

AUTOREFERAT

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

1. Imię i nazwisko

Monika Diana Harnisz

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

- 1998 tytuł zawodowy magistra inżyniera ochrony środowiska, uzyskany na Wydziale Ochrony Środowiska i Rybactwa Akademii Rolniczo-Technicznej w Olsztynie, tytuł pracy magisterskiej: „Chemizm współczesnych osadów dennych meromiktycznego Jeziora Zapadłego”, opiekun naukowy: dr hab. inż. Czesław Mientki, prof. ART
- 2002 stopień doktora nauk rolniczych w zakresie kształtowania środowiska uzyskany na Wydziale Ochrony Środowiska i Rybactwa Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie, tytuł pracy doktorskiej: „Drobnoustroje w sadzowym tuczcu suma europejskiego (*Siluris glanis* L.) w wodzie pochłodniczej”, promotor: prof. dr hab. Izabella Zmysłowska

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/artystycznych

- 1998 – 2002 Studium Doktoranckie Uniwersytetu Warmińsko – Mazurskiego w Olsztynie – doktorantka
- 2002–2004 Katedra Mikrobiologii Środowiskowej Uniwersytetu Warmińsko – Mazurskiego w Olsztynie – asystent
- od 2004 Katedra Mikrobiologii Środowiskowej Uniwersytetu Warmińsko – Mazurskiego w Olsztynie – adiunkt

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

a) tytuł osiągnięcia naukowego/artystycznego

Oczyszczone ścieki komunalne i wody produkcyjne z gospodarstw rybackich jako wektor bakteryjnej lekooporności

b) publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego (autorzy*, tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa)

- 1) **Harnisz M.**, Tucholski S., 2010. Microbial quality of common carp and pikeperch fingerlings cultured in a pond fed with treated wastewater. *Ecological Engineering* 36 (4): 466-470. **IF₂₀₁₄=3,041; MNiSW=35 pkt.**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji badań, prowadzeniu prac eksperymentalnych, analizie i opracowaniu uzyskanych wyników oraz napisaniu powyższej pracy. Mój udział procentowy szacuję na 90%.

- 2) **Harnisz M.**, Gołaś I., Pietruk M., 2011. Tetracycline-resistant bacteria as indicators of antimicrobial resistance in protected waters - The example of the Drwęca River Nature Reserve (Poland). *Ecological Indicators* 11: 663-668. **IF₂₀₁₄=3,230; MNiSW=35 pkt.**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji badań, prowadzeniu prac eksperymentalnych, analizie i opracowaniu uzyskanych wyników oraz napisaniu powyższej pracy. Mój udział procentowy szacuję na 90%.

- 3) **Harnisz M.**, 2013. Total resistance of native bacteria as an indicator of changes in the water environment. *Environmental Pollution* 174: 85–92. **IF₂₀₁₄=3,902; MNiSW=40 pkt.**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji badań, prowadzeniu prac eksperymentalnych, analizie i opracowaniu uzyskanych wyników oraz napisaniu powyższej pracy. Mój udział procentowy wynosi 100%.

- 4) **Harnisz M.**, Korzeniewska E., Ciesielski S., Gołaś I., 2015. *tet* genes as indicators of changes in the water environment: relationships between culture-dependent and culture-independent approaches. *Science of the Total Environment* 505: 704-711. **IF₂₀₁₄=3,163; MNiSW=35 pkt.**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji badań, prowadzeniu prac eksperymentalnych, analizie i opracowaniu uzyskanych wyników oraz napisaniu powyższej pracy. Mój udział procentowy szacuję na 70%.

- 5) **Harnisz M., Korzeniewska E., Gołaś I., 2015.** The impact of a freshwater fish farm on the community of tetracycline resistant bacteria and the structure of tetracycline resistance genes in river water. *Chemosphere* 128: 134-141. **IF₂₀₁₄=3,499; MNiSW=35 pkt.**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji badań, prowadzeniu prac eksperymentalnych, analizie i opracowaniu uzyskanych wyników oraz napisaniu powyższej pracy. Mój udział procentowy szacuję na 90%.

**Oświadczenia współautorów prac wraz z określeniem indywidualnego wkładu każdego z nich w powstanie poszczególnych prac znajdują się w załączniku 7*

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

Jednym z kluczowych elementów środowiska przyrodniczego, który należy chronić przed negatywnymi skutkami działań człowieka, są wody powierzchniowe. Do głównych źródeł zanieczyszczeń dostających się do wód powierzchniowych zalicza się oczyszczalnie ścieków komunalnych oraz ośrodki chowu i hodowli zwierząt.

W ściekach komunalnych oraz ściekach z ośrodków chowu zwierząt mogą się znajdować pozostałości antybiotyków ze względu na fakt bardzo szerokiego ich wykorzystania zarówno w medycynie jak i leczeniu zwierząt. Dzieje się tak dlatego, że antybiotyki są metabolizowane w organizmach tylko częściowo i w związku z tym zostają wydalane razem z kałem np. do ścieków^{1,2,3} lub też wód produkcyjnych z gospodarstw rybackich^{4,5,6}, jako leki macierzyste bądź też ich metabolity. Te rozpuszczalne komponenty są w niewielkim stopniu usuwane w procesie oczyszczania ścieków i mogą przedostawać się do wód powierzchniowych stanowiących odbiorniki ścieków oczyszczonych. Ich stężenie w wodach jest najczęściej niewielkie, jednak w dalekiej perspektywie także dawki

¹ Hirsch R, Ternes T, Haberer K, Kratz KL, 1999. *Sci Total Env* 225: 109-118.

² Brown KD, Kulis J, Thomson B, Chapman, TH, Mawhinney DB, 2006. *Sci Total Env* 366: 772-783.

³ Gulkowska A, Leung HW, So MK, Taniyasu S, Yamashita N, Yeunq LWY, Richardson BJ, Lei AP, Giesy JP, Lam PKS, 2008. *Water Res* 42: 395-403.

⁴ Zou S, Xu W, Zhang, R, Tang J, Chen Y, Zhang G, 2011. *Environ Pollut* 159: 2913-2920.

⁵ Buschmann AH, Tomova A, Lopez A, Maldonado MA, Henriquez LA, Ivanova L, Moy F, Godfrey HP, Cabello, FC, 2012. *Plos One* 7.

⁶ Gao P, Mao D, Luo Y, Wang L, Xu B, Xu L, 2012. *Water Res* 46: 2355-2364.

podprogowe leków mogą powodować wzrost oporności wśród drobnoustrojów zasiedlających te ekosystemy. Ponadto, antybiotyki uwalniane do środowiska mogą zmieniać bioróżnorodność zbiorowisk bakteryjnych.

Oprócz antybiotyków, także geny antybiotykooporności (antibiotic resistance genes - ARGs) oraz bakterie lekooporne (antibiotic resistant bacteria - ARB)^{7, 8, 9} można zakwalifikować jako niebezpieczne zanieczyszczenia dostające się wraz ze ściekami oczyszczonymi i odpływami z gospodarstw rybackich do środowiska. W ekosystemach kształtowanych antropogenicznie stwierdzono występowanie drobnoustrojów opornych na prawie wszystkie znane leki⁹. Powoduje to potencjalne ryzyko dla zdrowia ludzi i zwierząt ponieważ ARGs i ARB naniesione do środowiska mogą ponownie przedostawać się do ludzi i zwierząt.

Według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) i jej Raportu o Zdrowiu na Świecie lekooporność drobnoustrojów stanowi globalne zagrożenie dla zdrowia publicznego. Światowe Zgromadzenie Zdrowia w czasie 58 sesji w Genewie, 16-25 maja 2005 roku przyjęło Rezolucję¹⁰ dotyczącą problemu oporności na antybiotyki. Proponuje ona monitorowanie ilościowe i jakościowe struktury zużycia antybiotyków, a także rozprzestrzeniania się opornych na antybiotyki drobnoustrojów w różnych ekosystemach.

W związku z powyższym podjęłam się przeprowadzenia prac badawczych dotyczących określenia czy oczyszczone ścieki komunalne i wody produkcyjne z gospodarstw rybackich są nośnikiem bakterii lekoopornych. Badania obejmowały także wpływ zrzutu oczyszczonych ścieków komunalnych i wód produkcyjnych na antybiotykooporność bakterii bytujących w wodach rzecznych stanowiących ich odbiorniki.

Pierwszy obszar tematyczny (A), dotyczący zagadnień związanych z lekoopornością bakterii w ściekach oczyszczonych, obejmował badania przeprowadzone w Olsztyńskiej Oczyszczalni Ścieków „Łyna”. Działanie oczyszczalni opiera się o wielofazowy osad czynny z nityfikacją i symultaniczną denityfikacją, wraz z komorą beztlenową do biologicznej defosfatacji i komorą predenityfikacji osadu recyrkulowanego. Odbiornikiem ścieków oczyszczonych jest rzeka Łyna. Oczyszczalnia w wysokim stopniu redukuje zanieczyszczenia

⁷ Kuemmerer K, 2004. J Antimicrob Chemoth 54: 311-320.

⁸ LaPara TM, Burch TR, McNamara PJ, Ta, DT, Yan M, Eichmiller JJ, 2011. Environ Sci Technol 45: 9543–9549.

⁹ Pruden A, Pei R, Storteboom H, Carlson KH, 2006. Environ Sci Technol 40: 7445-7450.

¹⁰ World Health Organization 2005. Fifty-Eighth World Health Assembly, Geneva, 16-25 May 2005, Resolutions and Decisions Annex, Geneva 2005.

organiczne, a jej działanie pozwala ograniczyć ilość biogenów odprowadzanych do rzeki Łyny. Według badań własnych (dane nieopublikowane) oczyszczalnia charakteryzuje się też bardzo wysoką (99,7%) wydajnością usuwania bakterii. Jednakże, pomimo tak wysokiej sprawności, w ciągu doby z oczyszczalni odpływa (NPL) 10^{14} bakterii z grupy *coli* i paciorkowców kałowych oraz 10^{12} fekalnych bakterii z grupy *coli*. Wśród drobnoustrojów występujących w ściekach oczyszczonych znajduje się także wiele bakterii lekoopornych, co starałam się wykazać w swoich badaniach.

Drugi obszar badawczy (B), dotyczący występowania bakterii lekoopornych w wodach produkcyjnych z gospodarstw rybackich obejmował:

1. Staw zlokalizowany na terenie oczyszczalni ścieków w Olsztynku. Oczyszczanie ścieków w tej oczyszczalni odbywa się metodą osadu czynnego o podwyższonej zdolności usuwania fosforu i azotu w reaktorach CBR-FOS. Reaktor pracuje w sposób okresowy w 5 cyklach. Dzięki regulacji długości trwania poszczególnych faz oraz parametrów technologicznych możliwe jest osiągnięcie wysokiej stabilności procesu i podniesienie jego wydajności. Ścieki oczyszczone odprowadzane są do rzeki Jemiołówki.

Badany staw napełniano wodą wybijającą ze źródeł i okresowo zasilano ściekami oczyszczonymi, stanowiącymi mieszaninę ścieków bytowo-gospodarczych i z przetwórstwa owoców i warzyw. W czerwcu 2007 roku staw został zarybiony narybkiem karpia i sandacza. Nie stosowano dodatkowego dokarmiania ryb paszą ani żadnych środków farmaceutycznych.

2. Gospodarstwa rybackie zlokalizowane na rzece Drwęcy stanowiącej część sieci Natura 2000. Głównym celem funkcjonowania sieci jest zachowanie określonych typów siedlisk przyrodniczych oraz gatunków, które uważa się za cenne i zagrożone w skali całej Europy, a także ochrona różnorodności biologicznej. Chów ryb odbywa się w stawach zasilanych wodami rzeki Drwęcy a wody poprodukcyjne odprowadzane są z powrotem do rzeki. W latach 2006 - 2007 badania prowadzono w trzech gospodarstwach, w których nie prowadzono oczyszczania wód poprodukcyjnych. W latach 2010 - 2011 do badań wybrano jedno z trzech wyżej wymienionych gospodarstw, które scharakteryzowano jako najbardziej uciążliwe dla środowiska źródło zanieczyszczeń. Aby zapobiec zanieczyszczeniu rzeki gospodarstwo to zastosowało osadnik wód poprodukcyjnych jako sposób ich oczyszczania.

Ad. A

Oczyszczone ścieki komunalne jako rezerwuar bakterii lekoopornych. Wpływ zrzutu ścieków oczyszczonych na lekooporność bakterii odbiornika.

Oporność antybiotykową można podzielić na naturalną, więc niezmienną i zakodowaną w genomie bakterii przez bardzo długi czas, i nabytą to znaczy pojawiającą się pod wpływem zmian w genomie. Przykładem pierwszej może być oporność na ampicylinę *Aeromonas hydrophila*, która jest wykorzystywana przy jego hodowli na podłożach wybiórczych. Przykłady oporności nabytej mogą stanowić metycylinooporne *Staphylococcus aureus* (MRSA) czy coraz szerzej występujące izolaty *Klebsiella pneumoniae* wytwarzające karbapenemazy (KPC).

Prowadzone przeze mnie badania występowania lekooporności w ściekach oczyszczonych oraz wodach odbiornika zostały oparte na indykatorach funkcjonalnych tzn. niejednorodnych grupach bakterii, które łączy niewrażliwość na działanie konkretnego antybiotyku. W skład takiej grupy bakterii mogą wchodzić zarówno bakterie charakteryzujące się opornością naturalną jak i nabytą; patogeny, potencjalne patogeny jak i saprofity.

Do badań nad liczebnością bakterii lekoopornych wytypowałam drobnoustroje niewrażliwe na działanie ośmiu antybiotyków z czterech klas (tetracykliny: oksytetracyklina OTC i doksyicyklina DOX, β – lakatmy: amoksycyklina AMO i cefuroksym sodu CEF, fluorochinolony: norfloksacyna NOR i enrofloksacyna ENR, makrolidy: roksytromycyna ROX i erytromycyna ERY). Pod uwagę wzięłam te leki, które są powszechnie stosowane w Polsce i na świecie, zarówno w medycynie jak i w weterynarii¹¹.

W swoich badaniach potwierdziłam, że ścieki oczyszczone stanowią rezerwuar bakterii lekoopornych, ponieważ największe koncentracje badanych grup bakterii stwierdzałam właśnie w próbkach ścieków oczyszczonych, najmniejsze zaś w wodzie rzeki Łyny pobieranej przed dopływem ścieków. Liczebność poszczególnych badanych grup drobnoustrojów związana była ze spektrum działania antybiotyków i ich generacją. Najliczniej występowały bakterie odporne na makrolidy – antybiotyki powszechnie stosowane od 40 lat, aktywne zwłaszcza przeciw bakteriom innym niż *Enterobacteriaceae* i *Pseudomonas aeruginosa*. Ścieki oczyszczone zawierające znaczne ilości enterobakterii mogą charakteryzować się wysokim odsetkiem bakterii opornych na makrolidy. W grupach bakterii

¹¹ www.esac.ua.ac.be www.antybiotyki.edu.pl www.wetgiw.gov.pl

opornych na działanie β -laktamów i tetracyklin zaobserwowałam znacznie większe liczebności bakterii opornych na antybiotyki starszej generacji – tj. amoksycylinę i oksytetracyklinę.

Wśród wszystkich badanych grup drobnoustrojów lekoopornych jedynie grupa bakterii opornych na tetracykliny spełniała warunki postawione przed bioindykatorem funkcjonalnym. Ich udział w ogólnej liczbie bakterii był około dziesięciokrotnie większy w próbkach ścieków oczyszczonych i około siedmiokrotnie większy w miejscu dopływu zanieczyszczeń do rzeki Łyny niż na stanowisku kontrolnym. W związku z powyższym do szczegółowych badań nad lekoopornością bakterii zakwalifikowałam izolaty odporne na tetracykliny (252 izolaty OTC^R i 163 izolaty DOX^R).

Wśród tej grupy, za pomocą sekwencjonowania genu 16S rRNA, zidentyfikowałam 218 izolatów OTC^R i 105 izolatów DOX^R. W ściekach oczyszczonych w pierwszej grupie bakterii stwierdziłam wyraźną dominację mikroorganizmów z rodzajów *Aeromonas* sp., i *Acinetobacter* sp., w grupie drugiej bakterii *E. coli*, *Shewanella putrefaciens* i *Providencia* sp.. Doksycykliooporne *Escherichia coli*, jako jedyna zidentyfikowana grupa, nie były obecne w wodzie rzeki Łyny pobieranej przed zrzutem ścieków oczyszczonych. Świadczy to o tym, że ich jedynym źródłem są ścieki oczyszczone. Pozostałe rodzaje bakterii występowały zarówno w próbkach ścieków oczyszczonych jak i wody rzecznej pobieranej przed i po zrzucie oczyszczonych ścieków komunalnych.

Stwierdziłam, że tetracykliooporne izolaty ze ścieków oczyszczonych mają wyższe minimalne stężenia inhibujące (Minimal Inhibitory Concentrations - MICs) doksycykliny w porównaniu do izolatów z rzeki Łyny.

Oporność antybiotykowa jest determinowana przez występowanie genów oporności zlokalizowanych w chromosomie bakteryjnym lub na elementach mobilnych takich jak plazmidy lub transpozony^{12,13}. Tetracykliooporność jest determinowana występowaniem w genomie bakterii genów *tet*¹⁴. Wśród izolatów OTC^R stwierdziłam dominację genów *tet(A)*, *tet(O)* oraz *tet(L)*. Oporność na doksycylinę była determinowana przede wszystkim przez *tet(B)* i *tet(L)*. Występowanie genu *tet(B)* zanotowałam u wszystkich doksycyklioopornych *Escherichia coli* izolowanych ze ścieków oczyszczonych. Według badań innych

¹² Marti E, Jofre J, Balcazar LJ, 2013. Plos One 8.

¹³ Mokracka J, Koczura R, Kaznowski A, 2012. Water Res 46: 3353–3363

¹⁴ Chopra I, Roberts M., 2001. Microbiol Mol Biol R 65: 232-260

autorów^{15, 16} *tet(B)* jest często związany ze szczególnie zjadliwym enterokrwotocznym szczepem *E. coli* O157:H7 i odpowiada za oporność na tigeicyklinę. Antybiotyk ten jest lekiem nowej generacji z grupy tetracyklin i wiąże się z nim duże nadzieje terapeutyczne. W moich badaniach ponad 50% izolatów *E. coli* było opornych na tigeicyklinę, co potwierdza, że ścieki oczyszczone stanowią także źródło klinicznych izolatów opornych na tetracykliny.

Oczyszczalnie ścieków, a zwłaszcza komory osadu czynnego i złoża biologiczne, są środowiskiem szczególnie predysponowanym do transferu genów, w tym genów oporności. Do wymiany informacji genetycznej pomiędzy bakteriami w tych środowiskach dochodzi na skutek dostępności nutrientów, odpowiedniej temperatury dla rozwoju bakterii, bardzo dużego zagęszczenia komórek bakteryjnych, obecności zarówno komórek dawców jak i biorców oraz istnienia selektywnej presji¹⁷.

Geny oporności na tetracykliny są bardzo często zlokalizowane na elementach ruchomych, dzięki czemu łatwo mogą zmieniać gospodarza. Przeprowadzony przez mnie eksperyment koniugacyjny wykazał możliwość transferu prawie wszystkich badanych genów *tet* ((A), (B), (C), (D), (E), (K), (L), (M), (O), (S), (Q) i (X)) w warunkach laboratoryjnych. Oznacza to jednocześnie, że do transferu genów lekooporności może dochodzić prawdopodobnie również w tych środowiskach, gdzie istnieją korzystne warunki do wymiany genów między bakteriami.

Dzięki użyciu bardzo nowoczesnego narzędzia diagnostycznego jakim jest reakcja PCR w czasie rzeczywistym (ilościowy PCR) udało mi się udowodnić, że ścieki oczyszczone są źródłem genów tetracyklinooporności i wpływają na ilość genów powiązanych z niewrażliwością na leki w odbiornikach ścieków oczyszczonych. Relatywne koncentracje (normalizowane do ilości kopii genu 16S rRNA) genów *tet* (*tet(A)*, *tet(B)*, *tet(M)*, *tet(O)*, *tet(Q)* i *tet(X)*) były najwyższe w próbkach ścieków oczyszczonych, w porównaniu z próbkami wody rzeki Łyny pobieranej przed i po dopływie ścieków oczyszczonych. Analiza statystyczna potwierdziła istnienie istotnych różnic między relatywnymi koncentracjami tych genów w próbkach wody pobieranej z Łyny przed zrzutem ścieków a ściekami oczyszczonymi oraz między próbkami ścieków oczyszczonych a próbkami wody pobieranej

¹⁵ Wilkerson C, Samadpour M, van Kirk N, Roberts MC., 2004. Antimicrob Agents Ch 48: 1066-1067.

¹⁶ Tuckman M, Petersen PJ, Howe AYM, Orlowski M, Mullen S, Chan K, *et al.*. 2007. Antimicrob Agents Ch 51: 3205-3211.

¹⁷ Seveno NA, Kallifidas D, Smalla K, van Elsas JD, Collard JM, Karagouni AD, Wellington EM, 2002. Rev Med Microbiol 13, 1-13

z Łyny po zrzucie ścieków. Jedynie w przypadku koncentracji *tet(B)* istniały statystycznie istotne różnice między próbkami wody pobieranej z Łyny przed zrzutem ścieków a próbkami wody pobieranej z Łyny po zrzucie ścieków, co świadczy o tym, że geny te w głównej mierze dostają się do wód odbiorników wraz ze ściekami oczyszczonymi.

Zjawisko antybiotykooporności jest ściśle powiązane z występowaniem selektywnej presji antybiotyku, która powoduje konieczność nabywania przez mikroorganizmy nowych cech pozwalających im przetrwać w zmienionym środowisku^{18, 19, 20}. W prowadzonych przeze mnie badaniach, dzięki określeniu koncentracji antybiotyków z grupy tetracyklin (tetracykliny, oksytetracykliny i doksycykliny) w próbkach ścieków oczyszczonych i wody rzeki Łyny, wykazałam istnienie selektywnej presji doksycykliny na zbiorowiska bakterii izolowanych ze ścieków oczyszczonych i wód odbiornika. Stwierdziłam także statystycznie istotną pozytywną korelację między stężeniem doksycykliny a koncentracją genu *tet(B)*. Takich korelacji nie stwierdziłam w przypadku leków starszej generacji (tetracyklina i oksytetracyklina), co wynika prawdopodobnie z faktu, że oporność na te leki rozprzestrzeniła się wśród bakterii na skutek ich wieloletniego użytkowania.

Przeprowadzone przeze mnie badania potwierdziły, że mimo tego, iż oczyszczalnie ścieków charakteryzują się wysoką sprawnością w usuwaniu zanieczyszczeń, wraz ze ściekami oczyszczonymi do wód odbiorników dostaje się duża pula bakterii lekoopornych oraz genów lekooporności. Badania wyłoniły grupę bakterii tetracyklinoopornych jako tę szczególnie związaną z antropopresją i bezpośrednim wpływem ścieków oczyszczonych na bioróżnorodność bakterii odbiornika.

Omówione powyżej wyniki badań przedstawiłam w następujących artykułach:

- Harnisz M., 2013. Total Resistance of Native Bacteria As an Indicator of Changes in the Water Environment. *Environmental Pollution* 174: 85–92 IF₂₀₁₄=3,902; MNiSW=40 pkt.
- Harnisz M., Korzeniewska E., Ciesielski S., Gołaś I., 2014. *tet* Genes as Indicators of Changes in the Water Environment: Relationships Between Culture-Dependent and Culture-Independent Approaches. *Science of Total Environment* 505: 704-711, IF₂₀₁₄=3,163; MNiSW=35 pkt.

¹⁸ Aminov RI, Mackie RI., 2007. *FEMS Microbiol Lett* 271: 147-161.

¹⁹ Baran W, Adamek E, Ziemiańska J, Sobczak A., 2011. *J Hazard Mater* 196: 1-15.

²⁰ Tello A, Austin B, Telfer TC., 2012. *Environ Health Persp* 120: 1100-1106.

Badania do tych artykułów zostały wykonane w ramach projektu badawczego NCN „Bakterie tetracyklinooporne jako indykatory lekooporności w wodach powierzchniowych odbierających oczyszczone ścieki komunalne oraz odpływy z gospodarstw rybackich” o numerze N N305 164339, którego byłam kierownikiem.

Ad. B

Wody użytkowane rybacko jako nośnik lekooporności

B1)

Inżynieria środowiska zmierza obecnie do stworzenia nisko-kosztowych i przyjaznych dla użytkownika form utylizacji ścieków. Zagadnienia akwakultury i oczyszczania ścieków wydają się być ze sobą niespokrewnione, jednak akwakultura wykorzystująca ścieki do użyźniania wód produkcyjnych jest w świecie bardzo popularna. Dzięki temu rozwiązaniu inżynierskiemu można skonstruować stabilny ekosystem, który wpływa pozytywnie na lokalny rozwój ekonomiczny²¹ i ogranicza ilość zanieczyszczeń dostających się do wód odbiorników.

W stawach rybnych wykorzystuje się różne rodzaje ścieków, począwszy od ścieków surowych przechowywanych w zawieszonych w stawach pojemnikach²², ścieków surowych po sedimentacji²³, ścieków oczyszczonych metodą osadu czynnego²⁴, do zanieczyszczonej wody rzecznej²⁵. Głównym celem tej praktyki jest nawożenie stawów i zwiększenie ich naturalnej, pierwotnej i wtórnej produktywności.

Mikrobiologiczna jakość wód w stawach użyźnianych ściekami jest niezwykle istotna ponieważ stanowi odzwierciedlenie mikroorganizmów zasiedlających ryby²⁶. Uważa się, że ogólna liczba bakterii heterotroficznych przekraczająca 10^4 CFU /mL wody stawów stwarza ryzyko penetracji ryb przez ludzkie patogeny²⁷. Do określenia jakości takich wód używa się zwykle standardowych indykatorów bakteryjnych, takich jak bakterie z grupy coli

²¹ Yan J, Wang R, Wang M., 1998. *Ecol Eng* 10: 191–208.

²² Edwards P., 2005. *Urban Aquaculture*, CABI Publishing 45–59.

²³ Olah J, Sharangi N, Datta NC., 1986. *Aquaculture* 54: 129–134.

²⁴ Tucholski S., 1994. *Fish Rearing in Ponds Fed with Treated Wastewater*. Wydawnictwo IRŚ, Olsztyn.

²⁵ Liang Y, Cheung RYH, Everitt S, Wong MH, 1999. *Water Res* 33: 2099–2109.

²⁶ Guzmán MC, Bistoni M, Tamagnini LM, González RD., 2004. *Water Res* 38: 2368–2374.

²⁷ Mara D., Cairncross S., 1989. *Guidelines for the Safe Use of Wastewater and Excreta in Agriculture and Aquaculture: Measures for Public Health Protection*. World Health Organization, Geneva

i paciorkowce kałowe²⁸. Zgodnie z wytycznymi Światowej Organizacji Zdrowia²⁹ liczba bakterii z grupy coli w stawach rybnych nie powinna przekraczać 10^3 CFU w 100 mL.

Zanieczyszczenie ściekami wód użytkowanych rybacko wpływa na rozwój wielolekoopornych pałeczek z rodzaju *Aeromonas*³⁰, uważanych za potencjalne patogeny ryb. Bakterie te są znane z szybkiego nabywania nowych cech lekooporności³¹ co czyni je odpowiednim narzędziem do badania rozpowszechniania się tego zjawiska.

W ramach prowadzonych przeze mnie badań ryb i wody stawu rybnego zasilanego ściekami biologicznie oczyszczonymi z oczyszczalni ścieków w Olsztynku wyizolowałam z podłoża selektywnego 92 szczepy *Aeromonas hydrophila*. Ich przynależność gatunkowa została określona na podstawie testów biochemicznych API NE firmy BioMérieux. Izolaty te zostały poddane badaniu wielolekooporności na antybiotyki z następujących klas: fluorochinolony: enrofloksacyna i flumechina, aminoglikozydy: neomycyna, makrolidy: erytromycyna, β -laktamy: amoksycyklina oraz tetracykliny: tetracyklina.

Izolaty *Aeromonas hydrophila* okazały się najmniej podatne na działanie amoksycykliny (100% szczepów niewrażliwych). Antybiotyk ten należy do klasy leków β -laktamowych, podobnie jak ampicylina. Ampicylina jest lekiem, na który te bakterie są naturalnie odporne stąd też może wynikać ich wysoka oporność na amoksycylinę. Około 20% szczepów *A. hydrophila* było opornych na enroflokacynę, zaś poniżej 15% izolatów na erytromycynę, neomycynę i tetracyklinę.

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdziłam, że użyźnianie stawu rybnego ściekami biologicznie oczyszczonymi nie wpłynęło na rozwój wielolekooporności bakterii *Aeromonas hydrophila* ani na stan sanitarno-bakteriologiczny wody i oraz ryb zasiedlających badany staw. Wynika to prawdopodobnie z faktu, że dopływ ścieków oczyszczonych do stawu miał miejsce tylko dwukrotnie w okresie chowu ryb a staw był zasilany wodą z podziemnych źródeł, charakteryzujących się najczęściej bardzo dobrą jakością mikrobiologiczną.

²⁸ Molleda P., Blanco I., Ansola G., de Luis E., 2008. Ecol. Eng 33: 252–257.

²⁹ World Health Organization (WHO), 2006. Wastewater and Excreta Use in Aquaculture. Geneva, Switzerland

³⁰ Thayumanavan T, Vivekanandhan G, Savithamani K, Subashkumar R, Lakshmanaperumalsamy P, 2003. FEMS Immunol Med Microbiol 36: 41–45

³¹ Schmidt AS, Bruun MS, Dalsgaard I, Larsen JL., 2001. Appl Environ Microbiol 67: 5675-5682.

Omówione powyżej wyniki badań przedstawiłam w artykule:

- Harnisz M., Tucholski S., 2010. Microbial Quality of Common Carp and Pikeperch Fingerlings Cultured in a Pond Fed with Treated Wastewater. *Ecological Engineering* 36 (4):466-470. IF₂₀₁₄=3,041; MNiSW=35 pkt.

Badania do tego artykułu zostały wykonane w ramach projektu badawczego Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego „Wpływ zasilania stawów biologicznie oczyszczonymi ściekami na środowisko i produkcję materiału zarybieniowego” o numerze N N305 2777 33, w którym pełniłam funkcję głównego wykonawcy.

B2)

Polska akwakultura wykorzystuje w znacznej mierze wody słodkie produkując karpia (900 gospodarstw) i pstrąga tęczowego (190 gospodarstw)³². Z punktu widzenia ochrony środowiska, ośrodki akwakultury mogą być rozpatrywane jako źródło zanieczyszczeń tylko wtedy gdy substancje wprowadzone do tych ośrodków oraz w nich produkowane przedostają się do środowiska. Pomimo tego, że koncentracja zanieczyszczeń w wodach poprodukcyjnych z gospodarstw rybackich jest niska, wody odpływające z tych gospodarstw powinny być oczyszczane³². Jednak w praktyce zastosowanie intensywnych metod oczyszczania jest bardzo często ekonomicznie nieuzasadnione. Najczęściej stosowaną metodą oczyszczania wód poprodukcyjnych z gospodarstw rybackich jest stosowanie odstożników o głębokości nie przekraczającej 1 metra i czasie retencji co najmniej 30 min, co pozwala zmniejszyć ilość całkowitych zawiesin o 45% i BZT₅ o 19%³³. W Polsce do końca pierwszej dekady XXI wieku ośrodki chowu ryb najczęściej nie stosowały żadnej metody oczyszczania wód poprodukcyjnych.

Znaczący wzrost w globalnej produkcji akwakultury w ostatnich dekadach spowodował intensyfikację użycia antybiotyków do leczenia infekcji bakteryjnych^{34, 35}. Blisko 80% antybiotyków użytych w akwakulturach przedostaje się do środowiska

³² Teodorowicz M, 2013. *Arch Pol Fish* 21:65-111.

³³ Goryczko K, 2008. *Pstrągi. Chów i hodowla. Poradnik hodowcy*. Wydawnictwo IRS Olsztyn.

³⁴ Boxall ABA, 2010. *Veterinary medicines and the environment. Handbook of experimental pharmacology*, 291-314.

³⁵ Le TX, Munekage Y, 2004. *Mar Pollut Bull* 49: 922-929.

wodnego³⁶. Ich stężenie w wodach może być na tyle wysokie, że wywiera na bakterie selektywną presję poprzez całkowite lub częściowe zahamowanie wzrostu bakterii natywnych wrażliwych na antybiotyki.

W okolicach ośrodków akwakultury bardzo często stwierdza się podwyższone liczebności bakterii opornych na działanie antybiotyków oraz genów związanych z lekoopornością. Wiedza o źródłach i mechanizmach rozpowszechniania lekooporności jest niezbędna ponieważ może skutkować rozwojem efektywnych strategii do kontrolowania tego zjawiska i oceny zagrożeń zdrowia ludzkiego z nim związanych.

Badania wód poprodukcyjnych jako nośnika lekooporności prowadzone były w gospodarstwach pstrągowych zlokalizowanych na rzece Drwęcy i obejmowały dwa okresy: lata 2006 - 2007, kiedy w badanych gospodarstwach rybackich nie stosowano żadnej metody oczyszczania wód i lata 2010 - 2011 kiedy zastosowano odstojniki wód poprodukcyjnych jako metodę ich oczyszczania.

W badaniach nad lekoopornością w latach 2006-2007 zastosowałam bakterie odporne na tetracykliny jako bioindykatory funkcjonalne, podobnie jak w przypadku badań nad ściekami oczyszczonymi. Do badań wytypowałam dwie grupy drobnoustrojów o różnych preferencjach temperaturowych: bakterie rosnące w 14 i 28°C (Tet^R 14°C i Tet^R 28°C). Pierwsza grupa została wybrana uwzględniając górski charakter górnego biegu Drwęcy, co powoduje dominację bakterii psychrofilnych wśród mikrobioty natywnej rzeki. Druga grupa z bakterii została wybrana z uwagi na fakt, że bakterie potencjalnie chorobotwórcze i ściśle patogeny są najczęściej mezofilami.

Prowadząc badania stwierdziłam, że wody poprodukcyjne z gospodarstw rybackich były źródłem bakterii lekoopornych. Najwyższe liczebności obu badanych grup bakterii, w stosunku do stanowisk kontrolnych, występowały w wodach poprodukcyjnych wszystkich trzech badanych ośrodków chowu. Wykazałam też, że wody poprodukcyjne stanowią głównie źródło tetracyklinoopornych mezofili, co potwierdziła analiza statystyczna. Przedostawanie się dużych ilości lekoopornych bakterii mezofilnych wraz z wodami poprodukcyjnymi do rzeki może zmieniać bioróżnorodność zamieszkujących ją zbiorowisk bakterii i funkcje przez nie pełnione.

³⁶ Cabello FC, Godfrey HP, Tomova A, Ivanova L, Doelz H, Millanao A, Buschmann AH, 2013. Environ Microbiol 15: 1917-1942.

Zagrożenie stwarzane przez zrzut wód poprodukcyjnych potwierdziło też sekwencjonowanie genów 16S rRNA izolatów Tet^R 28°C. Wśród tej grupy dominowały bakterie *Pseudomonas fluorescens* i *Aeromonas hydrophila*. Oba te gatunki są potencjalnymi patogenami ryb, a należy w tym miejscu przypomnieć, że rzeka Drwęca jest częścią sieci Natura 2000 mającej chronić m.in. bytujące w niej rzadkie gatunki ryb. Izolaty Tet^R 28°C charakteryzowały się również wysokimi minimalnymi stężeniami tetracykliny inhibitującymi ich wzrost (50% szczepów MIC>256 µg/mL). Stwierdziłam też bardzo wysoką wielolekooporność izolatów Tet^R 28°C: 100% wyizolowanych szczepów było opornych na ampicylinę i amoksycylinę (β-laktamy), 94% na enrofloksacynę (fluorochinolony) i erytromycynę (makrolidy) a 83% na sulfametoksazol z trimetoprimem.

Bardzo wysoki udział bakterii tetracyklinoopornych w ogólnej liczbie bakterii odnotowywanej w wodach poprodukcyjnych z gospodarstw rybackich, ich szybka odpowiedź na zmieniające się warunki środowiska wyrażona poprzez wysokie wartości MIC i wielolekooporność, potwierdzają przydatność bakterii Tet^R jako bioindykatorów zmian w lekooporności.

Badania nad wodami poprodukcyjnymi kontynuowałam w latach 2010 - 2011 w ośrodku chowu ryb, w którym w roku 2007 wybudowano dwa odstojniki wód poprodukcyjnych o powierzchni 1500 m² i objętości 1350 m³. Czas retencji wody w odstojnikach przekraczał godzinę przy średnim przepływie wody 0,19 m³/s.

Badania obejmowały bakterie odporne na oksytetracyklinę (OTC^R) i doksycyklinę (DOX^R) należące do antybiotyków tetracyklinowych.

Nie stwierdziłam istotnych różnic w liczebnościach OTC^R i DOX^R w wodach poprodukcyjnych przed i po ich oczyszczeniu. Należy też dodać, że liczebności obu badanych grup bakterii były zbliżone również dla stanowisk zlokalizowanych w rzece Drwęcy przed zrzutem i po zrzucie oczyszczonych wód poprodukcyjnych.

Wśród 113 szczepów OX^R i 44 szczepów DOX^R, metodą sekwencjonowania genu 16S rRNA, stwierdziłam częste występowanie *Aeromonas* sp., *Acinetobacter* sp. i *Pseudomonas* sp. Wyniki identyfikacji bakterii pokrywają się z wynikami uzyskanymi w ramach wcześniejszych badań, wskazując na dominację γ-Proteobacteria wśród bakterii hodowlanych zamieszkujących wody słodkie.

Nie stwierdzono istotnych różnic w poziomach wartości MIC oksytetracykliny i doksycykliny oraz wielolekooporności izolatów między stanowiskami badawczymi.

Występowanie genów *tet* w dwóch badanych populacjach bakterii było zbliżone. Zarówno w grupie OTC^R jak i DOX^R stwierdziłam dominację genów *tet* (*A*, *E*, *L*, *O*). W przedstawianych tu badaniach jedynym odnotowanym efektem wpływu prowadzenia gospodarki rybackiej na zbiorowiska bakterii była większa różnorodność genów *tet* stwierdzana w wodach produkcyjnych w porównaniu do wód rzeki Drwęcy. Nie odnotowano jednakże statystycznie istotnych różnic w różnorodności genów *tet* między wodami produkcyjnymi oczyszczonymi i nieoczyszczonymi.

Eksperyment koniugacyjny wykazał, że geny *tet* (*A*, *E*, *K*, *L*, *M*, *O*) pochodzące z *Acinetobacter* sp. i *Aeromonas* sp. mogą być przeniesione do *E. coli* J53 (Rif^R), co sugeruje ich lokalizację na plazmidach. Częstotliwość koniugacji wynosiła od $1,0 \times 10^{-6}$ do $3,5 \times 10^{-5}$ na szczep dawcy, co oznacza dużą możliwość horyzontalnego transferu tych genów.

Badania lekooporności bakterii wód poprodukcyjnych z gospodarstw rybackich posiadają charakter prekursorski, ponieważ jako pierwsza w Polsce i na świecie zastosowałam metodę ilościowej reakcji PCR w badaniach prowadzonych w gospodarstwach śródlądowych. Do badań ilościowych wytypowałam geny *tet(A)*, *tet(C)*, *tet(O)* i *tet(L)*. Relatywna koncentracja genów *tet* (normalizowana do ilości kopii genu 16S rRNA) była podwyższona w wodach poprodukcyjnych przed i po oczyszczaniu oraz w wodach rzecznych po zrzucie oczyszczonych wód poprodukcyjnych w porównaniu do stanowiska kontrolnego, jednakże analiza statystyczna nie potwierdziła różnic ilościowych. Odstojnik zastosowany jako metoda oczyszczania wód produkcyjnych, nie miał wpływu na zmniejszenie relatywnej ilości genów *tet*; ich koncentracje były podobne zarówno w wodach przed jak i po oczyszczeniu.

Nie stwierdziłam również statystycznie istotnych różnic w stężeniu antybiotyków z grupy tetracyklin (tetracyklina, oksytetracyklina i doksycyklina) pomiędzy badanymi wodami.

Podsumowując można stwierdzić, że zastosowanie odstojników jako metody oczyszczania wód poprodukcyjnych nie przyniosło oczekiwanych efektów w usuwaniu ARB i ARGs. Biorąc pod uwagę fakt, że geny oporności na tetracykliny mogą się przenosić między niespokrewnionymi gatunkami bakterii, co udowodniłam w eksperymencie koniugacyjnym,

należy podjąć działania zmierzające do zwiększenia efektywności oczyszczania wód produkcyjnych z tych zanieczyszczeń.

Omówione powyżej wyniki badań przedstawiłam w artykułach:

- Harnisz M., Gołaś I., Pietruk M., 2011. Tetracycline-resistant bacteria as indicators of antimicrobial resistance in protected waters—The example of the Drwęca River Nature Reserve (Poland). *Ecological Indicators* 11: 663-668. IF₂₀₁₄=3,230; MNiSW=35 pkt.
- Harnisz M., Korzeniewska E., Gołaś I., 2014. Impact of Freshwater Fish Farm on the Community of Tetracycline Resistant Bacteria and Structure of Tetracycline Resistance Genes in River Water. *Chemosphere* 128: 134-141. IF₂₀₁₄=3,499; MNiSW=35 pkt.

Badania do tych artykułów zostały wykonane w ramach projektów badawczych:

- „Zastosowanie klasycznych i molekularnych metod badawczych do oceny wpływu czynników antropogennych na jakość mikrobiologiczną wód górnego odcinka rzeki Drwęcy” o numerze N305 110 313667, w którym byłam głównym wykonawcą
- „Bakterie tetracyklinooporne jako indykatory lekooporności w wodach powierzchniowych odbierających oczyszczone ścieki komunalne oraz odpływy z gospodarstw rybackich” o numerze N N305 164339, którego byłam kierownikiem.

Podsumowując można stwierdzić, że wszystkie prezentowane wyżej badania obejmują swym zakresem zagadnienia związane z inżynierią środowiska, chemią, mikrobiologią i ekotoksykologią, co stanowi o ich interdyscyplinarnym profilu. Uzyskane wyniki przyczyniają się do lepszego zrozumienia dróg rozprzestrzeniania bakterii lekoopornych oraz genów oporności. Wiedza ta może być wykorzystana do opracowywania efektywnych strategii kontrolowania zjawiska lekooporności i oceny zagrożeń zdrowia ludzkiego. Ponadto uzyskana wiedza wpisuje się w światowe trendy monitoringu lekooporności wyznaczone zarówno przez Światową Organizację Zdrowia jak i Komisję Europejską.

Najważniejsze osiągnięcia i wnioski wynikające z przeprowadzonych badań:

- Oczyszczone ścieki komunalne stanowią bezwzględny nośnik zanieczyszczeń takich jak pozostałości antybiotyków, bakterie lekooporne oraz genomowe determinanty niewrażliwości na antybiotyki.
- Obecność antybiotyków w środowisku wywiera selektywną presję na bakterie powodując zmiany ich bioróżnorodności, jednakże dotyczy to antybiotyków nowej generacji.
- Bakterie odporne na tetracykliny są czułym bioindykatorem funkcjonalnym reagującym ilościowo jak i jakościowo na zmiany zachodzące w środowisku.
- W oczyszczonych ściekach komunalnych dominowały doksycyklinoporne bakterie *Escherichia coli* o determinancie *tet(B)* i bardzo wysokiej oporności na tigeocyklinę, pochodzące prawdopodobnie ze źródeł szpitalnych.
- Prekursorskie w warunkach Polski badania przy zastosowaniu ilościowej reakcji PCR potwierdziły, że ścieki oczyszczone stanowią źródło genów oporności, zwłaszcza genu *tet(B)*.
- Pod wpływem zrzutu ścieków oczyszczonych w wodach odbiornika następowały zmiany w zbiorowiskach bakterii natywnych.
- Wody produkcyjne z gospodarstw rybackich, również stanowią wektor lekooporności choć w mniejszym stopniu niż ścieki oczyszczone, ze względu na duże rozcieńczenie zanieczyszczeń.
- W odpływach z gospodarstw rybackich dominowały antybiotykooporne bakterie z rodzajów *Acinetobacter*, *Aeromonas* i *Pseudomonas*, które są potencjalnymi patogenami ryb.
- Zastosowanie odstojnika jako metody oczyszczania wód poprodukcyjnych nie przeniosło oczekiwanych efektów w usuwaniu ARB i ARGs.
- Według najlepszej wiedzy autorki, do badań nad lekoopornością bakterii gospodarstw śródlądowych zastosowano po raz pierwszy w Polsce i na świecie reakcję PCR w czasie rzeczywistym.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

Studia ukończyłam w 1998 r. na Wydziale Ochrony Środowiska i Rybactwa Akademii Rolniczo - Technicznej w Olsztynie uzyskując tytuł magistra inżyniera w zakresie ochrony środowiska. Pracę magisterską wykonałam w Katedrze Inżynierii Ochrony Środowiska pod kierownictwem dr hab. inż. Czesława Mientkiego, prof. ART.

W tym samym roku (1998) rozpoczęłam studia doktoranckie w Studium Doktoranckim Uniwersytetu Warmińsko - Mazurskiego w Olsztynie. Moim opiekunem naukowym była prof. dr hab. inż. Izabella Zmysłowska. Moja praca naukowa koncentrowała się wówczas na zagadnieniach związanych z zanieczyszczeniem mikrobiologicznym środowiska naturalnego pod wpływem antropopresji. Prowadzone przeze mnie badania dotyczyły przede wszystkim oceny mikrobiologicznej i sanitarnej ryb oraz wody, w której prowadzono ich tucz. Tematem moich zainteresowań naukowych było też występowanie i rola mikroorganizmów związanych z intensywnym chowem ryb. Wyniki tych prac posłużyły do przygotowania rozprawy doktorskiej pt.: „Drobnoustroje w sadzowym tucz sumy europejskiego (*Siluris glanis* L.) w wodzie pochłodniczej”, obronionej w listopadzie 2002 roku na Wydziale Ochrony Środowiska i Rybactwa Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie. Uzyskane wyniki wskazywały, iż intensywny chów ryb w wodach pochłodniczych nie wpływał istotnie na jakość sanitarno-bakteriologiczną odbiornika. Stwierdziłam jednak, że wraz z wzrostem zagęszczenia ryb w sadzach następował wzrost liczebności mikrobioty zasiedlającej ryby, co mogło prowadzić do wzrostu zapadalności na choroby. Ponadto odnotowałam, że skład jakościowy bakterii zasiedlających ryby, wodę i paszę którą karmiono ryby był do siebie podobny. Wyniki badań z tego okresu zostały opublikowane w szeregu artykułów (II.E.1, II.E.2, II.E.3, II.E.4, II.E.5, II.E.6, II.E.7, II.E.8, II.E.9, II.E.10, II.E.11). Przeprowadzone obserwacje oraz zebrane doświadczenia wskazały na celowość dalszych prac dotyczących zmian w środowiskach kształtowanych antropogenicznie (II.E.12, II.E.13, II.E.14, II.E.15, II.E.16). Tematyka tych prac była także rozpowszechniana na krajowych i międzynarodowych konferencjach naukowych (III.B.1, III.B.2, III.B.3, III.B.4, III.B.5, III.B.6, III.B.7, III.B.8, III.B.9, III.B.10, III.B.11, III.B.12, III.B.13, III.B.15).

Uzyskana przeze mnie wiedza dotycząca zmian zachodzących w środowisku pod wpływem działalności człowieka pozwoliła mi na przygotowanie i realizację w latach 2006–2009 i 2007-2010 dwóch projektów badawczych (projekty: II.J.2, II.J.3). Celem obu tych

projektów była ocena wpływu gospodarki rybackiej na stan środowiska wodnego a udział w nich zaowocował kolejnymi artykułami naukowymi. Wykazano, że występowanie ogólnej liczby bakterii psychro- i mezofilnych, bakterii cyklu azotowego oraz bakterii potencjalnie chorobotwórczych było ściśle powiązane z intensyfikacją gospodarki rybackiej i parametrami fizyko-chemicznymi wody (II.A.2, II.A.3, II.E.18). Wyniki te były także prezentowane w formie doniesień na krajowych i międzynarodowych konferencjach naukowych (III.B.18, III.B.20, III.B.21, III.B.24, III.B.27).

Jednocześnie rozwijałam zainteresowania dotyczące wykorzystania metod biologii molekularnej w badaniach środowiskowych, czego efektem były artykuły naukowe (II.A.4, II.A.5, II.E.19) oraz wystąpienia na konferencjach naukowych (III.B.14, III.B.26).

Wśród szerokiego spektrum zagadnień związanych z mikrobiologią środowiskową szczególnym zainteresowaniem obdarzyłam bakterie lekooporne. Badania dotyczące tej tematyki skupiały się początkowo na bakteriach niewrażliwych na działanie antybiotyków izolowanych z gospodarstw rybackich. Efektem tych prac była publikacja oraz szereg doniesień na krajowych i międzynarodowych konferencjach naukowych (II.A.1, III.B.17, III.B.19, III.B.23, III.B.31). W kolejnych latach badaniami objęłam też bakterie pochodzące z oczyszczalni ścieków i odporne na najpopularniejsze w Polsce antybiotyki to jest β – laktamy i tetracykliny. Podjęcie tej tematyki spowodowało, że ukazały się kolejne prace naukowe (II.A.6, II.A.7, II.A.8) oraz doniesienia na krajowych i międzynarodowych konferencjach naukowych (III.B.22, III.B.25, III.B.28, III.B.30).

W trakcie swojej pracy naukowej opublikowałam 13 prac wyróżnionych przez bazę Journal Citation Reports. Jestem też współautorką 19 publikacji zamieszczonych w innych czasopismach recenzowanych i w części wyróżnionych (12 prac) na liście B czasopism punktowanych MNiSW. Ponadto jestem autorką 34 doniesień i referatów prezentowanych na konferencjach i sympozjach naukowych, w tym 5 międzynarodowych. Łącznie uczestniczyłam i zrealizowałam 3 projekty badawcze (II.J.1, II.J.2, II.J.3), w tym jeden projekt, którego byłam kierownikiem, a w kolejnych dwóch pełniłam funkcję głównego wykonawcy. Wykonałam również 25 recenzji publikacji naukowych (III.P.1, III.P.2, III.P.3, III.P.4, III.P.5, III.P.6), dla takich periodyków jak: Science of the Total Environment; World Journal of Microbiology and Biotechnology; CLEAN – Soil, Air, Water; Water Research i Aquaculture Research a także jedną recenzję projektu naukowego zgłoszonego do Narodowego Centrum Nauki (III.O.1).

Za swoje osiągnięcia w dziedzinie naukowej otrzymałam w roku 2005 od Rektora Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego nagrodę, a w latach 2006 i 2007 stypendia za szczególną aktywność naukową (II.K.1, II.K.2, II.K.3).

W roku 2014 podjęłam też współpracę z Holenderskim Instytutem Ekologii (The Netherlands Institute of Ecology). Współpraca ta dotyczy badań nad zmianami w bioróżnorodności bakterii uczestniczących w przemianach metanu w zależności od rodzaju użytkowania torfowisk wysokich.

Zestawienie ilościowe i punktowe najważniejszych osiągnięć naukowo-badawczych

Wyszczególnienie			Przed doktoratem	Po doktoracie	Łącznie	
Oryginalnie opublikowane naukowe prace twórcze udostępnione w obiegu społecznym, monografie i publikacje książkowe (posiadające ISBN i EAN); A- publikacje wliczone do osiągnięcia naukowego, B- pozostałe publikacje						
Rodzaj publikacji		Punkty MNiSW	IF ²⁰¹⁴			
Czasopisma z listy JCR	A	180	16,835	-	5	5
	B	190	13,657	-	8	8
Czasopisma z listy filadelfijskiej	A	-	-	-	-	-
	B	46	-	2	4	6
Inne czasopisma		26		2	11	13
Materiały konferencyjne		-		8	24	32
RAZEM		442	30,492	12	52	64
Udział w projektach						
Projekty		MNiSW/NCN		-	3	3
RAZEM					3	3
Pozostała działalność naukowo-badawcza						
Recenzje projektu naukowego dla NCN				-	1	1
Recenzje artykułów opublikowanych w czasopismach JCR				-	25	25
Wskaźniki oceny dorobku naukowego						
Źródło danych				Web of Science	Scopus (Elsevier)	Google Scholar
Indeks Hirscha <i>h</i>				5	5	6
Liczba cytowań ogółem				63	69	112
Liczba publikacji w bazie				12	11	28

6. Osiągnięcia w zakresie popularyzowania nauki

Swoją pracę naukową uzupełniałam aktywną działalnością popularyzatorską. Od 2010 roku do chwili obecnej przygotowuję i realizuję warsztaty dla młodzieży w ramach Olsztyńskich Dni Nauki i Sztuki. Czterokrotnie prowadziłam też kursy szkoleniowe dla laborantów z całej Polski „Jak pobrać próbki do analiz mikrobiologicznych aby uzyskać prawidłowy wynik badania?”.

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

W roku 2014 założyłam stronę internetową poświęconą problematyce występowania bakterii lekoopornych w środowisku (<http://uwm.edu.pl/antybiotykoopornoscwsrodowisku>).

7. Osiągnięcia w zakresie działalności organizacyjnej

W trakcie mojej pracy zawodowej realizowałam wiele zadań organizacyjnych na rzecz Uczelni. Od 2014 roku do chwili obecnej jestem członkiem Rady Wydziału Nauk o Środowisku jako przedstawiciel adiunktów. W latach 2009 - 2011 pełniłam rolę koordynatora planów zajęć dydaktycznych w Katedrze Mikrobiologii Środowiskowej. Za swój największy sukces w pracy organizacyjnej na rzecz UWM w Olsztynie uważam udział w zespołach pracujących nad nowelizacją programu kształcenia na kierunku Ochrona Środowiska oraz przygotowaniem programu kształcenia na kierunku Gospodarowanie Zasobami Wodnymi. Za osiągnięcia organizacyjne w 2012 r. otrzymałam dyplom uznania od Rektora Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie (III.D.1).

Od 1997 r. jestem aktywnym członkiem Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów (PTM).

8. Omówienie osiągnięć dydaktycznych

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

- Mikrobiologia molekularna (kierunek Ochrona Środowiska, Wydział Nauk o Środowisku) – przygotowanie programu oraz realizacja wykładów i ćwiczeń
- Techniki poboru próbek mikrobiologicznych (kierunek Ochrona Środowiska, Wydział Nauk o Środowisku) – przygotowanie programu oraz realizacja wykładów i ćwiczeń,
- Techniki poboru próbek mikrobiologicznych (kierunek Rybactwo, Wydział Nauk o Środowisku) – przygotowanie programu wykładów i ćwiczeń,
- Diagnostyka drobnoustrojów (kierunek Mikrobiologia, Wydział Biologii i Biotechnologii) – przygotowanie programu oraz realizacja wykładów i ćwiczeń,
- Zagrożenia mikrobiologiczne terenów popowodziowych (kierunek Inżynieria Środowiska, Wydział Nauk o Środowisku) – przygotowanie programu wykładów i ćwiczeń,

Ponadto prowadziłam i prowadzę w chwili obecnej zajęcia laboratoryjne z przedmiotu Mikrobiologia i Mikrobiologia sanitarna na Wydziale Nauk o Środowisku, a także z przedmiotu Mikrobiologia zootechniczna na Wydziale Bioinżynierii Zwierząt Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie. Prowadzę także seminaria inżynierskie i magisterskie na Wydziale Nauk o Środowisku.

Jestem promotorem pomocniczym w przewodzie doktorskim Pana Sebastiana Wojciecha Przemienieckiego. Jego praca doktorska skupia się na relacjach pomiędzy grupami fenotypowymi i genotypowymi *Pectobacterium* spp. a środkami ochrony roślin i bakteriami antagonistycznymi. Wszczęcie przewodu doktorskiego nastąpiło 17.02.2015 r.

Od 2014 jestem opiekunem Koła Naukowego Mikrobiologów Molekularnych „Coccus”.

Byłam opiekunem naukowym 22 prac inżynierskich oraz 16 prac magisterskich na kierunku ochrona środowiska. Obecnie sprawuję opiekę nad realizacją 2 prac magisterskich. Recenzowałam też prace inżynierskie, licencjackie i magisterskie (w sumie 27 prac).

Monika Harnisz