

Załącznik 2

Autoreferat z opisem dorobku i osiągnięć naukowych związanych z postępowaniem habilitacyjnym

dr inż. Anna Zadernowska

1. Dane personalne	2
2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/artystyczne	2
3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/ artystycznych	2
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.)	3
5. Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania	5
6. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych	14
7. Podsumowanie pozostałego dorobku naukowego, dydaktycznego i organizacyjnego	19
8. Wartość naukowa dorobku publikacyjnego do dnia 02.12.2016 r.	20

1. Dane personalne

Imię i nazwisko **Anna Zadernowska**

Miejsce pracy Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Wydział Nauki o Żywności
Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Żywności

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

23.11.2005 Stopień doktora nauk rolniczych w zakresie technologii żywności i żywienia, specjalność mikrobiologia przemysłowa, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Nauki o Żywności. Temat pracy: „Metabolizm i fizjologia pałeczek *Lactobacillus* sp. w przecierowym soku marchwiowym”. Praca wykonana w Katedrze Mikrobiologii Przemysłowej i Żywności.

Promotor: prof. dr hab. Łucja Łaniewska-Trokenheim

16.06.2000 Tytuł magistra inżyniera. Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Ochrony Środowiska i Rybactwa Śródlądowego. Temat pracy magisterskiej: „Mikrobiologiczne badania ryb i wody wschodniej części jeziora Oświn”. Praca wykonana w Katedrze Mikrobiologii Środowiskowej UWM w Olsztynie.
Promotor: prof. dr hab. inż. Izabella Zmysłowska

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/artystycznych

01.01.2006 – 1.09.2007 **Stanowisko:** Specjalista
Miejsce pracy: Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Nauki o Żywności, Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Żywności

01.09.2007 – do chwili obecnej **Stanowisko:** Adiunkt
Miejsce pracy: Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Nauki o Żywności, Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Żywności

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.)

Osiągnięcie pod tytułem:

„Palczki z rodziny *Enterobacteriaceae*: *Salmonella* sp. i *Yersinia enterocolitica* jako mikrobiologiczne zagrożenie bezpieczeństwa żywności pochodzenia zwierzęcego”

tworzy cykl powiązanych tematycznie publikacji obejmujących 6 prac z listy A MNiSW zgodnie z rokiem wydania, natomiast zgodnie z wykazem MNiSW₂₀₁₅, 5 publikacji ukazało się w czasopiśmie z listy A, natomiast 1 w czasopiśmie z listy B.

A1. Zadernowska A., Chajęcka-Wierzchowska W., Łaniewska-Trokenheim Ł., „*Yersinia enterocolitica*: a dangerous, but often ignored, foodborne pathogen”, *Food Reviews International*, 2014, 30 (1), 53-70.

IF=2.205; MNiSW₂₀₁₅ - 30 pkt. Cytowania: 5 (bez autocytoowań)

Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na opracowaniu koncepcji publikacji, zebraniu literatury oraz wykonaniu prac związanych z przygotowaniem wstępnej i ostatecznej wersji manuskryptu. Mój udział procentowy szacuję na 75%.

A2. Zadernowska A., Chajęcka-Wierzchowska W., „Prevalence, biofilm formation and virulence markers of *Salmonella* sp. and *Yersinia enterocolitica* in food of animal origin in Poland”, *LWT – Food Science and Technology*, online 03.10.2016, 75(2017), 552-556.

IF*=3.290; MNiSW₂₀₁₅ - 35 pkt.

Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na opracowaniu koncepcji badań, metodyki, zaplanowaniu i wykonaniu analiz laboratoryjnych, opracowaniu i interpretacji wyników, sformułowaniu wniosków oraz przygotowaniu manuskryptu, autor korespondencyjny. Mój udział procentowy szacuję na 90%.

*) IF za 2016 r. dla ww. czasopisma nie został obliczony, w związku z tym podany jest 5-letni IF.

- A3. Zadernowska A.,** Chajęcka-Wierzchowska W., Ogryzek M.P., „Growth potential of *Yersinia enterocolitica* in blue cheese and in blue cheese with probiotic - *Lactobacillus acidophilus* LA-5[®]”, *Journal of Food Science and Technology*, 2015, 52(11), 7540-7544.

IF=1.241; MNiSW₂₀₁₅ - 35 pkt.

Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na opracowaniu koncepcji badań, metodyki, zaplanowaniu i wykonaniu analiz laboratoryjnych, opracowaniu i interpretacji wyników, sformułowaniu wniosków oraz przygotowaniu manuskryptu, autor korespondencyjny. Mój udział procentowy szacuję na 85%.

- A4. Chajęcka-Wierzchowska W., Zadernowska A.,** Kłębukowska L., Łaniewska-Trokenheim Ł., „*Salmonella* Detection in Poultry Meat – Validation of VIDAS Xpress Automatic Enzyme-Linked Fluorescent Immunoassay-Based Method”, *Journal of Food Safety*, 2012, 32:407–414.

IF=0.820; MNiSW₂₀₁₅ - 20 pkt. Cytowania: 4 (bez autocytowań)

Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na opracowaniu koncepcji badań, metodyki, zaplanowaniu i wykonaniu części analiz laboratoryjnych, opracowaniu i interpretacji wyników, sformułowaniu wniosków oraz przygotowaniu manuskryptu. Mój udział procentowy szacuję na 45%.

- A5. Zadernowska A.,** Chajęcka-Wierzchowska W., Kłębukowska L., „Fluorescencyjna hybrydyzacja *in situ* jako alternatywna metoda oznaczania obecności pałeczek *Salmonella* sp. w mięsie drobiowym”, *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2014, 1(92), 92-102.

IF=0; MNiSW₂₀₁₅ - 13 pkt. (MNiSW₂₀₁₄ - 15 pkt)

Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na opracowaniu koncepcji badań, metodyki, zaplanowaniu i wykonaniu większości analiz laboratoryjnych, opracowaniu i interpretacji wyników, sformułowaniu wniosków oraz przygotowaniu manuskryptu, autor korespondencyjny. Mój udział procentowy szacuję na 75%.

- A6. Zadernowska A.,** Chajęcka-Wierzchowska W., Kłębukowska L., „Vidas UP Enzyme-Linked Fluorescent Immunoassay Based on Recombinant Phage Protein and Fluorescence In Situ Hybridization as Alternative Methods for Detection

of *Salmonella enterica* Serovars in Meat”, *Foodborne Pathogens and Disease*, 2014, 11(9), 747-52.

IF=1.905; MNiSW₂₀₁₅ - 30 pkt. Cytowania: **1** (bez autocytowań)

Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na opracowaniu koncepcji badań, metodyki, zaplanowaniu i wykonaniu większości analiz laboratoryjnych, opracowaniu i interpretacji wyników, sformułowaniu wniosków oraz przygotowaniu manuskryptu. Mój udział procentowy szacuję na 80%.

Liczba punktów MNiSW₂₀₁₅: **163**

Liczba punktów MNiSW zgodnie z rokiem opublikowania: **165**

Impact Factor zgodnie z rokiem wydania: **9.461**

Cytowania w bazie Web of Science: **10** (bez autocytowań)

5. Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

Zgodnie z corocznymi raportami Europejskiego Urzędu ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) *Salmonella* sp. jest wymieniana jako drugi, natomiast *Yersinia enterocolitica* jako trzeci pod względem częstości występowania enteropatogen odpowiedzialny za zatrucia pokarmowe. Obie bakterie są Gram-ujemnymi, chorobotwórczymi pałeczkami pochodzenia jelitowego. Za główne źródło zakażeń tymi bakteriami uznawane jest mięso, ale rezerwuarem może być niemal każdego rodzaju żywność, w tym produkty mleczarskie, ryby, warzywa i owoce. Mimo że obie są bakteriami pochodzenia jelitowego i należą do tej samej rodziny, to znacznie różnią się, jeśli chodzi o warunki wzrostu i metody ich izolacji. Podczas gdy wśród ponad 2500 serowarów *Salmonella* wszystkie uznaje się za chorobotwórcze, to z 18 gatunków należących do rodzaju *Yersinia*, trzy: *Yersinia pestis* (obecnie o marginalnym znaczeniu), *Yersinia pseudotuberculosis* i *Yersinia enterocolitica* uznaje się za chorobotwórcze. Wśród *Y. enterocolitica* wyróżnia się sześć biotypów 1A, 1B, 2, 3, 4 i 5, które określa się na podstawie zdolności do fermentacji trehalozy, ksylozy, eskuliny czy wytwarzania pirazynamidazy oraz esterazy Tweenu. Za najbardziej chorobotwórcze dla ludzi uważa się szczepy należące do biotypu 1B, a na podstawie chemicznego różnicowania termostabilnego antygeny somatycznego O wyróżnia się dodatkowo ponad 70 grup serologicznych

Y. enterocolitica, między którymi istnieje pokrewieństwo antygenowe. Przypadki jersiniozy są w Polsce obowiązkowo zgłaszane do Państwowej Inspekcji Sanitarnej od 2002 roku. Wcześniej zachorowanie wywołane przez te bakterie było traktowane jako „inne bakteryjne zakażenia jelitowe”. Natomiast do roku 2004 zgłaszano razem przypadki jersiniozy jelitowej i pozajelitowej. Dopiero od roku 2005 przypadki takie podaje się oddzielnie. Jersinioza w krajach Unii Europejskiej, zgodnie z Decyzją Nr 2119/98/WE ustanawiającą sieć nadzoru epidemiologicznego i zwalczania chorób zakaźnych, została objęta nadzorem jako choroba wywołana zakażoną żywnością. Można się nią również zarazić od zwierząt domowych i dziko żyjących oraz przez kontakt z zainfekowanymi ludźmi. *Yersinia enterocolitica* jako jedyna bakteria z rodziny *Enterobacteriaceae* należy do patogenów psychrotrofowych, tzn. mających zdolność namnażania się w warunkach chłodniczych. Zdolność namnażania w niskich temperaturach sprawia, że nawet przy obecności dużych populacji mikroflory towarzyszącej w trakcie przechowywania chłodniczego, pałeczki te mogą zdominować pozostałą mikroflorę. Nie ma natomiast danych, jak przebiega ich namnażanie w takich warunkach, gdy mikroflorę towarzyszącą stanowią probiotyczne bakterie fermentacji mlekowej. *Y. enterocolitica* należące do biotypu 1B i serotypu O:8 (uznawane za najbardziej chorobotwórcze) przez wiele lat były nazywane „serotypem amerykańskim” z uwagi na obszar ich występowania, jednak w ostatnich latach obserwuje się znaczną ekspansję pałeczek należących do tego biotypu również w krajach europejskich. W Polsce począwszy od roku 2004 notuje się coroczny wzrost liczby szczepów o tym serotypie. Zgodnie z aktualnymi danymi literaturowymi *Y. enterocolitica* o bio-serotypie 1B/O:8 stanowi drugi co do częstości izolacji bio-serotyp izolowany z materiału klinicznego w naszym kraju. Niewiele jest natomiast danych zarówno na temat występowania, jak i różnicowania biotypowego *Y. enterocolitica* w żywności. Biorąc pod uwagę rozprzestrzenianie się w Europie zjadliwych serotypów dotychczas oznaczanych tylko w Stanach Zjednoczonych, badania żywności pod tym kątem i próba odpowiedzi na pytanie, czy również wśród szczepów występujących w żywności biotyp 1B/serotyp O:8 jest dominujący, są niezmiernie ważne.

Zdecydowanie więcej publikacji poświęcono pałeczkom *Salmonella* sp., jednak najczęściej analizy żywności kończą się na wykrywaniu obecności tych patogenów, bez dalszego ich serotypowania, ewentualnie używane są do tego celu zestawy surowic. Niewiele natomiast jest danych na temat występowania w żywności jednocześnie obu omawianych pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae*. Ważny z punktu widzenia producentów żywności jest fakt, że standardowe metody oznaczania *Salmonella* sp. są bardzo czasochłonne, mogą trwać

do 7 dni w zależności od potrzeby realizacji biochemicznych i serologicznych potwierdzeń. Jest to kłopotliwe, zwłaszcza w przypadku produktów o krótkim terminie przydatności do spożycia, dla których zgodnie z rozporządzeniem WE 2073/2005 z późn. zm. *Salmonella* sp. stanowią kryterium bezpieczeństwa mikrobiologicznego. Nie mogą one opuścić magazynu do momentu otrzymania ostatecznych wyników badań mikrobiologicznych. Istnieje szereg metod alternatywnych, również posiadających walidację AFNOR (Association Française de Normalisation), którymi w zasadzie nie otrzymuje się wyników fałszywie ujemnych, ale problem stanowią wyniki fałszywie pozytywne, co może generować duże straty finansowe dla producentów żywności. Najczęściej wyniki takie otrzymuje się dla surowców i produktów znacznie zanieczyszczonych innymi pałeczkami z rodziny *Enterobacteriaceae*, np. mięsa.

Cele badań:

- analiza częstości występowania *Salmonella* sp. oraz *Yersinia enterocolitica* w surowcach i produktach pochodzenia zwierzęcego,
- określenie przynależności wyizolowanych *Salmonella* sp. do serowarów *S. Typhi*, *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis* i przynależności *Y. enterocolitica* do biotypu oraz określenie patogenego potencjału tych pałeczek na podstawie chromosomalnych markerów zjadliwości: *ail* i *yst*,
- określenie zdolności do tworzenia biofilmu przez wyizolowane z żywności pałeczki *Salmonella* i *Y. enterocolitica*,
- określenie możliwości wzrostu *Yersinia enterocolitica* w obecności kultur probiotycznych,
- określenie możliwości zastosowania metod alternatywnych: fluorescencyjna hybrydyzacja *in situ*, testy immunoenzymatyczne Vidas SLMX oraz testy oparte na rekombinowanych białkach fagowych Vidas UP do oznaczania *Salmonella* sp. w wysokoobciążonej mikroflorą towarzyszącą matrycy jaką jest mięso

Badania rozpoczęto od analizy surowców i produktów pochodzenia zwierzęcego pod kątem występowania *Salmonella* sp. i *Yersinia enterocolitica*, analizy były kontynuowane przez cały okres badań, tj. w latach 2011-2015, kiedy to równolegle realizowano pozostałe doświadczenia. Wyizolowane szczepy przechowywano w systemie MicroBank[®] (Biocorp) w zamrażarce niskotemperaturowej (-80°C). Szczepy te stosowano podczas kolejnych badań,

tj. do określania poprawności wiązania z sondami, do zanieczyszczania prób przy określaniu czułości i specyficzności metod alternatywnych.

Analiza dostępnej literatury wykazała bardzo ograniczoną liczbę opracowań traktujących o *Yersinia enterocolitica* w żywności. W związku z tym powstała publikacja A1, w której szczegółowo omówiono charakterystykę biochemiczną i patogenność omawianych pałeczek, ich występowanie, wpływ czynników fizyko-chemicznych i metody oznaczania w żywności. Zestawiono również przypadki ognisk zatruc pokarmowych na przestrzeni kilkudziesięciu lat. Zgodnie z danymi literaturowymi mleko i produkty mleczarskie mają bardzo duży udział w zatruciach tymi pałeczkami. Największe ognisko epidemiczne (obejmujące 1051 osób) związane z omawianą bakterią odnotowano w Japonii w 1980 roku po spożyciu skażonego mleka. Kolejne zachorowania związane z produktami mleczarskimi miały miejsce m.in. w Kanadzie, Stanach Zjednoczonych i Szwecji. Dane te miały wpływ na wybór produktów badanych w publikacji A3. Potwierdzeniem braku tego typu artykułów i jednocześnie jego wysokiej wartości naukowej jest moim zdaniem fakt przyjęcia go przez renomowane, wysokopunktowane (30 punktów) czasopismo z listy A: *Food Reviews International*. Ponadto, mimo że artykuł ukazał się niedawno (w roku 2014), jest często cytowany.

Publikacja A2. Przeprowadzono badania 330 próbek żywności (różne rodzaje mięsa, wędliny, sery). W próbkach oznaczano obecność *Salmonella* sp. oraz *Y. enterocolitica*. Dla wyizolowanych szczepów *Salmonella* sp. określano przynależności do serotypów *S. Typhi*, *S. Typhimurium* i *S. Enteritidis*, a dla *Y. enterocolitica* przynależność do biotypu. Ponadto określano zdolność wyizolowanych szczepów do wytwarzania biofilmu i określano występowanie wybranych czynników wirulencji tych bakterii. Obecność *Salmonella* sp. stwierdzono w 16 (5,5%) próbach, natomiast *Yersinia enterocolitica* w 7 (2,1%). W żadnej z badanych próbek nie stwierdzono jednocześnie obu bakterii. Badane drobnoustroje nie zostały wykryte w żadnej próbie żywności gotowej do spożycia (wędliny, sery). W wyniku serotypowania metodą multiplex PCR 4 szczepy zakwalifikowano jako *S. Typhimurium*, 2 jako *S. Enteritidis*, natomiast żaden z wyizolowanych szczepów nie należał do serotypu *S. Typhi*. Dziesięć szczepów nie należało do żadnego z oznaczanych serotypów. U wszystkich badanych *Salmonella* sp. stwierdzono gen *invA* kodujący białko inwazyjności istotne w procesach wnikania *Salmonella* sp. do komórek epitelialnych jelita. Natomiast plazmidowy gen *spvC* również odpowiedzialny za wirulencję tych pałeczek wykryto tylko u 3 (18,7%) szczepów. Wszystkie *Yersinia enterocolitica* należały do biotypu 1A, żaden ze szczepów nie

posiadał genów *ail* i *ystA*, natomiast u pięciu wykryto gen *ystB*. Żaden z 16 szczepów *Salmonella* sp. i 7 szczepów *Yersinia enterocolitica* nie wykazał silnych zdolności wytwarzania biofilmu, 7 szczepów *Salmonella* sp. i 3 szczepy *Yersinia enterocolitica* wykazywało umiarkowane zdolności adhezyjne.

Publikacja **A3**. *Yersinia enterocolitica* należy do bakterii psychrotrofowych mających zdolność do namnażania w warunkach chłodniczych. Nawet przy obecności dużych populacji mikroflory towarzyszącej w trakcie przechowywania chłodniczego, pałeczki te mogą zdominować środowisko. W związku z brakiem danych, jak przebiega ich namnażanie w takich warunkach, gdy mikroflorę towarzyszącą stanowią probiotyczne bakterie fermentacji mlekowej, podjęto badania których celem było określenie możliwości wzrostu *Yersinia enterocolitica* w serze z przerostem pleśni oraz w takim samym serze z przerostem pleśni, ale z dodatkiem kultury probiotycznej (*Lactobacillus acidophilus* LA-5[®]). Pełnemu cyklowi badań poddano po 5 różnych partii serów pochodzących od tego samego producenta. Określano możliwość rozwoju *Yersinia enterocolitica* w temp. 3°C, 6°C, 9°C, 12°C i 15°C w dziesięciu interwałach czasowych do 480 godzin przechowywania. Jako początkowe zanieczyszczenie stosowano $\sim 10^3$ cfu/g *Yersinia enterocolitica*. Badania wykazały, że w niższych temperaturach następował systematyczny wzrost liczby komórek przez cały okres przechowywania, podczas gdy w temperaturach wyższych obserwowano fazę stacjonarną i fazę zamierania. Porównując wzrost liczby komórek *Yersinia enterocolitica* w obu serach, można zauważyć, że w temperaturach 6°C, 9°C i 12°C liczba komórek badanych bakterii była niższa w serze z probiotykiem w porównaniu z serem bez dodatku *Lactobacillus acidophilus* LA-5[®] na każdym etapie doświadczenia. Niemniej jednak dodatek kultury probiotycznej nie eliminował *Yersinia enterocolitica*, więc nie gwarantował bezpieczeństwa mikrobiologicznego produktu.

Kolejnym etapem badań było określenie możliwości zastosowania metod alternatywnych do oznaczania obecności *Salmonella* w mięsie. Zastosowano testy VIDAS *Salmonella* (SLMX) wykrywające pałeczki *Salmonella* sp. w wyniku reakcji immunoenzymatycznej. Opierają się one na zdolności do tworzenia kompleksów między przeciwciałami a antygenami obecnymi w próbce, które następnie znakowane są fosfatą alkaliczną. Aparat odczytuje wyniki na podstawie intensywności fluorescencji (ELFA). Mimo że testy posiadają walidację AFNOR, producent zaleca przeprowadzanie walidacji dla konkretnych badanych produktów. W publikacji **A4** przeprowadzono badania mięsa z kurczaka, indyka, kaczki i gęsi. Określano poziom mikroflory towarzyszącej oraz

zaszczepiano mięso pałeczkami *Salmonella* sp. na różnym poziomie zanieczyszczenia. Przeprowadzone badania wykazały, że mikroflora towarzysząca może znacząco wpływać na liczbę wyników fałszywie pozytywnych. Najwięcej takich wyników otrzymano w próbkach mięsa z kurczaka.

Kolejnym etapem badań w związku z dużą liczbą wyników fałszywie pozytywnych otrzymywanych z użyciem testów VIDAS *Salmonella* (SLMX) było dalsze poszukiwanie szybkiej i wysoce specyficznej metody oznaczania obecności tych pałeczek w mięsie. Rozpoczęto badania z użyciem techniki FISH (fluorescencyjna hybrydyzacja *in situ*), która oparta jest na zdolności komórek do wiązania się z fluorescencyjnie znakowaną sondą, stanowiącą krótkie sekwencje oligonukleotydów. Połączenie materiału zawartego w próbce z komplementarną sondą można obserwować w mikroskopie epifluorescencyjnym. Technika FISH i jej modyfikacje są szeroko stosowane w medycynie i analizach środowiskowych. Żywność z uwagi na specyficzne i bardzo zróżnicowane właściwości fizykochemiczne jest niejednorodnym materiałem do badań tą techniką, liczba publikacji traktujących o jej zastosowaniu do oznaczania *Salmonella* sp. w żywności jest ograniczona. Byłam kierownikiem grantu finansowanego przez NCN - „Fluorescencyjna hybrydyzacja *in situ* (FISH) jako alternatywa dla testów mini VIDAS i standardowych metod ISO w wykrywaniu obecności *Salmonella* sp. i *Listeria monocytogenes* w żywności pochodzenia zwierzęcego”, w ramach którego podjęliśmy się przeglądu sond dostępnych w bazach literaturowych oraz określenia możliwości zaprojektowania własnej specyficznej sondy przy użyciu programu ARB do oznaczania *Salmonella* sp. Do projektowania wykorzystywaliśmy najnowsze bazy SILVA Release 119 zawierające sekwencje małej (16S/18S, 534,968 sekwencji) oraz dużej (23S/28S) podjednostki rybosomalnego RNA. Następnie sondy były sprawdzane przy pomocy probeCheck. Po wnikliwej analizie możliwości zastosowania sond wyszukanych w literaturze i badaniach wstępnych z zaprojektowanymi sondami podjęliśmy decyzję o prowadzeniu dalszych badań w oparciu o sondę Sal3 (5'-3' AATCA CTTCA CCTAC GTG).

Publikacja **A5**. Podczas pierwszego etapu do weryfikacji poprawności wiązania sondy stosowano monokultury i kultury mieszane szczepów referencyjnych i wyizolowanych w poprzednich etapach, namnożone na podłożu bulionowym. W badaniach monokultur *Salmonella* sp. całkowite pokrycie sygnału komórek wizualizowanych z zastosowaniem sondy specyficznej znakowanej fluorescencyjnie Cy3, sondy uniwersalnej EUB₃₃₈ znakowanej Cy5 oraz z interkalatorem DAPI (4',6-diamidyno-2-fenylindol) przyjmowano

za wynik prawidłowy. Obserwowane pokrycie wszystkich sygnałów traktowano jako prawidłowo przeprowadzoną permeabilizację komórek *Salmonella* sp. i związanie się wszystkich obecnych w preparacie komórek z sondami. Natomiast w badaniach kultur mieszanych za wynik prawidłowy uznawano całkowite pokrycie się sygnałów komórek związanych z EUB₃₃₈ i DAPI oraz fluorescencją wybranych komórek (*Salmonella* sp.). Niespecyficzne wiązania sond oligonukleotydowych zweryfikowano sondą NON₃₃₈, stanowiącą kontrolę negatywną. Dodatkowo potwierdzono pokrywanie się sygnałów pochodzących od fluorochromów: Cy3, Cy5 z fluorochromem DAPI. Preparaty analizowano przy użyciu mikroskopu epifluorescencyjnego OLYMPUS BX51 wyposażonego w 100W palnik rtęciowy, kolorową kamerę cyfrową XC10 do obserwacji w IR, chłodzoną układem Peltiera z elementem światłoczułym CCD oraz odpowiednie zestawy filtrów dla fluorochromów: Cy3 (U-M41007 w zakresie 530-560nm), Cy5 (U-M41008 w zakresie 590-650nm), DAPI (U-MNU2 w zakresie 360-370nm). Analizę obrazu prowadzono z wykorzystaniem oprogramowania wersji CellSens Dimension plus Solution Multi Channel 5D. Zdjęcia preparatów wykonywano przy stałym czasie naświetlania. Ta część badań była niezmiernie istotna, ponieważ pozwoliła na potwierdzenie specyficzności wiązania się sondy tylko z materiałem genetycznym pałeczek *Salmonella* sp. Większość badań innych autorów dotyczących wykrywania *Salmonella* sp. techniką FISH dotyczy jedynie badań żywności zakupionej w handlu. Dużą rozbieżność (najczęściej techniką FISH otrzymują znacznie więcej wyników pozytywnych) w wynikach metodą standardową a FISH autorzy innych publikacji tłumaczą występowaniem komórek w stanie VBNC - niehodowalnych na podłożu stałym ale zawierających odpowiednią ilość rRNA niezbędnego do związania z sondą. Inni autorzy nie przeprowadzali jednak weryfikacji poprawności protokołu i poprawności wiązania sondy, co zostało empirycznie, z użyciem aktywnych szczepów przeprowadzone podczas naszych badań. Być może w badaniach innych autorów występowało niespecyficzne wiązanie z zastosowanymi sondami.

Następny etap badań obejmował badania kontaminowanego mięsa drobiowego. Technika FISH nie uzyskano wyników pozytywnych w próbach kontaminowanych innymi niż *Salmonella* sp. pałeczkami z rodziny *Enterobacteriaceae*, podczas gdy z użyciem testów SLMX uzyskano pięć wyników fałszywie pozytywnych.

Publikacja **A5**. Pierwszy etap obejmował analizę mikrobiologiczną zakupionego mięsa – określenie tzw. matrycy. Zastosowano system TEMPO (Biomérieux) do oznaczenia ogólnej liczby drobnoustrojów tlenowych mezofilnych (TVC) i liczby *Enterobacteriaceae* (EB).

W kolejnym etapie badań mięso kontaminowano komórkami *Salmonella* sp. na trzech poziomach zanieczyszczenia: wysoki (1000-5000 komórek na 25 g), średni (100-500 komórek na 25 g) i niski (10-50 komórek na 25 g). Przygotowywano dwie partie próbek. Do pierwszej partii, przeznaczonej do analizy FISH i ISO dodawano 225 ml zbuforowanej wody peptonowej (Merck), do drugiej przeznaczonej do analizy VIDAS dodawano zbuforowanej wody peptonowej z dodatkiem suplementu do Vidas UP, przednamnażanie prowadzono w 41,5°C/24h. Konieczność przygotowania dwóch partii próbek wynikała ze specyfiki pierwszego etapu wstępnego namnażania z zastosowaniem testu Vidas UP (test oparty o rekombinowane białka fagowe). Po tym czasie wykonywano dalsze analizy zgodnie z PN-ISO-6579:2003, immunoanalizatorem miniVidas oraz techniką FISH. Na podstawie otrzymanych wyników określano względną specyficzność, względną zgodność, względną czułość metody oraz poziom wykrywalności. Zastosowano także test Kappa Cohena do oceny istotnych podobieństw między: oczekiwanymi wynikami i wynikami otrzymanymi w metodzie ISO, oczekiwanymi rezultatami i wynikami otrzymanymi metodą Vidas oraz oczekiwanymi rezultatami i wynikami otrzymanymi metodą FISH. Najwyższy poziom zanieczyszczenia oznaczono w mięsie drobiowym. Ogólna liczba mikroflory tlenowej mezofilnej kształtowała się na poziomie od 3,1 log cfu/g do 6,2 log cfu/g, natomiast liczba pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae* od log 2,2 cfu/g do log 3,2 cfu/g. W próbkach mięsa wołowego i wieprzowego ogólna liczba mikroflory tlenowej mezofilnej nie przekraczała log 3,6 cfu/g, a w przypadku pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae* nie przekraczała log 1,8 cfu/g. Wyniki oznaczania obecności *Salmonella* w mięsie kontaminowanym zależne były od poziomu wprowadzonego inokulum oraz od liczebności mikroflory towarzyszącej. Najmniej zadowalające wyniki uzyskano w przypadku próbek mięsa drobiowego, gdzie ogólna liczba mezofilnych drobnoustrojów tlenowych oraz liczba pałeczek należących do rodziny *Enterobacteriaceae* była najwyższa. Stanowiło to dosyć obszerną matrycę produktu, a tym samym dużą konkurencję dla wprowadzanych do próbki pałeczek *Salmonella*. Testy VIDAS wskazały na 4 wyniki dodatnie w próbach kontrolnych (niekontaminowanych), zatem specyficzność tej metody wyniosła 80%. Wyniki fałszywie dodatnie otrzymano także w dwóch próbkach mięsa wołowego, specyficzność wyniosła 90%. Bez względu na rodzaj analizowanego mięsa nie otrzymano wyników fałszywie ujemnych, w związku z tym czułość metody wyniosła 100%. Poziom wprowadzanego zanieczyszczenia nie wpływał na wynik oznaczenia tą metodą. We wszystkich próbkach, do których wprowadzano patogen, aparat wskazywał na wynik dodatni. Zarówno w poprzednim, jak i tym doświadczeniu niezwykle

istotnymi parametrami podczas analizy FISH okazały się: dobór odpowiedniej membrany do sączenia próby po procesie homogenizacji, długość i prędkość wirowania; etap opłukiwania komórek oraz czas i temperatura ich utrwalania. Takie podejście pozwoliło na oddzielenie komórek od występujących w mięsie cząsteczek białek, tłuszczów itp. Efektem tego było uzyskanie obrazu mikroskopowego bez elementów wykazujących autofluorescencję, co ułatwiło obserwację i interpretację obrazu mikroskopowego.

Podsumowanie

Z uwagi na wciąż obecne zanieczyszczenia produktów żywnościowych pałeczkami *Salmonella* sp. i *Yersinia enterocolitica*, w tym szczególnie mięsa drobiowego, istotna jest stała kontrola żywności oraz doskonalenie metod badawczych stosowanych podczas standardowych analiz. Mimo że dane epidemiologiczne wskazują w ostatnich latach na znaczny wzrost liczby izolowanych szczepów *Y. enterocolitica* biotypu 1B, przeprowadzone badania nie wykazały takiej tendencji wśród szczepów izolowanych z żywności. Mimo że wszystkie szczepy należały do biotypu 1A (uznawanego do niedawna za niechorobotwórczy), to u pięciu z siedmiu szczepów stwierdzono gen *ystB*, kodujący produkcję aktywnej biologicznie enterotoksyny, określanej jako YstB. Przeprowadzone badania wykazały, że dodatek kultur probiotycznych do produktu nie gwarantuje jego bezpieczeństwa mikrobiologicznego. Zdolność do wytwarzania biofilmu jest cechą szczepową, wytwarzanie silnego biofilmu nie jest charakterystyczne dla monokultur *Salmonella* sp. i *Y. enterocolitica* w przypadku zanieczyszczenia pałeczkami *Yersinia enterocolitica*. Zarówno fluorescencyjna hybrydyzacja *in situ* FISH, jak i testy Vidas UP – oparte na rekombinowanych białkach fagowych są wysoce specyficznymi metodami wykrywania *Salmonella* sp. w żywności, pozwalającymi znacznie skrócić czas analiz. Testy immunoenzymatyczne oparte o reakcję antygen–przeciwciało z uwagi na reakcje krzyżowe w żywności wysokoobciążonej mikroflorą towarzyszącą mogą generować wyniki fałszywie pozytywne.

Literatura:

1. Bancerz-Kisiel, A., Szczerba-Turek, A., Platt-Samoraj, A., Socha, P., & Szweda, W. (2014) Bioserotypes and virulence markers of *Y. enterocolitica* strains isolated from roe deer (*Capreolus capreolus*) and red deer (*Cervus elaphus*). *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 17, 315-319.
2. Bancerz-Kisiel, A., Szczerba-Turek, A., Lipczyńska, K., Stenzel, T., & Szweda, W. (2012). Bioserotypes and virulence markers of *Yersinia enterocolitica* strains isolated from mallards (*Anas platyrhynchos*) and pheasants (*Phasianus colchicus*). *Journal of Food Protection*, 75, 2219-2222.

3. Dallal, M. M. S., Doyle, M. P., Rezadehbashi, M., Dabiri, H., Sanaei, M., Modarresi, S., & Sharifi-Yazdi, M. K. (2010). Prevalence and antimicrobial resistance profiles of *Salmonella* serotypes, *Campylobacter* and *Yersinia* spp. isolated from retail chicken and beef, Tehran, Iran. *Food Control*, *21*, 388-392.
4. de Freitas, C. G., Santana, Â. P., da Silva, P. H. C., Gonçalves, V. S. P., Barros, M. D. A. F., Torres, F. A. G., Murata, L. S. & Perecmanis, S. (2010). PCR multiplex for detection of *Salmonella* Enteritidis, Typhi and Typhimurium and occurrence in poultry meat. *International journal of food microbiology*, *139*, 15-22.
5. Dominguez, C., Gomez, I. & Zumalacarregui, J. (2002). Prevalence of *Salmonella* and *Campylobacter* in retail chicken meat in Spain. *International Journal of Food Microbiology*, *72*, 165-168.
6. Grahek-Ogden, D., Schimmer, B., Cudjoe, K. S., Nygard, K., & Kapperud, G. (2007) Outbreak of *Yersinia enterocolitica* serogroup O:9 infection and processed pork, Norway. *Emerging Infectious Diseases*, *13*, 754-756.
7. Isoken, H.I. (2015). Biofilm formation of *Salmonella* species isolated from fresh cabbage and spinach. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, *19*, 45-50.
8. Nair, A, Rawool, D.B., Dojjad, S., Poharkar, K., Mohan, V., Barbuddhe, S.B., Kolhe, R., Kurkure N.V, Kumar, A., Malik,, S.V. & Balasaravanan T. (2015), Biofilm formation and genetic diversity of *Salmonella* isolates recovered from clinical, food, poultry and environmental sources. *Infection, Genetics and Evolution*, *36*, 424-433.
9. Platt-Samoraj, A., Ugorski, M., Szweida, W., Szczerba-Turek, A., Wojciech, K., & Procajło, Z. (2006). Analysis of the presence of *ail*, *ystA* and *ystB* genes in *Yersinia enterocolitica* strains isolated from aborting sows and aborted fetuses. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, *53*, 341-346.
10. Rastawicki, W., Szych, J., Gierczynski, R. & Rokosz, N. (2009). A dramatic increase of *Yersinia enterocolitica* serogroup O:8 infections in Poland. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, *28*, 535–537.

6. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

Działalność naukowa przed uzyskaniem stopnia doktora nauk rolniczych

Moja praca doktorska związana była z możliwością otrzymywania fermentowanych soków marchwiowych jako alternatywy dla mleczarskich napojów fermentowanych zawierających żywe kultury bakterii fermentacji mlekowej. Przed obroną wyniki swoich badań przedstawiałam głównie w doniesieniach na konferencjach krajowych i zagranicznych i związane one były z badaniem stanu mikrobiologicznego owoców i warzyw dostępnych w handlu, dobozem bakterii fermentacji mlekowej do otrzymywania soków fermentowanych z marchwi, ogórków, pasternaka i pomidorów. Określeniem możliwości wzbogacania soku

z marchwi pałeczkami z rodzaju *Propionibacterium* i *Bifidobacterium*. Ponadto uczestniczyłam w badaniach wpływu metabolitów bakterii fermentacji mlekowej i propionowej na bakterie *Salmonella* sp. i *Listeria monocytogenes*. Brałam również udział w badaniach antybiotykooporności pałeczek Gram-ujemnych izolowanych z żywności.

Działalność naukowa z tego okresu obejmuje zał. 3 poz. 4.1, 4.2, 7.1-7.17, 4.1-4.2.

Działalność naukowa po uzyskaniu stopnia doktora nauk rolniczych

Antybiotykooporność bakterii izolowanych z żywności, czynniki wirulencji oraz możliwość transferu genów oporności od szczepów z żywności do biorców niespokrewnionych

W kwietniu 2014 roku WHO (Światowa Organizacja Zdrowia) opublikowała raport „Oporność drobnoustrojów na antybiotyki: raport podsumowujący monitorowanie antybiotykooporności na świecie”, w którym podkreślono, że problem jest na tyle poważny, że zagraża osiągnięciom współczesnej medycyny, a infekcje spowodowane antybiotykoopornymi bakteriami są obecnie jednym z najważniejszych problemów zdrowotnych. Przez lata sądzono, że problem antybiotykooporności dotyczy tylko środowiska szpitalnego, jednak badania wskazują, że przez nadmierne stosowanie antybiotyków w uprawie roślin i hodowli zwierząt (dopiero w roku 2006 zakazano w Europie stosowania antybiotyków jako stymulatorów wzrostu) są one rozpowszechnione w środowisku i również żywność może być rezerwuarem antybiotykoopornych drobnoustrojów. Duża część mojej działalności badawczej dotyczy antybiotykooporności oraz czynników wirulencji drobnoustrojów izolowanych z żywności (szczególnie gotowej do spożycia, niepoddawanej obróbce termicznej przed konsumpcją). Badania dotyczące tej tematyki koncentrowały się na powszechnie występujących w żywności ziarniakach z rodzaju *Enterococcus* oraz *Staphylococcus*. Opracowania na temat roli izolowanych z żywności ziarniaków w przenoszeniu oporności na antybiotyki skupiają się na izolatach z żywności surowej: mięso, drób, ryby. Taka żywność przed konsumpcją zazwyczaj poddawana jest obróbce. Zatem z punktu widzenia zagrożenia dla konsumenta istotniejsze wydaje się zbadanie żywności spożywanej bezpośrednio. W związku z brakiem w Polsce kompleksowego opracowania na ten temat zespół, którego jestem członkiem, z powodzeniem aplikował w roku 2010 o grant z Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (N N312 236138)

„Antybiotykooporność szczepów z rodzaju *Staphylococcus* i *Enterococcus* izolowanych z żywności” (kierownik: prof. dr hab. Łucja Łaniewska-Trokenheim). W toku badań przeprowadzono cykl analiz laboratoryjnych obejmujących izolację szczepów z rodzaju *Staphylococcus* sp. i *Enterococcus* sp. z żywności, wykonano ich szczegółową analizę fenotypową oraz genotypową. Przeprowadzono badania oporności (wraz z wyznaczeniem MIC) izolatów na powszechnie stosowane w leczeniu ludzi antybiotyki oraz chemioterapeutyki. Przeprowadzono także badania techniką PCR nad częstością występowania genetycznych markerów wirulencji w genomowym DNA wyizolowanych paciorkowców z rodzaju *Enterococcus*: *esp ace*, *as*, *efaA*, *geIE*, *cylA* oraz *hyl*. Określono częstość występowania genów kodujących oporność na antybiotyki, w tym na aminoglikozydy: *aac(6')*-Ie-*aph(2'')*-Ia, *aph(2'')*-Ib, *aph(2'')*-Ic, *aph(2'')*-Id, *aph(3'')*-IIIa, *ant(4')*-Ia, *ant(6')*-Ia; zespół genów kodujących białka enzymatyczne syntezy prekursorów peptydoglikanu: *vanA*, *vanB*, *vanC1*, *vanC2/C3*; geny kodujące oporność na tetracykliny: *tetM*, *tetL*, *tetK*, *tetO*, *tetW*; na makrolidy *ermA*, *ermB*, *ermC*, *msrC*, *mefAB*. U szczepów ze stwierdzoną obecnością genów oporności na tetracykliny oznaczono także obecność genu intergrazy *int* kodującego transpozon—koniugacyjny z rodziny Tn916/Tn1545. Przeprowadzono również analizy fenotypowe celem potwierdzenia ekspresji zidentyfikowanych metodami genetycznymi czynników wirulencji. Badania *Staphylococcus* sp. obejmowały określenie mechanizmów nabywania i rozprzestrzeniania przez nie oporności na antybiotyki, w tym genów kodujących oporność na tetracykliny: *tet(M)*, *tet(L)*, *tet(K)*, makrolidy: *erm(B)*, metycylinę: *mec(A)* z równoczesnym wykrywaniem genu *nuc* kodującego nukleazę. Badano także możliwość transferu genów oporności u szczepów wyizolowanych z żywności. Nasze badania wykazały, że szczepy z żywności posiadające klinicznie istotne profile oporności są w stanie przekazać na drodze transferu horyzontalnego geny kodujące oporność na antybiotyki do szczepu niespokrewnionego.

Obecnie jestem wykonawcą grantu przyznanego przez Narodowe Centrum Nauki (2013/09/N/NZ9/01630) „Fenotypowa i genotypowa charakterystyka szczepów z rodzaju *Enterococcus* izolowanych z żywności gotowej do spożycia, ze szczególnym uwzględnieniem ich roli w przenoszeniu i przekazywaniu genów oporności na antybiotyki i czynników wirulencji” (kierownik: dr inż. Wioleta Chajęcka-Wierzchowska). Szczepy do badań izolowano z żywności ready-to-eat zakupionej w barach i restauracjach. Celem badań obok dokładnej charakterystyki antybiotykooporności wyizolowanych szczepów jest ocena możliwości transferu genów między wyizolowanymi z żywności, opornymi szczepami

dawców z rodzaju *Enterococcus*, a szczepami bakterii wrażliwych na antybiotyki, stanowiącymi mikroflorę żywności i przewodu pokarmowego człowieka oraz patogenami jelitowymi. Wyniki dotychczasowych badań potwierdziły możliwość transferu genów od opornych szczepów izolowanych z żywności do szczepów wrażliwych. Badania techniką PCR potwierdziły obecność w DNA biorców genów kodujących oporność na tetracykliny (*tetM*, *tetL*), makrolidy (*ermB*) lub aminoglikozydy (*aac(6')-aph(2'')*)Ia.

Opisana powyżej część mojej aktywności naukowej została opublikowana w 5 publikacjach z listy A (zał. 3 poz. 1.2, 1.3, 1.4, 1.6, 1.8), dwóch rozdziałach monografii anglojęzycznej (zał. 3 poz. 6.2, 6.4), jednym rozdziale

w monografii w języku polskim (zał. 3 poz. 5.1) oraz 12 doniesieniach naukowych (zał. 3 poz. 7.20, 7.28, 7.29, 7.33, 7.37, 7.39, 7.44, 7.45, 7.46, 7.47, 7.48, 7.52).

Mikrobiologiczne bezpieczeństwo żywności

Listeria monocytogenes zgodnie z Rozporządzeniem Komisji (WE) 2073/2005 z późn. zmianami stanowi kryterium bezpieczeństwa żywności, dane z systemu RASFF wskazują, że najwięcej zgłoszeń związanych z tymi bakteriami dotyczy produktów rybnych. Również w raportach EFSA, ryby i produkty rybne wskazuje się jako żywność, w której przekraczane są dopuszczalne limity tych pałeczek. W swojej pracy zajmowałam się zarówno metodami oznaczania, jak i występowaniem *Listeria monocytogenes* w rybach i produktach rybnych. W obszarze moich zainteresowań były również systemy zarządzania jakością w przemyśle spożywczym ze szczególnym uwzględnieniem analizy ryzyka i jego szacowania. W tym obszarze mojej działalności naukowej mieści się również udział w roli wykonawcy w projekcie rozwojowym NCBiR (N R12 0097 06/2009) pt. „Zastosowanie mikrobiologii prognostycznej do modelowania bezpieczeństwa żywności”. W związku z tym, że nieustannie staram się doskonalić swój warsztat badawczy, w ostatnim czasie rozpoczęłam badania dotyczące oznaczania pałeczek *Salmonella* techniką LAMP (ang. Loop-mediated isothermal AMPLification) opartej na amplifikacji kwasów nukleinowych w warunkach izotermicznych z zastosowaniem polimerazy GspSSD. Badania *Salmonella* sp. opierają się na specyficznej amplifikacji konserwatywnego regionu DNA – genu *invA*. Wyniki badań przedstawione podczas XXVIII Zjazdu Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów 25-27.09.2016 r. wskazują na wysoką specyficzność tej metody oraz na możliwość otrzymywania wyników w znacznie krótszym czasie niż większością dostępnych obecnie metod.

Opisana powyżej część mojej aktywności naukowej została opublikowana w 1 publikacji z listy A (zał. 3 poz. 1.12), czterech publikacjach z listy B (zał. 3 poz. 2.2, 2.3, 2.4, 2.5), dwóch rozdziałach monografii anglojęzycznej (zał. 3 poz. 6.1, 6.3) oraz doniesieniach naukowych (zał. 3 poz. 7.23, 7.24, 7.26, 7.30, 7.34, 7.36, 7.36, 7.38, 7.40, 7.41, 7.42, 7.43, 7.49, 7.50, 7.51).

Bakterie fermentacji mlekowej

Po obronie pracy doktorskiej bakterie fermentacji mlekowej pozostały w obszarze moich zainteresowań, jednak w znacznie szerszym zakresie. Obok możliwości ich zastosowania do fermentacji soków warzywnych oraz ich antybakteryjnych właściwości przedmiotem moich badań było określenie zmian profili lotnych metabolitów bakterii *Lactobacillus* sp. w czasie ich długotrwałej hodowli na mleku. Porównanie metody epifluorescencyjnej z użyciem CFDA (dioctan karboksylfluoresceiny) do oznaczenia liczby komórek wykazujących aktywność wewnątrzkomórkowych, niespecyficznych esteraz do standardowej metody oznaczania liczby *Lactobacillus* sp. W zakresie moich zainteresowań było również występowanie bakterii fermentacji mlekowej jako zanieczyszczeń przypraw prowadzących do wad mikrobiologicznych produktów gotowych. W ostatnim czasie moja uwaga skupia się na możliwości zastosowania bakterii fermentacji mlekowych jako kultur ochronnych w przemyśle mięsny. Jednym z trendów obserwowanych obecnie w przemyśle spożywczym jest tzw. czyszczenie etykiet (ang. clean label). Producenci żywności dążą do umieszczania na etykietach jasnych i zrozumiałych dla konsumentów treści. Ponadto w swoich produktach ograniczają lub całkowicie eliminują stosowanie konserwantów. Bakterie fermentacji mlekowej wchodzące w skład kultury ochronnej są dobierane w taki sposób, aby nie powodowały zmian biochemicznych produktu, a jedynie hamowały rozwój mikroorganizmów niepożądanych. Chociaż samo stosowanie kultur ochronnych może być niewystarczające do całkowitego zapewnienia bezpieczeństwa mikrobiologicznego, coraz częściej stosowane są one w przetwórstwie mięsny jako części technologii płotków (ang. hurdle technology), czyli jednego z wielu elementów mających zapewnić bezpieczeństwo produktu.

Opisana powyżej część mojej aktywności naukowej została opublikowana w 2 publikacjach z listy A (zał. 3 poz. 1.13, 1.7) oraz doniesieniach naukowych (zał. 3 poz. 7.19, 7.21, 7.22, 7.25, 7.27, 7.31, 7.32).

7. Podsumowanie pozostałego dorobku naukowego, dydaktycznego i organizacyjnego

Brałam udział w 5 grantach finansowanych z MNiSW, NCBiR oraz NCN – w 4 byłam wykonawcą, w jednym (NCN) byłam kierownikiem. Ponadto brałam udział w 5 grantach finansowanych z UE. Wyniki moich badań były prezentowane na konferencjach polskich i zagranicznych (Francja, Słowacja, Niemcy, Grecja, Turcja, Szwecja, Hiszpania, Belgia, Norwegia, Dania, Chiny). Wykonałam 14 recenzji artykułów dla 10 czasopism naukowych (w tym 5 recenzji do czasopism z części A wykazu czasopism punktowanych MNiSW₂₀₁₅). Odbyłam staż zagraniczny w University of Barcelona oraz trzy staże krajowe. W czasie mojego zatrudnienia prowadziłam zajęcia dla studentów czterech wydziałów (Nauki o Żywności, Nauk Medycznych, Bioinżynierii Zwierząt, Biologii i Biotechnologii) i siedmiu kierunków studiów oraz na dwóch kierunkach studiów podyplomowych. Przygotowałam i prowadziłam wykłady z 12 przedmiotów oraz ćwiczenia z 15 przedmiotów. Byłam promotorem 33 prac dyplomowych. Od roku 2014 jestem opiekunem Studenckiego Naukowego Koła Mikrobiologii. W tym czasie jego członkowie prezentowali 11 doniesień na konferencjach naukowych, na których zdobyli 4 nagrody. Aktywnie uczestniczę w życiu Wydziału, trzecią kadencję jestem przedstawicielem adiunktów w Radzie Wydziału, trzykrotnie byłam członkiem Komisji Rekrutacyjnej oraz członkiem pięciu innych Komisji Wydziałowych, dwukrotnie byłam również opiekunem roku. Pięciokrotnie otrzymałam nagrody JM Rektora Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego (za działalność naukową oraz dydaktyczną). Intensywnie współpracuję z otoczeniem gospodarczym, między innymi wykonałam 15 audytów technologicznych w przedsiębiorstwach z województwa warmińsko-mazurskiego, przeprowadziłam 26 szkoleń dla pracowników zakładów branży spożywczej. Ponadto wykonałam kilkadziesiąt analiz mikrobiologicznych surowców i produktów oraz ekspertyz dokumentacji na zlecenie zakładów przemysłu spożywczego.

8. Wartość naukowa dorobku publikacyjnego do dnia 02.12.2016:

Mój dorobek naukowy stanowi łącznie 117 pozycji, w tym:

- 13 publikacji z listy A wykazu MNiSW₂₀₁₅ w czasopismach naukowych posiadających współczynnik wpływu Impact Factor (IF), znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JCR) (*LWT – Food Science and Technology, Journal of Food Science, Journal of Food Science and Technology, Food Microbiology, Journal of Food Protection, Foodborne Pathogens and Disease, Journal of Food Safety, Journal of Microbiology, Food Reviews International, Medycyna Weterynaryjna*),
- 5 publikacji z listy B nieposiadających współczynnika wpływu Impact Factor (IF) (*Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, Przemysł Spożywczy, Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny*),
- 4 publikacje w czasopismach niewymienionych w aktualnym wykazie,
- 51 komunikatów naukowych,
- 5 wygłoszonych referatów,
- 4 monografie,
- 6 rozdziałów w monografii: 2 w języku polskim, 4 w języku angielskim,
- 29 niepublikowanych raportów i sprawozdań.

Sumaryczna liczba punktów MNiSW₂₀₁₅: **572** (w tym **375** za publikacje z części A)

- liczba punktów przed uzyskaniem stopnia doktora: **65**
- liczba punktów po uzyskaniu stopnia doktora: **507**

Sumaryczny Impact Factor według listy JCR, zgodnie z rokiem opublikowania: **25.728**

Liczba cytowań według bazy Web of Science: **43** (bez autocytowań: **28**); Scopus: **47**

Indeks Hirscha według bazy Web of Science: **5**

Anna Zadenowska