

**AUTOREFERAT**  
**dotyczący osiągnięć w pracy naukowo – badawczej,**  
**organizacyjnej i dydaktycznej**

**1. Imię i nazwisko:**

Anna Gotkowska-Płachta

**2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/ artystyczne – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.**

**1994** tytułu zawodowy magistra inżyniera ochrony wód, uzyskany na Wydziale Ochrony Wód i Rybactwa Śródlądowego Akademii Rolniczo – Technicznej w Olsztynie, tytuł pracy magisterskiej: „Ocena możliwości oczyszczania ścieków z Mazurskich Zakładów Przemysłu Sklejek w Morągu wspólnie ze ściekami komunalnymi”, promotor: prof. dr hab. inż. Ewa Klimiuk,

**1995** świadectwo ukończenia dwusemestralnych studiów doskonalenia pedagogicznego dla nauczycieli akademickich. Instytut Oświaty Rolniczej, Akademia Rolniczo-Techniczna im. M. Oczapowskiego w Olsztynie,

**2003** stopień doktora nauk biologicznych w dyscyplinie biologia uzyskany na Wydziale Biologii (obecnie Wydział Biologii i Biotechnologii) Uniwersytetu Warmińsko – Mazurskiego w Olsztynie, tytuł pracy doktorskiej: „Studium mikrobiologiczne wód jeziora Hańcza”, promotor prof. dr hab. Stanisław Niewolak.

**3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/ artystycznych.**

**1995 (01.01–30.09)** – zatrudnienie na stanowisku technika w Zakładzie Mikrobiologii Sanitarnej, Wydziału Ochrony Wód i Rybactwa Śródlądowego ART w Olsztynie,

**1995 – 2004** – zatrudnienie na stanowisku asystenta w Zakładzie Mikrobiologii Sanitarnej, Wydziału Ochrony Wód i Rybactwa Śródlądowego ART w Olsztynie przekształconego w Katedrę Mikrobiologii Środowiskowej.

**2004** – zatrudnienie na stanowisku adiunkta w Katedrze Mikrobiologii Środowiskowej, Wydziału Nauk o Środowisku, UWM w Olsztynie.

**Urlop zdrowotny**

01.03.2017 r. – 28.02.2018 r.

**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. 2017 r. poz. 1789):**

a) tytuł osiągnięcia naukowego/artystycznego,

**„ŹRÓDŁA ZANIECZYSZCZEŃ MIKROBIOLOGICZNYCH WÓD  
RZEKI ŁYNY”**

b) Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego  
(autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa, recenzenci wydawniczy),

**Anna Gotkowska-Płachta, Źródła zanieczyszczeń mikrobiologicznych wód rzeki Łyny, Monografia nr, 161, Wydawnictwo Komitetu Inżynierii Środowiska PAN, Warszawa 2019, ISBN: 978-8363714-56-7. Załącznik nr 7**

Recenzentami wydawniczymi monografii byli: prof. dr hab. inż. Hanna Obarska-Pempkowiak (Politechnika Gdańska) oraz prof. dr hab. inż. Joanna Surmacz-Górska (Politechnika Śląska).

*Publikacja samodzielna, udział 100%*

c) omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.

## **Wprowadzenie**

Głównym obiektem moich badań była rzeka Łyna płynąca na obszarze północno-wschodniej Polski. Rzeka ta płynie: przez obszary zalesione objęte ochroną rezerwatową („Źródła Rzeki Łyny” i Las Warmiński – obszar Natura 2000), tereny użytkowane rolniczo i zurbanizowane. Rozpoznanie największych źródeł zanieczyszczeń mikrobiologicznych oraz ich zmian ilościowych i jakościowych wzdłuż kontinuum rzeki jest szczególnie ważne ze względu na fakt, że pełni ona istotne funkcje gospodarcze, turystyczne i ekologiczne dla całego regionu Warmii i Mazur.

Zanieczyszczenie wód powierzchniowych to problem, z którym boryka się wiele krajów zarówno w Europie jak i na świecie. Na szczególną uwagę w tym względzie zasługują rzeki, które są ważnym źródłem wody wykorzystywanej do celów gospodarczych i rekreacyjnych. Ekosystemy te przepływając przez rozległe obszary o różnym sposobie użytkowania zlewni

podlegają wpływowi wielu czynników środowiskowych i antropogenicznych. Potencjalne zagrożenie dla ich jakości i bezpieczeństwa epidemiologicznego mogą stanowić spływy powierzchniowe z terenów użytkowanych rolniczo oraz wody i ścieki z obszarów zurbanizowanych (Bojarczuk i in. 2018, Glińska-Lewczuk i in. 2016, Gotkowska-Płachta i in. 2016, Kacar 2011). Wraz z ich dopływem do wód przedostają się różne związki organiczne i chemiczne. Wprowadzana jest też duża pula bakterii pochodzenia kałowego, w tym antybiotykoopornych (ARB z ang. - antibiotic resistant bacteria) i różnych genów oporności na antybiotyki (ARGs z ang. - antibiotic resistance genes) (Korzeniewska i Harnisz 2018, Lekunberri i in. 2017, Niestępski i in. 2019, Osińska i in. 2017, Ziemińska-Buczyńska i in. 2015). Mikrobiologiczne zanieczyszczenia przemieszczają się wzdłuż kontinuum rzeczno-gdzie może zachodzić horyzontalny transfer genów oporności do zasiedlających to środowisko bakterii natywnych. Wody wówczas stają się potencjalnym rezerwuarem ARB i ARGs i stanowią poważne zagrożenie dla zdrowia użytkowników korzystających z tych ekosystemów.

Przedostające się zanieczyszczenia do wód płynących wpływają na stan troficzny, jakość mikrobiologiczną i bezpieczeństwo epidemiologiczne ekosystemów lotycznych (Bojarczuk i in. 2018, Lenart-Boroń i in. 2016, Gotkowska-Płachta i in. 2016, Glińska-Lewczuk i in. 2016, Wilkes i in. 2011). Dlatego identyfikacja rodzaju i głównych źródeł zanieczyszczeń mikrobiologicznych i fizyko-chemicznych w wodach powierzchniowych w perspektywie wzrastającej presji człowieka na środowisko, powinna być priorytetowym zadaniem w badaniach środowiskowych.

Odpowiednio zaplanowany program badań pod względem rodzaju oznaczanych parametrów, metod oznaczeń, liczby i zagęszczenia punktów badawczych oraz częstości poboru próbek do badań pozwala na uzyskanie rzetelnych i wiarygodnych wyników. Na ich podstawie można podjąć odpowiednie działania prewencyjne w celu zniwelowania skutków zanieczyszczenia i ochrony monitorowanego ekosystemu.

Do oceny jakości wody w aspekcie ewentualnego zagrożenia sanitarno-epidemiologicznego używane są tzw. wskaźniki sanitarne FIB (z ang. fecal indicator bacteria), do których należą *Escherichia coli* i *Enterococcus faecalis*. Pośrednio służą one do oceny ryzyka związanego z występowaniem innych bakterii chorobotwórczych czy patogennych (*Shigella* spp, *Salmonella* spp, *Campylobacter* spp., *Vibrio* spp., *Yersinia* spp i inne) a tym samym przenoszenia chorób drogą wodną w wyniku kontaktu ze skażonym środowiskiem (Boehm i Soller 2011, Cabral 2010, Islam i in. 2017, Olapade i Weage 2010, WHO 2006, Wilkes i in. 2009). Należy podkreślić, że chociaż nie wszystkie bakterie należące do FIB są chorobotwórcze to wzrost ich liczebności koreluje z obniżeniem jakości wody i wskazuje na

jej zanieczyszczenie kałowe pochodzące od ludzi i/lub zwierząt. Dlatego też oznaczanie tych drobnoustrojów powinno stanowić pierwszy i podstawowy krok do pełnej oceny danego ekosystemu w aspekcie zmian zanieczyszczeń mikrobiologicznych i ich potencjalnych źródeł.

W ostatnich latach coraz większe zainteresowanie skierowane jest na możliwość występowania i rozprzestrzeniania się w środowiskach naturalnych, bakterii wielolekoopornych określanych jako patogeny szpitalne. Wśród nich na szczególną uwagę zasługują enterokoki, które przez lata uważano za nieszkodliwe dla ludzi i nieważne z medycznego punktu widzenia. Natomiast w dobie narastającej antybiotykooporności zarówno w Europie jak i na świecie obserwuje się szybkie rozprzestrzenianie patogennych gatunków tych bakterii zarówno w środowisku szpitalnym jak i poza nim. Pojawienie się szczepów chorobotwórczych tych drobnoustrojów poza placówkami medycznymi możliwe jest ze względu na wyjątkowo plastyczny genom tych bakterii. Enterokoki poprzez łatwą wymianę genów umiejscowionych na mobilnych elementach genetycznych (transpozony, plazmidy) łatwo nabywają, kumulują ale też przekazują innym bakteriom oporność na środki przeciwdrobnoustrojowe.

Szczególnie niebezpieczne pod tym względem są gatunki *Enterococcus faecalis* i *E. faecium* odporne na wankomycynę i określane jako VRE (z ang. vancomycin resistant enterococci). Raporty na ten temat są szczegółowo przedstawione w biuletynach Narodowego Programu Ochrony Antybiotyków (NPOA) i w Europejskim Centrum ds. Zapobiegania i Kontroli Chorób (ECDC, ang. European Centre for Disease Control and Prevention).

Jak dotąd niewiele badań skupia się na określeniu głównych antropogenicznych i środowiskowych źródeł wielolekoopornych i wirulentnych enterokoków (szczególnie VRE) w wodach rzek. Przeważnie badania tego typu dotyczą identyfikacji szczepów szpitalnych lub skupiają się na pewnym wycinku środowiska np. są prowadzone w strefie zrzutu ścieków oczyszczonych do odbiornika. Uwzględnienie w badaniach obszarów praktycznie bez wpływu działalności ludzkiej oraz poddanych antropopresji pozwala szerzej spojrzeć na problem związany z rozprzestrzenianiem się i źródłami zanieczyszczeń bakteriologicznych.

### **Cel i zakres badań**

Celem naukowym mojej pracy było określenie wpływu źródeł środowiskowych i antropogenicznych na mikrobiologiczną jakość wód rzeki Łyny będącej najdłuższą rzeką regionu Warmii i Mazur. Szczególną uwagę zwróciłam na występowanie i rozpowszechnienie lekoopornych i wirulentnych szczepów enterokoków oraz genów oporności na antybiotyki glikopeptydowe w tym ekosystemie. Powyższe zagadnienie jest wciąż niedostatecznie poznane a opisane badania nie były dotychczas prowadzone w zaproponowanym przeze mnie zakresie.

W ramach pracy postawiłam następujące hipotezy badawcze, których wyjaśnienie stało się celem przeprowadzonych badań:

- 1) sposób użytkowania zlewni wpływa na kształtowanie ilościowe i jakościowe populacji drobnoustrojów w wodzie rzeki płynącej przez obszary leśne, rolne i zurbanizowane,
- 2) wskaźniki mikrobiologiczne są czułym bioindykatorem zanieczyszczeń wód rzeki Łyny płynącej przez obszary o różnym sposobie użytkowania zlewni,
- 3) ścieki szpitalne, nieoczyszczone i oczyszczone są głównym źródłem zanieczyszczeń mikrobiologicznych, a szczególnie antybiotykoopornych i wirulentnych enterokoków, przedostających się do wód płynących stanowiących ich odbiorniki.

Do zrealizowania głównego celu badań i zweryfikowania postawionych hipotez wyznaczyłam następujące szczegółowe cele badawcze:

- przeprowadzenie długoterminowej ilościowej i jakościowej, analizy mikrobiologicznej wód rzeki z uwzględnieniem potencjalnych źródeł zanieczyszczeń, sezonu badań i wpływu czynników fizyko-chemicznych;
- zastosowanie wskaźników sanitarnych (FIB) do porównania mikrobiologicznej jakości wód płynących przez tereny leśne, rolne i zurbanizowane;
- identyfikację i oznaczenie składu gatunkowego enterokoków oraz analizę ich profili antybiotykooporności i czynników wirulencji w wodach rzeki Łyny, a także w odprowadzanych do niej miejskich ściekach komunalnych;
- określenie ładunku zanieczyszczeń mikrobiologicznych wnoszonych do rzeki wraz z oczyszczonymi ściekami i porównanie rodzaju ścieków (nieoczyszczone, oczyszczone, szpitalne) w aspekcie ich zanieczyszczeń bakteriologicznych;
- określenie przeżywalności: *in situ* ogólnej liczby bakterii w wodzie rzeki Łyny w różnych sezonach badawczych oraz *ex situ* lekoopornego i wirulentnego *Enterococcus faecalis* w różnych warunkach temperaturowych i troficznych.

Analizy mikrobiologiczne i fizykochemiczne wód rzeki Łyny i ścieków komunalnych pobieranych z miejskiej oczyszczalni ścieków „Łyna” w Olsztynie prowadziłam w latach 2009-2015. Próbkę wody pobierane były na ponad 190 kilometrowym odcinku rzeki Łyny, płynącej przez północno-wschodnie tereny Polski, od źródeł do granicy z Rosją. Wytypowałam 15 stanowisk badawczych, które podzieliłam na trzy grupy (leśne, rolne i zurbanizowane) zgodnie z dominującym charakterem użytkowania obszaru zlewni, przez który przepływa rzeka. Próbkę wody pobierano w nurcie rzeki, od zimy 2011 do jesieni 2012 roku dwukrotnie

w każdym z 4 sezonów badawczych (zima, wiosna, lato, jesień) oraz kontrolnie jesienią 2015 roku. W celu określenia jaki wpływ na jakość mikrobiologiczną wód rzeki Łyny mają punktowe zrzuty zanieczyszczeń, równoległe badałam ścieki nieoczyszczone (SN) i oczyszczone (SO) odprowadzane do rzeki Łyny z oczyszczalni ścieków „Łyna” w Olsztynie. Analizowałam również próbki nieoczyszczonych ścieków szpitalnych (SSZ) wytwarzane przez trzy szpitale, zlokalizowane na terenie miasta Olsztyna i odprowadzane do oczyszczalni „Łyna”. Próbkę ścieków szpitalnych pobierane były siedmiokrotnie od wiosny 2009 do wiosny 2010 roku w przeciągu 12 miesięcy w odstępach 8 - tygodniowych.

Wstępne wyniki części przeprowadzonych badań (opisanych w rozprawie) prezentowana była na konferencji naukowej (III.B. 40) oraz część wyników głównie fizyko-chemicznych została wykorzystana w pracach (II.A.4, II.A.5).

Some part of the research described above was presented at science conferences (III.B. 40) and some results, mainly physicochemical data, were contained in papers (II.A.4, II.A.5).

W celu uzyskania rzetelnych wyników w czasie zbliżonym do rzeczywistego do oznaczeń mikrobiologicznych zastosowałam zarówno metody klasyczne jak i molekularne. W badaniach molekularnych wykorzystałam mikroskopię fluorescencyjną *in situ* (FISH), barwienie materiału biologicznego metodą DAPI (4',6-diamidyno-2-fenylindol), barwienie fluorescencyjne LIVE/DEAD BacLight™ jak również amplifikację metodą łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR).

Metody klasyczne uwzględniłam w ocenie jakości sanitarnej wód rzeki Łyny na podstawie analizy wskaźników mikrobiologicznego zanieczyszczenia związkami organicznymi (bakterie psychrofilne A<sub>22</sub>, bakterie mezofilne A<sub>37</sub>) oraz stanu sanitarnego (bakterie z grupy coli -TC, bakterie coli typu fekalnego (*Escherichia coli*) - FC, paciorkowce kałowe (enterokoki) - E), określanymi jako FIB (z ang. fecal indicator bacteria).

**Szczególne uwagę zwróciłam na enterokoki, które z jednej strony są bioindykatorami zanieczyszczeń fekalnych w ekosystemach wodnych (*Enterococcus faecalis* i *Enterococcus faecium*) a z drugiej, w związku z ich narastającą wielolekoopornością i wirulencją, mogą stanowić poważne zagrożenie epidemiologiczne.** W związku z tym w pierwszym etapie moich badań określiłam jakość sanitarną wód rzeki na podstawie FIB oraz oznaczyłam liczebność występujących w niej opornych na niskie stężenia wankomycyny (zawartość antybiotyku w podłożu 6 mg·l<sup>-1</sup>) enterokoków - E<sub>VAN</sub>. Oznaczenia tego typu są rzadko prowadzone w środowisku przyrodniczym. Liczebność bakterii opornych na wankomycynę jest przeważnie niedoszacowana, ponieważ drobnoustroje te często nie wyrastają na klasycznych podłożach bez dodatku antybiotyku. Nie zmienia to jednak faktu, że enterokoki zależne

od wankomycyny (VDE vancomycin - dependent enterococci) mogą być obecne w ekosystemie. Zagrożenia związane z obecnością tych bakterii wynikają z ich zdolności do uniezależnienia się od wankomycyny i przekształcenia w formę oporną (VRE vancomycin-resistant enterococci), co stwarza realne zagrożenie epidemiologiczne dla ekosystemu wodnego i jego użytkowników.

W swoich badaniach wzięłam pod uwagę, iż klasyczne metody hodowlane pozwalają na identyfikację jedynie (0,3% w glebie i <0,1% w wodzie) niewielkiego udziału bakterii żyjących w środowisku (Amann i in. 1995, Janssen 2006; Rogers i in. 2007). Ponadto na ich podstawie nie można określić bakterii VBNC (ang. viable but not culturable), żywych ale niewyrastających na standardowych podłożach mikrobiologicznych. Może to prowadzić do niedoszacowania liczby bakterii oznaczanych w danym biotopie a tym samym błędnej interpretacji wyników.

W związku z tym ocenę liczebności i bioróżnorodności enterokoków w wodzie rzeki Łyny przeprowadziłam wykorzystując oznaczenia bezpośrednie polegające na technice fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* (FISH). Użycie znakowanych sond oligonukleotydowych komplementarnych do określonej sekwencji DNA w badanym materiale i mikroskopii fluorescencyjnej pozwoliły otrzymać wiarygodne wyniki w czasie zbliżonym do rzeczywistego. W wodzie rzeki Łyny zidentyfikowałam bakterie *Lactobacillus/Enterococcus*; z rodziny *Enterococaceae*; z rodzaju *Enterococcus*, oraz gatunki *Enterococcus faecium*, *E. faecalis* i *E. gallinarum* przy użyciu sond oligonukleotydowych LAB158, ENC38i, ENC176, ENU140, ENF191 i EGAC183. Równolegle oznaczałam również bakterie zaliczane do *Eubacteria* (sonda EUB338), oraz ogólną liczbę bakterii (OLB) za pomocą barwienia DAPI. W celu określenia stanu fizjologicznego OLB zastosowałam natomiast metodę barwienia fluorescencyjnego LIVE/DEAD BacLight™ (BacLight™ Bacterial Viability Kit, Molecular Probes).

**Wyniki liczebności bakterii oznaczanych metodami fluorescencyjnymi były przeważnie kilka razy większe niż przy użyciu metod hodowlanych.** Liczba oznaczanych drobnoustrojów FIB w wodzie rzeki Łyny kształtowała się przeważnie w zakresie od kilkunastu  $\text{jtk}\cdot\text{ml}^{-1}$  do kilku tysięcy  $\text{jtk}\cdot\text{ml}^{-1}$ . Natomiast liczebności enterokoków oznaczanych przy użyciu sond oligonukleotydowych wynosiły średnio od  $10^2$  do  $10^5$   $\text{kom}\cdot\text{ml}^{-1}$ . Oznacza to, że w rzece znajduje się duża pula bakterii pochodzenia kałowego *E. faecalis* i *E. faecium* (ENF191, ENU140), które są niehodowlane. Drobnoustroje jelitowe przedostające się do wód z kałem są szczególnie narażone na zmianę warunków bytowania i wpływ różnych czynników środowiskowych (jak, m.in. temperatura, pH, tlen, dostępność składników pokarmowych czy światło). W wyniku zmiany środowiska mogą one przestać się dzielić i namnażać lub



utracić zdolności wzrostu na podłożu hodowlanym. Ponadto patogenne lub oportunistyczne szczepy tych bakterii poddane warunkom stresogennym wykazują często większą wirulencję, co stanowi poważny problem zdrowotny (Rowan 2004).

**W wodzie rzeki Łyny obserwowałam zróżnicowanie przestrzenne i czasowe wszystkich grup bakterii (oznaczanych zarówno metodami klasycznymi jak i molekularnymi), wynikające z lokalizacji stanowisk badawczych i sezonów poboru próbek wody oraz wpływu czynników środowiskowych i działalności antropogenicznej.** Analiza wariancji ANOVA potwierdziła, że różnice pomiędzy oznaczanymi liczebnościami grup bakterii w zależności od czasu i miejsca poboru próbek badanej wody były istotne statystycznie ( $p < 0,05$ ).

**Stwierdziłam że zanieczyszczenie mikrobiologiczne badanej rzeki zmieniało się w zależności od sposobu użytkowania zlewni przez, którą przepływała rzeka.** Wody Łyny na obszarach leśnych z ograniczonym wpływem antropopresji charakteryzowały się najmniejszymi liczebnościami oznaczanych bakterii. Średnia liczebność bioindykatorów stanu sanitarnego w wodzie z obszarów zalesionych (TC, FC, E), kształtowała się na poziomie 0,21 - 1,79 log jtk·ml<sup>-1</sup> natomiast enterokoków oznaczanych metodami fluorescencyjnymi od 2,78 log kom·ml<sup>-1</sup> (EGAC 183) do 5,65 log kom·ml<sup>-1</sup> (LAB158). W rzece przepływającej przez obszary użytkowane rolniczo i zurbanizowane liczba oznaczanych bakterii wzrastała kilkukrotnie w zależności od sezonu i miejsca poboru próbek do badań oraz rodzaju oznaczanych drobnoustrojów.

**Najwyższe średnie wartości oznaczanych mikroorganizmów stwierdziłam w próbkach wody pobieranych ze stanowisk zlokalizowanych na terenie i za aglomeracjami miejskimi.** Jedynie gatunki *Enterococcus faecalis* (ENF191) i *Enterococcus gallinarum* (EGAC183) liczniej występowały w wodzie płynącej przez tereny użytkowane rolniczo (stanowiska 14R i 15R). Oba oznaczone gatunki w dużych ilościach występują w przewodach pokarmowych bydła (*E. faecalis*) oraz ptactwa domowego i dzikiego (*E. gallinarum*). Stąd też może wynikać zwiększona ich liczebność w próbkach wody płynącej przez liczne łąki, pastwiska i pola uprawne, z których wraz ze spływami powierzchniowymi zwierzęce zanieczyszczenia przedostają się do Łyny.

**W sezonach badawczych przeważnie większe liczebności oznaczanych bakterii występowały wiosną i latem, natomiast najmniejsze zimą.** Jedynie liczebności enterokoków (E) i enterokoków opornych na niskie stężenia wankomycyny (E<sub>VAN</sub>) (przeważnie w wodzie na stanowiskach występujących na obszarze zurbanizowanym), były większe odpowiednio zimą i jesienią.

**Rosnące liczby oznaczanych drobnoustrojów, od źródeł rzeki, przez tereny użytkowane rolniczo do zurbanizowanych, pokazują wpływ różnych czynników związanych z oddziaływaniem punktowych (gospodarka ściekowa) i obszarowych (spływy z obszarów użytkowanych rolniczo) zanieczyszczeń przedostających się do tego ekosystemu głównie na skutek działalności antropogenicznej.**

W celu potwierdzenia, czy wzrost liczebności oznaczanych drobnoustrojów był tożsamy z ich aktywnością metaboliczną zastosowano metodę barwienia fluorescencyjnego LIVE/DEAD BacLight™. **Żywotność a tym samym aktywność metaboliczna OLB w wodach rzeki Łyny na obszarach leśnych, rolnych i zurbanizowanych była podobna i wynosiła średnio około 60%.** Czynnikiem determinującym aktywność OLB w wodzie rzeki Łyny był sezon badań. Największy procent 77,6% bakterii żywych oznaczano wiosną w temperaturze zbliżonej do 12°C, najmniejszy zimą 35,9% kiedy średnia temperatura badanej wody wynosiła 8°C.

Eksperymentalnie *ex situ* określiłam możliwość przeżywalności izolowanego z wody wielolekoopornego i wirulentnego szczepu *E. faecalis* metodą klasyczną i z zastosowaniem testu LIVE/DEAD BacLight™. Uzyskane wyniki wskazują na znaczną pulę bakterii VBNC w badanych próbkach wody, i długi czas ich przeżywalności (około ośmiu miesięcy) uzależniony od temperatury i warunków przechowywania.

W celu obiektywnej oceny jakości wód rzeki Łyny wyniki badań mikrobiologicznych porównano z wartościami parametrów fizykochemicznych, oraz opracowano statystyczne. **Na podstawie przeprowadzonych analiz statystycznych (analiza głównych składowych PCA, korelacje Pearsona) stwierdzono statystycznie istotne dodatnie zależności ( $p < 0,05$  i  $p < 0,01$ ) między liczebnością większości oznaczanych grup bakterii a stężeniem związków węgla (TOC, DOC, POC), azotu ( $\text{NNO}_2$ ), fosforu ( $\text{PPO}_4$  oraz  $\text{P}_{\text{og}}$ ) oraz ChZT.** Tego typu zależności potwierdzają wrażliwość analizowanych drobnoustrojów na wszelkie zmiany zachodzące w środowisku, związane z rodzajem i dostępnością materii organicznej.

W celu określenia czy ścieki komunalne odprowadzane do Łyny z miejskiej oczyszczalni ścieków w Olsztynie mogą stanowić zagrożenie sanitarne dla tego zbiornika, analizowałam je na obecność FIB i antybiotykoopornych oraz wirulentnych szczepów enterokoków. **W ściekach nieoczyszczonych liczebności bakterii wskaźnikowych osiągały wartości przeważnie o kilka rzędów wielkości większe niż stwierdzane w wodzie rzeki Łyny.** W procesie oczyszczania ścieków komunalnych w miejskiej mechaniczno-biologicznej oczyszczalni ścieków „Łyna” w Olsztynie stopień usuwania oznaczanych drobnoustrojów był wysoki i wahał się od 97,0% (TC) do 99,6 % (E). Pomimo tego, w ściekach oczyszczonych

odprowadzanych do wód rzeki Łyny bakterie wskaźnikowe FIB nadal stanowiły znaczną pulę zanieczyszczeń mikrobiologicznych, Biorąc pod uwagę średniodobowy odpływ ścieków z oczyszczalni „Łyna” wynoszący około 32 tyś m<sup>3</sup> na dobę, liczby odprowadzanych FIB do rzeki w ciągu jednego dnia były rzędu 10<sup>12</sup>-10<sup>14</sup>.

Szczególną uwagę poświęciłam enterokokom, ze względu na potencjalne zagrożenie epidemiologiczne jakie stwarzają dla środowiska. **Przesłanką do rozszerzenia badań związanych z tą grupą drobnoustrojów były pierwsze wyniki analiz klasycznych, wskazujące na obecność w wodzie rzeki enterokoków opornych na niskie stężenia wankomycyny EVAN.** Podjęłam więc próbę identyfikacji gatunkowej, enterokoków izolowanych z wód rzeki Łyny i z odprowadzanych do niej ścieków, oraz określenia ich antybiotykooporności i czynników wirulencji.

Wśród ponad 1000 szczepów wyizolowanych (z wód rzeki Łyny i ścieków) i określonych jako potencjalne enterokoki, potwierdziłam przynależność gatunkową i rodzajową 452 szczepów. W wodzie rzeki Łyny (wśród 202 szczepów) oraz w ściekach (szpitalne, oczyszczone i nieoczyszczone) (wśród 250 szczepów) **zidentyfikowałam 7 różnych gatunków enterokoków: *Enterococcus faecalis*, *E. faecium*, *E. durans*, *E. avium*, *E. hirae*, *E. gallinarum*, *E. casseliflavus/flavescens*.** Najmniejszą liczebność (29 szczepów) i różnorodność gatunkową enterokoków (3 gatunki) stwierdziłam w wodzie płynącej przez tereny leśne. Z wody płynącej przez obszary użytkowane rolniczo wyizolowałam i zidentyfikowałam 6 gatunków spośród 49 izolowanych szczepów. Największą liczbę szczepów (124) i gatunków (7) stwierdziłam w wodzie rzeki pobieranej z terenów zurbanizowanych. W ściekach nieoczyszczonych natomiast zidentyfikowałam 5 (wśród 68 szczepów) a w oczyszczonych odprowadzanych do wód Łyny 6 (wśród 98 szczepów) gatunków. Największą różnorodność gatunków oznaczyłam w ściekach szpitalnych (7 gatunków wśród 84 szczepów). **W wodzie rzeki Łyny bez względu na miejsce poboru próbek wody dominował *E. faecalis*, natomiast w ściekach *E. faecium*.**

**W sezonach badawczych największe liczebności i różnorodność gatunkową oznaczanych enterokoków stwierdziłam wiosną i latem w rzece Łynie oraz wiosną i zimą w ściekach nieoczyszczonych i oczyszczonych, a jesienią w ściekach szpitalnych.** Nie stwierdzono jednak statystycznie istotnego wpływu sezonu ( $p > 0,05$ ) na liczebność większości oznaczanych gatunków enterokoków. Jedynie występowanie *E. gallinarum* było statystycznie istotnie skorelowane z porą roku zarówno w wodzie rzeki jak i w badanych ściekach. *E. gallinarum* to gatunek, który głównie występuje w przewodach pokarmowych ptaków (Dolka i in. 2017). Dlatego podczas ich migracji jesienią, kiedy łączą się w większe grupy, mogą przedostawać się wraz z ich odchodami do wód rzeki.

Przeanalizowałam również oporność wyizolowanych szczepów na 13 leków przeciwdrobnoustrojowych należących do 10 grup (penicyliny, karbapenemy, aminoglikozydy, glikopeptydy, streptograminy, glicylcykliny, oksazolidynony, tetracykliny, fluorochinolony, chemioterapeutyki). **139 szczepów (stanowiły one 68,8%) izolowanych z wody rzeki, zakwalifikowałam do wielolekoopornych - MDR (z ang. multidrug-resistance). 92,9% szczepów wyizolowanych ze ścieków oczyszczonych odprowadzanych do rzeki Łyny cechowało się wielolekoopornością. Obszary leśne z minimalnym wpływem antropopresji i rolne nie były wolne od szczepów MDR. Jednak było ich mniej i charakteryzowały się opornością na mniejszą liczbę antybiotyków niż enterokoki izolowane z wody pobieranej z obszarów zurbanizowanych.** Analizowane izolaty pochodzące z wody rzeki (bez względu na miejsce izolacji) były najczęściej odporne na trimetoprim (ponad 70,0% szczepów), streptomycynę i niskie stężenia wankomycyny (powyżej 40,0% izolatów). Największą wrażliwość (od 0 do około 10,0%) wykazywały natomiast na doksycyklinę i ampicylinę (0 – 4,0%). Dominującymi gatunkami, u których stwierdzono wielolekooporność były dwa gatunki *Enterococcus faecalis* i *E. faecium*. **Enterokoki izolowane ze ścieków szpitalnych, nieoczyszczonych i oczyszczonych, wykazywały podobne cechy oporności na antybiotyki jak enterokoki izolowane z wody rzeki. Może to wskazywać na rozprzestrzenianie się lekoopornych enterokoków wraz ze ściekami odprowadzanymi do Łyny wzdłuż kontinuum rzecznoego, na znaczne odległości.**

**Wśród *Enterococcus faecium* i *E. faecalis* stwierdzano obecność szczepów VRE opornych na wysokie stężenia wankomycyny (MIC od  $\geq 32$  do  $\geq 1024$  mg l<sup>-1</sup>).** Więcej tych szczepów izolowano z wody rzeki Łyny z obszarów użytkowanych rolniczo (od 6 do 1 zgodnie z rosnącym gradientem stężenia wankomycyny) dla *E. faecium* i z wody z obszarów zurbanizowanych (od 10 do 2 izolatów) dla *E. faecalis*. Wśród izolatów pozyskanych z wody płynącej przez obszary zalesione, oznaczany MIC wankomycyny nie przekraczał 32 mg·l<sup>-1</sup>. W badanych ściekach udział procentowy szczepów *E. faecalis* zaliczanych do VRE wahał się od 10,3% (ścieki oczyszczone) do 16,7% (ścieki nieoczyszczone). Natomiast udział *E. faecium* wahał się od 9,5% (ścieki nieoczyszczone) do 17,5% (ścieki oczyszczone).

Z roku na rok epidemiolodzy biją na alarm w związku z szybkim wzrostem liczebności i rozprzestrzenianiem się enterokoków wielolekoopornych i VRE w różnych środowiskach zarówno szpitalnych jak i naturalnych. Źródła pochodzenia tych bakterii mogą być różne i nadal nie są do końca wyjaśnione. **Wśród 202 szczepów enterokoków wyizolowanych z wody rzeki Łyny 91 (45,0%) posiadało geny *van B*, *van C1* i *van C2/C3*.** Jednak liczba izolatów opornych na niskie stężenia wankomycyny (6 mg·l<sup>-1</sup>) była większa i wynosiła 139

(68,8%), co wskazuje że 48 szczepów miało inne geny *van* niż uwzględnione w obecnym badaniu. **Geny *van B* najczęściej występowały wśród *E. faecium* i *E. faecalis*. Stanowiły one odpowiednio 43,5 i 38,7 % wszystkich izolowanych szczepów z rzeki Łyny płynącej przez obszary zurbanizowane.** W wodzie z terenów zurbanizowanych geny *van B* stwierdzano również u 1 szczepu *E. hirae* (100%), 1 szczepu *E. gallinarum* (11%) i 2 enterokoków określanych jako inne (4%). Geny te identyfikowano również u 4 szczepów *E. faecium* (44%) i 6 szczepów *E. faecalis* (50%) izolowanych z wody płynącej przez obszary rolnicze. Geny *van C1* oznaczano wśród *E. faecium*, *E. faecalis* i *E. gallinarum* izolowanych z próbek wody pochodzących z terenów leśnych, rolnych i zurbanizowanych. **Dominację genów *van C1* stwierdzono przede wszystkim u gatunków *E. gallinarum* izolowanych z rzeki Łyny z obszarów rolniczych ( szczepy - 100%) i zurbanizowanych (6 szczepów – 67%).** Geny *van C2/C3* stwierdzano głównie u szczepów *E. durans* i *E. casseliflavus* izolowanych z wody na obszarach rolnych i zurbanizowanych, gdzie stanowiły 100% wśród wyodrębnionych izolatów.

Poza wielolekoopornością enterokoki mogą posiadać różne czynniki wirulencji, które są powiązane z ludzkimi infekcjami i coraz częściej proliferują środowisko. **Wśród 202 wyizolowanych enterokoków z rzeki Łyny 107 (53,0%) miało różne czynniki wirulencji (*cyIA*, *hyl*, *ace*, *faA*, *as*, *gelE*, *as*, *esp*, *cob*, *cpd*, *ccf*).** Dużą zjadliwością charakteryzowały się też szczepy izolowane ze ścieków, spośród 250 aż 188 (75,2%) było zjadliwych. Najwięcej izolatów z wody i ścieków (bez względu na miejsce ich pochodzenia) posiadało adhezyne ściany komórkowej - *efaA*, oraz feromony płciowe - *cob*, *cpd* i *ccf*, biorące czynny udział w procesie wymiany materiału genetycznego, a tym samym indukowaniu wirulencji. Około 40,0% izolowanych szczepów z wody rzeki posiadało również hialuronidazę - *hyl*. Natomiast w ściekach dosyć licznie występowały szczepy posiadające cytolizynę - *cyIA* (30,0%) (ścieki szpitalne), białko wiążące kolagen *ace* (36,0%) (ścieki nieoczyszczone) i żelatynazę - *gelE* (36,0%) (ścieki oczyszczone). Wśród zidentyfikowanych gatunków większy procent szczepów posiadających geny wirulencji stwierdzano u *E. faecalis* (28,6 – 83,0%) niż u *E. faecium* (0 - 78,3%).

#### **Najważniejsze osiągnięcia i wnioski wynikające z przeprowadzonych badań:**

1. Sposób użytkowania zlewni jest jednym z głównych czynników wpływających na kształtowanie zmienności składu jakościowego i liczebności oznaczanych mikroorganizmów w wodzie rzeki. Najmniejsze liczebności oznaczanych bakterii stwierdzano w wodzie Łyny płynącej przez obszary leśne z ograniczonym wpływem antropopresji. W

- rzece przepływającej przez obszary użytkowane rolniczo i zurbanizowane liczba oznaczonych bakterii wzrastała kilkukrotnie w zależności od sezonu i miejsca poboru próbek do badań oraz rodzaju oznaczanych drobnoustrojów.
- Oznaczone wskaźniki mikrobiologiczne (FIB,  $E_{VAN}$ , bakterie oznaczane metodami fluorescencyjnymi) są czułym bioindykatorem zanieczyszczeń wód rzeki Łyny płynącej przez obszary o różnym sposobie użytkowania zlewni. Zależności między stopniem i rodzajem zanieczyszczenia mikrobiologicznego badanej rzeki, a sposobem użytkowania zlewni, sezonem badań i wpływem czynników fizyko-chemicznych mogą stanowić uniwersalny wskaźnik w ocenie jakości tych ekosystemów.
  - Wyniki liczebności bakterii uzyskane metodami fluorescencyjnymi były przeważnie kilka razy większe niż przy użyciu metod hodowlanych. Oznacza to, że w rzece może znajdować się duża pula bakterii pochodzenia kałowego *E. faecalis* i *E. faecium* (ENF191, ENU140), które są zaliczane do bakterii VBNC, żyjących ale nie wyrastających na klasycznych podłożach hodowlanych. Uwzględnienie tylko metod klasycznych do ich identyfikacji może prowadzić do niedoszacowania liczebności tych bakterii w danym biotopie, a tym samym błędnej interpretacji wyników, co jest szczególnie niebezpieczne w przypadku form wielolekoopornych i wirulentnych.
  - Stwierdzono wpływ sposobu użytkowania zlewni na liczebność szczepów posiadających geny wirulencji. W rzece płynącej przez obszary zalesione udział procentowy *E. faecium* i *E. faecalis* zawierających geny wirulencji zazwyczaj nie przekraczał 60,0%, natomiast w wodzie z obszarów rolniczych i zurbanizowanych często wynosił około 90,0%.
  - Stwierdzone w wodach Łyny wirulentne i wielolekooporne szczepy enterokoków (w tym szczepy odporne na wankomycynę VRE) stanowią zagrożenie epidemiologiczne dla środowiska przyrodniczego i jego użytkowników. Enterokoki mogą przekazywać geny oporności na antybiotyki do zasiedlających te środowisko bakterii natywnych, przez co wzbogacają wody w bakterie wielolekooporne i geny wankomycynooporności.
  - Przeprowadzone badania pozwoliły na określenie zróżnicowania anlizowaych środowisk (rzeka Łyna oraz ścieki szpitalne, nieoczyszczone i oczyszczone) ze względu na występowanie antybiotykoopornych i wirulentnych enterokoków. Stwierdzono zbliżony profil genów oporności *van* oraz czynników wirulencji w ściekach oczyszczonych i wodach rzeki Łyny z obszarów zurbanizowanych. Pozostałe badane środowiska z zaznaczonym silniejszym powiązaniem między ściekami szpitalnymi, ściekami nieoczyszczonymi i wodami pochodzącymi z terenów rolniczych, stanowiły odrębną grupę po-

wiązanych ze sobą środowisk. W przypadku fenotypowej oporności oznaczanych izolatów na antybiotyki powiązane ze sobą były wody z obszarów rolnych i leśnych stanowiące jeden klaster, natomiast pozostałe badane środowiska (wody z obszarów zurbanizowanych oraz ścieki nieoczyszczone, oczyszczone i szpitalne), utworzyły odrębny klaster.

7. Uzyskane wyniki wskazują, że ścieki komunalne są jednym z głównych źródeł zanieczyszczeń rzeki Łyny wirulentnymi i wielolekoopornymi enterokokami. Bakterie te wraz ze ściekami odprowadzanymi do Łyny rozprzestrzeniają się wzdłuż kontinuum rzeczno-egzogenicznego na znaczne odległości. Na obszarach leśnych i rolnych drobnoustroje te mogą również pochodzić z innych źródeł. Należy jednak podkreślić, że nie ma idealnych metod do oszacowania całkowitej liczebności wielolekoopornych i wirulentnych gatunków enterokoków w środowisku. Jednak połączenie metod klasycznych i molekularnych pozwala na bardziej pełną i wiarygodną ocenę rzeczywistej puli tych drobnoustrojów w badanym biotopie.

## Literatura

1. Amann R., Ludwig W., Schleifer K.H., 1995. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiological Reviews* 59(1), 143 – 169.
2. Boehm A.B., Soller J.A., 2011. Risks associated with recreational waters: Pathogens and fecal indicators. In: Meyers R.A. (Ed.). *Encyclopedia of Sustainability Science and Technology*. Springer.
3. Bojarczuk A., Jelonekiewicz Ł., Lenart – Boroń A., 2018. The effect of anthropogenic and natural factors on the prevalence of physicochemical parameters of water and bacterial water quality indicators along the river Białka, southern Poland. *Environmental Science and Pollution Research* 25(10), 10102 – 10114.
4. Cabral J.P.S., 2010. Water microbiology. Bacterial pathogens and water. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 7(10), 3657 – 3703.
5. Dolka B., Chrobak-Chmiel D., Czopowicz M., Szeleszczuk P., 2017. Characterization of pathogenic *Enterococcus cecorum* from different poultry groups: Broiler chickens, layers, turkeys, and waterfowl. *PLOS One* 12(9), e0185199.
6. Glińska-Lewczuk K., Gołaś I., Koc J., Gotkowska-Płachta A., Harnisz M., Rochwerger A., 2016. The impact of urban areas on the water quality gradient along a lowland river. *Environmental Monitoring and Assessment* 188, 624 – 638.
7. Gotkowska-Płachta A., Gołaś I., Korzeniewska E., Koc J., Rochwerger A., Solarski K., 2016. Evaluation of the distribution of fecal indicator bacteria in a river system depending on different types of land use in the southern watershed of the Baltic Sea. *Environmental Science and Pollution Research* 23, 4073 – 4085.
8. Islam M., Hofstra N., Islam A., 2017. The Impact of Environmental Variables on Faecal Indicator Bacteria in the Betna River Basin, Bangladesh. *Environ Process* 4, 319 – 332.
9. Janssen P.H., 2006. Identifying the dominant soil bacterial taxa in libraries of 16S rRNA and 16S rRNA genes. *Applied Environmental Microbiology* 72, 1719 – 1728.

10. Kacar A., 2011. Analysis of spatial and temporal variation in the levels of microbial fecal indicators in the major rivers flowing into the Aegean Sea, Turkey. *Ecological indicators* 11, 1360 – 1365.
11. Korzeniewska E., Harnisz M., 2018. Relationship between modification of activated sludge wastewater treatment and changes in antibiotic resistance of bacteria. *Science of the Total Environment* 639, 304 – 315.
12. Lekunberri I., Villagrasa M., Balcázar J. L., Borrego C.M., 2017. Contribution of bacteriophage and plasmid DNA to the mobilization of antibiotic resistance genes in a river receiving treated wastewater discharges. *Science of the Total Environment* 601 – 602, 206 – 209.
13. Lenart-Boroń A., Prajsnar J., Krzesiwo K., Wolanin A., Jelonkiewicz Ł., Jelonkiewicz E., Żelazny M., 2016. Diurnal variation in the selected indicators of water contamination in the Białka River affected by a sewage treatment plant discharge. *Fresenius Environmental Bulletin* 25(12), 5271 – 5279.
14. Niestępski S., Harnisz M., Korzeniewska E., Guadalupe M., Aguilera-Arreola G., Contreras-Rodríguez A., Filipkowska Z., Osińska A., 2019 The emergence of antimicrobial resistance in environmental strains of the *Bacteroides fragilis* group. *Environment International* 124, 408 – 419.
15. Olapade O.A., Weage E.A., 2010. Comparison of fecal indicator bacterial populations in surface waters of the Kalamazoo River, USA. *Microbes Environ* 25(1), 41 – 44.
16. Osińska A., Korzeniewska E., Harnisz M., Niestępski S., 2017. The prevalence and characterization of antibiotic-resistant and virulent *Escherichia coli* strains in the municipal wastewater system and their environmental fate. *Science of The Total Environment* 577, 367 – 375.
17. Rogers S.W., Moorman T.B., Ong S.K., 2007. Fluorescent in situ hybridization and micro-autoradiography applied to ecophysiology in soil. *Soil Science Society of America Journal* 71, 620 – 631.
18. Rowan N.J., 2004. Viable but non-culturable forms of food and waterborne bacteria: Quo vadis? *Trends in Food Science & Technology* 15, 462 – 467.
19. Wilkes G., Edge T., Gannon V., Jokinen Lyautey C.E., Medeiros D., Neumann N., Ruecker N., Topp E., Lapen D.R., 2009. Seasonal relationships among indicator bacteria, pathogenic bacteria, *Cryptosporidium* oocysts, *Giardia* cysts, and hydrological indices for surface waters within an agricultural landscape. *Water Research* 43, 2209 – 2223.
20. Wilkes G., Edge T.A., Gannon V.P.J., Jokinen C., Lyautey E., Neumann N.F., Ruecker N., Scott A., Sunohara M., Topp E., Lapen D.R., 2011. Associations among pathogenic bacteria, parasites, and environmental and land use factors in multiple mixed-use watersheds. *Water Research* 45(18), 5807 – 5825.
21. World Health Organization (WHO), 2006. Wastewater and excreta use in aquaculture. Geneva, Switzerland.
22. Ziemińska-Buczyńska A., Felis E., Folkert J., Meresta A., Stawicka D., Gnida A., Surmacz-Górska J., 2015. Detection of antibiotic resistance genes in wastewater treatment plant – molecular and classical approach. *Archives of Environmental Protection* 41(4) 23 – 32.



## 5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

Studia ukończyłam w 1994 roku na Wydziale Ochrony Środowiska i Rybactwa Śródlądowego Akademii Rolniczo -Technicznej w Olsztynie uzyskując tytuł magistra inżyniera w zakresie ochrony wód. Pracę magisterską pt. „Ocena możliwości oczyszczania ścieków z Mazurskich Zakładów Przemysłu Sklejek w Morażu wspólnie ze ściekami komunalnymi” wykonałam pod kierunkiem prof. dr hab. inż. Ewy Klimiuk.

W 1995 (01.01) roku podjęłam pracę w Zakładzie Mikrobiologii Sanitarnej Akademii Rolniczo -Technicznej w Olsztynie na stanowisku technika. Od początku mojej pracy zostałam wdrożona do zespołu badawczego kierowanego przez profesora Stanisława Niewolaka prekursora badań mikrobiologicznych różnych środowisk naturalnych. Prawie roczna praca na stanowisku technika pozwoliła mi poznać warsztat badawczy mikrobiologa od podstaw. W dalszej pracy naukowej, którą podjęłam we wrześniu 1995 r. w Katedrze Mikrobiologii Środowiskowej ART w Olsztynie, skoncentrowałam się na badaniach związanych z jakością mikrobiologiczną środowisk przyrodniczych. Głównym obszarem moich badań było najgłębsze w Polsce (108,5m) i uznane za jedno z najbardziej czystych jezioro Hańcza. Prowadziłam badania mające na celu analizę jakości mikrobiologicznej tego unikatowego zbiornika. Badałam również jego osady dennie oraz wodę rzeki dopływającej od jeziora i odpływającej z tego akwenu. Wstępne wyniki tych badań zostały opublikowane i zaprezentowane na konferencjach (II.E.26, II.L.1, III.B.1, III.B.2, III.B.5, III.B.7). Ostatecznie wyniki moich kilkuletnich badań posłużyły do przygotowania rozprawy doktorskiej pt.: „Studium mikrobiologiczne wód jeziora Hańcza”, obronionej w 2003 roku na Wydziale Biologii (obecnie Wydział Biologii i Biotechnologii) Uniwersytetu Warmińsko – Mazurskiego w Olsztynie. Praca ta została na wniosek recenzentów wyróżniona nagrodą Rektora UWM w Olsztynie. Wyniki badań sanitarno-bakteriologicznych wód jeziora Hańcza (i osadów dennych tego zbiornika) wskazują na ich czysty lub tylko nieznacznie zanieczyszczony charakter substancją organiczną łatwo rozkładalną przez bakterie heterotroficzne, oraz niewielkie obciążenie odchodami ludzi i zwierząt. Dobra jakość wód tego akwenu związana jest z jego dużą głębokością a tym samym zdolnością do szybkiego samooczyszczania oraz lokalizacją w obszarze o niewielkim stopniu antropopresji. Źródłem większych zanieczyszczeń były jedynie wody cieków dopływających do Hańczy (głównie rzeka Czarna Hańcza) gdzie notowano ponad 10-krotnie większe liczebności drobnoustrojów (bakterioplankton, bakterie heterotroficzne, oligonitrofilne, wskaźnikowe, biorące udział w przemianach związku azotu, grzyby pleśniowe i drożdżoidalne) niż w pelagialu tego zbiornika. Wyniki analiz dotyczące oznaczeń mikrobiologicznych wód jeziora

Hańcza oraz badań związanych z określeniem wpływu zanieczyszczeń antropogenicznych na jakość wód jeziora Wigry zostały zaprezentowane w licznych pracach (po doktoracie: II.E.4, II.E.5, II.E.10, II.E.15, II.E.17, II.E.18, II.E.19, II.E.20, II.E.21, II.E.22, II.E.23, II.E.24, II.E.26, II.L.4) i doniesieniach na konferencjach naukowych (przed doktoratem: II.E.25, III.B.3, III.B.4, III.B.6, III.B.8 i po doktoracie: III.B.10, III.B.11, III.B.12).

W dalszej pracy zawodowej rozwijałam swoje zainteresowania naukowo-badawcze, które nadal koncentrowały się głównie na zanieczyszczeniach mikrobiologicznych środowisk przyrodniczych i kształtowanych antropogenicznie. Efektem tego w latach 2005-2007 była współpraca przy przygotowaniu i wykonaniu badań w ramach grantu (II.J.1) związanego z oddziaływaniem oczyszczalni ścieków (pracujących w różnych układach technologicznych) na jakość mikrobiologiczną otaczającego powietrza i odbiorników ścieków oczyszczonych.

Celem głównym projektu było ustalenie rzeczywistego zasięgu oddziaływania różnych typów oczyszczalni ścieków na jakość mikrobiologiczną powietrza w otoczeniu urządzeń do oczyszczania ścieków oraz w sąsiedztwie oczyszczalni. Wytypowane do badań oczyszczalnie (8 obiektów) różniły się przepustowością, rodzajem oczyszczanych ścieków i zastosowanej technologii oczyszczania. Wyniki badań pozwoliły na poznanie rzeczywistego oddziaływania poszczególnych podzespołów oczyszczalni w zakresie emisji bioaerozoli oraz na określenie zasięgu ich rozprzestrzeniania. Oczekiwane wyniki badań oprócz znaczenia poznawczego mogą być wykorzystane w trakcie projektowania poszczególnych podzespołów oczyszczalni oraz wytyczania stref uciążliwego oddziaływania lub obszarów ograniczonego użytkowania wokół tych obiektów. Wyniki zostały przedstawione w formie publikacji naukowych i referatów na konferencjach (II.A.7, II.A.8, II.E.6, II.E.7, II.E.8, II.E.9, II.E.11, II.E.12, II.E.13, II.E.14, II.L.2, II.L.3, III.B.9, III.B.13, III.B.14, III.B.15, III.B.16, III.B.17, III.B.18, III.B.19, III.B.20, III.B.21, III.B.22, III.B.23, III.B.24, III.B.25).

Zdobyte doświadczenie związane z mikrobiologiczną oceną jakości powietrza atmosferycznego pozwoliło mi na wykonanie 4 ekspertyz dotyczących (na zlecenie jednostek samorządowych i podmiotów gospodarczych) oceny mykologiczno-mikrobiologicznej powietrza wewnętrznego miejsc użyteczności publicznej (III.M.1- III.M.4).

Współpracowałam również przy dwóch projektach Europejskich (II.J.2, II.J.3), podczas realizacji, których doskonaliłam swój warsztat badawczy i rozszerzałam zainteresowania związane z możliwością wykorzystania mikroorganizmów do produkcji energii ze źródeł odnawialnych oraz uwzględnienia ich jako biosensorów w tworzeniu modelowych systemów nadzoru nad jakością środowiska. Za szczególnie cenną uważam współpracę przy projekcie pt” „System informacji środowiskowo-przestrzennej jako podstawa do zrównoważonego go-

spodarowania ekosystemem Zalewu Wiślanego (VISLA)” realizowanym w latach 2008-2011 przez międzynarodowy zespół badaczy z Polski i Norwegii. Celem naukowym projektu VISLA było stworzenie matematycznego modelu zbioru formuł, które pozwoliłyby na przewidywanie zmian zachodzących w tym akwenu na skutek wpływu różnych czynników zewnętrznych. Projekt zakładał stworzenie jak największej bazy różnych danych meteorologicznych, biologicznych, biogeochemicznych i innych oraz użycie teledetekcji satelitarnej dla potrzeb monitoringu jakości wód tego akwenu. Priorytetowym zadaniem projektu było zwiększenie jakości kontroli, diagnostyki i prognoz dotyczących stanu środowiska tej przymorskiej laguny. Wyniki zostały przedstawione w dwóch monografiach oraz na konferencjach naukowych (II.E.2, II.E.3, II.L.5, III.B.26, III.B.28, III.B.30, III.B.39). Mierzeja Wiślana to moje rodzinne strony stąd też działania podjęte w celu ochrony wód Zalewu Wiślanego są mi szczególnie bliskie.

Aktualnie nadal zajmuję się analizą powietrza, wody i ścieków na terenie i w otoczeniu oczyszczalni pracujących w różnych układach technologicznych, jakością mikrobiologiczną miejsc użyteczności publicznej, charakterystyką zanieczyszczeń mikrobiologicznych w wodach powierzchniowych (rzeki, jeziora, laguny, osady, ścieki, stawy hodowlane) (II.A.1, II.A.2, II.A.3, II.A.5, II.E.1, II.A.6, II.L.6, III.B.36, III.B.37). Obecne moje badania koncentrują się głównie na określeniu źródeł pochodzenia i rozprzestrzeniania bakterii wielolekoopornych (w tym enterokoków wankomycynoopornych VRE) w płynących wodach powierzchniowych ze szczególnym uwzględnieniem rejonu zrzutu ścieków. W 2016 roku na XXVIII Zjeździe Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów w Bydgoszczy otrzymałam pierwsze wyróżnienie PTM za prezentację pracy „Oczyszczalnia ścieków jako źródło emisji antybiotykoopornych bakterii z rodzaju *Enterococcus* do wód płynących” przedstawioną w sesji plakatowej „Lekowrażliwość i Mechanizmy Oporności Drobnoustrojów ”(III.B.40).

Różnicowanie genetyczne izolowanych drobnoustrojów ich antybiotykooporność i wirulencja oznaczana przy użyciu metod fenotypowych i genotypowych, w tym fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* (FISH), pozwala na precyzyjną ocenę ilościową i jakościową stanu bakteriologicznego badanych środowisk a tym samym ich potencjalnego zagrożenia epidemiologicznego (II.A.4, III.B.38, III.B.39, III.B.41).

W trakcie swojej pracy naukowej opublikowałam 35 prac w tym 8 wyróżnionych przez bazę Journal Citation Reports. Jestem współautorką 4 rozdziałów w monografiach, oraz autorką jednej monografii habilitacyjnej. Ponadto jestem autorką i współautorką 47 doniesień i referatów prezentowanych na krajowych i międzynarodowych konferencjach. Łącznie uczestniczyłam w realizacji 3 projektów badawczych w tym 2 europejskich. Ponadto zreali-

zowałam 4 opracowania ekspertyz na zlecenie jednostek samorządowych i podmiotów gospodarczych. Wykonałam również 26 recenzji publikacji naukowych dla takich periodyków jak: *The Science of the Total Environment*, *Environmental Science and Pollution Research*, *CLEAN - Soil, Air, Water, Ecological Indicator*, *Polish Journal of Natural Sciences*. Za swoje osiągnięcia w dziedzinie naukowej otrzymałam w 2004 roku nagrodę zespołową II stopnia Rektora Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie Natomiast w 2005 Stypendium naukowe przyznane za realizację projektu badawczego nr 3 TO9D 079 28 pt.: „Mikrobiologiczne zanieczyszczenia powietrza w otoczeniu oczyszczalni ścieków pracujących w różnych układach technologicznych”.

Zestawienie ilościowe i punktowe najważniejszych osiągnięć naukowo badawczych

<b>Wyszczególnienie</b>							
<b>Oryginalne opublikowane naukowe prace twórcze udostępnione w obiegu społecznym, monografie i publikacje książkowe (posiadające ISBN i EAN)</b>							
<b>Rodzaj publikacji</b>	<b>Punkty MNiSW na rok wydania</b>	<b>Punkty MNiSW na rok 2019*</b>	<b>IF na rok wydania</b>	<b>IF<sub>2019</sub></b>	<b>Przed doktoratem</b>	<b>Po doktoracie</b>	<b>Łącznie</b>
Czasopisma z listy A MNiSW	204	230	18,155	21,422	-	8	8
Czasopisma z listy B MNiSW	89	159	-	-	1	17	18
Rozdziały w monografiach	20	20	-	-	-	4	4
Monografie	80**	80**	-	-	-	1	1
Materiały konferencyjne	-	-	-	-	9	38	47
Inne czasopisma	-	-	-	-	1	3	4
<b>RAZEM</b>	<b>393</b>	<b>489</b>	<b>18,155</b>	<b>21,422</b>	11	71	82
<b>Udział w projektach</b>							
Projekty	KBN/MNiSW		-	-	-	1	1
	Finansowane z UE		-	-	-	2	2
<b>Pozostała działalność naukowo-badawcza</b>							
Recenzje artykułów			-	-	-	26	26
<b>RAZEM</b>			-	-	-	26	26
<b>Wskaźniki oceny dorobku naukowego</b>							
Źródła danych			-	-	Web of science	Scopus (Elsevier)	Google Scholar
Indeks Hirscha h			-	-	5	5	6
Liczba cytowań ogółem			-	-	89	104	190

\* Punkty zgodne z wykazem ogłoszonym w Komunikacie Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 25 stycznia 2017 r. w sprawie wykazu czasopism naukowych wraz z liczbą punktów przyznanych za publikacje naukowe w tych czasopi-smach, ustalonego na podstawie wykazów ogłoszonych w latach 2013-2016.

\*\* Punkty zgodne z wykazem Komunikatu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 18 stycznia 2019 r. w sprawie wykazu wydawnictw publikujących recenzowane monografie naukowe.

## 6. Osiągnięcia w zakresie popularyzowania nauki

Swoją pracę naukową uzupełniam aktywną działalnością popularyzatorską. Każdego roku począwszy od 2014, przygotowuję i realizuję ćwiczenia i wykłady dla młodzieży ze szkół podstawowych i ponadpodstawowych w ramach Olsztyńskich Dni Nauki i Sztuki.

W ramach promocji wydziału Nauk o Środowisku przygotowałam i realizowałam lekcje edukacyjne i warsztaty dla szkół średnich i podstawowych w Biskupcu, Lidzbarku Welskim i Giżycku.

Prowadziłam również wykład „Drobnoustroje nasz przyjaciel czy wróg?” na Uniwersytecie III wieku w Kętrzynie. Obecnie mam kolejne zaproszenia do poprowadzenia tych wykładów na Uniwersytecie III wieku w Olsztynie.

W roku 2011 byłam również czynnym uczestnikiem programu pt.: „Komercjalizacja wyników badań oraz kreowanie postaw przedsiębiorczych przez UWM w Olsztynie poprzez staże, szkolenia i działania uświadamiające z zakresu przedsiębiorczości akademickiej” – dwumiesięczny staż odbyty w Przedsiębiorstwie Wodociągów i Kanalizacji Ostróda Sp. z o.o. w Tyrowie k/Ostródy w ramach projektu nr POKL-08.02.01-28-001/08-00 współfinansowanego przez Unię Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego.

## 7. Osiągnięcia w zakresie działalności organizacyjnej

W trakcie mojej pracy zawodowej realizowałam różne zadania organizacyjne na rzecz Uczelni, a także władz i społeczności lokalnych.

Od 2016 roku do chwili obecnej jestem członkiem Rady Wydziału Nauk o Środowisku jako przedstawiciel adiunktów.

W latach 2012-2016 byłam członkiem Komisji Dyscyplinarnej ds. Studentów i Doktorantów.

W latach 2009-2011 byłam koordynatorem planów zajęć dydaktycznych dla studentów stacjonarnych i niestacjonarnych Wydziału Ochrony Środowiska i Rybactwa.

Od 2011 jestem opiekunem pracowni mikroskopii epifluorescencyjnej.

W roku 2009 byłam elektorem z ramienia UWM w Olsztynie do wyboru członków Rady Głównej Szkolnictwa Wyższego.

Biorę udział w komisjach do przeprowadzenia egzaminu dyplomowego na różnych kierunkach studiów. Brałam udział w zespole pracującym nad przygotowaniem programu kształcenia na nowo powstającym kierunku Turystyka i Rekreacja (2010).

Od 2007 roku jestem aktywnym członkiem Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów.

W trakcie swojej pracy realizowałam również zadania na rzecz władz samorządowych i podmiotów gospodarczych. Byłam ekspertem do spraw jakości powietrza wewnętrznego pomieszczeń użyteczności publicznej na zlecenie: Powiatu Ostródzkiego z siedzibą w Ostródzie, Urzędu Miasta Stołecznego Warszawy Dzielnica Targówek, Biura projektowego „Kuznia projektów” w Olsztynie oraz Towarzystwa Budownictwa Społecznego w Mrągowie.

W 2017 brałam udział w Komitecie organizacyjnym IX Ogólniopolskiej Konferencji Hydromikrobiologicznej Hydromicro 2017: Drobnoustroje - Osiągnięcia i Wyzwania 17-19 września 2017, Olsztyn.

## 8. Omówienie osiągnięć dydaktycznych

W trakcie dotychczasowej mojej pracy na Uniwersytecie Warmińsko-Mazurskim w Olsztynie przygotowywałam programy następujących przedmiotów:

1. Przygotowanie programu i realizacja ćwiczeń i wykładów z przedmiotu: „BIOBEZPIECZEŃSTWO ODPADÓW” (kierunek Mikrobiologia, Wydział Biotechnologii i biotechnologii, UWM w Olsztynie), od 2013 r. – do obecnie, **koordynator przedmiotu**.
2. Przygotowanie programu i realizacja ćwiczeń i wykładów z przedmiotu: „BIOTECHNOLOGICZNE UNIESZKODLIWIANIE ODPADÓW”, (kierunek Mikrobiologia, Wydział Biotechnologii i biotechnologii, UWM w Olsztynie), od 2014 r. – do obecnie, **koordynator przedmiotu**.
3. Przygotowanie programu i realizacja ćwiczeń i wykładów z przedmiotu: Mikrobiologia powietrza: „BIOAEROZOLE MIKROBIOLOGICZNE” (kierunek Mikrobiologia, Wydział Biotechnologii i biotechnologii, UWM w Olsztynie), od 2014 r. – do obecnie, **koordynator przedmiotu**.
4. Przygotowanie programu i realizacja ćwiczeń i wykładów z przedmiotu: Mikrobiologia powietrza: „ZAGROŻENIA MIKROBIOLOGICZNE W SYSTEMACH WENTYLACJI I KLIMATYZACJI” (kierunek Inżynieria środowiska, Wydział Nauk o Środowisku, UWM w Olsztynie), od 2016 r.– do obecnie, **koordynator przedmiotu**.
5. Przygotowanie programu i realizacja ćwiczeń i wykładów z przedmiotu: Mikrobiologia powietrza: BEZPIECZEŃSTWO MIKROBIOLOGICZNE ODPADÓW KOMUNALNYCH I PRZEMYSŁOWYCH, (kierunek Ochrona Środowiska, Wydział Nauk o Środowisku, UWM w Olsztynie), od 2012 – 2013 **koordynator przedmiotu**.

6. Realizacja ćwiczeń z przedmiotu: Mikrobiologia powietrza: MIKROBIOLOGIA ZOO-TECHNICZNA, (kierunek Zootechnika, Wydział Bioinżynierii Zwierząt, UWM w Olsztynie), od 2001 r. – obecnie.
7. Realizacja ćwiczeń z przedmiotu: Mikrobiologia powietrza: BEZPIECZEŃSTWO SANITARNE ŻYWNOŚCI W TURYSTYCE, (kierunek Turystyka i Rekreacja, Wydział Nauk o Środowisku, UWM w Olsztynie), od 2012 – 2013.
8. Realizacja ćwiczeń z przedmiotu: Mikrobiologia powietrza: MIKROBIOLOGIA WÓD, (kierunek Ochrona Środowiska, Wydział Nauk o Środowisku, UWM w Olsztynie), od 2011 – 2012.
9. Realizacja ćwiczeń z przedmiotu: Mikrobiologia powietrza: MIKROBIOLOGIA, (kierunek Ochrona Środowiska, kierunek Rybactwo Wydział Nauk o Środowisku, UWM w Olsztynie), 2012 – 2014.
10. Realizacja ćwiczeń z przedmiotu: Mikrobiologia powietrza: MIKROBIOLOGIA SANITARNA, (kierunek Ochrona Środowiska, Wydział Nauk o Środowisku, UWM w Olsztynie), 2014 – 2015.
11. Realizacja ćwiczeń z przedmiotu: TECHNIKI POBORU PRÓBEK MIKROBIOLOGICZNYCH, (kierunek Ochrona Środowiska, Wydział Nauk o Środowisku, UWM w Olsztynie), 2015– 2016.

Ponadto prowadziłam i prowadzę seminaria inżynierskie i magisterskie na Wydziale Nauk o Środowisku.

Byłam opiekunem naukowym 54 i recenzentem 22 prac dyplomowych. Obecnie jestem opiekunem naukowym 3 prac dyplomowych.

Jestem również promotorem pomocniczym w otwartych w 2018 r. przewodach doktorskich:

- Pana mgr inż. Sebastiana Niestępskiego „Wpływ oczyszczalni ścieków z technologią osadu czynnego na lekooporność beztlenowych bakterii z grupy *Bacteroides fragilis*” – Wydział Nauk o Środowisku, kierunek Inżynieria Środowiska,
- Pana mgr inż. Jacka Potorskiego „Ocena potencjału probiotycznego *Carnobacterium maltaromaticum* w podchowcie wybranych gatunków ryb” Wydział Nauk o Środowisku, kierunek Rybactwo.

