

**Dr inż. Mirela Wolf-Baca** (Mirela Wolf do dnia 01.09.2018 r.)  
Katedra Inżynierii Ochrony Środowiska,  
Wydział Inżynierii Środowiska  
Politechnika Wroclawska  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0348-9385>  
Dyscyplina: inżynieria środowiska, górnictwo i energetyka

## **Autoreferat**

### **(opis kariery zawodowej)**

#### **1. Imię i nazwisko.**

Mirela Wolf-Baca

#### **2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.**

2014 magister inżynier inżynierii środowiska, Politechnika Wroclawska, Wydział Inżynierii Środowiska, kierunek studiów: Inżynieria Środowiska, specjalność: Zaopatrzenie w Wodę, Unieszkodliwianie Ścieków i Odpadów,

2019 doktor nauk technicznych w dyscyplinie Inżynieria Środowiska, Górnictwo i Energetyka, stopień naukowy nadany przez Radę Wydziału Inżynierii Środowiska Politechniki Wroclawskiej w dniu 30.09.2019 r.

tytuł rozprawy doktorskiej: „Zastosowanie czujnika impedancyjnego do detekcji biofilmu”, Raporty Wydziału Inżynierii Środowiska Politechniki Wroclawskiej, raport serii PRE nr 1. 113, [1].

#### **3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych.**

2018-2020 asystent naukowo-dydaktyczny, Politechnika Wroclawska, Wydział Inżynierii Środowiska, Zakład Biologii Sanitarnej i Ekotechniki, Laboratorium Biotechnologii Środowiska

od 2020 adiunkt naukowo-dydaktyczny, Politechnika Wroclawska, Wydział Inżynierii Środowiska, Katedra Inżynierii Ochrony Środowiska, Zakład Biologii Sanitarnej i Ekotechniki, Laboratorium Biotechnologii Środowiska

Politechnika Wroclawska jest nieprzerwanie od roku 2018 moim podstawowym miejscem pracy.

4. **Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.). Omówienie to winno dotyczyć merytorycznego ujęcia przedmiotowych osiągnięć, jak i w sposób precyzyjny określać indywidualny wkład w ich powstanie, w przypadku, gdy dane osiągnięcie jest dziełem współautorskim, z uwzględnieniem możliwości wskazywania dorobku z okresu całej kariery zawodowej.**

#### **4.1. Omówienie głównego osiągnięcia naukowego**

##### **4.1.1. Dziedzina i dyscyplina**

Dziedzina: nauki inżynieryjno-techniczne

Dyscyplina: inżynieria środowiska, górnictwo i energetyka

##### **4.1.2. Tytuł głównego osiągnięcia naukowego**

Sezonowa zmienność migracji genów oporności na antybiotyki i struktur bakteryjnych w biofilmie na kolejnych etapach oczyszczania wody przeznaczonej do spożycia.

##### **4.1.3. Forma głównego osiągnięcia naukowego**

###### **Monografia**

Mirela Wolf-Baca, Sezonowa zmienność migracji genów oporności na antybiotyki i struktur bakteryjnych w biofilmie na kolejnych etapach oczyszczania wody przeznaczonej do spożycia, Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, Wrocław, 2023, ISBN: 978-83-7493-230-1.

Recenzenci wydawniczy:

dr hab. inż. Wioletta Przysaś Prof. PŚ (Wydział Inżynierii Środowiska i Energetyki, Katedra Ochrony Powietrza, Politechnika Śląska w Gliwicach),

dr hab. inż. Wioletta Rogula-Kozłowska (Wydział Inżynierii Bezpieczeństwa i Ochrony Ludności, Szkoła Główna Służby Pożarniczej w Warszawie).

**Punktacja MNiSW z 2019-2021: 80 pkt**

##### **4.1.4. Omówienie celu naukowego ww. pracy i osiągniętych wyników**

Antybiotyki są powszechnie uważane za grupę farmaceutyków, które znacznie podniosły efektywność leczenia chorób zakaźnych oraz zwiększyły wydajność rolnictwa (dos Santos, Kronka et al. 2021). Z uwagi na szerokie spektrum zastosowania i niecałkowitą degradację w środowisku są one w nim wszechobecne, zwłaszcza w kompleksach wodnych. Powoduje to zagrożenie dla tych ekosystemów, nawet jeśli występują one w bardzo niskim stężeniu (Tan, Li et al. 2019); (Wu, Su et al. 2019). Największe zagrożenie, jakie niesie ze sobą obecność antybiotyków w wodzie, to pojawienie się i rozpowszechnianie genów oporności na antybiotyki (ARGs – ang. *antibiotic resistance genes*), które zostały uznane jako nowe zanieczyszczenia. Mogą być one obecne w różnym środowisku wodnym, m.in. w wodach powierzchniowych wraz z osadami (Reichert, Hilgert et al. 2021); (Guo, Zhao et al. 2020), ściekach, odpływach szpitalnych, spływach rolniczych czy biofilmach słodkowodnych (Winkworth-Lawrence and Lange 2016) (Reichert, Hilgert et al. 2021). ARGs stały się ważnym problemem zdrowia publicznego na całym świecie, ponieważ mogą być wykorzystywane przez bakterie chorobotwórcze, stwarzając zagrożenie dla ludzi i zwierząt gospodarskich (Xin, Chen et al. 2022). Na całym świecie rocznie dochodzi do około 700 000 zgonów z powodu infekcji wywołanych przez odporne bakterie. Oczekuje się, że w 2050 r. liczba ta wzrośnie, osiągając 10 milionów przypadków rocznie, jeśli

nie zostaną powszechnie przyjęte środki zapobiegawcze. Rozpowszechnienie ARB (ARB – ang. *antibiotic resistance bacteria*) i ARG w środowisku wynika z niewłaściwego stosowania antybiotyków w przychodniach lekarskich i przychodniach weterynaryjnych, nieprawidłowej eliminacji przeterminowanych antybiotyków, wzrostu zrzutów ścieków z przemysłu farmaceutycznego oraz obniżonej wydajności oczyszczalni ścieków i stacji uzdatniania wody pitnej (Duarte, Rodrigues et al. 2022). Rzeczywiście samo ograniczenie stosowania antybiotyków jest niewystarczające, aby kontrolować rozprzestrzenianie się bakterii antybiotykoopornych i ARGs w wodzie do picia.

Pomimo tego, że nadal większość obaw związanych z antybiotykoopornością dotyczy bakterii chorobotwórczych wykrytych w placówkach medycznych u pacjentów i ich zakażeń, nadal należy zwracać uwagę na wzrost tego zjawiska w innych środowiskach. W odniesieniu do tego problemu nadzór nad opornymi bakteriami u zwierząt, żywności, a nawet w ściekach postępuje szybko, ale działania w zakresie monitorowania w środowisku naturalnym są wciąż niewystarczające, a przede wszystkim nie są uregulowane prawnie (Huijbers, Flach et al. 2019) (Osinska, Korzeniewska et al. 2020). Badanie oporności na antybiotyki w naturalnym środowisku wodnym (rzeki i zbiorniki wodne) pozwala na lepsze zrozumienie zagrożenia dla zdrowia zwierząt i ludzi oraz wykrycie ewentualnych rezerwuarów oporności. Taka wiedza pozwoli na opracowanie nowych technik zapobiegania rozprzestrzenianiu się i wzrostowi bakterii antybiotykoopornych oraz na propozycje zakresu monitoringu tego zjawiska (Jovanovic, Amabile-Cuevas et al. 2021); (Hu, Jiang et al. 2021).

Obecnie eksploatowane zakłady uzdatniania wody wraz z systemami jej dystrybucji nie są w stanie kontrolować zanieczyszczeń, jakimi są ARGs, a liczne badania dowodzą obecność genów warunkujących oporność w kranach konsumentów (Shi, Jia et al. 2013); (Narciso-da-Rocha, Vaz-Moreira et al. 2013); (Siedlecka, Wolf-Baca et al. 2021). Dużym utrudnieniem podczas analiz próbek wody jest poziom odniesienia. Często porównuje się aktualne stężenia antybiotyków w środowiskach wodnych do tych, które są stosowane w leczeniu zakażeń bakteryjnych. Stężenia lecznicze są nawet o kilka rzędów wyższe ( $> 1\text{mg/L}$ ) niż te występujące w wodzie (od  $\text{ng/L}$  do  $\mu\text{g/L}$ ), dlatego też sporo badań określa ich działanie w środowisku wodnym jako wątpliwe (Maniaia 2017) (Davies and Davies 2010). Aktualne doniesienia literaturowe sugerują jednak, że stężenie antybiotyków poniżej stężenia minimalnego (MIC – ang. *minimum inhibitory concentration*) może nie powodować efektu letalnego, natomiast może działać podobnie jak cząsteczki sygnałowe, zapoczątkowując tym samym wiele procesów komórkowych (ekspresja genów, HGT, QS czy tworzenie biofilmu) (Sengupta, Chattopadhyay et al. 2013) (Andersson and Hughes 2014). Warto również dodać, że chroniczne niskie stężenie antybiotyków może także spowodować tzw. stres środowiskowy, przyspieszając tym samym HGT i rozprzestrzenianie się ARGs w szerokim zakresie między innymi gatunkami bakterii (Feng, Huang et al. 2021). Liczne dane literaturowe (Martinez, Coque et al. 2015) (Sengupta, Chattopadhyay et al. 2013); (Andersson and Hughes 2014) donoszą także, że przewlekła ekspozycja na antybiotyki, nawet w bardzo niskich stężeniach, promuje i utrzymuje pulę genów oporności w naturalnych społecznościach drobnoustrojów. Wzmoczone stosowanie antybiotyków w minionych latach wytworzyło presję selekcyjną, która przyspieszyła pozyskiwanie i rozprzestrzenianie się ARGs wśród bakterii środowiskowych mogących powodować zagrożenie dla zdrowia ludzkiego, zakładając uderzającą zdolność drobnoustrojów do dzielenia się genami. Wiele badań wykazało także, że prowadzone procesy oczyszczania wody nie są w stanie całkowicie wyeliminować ARB i ARGs z pobieranej wody. Dodatkowo wiele z nich donosi, że oczyszczalnie ścieków zwiększają liczebność określonych ARGs w ściekach (Chu, Petrovich et al. 2018) (Karkman, Do et al. 2018) (Rizzo, Maniaia et al. 2013) (Xu, Xu et al. 2015). Antybiotyki i ARB mogą migrować do ekosystemów wodnych wraz z odprowadzanymi oczyszczonymi ściekami (Bondarczuk and Piotrowska-Seget 2019) (Rizzo, Maniaia et al. 2013) (Guan, Jia et al. 2018), gdyż nie są całkowicie usuwane podczas procesu oczyszczania (Osinska, Korzeniewska et al. 2019) (Korzeniewska and Harnisz 2018). Takie substancje oraz produkty

ich transformacji, po migracji do środowiska, mogą mieć wpływ na ewolucję mikroorganizmów, zmieniając tym samym ekosystemy wodne (Jia, Gomes-Silva et al. 2021). Ekosystemy wody miejskiej uznawane są jako miejsce kontaktu człowieka ze środowiskiem wodnym, do którego dopływają odpady rolnicze czy ścieki bytowe, stanowiące znaczący rezerwuuar zarówno ARB, jak i ARGs. Ścieki te są odprowadzane do przyjmujących systemów wodnych (np. rzek, jezior i stawów), przyspieszając w ten sposób rozprzestrzenianie się i wzbogacanie ARGs (Hou, Zhang et al. 2021). Systemy wodne stanowią natomiast źródło wody ujmowanej na cele wodociągowe i konieczny jest stały monitoring ich stanu pod kątem ARB i ARGs. Badania zbiorników miejskich, wykorzystywanych do poboru wody do picia, prowadzone przez (Chen, Su et al. 2019) (Guo, Liu et al. 2018, Fang, Peng et al. 2019)) wykazały obecność ARGs i MGE (ang. *mobile genetic elements*, mobilne elementy ruchome komórki), a także liczne powiązania pomiędzy ARGs i społecznościami drobnoustrojów. Niektóre analizowane zbiorniki charakteryzowały się wysokim poziomem MGE i ARGs, ukazując wielolekową oporność. Również badania metagenomu, prowadzone przez (Garner, Chen et al. 2018)), wykazały, że nie było znaczących różnic w ARGs wykrytych w wodzie ujmowanej na cele wodociągowe i wodzie w kranach konsumenckich, co może wskazywać na niewystarczające usunięcie ARGs podczas uzdatniania.

Dlatego konieczne jest podjęcie pewnych działań w celu zmniejszenia możliwości wprowadzania i rozprzestrzeniania się ARGs w środowisku. Uznane jest, że najbardziej skutecznym i bezpośrednim podejściem jest rozsądne stosowanie antybiotyków w ochronie zdrowia i produkcji rolnej. Niezbędne jest również opracowanie nowych i skutecznych procesów oczyszczania ścieków lub gruntowna modernizacja obecnych, aby poprawić skuteczność usuwania ARGs w oczyszczalniach. Konieczne jest także dostarczenie odpowiednim organom większej ilości informacji naukowych w celu opracowania norm regulacyjnych i wytycznych, kontrolujących rozprzestrzenianie się tych zanieczyszczeń w środowisku, dlatego tak istotne są badania nad ścieżkami transferu i degradacji środowiskowych ARGs.

Głównym celem naukowym niniejszej pracy było zbadanie zjawiska i zaobserwowanie trendów w migracji genów oporności na antybiotyki oraz bioróżnorodności biofilmów tworzących się na urządzeniach wykorzystywanych w procesach uzdatniania wody.

W ramach pracy postawiłam poniższe hipotezy badawcze, których weryfikacja była celem prowadzonych badań:

- ✓ Skład społeczności drobnoustrojów ma wpływ na obecność genów oporności na antybiotyki w biofilmach bakteryjnych.
- ✓ Poszczególne rodzaje bakterii w biofilmach mogą być skorelowane z jakościowym wykrywaniem genów.
- ✓ Istnieje zależność pomiędzy stosowaną technologią uzdatniania wody i ilością genów oporności na antybiotyki w odniesieniu do pory roku.
- ✓ Istnieje związek między parametrami fizykochemicznymi wody uzdatnianej a ilością genów opornych na antybiotyki obecnych w błonie biologicznej.

Do zrealizowania głównego celu wyznaczyłam następujące cele szczegółowe:

- ✓ określenie stopnia redukcji genów oporności na antybiotyki w biofilmach obecnych na powierzchniach urządzeń wykorzystywanych do uzdatniania wody przeznaczonej do spożycia w zależności od zastosowanych ciągów technologicznych,
- ✓ ilościowe oznaczenie genów oporności na wybrane antybiotyki w stosunku do ogólnej liczby bakterii w zależności od pory roku z uwzględnieniem wykorzystywanej technologii uzdatniania wody,
- ✓ ocena bioróżnorodności bakterii w pobranych biofilmach w różnych porach roku,

- ✓ wyznaczenie wpływu parametrów fizykochemicznych wody uzdatnianej w aspekcie zmienności sezonowej organizmów obecnych w biofilmach,
- ✓ określenie roli genu MGE (*int11*) w rozprzestrzenianiu się ARGs w środowisku wodnym.

Zakres pracy obejmował optymalizację metody pobierania próbek, przeprowadzenie badań z wykorzystaniem technik molekularnych (PCR, qPCR, NGS) oraz wyznaczenie stopnia zmienności ilości genów oporności na antybiotyki po kolejnych etapach oczyszczania. Umożliwiło to wytyczenie podwalin do dalszego zrozumienia opisanego procesu i rozwoju wiedzy teoretycznej w tym zakresie. Zrozumienie tego aspektu pozwoliło na zaproponowanie genów wskaźnikowych, które bezwzględnie powinny być kontrolowane w biofilmach środowiskowych. W pracy wyznaczyłam genetyczne markery oporności bakteryjnej w kontekście zmian sezonowych oraz technologii oczyszczania wody, co może przełożyć się na wyższą mikrobiologiczną jakość wody wprowadzanej do sieci wodociągowej.

Osiągnięcie założonych celów było możliwe dzięki przeprowadzeniu szeroko zakrojonych prac badawczych, składających się z następujących etapów. Pierwszym etapem to pobór biofilmów zgromadzonych na powierzchniach urządzeń w dwóch zakładach, charakteryzujących się odmiennym źródłem wody oraz stosowaną technologią oczyszczania wody w odniesieniu do pory roku. W kolejnym kroku dokonano analizy molekularnej zgromadzonej błony biologicznej, w tym izolacji materiału genetycznego, oraz detekcji jakościowej i ilościowej genów warunkujących antybiotykooporność. W dalszej kolejności określono wpływ parametrów fizykochemicznych wody uzdatnianej oraz miejsca poboru próbek i pory roku na skład rezystomu biofilmu.

W pracy przedstawiłam wyniki analiz genów warunkujących antybiotykooporność biofilmów pobranych z urządzeń do uzdatniania wody w dwóch niezależnie działających zakładach. W tym celu określiłam wpływ technologii oczyszczania na mikrobiologiczną jakość wody i potencjalnego wtórnego jej zanieczyszczenia, w badaniach uwzględniłam błonę biologiczną zebraną na każdym etapie uzdatniania w ciągu czterech pór roku. Przeanalizowałam skład jakościowy i ilościowy wybranych genów oraz społeczność drobnoustrojów, tworzących badane biofilmy z uwzględnieniem zmienności sezonowej. Oceny błony biologicznej dokonałam za pomocą metod molekularnych. Szczególną uwagę zwróciłam na integrony 1 klasy, które są uważane za markery procesu horyzontalnego transferu genów. Ich obecność w środowisku wodnym może w znacznym stopniu przyczynić się do wzrostu rozprzestrzeniania się antybiotykooporności, a w konsekwencji być poważnym zagrożeniem dla zdrowia i życia ludzi.

Na podstawie przeprowadzonych analiz stwierdziłam zróżnicowanie przestrzenne i czasowe ogólnej ilości bakterii (reprezentowanej jako gen 16S rRNA) pobranych z obu zakładów uzdatniania. Analizą jednoczynnikowej wariancji ANOVA potwierdziłam, że różnice pomiędzy oznaczanymi liczebnościami bakterii w zakładzie 1 były istotne statystycznie ( $p < 0,05$ ) w zależności od miejsca poboru próbek, natomiast w zakładzie 2 79% przypadków obecności mikroorganizmów w biofilmach mogło być wyjaśnione aspektem sezonowości.

Stwierdziłam także statystycznie istotne korelacje liczebności genu *int11* w odniesieniu do miejsc poboru biofilmów, przy czym gen ten występował najpowszechniej na filtrach piaskowych i węglowych w zakładzie 1. Natomiast to pora roku warunkowała liczebność genu *int11* w błonie biologicznej pobranej w zakładzie 2. Analizy wskazały lato i wiosnę jako dwie pory roku wpływające najsilniej na ilość MGE. Ze względu na bioróżnorodność bakterii i obecność ruchomych elementów genetycznych w badanych biofilmach mogą być one uważane za rezerwuary bakterii antybiotykoopornych i genów kodujących mechanizmy oporności drobnoustrojów. Ponadto warto wspomnieć kluczową rolę ruchomych elementów genetycznych w nabywaniu oporności przez patogeny oportunistyczne – za ich pomocą otrzymują one nowe geny kodujące antybiotykooporność od szczepów środowiskowych.

Wykazałam bardzo wysoki (ponad 90%) lub całkowity stopień usuwania wybranych genów warunkujących oporność na sulfonamidy,  $\beta$ -laktamy, karbapenemy, makrolidy w obu zakładach w biofilmach pobranych jesienią, zimą i wiosną na kolejnych etapach uzdatniania. Wzrosła natomiast ilość tetracyklin pobranych wiosną w błonie biologicznej filtrów węglowych w stosunku do zbiornika wody surowej oraz genu integrazy 1 klasy w całym okresie poboru próbek. W ZPW1 największe stężenie tego genu notowano o każdej porze roku w błonie biologicznej zbieranej z filtrów węglowych. W lecie w ZPW2 odnotowałam wzrost na ostatnim etapie uzdatniania, natomiast wiosną wykazałam redukcję o ok. 50%. Geny są bez wątpienia przenoszone przez bakterie, które przetrwały poszczególne procesy oczyszczania wody. Niemniej jednak uzyskane wyniki badań sugerują, że uzdatnianie wody pitnej skutecznie redukuje większość ARGs obecnych w wodzie surowej.

Analiza genomu wskazała miejsce poboru jako wyznacznik bioróżnorodności, z czego najbardziej podobną społeczność drobnoustrojów odnotowano w zbiorniku wody surowej i filtrach węglowych oraz filtrach piaskowych i osadniku, gdzie różnica między biofilmem pobranym latem ze zbiornika wody surowej a błoną pobraną jesienią z osadnika była największa. Sekwencjonowanie nowej generacji pozwoliło także na detekcję bakterii niehodowlanych, których zawartość w analizowanych biofilmach mieściła się w zakresie od ok. 30 do 67%. Może to wskazywać na obecność w wodzie licznych bakterii VBNC (ang. *viable but not culturable*) żywych, ale niewyrastających na standardowych podłożach mikrobiologicznych.

Analiza statystyczna korelacji Pearsona pomiędzy społecznością drobnoustrojów i obecnością genów oporności na antybiotyki wykazała występowanie statystycznie istotnych zależności dodatnich pomiędzy liczebnościami genów *sul1*, *ermB* i *intI1* ze społecznością bakterii pobieranych przez cały rok w zakładzie 1. Natomiast wysoce istotną korelację ujemną ( $p < 0,01$ ) zauważono dla genu *tetA* i biofilmów filtrów piaskowych i osadnika. W zakładzie 2 istotne zależności (tak dodatnie, jak i ujemne) stwierdzono w zimie i wiosną dla drobnoustrojów zasiedlających filtry piaskowe i węglowe.

Oceeniłam także wpływ parametrów fizykochemicznych wody otaczającej strukturę biofilmu na kształtowanie profilu genów warunkujących antybiotykooporność i stwierdziłam, że w zakładzie 1 występują statystycznie istotne korelacje liczebności genu *ampC* z temperaturą oraz genu *blaTEM* z zawartością azotynów oraz żelaza. Co ciekawe, wykazałam także, że ilość genu 16S rRNA w zakładzie 2 malała wraz ze stężeniem azotanów i ilością rozpuszczonego węgla organicznego, co potwierdza, że błona biologiczna może być traktowana jako ekosystem charakteryzujący się własnymi czynnikami wzrostu, niezależnymi od warunków zewnętrznych.

Wszystkie przeprowadzone analizy umożliwiły zaproponowanie genetycznych markerów oporności bakteryjnej w kontekście zmian sezonowych oraz technologii oczyszczania wody (*intI1*, *sul1*, *ampC*, *blaTEM*, *blaOXA*, *tetA*), których monitoring powinien zostać włączony do rutynowej analizy wody.

Uzyskane rezultaty umożliwiły zweryfikowanie postawionych w pracy hipotez badawczych i sformułowanie poniższych wniosków:

- ✓ Przeprowadzona analiza powiązań pomiędzy ARGs a społecznością drobnoustrojów (oznaczoną metodą sekwencjonowania) wykazała silną zależność genów *sul1*, *intI1* i *ermB* od składu konsorcjum bakteryjnego w każdej porze roku, co może sugerować, że **skład społeczności drobnoustrojów ma wpływ na obecność genów warunkujących oporność na antybiotyki, a rodzaj bakterii wchodzących w skład biofilmu może być utożsamiany z jakościowym wykrywaniem genów.**
- ✓ **Stosowana technologia uzdatniania i źródło ujmowanej wody mają istotny wpływ na ilość i rodzaj genów warunkujących antybiotykooporność.** W biofilmach zbieranych z urządzeń ZPW2, gdzie ujmowana woda w pierwszym etapie infiltruje i nabiera cech wody podziemnej,

wykryto ok. 4% (liczonych jako ilość kopii/ng DNA) wszystkich genów, natomiast pozostałe 96% stanowiły geny oznaczone w biofilmach ZPW1 (ujmowana woda powierzchniowa).

- ✓ **Istnieje zależność pomiędzy genami warunkującymi oporność na  $\beta$ -laktamy a parametrami fizykochemicznymi**, oznaczanymi w wodzie z ujęcia powierzchniowego, takimi jak związki biogenne (azotany, azotyny, fosforany), temperatura, przewodność elektryczna oraz zawartość chlorków i żelaza. W wodach, które w wyniku infiltracji nabrały cech wód podziemnych, stwierdzono natomiast silną ujemną zależność pomiędzy RWO i azotanami a ogólną ilością bakterii (reprezentowaną przez gen 16S rRNA). Pozostałe parametry fizykochemiczne nie wykazywały korelacji z oznaczanymi genami.
- ✓ **Otrzymałam bardzo wysoki lub całkowity stopień redukcji ARGs na poszczególnych etapach uzdatniania dla większości oznaczonych genów**. Wskazuje to na prawidłowo prowadzone procesy oczyszczania wody na każdym etapie. Większa liczebność ARGs po filtrach węglowych może natomiast wynikać z większej liczebności bakterii (wzrost ilości genów 16S rRNA).
- ✓ **Stwierdziłam, że w ostatnim etapie uzdatniania geny integrazy 1 klasy mogą stanowić zagrożenie dla odbiorców oraz środowiska przyrodniczego**. Są one uważane za wskaźnik HGT między bakteriami, dlatego też mogą przekazywać geny oporności na antybiotyki do zasiedlających środowisko wodne bakterii natywnych, przez co wzbogacają biofilmy i obecne w wodzie patogeny w ARGs, umożliwiając im tym samym przetrwanie niekorzystnych warunków zewnętrznych.
- ✓ **Kształtowanie konsorcjum drobnoustrojów (w obu zakładach) determinowane było raczej miejscem poboru próbki niż sezonowością**. Wyróżniono dwie grupy miejsc o podobnym składzie gatunkowym. Pierwsza to zbiornik wody surowej i filtry węglowe, a w skład drugiej wchodziły filtry piaskowe i osadnik. Warto również podkreślić, że znaczna część wykrytych mikroorganizmów to bakterie niehodowlane. Sugeruje to konieczność włączenia badań molekularnych do rutynowej analizy wody.
- ✓ W efekcie przeprowadzonych prac wytypowano najbardziej powszechne geny występujące w pobranych próbkach biofilmów: *intI1*, *sul2*, *sul1*, *tetA*, *blaOXA*, *blaTEM*. Pozwoliło to na zaobserwowanie trendu – ilości genów malały w następującej kolejności (wg grup antybiotyków, na które warunkują one oporność): **sulfonamidy > karbapenemy > tetracyklina >  $\beta$ -laktamy > makrolidy**.
- ✓ Przeprowadzone badania pozwoliły na wykazanie obecności patogenów oportunistycznych w błonie biologicznej, z czego najczęściej identyfikowano bakterie z rodzaju *Aeromonas* na powierzchni zbiornika wody surowej w sezonie letnim i zimowym, natomiast *Pseudomonas sp.* wchodził w skład konsorcjum drobnoustrojów utworzonego na powierzchni filtrów piaskowych i węglowych, utworzonych latem i wiosną. Określenie przeze mnie środowiskowego rezerwuaru ARGs stwarza szansę na poznanie nowych mechanizmów oporności, jakie w przyszłości mogą nabyć patogeny, oraz może pomóc w prognozowaniu powstania i rozprzestrzeniania ARGs wśród bakterii.

#### Literatura cytowana w autoreferacie

Andersson, D. I. and D. Hughes (2014). "Microbiological effects of sublethal levels of antibiotics." Nature Reviews Microbiology 12(7): 465-478.

Bondarczuk, K. and Z. Piotrowska-Seget (2019). "Microbial diversity and antibiotic resistance in a final effluent-receiving lake." Science of the Total Environment 650: 2951-2961.

- Chen, Y. H., J. Q. Su, J. Y. Zhang, P. Li, H. J. Chen, B. Zhang, K. Y. H. Gin and Y. L. He (2019). "High-throughput profiling of antibiotic resistance gene dynamic in a drinking water river-reservoir system." Water Research 149: 179-189.
- Chu, B. T., M. L. Petrovich, A. Chaudhary, D. Wright, B. Murphy, G. Wells and R. Poretsky (2018). "Metagenomics reveals the impact of wastewater treatment plants on the dispersal of microorganisms and genes in aquatic sediments." Applied and environmental microbiology 84(5): e02168-02117.
- Davies, J. and D. Davies (2010). "Origins and Evolution of Antibiotic Resistance." Microbiology and Molecular Biology Reviews 74(3): 417.
- dos Santos, A. J., M. S. Kronka, G. V. Fortunato and M. R. V. Lanza (2021). "Recent advances in electrochemical water technologies for the treatment of antibiotics: A short review." Current Opinion in Electrochemistry 26.
- Duarte, A. C., S. Rodrigues, A. Afonso, A. Nogueira and P. Coutinho (2022). "Antibiotic Resistance in the Drinking Water: Old and New Strategies to Remove Antibiotics, Resistant Bacteria, and Resistance Genes." Pharmaceuticals 15(4).
- Fang, P. J., F. Peng, X. F. Gao, P. Xiao and J. Yang (2019). "Decoupling the Dynamics of Bacterial Taxonomy and Antibiotic Resistance Function in a Subtropical Urban Reservoir as Revealed by High-Frequency Sampling." Frontiers in Microbiology 10.
- Feng, G. Q., H. N. Huang and Y. G. Chen (2021). "Effects of emerging pollutants on the occurrence and transfer of antibiotic resistance genes: A review." Journal of Hazardous Materials 420.
- Garner, E., C. Q. Chen, K. Xia, J. Bowers, D. M. Engelthaler, J. McLain, M. A. Edwards and A. Pruden (2018). "Metagenomic Characterization of Antibiotic Resistance Genes in Full-Scale Reclaimed Water Distribution Systems and Corresponding Potable Systems." Environmental Science & Technology 52(11): 6113-6125.
- Guan, Y. J., J. Jia, L. Wu, X. Xue, G. Zhang and Z. Z. Wang (2018). "Analysis of Bacterial Community Characteristics, Abundance of Antibiotics and Antibiotic Resistance Genes Along a Pollution Gradient of Ba River in Xi'an, China." Frontiers in Microbiology 9.
- Guo, X. P., S. Zhao, Y. R. Chen, J. Yang, L. J. Hou, M. Liu and Y. Yang (2020). "Antibiotic resistance genes in sediments of the Yangtze Estuary: From 2007 to 2019." Science of the Total Environment 744.
- Guo, Y. Y., M. Liu, L. M. Liu, X. Liu, H. H. Chen and J. Yang (2018). "The antibiotic resistome of free-living and particle-attached bacteria under a reservoir cyanobacterial bloom." Environment International 117: 107-115.
- Hou, L. Y., L. P. Zhang, F. R. Li, S. J. Huang, J. Yang, C. Ma, D. X. Zhang, C. P. Yu and A. Y. Hu (2021). "Urban ponds as hotspots of antibiotic resistome in the urban environment." Journal of Hazardous Materials 403.
- Hu, Y. R., L. Jiang, X. Y. Sun, J. Q. Wu, L. Ma, Y. B. Zhou, K. F. Lin, Y. Luo and C. Z. Cui (2021). "Risk assessment of antibiotic resistance genes in the drinking water system." Science of the Total Environment 800.
- Huijbers, P. M. C., C. F. Flach and D. G. J. Larsson (2019). "A conceptual framework for the environmental surveillance of antibiotics and antibiotic resistance." Environment International 130.
- Jia, J., G. Gomes-Silva, M. Plath, B. B. Pereira, C. UeiraVieira and Z. Z. Wang (2021). "Shifts in bacterial communities and antibiotic resistance genes in surface water and gut microbiota of guppies (*Poecilia reticulata*) in the upper Rio Uberabinha, Brazil." Ecotoxicology and Environmental Safety 211.



- Jovanovic, O., C. F. Amabile-Cuevas, C. Shang, C. Wang and K. W. Ngai (2021). "What Water Professionals Should Know about Antibiotics and Antibiotic Resistance: An Overview." *Acs Es&T Water* 1(6): 1334-1351.
- Karkman, A., T. T. Do, F. Walsh and M. P. J. Virta (2018). "Antibiotic-Resistance Genes in Waste Water." *Trends in Microbiology* 26(3): 220-228.
- Korzeniewska, E. and M. Harnisz (2018). "Relationship between modification of activated sludge wastewater treatment and changes in antibiotic resistance of bacteria." *Science of the Total Environment* 639: 304-315.
- Manaia, C. M. (2017). "Assessing the Risk of Antioiotic Resistance Transmission from the Environment to Humans: Non-Direct Proportionality between Abundance and Risk." *Trends in Microbiology* 25(3): 173-181.
- Martinez, J. L., T. M. Coque and F. Baquero (2015). "What is a resistance gene? Ranking risk in resistomes." *Nature Reviews Microbiology* 13(2): 116-123.
- Narciso-da-Rocha, C., I. Vaz-Moreira, L. Svensson-Stadler, E. R. B. Moore and C. M. Manaia (2013). "Diversity and antibiotic resistance of *Acinetobacter* spp. in water from the source to the tap." *Applied Microbiology and Biotechnology* 97(1): 329-340.
- Osinska, A., E. Korzeniewska, M. Harnisz, E. Felis, S. Bajkacz, P. Jachimowicz, S. Niestepski and I. Konopka (2020). "Small-scale wastewater treatment plants as a source of the dissemination of antibiotic resistance genes in the aquatic environment." *Journal of Hazardous Materials* 381.
- Osinska, A., E. Korzeniewska, M. Harnisz and S. Niestepski (2019). "Quantitative Occurrence of Antibiotic Resistance Genes among Bacterial Populations from Wastewater Treatment Plants Using Activated Sludge." *Applied Sciences-Basel* 9(3).
- Reichert, G., S. Hilgert, J. Alexander, J. C. R. de Azevedo, T. Morck, S. Fuchs and T. Schwartz (2021). "Determination of antibiotic resistance genes in a WWTP-impacted river in surface water, sediment, and biofilm: Influence of seasonality and water quality." *Science of the Total Environment* 768.
- Rizzo, L., C. Manaia, C. Merlin, T. Schwartz, C. Dagot, M. C. Ploy, I. Michael and D. Fatta-Kassinos (2013). "Urban wastewater treatment plants as hotspots for antibiotic resistant bacteria and genes spread into the environment: A review." *Science of the Total Environment* 447: 345-360.
- Sengupta, S., M. K. Chattopadhyay and H. P. Grossart (2013). "The multifaceted roles of antibiotics and antibiotic resistance in nature." *Frontiers in Microbiology* 4.
- Shi, P., S. Y. Jia, X. X. Zhang, T. Zhang, S. P. Cheng and A. M. Li (2013). "Metagenomic insights into chlorination effects on microbial antibiotic resistance in drinking water." *Water Research* 47(1): 111-120.
- Siedlecka, A., M. Wolf-Baca and K. Piekarska (2021). "Microbial communities of biofilms developed in a chlorinated drinking water distribution system: A field study of antibiotic resistance and biodiversity." *Science of the Total Environment* 774.
- Tan, Q. W., W. Y. Li, J. P. Zhang, W. Zhou, J. P. Chen, Y. Li and J. Ma (2019). "Presence, dissemination and removal of antibiotic resistant bacteria and antibiotic resistance genes in urban drinking water system: A review." *Frontiers of Environmental Science & Engineering* 13(3).
- Winkworth-Lawrence, C. and K. Lange (2016). "Antibiotic Resistance Genes in Freshwater Biofilms May Reflect Influences from High-Intensity Agriculture." *Microbial Ecology* 72(4): 763-772.
- Wu, D., Y. L. Su, H. Xi, X. Y. Chen and B. Xie (2019). "Urban and agriculturally influenced water contribute differently to the spread of antibiotic resistance genes in a mega-city river network." *Water Research* 158: 11-21.

Xin, K., X. Chen, Z. Zhang, Z. Zhang, H. Pang, J. Yang, H. Jiang and J. Lu (2022). "Trace antibiotics increase the risk of antibiotic resistance genes transmission by regulating the biofilm extracellular polymeric substances and microbial community in the sewer." Journal of Hazardous Materials 432: 128634.

Xu, J., Y. Xu, H. M. Wang, C. S. Guo, H. Y. Qiu, Y. He, Y. Zhang, X. C. Li and W. Meng (2015). "Occurrence of antibiotics and antibiotic resistance genes in a sewage treatment plant and its effluent-receiving river." Chemosphere 119: 1379-1385.

#### **4.2. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowych (z wyłączeniem tych zawartych w pkt 4.1)**

**W okresie przed uzyskaniem stopnia doktora (2014 – 2018)** moje zainteresowania naukowe obejmowały kilka tematów naukowo-badawczych związanych z:

1. Mikrobiologiczną kontrolą jakości wody przeznaczonej do spożycia w sieciach wodociągowych wraz z monitoringiem wzrostu błony biologicznej na różnych materiałach technicznych, wykorzystywanych do budowy sieci wodociągowych,
2. Bioróżnorodnością drobnoustrojów w sieciach wodociągowych,
3. Wpływem substancji toksycznych na środowisko (wykorzystanie testów toksykologicznych).

**Ad. 1.** W swoich pierwszych pracach badawczych zajmowałam się monitoringiem wzrostu obrostów biologicznych na materiałach technicznych, z których budowane są sieci wodociągowe. W tych analizach wykorzystywałam organizmy izolowane z wrocławskich wodociągów. Wykorzystywałam szczepy, które zostały uznane za wskaźnikowe dla wybranego systemu, gdyż ich obecność była powtarzalna i została stwierdzona w wielu punktach. Podczas prowadzonych prac oceniałam wpływ korozji biologicznej na materiały techniczne, wykorzystywane do budowy sieci wodociągowych (głównie tworzyw sztucznych). Dokonałam wnikliwego przeglądu literaturowego, w którym wskazałam, jakie czynniki eksploatacyjne sieci oraz skład materiałowy rurociągów wpływają na podatność na obrosty biologiczne. Wyniki badań w tym zakresie były publikowane w formie rozdziału w monografii naukowej [Zał. 4: pkt II. 2.1] oraz artykułów w czasopismach naukowych [Zał. 4: pkt II. 4.1], [Zał. 4: pkt II. 4.2]. Ponadto efekty zostały zaprezentowane podczas konferencji krajowej w formie referatu [Zał. 4: pkt II. 7.1] oraz podczas konferencji międzynarodowej [Zał. 4: pkt II. 7.13].

W kolejnym etapie badań określiłam efektywność wykorzystania spektroskopii impedancyjnej do obserwacji adhezji mikrobiologicznej na powierzchni materiałów technicznych, jak również do analizy etapów wzrostu oraz zrywów biofilmu. Ta tematyka stanowiła podstawę rozprawy doktorskiej. Wykonałam czujnik impedancyjny, którym dokonywałam nieprzerwanych pomiarów parametrów opisujących impedancję w układzie ciągłego wzrostu biofilmu w warunkach przepływowych. Podczas analizy efektów (wykorzystanie fluorescencji oraz porównanie specyficznych regionów genu 16S rRNA w procesie DGGE) wykazałam, że materiały są w różnym stopniu kolonizowane przez bakterie (najmniej podatny na obrost biologiczny okazał się polietylen, natomiast najbardziej polibutylen). Dokonałam także analizy powierzchni czystych (nowych) materiałów technicznych po procesie produkcji, jak również po usunięciu biofilmu z powierzchni, wykorzystując mikroskop SEM i AFM. Wykazałam, że po takim procesie technologicznym powstają mikroszczeliny i mikropęknięcia, które tworzą idealne warunki dla zasiedlania mikroorganizmów. Natomiast po zrywie biofilmu analiza powierzchni pokazała znaczne zmiany w ciągłości struktury materiałów, a nawet odwarstwienia powierzchni. Efektem badań były wyniki zaprezentowane w publikacji z IF w czasopiśmie [Zał. 4: pkt II. 4.10] oraz liczne wystąpienia na konferencjach o zasięgu międzynarodowym [Zał. 4: pkt II. 7.3-6].

**Ad.2.** Kolejnym aspektem, którym zajmowałam się przed uzyskaniem stopnia doktora jest obecność konsorcjum mikroorganizmów w sieciach wodociągowych. Dokonałam charakterystyki zmienności biofilmu bakteryjnego w warunkach stresu środowiskowego. Efekt pracy przedstawiono w publikacji [Zał. 4: pkt II. 4.2] oraz w postaci wystąpień na konferencjach zagranicznych [Zał. 4: pkt II. 7.2], [Zał. 4: pkt II. 7.10-12].

Wykazałam, że zmienność gatunkowa mikroorganizmów w sieci wodociągowej jest znaczna. Z jednej strony może być spowodowana zmianami hydraulicznymi w układzie czy też awariami. Z drugiej natomiast bakterie osiadłe na wewnętrznej powierzchni rurociągów mogą tworzyć układ na kształt ekosystemu, charakteryzującego się innymi cechami niż pojedyncze komórki, w wyniku horizontalnego transferu genów.

**Ad.3.** Przed uzyskaniem stopnia doktora prowadziłam też badania próbek środowiskowych (głównie ścieków) w celu wykazania ich potencjalnych właściwości toksykologicznych z wykorzystaniem popularnych biotestów (Microtox, Daphtokit, test hamowania wzrostu rzęsy wodnej *Lemna minor*, Algaltoxkit). Podczas badań wykazałam wysoki stopień toksyczności badanych próbek ścieków po kolejnych etapach uzdatniania. Jako efekt prac zaproponowałam rekomendacje obniżające stopień toksyczności analizowanych ścieków. Efektem badań były wyniki zaprezentowane jako rozdział w monografii [Zał. 4: pkt II. 2.2], liczne artykuły w czasopismach naukowych [Zał. 4: pkt II. 4.3-5], jak również referaty konferencyjne [Zał. 4: pkt II. 7.7-7.9],

Ponadto wykonałam ocenę toksyczności rękawów impregnowanych żywicami, wykorzystywanych w oczyszczalniach ścieków, na zlecenie firmy zewnętrznej z wykorzystaniem testu Microtox. Przetestowałam dwa rodzaje materiałów impregnowanych żywicą styrenową i bezstyrenową. Jako efekt testu Microtox w badaniach wykazałam, że toksycznością wykazują się głównie materiały impregnowane żywicą bezstyrenową. Wyniki były zaskakujące, ponieważ zastąpienie styrenu innymi składnikami w żywicach utwardzalnych ma na celu poprawę ich właściwości i obniżenie toksyczności. Efekty prac zostały zaprezentowane w formie raportu dla firmy zlecającej, sugerując monitoring ekotoksyczności materiałów stosowanych przy renowacji rurociągów, jak również w postaci publikacji [Zał. 4: pkt II. 4.3].

Dodatkowo w ramach badań toksykologicznych dokonałam oceny nowych substancji wprowadzanych na rynek, wskazując na wyjątkowo wysoką ekotoksyczność kamfory i oksymu kamfory, ocenianą za pomocą systemu Microtox. Wyniki badań wstępnych zostały zaprezentowane w postaci referatu konferencyjnego [Zał. 4: pkt II. 7.14].

Mój najbardziej wartościowy opublikowany dorobek naukowy powstał po uzyskaniu stopnia doktora nauk technicznych.

**W okresie po uzyskaniu stopnia doktora (2019 – 2023)** nadal zajmowały mnie podjęte wcześniej tematy badawcze (4) a także zupełnie nowe zagadnienia (5 i 6):

4. Skład konsorcjum mikroorganizmów w sieciach wodociągowych oraz biofilmach z wykorzystaniem metod molekularnych z detekcją i monitoringiem rozprzestrzeniania się patogenów w sieciach wodociągowych,
5. Hodowla biofilmu w warunkach laboratoryjnych na materiałach wykorzystywanych w medycynie,
6. Analiza antybiotykooporności oraz monitoring genów warunkujących antybiotykooporność w sieci wodociągowej i biofilmach występujących w miejskim obiegu wody przeznaczonej do spożycia (od ujęcia do odbiorcy).

**Ad. 4.** Po obronie pracy doktorskiej postanowiłam uzupełnić informacje związane z rezystencją bakterii, pochodzących z różnych środowisk. Szczególnie interesował mnie skład konsorcjum bakteryjnego w wodzie przeznaczonej do spożycia w miejskim obiegu wody. Efektem badań był artykuł [Zał. 4: pkt II. 4.14], w którym analizowano próbki wody pobrane z sieci wodociągowej. Wykazałam, że zastosowane metody biologii molekularnej wskazują na obecność bakterii z rodzaju *Clostridium* i rodziny *Enterobacteriaceae* w analizowanych próbkach wody, natomiast gatunki wyizolowanych bakterii zostały przypisane do 4 głównych typów: *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes* i *Proteobacteria*. Stwierdziłam również, że w ponad 50% pobranych próbek wody dominowały *Proteobakterie*, obejmujące większość organizmów chorobotwórczych lub potencjalnie chorobotwórczych w wodzie. Ponadto dokonałam analizy bioróżnorodności bakterii wody wodociągowej skoncentrowanej przy użyciu membran filtracyjnych. Wykazałam analizując region V3-V6 genu 16S *rRNA* genomu bakteryjnego, że do najliczniejszych typów bakterii można zaliczyć *Cyanobacteria*, *Proteobacteria* i *Actinobacteria*. Wyniki przedstawiłam w postaci artykułu [Zał. 4: pkt II. 4. 7].

Oprócz analiz wody wodociągowej, w ramach współpracy z Miejskim Przedsiębiorstwem Wodociągowo Kanalizacyjnym we Wrocławiu dokonałam oceny bioróżnorodności biofilmów, formujących się na powierzchni urządzeń wykorzystywanych do uzdatniania wody w dwóch niezależnych zakładach, zaopatrujących prawie całe miasto Wrocław w wodę do picia. Rezultaty przedstawiłam w artykule [Zał. 4: pkt II. 4.8]. Wykazałam, że dominującymi typami bakterii we wszystkich analizowanych próbkach były *Proteobacteria* i *Bacteroidetes*. Ponadto stwierdziłam, że w biofilmach, na końcowych etapach uzdatniania (powierzchnia zbiorników do filtracji na węglu aktywnym) występuje mniejsze zróżnicowanie gatunkowe organizmów. Przeprowadziłam również porównanie powstawania konsorcjum bakteryjnego biofilmu pod kątem sposobu prowadzenia procesów uzdatniania oraz wpływu wybranych parametrów fizykochemicznych wody.

Równoległe do analiz bioróżnorodności prowadziłam badania związane z detekcją i monitoringiem rozprzestrzeniania się patogenów w sieciach wodociągowych oraz biofilmach. Wykorzystując metody biologii molekularnej wykazałam bardzo nieliczną obecność patogenów (*Legionella* spp. czy *E.coli*) w sieci wodociągowej [Zał. 4: pkt II. 4.7] [Zał. 4: pkt II. 4. 15]. Warto jednak zauważyć, iż w ostatnich latach szczególną uwagę zwrócono na zagrożenia związane z eksploatacją instalacji ciepłej wody użytkowej, stwarzającej potencjalnie sprzyjające warunki do rozwoju bakterii z rodzaju *Legionella* i *Escherichia*, dlatego taki aspekt został przeze mnie rozważony i zaprezentowany w publikacji [Zał. 4: pkt II. 4. 18], w której wykazałam, że w ok. 67% przebadanych próbek ciepłej wody użytkowej obecne były *Legionella* spp., *Legionella pneumophila* i *E. coli*. W analizowanej błonie biologicznej natomiast nie zidentyfikowałam organizmów patogennych. Jedynie w biofilmach pobieranych w początkowych etapach uzdatniania wody zidentyfikowałam niektóre patogeny oportunistyczne *Pseudomonas fluorescens*, *Aeromonas veronii*, *Bacteriovorax stolpii* i *Flavobacterium* sp. [Zał. 4: pkt II. 4. 8].

**Ad. 5.** Po uzyskaniu stopnia doktora zajmowałam się również zastosowaniem metod optycznych do monitoringu wzrostu komórek *E.coli* na materiałach medycznych we współpracy z Wydziałem Podstawowych Problemów Techniki Politechniki Wrocławskiej. Zapobieganie powstawaniu biofilmu ma kluczowe znaczenie dla ograniczenia zakażeń bakteryjnych. Ma to szczególne znaczenie dla zakażeń pooperacyjnych, powikłań u pacjentów obłożnie chorych oraz krótkoterminowego rokowania u chorych na nowotwory lub wentylowanych mechanicznie. Dlatego też monitorowanie tworzenia biofilmu bakteryjnego na granicy faz ciec-ciało stałe ma kluczowe znaczenie w mikrobiologii i zapobieganiu infekcjom. Wiele powszechnych technik pomiarowych nie jest w stanie wykryć biofilmów *in situ* i wymaga ich usunięcia z powierzchni. Wyniki badań przedstawione w publikacjach [Zał. 4: pkt II. 4.6] i [Zał. 4: pkt II. 4.9] pokazują alternatywne metody (dla klasycznych metod biochemicznych i

fluorescencyjnych) analizy dynamiki tworzenia biofilmu, a nawet żywotności komórek bakteryjnych w sposób niedestrukcyjny.

**Ad. 6.** Po doktoracie zajmowałam się także analizą antybiotykooporności wrocławskiego systemu dystrybucji wody przeznaczonej do spożycia. Zaprezentowałam zarówno zmienność sezonową, jak i przestrzenną występowania antybiotykooporności, wykorzystując metody hodowlane jak i techniki biologii molekularnej. W pracy [Zał. 4: pkt II. 4.7] wykazałam, że w sieci wodociągowej bakterie odporne na ceftazydym były najbardziej rozpowszechnione, natomiast bakterie odporne na amoksylicynę, cyprofloksacynę i tetracyklinę były nieliczne. Ponadto stwierdziłam, że biofilm może być rezerwuarem determinantów antybiotykooporności w sieciach wodociągowych. Wykazałam zależność występowania genów warunkujących antybiotykooporność od pory roku i technologii oczyszczania wody. Wyniki przeprowadzonych analiz zostały opublikowane w opracowaniach jako publikacje [Zał. 4: pkt II. 4.8] i [Zał. 4: pkt II. 4.7].

### **4.3. Podsumowanie wkładu habilitantki do dyscypliny inżynieria środowiska, górnictwo i energetyka**

- ✓ Moje główne osiągnięcie, będące podstawą do ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego, stanowi monografia naukowa opublikowana w roku 2023 [I.1], której cele i wyniki omówiono w [Zał. 3 pkt 4.1.4].
- ✓ Poza tym w skład dorobku naukowego wchodzi przede wszystkim 13 artykułów opublikowanych w renomowanych czasopismach z części A listy MNiSW w latach 2019-2023, w których mój udział jest znaczny. Wszystkie te najbardziej znaczące publikacje dotyczą okresu po uzyskaniu stopnia doktora. Sumaryczny IF publikacji po uzyskaniu stopnia doktora wynosi 58,945. Szczegółowe zestawienie dorobku naukowego umieściłam w [Zał. 4 pkt II]. Moje prace są cytowane w renomowanych czasopismach światowych o czym świadczy sumaryczna liczba cytowań: 104 oraz index Hirscha  $h=6$  (Google Scholar), 54 oraz  $h=5$  (Web of Science).
- ✓ Jestem autorką ponad 20 recenzji publikacji opracowanych dla renomowanych wydawnictw światowych niezwiązanych z jednostką naukową, w której jestem zatrudniona (czasopism z części A listy MNiSW, m. in. Science of The Total Environment (IF=10,754), Chemosphere (IF= 8,943) i innych [Zał. 4 pkt II.13].

### **Mój znaczny wkład w rozwój dyscypliny inżynieria środowiska, górnictwo i energetyka**

- ✓ Stan wiedzy na temat roli rezystomu wody wodociągowej jak i biofilmu zasiedlającego powierzchnię instalacji wodociągowych w rozprzestrzenianiu lekooporności jest ciągle fragmentaryczny, dlatego zaprezentowane przeze mnie wyniki analiz w pracy [Zał. 4 pkt II. 4.8] są bardzo cenne i pozwalają wypełnić tę lukę. Warto również zaznaczyć iż wszystkie analizy zostały wykonane na rzeczywistych próbkach wody i biofilmu, co czyni otrzymane wyniki jeszcze bardziej wartościowymi i wnosi nowe informacje do mikrobiologii środowiskowej, związanej z rodzajem i częstością występowania genów warunkujących oporność na sulfonamidy,  $\beta$ -laktamy, karbapenemy, makrolidy oraz genów integrazy.

W zakresie bioróżnorodności dokonałam molekularnej oceny rezystomu bakterii, pochodzących z różnych środowisk z wykorzystaniem sekwencjonowania nowej generacji. W wodzie wodociągowej wykazałam, że gatunki bakterii zostały przypisane do 4 głównych typów: *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes* i *Proteobacteria*. Analizując konsorcjum drobnoustrojów biofilmów zasiedlających powierzchnię armatury wodociągowej wykazałam, że znaczna część wykrytych mikroorganizmów to bakterie niehodowlane, dominującymi typami bakterii we wszystkich próbkach były *Proteobacteria* i *Bacteroidetes*. Ponadto

scharakteryzowałam czynniki kształtujące bioróżnorodność bakterii występujących w błonie biologicznej. Wszystkie przeprowadzone badania pozwoliły na rekomendacje genetycznych markerów oporności bakteryjnej w aspekcie zmian sezonowych oraz wykorzystywanej technologii oczyszczania (blaTEM, blaOXA, tetA), których monitoring powinien zostać uwzględniony w standardowej analizie wody [Zał. 4: pkt I.]. Wyniki badań przedstawiłam w dwóch pracach opublikowanych w prestiżowych czasopismach z części A MNiSW (200 pkt.), co świadczy o oryginalności i wartości naukowej prowadzonych analiz [Zał. 4: pkt II. 4.14] oraz [Zał. 4: pkt II. 4.8]. Wspomniane osiągnięcie stanowi zupełnie nową tematykę podjętą przeze mnie po obronie pracy doktorskiej, której tematem był monitoring wzrostu błony biologicznej w sieciach wodociągowych z wykorzystaniem czujnika impedancyjnego.

- ✓ Dokonałam także oceny obecności patogenów w miejskim obiegu wody do picia – od miejsca ujęcia do odbiorcy. Wykazałam obecność patogenów oportunistycznych, zarówno w wodzie wodociągowej jak i biofilmach powstałych na armaturze, wykorzystując do tego celu nowatorskie, niestosowane rutynowo w badaniach wody metody badawcze (PCR, qPCR, NGS). Metody te okazały się dużo bardziej efektywne w porównaniu do podejścia klasycznego [Zał. 4: pkt II. 4. 7], [Zał. 4: pkt II. 4. 15] oraz [Zał. 4: pkt II. 4. 18].
- ✓ Przeprowadziłam także szczegółowe studia literaturowe w zakresie występowania antybiotykoopornych bakterii jak i genów warunkujących antybiotykooporność we wrocławskiej sieci wodociągowej [Zał. 4: pkt II. 4.7 – 4.8], [Zał. 4: pkt II. 4.11 – 4.18] oraz [Zał. 4: pkt I.]. Rozprzestrzenianie się mikroorganizmów lekoopornych poprzez systemy dystrybucji wody oraz udział biofilmów obecnych w systemach uzdatniania nie jest wystarczająco zbadany, a w literaturze polskiej i światowej wciąż brakuje badań dotyczących dróg rozprzestrzeniania się genów oporności na antybiotyki w środowisku, dlatego też problematyka jest aktualna a przeprowadzone przeze mnie badania pozwoliły na znaczny rozwój wiedzy związanej z w/w tematem.

## **5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.**

Podstawowym miejscem prowadzenia mojej działalności naukowej jest Wydział Inżynierii Środowiska Politechniki Wrocławskiej. Jednocześnie wykazuję się aktywnością naukową realizowaną w różnych krajowych i zagranicznych instytucjach naukowych.

Na szczególną uwagę zasługuje rozpoczęta w 2021 roku współpraca z zespołem prof. dr hab. inż. Ewy Burszty-Adamiak z Instytutu Inżynierii Środowiska Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. Od tego czasu cyklicznie składamy wspólne wnioski grantowe. W ramach konsorcjum złożyłam wniosek grantowy **OPUS 23** (NCN), w którym byłam jedynym przedstawicielem ze strony Politechniki Wrocławskiej (wnioskodawca, dysponent środków i wykonawca). Tytuł złożonego wniosku: „Badania wybranych mikrozanieczyszczeń i bakterii antybiotykoopornych w miejskim obiegu wody”. Wniosek został odrzucony jednakże w ramach uzupełnienia badań wstępnych dokonano serii pomiarów mikrozanieczyszczeń zaplanowanych w projekcie w miejskim obiegu wody w dwóch porach roku (zima i wiosna). Mój udział dotyczył określenia jakościowego i ilościowego genów warunkujących antybiotykooporność oraz genu 16S *rRNA* (metody molekularne) wraz z określeniem ogólnej liczby mikroorganizmów (metody klasyczne). Wyniki badań są na etapie przygotowania do publikacji. Ponadto w ramach współpracy 3 konsorcjantów: Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu (lider), Politechnika Wrocławska (partner), Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska (partner) złożono kolejny wniosek grantowy **OPUS 25** (NCN) – wniosek jest w trakcie oceny formalnej.

Jestem jedynym przedstawicielem konsorcjum ze strony Politechniki Wrocławskiej (wnioskodawca, dysponent środków i jedyny wykonawca).

W ramach współpracy z Katedrą Biogospodarki Stosowanej (Wydział Przyrodniczo-Technologiczny, Uniwersytet Przyrodniczy) wykonałam analizy wstępne, dotyczące skuteczności usuwania wybranych bakterii (patogenów) z wody na łupinach orzechów. W ramach prac przygotowałam węgiel aktywny o różnej porowatości z orzecha włoskiego i laskowego oraz zbadałam efektywność jego pracy pod kątem redukcji drobnoustrojów zarówno metodami klasycznymi jak i molekularnymi. Otrzymane rezultaty zebrano w formie artykułu, który jest w recenzji.

Oprócz naukowców z Uniwersytetu Przyrodniczego współpracuję z także z naukowcami z Wydziału Podstawowych Problemów Techniki z Politechniki Wrocławskiej (dyscyplina naukowa: inżynieria biomedyczna). Przedmiotem wspólnych badań było zastosowanie metod optycznych do monitoringu wzrostu komórek *E.coli* na materiałach wykorzystywanych w medycynie. Rezultaty zaprezentowano w postaci dwóch artykułów: „New measurements modalities for multi-parametric, label-free, and noncontact detection of biofilm formation on stainless steel and glass surfaces” (Measurement, MNiSW: 200 pkt, IF=5,131) oraz „The enhancement of antimicrobial photodynamic therapy of *Escherichia coli* by a functionalized combination of photosensitizers: in vitro single cell study by quantitative phase imaging” (International Journal of Molecular Sciences, MNiSW: 140, IF=6,208). Ponadto wraz z Wydziałem Mikrosystemów i Fotoniki Politechniki Wrocławskiej (dyscyplina naukowa: automatyka, elektronika, elektrotechnika i technologie kosmiczne) prowadziłam wspólne badania dotyczące monitoringu wzrostu błony biologicznej na różnych materiałach technicznych, wykorzystywanych do budowy sieci wodociągowych. Jako efekt prac powstała publikacja: „Detection of biofilm on water supply technical materials with the application of an impedance sensor” (International Journal of Environmental Research, MNiSW: 40 pkt, IF=3,229).

Tematyka związana z antybiotykoopornością bakterii izolowanych z wody czy biofilmu była wspólnym zagadnieniem realizowanym podczas dwóch zagranicznych staży naukowych. Pierwszy z nich odbyłam w okresie 01.04.2019 – 31.05.2019 r na Uniwersytecie w Porto (Universidade Católica Portuguesa, Centro de Biotecnologia e Química Fina). Tytuł odbywanego stażu to: „Różnorodność mikroorganizmów oraz detekcja genów oporności na antybiotyki w próbkach wody o niskiej zawartości bakterii”. W ramach prac dokonano izolacji genomowego DNA bakterii z sieci wodociągowej, zliczania ogólnej ich zawartości oraz detekcji genów oporności na antybiotyki (*intI1*, *sul1*, *blaOXA-48*, *blaOXA-58*, *blaKPC*, *blaCTX-M*) w próbkach wody i ścieków z wykorzystaniem techniki qPCR. Kolejny wyjazd stażowy odbył się w okresie 10.02.2020 do 14.02.2020 r. do Uniwersytetu w Mediolanie (University of Milan-Bicocca, ZooPlantLab - Dept. Biotechnology and Biosciences). Podczas pobytu odbyto szkolenie bioinformatyczne z wykorzystaniem programu QIIME 2, analizując próbki środowiskowe z różnych mikrobiomów organizmów).

Ponadto w okresie 20.20.2023r. do 03.03.2023 r. odbyłam dwutygodniowy staż na Uniwersytecie Technicznym w Ostrawie (Wydział Energetyczny do użytkowania Niekonwencjonalnych Źródeł Energii), podczas którego w Laboratorium Procesów Termicznych i Konwersji Wodoru pogłębiałam wiedzę z zakresu wykorzystania biomasy odpadowej w procesach chemicznych i termochemicznych.

Całość aktywności naukowej realizowana zarówno w uczelni jak i poza nią, została udokumentowana w załączniku 4 pt. „Wykaz osiągnięć naukowych stanowiących znaczny wkład w rozwój dyscypliny Inżynieria Środowiska, Górnictwo i Energetyka).

## 6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę.

### 6.1. Osiągnięcia dydaktyczne

Jako nauczyciel akademicki prowadziłam dotychczas w każdym semestrze zajęcia dydaktyczne zarówno na pierwszym jak i drugim stopniu studiów w formie: laboratoriów, seminarium i wykładu w wymiarze przekraczającym pensum. Część kursów prowadzona była w języku angielskim:

- ✓ Biologia w inżynierii środowiska 2 (laboratorium, Wydział Inżynierii Środowiska),
- ✓ Mikrobiologia środowiska (laboratorium, Wydział Inżynierii Środowiska, kierunki: Gospodarka o Obiegu Zamkniętym Ochrona Klimatu i Technologie Ochrony Środowiska),
- ✓ Środowiskowe zagrożenia zdrowia (laboratorium, Wydział Inżynierii Środowiska, kierunek Technologie Ochrony Środowiska),
- ✓ Biochemia (laboratorium, Wydział Inżynierii Środowiska, kierunek Technologie Ochrony Środowiska),
- ✓ Podstawy toksykologii 2 (laboratorium, Wydział Inżynierii Środowiska, kierunek Technologie Ochrony Środowiska),
- ✓ Genetyka z elementami inżynierii genetycznej (laboratorium, Wydział Inżynierii Środowiska, kierunek Technologie Ochrony Środowiska, specjalność: Bioinżynieria Środowiska),
- ✓ Genetyka z elementami inżynierii genetycznej (seminarium, Wydział Inżynierii Środowiska, kierunek Technologie Ochrony Środowiska, specjalność: Bioinżynieria Środowiska),
- ✓ Rewaloryzacja środowiska (seminarium, Wydział Inżynierii Środowiska, kierunek Technologie Ochrony Środowiska, specjalność: Bioinżynieria Środowiska),
- ✓ Sanitary biology (wykład, Wydział Inżynierii Środowiska, specjalność Environmental Quality Management)
- ✓ Sanitary biology (laboratorium, Wydział Inżynierii Środowiska, specjalność Environmental Quality Management),
- ✓ Environmental toxicology (laboratorium, Wydział Inżynierii Środowiska, specjalność Environmental Quality Management).

Przygotowałam kompletną instrukcję do ćwiczeń laboratoryjnych dla nowego przedmiotu „Genetyka z elementami inżynierii genetycznej (laboratorium)”. Dodatkowo do tego przedmiotu przetestowałam warunki prowadzonych procesów, skompletowałam i zamówiłam niezbędne odczynniki oraz instrukcje obsługi urządzeń użytkowanych na zajęciach dydaktycznych.

Dodatkowo, dla przedmiotu Sanitary biology ((laboratorium) laboratoria zostały zmienione w taki sposób, aby uczyć przeprowadzanie analiz zgodnie z obowiązującymi normami sanitarnymi środowiska (woda, gleba, odpady, ścieki), co wymagało ponownego przygotowania instrukcji do ćwiczeń w języku obcym.

Do tej pory byłam promotorem dwóch badawczych prac magisterskich. Pierwsza z nich to „Usuwanie wybranych patogenów z wody z wykorzystaniem filtracji na złożach naturalnych i syntetycznych”. Praca została wykonana we współpracy z Uniwersytetem Przyrodniczym. Kolejna dotyczyła „Wpływu wybranych farmaceutyków na aktywność dehydrogenazową osadu czynnego”.

Brałam udział w różnych pracach na rzecz Wydziału Inżynierii Środowiska np. poprzez przeprowadzanie powierzonych mi hospitacji kursów dydaktycznych.

Byłam członkiem komisji egzaminacyjnej dla specjalności dyplomowania Gospodarka Obiegu Zamkniętego – Ochrona Klimatu.



Ponadto przygotowywałam plany i efekty kształcenia dla nowych przedmiotów: Microorganisms and enzymes in bioeconomy (wykład i ćwiczenia projektowe) oraz Microbiology (wykład i ćwiczenia laboratoryjne) dla nowych kierunków studiów w języku angielskim (Bioeconomy) utworzonego na Politechnice Wrocławskiej i Uniwersytecie Przyrodniczym we Wrocławiu.

Dodatkowo dla nowo utworzonego Wydziału Medycznego na Politechnice Wrocławskiej przygotowałam plany i efekty kształcenia dla przedmiotów Biologia medyczna i genetyka (ćwiczenia laboratoryjne) oraz Mikrobiologia lekarska 1 i 2 (ćwiczenia laboratoryjne), jak również uczestniczyłam w doborze aparatury oraz niezbędnych materiałów/odczynników do utworzenia w/w wydziału.

## **6.2. Osiągnięcia organizacyjne**

- ✓ 8<sup>th</sup> Eastern European Young Water Professionals Conference, 2016, Gdańsk, Polska, członek Komitetu Organizacyjnego
- ✓ 9<sup>th</sup> Eastern European Young Water Professionals Conference, 2017, Budapeszt, Węgry, członek Komitetu Organizacyjnego
- ✓ 14<sup>th</sup> Students' Science Conference, 2016, Wrocław, Polska, członek Komitetu Organizacyjnego
- ✓ 15<sup>th</sup> Students' Science Conference, 2017, Jelenia Góra, Polska, członek Komitetu Organizacyjnego

## **6.3. Osiągnięcia popularyzujące naukę**

Współorganizowałam wycieczkę edukacyjną dla studentów do Miejskiego Przedsiębiorstwa Wodociągów i Kanalizacji we Wrocławiu w ramach środków przyznanych przez Komisję Wydziałową ds. Finansowania Działalności Studenckiej (rok akademicki 2017/2018).

Jako lider sekcji koła naukowego (Environmental Team, Sekcja Biotechnologia środowiska) przygotowałam również wniosek konkursowy o dofinansowanie badań naukowych pt. „Monitoring ekotoksyczności ścieków dopływających do oczyszczalni wraz z oceną ich toksyczności na różnych etapach oczyszczania”. Jako efekt pracy powstały dwie publikacje naukowe, których wyniki zostały zaprezentowane na studenckiej konferencji naukowej w języku angielskim (15<sup>th</sup> Students' Science Conference).

Przygotowałam i brałam udział w ekowarsztatach dla uczniów szkoły podstawowej i szkół specjalnych. Warsztaty miały na celu promować zachowania dbania o środowisko i wzrost świadomości nt. oczyszczania miejsc już zanieczyszczonych.

Koordynowałam także praktyki uczniów Technikum Ochrony Środowiska w ramach promocji wydziału i kierunku TOŚ (przeprowadzenie badań dotyczących zanieczyszczenia mikrobiologicznego powietrza wewnętrznego i zewnętrznego oraz jakości wody do picia).

W 2018 roku uczestniczyłam również w Dniach Aktywności Studenckiej i Dolnośląskim Festiwalu Nauki, promując koło naukowe Environmental Team oraz Wydział Inżynierii Środowiska.

Uczestnictwo w konferencjach naukowych zawsze odgrywało istotną rolę w mojej aktywności naukowej. Postrzegam je jako możliwość poszerzenia wiedzy z obszaru prowadzonej działalności naukowej jak również wymiany poglądów, zaprezentowania swoich osiągnięć naukowych oraz integracji środowiska naukowego. Wszystko to sprzyja nawiązywaniu i utrzymywaniu współpracy naukowej. Do tej pory uczestniczyłam łącznie w 15 konferencjach naukowych o zasięgu krajowym (1) i międzynarodowym (14) aktywnie prezentując swoje osiągnięcia podczas sesji plenarnych i posterowych, m. in.:

### **Konferencje krajowe**

- ✓ VIII Konferencja Doktorantów i Młodych Pracowników Nauki „Monitoring obrostów biologicznych w sieci dystrybucji”, 11-13 kwietnia 2016, Boguszów-Gorce

### **Konferencje międzynarodowe**

- ✓ 14th Students' Science Conference, „Fish method as one of the possibilities to detect bacteria in the water supply system.” 22-25 września 2016, Wrocław
- ✓ 8th IWA Eastern European Young Water Professionals Conference, „ Monitoring of bacterial biofilm growth by impedance spectroscopy - preliminary research.” 12-14 maja 2016, Gdańsk.
- ✓ XX International Conference for Young Scientists; „Biological growth measurement in the newly created residential areas.” 26-28 kwietnia 2017, Moskwa.
- ✓ 9th IWA Eastern European Young Water Professionals Conference, „Comparability biofilm structure on ITO sensor with forms generated on technical materials.” 24-27 maja 2017, Budapeszt, Węgry,
- ✓ 1st International Conference on Advances in Energy Systems and Environmental Engineering (ASEE17), „The application of impedance measurement to assess biofilm development on technical materials used for water supply system construction.” 2-5 lipca 2017, Wrocław, Polska,
- ✓ 15th Students' Science Conference, „Bioluminescent bacteria *Aliivibrio fischeri*: useful agents in ecotoxicological studies.”, 21-24 września 2017, Jelenia Góra, Polska,
- ✓ 15th Students' Science Conference, „Biotests and bioindication superiority over chemical-physical methods in ecotoxicology studies.”, 21-24 września 2017. Jelenia Góra, Polska,
- ✓ 1st International Conference on Advances in Energy Systems and Environmental Engineering (ASEE17), „Microbiological stimulation of phytoremediation process using *Salvinia natans* to mercury contaminated water”. 2-5 lipca, 2017, Wrocław, Polska
- ✓ 9th Conference on Interdisciplinary Problems in Environmental Protection and Engineering, EKO-DOK, „Biofilm biodiversity presented by fluorescent in situ hybridisation.”, 23-25 kwietnia 2017, Boguszów-Gorce, Polska,
- ✓ International Conference ISGRS, „The presence of antibiotic resistance genes in resistant strains isolated from tap water in Wrocław”, 3-6 październik 2018, Stambuł, Turcja.
- ✓ International Conference ISGRS, „The differences in the processes of biofilm colonization on material used for water supply system construction”, 3-6 październik 2018, Stambuł, Turcja.
- ✓ 2nd International Conference on Advances in Energy Systems and Environmental Engineering (ASEE19), „Biodiversity of organisms inhabiting the water supply network of Wrocław. Detection of pathogenic organisms constituting a threat for drinking water recipients.” 9-12 czerwca 2019, Wrocław, Polska,
- ✓ 11th IWA Eastern European Young Water Professionals Conference, „Detection of *Legionella* spp. and *E. coli* pathogens in the water supply system in Wrocław.”, 1-5 października 2019, Praga, Czechy,
- ✓ 11th IWA Eastern European Young Water Professionals Conference, „Search for materials used for tap water transmission reducing the capacity for development of biofilm – preliminary research”, 1-5 października 2019, Praga, Czechy.

Uczestnictwo w konferencjach naukowych oraz wymiana doświadczeń na stażach naukowych zawsze była istotną kwestią w mojej karierze naukowej, jednakże przez trwającą pandemię COVID-19 mobilność akademicka była ograniczona (nie możliwy był udział w konferencjach zagranicznych oraz w odbywaniu dodatkowych staży).

**7. Oprócz kwestii wymienionych w pkt. 1-6, wnioskodawca może podać inne informacje, ważne z jego punktu widzenia, dotyczące jego kariery zawodowej.**

**Urlop macierzyński**

Czerwiec 2021 r. – czerwiec 2022 r.

**Nagrody**

Moja działalność naukowo – badawcza spotkała się z uznaniem ze strony władz Uczelni. Jej wyrazem są otrzymane nagrody i wyróżnienia:

**2015**

- ✓ Nagroda Dziekana Wydziału Inżynierii Środowiska Politechniki Wrocławskiej w uznaniu wyróżniającego wkładu w działalność uczelni w roku 2019.

**2016**

- ✓ Nagroda JM Rektora Politechniki Wrocławskiej w uznaniu wyróżniającego wkładu w działalność uczelni w roku 2015.

**2020**

- ✓ Nagroda JM Rektora Politechniki Wrocławskiej w uznaniu wyróżniającego wkładu w działalność uczelni w roku 2019.

**2021**

- ✓ Laureatka konkursu SECUNDUS ogłoszonego przez JM Rektora Politechniki Wrocławskiej (druga edycja programu),
- ✓ Laureatka konkursu PRIMUS działanie 2 (premiowanie publikacji istotnie przyczyniających się do wzrostu punktacji ewaluowanych w uczelni dyscyplin naukowych) ogłoszonego przez JM Rektora Politechniki Wrocławskiej (druga edycja programu),
- ✓ Nagroda JM Rektora Politechniki Wrocławskiej w uznaniu wyróżniającego wkładu w działalność uczelni w roku 2020.

**2023**

- ✓ Laureatka konkursu SECUNDUS ogłoszonego przez JM Rektora Politechniki Wrocławskiej (trzecia edycja programu).

Ponadto otrzymałam nagrodę na międzynarodowej konferencji „14 Student’s Science Conference” za najlepszą prezentację i napisany artykuł pt. „FISH method as one of the possibilities to detect bacteria in the water supply system” w kategorii Between atoms and molecules (wrzesień 2016).

**Podczas studiów doktoranckich i zatrudnienia na Wydziale Inżynierii Środowiska uczestniczyłam w licznych szkoleniach, podnoszących kwalifikacje zawodowe:**

1. „Praktyczne szkolenie z zakresu toksyczności środowiskowej” – praktyczne zapoznanie z biotestami: Microtox, Spirotox, Thamnotoxkit, Daphnia (2016),
2. „Ocena sekwencji DNA. Projektowanie starterów i sond do PCR i qPCR” (2017),
3. „Real Time PCR” zapoznanie z przebiegiem qPCR, kluczowymi parametrami wpływającymi na wynik reakcji, sposobami optymalizacji reakcji, doбором właściwych genów referencyjnych, normalizacją ekspresji oraz analizą wyników (2018),

4. „Filogenetyka Molekularna” – Zapoznanie z poszczególnymi etapami analizy – od wyboru sekwencjiDNA do zbudowania, oceny i interpretacji drzewa filogenetycznego (UPGMA, Neighbor-Joining, Maximum Likelihood, Maksymalna Parsymonia, wnioskowanie bayesowskie) (2018),
5. „Zastosowanie techniki Real-Time PCR w analizie ekspresji genów i detekcji mikroorganizmów”, szkolenie praktyczne (2018),
3. "FISHing Bacteria", DelNAM's Summer School 2 – szkolenie z zakresu przygotowania próbek środowiskowych do fluorescencyjnej hybrydyzacji wraz z prezentacją wyników, Universidade do Porto (2021).

.....  
(podpis wnioskodawcy)