresie od 16 µg/ml do 64 µg/ml (średnia 42,60±19,91µg/ml, MIC₅₀=46µg/ml, MIC₉₀=64µg/ml). W przypadku chlorku 1-

metylo3-benzoilotio-4-(4-fluorofenyloamino)chinoliniowego wartości MIC mieściły się także w zakresie od 16 $\mu\text{g/ml}$ do 64 $\mu\text{g/ml}$ (średnia: $43,20 \pm 14,30 \mu\text{g/ml}$, $\text{MIC}_{50}=46 \mu\text{g/ml}$, $\text{MIC}_{90}=64 \mu\text{g/ml}$). Dokonując oceny wartości MIC w zależności od zdolności tworzenia biofilmu szczepy nietworzące biofilmu wykazywały średnią wartość MIC równą $40,14 \pm 15,73 \mu\text{g/ml}$ dla chlorku 1-metylo3-benzoilotio-4-(4-chlorofenyloamino) chinoliniowego oraz $45,52 \pm 13,79$ dla chlorku 1-metylo3-benzoilotio-4-(4-fluorofenyloamino)chinoliniowego. W przypadku szczepów tworzących biofilm wartości te wynosiły kolejno $49,09 \pm 15,19 \mu\text{g/ml}$ i $37,09 \pm 14,43 \mu\text{g/ml}$. Ostatnim etapem pracy było określenie minimalnego stężenia hamującego tworzenie się biofilmu (MBIC) z użyciem testu MTT [16]. W analizie aktywności chlorku 1-metylo3-benzoilotio-4-(4-chlorofenyloamino)chinoliniowego stwierdzono, że średnia wartość MBIC wynosi $86,18 \pm 30,64 \mu\text{g/ml}$ ($\text{MBIC}_{50}=96 \mu\text{g/ml}$ i $\text{MBIC}_{90}=128 \mu\text{g/ml}$). W przypadku oceny chlorku 1-metylo3-benzoilotio-4-(4-fluorofenyloamino)chinoliniowego średnia wartość MBIC była o wiele wyższa i wynosiła $237,09 \pm 160,57 \mu\text{g/ml}$ ($\text{MBIC}_{50}=192 \mu\text{g/ml}$ i $\text{MBIC}_{90}=448 \mu\text{g/ml}$). W przeprowadzonych badaniach stwierdzono, że zarówno jedna jak i druga pochodna wykazują zbliżoną aktywność w stosunku do szczepów gronkowców koagulazoujemnych, jednak w przypadku oceny ich wpływu na tworzenie biofilmu chlorek 1-metylo3-benzoilotio-4-(4-chlorofenyloamino)chinoliniowy wykazuje znacznie większą aktywność na te formy gronkowców.

Wnioski:

1. Etanolowy ekstrakt propolisu wykazuje silne działanie przeciwgronkowcowe zarówno na szczepy gronkowca złocistego (MRSA i MSSA), jak i na szczepy gronkowców koagulazoujemnych, o różnych zdolnościach to tworzenia biofilmu. Wykazano większą oporność szczepów *S. epidermidis* na EEPP w porównaniu do metycylinowrażliwych i metycylioopornych szczepów *Staphylococcus aureus*.
2. Propolis oraz berberyna, stosowane w dawkach poniżej wartości minimalnego stężenia hamującego mogą wspomagać aktywność przeciwgronkowcową większości stosowanych chemioterapeutyków.
3. Zastosowanie techniki PCR-RFLP umożliwia szybką gatunkową identyfikację szczepów gronkowcowych, i metoda ta może być stosowana do różnicowania szczepów w obrębie gronkowców koagulazoujemnych.
4. Wprowadzenie testu AlamarBlue do badania stopnia hamowania wzrostu *S. epidermidis* tworzących biofilm umożliwia ocenę przeżywalności form planktonicznych bakterii i test ten może stanowić przydatne narzędzie diagnostyczne w ocenie tych form bakterii.

5. Nowe pochodne 4-fenylaminochinoliowe wykazują wysoką aktywność przeciwdrobnoustrojową na szczepy gronkowców koagulazoujemnych tworzące i nietworzące biofilmu.

Piśmiennictwo:

1. Götz F, Bannerman T, Schleifer KH. The Genera *Staphylococcus* and *Micrococcus*. [W:] Dworkin M, Falkow S, Rosenberig E, Schleifer KH, Stackebrands E. The Prokaryotes. A Handbook on the biology of bacteria: Firmicutes, Cyanobacteria. 2006; 4: 5-75.
2. Cushnie TP, Lamb AJ. Antimicrobial activity of flavonoids. *Int J Antimicrob Agents* 2005; 26: 343-356.
3. Dixon RA. Natural products and plant disease resistance. *Nature* 2001; 411: 843-847.
4. Fux CA, Costerton JW, Steward PS, Stoodley P. Survival strategies of infectious biofilms. *Trends Microbiol* 2005; 1(13): 34-40.
5. Różalska B. Biofilmy drobnoustrojów i ich rola w zakażeniach. *Sepsis* 2008; 1(2): 49-53.
6. Piette A, Verschraegen G. Role of coagulase-negative staphylococci in human disease. *Vet Microbiol* 2009; 134(1-2): 45-54.
7. Mack D, Rohde H, Harris LG, Davies AP, Horstkotte MA, Knobloch JKM. Biofilm formation in medical device-related infection. *Inter J Art Organs* 2006; 29: 343-359.
8. Rodhe H, Mack D, Christner M, Burdelski Ch, Franke G, Knobloch JKM. Pathogenesis of staphylococcal device related infections: from basic science to new diagnostic, therapeutic and prophylactic approaches. *Rev Med Microbiol* 2006; 17: 45-54.
9. Fey PD, Olson ME. Current concepts in biofilm formation of *Staphylococcus epidermidis*. *Future Microbiol* 2010; 5(6): 917-933.
10. Heikens E, Flier A, Paauw A, Florijn A, Fluit AC. Comparison of genotypic and phenotypic methods for species-level identification of clinical isolates of coagulase negative *Staphylococci*. *J Clin Microbiol* 2005; 43(5): 2286-2290.
11. Freeman DJ, Falkiner FR, Keane CT. New method for detecting slime production by coagulase negative staphylococci. *J Clin Pathol* 1989; 42: 872-874.
12. Christensen GD, Simpson WA, Younger JJ, Baddour LM, Barrett FF, Melton DM, Beachey EH. Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *J Clin Micro*. 1985; 22: 996-1006.
13. von Eiff C, Jansen B, Kohnene W, Becker K. Infections associated with medical devices, pathogenesis, management and prophylaxis. *Drugs* 2005; 65, 179-214.
14. Rupp ME, Archer GL. Coagulase-negative staphylococci: pathogens associated with medical progress. *Clin Infect Dis* 1994; 19: 231-245.
15. Fernandes A Jr, Balestrin A, Betoni EC, Orsi JEC, da Cunha MLRS, Montelli AC. Propolis: anti-*Staphylococcus aureus* activity and synergism with antimicrobial drugs. *Mem Ins Oswaldo Cruz* 2005; 100(5): 563-566.
16. Lin MH, Chang FR, Hua MY, Wu YC, Liu ST. Inhibitory effects of 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl- β -D-glucopyranose on biofilm formation by *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55(3): 1021-1027.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo - badawczych z wykazem opublikowanych prac naukowych lub twórczych prac zawodowych.

Poza cyklem publikacji będących podstawą ubiegania się o stopień doktora habilitowanego, mój dorobek naukowy obejmuje:

- **47 publikacji**, na które składa się **37** prac oryginalnych (w tym **34** opublikowanych po uzyskaniu stopnia naukowego doktora), **10** publikacji poglądowych (w tym 9 opublikowanych po uzyskaniu stopnia naukowego doktora).

- **48 streszczeń zjazdowych**, na które składa się **5** komunikatów prezentowanych na międzynarodowych konferencjach i zjazdach naukowych (w tym **2** po uzyskaniu stopnia naukowego doktora) oraz **43** komunikaty z konferencji i zjazdów krajowych (w tym **30** po uzyskaniu stopnia doktora).

- Jestem także współautorem **1 listu** do redakcji (British Medical Journal, IF=1,583).

Sumaryczny **Impact Factor** wszystkich publikacji naukowych według listy Journal Citation Reports (JCR), zgodnie z rokiem opublikowania wynosi **23,811**, co odpowiada sumarycznej punktacji **MNiSW** równej **508 punktów**. W tym na cykl publikacji będących podstawą wniosku o stopień naukowy doktora habilitowanego przypada **11,064** punktów **Impact Factor** (**145** punktów **MNiSW**), oraz na pozostały dorobek **12,747** punktów **Impact Factor** (**363** punkty **MNiSW**).

Analiza publikacji w bazie **Web of Science** wykazała **36** cytowań oraz **Indeks Hirscha** o wartości **4** oraz wg bazy **Scopus** **38** cytowań oraz **Indeks Hirscha** o wartości **4**.

Oceniając mój udział w publikacjach, w przypadku **28 (54%)** prac jestem pierwszym (**19** prac) lub drugim (**9** prac) autorem. W pozostałych **24** pracach jestem trzecim lub kolejnym autorem.

- **działalność naukowo-badawcza**

Działalność naukowo-badawcza, prowadzona w początkowym okresie po ukończeniu studiów i podjęciu pracy zawodowej w Katedrze i Zakładzie Mikrobiologii, dotyczyła obszaru związanego z diagnostyką molekularną oraz badaniem lekooporności prątków należących do *Mycobacterium tuberculosis complex* (MTC). Badania te obejmowały szereg zagadnień związanych z wykorzystaniem fragmentu insercyjnego IS6110 oraz genu *mtp40* do identyfikacji prątków należących do MTC. W ramach tych badań zajmowałem się także oceną lekooporności prątków oraz badaniami nad mutacjami genu *katG* związanego z lekoopornością prątków na izoniazyd. W wyniku przeprowadzonych badań wykazano, że 11% szczepów należące do MTC izolowane z regionu Śląska wykazywało oporność na izoniazyd, natomiast oporność szczepów MTC na ryfampicynę i etambutol

była znacznie mniejsza i wynosiła odpowiednio 4,3% oraz 1,4%. W kolejnych badaniach wykazano m. in., że około 30% szczepów izolowanych od pacjentów z regionu Śląska posiadało mutacje punktowe 315 i 463 w genie *katG*, co jest ściśle związane z opornością tych szczepów na izoniazyd.

W tym okresie mojej działalności naukowo-badawczej uczyłem się wykorzystywać techniki biologii molekularnej oparte o reakcję łańcuchowej polimerazy – PCR, analizę fragmentów restrykcyjnych RFLP oraz metodę SSCP. Wyniki tych badań przedstawione zostały w 5 pracach eksperymentalnych [„Wykaz dorobku naukowego” – załącznik nr 3. IB-3, IB-8, IB-11, IB-19, IXB-1]. Poruszana przeze mnie tematyka była także przedmiotem wykładu pt: „*Genetic diversity of Mycobacterium tuberculosis and its resistance to isoniazid in Silesia*” wygłoszonego w ramach Seminarium Forschungszentrum w Borstel, Niemcy 07.06.2001 r. oraz tematem obronionej rozprawy doktorskiej.

W kolejnym etapie mojej pracy naukowo-badawczej, po uzyskaniu stopnia naukowego doktora, kontynuowałem badania nad problemem lekooporności drobnoustrojów, ze szczególnym uwzględnieniem roli szczepów lekoopornych w patogenezie zakażeń szpitalnych. Powszechnie wiadomo, że zakażenia drobnoustrojami stanowią poważny problem w leczeniu szpitalnym, a ich liczba stale wzrasta. Rozprzestrzenianiu się szczepów szpitalnych sprzyja nieodpowiednia higiena szpitalna, zła organizacja pracy, nieskuteczna sterylizacja i dezynfekcja czy brak świadomości personelu medycznego. Szczególną rolę w zakażeniach szpitalnych odgrywiają drobnoustroje chorobotwórcze o szczególnej zjadliwości lub oporności oraz o oporności wielolekowej, zwane alertpatogenami. W prowadzonych w tym okresie badaniach wykazano m.in. znaczącą rolę szczepów gronkowców koagulazoujemnych jak i koagulazododatnich w kolonizacji środowiska szpitalnego. Szczepy te niezależnie od miejsca izolacji, wykazywały wysoką oporność na metycylinę (49-71%), erytromycynę (63-86%) i klindamycynę (44-86%). Wyniki tych badań i poruszane zagadnienia zostały opublikowane w 5 pracach oryginalnych i 2 poglądowych [„Wykaz dorobku naukowego” – załącznik nr 3. IB-16, IB-17, IB-20, IB-21, IB-25, IIIB-2, IIIB-3].

W tym okresie byłem także współautorem prac omawiających problem lekooporności pałeczek Gram-ujemnych oraz ziarenkowców Gram-dodatnich na chinolony. Wyniki tych badań opublikowano w 5 pracach oryginalnych [wg „Wykaz dorobku naukowego” – załącznik nr 3. IB-5, IB-6, IB-7, IB-10, IB-12].

W pracach dotyczących zakażeń szpitalnych duże znaczenie odgrywały szczepy gronkowców, dlatego w kolejnych etapach swoich badań podejmowałem tematy związane z: rolą gronkowców - szczególnie gronkowców koagulazoujemnych - w patogenezie zakażeń, zastosowaniem metod biologii molekularnej w identyfikacji i badaniach oporności gronkowców, oraz wrażliwością tych drobnoustrojów na leki i związki pochodzenia naturalnego. Przeprowadzone badania wykazały m in. duże znaczenie rejonu zmiennego pomiędzy 16S i 23S rRNA w identyfikacji i w badaniach

pokrewieństwa szczepów *Staphylococcus* spp., wysokie zróżnicowanie lekooporności gronkowców w zależności od gatunku, oraz znaczącą rolę szczepów tworzących biofilm w kolonizacji środowiska szpitalnego. Zagadnienia te były tematem 6 publikacji (w tym dwóch wchodzących w skład osiągnięcia naukowego) [wg „Wykaz dorobku naukowego” – załącznik nr 3. IA-4, IB-2, IB-4, IB-23].

Wiadomo, że drobnoustroje powodujące zakażenia szpitalne są selekcjonowane przez różne czynniki środowiskowe, jednak największe znaczenie ma selekcja szczepów powodowana nieracjonalnym stosowaniem antybiotyków w terapii wielu zakażeń bakteryjnych, co przyczynia się także do szybkiego rozprzestrzeniania szczepów o nowych mechanizmach oporności wśród szczepów szpitalnych. Dlatego ciągle poszukuje się nowych substancji umożliwiających zwalczanie zakażeń lub ograniczenie kolonizacji szczepami lekoopornymi.

Od początku moich zainteresowań szczepami lekoopornymi starałem się brać udział w pracach oceniających przydatność substancji pochodzenia naturalnego, w tym szczególnie propolisu, w ocenie aktywności przeciwdrobnoustrojowej. W licznych pracach oceniałem aktywność przeciwbakteryjną różnych postaci preparatów zawierających propolis w odniesieniu do drobnoustrojów izolowanych z materiałów klinicznych i środowiskowych, a w szczególności z ran pooparzeniowych. Zwróciłem także uwagę na wysoką aktywność tych preparatów w stosunku do szczepów *S. aureus* (MSSA jak i MRSA), a także do szczepów gronkowców koagulazoujemnych tworzących i nietworzących biofilmu. Wyniki prowadzonych w tym obszarze badań zostały opublikowane w cyklu 14 prac doświadczalnych i poglądowych (w tym dwóch wchodzących w skład osiągnięcia naukowego). [wg „Wykaz dorobku naukowego” – załącznik nr 3. IA-1, IA-2, IA-7, IB-13, IB-14, IB-15, IB-24, IB-26, IIIB-5, IIIB-6, IXA-3, IXA-4].

Prowadzone przeze mnie badania, a także badania z moim udziałem prowadzone w ramach współpracy, zaowocowały podjęciem tematu oceny wrażliwości gronkowców na antybiotyki, substancje pochodzenia naturalnego i substancje syntetyczne, z uwzględnieniem źródła pochodzenia drobnoustrojów, składu gatunkowego bakterii i ich zdolności do tworzenia biofilmu, jako cyklu publikacji w ramach przedstawionego osiągnięcia naukowego.

Od wielu lat współpracuję z Katedrą Chemii Organicznej Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu, Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach, biorąc udział w pracach związanych z oceną aktywności przeciwdrobnoustrojowej nowo syntetyzowanych pochodnych chinolinowych [„Wykaz dorobku naukowego” – załącznik nr 3. IA-3, IA-6], oraz z Zakładem Stomatologii Zachowawczej z Endodoncją Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrze, Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach, uczestnicząc w pracach związanych z oceną działania przeciwdrobnoustrojowego m.in. substancji naturalnych na florę jamy ustnej [wg „Wykaz dorobku naukowego” – załącznik nr 3. IA-7, IIIA-2].

Moja dalsza działalność naukowa w najbliższym okresie nadal będzie się skupiać nad oceną aktywności przeciwgronkowcowej ze szczególnym uwzględnieniem szczepów gronkowców koagulazoujemnych, oraz na mechanizmach tworzenia i eradykacji biofilmu.

- **kierowanie międzynarodowymi lub krajowymi projektami badawczymi lub udział w takich projektach:**

Prowadzona przeze mnie działalność naukowo-badawcza jest ściśle związana z tematyką badań statutowych i własnych, w których pełniłem funkcję kierownika (12 razy) lub współwykonawcy (11 razy).

W latach 1997-2013 uczestniczyłem w 23 projektach badawczych:

1. „Analiza profilu gatunkowego klinicznych szczepów gronkowców koagulazoujemnych izolowanych z oddziałów szpitalnych” - Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu, Katedra i Zakład Mikrobiologii i Wirusologii - badania statutowe - współwykonawca projektu KNW 1-003/N/3/0
2. „Analiza molekularna genów kodujących rybosomalne RNA u wybranych gatunków rodzaju *Staphylococcus*” - Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Katedra i Zakład Mikrobiologii - badania statutowe - współwykonawca projektu KNW-1-011/10
3. „Polimorfizm wybranych genów gronkowców izolowanych ze środowiska szpitalnego” - Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Katedra i Zakład Mikrobiologii - badania własne – kierownik projektu KNW-2-016/10
4. „Ocena częstości występowania lekoopornych szczepów drobnoustrojów izolowanych w wybranych oddziałach szpitalnych” - Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Katedra i Zakład Mikrobiologii - badania własne – kierownik projektu KNW-2-069/09
5. „Ocena lekooporności szczepów bakteryjnych izolowanych ze środowiska Oddziału Urologicznego Szpitala Miejskiego” - Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Katedra i Zakład Mikrobiologii - badania własne - współwykonawca projektu KNW-2-071/09
6. „Ocena częstości występowania alertpatogenów w wybranych oddziałach zabiegowych” - Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny

- Laboratoryjnej, Katedra i Zakład Mikrobiologii - badania własne - kierownik projektu KNW-2-049/08
7. „Ocena przydatności techniki PCR RFLP do analizy molekularnej szczepów CoNS” - Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Katedra i Zakład Mikrobiologii - badania statutowe - współwykonawca projektu KNW-1-052/08
 8. „Ocena lekowrażliwości alertpatogenów izolowanych z oddziałów zabiegowych” - Śląska Akademia Medyczna w Katowicach, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Katedra i Zakład Mikrobiologii - badania własne - kierownik projektu NN-2-107/07
 9. „Analiza polimorfizmu genu kodującego podjednostkę 16S rRNA alertpatogenów izolowanych ze środowiska szpitalnego” - Śląska Akademia Medyczna w Katowicach, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Katedra i Zakład Mikrobiologii - badania statutowe - współwykonawca projektu KNW-1-057/07
 10. „Ocena częstotliwości występowania alertpatogenów w wybranych oddziałach szpitalnych” - Śląska Akademia Medyczna w Katowicach, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Katedra i Zakład Mikrobiologii - badania własne - kierownik projektu NN-2-120/06
 11. „Analiza mikrobiologiczna alertpatogenów izolowanych ze środowiska szpitalnego – Śląska Akademia Medyczna w Katowicach, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Katedra i Zakład Mikrobiologii - badania statutowe - współwykonawca projektu NN-1-180/06
 12. „Wykrywanie oporności „*Mycobacterium tuberculosis* na rifampicynę metodą SSCP” - Śląska Akademia Medyczna w Katowicach, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Katedra i Zakład Mikrobiologii - badania statutowe - współwykonawca projektu NN-2-148/05
 13. „Próba zastosowania genu *gyrA* do różnicowania szczepów w obrębie rodzaju *Mycobacterium*” - Śląska Akademia Medyczna w Katowicach, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Katedra i Zakład Mikrobiologii - badania własne – kierownik projektu NN-2-149/05

14. „Wykorzystanie technik molekularnych do badań lekooporności prątków” – Śląska Akademia Medyczna w Katowicach, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Katedra i Zakład Mikrobiologii - badania statutowe - współwykonawca projektu NN-1-109/05
15. „Próba zastosowania genu *gyrB* do różnicowania szczepów w obrębie rodzaju *Mycobacterium*” Śląska Akademia Medyczna w Katowicach, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Katedra i Zakład Mikrobiologii - badania własne – kierownik projektu NN-5-099/04
16. „Ocena przydatności techniki PCR-SSCP do identyfikacji oporności *Mycobacterium* spp. na rifampicynę”, Śląska Akademia Medyczna w Katowicach, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Katedra i Zakład Mikrobiologii - badania statutowe – współwykonawca projektu NN-4-128/04
17. „Określanie lekooporności *Mycobacterium tuberculosis complex* na izoniazyd” - Śląska Akademia Medyczna w Katowicach, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Katedra i Zakład Mikrobiologii - badania statutowe – współwykonawca projektu NN-1-124/01
18. „Funkcjonalna analiza aktywności transkrypcyjnej genomu i poszukiwania genetycznych markerów żywotności szczepów *Mycobacterium tuberculosis* w warunkach hodowli oraz w materiale biologicznym pobranym od pacjentów chorych na gruźlicę” - współwykonawca projektu 6PO5A 138 21 (lata 2001-2003) – kierownik zadania prof. dr. hab. n. med. K. Oklek
19. „Ocena wrażliwości szczepów *Mycobacterium tuberculosis* na tuberkulostatyki” - Śląska Akademia Medyczna w Katowicach, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Katedra i Zakład Mikrobiologii - badania własne – kierownik projektu NN-5-056/00
20. „Określanie MBC wybranych związków disulfidowych na wybrane szczepy bakterii G(+) i G(-)” - Śląska Akademia Medyczna w Katowicach, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Katedra i Zakład Mikrobiologii - badania statutowe – kierownik projektu NN-1-047/99
21. „Wykorzystanie starterów opartych na genach *ureA* i *cagA* w identyfikacji *Helicobacter pylori* technika PCR ” - Śląska Akademia Medycyny w Katowicach, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej w Sosnowcu, Katedra i Zakład Mikrobiologii - badania własne – kierownik projektu NN-2-072/99
22. „Ocena wrażliwości na nowe związki sulfonamidowe wybranych szczepów drobnoustrojów” - Śląska Akademia Medyczna w Katowicach, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Katedra i Zakład Mikrobiologii - badania własne – kierownik projektu NN-2-071/99

23. „Wykrywanie fragmentu inercyjnego IS6110 *Mycobacterium tuberculosis complex* z zastosowaniem różnych par starterów techniką PCR” - Śląska Akademia Medycyny w Katowicach, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Katedra i Zakład Mikrobiologii - badania własne – kierownik projektu NN-061/97

6. Dorobek dydaktyczny i popularyzatorski oraz informacja o współpracy międzynarodowej habilitanta.

- **uczestnictwo w programach europejskich oraz innych programach międzynarodowych i krajowych:**

Od roku 2010 jestem koordynatorem badań w Sosnowieckim Szpitalu Miejskim Sp. z o.o. w ramach Narodowego Programu Ochrony Antybiotyków. Moja rola polega na prowadzeniu badań punktowych, analizie otrzymanych wyników, wprowadzaniu ich do systemu *Helics* i przesyłaniu do koordynatora krajowego. W roku 2010 brałem także udział w Spotkaniu Zespołów ds. Antybiotykoterapii Szpitali Pilotażowych w ramach Narodowego Programu Ochrony Antybiotyków (Warszawa, 4-6 listopada 2010 r.).

- **aktywny udział w międzynarodowych i krajowych konferencjach naukowych:**

Jestem współautorem 43 doniesień prezentowanych na krajowych oraz 5 prezentowanych na międzynarodowych konferencjach naukowych.

Mój aktywny udział obejmował:

- 8 Konferencja Naukowo-Szkoleniowa „Środowisko a stan jamy ustnej” Nałęczów, 21-22 maja 2014 r.
- 12 Kongres Stomatologów Polskich, Kraków 9-14 kwietnia 2014 r.
- XVIII Zjazd Polskiego Towarzystwa Diagnostyki Laboratoryjnej, Warszawa, 15-18 września 2013 r.
- VI Ogólnopolskie Sympozjum „Biofilm tworzony przez drobnoustroje w patogenezie zakażeń” Kudowa Zdrój, 6-8 czerwca 2013 r.
- 7 Konferencja Naukowo-Szkoleniowa „Środowisko jamy ustnej problemem interdyscyplinarnym” Nałęczów, 24-25 kwietnia 2013 r.
- XVI Sympozjum Naukowe „Postępy w Medycynie Zakażeń”, Warszawa, 30.11-1.12.2012 r.
- XV Sympozjum Naukowe „Postępy w Medycynie Zakażeń”, Warszawa, 9-10 grudnia 2011 r.
- Warsztaty Mikrobiologiczne „Wiosenna Szkoła Mikrobiologii Klinicznej”, Zakopane, 14-17 kwiecień 2011 r.

- XIV Sympozjum Naukowe „Postępy w Medycynie Zakażeń”, Warszawa, 3-4 grudnia 2010 r.
- X Jubileuszowa Konferencja Naukowo-Szkoleniowa Stowarzyszenia Higieny Lecznictwa, Stare Jabłonki, 3-6 października 2010 r.
- 17 Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Diagnostyki Laboratoryjnej, Wisła, 14-17 września 2010 r.
- III Konferencja Naukowo-Szkoleniowa „Aktualne problemy mikrobiologiczne w praktyce klinicznej; czynniki ryzyka i strategie bakterii jako przyczyny niepowodzeń antybiotykoterapii w chirurgii”, Kazimierz Dolny, 28-29 maja 2010 r.
- 2 Konwersatorium Chemii Medycznej, Lublin, 8-10 września 2009 r.
- II Międzynarodowa konferencja Naukowo-Szkoleniowa „Aktualne problemy mikrobiologiczne w praktyce klinicznej; czynniki ryzyka zakażeń i strategie bakterii w chirurgii i ortopedii”, Kazimierz Dolny, 28-30 maja 2009 r.
- 12 Sympozjum Naukowe "Postępy w Medycynie Zakażeń", Warszawa, 18-19 listopada 2008 r. Narodowy Instytut Leków, Komitet Mikrobiologii PAN, Polskie Towarzystwo Mikrobiologów.
- XXVI Zjazd Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów „Drobnoustroje – wyzwania i nadzieje”, Szczecin, 4-7 listopad 2008 r.
- I Ogólnopolska Konferencja Naukowo-Szkoleniowa „Aktualne problemy mikrobiologiczne w praktyce klinicznej”, Kazimierz Dolny, 23-24 maja 2008 r.
- XX Naukowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego, Katowice, 25-28.09.2007 r.
- XLIV Naukowa Konferencja Pszczelarska. Puławy, 24-25 września 2007 r.
- 2 Międzynarodowe Sympozjum Naukowe “Środowiskowe źródła zagrożeń zdrowotnych”, Kazimierz Dolny, 26-28 kwiecień 2007 r.
- Naukovii Simpozium -, „Aktualni problemi ftizjatri i pulmonology”, Ternopil (Ukraina), 20-21.09.2005 r.
- XXVII Zjazd Towarzystwa Ftyzjopneumonologicznego, Łódź, 22-24 sierpnia 2004 r.
- 34th World Conference on Lung Health of the International Union Against Tuberculosis and Lung Disease (IUATLD). Paris, France, 29.10-2.11.2003 r.
- 11th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Istanbul Turkey 1-4.04.2001 r.
- 4 Congress of the Polish Society of Microbiologists, Białystok, 12-15 września 2000 r.
- Sympozjum “Extragastroduodenal manifestations of *H. pylori* infection,” Kraków, 29 – 30 sierpnia 1999 r.
- 2nd European Symposium on Antimicrobial Agents, Hradec Kralowe, Czech Republic 1-4 July 1998 r.

- XVII Naukowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego, Kraków, 10-13 września 1998 r.

- **udział w komitetach organizacyjnych międzynarodowych i krajowych konferencji naukowych:**

Dwukrotnie brałem udział w organizacji zjazdów naukowych: w XVII Zjeździe Naukowym Polskiego Towarzystwa Diagnostyki Laboratoryjnej (Wisła, 14-17.09.2010r.) pełniłem funkcję sekretarza Komitetu Naukowego; w XX Naukowym Zjeździe Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego „Farmacja XXI wieku – wyzwania i nadzieje”, (Katowice, 25-28.09.2007r.) pełniłem funkcję sekretarza Komitetu Organizacyjnego.

- **otrzymane nagrody i wyróżnienia :**

- Nagroda zespołowa I stopnia Rektora Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach za osiągnięcia dydaktyczno-wychowawcze w roku akademickim 1995/1996
- Nagroda zespołowa I stopnia Rektora Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach za osiągnięcia dydaktyczno-wychowawcze w roku akademickim 1999/2000
- Nagroda zespołowa II stopnia Rektora Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach w zakresie działalności organizacyjnej w roku akademickim 2005/2006
- Nagroda zespołowa I stopnia Rektora Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach w zakresie działalności organizacyjnej w roku akademickim 2006/2007
- Nagroda zespołowa I stopnia Rektora Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach w zakresie działalności organizacyjnej w roku akademickim 2007/2008
- Nagroda zespołowa I stopnia Rektora Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach w zakresie działalności organizacyjnej w roku akademickim 2008/2009
- Nagroda zespołowa I stopnia Rektora Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach w zakresie działalności organizacyjnej w roku akademickim 2009/2010
- odznaka „zasłużony dla Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach”, 2013 r.
- Nagroda zespołowa II Stopnia Rektora Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach za osiągnięcie naukowe pt: „Badania działania przeciwgronkowcowego etanolowego ekstraktu propolisu oraz oceny jego synergizmu z chemioterapeutykami stosowanymi w leczeniu zakażeń gronkowcowych w badaniach *in vitro*”, 2014 r.

- **udział w komitetach redakcyjnych i radach naukowych czasopism:**

W latach 2007-2011 byłem sekretarzem Konsultacyjnej Rady Naukowej Farmaceutycznego Przeglądu Naukowego (ISSN 1425-5073).

- **członkostwo w międzynarodowych lub krajowych organizacjach i towarzystwach naukowych:**

Jestem członkiem:

- Polskiego Towarzystwa Mikrobiologicznego,
- Polskiego Towarzystwa Diagnostyki Laboratoryjnej,
- Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego,
- Stowarzyszenia Higieny Lecznictwa
- Stowarzyszenia Kolegium Medycyny Laboratoryjnej.

- **wynalazki oraz wzory użytkowe i przemysłowe:**

Jestem współautorem jednego zarejestrowanego wzoru użytkowego.

Autorzy: Dziejic A, **Wojtyczka RD**, Kubina R, Wiench R, Morawiec T.

Świadectwo Rejestracji Zarejestrowanego Wzoru Wspólnotowego (*Certificate of Registration for the Registered Community Design*). Narzędzia medyczne, przyrządy i narzędzia laboratoryjne (*Medical Instruments, Instruments and tools for laboratory use*). Numer rejestracji 002523969-0001 z dnia 23.08.2014r. Opublikowane dn. 08.10.2014r. przez urząd Harmonizacji Rynku Wewnętrznego Znaki Towarowe i Wzory (*OHIM – Office for Harmonization In the Internal Market Trade and Designs*) w rejestrze wzorów Wspólnotowych (*Register of Community Designs*).

- **osiągnięcia dydaktyczne i w zakresie popularyzacji nauki lub sztuki:**

Moja działalność dydaktyczna jest związana z pracą w Katedrze i Zakładzie Mikrobiologii i Wirusologii Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach, w ramach której prowadzę ćwiczenia i seminaria z mikrobiologii dla studentów III roku analityki medycznej, II roku biotechnologii oraz II i IV roku farmacji, a także ćwiczenia i seminaria z mikrobiologii klinicznej dla studentów IV roku analityki medycznej oraz dla II roku studiów II^o na kierunku biotechnologia. Prowadziłem także zajęcia

fakultatywnie z mikrobiologii molekularnej oraz mikrobiologii środowiska dla kierunku analityka medyczna oraz z surowic i szczepionek dla studentów II roku kierunku farmacja.

Od 2009 jestem kierownikiem i wykładowcą na kursach specjalistycznych z zakresu biologii molekularnej dla diagnostów laboratoryjnych specjalizujących się z zakresu diagnostyki klinicznej i mikrobiologii medycznej, Prowadziłem także wykłady z zakresu strategii higieny szpitalnej dla farmaceutów w ramach szkoleń ciągłych.

Byłem promotorem 4 prac magisterskich:

- mgr Tomasz Mularz, „Ocena częstości występowania genu *AtlE* wśród szczepów gronkowców koagulazoujemnych tworzących i nietworzących biofilmu” – 2014 r.
- mgr Olga Grzybowska „Analiza genotypowa gronkowców koagulazoujemnych produkujących biofilm z wykorzystaniem genów operonu *ica*” – 2013 r.
- mgr Kamila Orlewska „Ocena częstotliwości występowania biofilmu wśród szczepów *Staphylococcus spp.* izolowanych ze środowiska szpitalnego” – 2012 r.
- mgr Paweł Wieczorek „Analiza profilu gatunkowego szczepów *Staphylococcus spp.* izolowanych ze środowiska szpitalnego” – 2011 r.

Moja działalność w popularyzacji nauki wiąże się z wieloletnią pracą w charakterze recenzenta i jurora w organizowanym przez Pałac Młodzieży w Katowicach konkursie „chemia i ekologia”.

Prowadziłem także wykłady popularno-naukowe w ramach I, II i III Chorzowskich Dni Nauki.

- **opieka naukowa nad studentami i lekarzami w toku specjalizacji:**

Od roku 2009 jestem opiekunem Koła Studenckiego Towarzystwa Naukowego przy Katedrze i Zakładzie Mikrobiologii i Wirusologii Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu, Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach. W ramach pracy koła prowadziłem konsultacje naukowo-statystyczne dla studentów przygotowujących prace na konferencje naukowe w ramach STN (11 prac). Prace te wielokrotnie były nagradzane.

- **staże w zagranicznych i krajowych ośrodkach naukowych lub akademickich:**

W roku 2011 odbyłem dwutygodniowy staż naukowy w Zakładzie Mikrobiologii Klinicznej Narodowego Instytutu Leków w Warszawie, w trakcie którego zapoznawałem się z nowoczesnymi technikami badań molekularnych stosowanych w diagnostyce zakażeń gronkowcowych.

- **recenzowanie publikacji w czasopismach międzynarodowych i krajowych:**

Recenzowałem prace w następujących czasopismach:

Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials, Journal of Advances in Biology & Biotechnology, Food Research International, Metabolic Brain Disease, British Journal of Pharmaceutical Research, Research Opinions in Animal and Veterinary Sciences.

- **inne osiągnięcia niewymienione wyżej:**

W trakcie pracy zawodowej uczestniczyłem w wielu kursach i szkoleniach m in.:

- *Szkolenie z zakresu półautomatycznego systemu do identyfikacji i oznaczania lekooporności.* Micronaut Merlin. BIOMEDICA, 29.10. 2010 r., Sosnowiec
- *Podstawowe metody inżynierii genetycznej.* - Katedra i Zakład Mikrobiologii Politechniki Gdańskiej, DNA Gdańsk, A&A Biotechnology Gdańsk.: 18-20.06.1997 r., Gdańsk
- *Metody badania ekspresji genów: RT-PCR i hybrydyzacja Northern – blot.* Studium Kształcenia Podyplomowego CM UJ i Zakład Biochemii Klinicznej Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie: 18-19.01.1996 r., Kraków
- *Metody biologii molekularnej w diagnostyce i terapii.* Studium Kształcenia Podyplomowego CM UJ i Zakład Biochemii Klinicznej Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie: 11-12.01.1996 r., Kraków
- *Zastosowanie techniki PCR do badań epidemiologicznych.* A&A Biotechnology, Katedra i Zakład Mikrobiologii Politechniki Gdańskiej: 21.06-23.06.95 r., Gdańsk
- *Diagnostyka bakteriologiczna metodą PCR.* A&A Biotechnology, Katedra i Zakład Mikrobiologii Politechniki Gdańskiej: 5.10-7.10.94 r., Gdańsk
- *Klonowanie DNA i inne techniki rekombinacyjne.* A&A Biotechnology, Katedra i Zakład Mikrobiologii Politechniki Gdańskiej: 7.05-9.05.94 r., Gdańsk

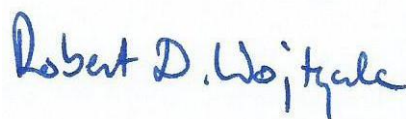
Moja działalność organizacyjna w Uczelni wiąże się ściśle z pracami w organach kolegialnych i komisjach Uczelni. Od 1994 roku jestem członkiem Rady Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu, a od 2008 roku także członkiem Senatu Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach (kadencje 2008- 2012, 2012-2016).

W latach 2004-2006 byłem sekretarzem Wydziałowej Komisji Rekrutacyjnej Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu. Obecnie pełnię funkcję sekretarza Uczelnianej Komisji Wyborczej Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach (kadencje 2008-2012, 2012-2016)

Ukończyłem kurs nauczyciela przedmiotów zawodowych zorganizowany przez Wojewódzki Ośrodek Metodyczny w Katowicach. Uzyskałem uprawnienia egzaminatora w zawodzie technik analityk nadane przez Okręgową Komisję Egzaminacyjną w Jaworznie.

Posiadam uprawnienia zawodowe diagnosty laboratoryjnego wydane przez Krajową Radę Diagnostów Laboratoryjnych (nr PWZDL 06515). Jestem sędzią Sądu Dyscyplinarnego przy Krajowej Izbie Diagnostów Laboratoryjnych na kadencję 2014- 2017.

Swoje doświadczenie naukowe i dydaktyczne poszerzam o aspekt praktyczny łącząc pracę w Uczelni z pracą w charakterze mikrobiologa w Zespole Kontroli Zakażeń Szpitalnych Sosnowieckiego Szpitala Miejskiego Sp. z o.o.

A handwritten signature in blue ink that reads "Robert D. Wojtyła". The signature is written in a cursive style and is centered on the page.