

Załącznik nr 2

## **AUTOREFERAT**

Omówienie cyklu publikacji pt.:

***LEKOOPORNE BAKTERIE KAŁOWE – ISTOTNA MNIEJSZOŚĆ  
W ŚCIEKACH KOMUNALNYCH I WODACH  
STANOWIĄCYCH ICH ODBIORNIKI***

Politechnika Gdańska  
Wydział Inżynierii Lądowej i Środowiska  
Katedra Technologii Wody i Ścieków

***ANETA ŁUCZKIEWICZ***

Gdańsk, 2014

## Spis treści

1	Imię i nazwisko	str. 2
2	Posiadane dyplomy, stopnie naukowe – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej	str. 2
3	Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych	str. 2
4	Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym:	str. 2
4a	- tytuł osiągnięcia naukowego	str. 2
4b	- monotematyczny cykl publikacji wchodzący w skład osiągnięcia naukowego	str. 3
4c	- omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania	str. 4
5	Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo – badawczych:	str. 22
5a	- przed uzyskaniem stopnia doktora	str. 22
5b	- po uzyskaniu stopnia doktora	str. 25
6	Podsumowanie dorobku naukowego	str. 35
7	Działalność dydaktyczna	str. 35
8	Działalność organizacyjna	str. 36

## **1. IMIĘ I NAZWISKO**

Aneta Łuczkiewicz

## **2. POSIADANE DYPLOMY, STOPNIE NAUKOWE – Z PODANIEM NAZWY, MIEJSCA I ROKU ICH UZYSKANIA ORAZ TYTUŁU ROZPRAWY DOKTORSKIEJ**

Dyplom doktora nauk technicznych uzyskany na Wydziale Budownictwa Wodnego i Inżynierii Środowiska (obecnie Wydział Inżynierii Lądowej i Środowiska) Politechniki Gdańskiej w 2003 r. Tytuł rozprawy doktorskiej: „Badanie zanieczyszczenia środowiska gruntowo-wodnego jako rezultatu stosowania osadów ściekowych”. Promotor: dr hab. inż. Bernard Quant, prof. PG. Praca została wyróżniona.

Dyplom magistra inżyniera w zakresie gospodarki wodnej uzyskany na kierunku Inżynieria Środowiska Wydziału Inżynierii Środowiska (obecnie Wydział Inżynierii Lądowej i Środowiska) Politechniki Gdańskiej w 1997 r. Tytuł pracy magisterskiej: „Ocena mikrobiologicznego zagrożenia na stacjach uzdatniania wody”. Promotor: prof. dr hab. inż. Krystyna Olańczuk Neyman.

## **3. INFORMACJE O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH**

od 1.11.2003 - do chwili obecnej – Politechnika Gdańska, Wydział Inżynierii Lądowej i Środowiska, adiunkt w Katedrze Technologii Wody i Ścieków.

10.1997 - 10.2003 – Politechnika Gdańska, Wydział Inżynierii Środowiska (obecnie Wydział Inżynierii Lądowej i Środowiska), asystent w Katedrze Technologii Wody i Ścieków; w latach 1998 - 2002 oddelegowana na studia doktoranckie „Geotechnika i Inżynieria Środowiska” na Wydziale Inżynierii Środowiska Politechniki Gdańskiej.

## **4. WSKAZANIE OSIĄGNIĘCIA WYNIKAJĄCEGO Z ART. 16 UST. 2 USTAWY Z DNIA 14 MARCA 2003 R. O STOPNIACH NAUKOWYCH I TYTULE NAUKOWYM**

### **4a) tytuł osiągnięcia naukowego**

Osiągnięcie naukowe pt.: **Lekooporne bakterie kałowe – istotna mniejszość w ściekach komunalnych i wodach stanowiących ich odbiorniki**, na które składa się monotematyczny cykl 7 prac (opublikowanych w latach 2007–2014) o łącznym współczynniku oddziaływania *IF* - 12,249 i wartości punktacji Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego *PM* - 101,50 (zestawione w punkcie 4.b).

#### 4b) monotematyczny cykl publikacji wchodzący w skład osiągnięcia naukowego

1. **Łuczkiwicz A.**, Jankowska K., Olańczuk-Neyman K., 2007. Presence and distribution of antibiotic-resistant bacteria in multiphase activated sludge system. Polish Journal of Environmental Studies, nr 2A, pt. 3 suplement, 546-51 (*PM - 5*),
2. **Łuczkiwicz A.**, Fudala-Książek S., Jankowska K., Quant B., Olańczuk-Neyman K., 2010. Diversity of fecal coliforms and their antimicrobial resistance patterns in wastewater treatment model plant. Water Science and Technology, 61 (6), 1383-92 (*IF - 1,146, PM - 20*),
3. **Łuczkiwicz A.**, Jankowska K., Fudala-Książek S., Olańczuk-Neyman K., 2010. Antimicrobial resistance of fecal indicators in municipal wastewater treatment plant. Water Research, 44 (17), 5089-97 (*IF - 5,315, PM - 45*),
4. **Łuczkiwicz A.**, Fudala-Książek S., Jankowska K., Quant B., Olańczuk-Neyman K., 2010. Antimicrobial resistance of *Enterococcus* spp. in municipal wastewater treatment plant – model study. Polish Journal of Environmental Studies, vol. 2, Series of Monographs, HARD, 146-52 (*PM - 5*),
5. **Łuczkiwicz A.**, Jankowska K., Bray R., Kulbat E., Quant B., Sokołowska A., Olańczuk-Neyman K., 2011. Antimicrobial resistance of fecal indicators in disinfected wastewater. Water Science and Technology, 64 (12), 2352-61 (*IF - 1,146, PM - 20*),
6. **Łuczkiwicz A.**, Felis, E., Ziemińska, A., Gnida, A., Kotlarska, E., Olańczuk-Neyman, K., Surmacz-Górska, J., 2013. Resistance of *Escherichia coli* and *Enterococcus* spp. to selected antimicrobial agents present in municipal wastewater. Journal of Water and Health, 11(4), 600-12 (*IF - 1,542, PM - 25*),

*Powyższe wyniki były również częściowo prezentowane przez:*

**Łuczkiwicz, A.**, Olańczuk-Neyman, K. Felis, E., Ziemińska, A., Gnida, A., Surmacz-Górska, J., 2013. Fecal indicators resistance to antimicrobial agents present in municipal wastewater. W: Proceedings of the Conference on Environmental Engineering IV, 3 - 5 September 2012; Lublin, Poland; Eds.: A. Pawłowski, M.R. Dudzińska, L. Pawłowski. Taylor & Francis Group, 151-59.

7. Sadowy E. i **Łuczkiwicz A.**, 2014. Drug-resistant and hospital-associated *Enterococcus faecium* from wastewater, riverine estuary and anthropogenically impacted marine catchment basin. BMC Microbiology, DOI:10.1186/1471-2180-14-66 (*IF - 3,10, PM - 30*).

**4c) omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.**

W 1997 r. Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) zaliczyła problem lekooporności bakterii do największych zagrożeń w dziedzinie zdrowia publicznego, a rok później państwa członkowskie UE zostały zobowiązane do opracowania międzynarodowych programów monitorowania oporności i zapobiegania rozprzestrzenianiu się szczepów opornych oraz promocji racjonalnej profilaktyki i terapii zakażeń<sup>1</sup>. Uznano również, iż rozwiązanie problemu lekooporności wymaga podjęcia kompleksowych działań, uwzględniających środowisko pozakliniczne.

W związku z powyższym jako inżynier sanitarny, który zajmuje się problematyką oczyszczania wody i ścieków oraz działaniami zapobiegającymi i likwidującymi skutki zanieczyszczenia środowiska, podjęłam prace badawcze dotyczące problematyki zagrożeń mikrobiologicznych związanych z odprowadzaniem ścieków oczyszczonych do wód powierzchniowych, w tym do morskiej strefy przybrzeżnej. Szczególną uwagę zwróciłam na lekooporność bakterii wskaźnikowych występujących w ściekach surowych, oczyszczonych (przed i po dezynfekcji) oraz w wodach odbiornika.

Celem naukowym była weryfikacja hipotezy, iż *ścieki komunalne są ważnym rezerwuarem bakterii kałowych wyposażonych w fenotypy lekooporności o znaczeniu klinicznym, a bezpośrednie skażenie ekosystemów wodnych stanowi potencjalne zagrożenie przenoszenia genów oporności na mikroorganizmy saprofityczne.*

Przeprowadzone przeze mnie badania obejmują trzy obszary tematyczne:

**Temat nr 1:** analiza występowania lekooporności wśród bakterii wskaźnikowych, w aspekcie propagacji cech lekooporności w procesach biologicznego oczyszczania ścieków, na podstawie badań w skali modelowej i technicznej,

---

<sup>1</sup> DIRECTIVE 2006/7/EC of the European Parliament and of the Council, 15 February 2006, concerning the management of bathing water quality and repealing Directive 76/160/EEC. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:064:0037:0051:EN:PDF>

**Temat nr 2:** analiza różnorodności i powszechności występowania genów kodujących cechy oporności na antybiotyki wśród bakterii wskaźnikowych izolowanych z wód stanowiących bezpośrednie odbiorniki ścieków oczyszczonych,

**Temat nr 3:** określenie wpływu trzech metod dezynfekcji ścieków oczyszczonych: ozonowania, naświetlania promieniowaniem UV i mikro/ultrafiltracji na występowanie lekooporności wśród bakterii wskaźnikowych na podstawie badań w skali półtechnicznej.

Prace badawcze prowadzono w rejonie Zatoki Gdańskiej, ważnym krajobrazowo i ekonomicznie ekosystemie poddawanych silnej presji antropogenicznej. Materiał stanowiły ścieki surowe i oczyszczone oraz osad czynny z dwóch największych na tym obszarze oczyszczalni: „Gdańsk-Wschód” i „Gdynia-Dębogórze”. Badaniom poddano także wody morskie pobierane w miejscu wylotu kolektorów tłocznych odprowadzających ścieki oczyszczone z w/w oczyszczalni do Zatoki Gdańskiej oraz u ujścia rzeki Wisły (Rys. 1).

Cechy lekooporności oraz występowanie genów ją warunkujących badałam u gramujemnych pałeczek *Escherichia coli* oraz gramodatnich ziarniaków z rodziny *Enterococcus*. Zarówno *E. coli* jak i enterokoki są standardowymi organizmami wskaźnikowymi, służącymi do oceny występowania zanieczyszczeń pochodzenia kałowego w środowisku. Istotne jest również ich rosnące znaczenie kliniczne.

W ostatniej dekadzie, *E. coli* i *Enterococcus* spp. znalazły się w grupie ważnych czynników zakażeń szpitalnych. Bakterie te powodują liczne infekcje wtórne, m.in. w wyniku translokacji (przemieszczenia ze światła jelita, gdzie wchodzi w skład komensalnej bakteriocenozy, do miejsc, w których odgrywają rolę patogenów). Na przykład *E. coli* wywołuje od 25 do 50% szpitalnych zakażeń układu moczowego oraz 90% zakażeń u ambulatoryjnie leczonych pacjentów, a *E. faecalis* i *E. faecium* (dominujące w bakteriocenozie jelitowej człowieka, odpowiednio: > 90% i do 5%<sup>2</sup>), są przyczyną co drugiego zakażenia szpitalnego krwi<sup>3</sup>. W ostatnim okresie zwraca również uwagę wzrost udziału gatunków innych niż *E. faecalis* i *E. faecium*, w zakażeniach o mieszanej etiologii, np. *E. casseliflavus*, *E. gallinarium* i *E. avium* (zakażenia krwi), *E. durans* i *E. hirae* (zapalenie żołądka, zapalenie wsierdza).

---

<sup>2</sup> Tendolkar PM, Baghdayan AS, Shankar N, Cell Mol Life Sci, 2003, 60:2622-2636

<sup>3</sup> ECDC. Annual Epidemiological Report 2012. Stockholm, 2013

Niepokojące dane kliniczne dotyczą także lekowrażliwości *E. coli* i enterokoków. Według europejskiej sieci EARS-Net, w wielu krajach narasta zjawisko lekooporności tych bakterii, zwłaszcza odsetek izolatów wieloopornych, o tzw. fenotypie MDR (z ang. *multidrug resistance* – jednoczesna oporność na antybiotyki z różnych grup chemicznych). Należy zaznaczyć, iż obecnie antybiotykoterapia jest stosowana nie tylko w leczeniu chorób infekcyjnych, ale również w terapiach nowotworowych, transplantologii i profilaktyce okołoperacyjnej. Obecność szczepów MDR ogranicza zatem efektywne leczenie i prowadzi niejednokrotnie do niepowodzeń terapeutycznych i wydłużenia czasu hospitalizacji.

Szczególnie istotne znaczenie kliniczne, oprócz fenotypu MDR, mają również bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae* (w tym *E. coli*) produkujące  $\beta$ -laktamazy o rozszerzonym spektrum substratowym (z ang. *ESBL - extended-spectrum  $\beta$ -lactamases*) oraz enterokoki odporne na wankomycynę (z ang. *VRE – vancomycin resistant enterococci*) i/lub na wysokie stężenia aminoglikozydów (z ang. *HLAR – high level aminoglycoside resistance*). Co więcej w warunkach klinicznych, istotną rolę w rozprzestrzenianiu opornych szczepów *E. faecium* odgrywa specyficzny klon szpitalny HiRECC (z ang. *hospital-adapted polyclonal high-risk enterococcal complex*), początkowo określany jako tzw. kompleks 17 lub CC17. Klonalny charakter czynnika etiologicznego oznacza, iż większość szczepów *E. faecium* związanych z zakażeniami szpitalnymi jest genetycznie identyczna lub blisko spokrewniona z organizmem źródłowym. Wskazuje to, iż w warunkach selekcyjnych szczepy odporne mogą stać się frakcją dominującą w populacji.

W mechanizmie adaptacyjnym ważną rolę odgrywają pozachromosomalne ruchome elementy genetyczne (z ang. *MGE – mobile genetic elements*): plazmidy i transpozony, dzięki którym genomy bakteryjne mogą ulegać rearanżacjom strukturalnym w zależności od warunków środowiskowych. Są one przekazywane w wyniku horyzontalnego transferu genów (z ang. *horizontal gene transfer*), poprzez koniugację, transformację lub transdukcję. W procesie tym ważną rolę odgrywają plazmidy o szerokim zakresie gospodarza (z ang. *broad-host-range*), obdarzone zdolnością do replikacji w różnych, czasami nawet filogenetycznie odległych gatunkach oraz te, które kodują geny warunkujące różnorodne cechy fenotypowe (np. jednoczesną oporność na różne antybiotyki i/lub metale ciężkie). W sprzyjających warunkach środowiskowych, ekspresja genów zlokalizowanych na plazmidach, może zapewnić znaczną przewagę gospodarzowi w konkurencji z innymi mikroorganizmami.

Jednak w świetle przedstawionych powyżej danych, zagadnienia lekooporności nie mogą być analizowane wyłącznie w środowisku szpitalnym. Podjęta przeze mnie problematyka dotycząca analizy lekooporności i występowania fenotypów istotnych klinicznie wśród bakterii wskaźnikowych, izolowanych ze ścieków i wód stanowiących ich odbiornik, jest istotna nie tylko z poznawczego, lecz również z epidemiologicznego punktu widzenia.

W pracy zastosowano ujednoliconą metodykę badawczą. Bakterie wskaźnikowe izolowano z próbek ścieków i wody zgodnie z PN-ISO 9308-1:2000 i ISO 7899-2:2000.

Do identyfikacji gatunkowej izolatów wykorzystano testy biochemiczne. Lekooporność oznaczano wykorzystując metodę minimalnych stężeń hamujących (z ang. MIC - *minimum inhibitory concentration*) oraz związki przeciwbakteryjne zgodne z wytycznymi Klinicznego Instytutu Standardów Laboratoryjnych (z ang. CLSI - *Clinical and Laboratory Standards Institute*)<sup>4</sup>, a po wprowadzeniu w 2011 r. wytycznych europejskich, również zgodnie z Europejskim Komitetem d/s Oznaczania Lekowrażliwości (z ang. EUCAST - *European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing*)<sup>5</sup>. Szczepy, które na podstawie wspomnianych wytycznych, uznano za średniooporne lub oporne, klasyfikowano do grupy opornych. Jako wielooporne (z ang. MDR - *multidrug resistant*) określano szczepy bakteryjne wykazujące niewrażliwość na trzy lub więcej grup antybiotyków<sup>6</sup>. Ze względu na brak możliwości rozróżnienia gatunku *Enterococcus gallinarum* od *Enterococcus casseliflavus*, klasyfikowano je jako *Enterococcus casseliflavus/gallinarum*.

Niezależność występowania cech oporności w próbkach ścieków surowych i ścieków oczyszczonych analizowana była z wykorzystaniem testu Fishera (z ang. *exact Fisher's test*), natomiast istotność ich występowania z wykorzystaniem two-sided z-test ( $p < 0,05$ ).

Schemat lokalizacji punktów pomiarowych został przedstawiony na Rys. 1.

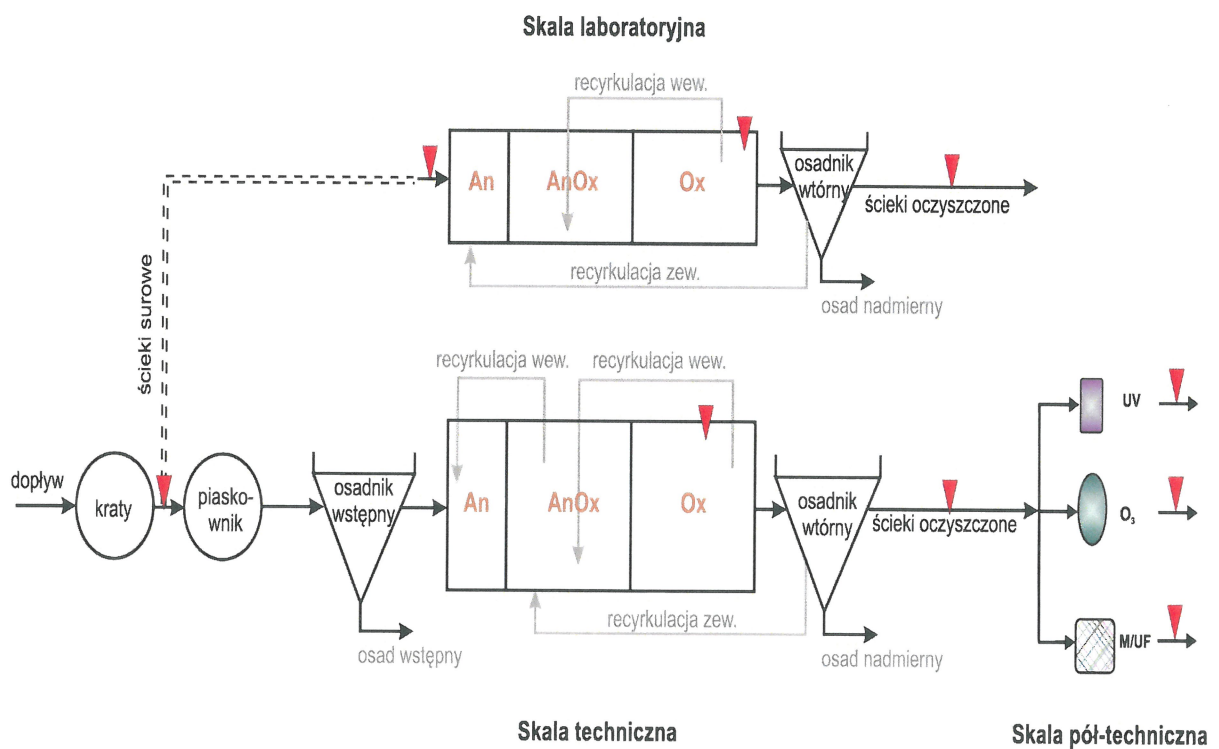
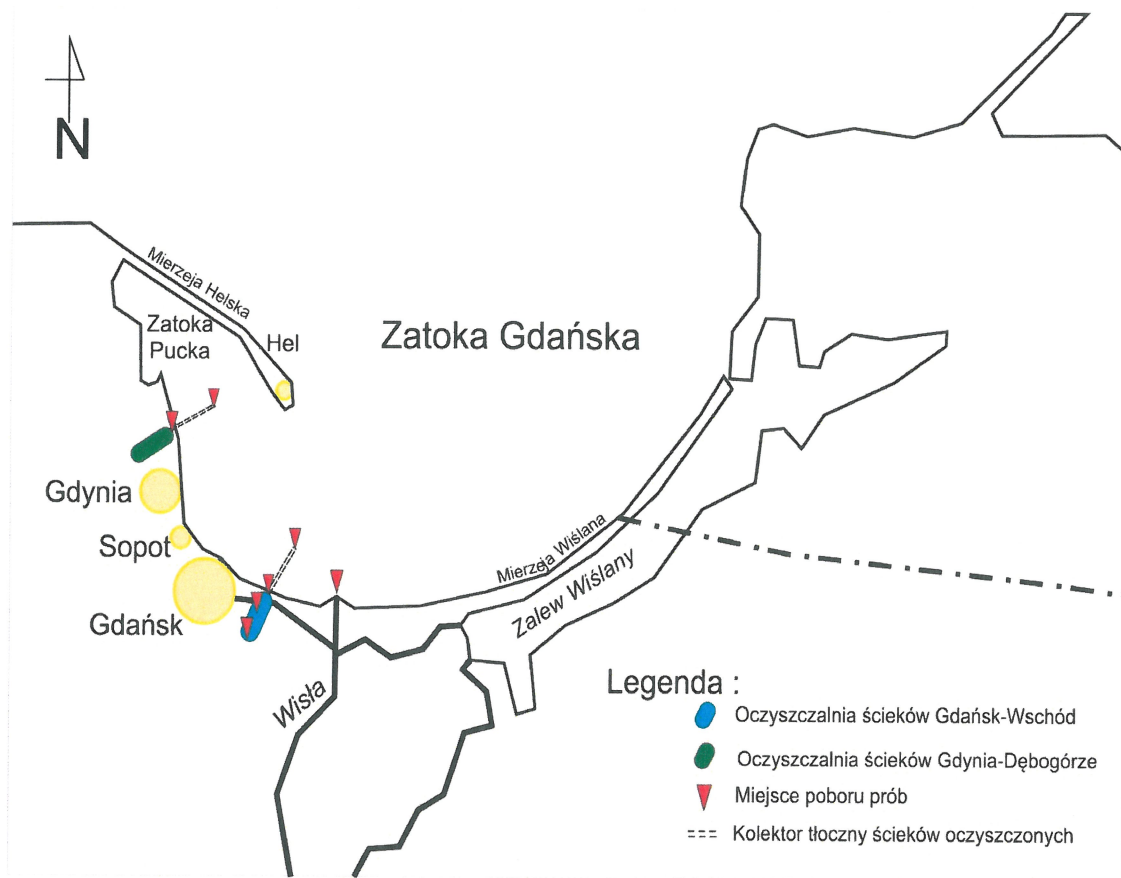
---

<sup>4</sup> Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 21st informational supplement 2011, Wayne, PA M100-S20

<sup>5</sup> European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs. 2013. <http://www.eucast.org>

<sup>6</sup> Magiorakos et al., 2012. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. Clin Microbiol Infect, 18:268-281





Rys. 1. Lokalizacja punktów poboru prób

*An* – warunki anaerobowe, *AnOx* – warunki anoksyczne, *Ox* – warunki tlenowe, *UV* – moduł promieniowania UV, *O<sub>3</sub>* - moduł ozonowania, *M/UF* – moduł mikro/ultrafiltracji

## Ad temat nr 1.

### *Analiza występowania lekooporności wśród bakterii wskaźnikowych, w aspekcie propagacji cech lekooporności w procesach biologicznego oczyszczania ścieków, na podstawie badań w skali laboratoryjnej i technicznej*

Prace nad występowaniem cech lekooporności wśród bakterii wskaźnikowych rozpoczęłam od badań w skali laboratoryjnej wykorzystując do tego celu model oczyszczalni A2O ( $Q_{av} = 27 \text{ m}^3/\text{d}$ ) zasilany ściekami pobranymi z oczyszczalni „Gdańsk-Wschód” (po kratkach przed piaskownikiem). Materiał badawczy stanowiły: *E. coli* ( $n = 222$ ) oraz enterokoki ( $n = 152$ ) wyizolowane z próbek ścieków komunalnych surowych i oczyszczonych oraz z próbek osadu czynnego komory napowietrzania.

Przeprowadzona przeze mnie identyfikacja bakterii z rodziny *Enterococcus* wykazała, iż w ściekach komunalnych dominował gatunek *E. faecium* (56,6%). Następnym pod względem liczebności był *E. faecalis* (42,7%), podczas gdy *E. hirae* występował sporadycznie (0,7%). Na podstawie analiz lekooporności stwierdziłam, iż wśród enterokoków największy odsetek izolatów był oporny na erytromycynę (do 75%). Powszechnie występowała również oporność na fluorochinolony (do 57%) i tetracyklinę (do 46%). U izolatów *E. coli* najczęściej stwierdzałam oporność na ampicylinę (41%) oraz tetracyklinę (21%), a następnie na skojarzony preparat trimetoprimu z sulfametoksazolem (12%) i fluorochinolony (9%).

W ściekach stwierdziłam obecność izolatów o fenotypach oporności istotnych klinicznie: 10% enterokoków opornych na wysokie stężenia aminoglikozydów (fenotyp HLAR) oraz 1% izolatów *E. coli* ( $n = 2$ ) produkujących  $\beta$ -laktamazy o szerokim spektrum substratowym (ESBL). Wszystkie te szczepy były jednocześnie odporne na antybiotyki z innych grup chemicznych (wielooporność MDR). Generalnie fenotypy MDR stwierdziłam u 12% izolatów *E. coli* i 27% *Enterococcus* spp. Niepokojącym zjawiskiem był wzrost odsetka izolatów MDR wraz z procesami oczyszczania ścieków, co sugeruje ich pozytywną selekcję.

Wyniki uzyskane w skali laboratoryjnej poddałam weryfikacji w skali technicznej, prowadząc analogiczne badania na oczyszczalni ścieków „Gdańsk-Wschód” pracującej w systemie MUCT ( $Q_{sr} = 96\,000 \text{ m}^3$ , RLM = 675 000, 94,83 % - ścieki komunalne, 5% - przemysłowe, 0,17% - niedezynfekowane ścieki szpitalne). W tym przypadku bakterie *E. coli* i enterokoki również izolowałam z próbek ścieków surowych, oczyszczonych oraz z osadu czynnego.

Podobnie jak w badaniach laboratoryjnych wśród analizowanych enterokoków (n = 199) dominował *E. faecium* (60.8%). Mniej licznie występował *E. faecalis* (22.1%), podczas gdy pozostałe izolaty stanowiły aż 17,1% i należały do gatunków: *E. hirae* (12.1%), *E. casseliflavus/gallinarum* (4.5%) i *E. durans* (0.5%).

Profile lekooporności uzyskane w badaniach ścieków w skali technicznej były podobne jak w badaniach laboratoryjnych. Wśród izolatów *E. coli* (n=153) najczęściej występowała oporność na ampicylinę, następnie na tetracyklinę, trimetoprim/sulfametoksazol i fluorochinolony, a u enterokoków powszechna była oporność na erytromycynę oraz fluorochinolony i tetracyklinę. Należy zaznaczyć jednak, iż poziomy oporności uzyskane w skali technicznej były niższe niż w skali laboratoryjnej. Na przykład: oporność na erytromycynę wśród *E. faecium* i *E. faecalis* wynosiła odpowiednio 45% i 64%, podczas gdy w skali laboratoryjnej sięgała 75%. W przypadku *E. coli* 32% izolatów z oczyszczalni „Gdańsk-Wschód” wykazało brak wrażliwości na ampicylinę w porównaniu z 41% w układzie modelowym. Rzadziej stwierdzałam również fenotypy o znaczeniu klinicznym. Oporności na wysokie stężenia aminoglikozydów (HLAR) wykazywało jedynie 5,4% enterokoków (10% w skali laboratoryjnej). W przypadku bakterii *E. coli*, pojedynczy szczep wytwarzający  $\beta$ -laktamazy o rozszerzonym spektrum substratowym (ESBL) wyizolowałam z komory osadu czynnego.

Należy podkreślić, iż ***procesy oczyszczania ścieków, zarówno w skali laboratoryjnej jak i technicznej, prowadziły do pozytywnej selekcji szczepów wieloopornych (MDR) jak i opornych na niektóre antybiotyki***, np.: izolatów *E. coli* opornych na penicyliny, trimetoprim/sulfametoksazol i tetracyklinę oraz enterokoków opornych na fluorochinolony. Prezentowane w pracy wyniki potwierdzają zaobserwowane przez Reinthaler'a i wsp.<sup>7</sup> zjawisko przewagi bakterii lekoopornych nad wrażliwymi w procesach oczyszczania ścieków. Częściowo może być ono wyjaśnione faktem, iż nawet właściwie przebiegające procesy oczyszczania ścieków nie gwarantują usunięcia niektórych antybiotyków, w szczególności trimetoprimu, sulfametoksazolu i fluorochinolonów. Oprócz obecności subterapeutycznych stężeń związków przeciwbakteryjnych, selekcja szczepów lekoopornych w procesach oczyszczania ścieków może być również związana z czasem zatrzymania ścieków/osadu czynnego w systemie. Ponad trzykrotnie dłuższy wiek osadu czynnego (ok. 70 dni) w skali laboratoryjnej niż w technicznej (ok. 20 dni) może tłumaczyć wyższy poziom oporności uzyskany przeze mnie dla bakterii izolowanych z układu modelowego.

---

<sup>7</sup> Reinthaler et al., 2003 Antibiotic resistance of *E. coli* in sewage and sludge. *Water Res.* 37, 1685–1690.

Jednym z mechanizmów nabywania oporności przez komórkę bakteryjną jest pozyskanie genu kodującego daną cechę od innego organizmu w wyniku horyzontalnego transferu. W osadzie czynnym procesowi temu sprzyja zagęszczenie komórek bakteryjnych oraz obecność genów lekooporności na mobilnych elementach genetycznych (np. plazmidach)<sup>8 9 10</sup>.

W pracy prowadziłam analizę występowania genów warunkujących oporność na sulfonamidy: *sul1* *sul2* i *sul3*, u bakterii *E. coli* izolowanych z próbek ścieków surowych i oczyszczonych. Dwa pierwsze geny, *sul1* i *sul2* są rozpowszechnione wśród szczepów klinicznych, czemu sprzyja ich obecność na integronach i/lub plazmidach. Potwierdziły to również wyniki uzyskane przeze mnie dla szczepów *E. coli* izolowanych ze ścieków. Stwierdziłam, iż oporność na sulfonamidy kodowana była przede wszystkim przez gen *sul2* (81% izolatów). Gen *sul1* występował u 50% badanych *E. coli*, przy czym u pięciu izolatów (31%) oba geny występowały jednocześnie.

W ściekach oczyszczonych wykryłam również obecność dwóch izolatów *E. coli* niosących zlokalizowany na plazmidach gen *sul3*. Według mojej najlepszej wiedzy jest to pierwszy w Polsce przypadek stwierdzenia obecności genu *sul3* u bakterii *E. coli* izolowanych z prób pozaklinicznych. Jak dotąd, ten nowo odkryty gen kodujący oporność na sulfonamidy stwierdzany był głównie u bakterii *E. coli* pochodzących z próbek klinicznych<sup>11</sup> i weterynaryjnych<sup>12 13</sup>, a w osadzie czynnym i oczyszczonych ściekach komunalnych obecność genu *sul3* odnotowano na oczyszczalni Bielefeld-Heepen w Niemczech<sup>14</sup>.

Wyniki uzyskane w pracy jak i dane literaturowe potwierdzają, iż plazmidy i inne mobilne elementy genetyczne obecne w komórkach bakteryjnych odgrywają istotną rolę w adaptacji komórek bakteryjnych do niekorzystnych warunków środowiskowych. Replikacja

---

<sup>8</sup> Schwartz et al., 2003 Detection of antibiotic-resistant bacteria and their resistance genes in wastewater, surface water, and drinking water biofilms. FEMS Microbiol. Ecol. 43(3), 325–335.

<sup>9</sup> Tennstedt et al., 2003 Occurrence of integron-associated resistance gene cassettes located on antibiotic resistance plasmids isolated from a wastewater treatment plant. FEMS Microbiol. Ecol. 45(3), 239–252.

<sup>10</sup> Schlüter et al., 2007 Genomics of IncP-1 antibiotic resistance plasmids isolated from wastewater treatment plants provides evidence for a widely accessible drug resistance gene pool. FEMS Microbiol. Rev. 31(4), 449–477

<sup>11</sup> Grape et al., 2003 Sulphonamide resistance gene *sul3* found in *Escherichia coli* isolates from human sources. J. Antimicrob. Chemother. 52, 1022–1024.

<sup>12</sup> Soufi et al., 2011. *Escherichia coli* of poultry food origin as reservoir of sulphonamide resistance genes and integrons. Int. J. Food. Microbiol. 144, 497–502

<sup>13</sup> Perreten et al., 2003. A new sulfonamide resistance gene (*sul3*) in *Escherichia coli* is widespread in the pig population of Switzerland. Antimicrob. Agents Chemother. 47:1169-1172

<sup>14</sup> Szczepanowski et al., 2009. Detection of 140 clinically relevant antibiotic-resistance genes in the plasmid metagenome of wastewater treatment plant bacteria showing reduced susceptibility to selected antibiotics. Microbiology. 155, 2306–2319.

i transfer plazmidów obserwowano nie tylko w obrębie określonego gatunku, ale również w niespokrewnionych gatunkach bakterii (z ang. *broad-host-range*)<sup>15</sup>. Wynika z tego, iż nie ma praktycznie granic dla przepływu informacji genetycznej, a bakterie patogenne jak i środowiskowe mogą stosunkowo łatwo korzystać z puli determinant opornościowych. Oznacza to na przykład, iż bakterie wchodzące w skład bakteriocenozy ścieków surowych mogą przekazywać geny kodujące cechy oporności bakteriom osadu czynnego, a w dalszej kolejności bakteriocenozie wód odbiornika.

Uzyskane przeze mnie antybiogramy dla szczepów izolowanych ze ścieków znalazły swoje odzwierciedlenie zarówno w danych dotyczących zużycia antybiotyków w Polsce<sup>16</sup>, jak i występowania lekooporności wśród klinicznych szczepów *E. coli* i *Enterococcus* spp.<sup>17</sup>. Na przykład stwierdzony przeze mnie fenotyp MDR z udziałem fluorochinolonów jest również uważany za coraz poważniejszy problem terapeutyczny<sup>18</sup>, a obserwowany wzrost odporności na tę grupę związków przeciwbakteryjnych tłumaczy się ich rosnącą konsumpcją.

Podsumowując, *wyniki moich badań dowodzą, iż na terenach zurbanizowanych ważnym wektorem rozprzestrzeniania bakterii lekoopornych w środowisku są ścieki komunalne, a procesy ich oczyszczania mogą stwarzać warunki korzystne dla propagacji cech oporności*. Ponadto antybiotyki i ich metabolity obecne w ściekach, mogą być czynnikiem presji selekcyjnej, prowadzącej do eliminacji szczepów wrażliwych i selekcji opornych, które rozprzestrzeniają się w powstałej niszy ekologicznej.

#### **Omówione powyżej wyniki przedstawiono w artykułach:**

- ❖ **Łuczkiwicz A., Jankowska K., Olańczuk-Neyman K., 2007.** Presence and distribution of antibiotic-resistant bacteria in multiphase activated sludge system. Polish Journal of Environmental Studies, nr 2A, pt. 3 suplement 546-551, IF - brak, PM - 5 (Załącznik nr 4, I.B. poz. 1),

---

<sup>15</sup> Norberg et al., 2011. The IncP-1 plasmid backbone adapts to different host bacterial species and evolves through homologous recombination. Nature Communications, 2: 272

<sup>16</sup> Elseviers et al., ESAC project group, 2007. Antibiotic use in ambulatory care in Europe: trends, regional differences and seasonal fluctuations. Pharmacoepidemiol. Drug Saf. 16 (1), 115-123.

<sup>17</sup> European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2010. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Stockholm: ECDC; 2011.

<sup>18</sup> Lautenbach et al., 2009. Gastrointestinal tract colonization with fluoroquinolone resistant *Escherichia coli* in hospitalized patients: changes over time in risk factors for resistance. Infect. Control Hosp. Epidemiol. 30(1), 18-24.

- ❖ **Łuczkiwicz A.**, Fudala-Książek S., Jankowska K., Quant B., Olańczuk-Neyman K., 2010. Diversity of fecal coliforms and their antimicrobial resistance patterns in wastewater treatment model plant. *Water Science and Technology*, 61 (6),1383-92, IF - 1,146, PM - 20 (Załącz. nr 4, I.B. poz. 2),
- ❖ **Łuczkiwicz A.**, Jankowska K., Fudala-Książek S., Olańczuk-Neyman K., 2010. Antimicrobial resistance of fecal indicators in municipal wastewater treatment plant. *Water Research*, 44 (17), 5089-97, IF - 5,315, PM - 45 (Załącz. nr 4, I.B. poz. 3),
- ❖ **Łuczkiwicz A.**, Fudala-Książek S., Jankowska K., Quant B., Olańczuk-Neyman K., 2010. Antimicrobial resistance of *Enterococcus* spp. in municipal wastewater treatment plant – model study. *Polish Journal of Environmental Studies*, vol. 2, Series of Monographs, HARD, 146-152, IF - brak, PM - 5 (Załącz. nr 4, I.B. poz. 4),
- ❖ **Łuczkiwicz A.**, Felis, E., Ziembinska, A., Gnida, A., Kotlarska, E., Olańczuk-Neyman, K., Surmacz-Gorska, J., 2013. Resistance of *Escherichia coli* and *Enterococcus* spp. to selected antimicrobial agents present in municipal wastewater. *Journal of Water Health*. 11(4), 600-12, IF - 1,542, PM - 20 (Załącz. nr 4, I.B. poz. 6).

**Powyższe badania wykonano w ramach następujących grantów:**

- ❖ **N523 077 32/2900**, grant własny MNiSW pt.: „Zmienność zagrożeń ekotoksykologicznych i mikrobiologicznych towarzysząca biologicznemu oczyszczaniu odcieków ze składowisk odpadów komunalnych”, 2007-2009, wykonawca (Załącz. nr 4, II.J.2 poz. 4),
- ❖ **WFOŚ/D/201/187/2010**, dotacja celowa Wojewódzkiego Funduszu Ochrony Środowiska i Gospodarki Wodnej w Gdańsku pt.: „Wspólne oczyszczanie odcieków ze składowisk odpadów wraz ze ściekami w komunalnych oczyszczalniach ścieków”, 2010-2011, wykonawca (Załącz. nr 4, II.J.2 poz. 5),
- ❖ **N N523 493134**, grant własny MNiSW pt.: „Antybiotyki w środowisku wodnym a przenoszenie antybiotykooporności przez bakterie osadu czynnego”, 2008-2011, wykonawca (Załącz. nr 4, II.J.2 poz. 6),
- ❖ **N N305 461 139**, grant własny MNiSW pt.: „Badania lekooporności, wirulencji i zróżnicowania genetycznego bakterii wskaźnikowych w odpływach z oczyszczalni ścieków i ich odbiorniku – morskich wodach przybrzeżnych”, 2010-2013, kierownik projektu (Załącz. nr 4, II.J.2 poz. 7).

## Ad temat nr 2.

### *Analiza różnorodności i powszechności występowania genów kodujących cechy oporności na antybiotyki wśród bakterii wskaźnikowych izolowanych z wód stanowiących bezpośrednie odbiorniki ścieków oczyszczonych.*

Kolejny podjęty przeze mnie temat badawczy był naturalną kontynuacją tematyki dotyczącej lekooporności wśród bakterii wskaźnikowych. Wyniki badań uzyskane podczas realizacji tematu nr 1 wskazywały bowiem, iż wśród zagrożeń związanych z mikroorganizmami przenoszonymi drogą wodną, nowym, istotnym problemem (również związanym z oczyszczaniem ścieków) jest możliwość rozprzestrzeniania cech lekooporności. W tym aspekcie istotną staje się analiza lekooporności wśród pochodzących od ludzi bakterii, które są obecne w ściekach i przeżywają w środowisku przyrodniczym, a tym samym mogą stanowić istotne wektory transmisji genów pomiędzy tymi ekosystemami<sup>19</sup>.

Powyższa problematyka jest szczególnie ważna w naszym kraju, gdyż aktualnie brak uregulowań prawnych określających jakość mikrobiologiczną ścieków oczyszczonych. Zdecydowana większość wysokoefektywnych oczyszczalni, pomimo spełnienia narzuconych parametrów fizyczno - chemicznych odpływu, nie jest przystosowana do efektywnego usuwania niepożądanych mikroorganizmów. Obowiązujące rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 16.10.2002 w sprawie wymagań, jakim powinna odpowiadać woda w kąpieliskach (Dz. U. Nr 183, poz. 1530) określa jedynie maksymalną dopuszczalną liczbę bakterii wskaźnikowych (*E. coli* oraz paciorkowców kałowych) w wodzie przeznaczonej do celów rekreacyjnych.

Zagadnieniem kluczowym staje się zatem bezpieczne odprowadzanie ścieków, szczególnie do akwenów, które poddane silnej presji antropogenicznej, charakteryzują się jednocześnie ograniczoną wymianą wody. Takim akwenem jest Zatoka Gdańska, zwłaszcza jej północno - zachodnia część - Zatoka Pucka, oddzielona od otwartego morza Półwyspem Helskim. Obecnie do wód Zatoki Gdańskiej główny ładunek zanieczyszczeń wprowadzany jest z rzeką Wisłą, aczkolwiek nie bez znaczenia są również ścieki oczyszczone, pochodzące z dwóch lokalnych oczyszczalni: „Gdańsk-Wschód” i „Gdynia-Dębogórze”, które obsługują aglomerację Gdańsk – Sopot – Gdynia – Rumia – Reda – Wejherowo wraz z przyległymi miejscowościami (łączna ilość ścieków  $Q_{sr} = 150\ 000\ m^3/d$ ). Dopiero w ostatnich latach

---

<sup>19</sup> D'Costa et al., 2006. Sampling the antibiotic resistome. Science. 311:374-377.

(2001 i 2011 r., odpowiednio) odpływy obu oczyszczalni zostały wyprowadzone kolektorami tłocznymi ok. 2,5 km od linii brzegowej w głąb morza.

Celem zadania badawczego była identyfikacja gatunkowa oraz określenie cech lekooporności bakterii z rodzaju *Enterococcus* spp. Badania prowadzono przede wszystkim dla izolatów pozyskanych z odpływów oczyszczalni „Gdańsk – Wschód” (n=82) i „Gdynia – Dębogórze” (n=73), a także z przybrzeżnych wód morskich w obszarze ujścia kolektorów tłoczonych ścieki oczyszczone do Zatoki Gdańskiej (odpowiednio: n=45 i n=71). Dodatkowo, w celach porównawczych, analogiczne badania przeprowadzono dla próbek ścieków surowych (n=33) i osadu czynnego (n=55) pochodzącego z oczyszczalni „Gdańsk – Wschód”, a także dla próbek wody morskiej u ujścia rzeki Wisły (n=69).

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdziłam, iż we wszystkich analizowanych próbkach wody i ścieków, wśród bakterii z rodzaju *Enterococcus* spp. gatunkiem dominującym był *E. faecium* (od 56 do 65% analizowanych izolatów), z wyłączeniem próbek pobranych z ujścia rzeki Wisły, gdzie stanowił zaledwie 38%. *E. faecalis* w ściekach oczyszczonych występował w zakresie od 23 do 26%, podczas gdy w wodach morskich (ujścia obu oczyszczalni oraz ujście Wisły do Zatoki Gdańskiej) był znacznie niższy i nie przekraczał 10%. Co ciekawe, gatunek *E. hirae* w ściekach oczyszczonych stanowił od 8 do 16%, w wodzie morskiej w obszarze ujścia kolektorów tłoczonych już od 24 do 38%, a u ujścia rzeki Wisły nawet 54%. Okazjonalnie stwierdzałam także obecność innych gatunków: *E. durans*, *E. casseliflavus/gallinarum* i *E. avium*.

Wśród *E. faecium* i *E. faecalis*, podobnie jak w poprzednich badaniach, powszechnie występowała oporność na erytromycynę, którą generalnie stwierdzano u 51% i 65% izolatów, a także stosunkowo wysoki odsetek izolatów opornych na tetracyklinę (18% i 29%) i fluorochinolony (do 40%). Wśród fenotypów klinicznych, we wszystkich analizowanych punktach, dominowała oporność na wysokie stężenia aminoglikozydów (HLAR), w szczególności na streptomycynę (HLSR). Fenotyp ten występował głównie wśród *E. faecalis* (16%), a u *E. faecium* stanowił 9%. Fenotyp HLSR stwierdzano również u ujścia rzeki Wisły u izolatów *E. hirae* (3/37).

Omówione powyżej wyniki badań uzupełniają lukę w piśmiennictwie dotyczącym lekooporności i składu gatunkowego bakterii z rodzaju *Enterococcus* izolowanych z różnych środowisk, w tym ze ścieków. Z układu pokarmowego ludzi najczęściej izolowany jest



*E. faecalis*, podczas gdy u ssaków i ptaków skład gatunkowy enterokoków jest bardziej zróżnicowany. Pomimo to, *E. faecalis* dominował jedynie w próbkach ścieków komunalnych pochodzących ze Szwecji<sup>20</sup>, podczas gdy w Portugalii i w Stanach Zjednoczonych dominował gatunek *E. hirae*<sup>21</sup>, a w Hiszpanii, Wielkiej Brytanii, Kanadzie, Francji, Szwajcarii<sup>22 23 24</sup> i Polsce (na podstawie badań własnych) - *E. faecium*.

W badaniach klinicznych prowadzonych w ostatnich latach w Europie i USA<sup>25</sup> zaobserwowano w enterokokowych zakażeniach szpitalnych wzrost względnego udziału *E. faecium* w stosunku do *E. faecalis*. Prawdopodobnie jest to związane ze zjawiskiem tzw. „szerzenia klonalnego”, czyli rozprzestrzeniania się blisko ze sobą spokrewnionych szczepów *E. faecium* tzw. wysokiego ryzyka (HiRECC)<sup>26</sup>. W związku z powyższym w pracach własnych wśród izolatów *E. faecium* wykazujących cechy oporności przeprowadzono dodatkowo typowanie molekularne, w celu stwierdzenia ich ewentualnego pokrewieństwa do kompleksu klonalnego HiRECC.

Badania wykorzystujące technikę tzw. multilocus sequence typing (MLST), polegającą na sekwencjonowaniu siedmiu określonych loci w genomie i identyfikację szczepów z użyciem bazy danych [www.mlst.net](http://www.mlst.net) na podstawie uzyskanych sekwencji, wykazały, iż aż 25% wszystkich przebadanych izolatów *E. faecium* było spokrewnionych z HiRECC. Izolaty te dominowały w próbkach ścieków i wodach stanowiących ich odbiornik, natomiast sporadycznie występowały również w wodzie morskiej u ujścia rzeki Wisły. Niezależnie od miejsca, izolaty te wykazały cechy fenotypowe i genotypowe charakterystyczne dla szpitalnego *E. faecium*, czyli były odporne na ciprofloksacynę i ampicylinę oraz w zdecydowanej większości wielooporne (MDR). Cechy lekooporności

---

<sup>20</sup> Kühn et al., 2003. Comparison of enterococcal populations in animals, humans, and the environment – a European study. *Int J Food Microbiol*, 88: 133-145

<sup>21</sup> Bonilla et al., 2006. Species assemblages of *Enterococcus* indicate potential sources of fecal bacteria at a south Florida recreational beach. *Mar Pollut Bull*, 52: 807-810.

<sup>22</sup> Lanthier et al., 2010. Frequency of virulence genes and antibiotic resistances in *Enterococcus* spp. isolates from wastewater and feces of domesticated mammals and birds, and wildlife. *Can J Microbiol*, 56: 715-729

<sup>23</sup> Leclercq et al., 2013. Changes in enterococcal populations and related antibiotic resistance along a medical center-wastewater treatment plant-river continuum. *Appl Environ Microbiol*, 79: 2428-2434.

<sup>24</sup> Thevenon et al., 2012. Characterization of fecal indicator bacteria in sediments cores from the largest freshwater lake of Western Europe (Lake Geneva, Switzerland). *Ecotoxicol Environ Safety*, 78: 50-56.

<sup>25</sup> Hidron et al., 2008. National Healthcare Safety Network Team; Participating National Healthcare Safety Network Facilities: NHSN annual update: antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006–2007. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 29: 996–1011

<sup>26</sup> Leavis et al., 2006. Identification of high-risk enterococcal clonal complexes: global dispersion and antibiotic resistance. *Curr Opin Microbiol*, 9:454-460.

związane były zarówno z mutacjami genów chromosomalnych warunkujących oporność na fluorochinolony (*gyrA*, *parC*) i ampicylinę (*pbp5*), jak i nabyciem elementów pozachromosomalnych niosących determinanty oporności (geny oporności na aminoglikozydy i tetracykliny). Co więcej, niektóre z tych izolatów niosły gen *esp*, kodujący enterokokowe białko powierzchniowe Esp, istotny czynnik zjadliwości charakterystyczny dla szczepów szpitalnych.

Wśród izolatów *E. faecium* spokrewnionych z HiRECC, częściej niż u pozostałych, stwierdzano obecność genów kodujących białka replikacyjne plazmidów (np. *rep2pRE25*, *rep17pRUM* i *rep18pEF418*) i genów kodujących plazmidowe systemy toksyna/antytoksyna (*axe-txe* i  $\omega$ - $\epsilon$ - $\zeta$ ). Zastosowanie dodatkowo w pracy metody genotypowania MLVA pozwoliło na ustalenie, iż niektóre izolaty *E. faecium* pochodzące ze ścieków oczyszczonych wykazywały podobieństwo do izolatów pochodzących z wód morskich, stanowiących ich odbiornik. Według mojej najlepszej wiedzy są to pierwsze w Polsce, ważne ze względów epidemiologicznych wyniki, potwierdzające zdolność HiRECC do przeżywania poza środowiskiem szpitalnym.

*Stwierdzona w badaniach własnych obecność w ściekach, jak i wodach stanowiących ich odbiornik, enterokoków o fenotypach oporności istotnych klinicznie, jak i izolatów E. faecium spokrewnionych z kompleksem klonalnym HiRECC wskazuje potrzebę dalszych prac badawczych nad przeżywalnością i rozprzestrzenianiem się patogenów alarmowych poza środowiskiem szpitalnym.*

**Omówione powyżej wyniki przedstawiono w artykule:**

- ❖ Sadowy E. i Łuczkiwicz A., 2014. Drug-resistant and hospital-associated *Enterococcus faecium* from wastewater, riverine estuary and anthropogenically impacted marine catchment basin. BMC Microbiology, DOI: 10.1186/1471-2180-14-66, IF – 3,10, PM – 30 (Załącznik nr 4, I.B. poz. 7)

**Powyższe badania wykonano w ramach grantu:**

- ❖ N N305 461 139, grant własny MNiSW pt.: „Badania lekooporności, wirulencji i różnicowania genetycznego bakterii wskaźnikowych w odpływach z oczyszczalni ścieków i ich odbiorniku – morskich wodach przybrzeżnych”, 2010-2013, kierownik projektu (Załącznik nr 4, II.J.2 poz. 7)

### Ad temat nr 3.

#### ***Określenie wpływu trzech metod dezynfekcji ścieków oczyszczonych: ozonowania, naświetlania promieniowaniem UV i mikro/ultrafiltracji na występowanie lekooporności wśród bakterii wskaźnikowych na podstawie badań w skali półtechnicznej***

Na podstawie wyników badań własnych (temat nr 1 i temat nr 2) jak i doniesień literaturowych można stwierdzić, iż ścieki surowe jak i oczyszczone stanowią rezerwuar szczepów posiadających fenotypy lekooporności o znaczeniu klinicznym. Występowanie tego zjawiska jest istotne w świetle potencjalnego transferu determinant lekooporności pomiędzy bakteriocenozą ścieków oczyszczonych, a ich odbiornikiem.

W tym aspekcie, kolejnym podjętym przeze mnie tematem badawczym była analiza efektywności różnych metod dezynfekcji ścieków w usuwaniu bakterii lekoopornych. Prace badawcze były nadal prowadzone w dwóch oczyszczalniach: „Gdańsk-Wschód” i „Gdynia-Dębogórze”. Na każdej z nich wybudowano instalację do dezynfekcji ścieków w procesie ozonowania, mikro i ultrafiltracji oraz naświetlania promieniami UV. Stacja do dezynfekcji za pomocą promieniowania UV składała się z lampy i promiennika o mocy UV 254 nm – 33 W. Stosowano dawki promieniowania UV w przedziale od 3.2 do 110 mJ/cm<sup>2</sup> przy przepływie od 0,6 do 4,7 m<sup>3</sup>. Stacja ozonowania składała się natomiast z generatora ozonu, typ Modular 4HC o produkcji ozonu 0,4–4,0 g/h. W sumie przetestowano ok. 40 różnych dawek ozonu w zakresie od 0.5 to 11 mg O<sub>3</sub>/dm<sup>3</sup>. W przypadku stacji filtrów membranowych zastosowano moduł membranowy o całkowitej powierzchni membran 0,8 m<sup>2</sup> i separacji 200 000 MW (warunki dla mikro/ultrafiltracji). Moduł pracował w systemie *dead-end* lub *crossflow mode* i był zasilany ściekami oczyszczonymi włączanymi pod ciśnieniem (0,3 i 0,5 MPa). Do każdego z trzech modułów dezynfekcji kolektorem tłocznym kierowano ścieki oczyszczone, a dezynfekcję uznawano za skuteczną, gdy liczba bakterii coli typu kałowego nie przekraczała 1 000 CFU w 100 ml dezynfekowanych ścieków (zgodnie z zaleceniami WHO dla ścieków wykorzystywanych w rolnictwie<sup>27</sup>).

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, iż zastosowanie mikro/ultrafiltracji pozwalało na osiągnięcie stabilnej redukcji liczby bakterii wskaźnikowych (powyżej 99%). W przypadku ozonowania i promieniowania UV, na uzyskanie wymaganej redukcji bakterii

---

<sup>27</sup> World Health Organization 1989. Health Guidelines for the use of Wastewater in Agriculture and Aquaculture: Report of a WHO Scientific Group. WHO Technical Report Series 778. World Health Organization, Geneva, Switzerland.

wpływ miała zarówno charakterystyka ścieków jak i warunki prowadzenia dezynfekcji. Zalecana dawka ozonu nie powinna być niższa niż 4 mg O<sub>3</sub>/dm<sup>3</sup>, a dawka promieniowania UV zawierała się w granicach od 10 do 20 mJ/cm<sup>2</sup>.

Efektywności analizowanych metod dezynfekcji ścieków w aspekcie usuwania bakterii lekoopornych były różne. I tak, dezynfekcja ścieków oczyszczonych metodą ozonowania skutecznie eliminowała bakterie lekooporne występujące w ściekach oczyszczonych. W przypadku dezynfekcji metodą promieniowania UV stosowane dawki przyczyniły się do statystycznie istotnego wzrostu udziału bakterii wieloopornych (MDR) jak i opornych na fluorochinolony ( $p < 0,05$ ), tak wśród izolatów *E. coli* jak i wśród izolatów z rodzaju *Enterococcus* spp. Ponadto, w przypadku *E. coli* odnotowano statystycznie istotny wzrost procentowego udziału izolatów opornych na trimetoprim/sulfametoksazol i tetracyklinę. Stwierdzone w pracy zjawisko selekcji bakterii lekoopornych przez promieniowanie UV można tłumaczyć obecnością plazmidów, które razem z opornością na związki przeciwbakteryjne, nadają komórkom również częściową odporność na działanie UV<sup>28</sup>. Zastosowanie metody membranowej do dezynfekcji ścieków oczyszczonych spowodowało natomiast pozytywną selekcję jedynie wśród lekoopornych izolatów *E. coli*. Było to prawdopodobnie związane ze wzrostem elastyczności błony komórkowej bakterii gramujemnych pod wpływem antybiotyków i chemioterapeutyków, a tym samym ich zwiększoną penetracją przez pory stosowanych membran<sup>29 30</sup>.

Znaczenie powyższych zjawisk wymaga dalszych badań, aczkolwiek uzyskane dane stanowią ważny element do pełnego zrozumienia wpływu człowieka tak na jakość zasobów wodnych.

#### **Omówione powyżej wyniki przedstawiono w artykule:**

- ❖ **Łuczkiwicz A., Jankowska K., Bray R., Kulbat E., Quant B., Sokołowska A., Olańczuk-Neyman K., 2011. Antimicrobial resistance of fecal indicators in disinfected wastewater. Water Science and Technology. 64 (12), 2352-61, IF - 1,146, PM - 20 (Zał. nr 4, I.B. poz. 5)**

---

<sup>28</sup> Drabblwe & Stockerb, 1968. R (transmissible drug resistance) factors in *Salmonella typhimurium*: pattern of transduction by phage P22 and ultraviolet-protection effect. J. Gen. Microbiol. 53, 109-123.

<sup>29</sup> Lorian, 1975. Some effects of subinhibitory concentrations of antibiotics on bacteria. Bull. N. Y. Acad. Med. 51 (9):1046-1055.

<sup>30</sup> Lebleu et al., 2009. Role of the cell-wall structure in the retention of bacteria by microfiltration membranes. J. Membr. Sci 326 (1), 178-185.

### **Powyższe badania wykonano w ramach grantów:**

- ❖ **EEA Grants E007/P01/2007/01/85** „*New methods of emission reduction of selected pollutants and application of by-products from sewage treatment plants*” Zadanie 2 „Metody dezynfekcji ścieków oczyszczonych odprowadzanych do wód powierzchniowych” finansowanym ze środków Mechanizmu Finansowego Europejskiego Obszaru Gospodarczego oraz Norweskiego Mechanizmu Finansowego (85%) oraz środków MNiSW (15%) (Załącz. nr 4, II.J.2 poz. 1)
- ❖ **WFOŚ/D/201/185/2007, dotacja celowa** Wojewódzkiego Funduszu Ochrony Środowiska i Gospodarki Wodnej w Gdańsku pt.: „Nowe metody redukcji emisji zanieczyszczeń i wykorzystania produktów ubocznych oczyszczalni ścieków – zadanie II i zadanie IV – wykonawca (Załącz. nr 4, II.J.2 poz. 2)

### **Podsumowanie**

Wyniki prac badawczych potwierdzają postawioną w pracy hipotezę, iż ***bakterie o fenotypach oporności istotnych klinicznie są obecne w ściekach: surowych, oczyszczonych oraz poddanych procesom dezynfekcji, a także w wodach stanowiących odbiornik ścieków oczyszczonych.***

Antybiogramy uzyskane dla *E. coli* i *Enterococcus* spp. izolowanych ze ścieków są zbliżone do klinicznych i odzwierciedlają zużycie antybiotyków w Polsce.

Stwierdzono, iż w procesach oczyszczania ścieków następuje propagacja cech lekooporności, a wydłużenie wieku osadu czynnego sprzyja temu zjawisku.

Pozytywna selekcja bakterii lekoopornych może być związana z przewagą selekcyjną komórek opornych w warunkach ekspozycji na czynniki selekcyjne (np. subinhibitorowe stężenia antybiotyków obecnych w ściekach).

Propagacji cech lekooporności może również sprzyjać horyzontalny transfer genów stymulowany liczbą mikroorganizmów obecnych w osadzie czynnym oraz obecność pozachromosomalnych mobilnych elementów genetycznych (np. plazmidów).

**Według mojej najlepszej wiedzy po raz pierwszy w Polsce:**

- ❖ przeprowadzono identyfikację gatunkową bakterii z rodzaju *Enterococcus* obecnych w ściekach komunalnych i wodach stanowiących ich odbiornik,
- ❖ stwierdzono, iż procesy oczyszczania ścieków prowadzą do pozytywnej selekcji szczepów wieloopornych (MDR) oraz szczepów opornych na niektóre antybiotyki, w szczególności izolatów *E. coli* opornych na penicyliny, trimetoprim/sulfametoksazol i tetracyklinę oraz enterokoków opornych na fluorochinolony,
- ❖ wykazano, iż ścieki surowe i oczyszczone są ważnym źródłem bakterii *E. faecium* spokrewnionych ze specyficznym klonem szpitalnym HiRECC (z ang. *high-risk enterococcal clonal complexes*),
- ❖ potwierdzono zdolność HiRECC do przeżywania w środowisku przyrodniczym, wykazując podobieństwo filogenetyczne izolatów HiRECC pozyskanych ze ścieków oczyszczonych i wód morskich stanowiących ich odbiornik,
- ❖ stwierdzono obecność zlokalizowanego na plazmidach genu *sul3* u bakterii *E. coli* izolowanych ze ścieków oczyszczonych.

**Reasumując** uzyskane wyniki przyczyniają się do lepszego zrozumienia potencjalnego wpływu człowieka na jakość zasobów wodnych i stanowią ważny wkład do dyskusji na temat dezynfekcji ścieków oczyszczonych przed ich wprowadzeniem do ekosystemów wodnych. Mają one również istotne znaczenie epidemiologiczne i mieszczą się w ramach wieloletniego programu monitorowania lekooporności, który zgodnie z wymogami Komisji Europejskiej ma uwzględniać również sektor środowiska przyrodniczego. Podjęta problematyka leży w centrum zainteresowań wielu europejskich programów i dyrektyw, które brak danych monitoringowych, uznały za najbardziej istotną lukę w pełnej implementacji zadań związanych z ochroną wód.

## 5. OMÓWIENIE POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO – BADAWCZYCH

### 5a) Przed uzyskaniem stopnia doktora

Studia magisterskie rozpoczęłam w 1992 r. na Wydziale Hydrotechniki Politechniki Gdańskiej (obecnie Wydział Inżynierii Lądowej i Środowiska) na kierunku Gospodarka Wodna. Podjęta w tym czasie współpraca ze studenckim wydziałowym kołem naukowym pozwoliła mi na realizację interesujących inicjatyw naukowych. Po czwartym roku studiów, w 1996 r., w ramach programu IAESTE (z ang. *International Association for Exchange of Students for Technical Experience*) odbyłam dwumiesięczny staż na Technische Universität Hamburg–Harburg w Hamburgu. Tam w Katedrze Bioprozess und Bioverfahrenstechnik pod opieką profesora Herberta Märkl'a prowadziłam prace badawcze dotyczące możliwości zastosowania bakterii termofilnych (głównie z gatunku *Bacillus thermoleovorans*) do rozkładu tłuszczu i enzymów (Zał. nr 4, III.L.1 poz. 2). Wyniki prac badawczych opublikowałam w materiałach I Uczelnianego Seminarium Kół Naukowych Politechniki Gdańskiej Ekologia-Budownictwo-Technika, które odbyło się w dniach 6 - 7 grudnia 1996 r. w Gdańsku (Zał. nr 4, II.L.1 poz. 1). Rok później, zostałam stypendystką programu CEEPUS (z ang. *Central European Exchange Program for University Studies*) i odbyłam miesięczny staż na Uniwersytecie w Zagrzebiu na Wydziale Geotechniki (Zał. nr 4, III.L.1 poz. 4). W ramach stażu mogłam zapoznać się z zaawansowanymi metodami posadowienia obiektów hydrotechnicznych na gruntach słabonośnych. W tym samym roku pod opieką prof. dr hab. inż. Krystyny Olańczuk-Neyman przygotowałam pracę magisterską pod tytułem „Ocena mikrobiologicznego zagrożenia na stacjach uzdatniania wody”. Studia ukończyłam 16 września 1997 r. z wynikiem bardzo dobrym, zdobywając tytuł magistra inżyniera na kierunku Inżyniera Środowiska w zakresie gospodarki wodnej. Wyniki pracy magisterskiej zaprezentowałam i opublikowałam w materiałach Krajowego Seminarium Kół Naukowych Techniczne Aspekty Ochrony Środowiska 16-18 listopada 1997 r. w Gdańsku (Zał. nr 4, II.L.1 poz. 2).

W trakcie studiów ukończyłam również dwuletnie Studium Pedagogiczne przy Politechnice Gdańskiej uzyskując kwalifikacje niezbędne do pracy pedagogicznej (Zał. nr 4, III.L.1 poz. 1) oraz tygodniowy kurs „Monitoring wody i powietrza” zorganizowany przez Wydział Chemiczny Politechniki Gdańskiej (Zał. nr 4, III.L.1 poz. 3).

Po uzyskaniu tytułu zawodowego magistra inżyniera, od października 1997 r. podjęłam pracę jako asystent na macierzystym wydziale, w Katedrze Technologii Wody i Ścieków, a od 1998 r. kontynuowałam naukę jako słuchacz studium doktoranckiego. Pierwszym tematem badawczym, podjętym 1998 r. we współpracy z zespołem pani prof. dr hab. inż. Krystyny Olańczuk-Neyman były prace dotyczące określenia jakości wód podziemnych ujęcia infiltracyjnego "Jedwabno" k. Torunia. Prace te wykonano na zlecenie Przedsiębiorstwa Wodociągów i Kanalizacji w Toruniu, a uzyskane dane opracowano w formie raportu (Zał. nr 4, III.M.1 poz. 4) i przedstawiono na Międzynarodowym Sympozjum "Water Management and Hydraulic Engineering" (Zał. nr 4, II.L.1 poz. 3). Na sympozjum tym zreferowano również wstępne wyniki monitoringu morskich wód przybrzeżnych i śródlądowych w gm. Gdańsk (Zał. nr 4, II.L.1 poz. 4). Badania te dotyczyły oceny ładunków zanieczyszczeń odprowadzanych do wód powierzchniowych w gminie Gdańsk i w latach 1998-2000 były wykonywane na zlecenie Urzędu Miejskiego w Gdańsku (Zał. nr 4, II.M.1 poz. 5-7). Dla mojego rozwoju naukowego bardzo istotne znaczenie miała rozpoczęta w 1999 r. współpraca z prof. Jean-Paul'em Gaudet'em z Laboratoire d'étude des Transferts en Hydrologie et Environnement (LTHE) na Université Joseph Fourier w Grenoble, Francja. W czasie moich dwóch stażów naukowych (w 1999 r. i 2000 r.) pracowałam nad biodegradacją kwasu 2,4-dichlorofenoksyoctowego (2,4-D) oraz związków selenu w ośrodkach gruntowych (Zał. nr 4, III.L.1 poz. 6-7). Szczególnie ważne z perspektywy czasu wydają się badania nad możliwością redukcji toksycznych związków  $\text{SeO}_3^{-2}$ ,  $\text{SeO}_4^{-2}$  do selenu cząsteczkowego ( $\text{Se}^0$ ) przez bakterie *Ralstonia metallidurans* CH34. Badania te realizowałam w skali laboratoryjnej w ramach współpracy z DBMS/CB-CNRS, Centre d'études Nucléaires de Grenoble, jednym z wiodących instytutów naukowych we Francji. Uzyskane przeze mnie, wstępne wyniki badań były na tyle obiecujące, iż prof. Jean-Paul Gaudet po uzyskaniu dofinansowania w 2001 r. zaproponował mi kontynuację tego tematu. W owym czasie jednak pozytywnie został zaopiniowany również mój grant promotorski Nr 7 T09D 044 21: „Mikrobiologiczne zagrożenie środowiska gruntowo-wodnego w przyrodniczym wykorzystaniu osadów ściekowych” (2001-2003) oraz dotacja celowa z Wojewódzkiego Funduszu Ochrony Środowiska i Gospodarki Wodnej w Gdańsku WFOŚ/D/201/103/2001 (2001 – 2002) (Zał. nr 4, II.J.1 poz. 1-2). Uzyskane fundusze pozwoliły mi na rozpoczęcie prac badawczych na macierzystej uczelni. Wykorzystując zdobyte doświadczenia stworzyłam własne stanowisko do badań laboratoryjnych nad migracją zanieczyszczeń w gruntach nienasyconych. Ponieważ zagadnienie migracji



zanieczyszczeń rozpatrywałam w kontekście stosowania osadów ściekowych do rekultywacji bezglebowych terenów zdegradowanych, wyniki uzyskane w skali laboratoryjnej weryfikowałam następnie w skali terenowej. Opiekunem i promotorem mojej pracy doktorskiej pt. „Badanie zanieczyszczenia środowiska gruntowo-wodnego jako rezultatu stosowania osadów ściekowych” był dr hab. inż. Bernard Quant, prof. PG. Stopień doktora nauk technicznych w dziedzinie inżynierii środowiska uzyskałam 6 lipca 2003 roku na Wydziale Inżynierii Środowiska Politechniki Gdańskiej. Wartości poznawcze i aplikacyjne mojej pracy doktorskiej zostały docenione wyróżnieniem za rozprawę doktorską oraz nagrodą Gdańskiego Towarzystwa Naukowego za wybitne osiągnięcia naukowe młodych badaczy w dziedzinie nauk technicznych (Załącznik nr 4, II.K.1 poz. 1-2).

W latach 1997 – 2003 uczestniczyłam również w kursach podnoszących moje kwalifikacje naukowe (Załącznik nr 4, III.L.1 poz. 5, 8-9). Dotyczyły one zastosowania modelowania komputerowego do oceny procesów oczyszczania ścieków (Gdańska Fundacja Wody), analiz mikrobiologiczno – parazytologicznych osadów ściekowych (Gdańska Fundacja Wody we współpracy z Instytutem Medycyny Morskiej i Tropikalnej) oraz migracji zanieczyszczeń w ośrodku porowatym (kurs prowadzony przez Université Joseph Fourier w Grenoble, Francja, w kooperacji z Politechniką Gdańską).

Równoległe z pracą naukową zdobywałam również doświadczenie zawodowe. W latach 2000 - 2003 jako asystent projektanta pracowałam w biurze projektowo-technologicznym EcoTech Sp. z o.o., prowadzącym działalność projektowo-doradczą oraz wykonawczą w zakresie inżynierii sanitarnej (Załącznik nr 8). W owym czasie województwo pomorskie było bardzo zróżnicowane pod względem poziomu wyposażenia w wodociągi i kanalizację. Wykorzystanie funduszy pomocowych Unii Europejskiej pozwoliło na szybki rozwój infrastruktury wodno-ściekowej, zarówno na obszarach wiejskich jak i podmiejskich. W firmie EcoTech byłam odpowiedzialna m.in. za przygotowanie operatów wodnoprawnych (Załącznik nr 4, III.M.1 poz. 1, 3), raportów oddziaływania na środowisko (Załącznik nr 4, III.M.1 poz. 2), koncepcji oraz dokumentacji projektowo-technicznych dla oczyszczalni ścieków komunalnych i przemysłowych (Załącznik nr 4, II.B.1 poz. 2, 3, 5, 14). Ponadto uczestniczyłam w procesie projektowo – wykonawczym sieci wodociągowych i sieci kanalizacji sanitarnych (Załącznik nr 4, II.B.1 poz. 1, 4, 6-13). Wykonane projekty oraz nadzór autorski nad budową i rozruchem technologicznym wspomnianych sieci i instalacji pozwoliły mi zdobyć, tak ważne w pracy na uczelni technicznej, doświadczenie zawodowe.

Podsumowując przed uzyskaniem stopnia doktora w 2003 r. byłam współautorem rozdziału w monografii (Zał. nr 4, II.E.1 poz. 1), trzech artykułów w materiałach konferencji zagranicznych (Zał. nr 4, II.L.1 poz. 3-5) i trzech w materiałach konferencji krajowych (Zał. nr 4, II.L.1 poz. 1-2, 6). Wyniki badań prezentowałam w sumie na 5 konferencjach (Zał. nr 4, II.L.1). W latach 2001–2003 byłam głównym wykonawcą grantu promotorskiego, który uzyskał również dofinansowanie z WFOŚiGW (Zał. nr 4, II.J.1 poz. 1-2). Ponadto byłam współautorem 14 koncepcji i projektów budowlano-wykonawczych z zakresu inżynierii sanitarnej (Zał. nr 4, II.B.1 poz. 1-14) oraz 3 ekspertyz i 4 opracowań zrealizowanych na zlecenie podmiotów gospodarczych (Zał. nr 4, III.M.1 poz. 1-7).

### **5b) Po uzyskaniu stopnia doktora**

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk technicznych, kontynuowałam pracę w Katedrze Technologii Wody i Ścieków Wydziału Inżynierii Środowiska (obecnie Wydział Inżynierii Lądowej i Środowiska) Politechniki Gdańskiej na stanowisku adiunkta.

Poza osiągnięciem naukowym, tematykę badawczą stanowiącą mój dorobek naukowy można podzielić, na trzy główne nurty:

**Temat nr 1:** Występowanie bakterii lekoopornych w wodnych ekosystemach śródlądowych poddawanych presji antropogenicznej,

**Temat nr 2:** Analiza skład taksonomicznego i lekooporności bakterii z rodzaju *Pseudomonas* izolowanych ze ścieków komunalnych,

**Temat nr 3:** Struktura i stabilność zbiorowisk mikroorganizmów osadu czynnego.

#### **Ad temat nr 1**

#### ***Występowanie bakterii lekoopornych w wodnych ekosystemach śródlądowych poddawanych presji antropogenicznej***

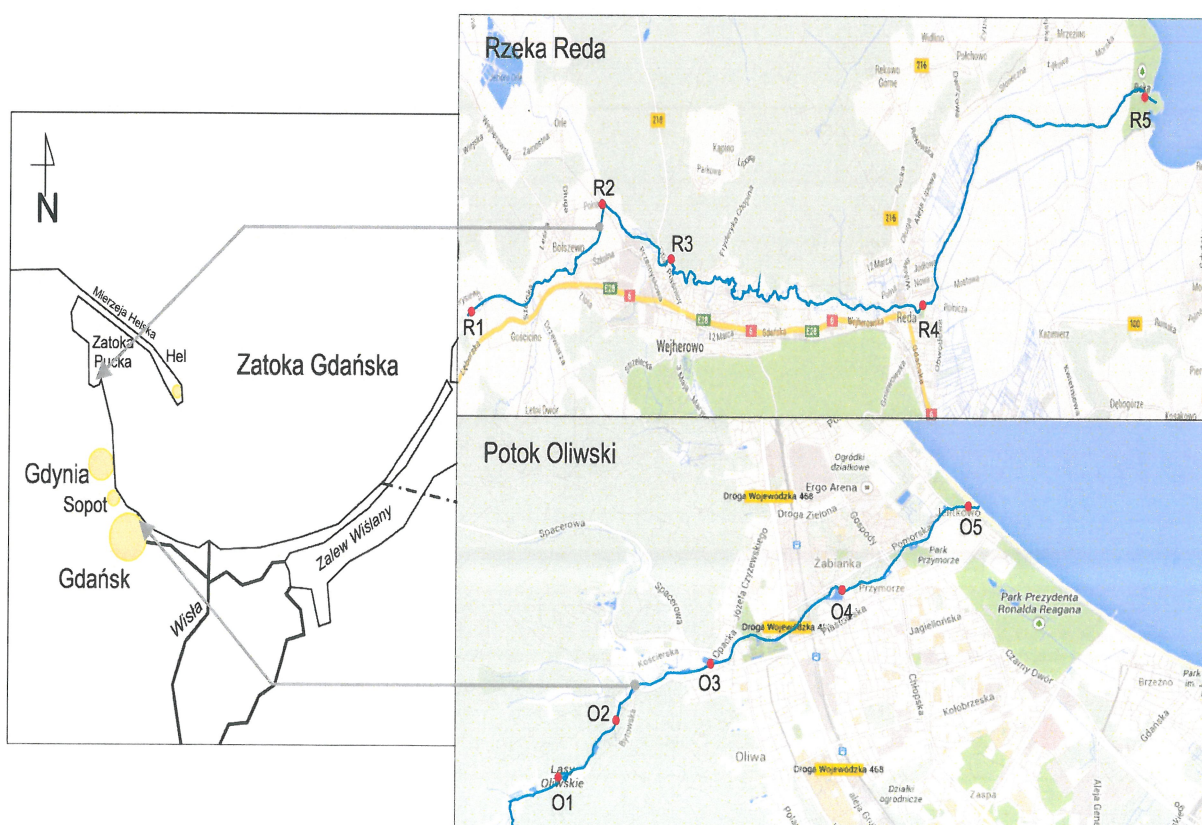
W latach 2007-2009 interesującą mnie tematykę badawczą mogłam rozwijać w ramach projektu badawczego N305 085 32/2959 pt.: „Występowanie bakterii lekoopornych w wodnych ekosystemach śródlądowych poddawanych presji antropogenicznej”, którego byłam pomysłodawcą i kierownikiem (Zał. nr 4, II.J.2 poz. 3). Badania prowadzono na Potoku Oliwskim i rzece Redzie, dwóch bezpośrednich dopływach Zatoki Gdańskiej,

mających istotny wpływ na jej stan sanitarny. Oba ciek nie są bezpośrednim odbiornikiem ścieków komunalnych jednak przepływają przez obszary o zróżnicowanej gospodarce ściekowej (obok terenów zurbanizowanych, obszary zalesione, rolnicze, kompleksy ogródków działkowych). Co więcej na Potoku Oliwskim i rzece Redzie (lub na ich dopływach) zlokalizowane są obiekty związane z hodowlą zwierząt (stawy hodowlane i Miejski Ogród Zoologiczny).

Tematyka badawcza realizowana w ramach powyższego projektu dotyczyła trzech zagadnień:

- a) lekooporności, zróżnicowania genomowego i filogenetycznego bakterii *Escherichia coli*,
- b) zróżnicowania gatunkowego oraz lekooporności bakterii *Enterococcus* spp.,
- c) zróżnicowania gatunkowego oraz lekooporności bakterii *Pseudomonas* spp.

Na obu ciekach wyznaczono po pięć punktów pomiarowych: w okolicach źródła (pomiar tła), u ujścia do przybrzeżnych morskich wód oraz w trzech pośrednich lokalizacjach (Rys 2).



Rys. 2. Lokalizacja punktów poboru prób na rzece Redzie (R1-5) i Potoku Oliwskim (O1-5).

Źródła rzeki Redy leżą na zachód od miejscowości Strzebielino, na terenie Pradoliny Redy-Łeby (punkt R1). Rzeka ta przepływa następnie przez obszary rolnicze powiatu wejherowskiego (R2) oraz miejscowości Wejherowo (R3) i Redę (R4). W końcowym odcinku ciek płynie przez rezerwat przyrody „Beka” i uchodzi do laguny, wewnętrznej części Zatoki Puckiej (R5). Potok Oliwski jest natomiast jednym z głównych cieków odwadniających obszar Trójmiejskiego Parku Krajobrazowego i uchodzącym do Zatoki Gdańskiej na granicy Gdańska i Sopotu. Lokalizacja źródeł (O1) na wysokości ok. 150 m n.p.m., determinuje niemalże górski charakter tego cieku. Głównym dopływem Potoku Oliwskiego jest Potok Rynarzewski przepływający przez Miejski Ogród Zoologiczny (O2). Potok Oliwski przepływa następnie przez kolejne dzielnice mieszkaniowe Gdańska: Oliwę (O3) i Przymorze (O4 i O5). Należy zaznaczyć, że na osiedlu Przymorze obok wielkopłytovej zabudowy zlokalizowane są tereny ogródków działkowych.

W projekcie przeanalizowano jakość fizyczno-chemiczną i mikrobiologiczną Potoku Oliwskiego i rzeki Redy oraz ich wpływ na pobliskie kąpieliska nadmorskie pod kątem obecnie obowiązujących norm prawnych (Zał. nr 4, II.E.2 poz. 15). Jednocześnie z wyżej wymienionych punktów pomiarowych wyizolowano w sumie 222 szczepy z gatunku *E. coli*, 306 z rodzaju *Enterococcus* spp. i 93 z rodzaju *Pseudomonas* spp.

Analiza cech lekooporności bakterii zidentyfikowanych jako *E. coli* wykazała, iż w ciekach wodnych (podobnie jak wśród szczepów pochodzących ze ścieków komunalnych, co zostało omówione w ramach osiągnięcia naukowego), najczęściej występowała oporność na tetracyklinę (16%) i antybiotyki  $\beta$ -laktamowe (ampicylinę - 21% i piperacylinę – 14%). Jednocześnie oporność na antybiotyki z trzech lub więcej odrębnych klas chemicznych (fenotyp MDR) stwierdziłam u 9% izolatów *E. coli* (Zał. nr 4, II.A.2 poz. 4).

W pracy zaobserwowano statystycznie istotny ( $p < 0,05$ ) wzrost ilości bakterii lekoopornych w stosunku do wrażliwych na ujściowym odcinku Potoku Oliwskiego. Podobny trend zaobserwowano w górnym i środkowym biegu rzeki Redy, na terenach o wzmożonej działalności rolniczej, charakteryzujących się brakiem centralnego systemu kanalizacyjnego (Zał. nr 4, II.F.2 poz. 8).

Ponieważ w pracy najczęściej stwierdzanym fenotypem była jednoczesna oporność na ampicylinę i tetracyklinę (AM-TE), dlatego też we współpracy z Zakładem Genetyki i Biotechnologii Morskiej Instytutu Oceanologii PAN podjęłam próbę określenia wybranych (najbardziej rozpowszechnionych u *E. coli*) genów kodujących te cechy. U bakterii *E. coli*

oporność na tetracykliny związana jest głównie z ekspresją genów kodujących białka błony cytoplazmatycznej (tzw. pompy), aktywnie usuwające tetracykliny, podczas gdy oporność na antybiotyki  $\beta$ -laktamowe związana jest z produkcją enzymów hydrolizujących wiązanie  $\beta$ -laktamowe w cząsteczce antybiotyku  $\beta$ -laktamowego (tzw.  $\beta$ -laktamazy).

Wśród izolatów *E. coli* opornych na tetracyklinę analizowałam występowanie trzech genów kodujących białka o charakterze pomp - *tetA-C*, z których *tetB* występował u 47% izolatów, a *tetA* u 13%. Nie stwierdziłam natomiast obecności genu *tetC*. Wśród analizowanych genów odpowiadających za produkcję  $\beta$ -laktamaz (*bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>OXA-B</sub> oraz *bla*<sub>SHV</sub>) występował tylko *bla*<sub>TEM</sub>, u 60% izolatów opornych na ampicylinę. W obu powyższych testach, dla 40% procent izolatów nie uzyskano pozytywnego wyniku, co oznacza, iż różnorodność genów kodujących oporność na tetracykliny jak i antybiotyki  $\beta$ -laktamowe była wyższa niż zakładano (Załącznik nr 4, II.F.2 poz. 7).

W kolejnym etapie badań, plazmidowy DNA wyizolowany z wyżej wymienionych szczepów użyłam w celu transformacji kompetentnych komórek *Escherichia coli* DH5 $\alpha$ . Ta forma wymiany informacji genetycznej przyczynia się do szybkiego rozprzestrzeniania genów oporności na antybiotyki. Polega ona na pobieraniu wolnego, egzogenego DNA, który może ustabilizować w komórce biorcy w formie plazmidu. W pracy, transformacja komórek *Escherichia coli* DH5 $\alpha$  wykazała ekspresję 75% plazmidów przeniesionych z izolatów *E. coli* opornych na ampicylinę oraz ekspresję 20% plazmidów przeniesionych z izolatów opornych na tetracyklinę. Uzyskane wyniki badań wskazują zatem na możliwości propagacji cech lekooporności w środowisku wodnym w wyniku horyzontalnego transferu genów (Załącznik nr 4, II.F.2 poz. 7).

Równolegle z badaniami cech i genów lekooporności w pracy określono przynależności filogenetyczną bakterii *E. coli* wyizolowanych z rzeki Redy i Potoku Oliwskiego. Prace te wykonano we współpracy z Katedrą Biologii Molekularnej Uniwersytetu Zielonogórskiego wykorzystując metodę BOX-PCR. Na podstawie uzyskanych wyników badań stwierdzono obecność wszystkich grup filogenetycznych wśród izolatów *E. coli* pochodzących z rzeki Redy (A-40%, B1-20%, B2-20%, D-20%), podczas gdy w potoku Oliwskim wyraźnie dominowała grupa A (A-90%, B1-10%), co wskazuje, że sposób zagospodarowania zlewni może mieć wpływ na zróżnicowanie filogenetyczne bakterii w ciekach (Załącznik nr 4, II.F.2 poz. 9).

Wraz z bakteriami *E. coli* z próbek Potoku Oliwskiego i rzeki Redy izolowano bakterie z rodzaju *Enterococcus* spp. Wśród 306 izolatów dominował gatunek *E. faecium* (68.6%) oraz *E. faecalis* (21.6%). Dodatkowo stwierdzono obecność *E. casseliflavus/gallinarum* (5.2%), *E. hirae* (3.9%) i *E. durans* (0.7%). Izolaty *Enterococcus* spp. wykazywały powszechną oporność na erytromycynę (do 66%) i stosunkowo wysoką w stosunku do fluorochinolonów (do 28%) i tetracykliny (do 26%). Wśród szczepów *E. faecium* i *E. faecalis* stwierdzono ponadto fenotypy oporności na wysokie stężenia aminoglikozydów tzw. HLAR, odpowiednio u 5% i 11% izolatów. Pośród analizowanych szczepów z rodzaju *Enterococcus*, 73% wykazywało cechy oporności na przynajmniej jeden z analizowanych związków przeciwbakteryjnych. Fenotypy wielooporności (MDR) wśród enterokoków stwierdzono jedynie w obrębie gatunków *E. faecium* - 21% i *E. faecalis* - 6% i tylko w górnym biegu rzeki Redy i dolnym Potoku Oliwskiego (Załącznik nr 4, II.A.2 poz. 3; II.F.2 poz. 8).

Obok cech bakterii wskaźnikowych (*E. coli* i *Enterococcus* spp.) na Potoku Oliwskim i rzece Redzie prowadziłam również analizy dotyczące określenia składu taksonomicznego bakterii z rodzaju *Pseudomonas*, ze szczególnym zwróceniem uwagi na *P. aeruginosa*. Gatunek ten, występujący w środowisku wodnym, jest jednocześnie istotnym czynnikiem etiologicznym w zakażeniach krwiobiegu i dróg oddechowych, zwłaszcza u pacjentów z upośledzoną funkcją układu immunologicznego. Uzyskane wyniki badań wykazały, iż w analizowanych próbkach wód powierzchniowych, wśród izolatów z rodzaju *Pseudomonas* (n=93) dominowały gatunki środowiskowe, głównie *P. putida* (65%). Pozostałe szczepy zidentyfikowano jako *P. fluorescens* (16%), *P. oryzihabitans* (3%) oraz *P. mendocina* (1%), a dla 14% izolatów, stosowanymi metodami biochemicznymi nie udało się określić klasyfikacji gatunkowej. Obecność *P. aeruginosa* stwierdzano sporadycznie (1%), jednak na uwagę zasługuje fakt, iż szczepy te występowały jedynie na odcinku ujściowym Potoku Oliwskiego do Zatoki Gdańskiej. Co więcej, izolowane z tego odcinka *P. putida* i *P. fluorescens*, podobnie jak *P. aeruginosa*, wykazywały cechy oporności na testowane cefalosporyny III generacji (ceftazydym i cefotaksym) oraz fluorochinolony (ciprofloksacynę i levofloksacynę), co sugerowało okresowy lub ciągły dopływ ścieków niewiadomego pochodzenia. W pozostałych punktach bakterie z rodzaju *Pseudomonas* wykazywały oporność głównie w stosunku do antybiotyków  $\beta$ -laktamowych, nie stwierdzono jednak szczepów wieloopornych (MDR) ani produkujących  $\beta$ -laktamazy o rozszerzonym spektrum substratowym (ESBL) (Załącznik nr 4, II.F.2 poz. 2).

## Ad temat nr 2

### *Analiza skład taksonomicznego i cech lekooporności bakterii z rodzaju *Pseudomonas* spp. izolowanych ze ścieków komunalnych*

Bakterie *Pseudomonas* spp. wykazują dużą różnorodność metaboliczną i są zdolne do kolonizowania szeregu nisz ekologicznych, m.in. wchodzi w skład osadu czynnego. Z tego powodu naturalnym kolejnym etapem mojej pracy badawczej była analiza składu taksonomicznego rodzaju *Pseudomonas* w ściekach komunalnych. Próbkę ścieków surowych, oczyszczonych oraz osadu czynnego z komory napowietrzania pochodziły z oczyszczalni ścieków „Gdańsk-Wschód”. Prace te realizowane były we współpracy Katedrą Biotechnologii Środowiskowej Wydziału Inżynierii Środowiska i Energetyki Politechniki Gliwickiej w ramach grantu pt.: „Antybiotyki w środowisku wodnym a przenoszenie antybiotykooporności przez bakterie osadu czynnego”, (2008 - 2011) N N523 493134 (Zał. nr 4, II.J.2 poz. 6). Uzyskane przeze mnie wyniki badań pozwoliły stwierdzić m.in., iż w ściekach skład taksonomiczny bakterii z rodzaju *Pseudomonas* różnił się wyraźnie od składu stwierdzonego poprzednio w ciekach (Potoku Oliwskim i rzece Redzie). Obok dominującego w obu przypadkach gatunku *P. putida* (53,5%), w ściekach aż 21,7% izolatów zostało zidentyfikowanych jako *P. aeruginosa* i tylko 5,7% jako *P. fluorescens*. Pozostałe gatunki, dla których uzyskano identyfikację gatunkową to *P. pseudoalcaligenes* i *P. veronii*.

Wśród izolatów z rodzaju *Pseudomonas* (n = 125), stwierdzano głównie oporność w stosunku do antybiotyków  $\beta$ -laktamowych, przy czym uwagę zwraca występowanie szczepów opornych na cefepim - cefalosporynę IV generacji, stosowaną jedynie w leczeniu zamkniętym. W odniesieniu do ścieków surowych, bakterie z rodzaju *Pseudomonas* izolowane z komory osadu czynnego wykazywały statystycznie istotny ( $p < 0,05$ ) wzrost oporności na niemalże wszystkie testowane leki przeciwbakteryjne, przy czym w ściekach oczyszczonych poziom oporności ponownie istotnie malał. Może to sugerować, iż bakterie *Pseudomonas*, jako denitryfikatory obecne w kłaczkach osadu czynnego, przeżywają dłużej w procesach oczyszczania ścieków niż np. bakterie chorobotwórcze czy wskaźnikowe. Przyczynia się to do wydłużenia ich czasu ekspozycji na obecne w ściekach subinhibitorowe stężenia antybiotyków i ich metabolitów. Wydłużenie czasu ekspozycji z jednej strony daje przewagę selekcyjną komórkom lekoopornym, z drugiej zaś prowadzi do stabilności tych cech. Co więcej, przy tak dużym zagęszczeniu komórki

bakteryjne mogą łatwiej (niż ma to miejsce w innych ekosystemach poza układem pokarmowym) na drodze koniugacji, transformacji lub transdukcji nabywać cechy oporności od innych, nawet niespokrewnionych, komórek bakteryjnych (Załącznik nr 4, II.F.2 poz. 4). Wysłunięta przeze mnie hipoteza wymaga jednak dalszych badań.

### **Ad temat nr 3**

#### ***Struktura i stabilność zbiorowisk mikroorganizmów osadu czynnego***

Oprócz sanitarnych aspektów inżynierii środowiska, jako technologa z wykształcenia interesują mnie również cechy bakteriocenozy biorącej udział w procesach oczyszczania ścieków. We współpracy z Katedrą Inżynierii Sanitarnej Wydziału Inżynierii Lądowej i Środowiska Politechniki Gdańskiej brałam udział w przygotowaniu i realizacji projektu *Innowacyjne źródło węgla dla wspomaganie denitryfikacji w komunalnych oczyszczalniach ścieków 2010-2013*, który został pozytywnie zaopiniowany przez Program Operacyjny Innowacyjna Gospodarka, poddziałanie 1.3.1 Nr UDA – POIG.01.03.01-22-140/09-00 (Załącznik nr 4, II.J.2 poz. 10). W ramach projektu prowadziłam badania dotyczące analizy struktury oraz stabilności zbiorowisk mikroorganizmów osadu czynnego biorących udział w procesie denitryfikacji wspomaganym zewnętrznym źródłem węgla: konwencjonalnym (etanolem) oraz niekonwencjonalnym (oleje fuzlowe). W pracy zastosowano trzy podejścia metodyczne: metodę jakościową (PCR–DGGE), metodę ilościową (FISH) oraz analizę poziomu ekspresji genów *nirK* i *nirS* zaangażowanych w proces denitryfikacji (Real-Time PCR). Testy technologiczne prowadzono w skali laboratoryjnej, półtechnicznej i technicznej. Wyniki badań wskazują, iż zastosowane w trakcie eksperymentów stężenia olejów fuzlowych, podobnie jak etanol, nie stanowiły silnego czynnika selekcyjnego wobec mikroorganizmów osadu czynnego, zapewniając jednocześnie pełną efektywność denitryfikacji. Wzrastające dawki olejów fuzlowych miały jednak wpływ na strukturę kłaczków osadu czynnego, przyczyniając się do ich dyspersji. Wśród bakterii denitryfikacyjnych, niezależnie od rodzaju zewnętrznego źródła węgla, dominowali przedstawiciele  $\beta$ -proteobakterii, głównie *Acidovorax*, *Curvibacter*, *Azoarcus* oraz *Thauera*. Dodatkowo zidentyfikowano mikroorganizmy należące do typów: *Acidobacteria*, *Verrucomicrobia* i *Firmicutes*. Proporcje



liczby klonów przynależnych do poszczególnych grup filogenetycznych były zbliżone między badanymi układami, a jedyną odnotowaną różnicą była zwiększona liczba klonów zawierających sekwencje spokrewnione z rodzajem *Acidovorax* w przypadku reaktorów z dozowaniem olejów fuzlowych. Wyniki badań dotyczących ekspresji genów funkcjonalnych wykazały, znaczącą liczbą kopii transkryptów reduktazy azotynowej typu *nirS*, przy jednoczesnym niskim poziomie ekspresji genu *nirK*. Istotność podjętych badań została doceniona wyróżnieniem w konkursie Inowacje 2012, Technicon Innowacje na XVIII Targach Techniki Przemysłowej, Nauki i Innowacji. Wyniki badań były prezentowane na licznych konferencjach naukowych (Załącznik nr 4, II.L.2 poz. 7, III.B2 poz. 17, 29). Obecnie w recenzjach znajduje się artykuł wysłany do czasopisma *Biodegradation* pt.: "Acclimation of denitrifying activated sludge to a single vs. complex external carbon source during a start-up of sequencing batch reactors treating ammonium-rich anaerobic sludge digester liquors" (nr manuskryptu: BIOD-D-13-00386). W przygotowaniu jest również monografia dotycząca tej tematyki.

Kolejnym ważnym z technologicznego punktu widzenia projektem była analiza „Zmienności zagrożeń ekotoksykologicznych i mikrobiologicznych towarzysząca biologicznemu oczyszczaniu odcieków ze składowisk odpadów komunalnych” (N523 077 32/2900, 2007-2009). Projekt ten pozytywnie zaopiniowany przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego został również dofinansowany dotacją WFOŚiGW w ramach umowy WFOD/D/201/187/2010. Prace badawcze realizowano we współpracy z Katedrą Biotechnologii Środowiskowej Wydziału Inżynierii Środowiska i Energetyki Politechniki Gliwickiej. Badania ukierunkowane były na ocenę zagrożeń ekotoksykologicznych i mikrobiologicznych związanych z procesem współczyszczania tzw. ścieków trudnych, do których zaliczono mieszaninę ścieków komunalnych i odcieków ze składowisk odpadów komunalnych. Materiał badawczy stanowiły ścieki komunalne pochodzące z oczyszczalni „Gdańsk-Wschód” oraz odcieki ze składowisk: ZU Szadółki w Gdańsku (składowisko "stare") i "Eko-Dolina" w Łężycach k/Gdyni (składowisko "młode"). Prace prowadzono w skali laboratoryjnej w sekwencyjnym reaktorze biologicznym (SBR) oraz modelu przepływowym odpowiadającym systemom oczyszczania ścieków znanym jako układy A2O (anaerobic – anoxic – oxic). Po fazie wpracowania, układy zasilano ściekami komunalnymi ze wzrastającym dodatkiem w/w odcieków (od 0,5 do 10 v/v). W projekcie tym moim zadaniem była analiza wpływu dodatku odcieków na bakteriocenozę osadu czynnego oraz na bakteriologiczną jakość ścieków oczyszczonych. Na podstawie uzyskanych wyników

stwierdzono, iż testowany dodatek odcieków do ścieków komunalnych nie wpływał zasadniczo na efektywność usuwania bakterii, tak wskaźnikowych ( $> 99,9\%$  dla *E. coli* i *Enterococcus* spp.) jak i dla bakterii saprofitycznych i mezofilnych ( $> 99,8\%$ ). Z uwagi na potencjalną toksyczność odcieków, w projekcie, z zastosowaniem testu diagnostycznego Live/Dead BacLight, określono również aktywność metaboliczną bakteriocenozy ścieków oczyszczonych. Analiza liczby bakterii z aktywną błoną komórkową (MEM+) wykazała, iż wzrastający dodatek odcieków, choć był zauważalny, nie miał istotnego wpływu na zmniejszenie liczby żywych komórek bakteryjnych. Zastosowanie metody fluoroscencyjnej hybrydyzacji *in situ* (FISH) pozwoliło natomiast na analizę konsorcjów osadu czynnego, aktywnych w procesach współczyszczania ścieków ze wzrastającym dodatkiem odcieków składowiskowych. Badanie aktywności bakterii prowadzących I i II stopień nityfikacji pozwoliło na przykład na kompleksową analizę zahamowania drugiego stopnia nityfikacji, zjawiska, które obserwowano w bioreaktorach laboratoryjnych SBR (Załącznik nr 4, II.A.2 poz. 5). Wyniki badań uzyskane podczas realizacji omawianego projektu prezentowane były na konferencjach naukowych (Załącznik nr 4, II.L.2 poz. 3, 5; III.B.2 poz. 2, 3, 11, 18, 24, 28) i spotkały się z dużym zainteresowaniem eksploatatorów składowisk odpadów. Do dnia dzisiejszego kontynuowana jest współpraca zarówno ze składowiskiem "Eko-Dolina" w Łęczycach k/Gdyni jak i ZU „Szadółki” w Gdańsku. Polega ona m.in. monitoringu jakości powstających odcieków jak i na działalności doradczej. Wynikiem tej współpracy oprócz raportów (Załącznik nr 4, III.M.2 poz. 1-4) jest również wdrożenie (Załącznik nr 4, II.B.2 poz. 1).

Podsumowując po doktoracie w latach 2004 – 2014, poza cyklem prac składających się na osiągnięcie naukowe, opublikowałam łącznie 20 prac, w tym pięć prac w czasopiśmie wyróżnionych przez bazę Journal Citation Reports (Załącznik nr 4, II.A.2 poz. 1-5), siedem prac w innych czasopiśmie nie wyróżnionych przez bazę JCR (Załącznik nr 4, II.E.2 poz. 2-4, 6, 11, 12, 15) oraz osiem artykułów stanowiących rozdziały w monografiach PAN (Załącznik nr 4, II.E.2 poz. 1, 5, 7-10, 13-14).

Powyższe prace powstały w ramach międzynarodowych i krajowych projektów badawczych. W latach 2004 – 2014 kierowałam dwoma (Załącznik nr 4, II.J.2 poz. 3, 7) i byłam wykonawcą czterech grantów finansowanych przez MNiSW (Załącznik nr 4, II.J.2 poz. 4, 6-9). Byłam ponadto wykonawcą projektu finansowanego przez EEA Grants (Załącznik nr 4, II.J.2 poz. 1) oraz projektu realizowanego w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka

(Zał. nr 4, II.J.2 poz. 10). Dwa granty uzyskały również dofinansowanie z WFOŚiGW (Zał. nr 4, III.J.2 poz. 2, 5).

Współuczestniczyłam w wykonaniu czterech ekspertyz na rzecz zakładów unieszkodliwiania odpadów, dotyczących zmian jakości odcieków składowiskowych w aspekcie ich biologicznego oczyszczania (Zał. nr 4, III.M.2 poz. 1-3) oraz określających metodę usuwania siarczków z permeatu produkowanego w instalacji odwróconej osmozy (Zał. nr 4, III.M.2 poz. 4). Jestem również współautorką wdrożenia (Zał. nr 4, II.B.2 poz. 1), które powstało na podstawie ostatniej ekspertyzy.

Od 2007 wykonałam 17 recenzji dla czasopism o zasięgu międzynarodowym (JCR) w tym dla Chemotherapy, Journal of Environmental Management, Ecotoxicology and Environmental Safety, Environmental Science and Pollution Research, Science of the Total Environment, Waste Management Research, Water Research, Water Science and Technology (Zał. nr 4, III.P.2).

Moja aktywność naukowa została doceniona nagrodami Rektora PG III stopnia za osiągnięcia naukowe w 2004 i 2011 r. (Zał. nr 4, II.K.2 poz. 1-2). W 2011 roku zostałam również stypendystką Własnego Funduszu Stypendialnego Rektora Politechniki Gdańskiej (Zał. nr 4, III.K.2 poz. 4).

W latach 2004 - 2014 odbyłam liczne kursy specjalistyczne, przede wszystkim w zakresie najnowszych technik molekularnych (Zał. nr 4, III.L.2 poz. 5-7), które coraz częściej znajdują zastosowanie w pracach środowiskowych. Niezwykle cenne było dla mnie również uczestnictwo w stażach naukowych (Zał. nr 4, III.L.2 poz. 3, 4, 6) oraz możliwość wygłoszenia ośmiu referatów (Zał. nr 4, II.L.2 poz. 1-8) i prezentacji 35 posterów (Zał. nr 4, III.B.2 poz. 1-35) na 19 konferencjach zagranicznych i trzech krajowych.

## 6. PODSUMOWANIE DOROBKU NAUKOWEGO

Sumaryczny współczynnik oddziaływania wszystkich opublikowanych przeze mnie prac naukowych (Impact Factor) według listy Journal Citation Reports (JCR) wynosi: IF = 18,655 (równy IF po doktoracie), w tym: osiągnięcie naukowe IF = 12,249, pozostały dorobek IF = 6,406, a wartości punktacji Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (PM) z uwzględnieniem udziału procentowego współautorów jest równa: PM = 187,25 (po doktoracie PM = 185,25), w tym: osiągnięcie naukowe PM = 101,50, pozostały dorobek PM = 85,75 (Załącznik nr 4, II.G).

Liczba cytowań prac naukowych wg bazy Web of Science wynosi – 42 (Załącznik nr 4, II.H), a Indeks Hirscha tych publikacji  $h = 4$  (Załącznik nr 4, II.I).

## 6. DZIAŁALNOŚĆ DYDAKTYCZNA

Od momentu zatrudnienia w 1997 r. prowadziłam zajęcia dydaktyczne w ramach studiów stacjonarnych i niestacjonarnych, pierwszego i drugiego stopnia dla studentów z kierunków: Inżynieria Środowiska oraz Budownictwo na Wydziale Inżynierii Lądowej i Środowiska z przedmiotów Chemia, Biologia Środowiska i Ekologia, Technologia Wody i Ścieków, Prawo Ochrony Środowiska. Szczególnie istotny w mojej działalności dydaktycznej był udział w tworzeniu nowego kierunku Environmental Engineering na Wydziale Inżynierii Lądowej i Środowiska oraz opracowanie treści programowych przedmiotów: Environmental Impact Assessment, Environmental Microbiology oraz Environmental Chemistry, które obecnie prowadzę w formie wykładów, ćwiczeń audytoryjnych oraz zajęć laboratoryjnych (Załącznik nr 4, III.J.1 poz. 1 i III.J.2 poz. 1).

W ramach wymiany naukowo-dydaktycznej odbyłam cykl wykładów: w 2007 r. Universidade de Beria Interior, Covilha, Portugalia; w 2009 r. Aalborg University, Dania; w 2010 r. Universidade Technica de Lisboa, Portugalia (Załącznik nr 4, III.L.2 poz. 3, 4, 5). Prowadzę również wykłady i prezentacje w ramach Festiwalu Nauki, Dni Otwartych

Politechniki Gdańskiej i akcji „Dziewczyny na Politechniki” oraz spotkań Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów (Załącznik nr 4, III.I.2 poz. 1-4).

Od 2008 r. byłam promotorem 4 i recenzentem 10 prac dyplomowych inżynierskich oraz promotorem 11 i recenzentem 8 prac dyplomowych magisterskich (Załącznik nr 4, III.J.2 poz. 2 i 3). Dzięki współpracy dydaktycznej trzy prace magisterskie były realizowane w Portugalii, w Instituto Superior Técnico, Universidade Técnica de Lisboa, przy czym pani Dorota Cimochowska uzyskała podwójny dyplom (obrona na IST UTL – listopad 2011, obrona na PG – marzec 2012).

W ramach działalności dydaktycznej staram się czynnie współpracować z różnymi organizacjami studenckimi. Wspieram prace koła naukowego „Mikrobiologia w Inżynierii Środowiska”, a od lipca 2013 pełnię obowiązki opiekuna naukowego (Załącznik nr 4, III.J poz. 4). W związku z pełnioną przeze mnie funkcją Pełnomocnika Dziekana ds. Wymiany Zagranicznej Studentów współpracuję również z Erasmus Student Network oraz IAESTE, organizacjami działającymi przy Politechnice Gdańskiej i wspierającymi mobilność naukową studentów (Załącznik nr 4, III.J poz. 5).

## **7. DZIAŁALNOŚĆ ORGANIZACYJNA**

W listopadzie 2004 r. zostałam powołana na pełnomocnika Dziekana ds. wymiany międzynarodowej studentów na Wydziale Inżynierii Lądowej i Środowiska Politechniki Gdańskiej i funkcję tę pełnię do dnia dzisiejszego (Załącznik nr 4, III.Q.2 poz. 1).

W latach 2004 - 2006 brałam czynny udział w pracach Komisji Programowej na Wydziale Inżynierii Lądowej i Środowiska Politechniki Gdańskiej i byłam współodpowiedzialna za przygotowanie programu studiów zaocznych na kierunku Inżynieria Środowiska (Załącznik nr 4, III.Q.2 poz. 2).

W latach 2010 – 2012 byłam członkiem Wydziałowej Komisji Rekrutacyjnej (Załącznik nr 4, III.Q.2 poz. 3).

W ramach prowadzonych projektów badawczych przyczyniłam się do rozwoju nowych stanowisk badawczych (zakup aparatury niezbędnej do biochemicznej identyfikacji i określania lekooporności bakterii oraz do izolacji i analizy DNA przy pomocy reakcji PCR),

do rozbudowy mikroskopu epifluorescencyjnego Nikon 80i o kamerę do detekcji fluorescencji, a także do zakupu sprzętu niezbędnego w rutynowych pracach laboratoryjnych. Obecnie stanowiska te są wykorzystywane przez studentów oraz studentów doktorantów (Zał. nr 4, III.Q.2 poz. 4).

W 2010 r. byłam Członkiem Komitetu Organizacyjnego VI Ogólnopolskiej Konferencji Hydromikrobiologicznej "Mikroorganizmy w środowisku – od Ekologii do Technologii", która odbyła się pod honorowym patronatem J. M. Rektora Politechniki Gdańskiej prof. dr hab. inż. Henryka Krawczyka oraz J. M. Rektora Uniwersytetu Gdańskiego prof. dr hab. Bernarda Lammeka (Zał. nr 4, III.C.2 poz. 1). Moja aktywność została doceniona w 2011 r. Zespołową Nagrodą Rektora Politechniki Gdańskiej II stopnia za szczególne osiągnięcia organizacyjne w 2010 r. (Zał. nr 4, II.K.2 poz. 3).

*Aneta Leuckiewicz*