

Autoreferat

1. Imię i Nazwisko Dominika Drzewiecka

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

1996 magister biologii o specjalności mikrobiologia, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Łódzkiego, tytuł: „Wpływ etambutolu, inhibitora biosyntezy arabinogalaktanu, na degradację łańcucha bocznego steroli przez *Mycobacterium vaccae*”, promotor prof. dr hab. Leon Sedlaczek

2003 doktor nauk biologicznych w zakresie biologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego, tytuł: „Charakterystyka i klasyfikacja serologiczna kolekcji szczepów klinicznych *Proteus penneri*”, promotor prof. dr hab. Zygmunt Sidorczyk

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

1996 – 2003 asystent w Zakładzie Mikrobiologii Ogólnej Instytutu Mikrobiologii i Immunologii Uniwersytetu Łódzkiego

2003 – 2016 adiunkt w Zakładzie Mikrobiologii Ogólnej Instytutu Mikrobiologii, Biotechnologii i Immunologii Uniwersytetu Łódzkiego

od 2016 adiunkt, kierownik Pracowni Mikrobiologii Ogólnej w Zakładzie Biologii Bakterii Instytutu Mikrobiologii, Biotechnologii i Immunologii Uniwersytetu Łódzkiego

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

a) tytuł osiągnięcia naukowego/artystycznego,

**Środowiska występowania bakterii z rodzaju *Proteus*
i zróżnicowanie serologiczne tych pałeczek wśród chorych z regionu łódzkiego**

b) (autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa),

Osiągnięcie naukowe stanowi cykl sześciu publikacji (5 artykułów oryginalnych i 1 artykuł przeglądowy) o sumarycznym **IF 14,489** (zgodnie z rokiem opublikowania), sumarycznej liczbie punktów **MNiSW 140** (zgodnie z rokiem opublikowania) (**MNiSW₂₀₁₆ 155**) i sumarycznej liczbie **cytowań 33** (lipiec 2017):

1. D. Drzewiecka, N. P. Arbatsky, A. S. Shashkov, P. Stączek, Y. A. Knirel, Z. Sidorczyk „Structure and serological properties of the O-antigen of two clinical *Proteus mirabilis*

- strains classified into a new *Proteus* O77 serogroup” (2008) *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, **54**, 185-194, doi: 10.1111/j.1574-695X.2008.00462.x. (IF₂₀₀₈ **1,972**; MNiSW₂₀₀₈ **20 p.**; MNiSW₂₀₁₆ **Pathogens and Disease 25 p.**; **liczba cytowań 13**)
2. D. Drzewiecka, N. P. Arbatsky, P. Stączek, A. S. Shashkov, Y. A. Knirel, Z. Sidorczyk “Structural and serological studies of the O-polysaccharide of strains from a newly created *Proteus* O78 serogroup prevalent in Polish patients” (2010) *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, **58**, 269-276, doi: 10.1111/j.1574-695X.2009.00632.x. (IF₂₀₁₀ **2,494**; MNiSW₂₀₁₀ **15 p.**; MNiSW₂₀₁₆ **Pathogens and Disease 25 p.**; **liczba cytowań 10**)
 3. N. P. Arbatsky, D. Drzewiecka, A. Palusiak, A. S. Shashkov, A. Zabłotni, M. Siwińska, Y. A. Knirel “Structure of a Kdo-containing O polysaccharide representing *Proteus* O79, a newly described serogroup for some clinical *Proteus* genomospecies isolates from Poland” (2013) *Carbohydr. Res.*, **379**, 100-105, doi: 10.1016/j.carres.2013.07.001. (IF₂₀₁₃ **1,966**; MNiSW₂₀₁₃ = **25 p.**; MNiSW₂₀₁₆ = **25 p.**; **liczba cytowań 6**)
 4. D. Drzewiecka, A. S. Shashkov, N. P. Arbatsky, Y. A. Knirel: “Immunochemical characterization of the O antigens of two *Proteus* strains, O8-related antigen of *Proteus mirabilis* 12 B-r and O2-related antigen of *Proteus* genomospecies 5/6 12 B-k, infecting a hospitalized patient in Poland” (2016) *Microbiology* **162**, 789-797, doi: 10.1099/mic.0.000274 (IF₂₀₁₅ **2,268**; MNiSW₂₀₁₆ **25 p.**; **liczba cytowań 1**)
 5. D. Drzewiecka, N. P. Arbatsky, A. N. Kondakova, A. S. Shashkov, Y. A. Knirel: “Structures and serospecificity of threonine-containing O polysaccharides of two clinical isolates belonging to the genus *Proteus* and their classification into O11 subserogroups” (2016) *J. Med. Microbiol.* **65**(11), 1260 – 1266, doi: 10.1099/jmm.0.000360 (IF₂₀₁₆ **2,159**; MNiSW₂₀₁₆ = **20 p.**; **liczba cytowań 0**)
 6. D. Drzewiecka: “Significance and roles of *Proteus* bacteria in natural environments” (2016) *Microb. Ecol.* **72**, 741–758, doi:10.1007/s00248-015-0720-6 (IF₂₀₁₆ **3,630**; MNiSW₂₀₁₆ **35 p.**; **liczba cytowań 3**)
- c) omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.

Wprowadzenie

Bakterie z rodzaju *Proteus* znane są i opisywane przede wszystkim jako patogeny warunkowe, które wywołują infekcje układu moczowego i ran, zwłaszcza u osób z obniżoną odpornością, w tym zakażenia wewnątrzszpitalne. Intensywnie badane są ich liczne cechy zjadliwości, umożliwiające proces patogenezy, takie jak na przykład, charakterystyczna dla tych bakterii, spektakularna zdolność do wzrostu rozpełzłego. Sukcesywnie pojawiają się prace podsumowujące dotychczasowy stan wiedzy, uwzględniające kolejne poznane aspekty i podstawy molekularne chorobotwórczości pałeczek *Proteus* spp. [Różalski i wsp., 1997; O’Hara i wsp., 2000; Drzewiecka i Sidorczyk, 2005; Manos i Belas, 2006; Różalski i wsp., 2012]. Najwięcej prac oryginalnych i przeglądowych poświęcono gatunkowi *P. mirabilis*,

mającemu największe znaczenie kliniczne [np. Morgenstein i wsp. 2010; Armbruster i Mobley, 2011; Schaffer i Pearson, 2015].

Pałeczki *Proteus* spp. charakteryzują się dość silnie zróżnicowanym szczepowo lipopolisacharydem (LPS), który cechuje zarówno stosunkowo duża różnorodność regionu rdzeniowego, jak i wielość form serologicznych polisacharydu O-swoistego (antygeny O) w porównaniu do innych rodzajów bakterii Gram-ujemnych. Do tej pory wyodrębniono 80 serogrup O w rodzaju *Proteus* [Siwińska i wsp. 2015], czyli znacznie więcej niż np. w rodzajach *Citrobacter* (43), *Yersinia* (~35) czy *Pseudomonas* (~30). W bardziej zróżnicowanych serologicznie gatunkach *Escherichia coli* (~180) i *Vibrio cholerae* (~200) można wskazać szczepy szczególnie zjadliwe i rozpowszechnione wśród chorych, np. O157 *E. coli* i O1 *V. cholerae* [Wang 2010, Knirel 2011]. Pierwszy klasyczny już schemat klasyfikacji serologicznej rodzaju *Proteus*, obejmujący 49 serogrup O, zaproponował Kauffmann [1966]. Serogrupy te zawierały jedynie szczepy znanych wtedy gatunków *P. mirabilis* i/lub *P. vulgaris*. Badania prowadzone w wielu różnych krajach pokazały, że wśród izolatów klinicznych *P. mirabilis* i *P. vulgaris* niektóre serotypy są bardziej rozpowszechnione i częściej izolowane od chorych (zwłaszcza O3 oraz O10, O13, O26, O28 i O30, a także O6, O11, O23, O24, O27 i O29) [Larsson 1980]. Schemat klasyfikacyjny został następnie rozszerzony głównie dzięki badaniom, prowadzonym w Zakładzie Mikrobiologii Ogólnej UŁ, a obejmującym, co ważne, nie tylko izolaty kliniczne *P. mirabilis* i *P. vulgaris*, ale również szczepy gatunków wydzielonych później z *P. vulgaris*: *P. penneri* [Hickman i wsp. 1981] (liczne szczepy kliniczne) oraz *P. hauseri* i *P. genomospecies* 4, 5 i 6 [O'Hara i wsp. 2000] (sklasyfikowano tylko szczepy typowe dla tych gatunków). Opisano aż 31 kolejnych serogrup O. Określone zostały struktury chemiczne powtarzających się podjednostek O-swoistych poszczególnych serotypów, wśród których wykryto nietypowe składniki cukrowe, aminokwasowe i inne, wskazano glukozaminę jako powszechnie występującą (z jednym wyjątkiem) i galaktozaminę jako drugi najpowszechniejszy składnik antygenów O *Proteus* spp. [Knirel i wsp., 2011]. Antygeny O tych bakterii mogą mieć budowę liniową lub rozgałęzioną, przeważają te o charakterze kwaśnym (niosące sumaryczny ładunek ujemny), a powtarzające się jednostki złożone są z 3-6 reszt cukrowych. Nie określono natomiast, które serotypy O wśród pałeczek z rodzaju *Proteus* są najbardziej wirulentne i rozpowszechnione wśród pacjentów [Knirel i wsp. 2011]. Warto podkreślić, że ostatnie opisane 4 serogrupy O77, O78, O79 i O80 [Drzewiecka i wsp. 2008 i 2010, Arbatsky i wsp. 2013, Siwińska i wsp. 2015] zostały utworzone na podstawie badań szczepów klinicznych pochodzących od polskich pacjentów i wykrywane są wciąż nowe serotypy O [Drzewiecka – dane niepublikowane]. Część tych badań stanowi fragment monotematycznego dzieła naukowego, opisanego poniżej. Wcześniej informacje na temat cech serologicznych pałeczek *Proteus* spp. nie opierały się na analizie szczepów izolowanych od chorych w Polsce, gdyż poświęcono im nieliczne badania serologiczne, odnoszące się głównie do gatunku *P. penneri*, który, podobnie jak *P. vulgaris* i wywodzące się z niego gatunki, występuje u pacjentów dość rzadko.

W celu scharakteryzowania serologicznego szczepów *Proteus* spp., izolowanych od polskich pacjentów, nawiązałam współpracę z czterema największymi laboratoriami

mikrobiologicznymi na terenie Łodzi (Laboratorium Medyczne „Synevo” Łódź-Korczak, Diagnostyka Sp. z o.o. Oddział w Łodzi, Laboratorium przy Wojewódzkim Specjalistycznym Szpitalu im. Biegańskiego w Łodzi, Pracownia Mikrobiologii w Zakładzie Diagnostyki Laboratoryjnej Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego nr 1 im. Barlickiego UM w Łodzi), z których uzyskiwałam izolaty kliniczne *Proteus* spp. Równocześnie prowadziłam analizę obecności tych bakterii w kale zdrowych i zakażonych ochotników. Zgromadziłam w ten sposób obszerną kolekcję ponad 600 izolatów *Proteus* spp. wszystkich gatunków, z wyjątkiem *P. hauseri*. Na prowadzenie badań uzyskałam grant MNiSW nr N N401 020135 (projekt własny), którym kierowałam, realizowany w Zakładzie Mikrobiologii Ogólnej UŁ w latach 2008 – 2013. Uzyskane wyniki stały się podstawą kilku opublikowanych prac oryginalnych (kilka kolejnych prac przygotowywanych jest do druku), wliczając cztery publikacje prezentowane poniżej w ramach osiągnięcia naukowego. Poszerzyły one wiedzę na temat częstości i źródeł izolacji oraz cech fizjologicznych i serologicznych poszczególnych gatunków, w tym także rzadziej izolowanych i słabiej poznanych. Do tej pory bowiem najmniej danych odnosi się do *P. hauseri* oraz nienazwanych gatunków genomowych 4, 5 i 6, które wyodrębniono z gatunku *P. vulgaris*. Każda nowa informacja na temat częstości i źródeł izolacji, a także właściwości tych gatunków, może stanowić cenne uzupełnienie skąpej wiedzy na ich temat.

W dotychczasowym piśmiennictwie brakowało też prac przeglądowych, które charakteryzowałyby pałeczki *Proteus* spp. w różnych środowiskach ich występowania i opisywały ich stosunki wzajemne z innymi organizmami nie tylko w kontekście patogenezy. Do tej pory bakterie te rozważano głównie w aspekcie klinicznym oraz jako składnik mikroflory jelitowej człowieka i niektórych zwierząt, przypisywano im też funkcję allochtonicznych destruentów w zanieczyszczonej kałowo wodzie i glebie, akcentując ich udział w rozkładzie martwej materii organicznej dzięki właściwościom proteo- czy ureolitycznym [Manos i Belas 2006, Różalski i wsp. 2012]. Niedostępne były natomiast prace analizujące obecność nieklinikcznych szczepów *Proteus* spp. jako autochtonów w środowisku naturalnym, sumujące dotychczasowy stan wiedzy i kompleksowo określające znaczenie tych bakterii w poszczególnych niszach ekologicznych.

Celem naukowym prac, składających się na osiągnięcie naukowe, będące podstawą postępowania habilitacyjnego, było określenie swoistości serologicznej szczepów klinicznych *Proteus* spp. izolowanych od pacjentów z Polski, w regionie łódzkim, a także zebranie i podsumowanie informacji na temat znaczenia tych bakterii w rozmaitych środowiskach ich występowania i poszerzenie wiedzy na temat słabiej poznanych gatunków *Proteus*.

Publikacja 1 [Drzewiecka i wsp. 2008]

Brak wiedzy na temat zróżnicowania serologicznego izolatów klinicznych z rodzaju *Proteus* na terenie Polski oraz rozpowszechnienia poszczególnych serotypów O tych bakterii wśród pacjentów (możliwość transmisji szczepów) zainspirował podjęcie badań prezentowanych w omawianej pracy. Ich przedmiotem były dwa szczepy z rodzaju *Proteus*, wyizolowane od 73 letniej pacjentki Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego UM nr 1 im.

Barlickiego w Łodzi. Pierwszy szczep, wyizolowany z moczu, uzyskano z laboratorium mikrobiologicznego Szpitala i określono jako *Proteus mirabilis* na podstawie wyniku testu API 20 E (BioMérieux, Francja). Drugi szczep wyizolowano z kału pacjentki stosując podłoża Nogrady i McConkeya i zdiagnozowano laktozo-ujemne i ureazo-dodatnie kolonie jako należące do gatunku *P. mirabilis* na podstawie analizy wybranych cech biochemicznych. Wykazano pokrewieństwo obu szczepów w teście Dienesa, którego zdolność różnicująca porównywalna jest do rybotypowania [Pfaller i wsp. 2000], gdyż nie zaobserwowano linii granicznej pomiędzy ich wzrostem rozpełzłym. Metodą rep-PCR z wykorzystaniem sekwencji starterowej Box A1R i pary starterów Rep 1 i 2 Dt uzyskano identyczne obrazy rozdziału elektroforetycznego w żelu agarozowym amplikonów genomowego DNA obu szczepów. Wykorzystanie startera Box A1R ujawniło amplikon o wielkości 530 pz, uważany za typowy dla gatunku *P. mirabilis* [Serwecińska i wsp. 1998], natomiast użycie starterów Rep pozwoliło na uzyskanie bardziej złożonego wzoru rozdziału amplikonów, co sprzyja lepszemu różnicowaniu szczepów.

- Powyższe wyniki wskazały, że oba izolaty są w istocie jednym klonem, a zakażenie układu moczowego pacjentki najprawdopodobniej nastąpiło w wyniku autoinfekcji, ze względu na bliskość cewki moczowej i odbytu.

Zdolność do intensywnego wzrostu rozpełzłego świadczyła, że oba szczepy syntetyzują kompletny lipopolisacharyd (LPS) zawierający lipid A, oligosacharyd rdzeniowy i polisacharyd O-swoisty, co potwierdził rozdział elektroforetyczny w żelu poliakrylamidowym wyekstrahowanych metodą fenolowo-wodną preparatów LPS obu szczepów, barwionych srebrem. Wzory rozdziału zawierały zarówno frakcje niskocząsteczkowe (lipid A-region rdzeniowy), jak i wolno migrujące w żelu frakcje z przyłączonymi łańcuchami O-swoistymi o zróżnicowanej liczbie powtarzających się podjednostek.

- Powyższe wyniki wykazały, że oba izolaty są formami gładkimi S.

Aby określić jaki typ antygeny O prezentują badane szczepy, otrzymano szczepionkę i króliczą surowicę odpornościową, swoistą dla jednego z izolatów. Uzyskano silne i identyczne reakcje obu preparatów LPS z otrzymaną surowicą zarówno w ELISA (reakcje te zniknęły w wyniku całkowitej adsorpcji przeciwciał biomasami szczepów – metodę tę, która okazała się bardzo skuteczna, zaproponowano i zastosowano tu po raz pierwszy), jak i techniką Western blotting, która jednocześnie pokazała, że w surowicy nieobecne były przeciwciała antyrdzeniowe (brak reakcji z niskocząsteczkową frakcją LPS pozbawionych polisacharydu O-swoistego).

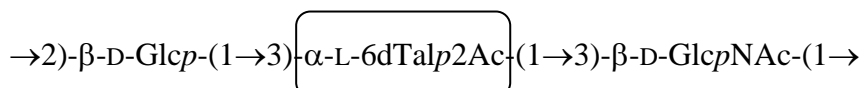
- Wykazano zatem identyczność antygenów O obu szczepów, co koreluje z wykazanim wcześniej ich pokrewieństwem.

W celu klasyfikacji serologicznej izolatów ich lipopolisacharydy poddano reakcjom w ELISA z kompletem króliczych surowic odpornościowych, swoistych dla opisanych serogrup O1-O76 rodzaju *Proteus*, a uzyskaną surowicę odpornościową poddano reakcjom

z zestawem LPS O1-O76. Uzyskano jednak tylko nieliczne reakcje krzyżowe, słabsze niż reakcje w układach homologicznych.

- Na tej podstawie określono badane szczepy jako unikalne serologicznie, których nie można zaklasyfikować do żadnej z opisanych dotychczas serogrup O w rodzaju *Proteus*.

Polisacharyd O-swoisty poddano badaniom strukturalnym we współpracy z zespołem prof. Y. A. Knirela z Instytutu Chemii Organicznej Rosyjskiej Akademii Nauk w Moskwie (Rosja), w wyniku których określono budowę chemiczną powtarzającej się jednostki nowego antygeny O. Struktura ta jest trójcukrowa, liniowa, odmienna od opisanych do tej pory [Knirel i wsp. 2011] i zawiera nietypowy składnik deoksytalozę:



- Unikalność serologiczna i strukturalna badanych antygenów O dały podstawę do utworzenia nowej serogrupy O77 w rodzaju *Proteus*, którą reprezentowały szczepy wyizolowane od łódzkiej pacjentki.

Dalsze badania serologiczne metodą ELISA z wykorzystaniem surowic natywnych i adsorbowanych biomasami krzyżowo reagujących szczepów i techniką Western blotting pozwoliły wykazać, że jednostronną reakcją krzyżową surowicy O22 z LPS O77 warunkuje podobieństwo serologiczne regionu rdzeniowego (w surowicy O77 wykazano wcześniej brak przeciwciał antyrdzeniowych), natomiast podobną swoistość serologiczną szczepów O77, O2 i O68 warunkuje wspólny dwucukrowy epitop 3)- β -D-GlcpNAc-(1 \rightarrow 2)- β -D-Glcp, który odpowiada za ich reakcje krzyżowe. Brak wzajemnych reakcji krzyżowych pomiędzy antygenami O77, O66 i O15, które zawierają identyczny dwucukier α -L-6dTalp2Ac-(1 \rightarrow 3)- β -D-GlcpNAc, a swoistymi dla nich surowicami dowodzi, że element ten nie odgrywa roli epitopu swoistości serologicznej.

- Określono swoistość serologiczną LPS szczepów *P. mirabilis*, reprezentujących nową serogrupę O77 w rodzaju *Proteus*.

Publikacja 2 [Drzewiecka i wsp. 2010]

Wykrycie nowego, nieznanego wcześniej serotypu O77, prezentowanego przez dwa izolaty *P. mirabilis* izolowane od łódzkiej pacjentki, u której prawdopodobnie doszło do autoinfekcji, skłoniły do badań nad zróżnicowaniem dalszych izolatów klinicznych tych bakterii. Przedmiotem badań prezentowanej pracy było siedem szczepów, które zdiagnozowano jako *P. mirabilis*, wyizolowanych od pięciu pacjentek Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego UM nr 1 im. Barlickiego w Łodzi. Pięć izolatów pochodziło z moczu tych chorych, pozostałe z kału dwóch pacjentek. Wszystkie szczepy poza jednym izolatem z moczu wykazały zdolność do wzrostu rozpełzłego, a brak linii demarkacyjnej na styku ich kolonii w teście Dienes'a sugerował ich ściśle pokrewieństwo, potwierdzone metodą rep-PCR z wykorzystaniem startera Box AIR oraz pary starterów Rep 1R-Dt + Rep 2-Dt, jak

w poprzedniej **publikacji 1 [Drzewiecka i wsp. 2008]**. Uzyskano identyczne wzory rozdziału amplikonów DNA genomowego w żelu agarozowym dla wszystkich badanych szczepów, łącznie ze szczepem niepełzającym. Podobnie jak poprzednio, amplifikacja z użyciem startera Box A1R skutkowałą uwidocznieniem amplikonów o wielkości 530 pz, uznanych za typowe dla gatunku *P. mirabilis* i amplikonów o wielkości 1300 pz, charakterystycznych dla całego rodzaju *Proteus*, natomiast efektem użycia pary starterów Rep-Dt było uzyskanie bardziej złożonych wzorów rozdziału produktów reakcji PCR.

- Wyniki wykonanych badań sugerowały, że poszczególne izolaty są kopiami jednego szczepu, który rozprzestrzenił się wśród pacjentek prawdopodobnie w wyniku zakażenia wewnątrzszpitalnego, a jego rezerwuarem mogły być jelita chorych.

Wszystkie badane izolaty, łącznie ze szczepem nie wykazującym zdolności do wzrostu rozpełzłego, syntetyzowały pełny LPS zawierający część O-swoistą, co potwierdziła analiza metodą SDS-PAGE. Wybarwione srebrem wzory rozdziału cząsteczek LPS wyekstrahowanych klasyczną metodą fenolowo-wodną wykazywały obecność zarówno najmniejszych cząsteczek, złożonych tylko z lipidu A i oligosacharydu rdzeniowego, jak i coraz większych, zbudowanych dodatkowo z łańcuchów O-swoistych, zawierających coraz więcej powtarzających się podjednostek i coraz wolniej migrujących w żelu.

- Wykazano, że wszystkie badane szczepy, także izolat niepełzający, posiadały antygen O i były formami gładkimi S.

W celu określenia ich przynależności serologicznej, lipopolisacharydy badanych szczepów poddano reakjom w ELISA z króliczymi surowicami odpornościowymi swoistymi dla wszystkich opisanych w rodzaju *Proteus* serogrup O, włączając nową serogrupę O77, opisaną w poprzedniej **publikacji 1 [Drzewiecka i wsp. 2008]**. Nie otrzymano żadnej silniejszej reakcji (miana nie wyższe niż 1:8.000), co wskazywało na unikalność serologiczną badanych szczepów. Uzyskano zatem szczepionkę z komórek zabitych przez ogrzanie w 100°C i króliczą surowicę odpornościową dla jednego ze szczepów, która silnie reagowała w ELISA zarówno z LPS homologicznym, jak i z preparatami LPS wszystkich pozostałych badanych szczepów (miana 1:128.000 – 1:512.000). Reakcja tej surowicy w układzie homologicznym całkowicie ustępowała po adsorpcji przeciwciał z surowicy biomasą każdego badanego szczepu, co świadczyło o identycznej swoistości serologicznej wszystkich siedmiu LPS. Uzyskano również identyczne reakcje analizowanych LPS z otrzymaną surowicą techniką Western blotting, która uwidoczniła charakterystyczny drabinkowy wzór rozdziału cząsteczek LPS, różniących się wielkością (liczbą powtarzających się podjednostek O-swoistych). Bardzo słabe reakcje uzyskano z cząsteczkami LPS pozbawionymi wielocukru O-swoistego, co świadczy o niewielkiej ilości przeciwciał anty-rdzeniowych w tej surowicy. Otrzymana surowica nie reagowała natomiast z lipopolisacharydami *Proteus* O1-O77 (w kilku przypadkach miano maksymalnie 1:8.000).

- Badane izolaty posiadały unikalny, identyczny antygen O, co potwierdzało wcześniejszy wniosek o ich ścisłym pokrewieństwie. Nie mogły zostać zaklasyfikowane do żadnej opisanej serogrupy O rodzaju *Proteus*.

Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego UM nr 1 im. Barlickiego w Łodzi (2 izolaty z ran, po jednym z bronchoaspiratu i moczu) oraz z łódzkich laboratoriów Synevo (po jednym izolacie z rany i nasienia) i Diagnostyka (1 izolat z wydzieliny z dróg oddechowych). Identyfikację gatunkową przeprowadzono na podstawie analizy cech metabolicznych użytecznych w identyfikacji fenotypowej gatunków genomowych wyodrębnionych z *P. vulgaris*, według O'Hara i wsp. [2000] (stwierdzono brak zdolności do hydrolizy eskuliny, fermentacji salicyny i ramnozy, wytwarzanie DNAzy i lipazy). Należy dodać, że nie wskazano do tej pory testów biochemicznych, które rozróżniają fenotypowo gatunki genomowe 5 i 6.

- Siedem badanych szczepów klinicznych zdiagnozowano jako *P. genomospecies* 5/6.

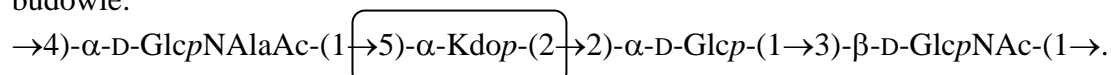
W celu przeprowadzenia analizy swoistości serologicznej szczepów, wstępnie wyekstrahowano LPS z jednego z izolatów (11 B-r) i poddano reakcjom w ELISA z kompletem surowic odpornościowych, swoistych dla serogrup O1-O78 *Proteus* (w tym dla dwu nowych grup serologicznych, wykrytych wśród szczepów *P. mirabilis* izolowanych od polskich chorych i opisanych w wyżej przedstawionych **publikacjach 1 i 2 [Drzewiecka i wsp. 2008, 2010]**). Ze względu na zupełny brak reakcji krzyżowych LPS 11 B-r uzyskano szczepionkę stanowiącą zawiesinę komórek szczepu 11 B-r zabitych ogrzewaniem w 100°C i swoistą dla niego króliczą surowicę odpornościową. Surowica ta z LPS homologicznym reagowała do miana 1:256.000, jednak nie reagowała krzyżowo z żadnym LPS O1-O78, co potwierdziło wyniki uzyskane w układzie odwrotnym (dla LPS 11 B-r).

- Całkowity brak reaktywności krzyżowej, wykazany już w **publikacji 2 [Drzewiecka i wsp. 2010]** dla serotypu O78, nie jest cechą typową dla lipopolisacharydów pałeczek *Proteus* spp., które często posiadają wspólne epitopy w części O-swoistej i/lub rdzeniowej [Knirel i wsp. 2011].

Surowica swoista dla szczepu 11 B-r rozpoznała jednak antygeny O, obecne na komórkach pozostałych sześciu badanych szczepów *P. genomospecies*, reagując z nimi w ELISA do miana identycznego jak w układzie homologicznym, a reakcja homologiczna została całkowicie zniesiona po adsorpcji surowicy biomasą każdego szczepu. Także w Western blot widoczna jest reakcja surowicy 11 B-r z cząsteczkami LPS zawierającymi łańcuchy O-swoiste różnej długości (pochodzącymi z komórek analizowanych szczepów trawionych proteinazą K w celu wyeliminowania antygenów białkowych). Wykazano natomiast brak reakcji przeciwciał antyrdzeniowych.

- Uzyskane wyniki wskazały na identyczność i jednocześnie unikalność serologiczną LPS siedmiu badanych szczepów *P. genomospecies*.

Aby ustalić strukturę tego unikalnego antygeny O, prezentowanego przez badane szczepy, LPS 11 B-r poddano badaniom chemicznym we współpracy z zespołem prof. Y. A. Knirela z Instytutu Chemii Organicznej Rosyjskiej Akademii Nauk w Moskwie (Rosja), które ujawniły, że badany antygen O tworzą liniowe powtarzające się podjednostki o wyjątkowej budowie:



- Odmienność serologiczna i wyjątkowa struktura badanego antygeny O były podstawą do utworzenia nowej serogrupy O79 w rodzaju *Proteus*, którą reprezentuje siedem szczepów klinicznych *P. genomospecies* 5/6, wyizolowanych od łódzkich pacjentów.

O wyjątkowości tego antygeny O świadczy obecność alaniny, ale przede wszystkim nietypowego dla części O-swoistej LPS składnika: kwasu 3-deoksymanno-oktulozonowego (Kdo), który wraz z trzema resztami cukrowymi buduje powtarzającą się jednostkę O-swoistą antygeny O79. Kdo jest typowym i bardzo istotnym składnikiem regionu rdzeniowego LPS bakterii Gram-ujemnych, ale w antygenach O wykryto go wcześniej tylko u bakterii z rodzaju *Cronobacter* i w antygenie O36 *Providencia alcalifaciens*.

- Serotyp *Proteus* O79 jest jedynym w rodzaju *Proteus* i niezwykle rzadkim wśród bakterii Gram-ujemnych przykładem występowania Kdo w antygenie O.

Wyniki późniejszych badań, wysłane obecnie do druku [Drzewiecka i wsp. – dane niepublikowane], dowiodły, że serotyp ten oprócz szczepów *P. genomospecies* prezentują także izolaty kliniczne *P. mirabilis*, co wskazuje na korzystną selekcję tego genotypu, nabywanego prawdopodobnie na drodze międzygatunkowego, horyzontalnego transferu genów (konwergencja). Dodać należy, że *P. genomospecies* O79 budzi zainteresowanie jako potencjalnie użyteczny w badaniach, prowadzących do uzyskania szczepionki o szerszej swoistości ze względu na obecność Kdo, składnika LPS wspólnego dla wszystkich bakterii Gram-ujemnych [Drzewiecka – dane niepublikowane].

Publikacja 4 [Drzewiecka i wsp. 2016b]

W poprzednich pracach wykazano obecność zupełnie nowych, nieznanych wcześniej serotypów O wśród szczepów klinicznych *P. mirabilis* i *P. genomospecies* 5/6 izolowanych od łódzkich pacjentów. Wskazano także, że rezerwuarem tych szczepów i źródłem autoinfekcji i infekcji krzyżowych mogą być jelita pacjentów. Przedmiotem kolejnej pracy stały się dwa izolaty od 73 letniej pacjentki Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego UM nr 1 im. Barlickiego w Łodzi, które na podstawie wstępnych testów S-R określono jako formy gładkie S i zostały wytypowane do badań serologicznych. Wytwarzanie pełnego lipopolisacharydu potwierdzono wykonując barwienie srebrem cząsteczek rozdzielonych elektroforetycznie w żelu poliakrylamidowym. Izolat z rany (w miejscu wkłucia wenflonu) zdiagnozowano jako *P. mirabilis*, jednak prawdopodobnie w tym wypadku nie jelita były źródłem zakażenia, gdyż w kale pacjentki nie udało się wykryć obecności tego szczepu. Jelita chorej zasiedlał natomiast szczep, który na podstawie cech biochemicznych zaklasyfikowano jako *P. genomospecies* 5/6.

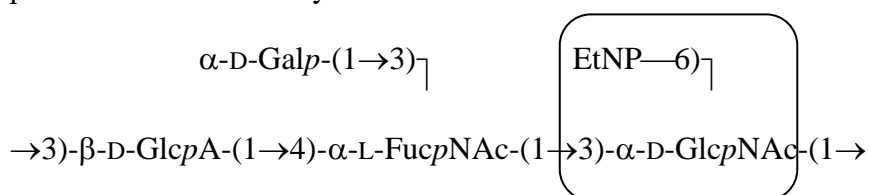
- Pacjentka była kolonizowana przez dwa różne szczepy z rodzaju *Proteus*: jelita zasiedlał szczep *P. genomospecies* 5/6, a ranę zainfekował szczep z najbardziej patogenego gatunku *P. mirabilis*.

Badania serologiczne lipopolisacharydu szczepu *P. genomospecies* z kału, prowadzone metodą ELISA, wykazały reakcje z pięcioma króliczymi surowicami

odpornościowymi spośród zestawu surowic swoistych dla serotypów *Proteus* O1-O79. Najsilniejszą reakcję (o mianie identycznym jak z LPS homologicznym) zaobserwowano z surowicą O2, słabsze z surowicami O68, O77, O65 i O22. Obraz Western blot wykazał, że epitopy odpowiedzialne za reakcje krzyżowe z surowicami O2, O68 i O77 zlokalizowane są we frakcji cząsteczek LPS zawierających O-PS, natomiast za reakcje z surowicami O22 i O65 odpowiada podobieństwo regionów rdzeniowych. Szczep badany może więc zaliczać się do wspólnej serogrupy R ze szczepami *P. vulgaris* O2, *P. penneri* O65 i *P. mirabilis* O77, którą wskazano już w **publikacji 1 [Drzewiecka i wsp. 2008]**. Z użyciem adsorpcji krzyżowo reagujących surowic biomasą szczepu *P. genomospecies* 5/6 udowodniono przynależność badanego izolatu do serogrupy O2, gdyż z surowicy tej zostały w ten sposób usunięte swoiste przeciwciała, a jej reaktywność w ELISA z LPS O2 spadła do 1:2.000. Adsorpcje surowic O68 i O77 tylko obniżyły, ale nie zniósły ich reaktywności w układach homologicznych, co można tłumaczyć faktem wyadsorbowania tylko przeciwciał, swoistych dla dwucukrowego epitopu wspólnego serotypów O2, O68 i O77: 3)-β-D-GlcpNAc-(1→2)-β-D-Glcp. Epitop ten został po raz pierwszy wskazany w **publikacji 1 [Drzewiecka i wsp. 2008]** i wyniki uzyskane w obecnej pracy potwierdziły jego obecność.

- Szczep *P. genomospecies* 5/6 obecny w jelicie pacjentki reprezentuje serotyp O2, w którego swoistości odgrywa rolę taki sam dwucukrowy epitop 3)-β-D-GlcpNAc-(1→2)-β-D-Glcp, jak w swoistości antygeny *Proteus* O77.

W badaniach serologicznych lipopolisacharydu szczepu *P. mirabilis* z rany, prowadzonych metodą ELISA, wykazano dwie reakcje krzyżowe – z surowicami O8 i O16, ale słabsze niż w układach homologicznych. Obraz Western blot wskazał, że reakcje te dotyczą wolno migrujących cząsteczek LPS, zawierających polisacharyd O-swoisty, a nie dotyczą regionu rdzenia. Struktury chemiczne O-PS O8 i O16 nie mają jednak elementów wspólnych. Adsorpcja surowicy O8 komórkami szczepu badanego zniósła jej reaktywność w układzie homologicznym, a adsorpcja surowicy O16 obniżyła jej reaktywność. Otrzymana dla szczepu badanego królicza surowica odpornościowa również wykazała reaktywność w ELISA i Western blot tylko z LPS O8 i O16, słabszą niż z LPS homologicznym. Adsorpcja tej surowicy szczepem O8 dość silnie obniżyła jej reaktywność w układzie homologicznym, podobnie szczepem O16, natomiast adsorpcja obydwoma szczepami całkowicie zniósła jej reaktywność. Wszystkie te wyniki sugerowały, że powtarzająca się podjednostka antygeny O badanego szczepu *P. mirabilis* ma budowę antygeny O8, wzbogaconą o elementy antygeny O16. Analiza struktury antygeny O szczepu wyizolowanego z rany pacjentki, przeprowadzona we współpracy z zespołem prof. Y. A. Knirela z Instytutu Chemii Organicznej Rosyjskiej Akademii Nauk w Moskwie (Rosja), potwierdziła te przypuszczenia. Dodatkowym składnikiem okazała się być fosfoetanolamina, przyłączona do N-acetyloglukozaminy w antygenie O8. Ten właśnie dwuskładnikowy epitop rozpoznawały przeciwciała w surowicy O16:



- Szczep *P. mirabilis* infekujący ranę pacjentki reprezentuje nową podgrupę O8 a,b. Jego serospecyficzność warunkowana jest między innymi przez epitop zawierający fosfoetanolaminę.

Rodzaj *Proteus* obejmuje kilkanaście serogrup złożonych z podgrup, w przeciwieństwie np. do rodzajów *Citrobacter* czy *Providencia*. Serogrupa O8 obejmuje wiele gatunków, oprócz *P. mirabilis* zawiera także szczepy *P. vulgaris*, *P. penneri* i *P. genomospecies 5*, więc wykształcenie serotypu O8 może być wynikiem konwergencji i nabycia genów biosyntezy antygeny O8 poprzez ruchome elementy genetyczne (fagi, plazmidy, sekwencje insercyjne), co wykazywano dla innych rodzajów bakterii [Wang i wsp. 2010]. Z drugiej strony serotyp O8a,b mógł wyewoluować z O8a na drodze dywergencji, przez nabycie genu swoistej dla antygeny O transferazy fosfoetanolaminy. Składnik ten, obecny w 11 serotypach O *Proteus* spp. [Knirel i wsp. 2011], może być w jakiś sposób korzystny dla tych bakterii.

- Międzygatunkowy charakter serogrupy O8 może świadczyć o możliwości nabywania tego serotypu w drodze horyzontalnego transferu genów (konwergencja), natomiast pojawienie się podserotypu O8a,b mogło nastąpić w wyniku dywergencji jako wyraz adaptacji do warunków lub ewazji.

Publikacja 5 [Drzewiecka i wsp. 2016a]

W przedstawionych wyżej **publikacjach 1, 2, 3 i 4 [Drzewiecka i wsp. 2008, 2010, 2016b; Arbatsky i wsp. 2013]** wykazano, że wśród izolatów klinicznych z gatunku *P. mirabilis* i mniej poznanych gatunków genomowych, wyizolowanych od łódzkich pacjentów, pojawiają się nowe, nieznanne dotychczas serotypy O. Zaobserwowano również dość typowe dla rodzaju *Proteus* podobieństwa serologiczne i międzygrupowe reakcje krzyżowe (**publikacje 1 i 4 [Drzewiecka i wsp. 2008, 2016b]**), a zróżnicowanie serologiczne tych bakterii manifestowało się także niewielkimi zmianami w stosunku do serotypu O8, skutkującymi wyodrębnieniem nowego podserotypu (**publikacja 4 [Drzewiecka i wsp. 2016b]**).

Przedmiotem badań prezentowanych w omawianej tu **publikacji 5** były kolejne dwa szczepy wyizolowane od pacjentek dwóch łódzkich szpitali. Zostały one wytypowane do badań serologicznych na podstawie wstępnych testów S-R, jako formy wytwarzające antygeny O. W oparciu o ich aktywność metaboliczną izolaty te zdiagnozowano jako *P. mirabilis* (z moczu) oraz *P. genomospecies 5/6* (z rany). Podczas wstępnego typowania serologicznego w ELISA zaobserwowano reakcje wyekstrahowanych preparatów LPS tych szczepów tylko z surowicami swoistymi dla antygenów *P. mirabilis* O11, *P. vulgaris* O22 i *P. penneri* O65 spośród zestawu surowic O1-O79, jednak reakcje te były słabsze niż w układach homologicznych. Królicze surowice odpornościowe, otrzymane dla badanych izolatów, rozpoznały LPS O11, a także reagowały krzyżowo z lipopolisacharydami badanych

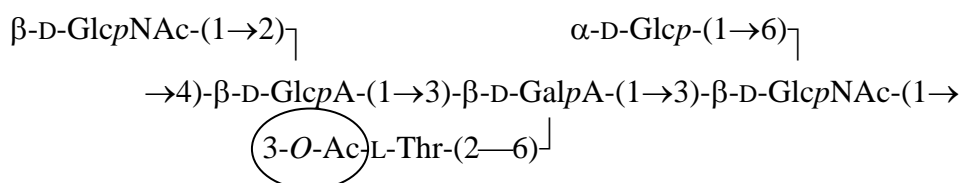
szczepów, choć reakcje te były słabsze niż w układach homologicznych. Technika Western blotting pokazała, że reakcje krzyżowe trzech surowic (dwóch badanych i O11) z odpowiadającymi im trzema lipopolisacharydami zlokalizowane były na poziomie wolniej migrujących w żelu cząsteczek zawierających O-PS, natomiast brak było w tych surowicach przeciwciał antyrdzeniowych.

- Obydwa badane szczepy wykazały podobieństwo serologiczne antygenów O do szczepu *P. mirabilis* O11.

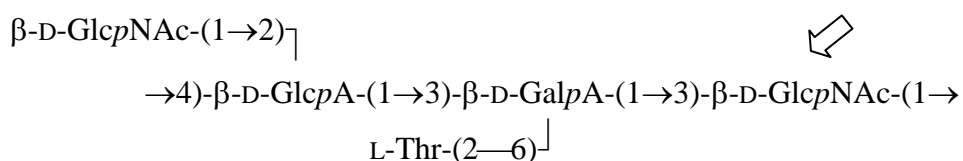
Obraz Western blot wykazał, że zaobserwowana w ELISA jednostronna reakcja surowicy O22 z LPS szczepów badanych i O11 spowodowana była z kolei podobną swoistością regionów rdzeniowych LPS tych czterech szczepów. Surowica O22 jest bogata w przeciwciała antyrdzeniowe, natomiast dla surowic badanych i surowicy O11a z powodu nieobecności przeciwciał antyrdzeniowych nie zaobserwowano krzyżowej reakcji z LPS O22. Analogiczny przykład podobieństwa serologicznego oligosacharydu rdzeniowego badanych szczepów i *P. vulgaris* O22, wykazanego jednostronnie tylko dzięki reakcjom surowicy O22, opisano w **publikacji 1 [Drzewiecka i wsp. 2008]** i w **publikacji 4 [Drzewiecka i wsp. 2016b]**.

- Szczepy badane i *P. mirabilis* O11 wykazują podobny serotyp R jak *P. vulgaris* O22.

Wykazane wyżej podobieństwo serologiczne LPS badanych szczepów i *P. mirabilis* O11 okazało się nie być całkowite, gdyż adsorpcje tych surowic biomasami krzyżowo reagujących szczepów nie usuwały z surowic wszystkich przeciwciał, co świadczyło o różnicach w antygenach O tych szczepów, przy czym najbardziej odmienny serologicznie był badany izolat *P. mirabilis* z moczu. Wyniki badań serologicznych całkowicie odzwierciedlały różnice strukturalne, wykazane we współpracy z zespołem prof. Y. A. Knirela z Instytutu Chemii Organicznej Rosyjskiej Akademii Nauk w Moskwie (Rosja). Szczep *P.* genomospecies 5/6 wyizolowany z rany miał prawie identyczną budowę O-PS jak szczep *P. mirabilis* O11, a wykryte różnice serologiczne spowodowane były dodatkową acetylacją reszty treoniny, znajdującej się w odgałęzieniu bocznym antygeny O tego szczepu:



Antygen O szczepu *P. mirabilis* wyizolowanego z moczu pozbawiony był reszty glukozy – jednego z trzech podstawników bocznych obecnych w antygenie O11:



- Serogrupę O11 podzielono na dwie podgrupy: O11a, reprezentowaną przez badany izolat z moczu *P. mirabilis* oraz O11 a,b, reprezentowaną przez dotychczasowy szczep *P. mirabilis* O11 i badany izolat z rany *P. genomospecies* 5/6.

Serogrupa O11 jest czternastą w rodzaju *Proteus*, zawierającą podgrupy. Coraz większe różnicowanie antygenów O może być wynikiem adaptacji do zmieniających się warunków środowiska lub ewolucji przed odpowiedzią układu immunologicznego chorego. Obserwowane konwergentne nabywanie serotypu O11 przez szczepy różnych gatunków *Proteus* może świadczyć o tym, że ten typ antygeny O jest w jakiś sposób korzystny dla drobnoustrojów. Spostrzeżenie to potwierdza fakt, że serogrupa O11 należy do najliczniejszych i najbardziej rozpowszechnionych wśród pacjentów z regionu łódzkiego, co przedstawiono w kolejnej pracy, wysłanej do druku [Drzewiecka i wsp. – dane niepublikowane].

Publikacja 6 [Drzewiecka 2016]

Informacje na temat cech serologicznych szczepów klinicznych *Proteus* spp., przedstawione w omówionych wyżej **publikacjach 2 i 3 [Drzewiecka i wsp. 2010, Arbatsky i wsp. 2013]**, a także na temat testu Dienes, zastosowanego w powyższych **pracach 1 i 2 [Drzewiecka i wsp. 2008, 2010]**, zostały podsumowane w artykule przeglądowym, dotyczącym znaczenia i roli *P. mirabilis* (odmieńca niezwykłego), *P. vulgaris* (odmieńca zwyczajnego), *P. penneri* (odmieńca Pennera), *P. hauseri* (odmieńca Hausera) i nienazwanych gatunków genomowych *Proteus* w naturalnych środowiskach ich występowania.

- Jest to jedyna praca przeglądowa, obejmująca aktualną wiedzę na temat środowisk, w których bakterie *Proteus* spp. występują jako mikroflora naturalna, autochtoniczna.

W artykule tym zebrano informacje na temat obecności pałeczek z rodzaju *Proteus* w organizmie człowieka, zwłaszcza w jelitach i na skórze rąk (sposób transmisji infekcji pokarmowych tymi bakteriami), krótko podsumowując także ich rolę chorobotwórczą. Wskazano w nim, że obecność pałeczek *Proteus* spp. w wodzie może być uznawana za wskaźnik jej fekalnego zanieczyszczenia, źródło infekcji oraz genów oporności na antybiotyki. Omówiono tu liczne przykłady rozmaitych zwierząt, od których izolowano te bakterie, wskazując, że mogą one pełnić nie tylko znaną rolę patogenów czy komensali w przewodzie pokarmowym. Bakterie z rodzaju *Proteus* uznane zostały za probiotyczne dla wielu zwierząt morskich, wykazano obopólnie korzystny charakter ich stosunków z roztocami pasożytującymi na skórze bydła, natomiast współżycie tych pałeczek z określonymi gatunkami much mięsnych, krocionoga czy owocożernego nietoperza można uznać za ścisłą symbiozę.

- Stawia to w nowym świetle pałeczki *Proteus* spp., które dotychczas znane były głównie jako mikroorganizmy pasożytnicze, warunkowe patogeny człowieka i zwierząt.

Nieoczekiwane pozytywne cechy przejawiają także szczepy, które autochtonicznie występują w środowisku glebowym. Do tej pory uważano obecność tych mikroorganizmów w glebie za skutek jej fekalnego zanieczyszczenia i przypisywano im głównie rolę allochtonicznych destruentów, rozkładających materię organiczną pochodzenia zwierzęcego dzięki swoim właściwościom proteolitycznym. Omawiany artykuł nie potwierdził tych opinii. Zgromadzono w nim liczne przykłady glebowych szczepów *Proteus* sp., *P. mirabilis*, *P. vulgaris* i *P. hauseri*, które nie tylko świetnie przystosowały się do trudnych warunków w środowiskach zanieczyszczonych związkami ropopochodnymi, metalami ciężkimi, pestycydami, barwnikami czy innymi ksenobiotykami, ale także potrafią je aktywnie i wydajnie utylizować. Ze środowisk wodnych izolowano natomiast szczepy *P. mirabilis*, które prowadziły heterotroficzną nityfikację, a powstający azotan redukowały do azotu cząsteczkowego w procesie oddychania beztlenowego. Zasugerowano więc ich potencjalną użyteczność w oczyszczaniu ścieków z azotu (ważnego pierwiastka biogenego), zwłaszcza w toksycznej postaci amoniaku.

- Podane przykłady świadczą o tym, że pałeczki *Proteus* spp. są istotne nie tylko z klinicznego punktu widzenia, a ich naturalne, zróżnicowane zdolności metaboliczne mogą być wykorzystane w praktyce.

Można wykorzystywać cechy enzymatyczne szczepów środowiskowych nietypowe dla szczepów chorobotwórczych w bioremediacji gleb, a także w ochronie roślin, gdyż wiele szczepów *Proteus* spp. izolowanych z ryzosfery różnych roślin uznano za wspomagające ich wzrost (PGPR – plant growth promoting rhizobacteria), a niektóre wykazywały także działanie antagonistyczne w stosunku do szkodliwych pleśni i nicieni (biokontrolny czynnik ochrony roślin). Oczywiście aktualne pozostają postawione w konkluzjach pytania – choćby o to, czy i jak różnią się szczepy kliniczne i środowiskowe, czy autochtoniczne szczepy glebowe niosą geny oporności na antybiotyki oraz czynniki chorobotwórczości, czy ich wykorzystywanie stanowiłoby potencjalne zagrożenie dla zdrowia człowieka i zwierząt? Odpowiedzi na te i inne pytania mogłyby wyjaśnić jakie czynniki i w jaki sposób kształtują różne style życia bakterii z rodzaju *Proteus*. Dodać należy, że ostatnio, już po wysłaniu opisywanej pracy do druku, pojawiły się doniesienia, charakteryzujące dwa nowe środowiskowe gatunki z rodzaju *Proteus*: *P. terrae* (odmieniec ziemny), izolowany z gleby w Niemczech [Behrendt i wsp. 2015] oraz *P. cibarius* (odmieniec jadalny), izolowany z fermentowanego dania koreańskiego, przyrządzanego z owoców morza [Hyun i wsp. 2016].

- Przytoczone dane potwierdzają, że rozważanie pałeczek z rodzaju *Proteus* wyłącznie w aspekcie ich chorobotwórczości jest niepełne, a charakteryzując te drobnoustroje należy uwzględnić ich znaczenie w nieklinicznych środowiskach i niszach życiowych.

Podsumowanie

- ✓ Odrębność serologiczna i strukturalna badanych szczepów była podstawą utworzenia trzech nowych serogrup O77, O78 i O79 oraz dwóch nowych podgrup O w serogrupach

- O8 i O11, co świadczy o dużej heterogenności, unikalności i zmienności szczepów *Proteus* spp. izolowanych od łódzkich pacjentów.
- ✓ Określenie zakresu epitopów swoistości serologicznej poszczególnych serotypów O i podobieństw w zakresie regionu rdzeniowego LPS, a także wykrycie Kdo jako składnika antygeny O79 może być w przyszłości wykorzystane w opracowywaniu wieloważnych szczepionek odpornościowych.
 - ✓ Międzygatunkowy charakter niektórych serogrup O w rodzaju *Proteus* może świadczyć o konwergentnym nabywaniu tych serotypów w drodze horyzontalnego transferu genów i ich selekcji pozytywnej (wynik adaptacji do zmieniających się warunków lub ewazji).
 - ✓ Wykazano prawdopodobieństwo transmisji między chorymi (np. w wyniku zakażenia wewnątrzszpitalnego) szczepu o serotypie O78, którego rezerwuarem mgły być jelita chorych (autoinfekcja), a potwierdzona w późniejszych badaniach dominacja serogrupy O78 może być skutkiem większej oporności na antybiotyki izolatów *Proteus* O78 lub innych, nieustalonych na razie cech.
 - ✓ Wykazano, że obecność szczepu *Proteus* sp. w jelitach nie musi się wiązać z infekcją innych miejsc i odwrotnie, gdyż szczep *P. genomospecies* 5/6 kolonizujący jelita pacjentki nie był przyczyną autoinfekcji, a ranę chorej zakaził szczep z bardziej patogennego gatunku *P. mirabilis*.
 - ✓ Rozszerzono wiedzę o źródłach izolacji i właściwościach szczepów klinicznych *P. genomospecies* 5/6.
 - ✓ Po raz pierwszy zebrano i podsumowano wiadomości na temat obecności i znaczenia pałeczek z rodzaju *Proteus* (w tym rzadkich i słabo poznanych gatunków *P. penneri*, *P. hauseri* i *P. genomospecies*) w różnych środowiskach i ekosystemach (gleba, woda, zwierzęta, rośliny, człowiek).

Piśmiennictwo

- Arbatsky NP, Drzewiecka D, Palusiak A, Shashkov AS, Zabłotni A, Siwińska M, Knirel YA (2013) Structure of a Kdo-containing O polysaccharide representing *Proteus* O79, a newly described serogroup for some clinical *Proteus* genomospecies isolates from Poland. *Carbohydr Res* **379**, 100-105
- Armbruster CE, Mobley HLT (2012) Merging mythology and morphology: the multifaceted lifestyle of *Proteus mirabilis*. *Nat Rev Microbiol* **10(11)**: 743-754
- Behrendt U, Augustin J, Spröer C, Gelbrecht J, Schumann P, Ulrich A (2015) Taxonomic characterisation of *Proteus terrae* sp. nov., a N₂O-producing, nitrate-ammonifying soil bacterium. *Antonie van Leeuwenhoek*, **108**: 1457–1468
- Drzewiecka D (2016) Significance and roles of *Proteus* bacteria in natural environments. *Microbiol Ecol* **72**:741–758
- Drzewiecka D, Arbatsky NP, Kondakova AN, Shashkov AS, Knirel YA (2016a) Structures and serospecificity of threonine-containing O polysaccharides of two clinical isolates belonging to the genus *Proteus* and their classification into O11 subserogroups. *J Med Microbiol* **65(11)**:1260-1266
- Drzewiecka D, Arbatsky NP, Shashkov AS, Stączek P, Knirel YA, Sidorczyk Z (2008) Structure and serological properties of the O-antigen of two clinical *Proteus mirabilis* strains classified into a new *Proteus* O77 serogroup. *FEMS Immunol Med Microbiol* **54**:185-194

- Drzewiecka D, Arbatsky NP, Stączek P, Shashkov AS, Knirel YA, Sidorczyk Z (2010) Structural and serological studies of the O-polysaccharide of strains from a newly created *Proteus* O78 serogroup prevalent in Polish patients. *FEMS Immunol Med Microbiol* **58**:269-276
- Drzewiecka D, Shashkov AS, Arbatsky NP, Knirel YA (2016b) Immunochemical characterization of the O antigens of two *Proteus* strains, O8-related antigen of *Proteus mirabilis* 12 B-r and O2-related antigen of *Proteus* genomospecies 5/6 12 B-k, infecting a hospitalized patient in Poland. *Microbiology* **162**:789-797
- Drzewiecka D, Sidorczyk Z (2005) Characterization of *Proteus penneri* species – human opportunistic pathogens. *Post Mikrobiol* **44**:113-126
- Hickman FW, Steigerwalt AG, Farmer III JJ, Brenner DJ (1982) Identification of *Proteus penneri* sp. nov., formerly known as *Proteus vulgaris* indole negative or as *Proteus vulgaris* biogroup 1. *J Clin Microbiol* **15**, 1097-1102
- Hyun DW, Jung MJ, Kim MS, Shin NR, Kim PS, Whon TW, Bae JW (2016) A novel swarming bacterium, *Proteus cibarius* sp. nov., from Jeotgal, a traditional Korean fermented seafood, and an emended description of the genus *Proteus*. *Int J Syst Evol Microbiol*, doi 10.1099/ijsem.0.001002.
- Kauffmann F (1966) *Proteus*. In: Kauffmann F (ed) The bacteriology of *Enterobacteriaceae*. Munksgaard Copenhagen, pp 333–360
- Knirel YA (2011) Structure of O-antigens, in: Knirel Y.A., Valvano M.A. (Eds.), Bacterial lipopolysaccharides. Structure, chemical synthesis, biogenesis and interaction with host cells. Springer, Wien, New York, pp. 21-39
- Knirel YA, Perepelov AV, Kondakova AN, Senchenkova SN, Sidorczyk Z, Różalski A & Kaca W (2011) Structure and serology of O-antigens as the basis for classification of *Proteus* strains. *Innate Immun* **17**, 70-96
- Larsson P (1984) Serology of *Proteus mirabilis* and *Proteus vulgaris*. *Methods Microbiol* **14**:187–214
- Manos J, Belas R (2006) The genera *Proteus*, *Providencia*, and *Morganella*. In: Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer K-H, Stackebrandt E (eds) The Prokaryotes (3rd edn.) Springer pp. 245-269
- Morgenstein RM, Szostek B, Rather PN (2010) Regulation of gene expression during swarmer cell differentiation in *Proteus mirabilis*. *FEMS Microbiol Rev* **34**:753-763
- O'Hara CM, Brenner FW, Miller JM (2000) Classification, identification, and clinical significance of *Proteus*, *Providencia*, and *Morganella*. *Clin Microbiol Rev* **13**: 534-546
- Pfaller MA, Mujeeb I, Hollis RJ, Jones RN, Doern GV (2000) Evaluation of the discriminatory powers of the Dienes test and ribotyping as typing methods for *Proteus mirabilis*. *J Clin Microbiol* **38**:1077-1080
- Różalski A, Sidorczyk Z, Kotełko K (1997) Potential virulence factors of *Proteus* bacilli. *Microbiol Mol Biol Rev* **61**: 65-89
- Różalski A, Torzewska A, Moryl M, Kwil I, Maszewska A, Ostrowska K, Drzewiecka D, Zabłotni A, Palusiak A, Siwińska M, Stączek P (2012) *Proteus* sp. – an opportunistic bacterial pathogen – classification, swarming growth, clinical significance and virulence factors. *Folia Biol Oecol* **8**:1-17
- Schaffer JN, Pearson MM (2015) *Proteus mirabilis* and urinary tract infections. *Microbiol Spectr* **3**(5):1-66
- Senior BW (1997) Media and tests to simplify the recognition and identification of members of the *Proteeae*. *J Med Microbiol* **46**: 39-44

Serwecińska L, Cieślowski T, Pytlos M, Jaworski A, Kaca W (1998) Genomic fingerprinting of *Proteus* species using repetitive sequence based PCR (rep-PCR). *Acta Microbiol Pol* **47**: 313-319

Siwińska M, Levina EA, Ovchinnikova OG, Drzewiecka D, Shashkov AS, Różalski A, Knirel YA (2015) Classification of a *Proteus penneri* clinical isolate with a unique O-antigen structure to a new *Proteus* serogroup, O80. *Carbohydr Res* **407**:131-136

Wang L, Wang Q, Reeves PR (2010) The variation of O-antigens in gram-negative bacteria, in: Wang, X., Quinn, P.J. (Eds.), Endotoxins: structure, function and recognition. Springer, Dordrecht, Heidelberg, London, New York, pp. 123-152

6. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo – badawczych (artystycznych).

Poszczególne osiągnięcia wymieniono szczegółowo w załączniku 3 i odniesiono tu według zastosowanej tam numeracji (punkty II A, D, I, J i III B, D, L).

a) przed doktoratem

W trakcie studiów odbyłam staż studencki na uczelniach w Wielkiej Brytanii i Holandii w ramach programu TEMPUS (**III L**), a za wyróżniające się wyniki w nauce otrzymałam list gratulacyjny Rektora UŁ (**III D.1**). Po zakończeniu studiów w 1996 r. zostałam zatrudniona na stanowisku asystenta w Zakładzie Mikrobiologii Ogólnej Instytutu Mikrobiologii i Immunologii Uniwersytetu Łódzkiego. Podjęłam wtedy tematykę realizowaną w Zakładzie, dotyczącą charakterystyki i klasyfikacji serologicznej kolekcji bakterii z gatunku *P. penneri*, izolowanych od pacjentów z różnych krajów. Wspecjalizowałam się zwłaszcza w analizie wyekstrahowanych lipopolisacharydów badanych szczepów metodą SDS-PAGE, czyli rozdziału elektroforetycznego w żelu poliakrylamidowym i barwienia srebrem, a także metodą Western blotingu. Mój udział w opublikowanych w tym czasie pracach polegał także na prowadzeniu i przechowywaniu badanych kolekcji szczepów, a także na uzyskiwaniu szczepionek i króliczych surowic odpornościowych, swoistych dla analizowanych bakterii. 1.10.2000 r. uzyskałam nagrodę zespołową MEN za współautorstwo cyklu prac nt. „Lipopolisacharydy bakterii Gram-ujemnych – struktura chemiczna, swoistość antygenowa, znaczenie w chorobotwórczości” (**nagroda II J**). Efektem badań z moim udziałem w tym czasie było utworzenie czterech nowych serogrup O (wraz z podgrupami) w rodzaju *Proteus* oraz określenie reakcji krzyżowych i swoistości serologicznej nowych serotypów (**doniesienia międzynarodowe III B.1., B.3. i krajowe B.20., B.22., B.23.**). Nowa serogrupa O64, należąca do najliczniejszych, zawierała 11 szczepów klinicznych *P. penneri* i została podzielona na trzy podgrupy, różniące się nieco swoistością serologiczną i strukturą chemiczną antygenów O (**publikacja II A.7.**). Nowo utworzona serogrupa O72 objęła dwa szczepy *P. penneri*, reprezentujące różne podgrupy (**publikacja II A.8.**). Kolejne izolaty *P. penneri* o identycznej swoistości serologicznej zaliczono do opisanej już wcześniej w rodzaju *Proteus* serogrupy O17. Jest to serogrupa międzygatunkowa, a wykonane badania pokazały, że oprócz szczepów *P. mirabilis* i *P. vulgaris* serotyp ten prezentują także izolaty kliniczne *P. penneri*, choć antygen O tych ostatnich zawiera nieco inny podstawnik boczny (**publikacja II A.9.**). Przedstawicielem i jedynym w tym czasie reprezentantem nowej serogrupy O60 był niekliniczny szczep *P. myxofaciens*, wyizolowany z larwy ćmy brudnicy

nieparki. Wykazano reaktywność krzyżową tego serotypu z antygenem *P. mirabilis* O13 oraz *Providencia rustigiani* O14 i *Providencia alcalifaciens* O23, spowodowaną wspólnym aminokwasowym epitopem w odgałęzieniu bocznym (**publikacja II A.11**). Badania opublikowane w powyższych pracach prowadziłam jako wykonawca **grantów II I.1. i I.2.**

Doniesienia międzynarodowe III B.2. i krajowe B.21., B.24. oraz publikacja II A.10. były skutkiem badań, jakie podjęłam w ramach pracy doktorskiej. Praca ta obejmowała analizę serologiczną kolekcji 54 szczepów klinicznych *P. penneri*, sprowadzonych z Wielkiej Brytanii i Kanady, finansowana była z grantu promotorskiego KBN (autor wniosku i wykonawca **grantu II I.3.**) Jeden z badanych izolatów okazał się być odmienny serologicznie od wcześniej opisanych serotypów O w rodzaju *Proteus*, co stało się podstawą do utworzenia kolejnej nowej w rodzaju *Proteus* serogrupy O73, której swoistość serologiczną determinował dwuskładnikowy epitop zawierający fosfoetanolaminę w odgałęzieniu bocznym, przyłączoną do reszty glukozy.

b) po doktoracie

Po obronie pracy doktorskiej opublikowałam pozostałe jej wyniki, dotyczące klasyfikacji badanej kolekcji ponad 50 szczepów klinicznych *P. penneri* do poszczególnych serogrup O w rodzaju *Proteus*. Praca ta pokazała, że najliczniejszymi serogrupami były O65 (24 % badanych szczepów), O64a i O61. Aż 72 % szczepów zaklasyfikowano do serogrup, obejmujących tylko gatunek *P. penneri*, a 28 % do serogrup międzygatunkowych, w tym do serogrupy O8, która nie zawierała do tej pory przedstawicieli gatunku *P. penneri*. Wyniki te zawarto w **doniesieniach międzynarodowych III B.4. i krajowych III B.25. i B.26.** oraz w **publikacji II A.12.** Efektem badań, prowadzonych w ramach pracy doktorskiej, była także praca przeglądowa, sumująca dotychczasową wiedzę na temat występowania, opisanych czynników patogenności, znaczenia klinicznego, oporności na antybiotyki i cech serologicznych lipopolisacharydu stosunkowo mało poznanego gatunku *P. penneri* (**publikacja II A.13.**).

Jednocześnie uczestniczyłam także w prowadzonym w Zakładzie Mikrobiologii Ogólnej nurcie badań serologicznych szczepów klinicznych *Proteus* spp., sprowadzanych z różnych krajów, jako wykonawca **grantu II I.4.** Efektem moich prac było współautorstwo w dwóch publikacjach, opisujących swoistość serologiczną i strukturę antygenów O szczepów *P. mirabilis* i *P. vulgaris*, zaliczonych do nowych serogrup w rodzaju *Proteus*: O54 (**publikacja II A.14.**) i O76 (**publikacja II A.16.**). Uczestniczyłam także w analizie reaktywności krzyżowej i swoistości serologicznej serotypu O65 na przykładzie szczepu *P. vulgaris*, który zaliczono do tej serogrupy (**publikacja II A.15.**). Uzyskiwane przeze mnie wyniki badań serologicznych przedstawiane były także w postaci **doniesień międzynarodowych (III B.12.) i krajowych (III B.27. i B.28.)**.

Po zakończeniu badań do pracy doktorskiej i opublikowaniu jej wyników podjęłam nowy temat badawczy, dotyczący analizy izolatów klinicznych *Proteus* spp. pochodzących z Polski. Do tej pory szczepy z naszego kraju właściwie nie były badane serologicznie, nie licząc niewielkiej grupy szczepów należących do stosunkowo rzadko występującego gatunku *P. penneri*. Nie wiadomo było jakie serotypy pojawiają się wśród izolatów od polskich

pacjentów i które z nich dominują, a więc osiągają sukces ekologiczny. W celu realizacji tego tematu, dzięki uprzejmości czterech największych łódzkich laboratoriów mikrobiologicznych (Laboratorium Medyczne „Synevo” Łódź-Korczak, Diagnostyka Sp. z o.o. Oddział w Łodzi, Laboratorium przy Wojewódzkim Specjalistycznym Szpitalu im. Biegańskiego w Łodzi, Pracownia Mikrobiologii w Zakładzie Diagnostyki Laboratoryjnej Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego nr 1 im. Barlickiego UM w Łodzi) w ciągu kilku lat zgromadziłam obszerną kolekcję, liczącą ponad 600 szczepów *Proteus* spp., izolowanych od pacjentów z regionu łódzkiego. Na badania uzyskałam grant MNiSW (projekt własny), którym kierowałam, był on realizowany zespołowo w Zakładzie Mikrobiologii Ogólnej UŁ w latach 2008-2013 (**grant II I.5.**). Wykonane badania pozwoliły określić z jaką częstością izoluje się od chorych poszczególne gatunki rodzaju *Proteus*, jak często trafiają się wśród nich formy szorstkie R, zbadano zdolność do wzrostu rozpełzłego izolatów, ich swoistość serologiczną oraz wrażliwość na antybiotyki. Stwierdzono duże zróżnicowanie i unikalność serologiczną szczepów klinicznych *Proteus* spp. w regionie łódzkim, wytypowano najbardziej rozpowszechnione serotypy O, zbadano możliwość transmisji szczepów między pacjentami. Wyniki tych badań zawarto w pracy wysłanej niedawno do druku, kolejne prace są przygotowywane do publikacji. Efektem realizacji tego projektu badawczego są również liczne **doniesienia konferencyjne międzynarodowe (III B.5-9., B.13-18.) i krajowe (III B.29-32., B.34-40., B.43-47., B.49., B.52, B.53., B.56.), nagroda konferencyjna III D.3.** oraz cztery prace oryginalne z monotematycznego cyklu publikacji, stanowiących podstawę przewodu habilitacyjnego, opisanego wyżej, a także **publikacja II A.17.** W publikacji tej zawarto wyniki badań swoistości serologicznej i reakcji krzyżowych oraz struktury chemicznej szczepu *P. penneri*, wyizolowanego z rany pacjenta łódzkiego szpitala, reprezentującego nową serogrupę O80 w rodzaju *Proteus*. Przygotowywane są do druku kolejne publikacje, dotyczące charakterystyki nowych serotypów O *Proteus*, w sumie więc wśród chorych w regionie łódzkim potwierdziliśmy występowanie co najmniej kilkunastu nowych, nieznanych wcześniej, unikalnych serotypów O badanych bakterii [Drzewiecka i wsp. – dane niepublikowane]. Należy dodać, że szczepy ze zgromadzonej przeze mnie kolekcji są wykorzystywane także w innych projektach badawczych.

Wyrazem mojego zainteresowania względnie chorobotwórczymi bakteriami z rodzaju *Proteus* był mój udział w przygotowaniu dwóch publikacji przeglądowych na temat tych pałeczek. W wieloautorskiej **publikacji II D.20.** przedstawiono najnowszy stan wiedzy na temat chorobotwórczości pałeczek z rodzaju *Proteus*, które uznawane są za patogeny warunkowe, jednak w sprzyjających warunkach mogą stać się przyczyną przede wszystkim zakażeń układu moczowego (ZUM), ale także infekcji ran i innych infekcji, zwłaszcza wewnątrzszpitalnych. Omówiono cechy chorobotwórczości tych bakterii, takie jak: fimbrie, rzęski, ureaza, proteazy degradujące np. przeciwciała, systemy pozyskiwania żelaza, biofilm, toksyny czy lipopolisacharyd, który pełni funkcję endotoksyny, a także warunkuje swoistość serologiczną *Proteus* spp. Dużo uwagi poświęcono również ich zdolności do wzrostu rozpełzłego, genom i czynnikom regulującym ten proces. W **publikacji II A.18.** oraz **doniesieniu krajowym III B.51.** poruszono zagadnienia, związane z profilaktyką zakażeń układu moczowego wywoływanych przez bakterie z rodzaju *Proteus*, zwłaszcza z gatunku *P. mirabilis*, które są istotnym czynnikiem ZUM, w tym ciężkich, nawracających

i z groźnymi powikłaniami np. w postaci kamieni moczowych. Infekcje te grożą zwłaszcza pacjentom cewnikowanym, a także innym osobom z obniżoną odpornością czy wadami anatomicznymi układu moczowego, szczególnie kobietom. Oprócz innych metod profilaktyki ZUM dobrym rozwiązaniem może być stosowanie szczepień profilaktycznych dla osób z grupy ryzyka. W pracy omówiono wady i zalety dostępnych obecnie szczepionek, zawierających całe zabite komórki różnych uropatogenów, a także wyniki badań nad opracowaniem skutecznych szczepionek, zawierających koniugowane antygeny powierzchniowe *P. mirabilis*. Nieefektywne okazały się białka rzęskowe, natomiast najbardziej obiecującymi składnikami szczepionek wydają się być antygeny fimbrii.

Kolejnym zagadnieniem, dotyczącym badanych przeze mnie bakterii, było określenie swoistości serologicznej szczepów *P. mirabilis*, infekujących psy (**doniesienie III B.48.**). Jako opiekun Sekcji Mikrobiologicznej Studenckiego Koła Naukowego Biologów wraz z członkami Sekcji podjęłam z kolei badania, polegające na określeniu metodą mikrorozcieńczeń wpływu bakteriobójczego i bakteriostatycznego ekstraktów roślinnych z mięty i pokrzywy na izolaty z ran *Proteus* spp., czego efektem były doniesienia na konferencji studenckie **III B.54., B.55. i B.57.**

W ramach opieki nad Sekcją brałam udział w realizacji także innych projektów badawczych. Określano stopień nosicielstwa *Staphylococcus aureus* w jamie nosowogardłowej ochotników – pracowników i studentów naszego Wydziału oraz wrażliwość izolatów gronkowca złocistego na antybiotyki (**doniesienia III B.10. i B.41.**). Prowadzono także badania mikrobiologiczne kąpielisk w Łodzi i zbiorników wodnych w pobliżu stacji terenowych Uniwersytetu Łódzkiego w czasie letnich obozów naukowych, oznaczając bakterie wskaźnikowe kałowego zanieczyszczenia wody (grupa *coli*, enterokoki) oraz ogólną liczbę drobnoustrojów psychro- i mezofilnych (**doniesienia III B.11., B.33., B.42., B.58.**).

Moje zainteresowanie mikrobiologią środowiskową realizuje się także we współpracy z Katedrą Biofizyki Molekularnej UŁ, dotyczącej analizy jakości wód jezior położonych w Borach Tucholskich. Wykonywane przeze mnie badania zanieczyszczenia fekalnego tych zbiorników (obecności pałeczek grupy *coli*) oraz oznaczanie ogólnej liczby drobnoustrojów psychro- i mezofilnych, wykonywane równoległe z analizami fizyko-chemicznymi, zaowocowały **doniesieniami międzynarodowym i krajowym (III B.19. i B.50).**

Kolejnym nurtem badawczym, również związanym z analizą obecności i zróżnicowania mikroorganizmów w środowiskach naturalnych, który współrealizuję we współpracy z zespołem prof. Milтона da Costy z Uniwersytetu w Coimbrze (Portugalia), są badania drobnoustrojów środowisk ekstremalnych, występujących na terenie Polski. Są to zwłaszcza środowiska o wysokim stopniu zasolenia i wysokiej temperaturze, jak kopalnie soli i źródła termalne. Nietypowe drobnoustroje, jakie można się spodziewać w takich środowiskach, to przede wszystkim halofilne / termofilne archeony oraz bakterie. Budzą one nasze zainteresowanie ze względu na unikalne cechy budowy i metabolizmu, które umożliwiają przystosowanie się do ekstremalnych warunków bytowania, a które znajdują rozmaite zastosowania w praktyce (np. w różnych dziedzinach przemysłu). Przede wszystkim nasze badania mają jednak aspekt poznawczy, a ich celem jest poznanie bioróżnorodności

drobnoustrojów zamieszkujących środowiska skrajne w naszym kraju (w tym nowych, nie opisanych wcześniej gatunków). Efektem naszych badań stała się **publikacja II A.19.**, w której opisano właściwości nowego gatunku archeonów halofilnych, wyizolowanego z solanki w byłej kopalni soli w Baryczy koło Wieliczki, który nazwaliśmy *Halorhabdus rudnickae*. Prowadzimy badania kolejnych ekstremalnych nisz ekologicznych, starając się o uzyskanie grantu na dofinansowanie tych prac, do czego motywują nas dotychczas otrzymane obiecujące wyniki, w tym wykrycie kolejnego nowego gatunku archeonów halofilnych (dane niepublikowane).

Podsumowanie:

Łączny IF (zgodnie z rokiem publikacji): **39,750** (łączny IF₂₀₁₆ **46,455**)

Łącznie MNiSW (zgodnie z rokiem publikacji): **336 p.** (łącznie MNiSW₂₀₁₆ **486 p.**)

Łącznie cytowania (WoS – lipiec 2017): **134** (bez autocytowań: **93**)

IH (WoS – lipiec 2017): **8** (Scopus lipiec 2017: **9**)

7. Omówienie osiągnięć dydaktyczno – popularyzatorskich i organizacyjnych.

Poszczególne osiągnięcia wymieniono szczegółowo w załączniku 3 (punkty III C-Q) i odniesiono tu według zastosowanej tam numeracji.

Istotną i ważną dla mnie część mojej pracy na Uniwersytecie Łódzkim stanowi działalność dydaktyczna i popularyzowanie nauki oraz działalność organizacyjna.

Opracowałam i prowadzę wykłady kursowe dla studentów UŁ kierunków: Mikrobiologia (Wydział Biologii i Ochrony Środowiska) oraz Analityka chemiczna (Wydział Chemii), a także liczne seminaria, ćwiczenia i pracownie specjalistyczne na kierunkach: Mikrobiologia, Biotechnologia, Biomonitoring, Biologia, Ochrona środowiska, Chemia kosmetyczna i Analityka chemiczna (**III I.a**). Opiekowałam się pracami magisterskimi sześciu magistrantów, wypromowałam 15 magistrów i ośmiu licencjatów (na kierunku Mikrobiologia) (**III J.a-c**). Za prowadzone przeze mnie zajęcia uzyskuję corocznie wysokie oceny w ankietach studenckich, a także, co szczególnie mnie cieszy – pozytywne, przyjazne, a czasem nawet entuzjastyczne komentarze w studenckich ankietach internetowych na stronie USOS UŁ (przykładowe komentarze do ankiet studenckich zawarto w załączniku 6) (**III I.a**).

Uczestniczyłam w opracowywaniu programów nauczania nowych przedmiotów: ekologia drobnoustrojów i techniki mikrobiologiczne na nowym kierunku Mikrobiologia (2009 r.), mikrobiologia na nowym kierunku Analityka chemiczna (2011 r.), mikrobiologia i immunologia na nowym kierunku Chemia kosmetyczna (2012 r.) na UŁ. Byłam także członkiem komisji programowej nowego na UŁ kierunku Mikrobiologia (I nabór 2008/2009) (**III I.c**).

Jestem wieloletnim współopiekunem Sekcji Mikrobiologicznej Studenckiego Koła Naukowego Biologów UŁ od momentu jej powstania, czyli od 2005 r. Angażuję się w pracę Sekcji przede wszystkim poprzez opiekę merytoryczną i organizacyjną nad realizowanymi projektami badawczymi, także podczas kilku letnich obozów naukowych (**III J.d**) oraz poprzez działania promujące Uniwersytet Łódzki (**III I.f**), w których studenci zrzeszeni w Sekcji Mikrobiologicznej SKNB aktywnie uczestniczą. Są to:

1. „Uniwersytet Zawsze Otwarty”
2. Dni otwartych drzwi dla kandydatów na studia biologiczne
3. Zajęcia pokazowe dla słuchaczy Studium Języka Polskiego dla Obcokrajowców
4. Festiwal Nauki, Techniki i Sztuki UŁ
5. Piknik Naukowy UŁ
6. Noc Biologów UŁ.

Oprócz wyżej wymienionych działań sformalizowanych, angażuję się w promocję Uniwersytetu Łódzkiego poprzez prowadzenie bardzo licznych warsztatów i zajęć pokazowych dla przedszkolaków, uczniów szkół podstawowych, gimnazjów i szkół średnich. Wygłaszałam też wykłady popularno-naukowe dla licealistów oraz na zaproszenie dla słuchaczy Salezjańskiego Uniwersytetu Trzeciego Wieku w Łodzi (**III I.e,g**).

Jestem aktywnym członkiem Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów (PTM) od 2004 r. do chwili obecnej; byłam sekretarzem Oddziału Łódzkiego PTM w kadencji czerwiec 2008 – czerwiec 2012; jestem członkiem Komisji Rewizyjnej Oddziału Łódzkiego PTM w kadencji czerwiec 2016 – czerwiec 2020 (**III H**). Wygłaszałam wykłady naukowe na zebraniu Oddziału Łódzkiego PTM i na zaproszenie Oddziału Kieleckiego PTM, a także na zebraniach Instytutu Mikrobiologii i Immunologii UŁ (**III I.b**).

Byłam członkiem komitetów organizacyjnych trzech konferencji (dwu krajowych i jednej międzynarodowej), organizowanych w Instytucie Mikrobiologii, Biotechnologii i Immunologii UŁ, w tym współtwórcą wystawy, poświęconej pamięci prof. Krystyny Kotelko w I rocznicę śmierci (**III C**). Byłam też członkiem komisji rekrutacyjnych oraz wyborczych z ramienia UŁ (**III Q**).

Byłam wykonawcą dwu bezpłatnych porównawczych badań międzylaboratoryjnych oraz jednej ekspertyzy na zamówienie (**III M**), jestem autorką recenzji jednego podręcznika akademickiego i czterech artykułów naukowych (**III P**).

W 2010 r. zostałam odznaczona Medalem Brązowym za długoletnią służbę (**III D.3**).


.....