

AUTOREFERAT

- I. **Imię i nazwisko: Hanna Różańska**
- II. **Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/artystyczne** – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej:
1. **Lekarz weterynarii** – Wydział Weterynaryjny Akademii Rolniczej w Lublinie – 1984
 2. **dr nauk weterynaryjnych** – Państwowy Instytut Weterynaryjny w Puławach – 1999 rok – Rozprawa doktorska pt.: Wpływ pozostałości antybiotyków na wyniki badań mikrobiologicznych mięsa. Promotor: doc. dr hab. Bolesław Wojtoń
- III. **Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/artystycznych:**
1. 1984 – **stażysta**, Zakład Higieny Produktów Zwierzęcych, Instytut Weterynarii w Puławach
 2. 1985 - **asystent**, Zakład Higieny Produktów Zwierzęcych, Instytut Weterynarii w Puławach
 3. 1987 – **starszy asystent**, Zakład Higieny Produktów Zwierzęcych, Instytut Weterynarii w Puławach
 4. 1995 – **starszy asystent**, Zakład Higieny Żywności Pochodzenia Zwierzęcego, Państwowy Instytut Weterynaryjny w Puławach
 5. 2000 – **adiunkt**, Zakład Higieny Żywności Pochodzenia Zwierzęcego, Państwowy Instytut Weterynaryjny w Puławach
 6. 2003 – **adiunkt**, Zakład Higieny Żywności Pochodzenia Zwierzęcego, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach
 7. 2018 – **adiunkt**, Zakład Mikrobiologii, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach
- IV. **Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65, poz. 595 z późn. zm.)**

Cykl prac: Analiza wrażliwości na antybiotyki wybranych drobnoustrojów izolowanych od zwierząt i z żywności zwierzęcego pochodzenia

1. **Różańska H.**: Antibiotic susceptibility of *Enterococcus* spp. isolated from food of animal origin. Med Weter 2011, 67, 683-684

2. Wasiński B., **Róžańska H.**, Osek J.: Occurrence of extended spectrum and AmpC beta-lactamases in *Escherichia coli* isolated from meat. Bull Vet Inst Pulawy 2013, 57, 513-517
3. Wasiński B., **Róžańska H.**, Osek J.: Wytwarzanie beta-laktamaz o rozszerzonym spektrum substratowym (ESBL) przez bakterie występujące w żywności. Med Weter 2013, 69, 274-278
4. Wasiński B., **Róžańska H.**, Osek J.: Antimicrobial resistance of ESBL- and AmpC – producing *Escherichia coli* isolated from meat. Bull Vet Inst Pulawy 2014, 58, 567-571
5. **Róžańska H.**, Lewtak-Piłat A., Osek J.: Antimicrobial resistance of *Enterococcus faecalis* isolated from meat. Bull Vet Inst Pulawy 2015, 59, 229-233
6. Weiner M., **Róžańska H.**, Kubajka M., Szulowski K., Krajewska M., Wasiński B.: Occurrence and characterisation of MRSA and extended-spectrum β -lactamases producing *Escherichia coli* isolated from mastitic cow's milk. Bull Vet Inst Pulawy 2015, 59, 191-195
7. **Róžańska H.**, Lewtak-Piłat A., Kubajka M., Weiner M.: Occurrence of enterococci in mastitic cow's milk and their antimicrobial resistance. J Vet Res 2019, 63, 93-97

Łączna liczba pkt wg MNiSW: 125

Łączny impact factor: 2,788

Liczba cytowań: 12

Celem badań, których wyniki prezentowane są w formie prac przedstawionych jako osiągnięcie naukowe, było uzyskanie danych o występowaniu zjawiska oporności na antybiotyki u wybranych drobnoustrojów izolowanych od zwierząt i z żywności zwierzęcego pochodzenia, w aspekcie potencjalnego zagrożenia transferem opornych, patogennych drobnoustrojów od zwierząt na ludzi.

W 90 lat po odkryciu penicyliny, które zapoczątkowało rewolucję w terapii zakażeń bakteryjnych problemem nr 1 w medycynie stała się oporność bakterii na antybiotyki. Wieloletnie nadużywanie i niewłaściwe stosowanie tych substancji u ludzi i u zwierząt, u których używano ich także jako stymulatorów wzrostu, a także stosowanie antybiotyków m.in. w ogrodnictwie i sadownictwie doprowadziły do stanu, w którym opcje terapeutyczne w chorobach o etiologii bakteryjnej stały się mocno ograniczone. Coraz częściej izolowane są bakterie odporne na wszystkie dostępne antybiotyki. Miliony ludzi chorują, a dziesiątki tysięcy umiera co roku wskutek zakażeń wywoływanych przez odporne drobnoustroje. Mówi się wręcz

o zmierzchu antybiotyków. Stało się zatem to, co przewidział Flemming w swoim wykładzie wygłoszonym podczas odbierania nagrody Nobla (wspólnie z Florey'em i Changiem) w 1945 roku. Światowa wymiana towarowa oraz nieskrępowane przemieszczanie się ludzi pomiędzy krajami i kontynentami doprowadziło do tego, że zjawisko oporności bakterii przybrało charakter pandemii, ogarniając cały glob. Organizacje międzynarodowe i poszczególne państwa podejmują szereg inicjatyw zmierzających do ograniczenia problemu oporności bakterii, między innymi poprzez ściślejszą kontrolę stosowania antybiotyków oraz monitorowanie oporności drobnoustrojów, jednakże działania te nie przynoszą jak dotąd spodziewanych efektów. Bardzo istotny jest fakt niedostatecznej kontroli stosowania antybiotyków w krajach rozwijających się, które zamieszkuje większość populacji ludzkiej. Światowa Organizacja Zdrowia (WHO), uznająca lekooporność za jedno z najważniejszych zagrożeń dla ludzkości opracowała listę antybiotyków krytycznie istotnych dla zabezpieczenia możliwości leczenia pacjentów z zakażeniami bakteryjnymi. Zaliczono do nich m.in. cefalosporyny III, IV i V generacji, fluorochinolony i kolistynę. Stosowanie tych substancji u ludzi powinno podlegać jak najściślejszym regulacjom, a u zwierząt powinno być w zasadzie wyeliminowane.

Drobnoustroje, których oporność stwarza największe problemy terapeutyczne, lub które przyczyniają się do ekspansji antybiooporności wśród szczepów pochodzących od ludzi, zwierząt i ze środowiska określono mianem „patogenów alarmowych”. Zaliczono do nich m.in. *Enterococcus* spp. (w tym VRE – vancomycin resistant enterococci), odporne na metycylinę gronkowce (MRSA – methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) oraz pałeczki z rodziny *Enterobacteriaceae* wytwarzające beta-laktamazy o rozszerzonym spektrum substratowym (ESBL – extended-spectrum beta-lactamases) i karbapenemazy, wielooporne *Acinetobacter*, wielooporne pałeczki *Pseudomonas aeruginosa* oraz odporne szczepy prątków gruźlicy.

Wśród badaczy przeważa pogląd, że źródłem opornych na antybiotyki drobnoustrojów patogennych dla ludzi mogą być zwierzęta hodowlane, u których substancje te stosowane są terapeutycznie lub pozalecniczo, a także żywność zwierzęcego pochodzenia. Tematyką tą zainteresowałam się już od roku 2000, a uzyskane wyniki badań były prezentowane ogółem w 11 doniesieniach na konferencje krajowe i międzynarodowe oraz w publikacjach, w tym przedstawionych jako osiągnięcie naukowe.

Enterokoki stanowią normalny składnik flory jelitowej ludzi i zwierząt, jednak w sprzyjających warunkach mogą być przyczyną poważnych zachorowań ludzi i zwierząt. W ostatnich dekadach notuje się ich rosnącą rolę w zakażeniach szpitalnych, zwłaszcza w odniesieniu do *Enterococcus faecalis* i *E. faecium*. Naturalna oporność tych drobnoustrojów na niektóre antybiotyki, jak i zdolność nabywania i przekazywania elementów genetycznych warunkujących oporność znacznie ograniczają możliwości skutecznej terapii. Enterokoki charakteryzują się wysoką odpornością na czynniki środowiskowe, w tym na temperaturę. W efekcie mogą przeżywać np. procesy pasteryzacji stosowane w produkcji żywności. Obszerną charakterystykę enterokoków przedstawiliśmy w pracy: **Enterokoki – bakterie o wielu obliczach, Hanny Różańskiej, Aleksandry Lewtak-Piłat i Jacka Oska**, opublikowanej w *Życiu Weterynaryjnym* (2013, 88, 562-564). Nasze pierwsze badania obejmowały 138 izolatów *Enterococcus* spp. otrzymanych z laboratoriów terenowych oraz izolowanych w naszym

Zakładzie z żywności zwierzęcego pochodzenia (mleko i produkty mleczne, świeże mięso, mięso mielone).. W Polsce nie było wcześniej dostępnych danych z tego zakresu. W badaniach uwzględniliśmy 12 antybiotyków, reprezentatywnych dla różnych grup: penicylinę G, ampicylinę, wankomycynę, erytromycynę, tetracyklinę, doksycyklinę, ciprofloksacynę, nitrofurantoinę, ryfampicynę, chloramfenikol, gentamycynę i streptomycynę. Przy zastosowaniu metody krążkowo-syfuzyjnej wykazaliśmy, że oporność enterokoków była zróżnicowana wobec poszczególnych antybiotyków. Najwyższy odsetek opornych szczepów zanotowaliśmy dla streptomycyny (84,1%), gentamycyny (47,1%) i tetracykliny (39,1%). Najmniej szczepów wykazywało oporność na ampicylinę (2,2%) i penicylinę G (5,1%). 9 szczepów (6,5%) wykazywało oporność na wankomycynę. 43 izolaty były odporne na dwa lub więcej antybiotyków. Nasze badania potwierdziły, że żywność może być źródłem opornych enterokoków. Wyniki przedstawiliśmy w pracy:

Hanna Różańska: Antibiotic susceptibility of *Enterococcus* spp. isolated from food of animal origin. Med. Weter 2011, 67, 683-684.

Mój udział w pracy, obejmujący zaplanowanie i nadzorowanie badań, analizę wyników, zebranie piśmiennictwa i przygotowanie manuskryptu wynosił **100%**.

Ciekawe wyniki uzyskaliśmy też w badaniach szczepów izolowanych z wymazów z odbytu od zwierząt wolnożyjących, jak dzik (n=240, jeleń (n=29), sarna (n=10) i daniel (n=3). Ogółem wyizolowaliśmy 66 szczepów *Enterococcus* spp., w tym 25 zidentyfikowanych przy zastosowaniu testu API rapid ID32STREP (bioMerieux, Francja) jako *Enterococcus caseliflavus*, 21 – *E. faecalis*, 9 – *E. hirae*, 5 – *E. gallinarum*, 4 – *E. faecium* i 2 – *E. durans*. Wrażliwość izolatów na antybiotyki określaliśmy przy użyciu techniki minimalnego stężenia hamującego (MIC), przy zastosowaniu systemu Sensititre (Trek Diagnostic Systems) – płytki CMV3AGPF, zawierające tigeocyklinę, tetracyklinę, chloramfenikol, daptomycynę, streptomycynę, tylozynę, synercid, linezolid, nitrofurantoinę, penicylinę, kanamycynę, erytromycynę, ciprofloksacynę, wankomycynę, linkomycynę i gentamycynę. Wszystkie badane szczepy wykazywały oporność na linkomycynę. 17 (80,9%) szczepów *Enterococcus faecalis* było opornych na synercid (chinupristyna/dalfoprystyna) (prawdopodobnie naturalna oporność tego gatunku). 7 szczepów *E. faecalis* było opornych na tetracyklinę (33,4%) i 1 – na streptomycynę. Ponadto oporność na synercid notowaliśmy u 1 szczepu *E. faecium*. 2 szczepy *E. faecium* wykazywały oporność na nitrofurantoinę, 2 – na kanamycynę i 2 – na wankomycynę. Na kanamycynę był również oporny 1 szczep *E. gallinarum*. Ponadto obserwowaliśmy 1 szczep *E. gallinarum* oporny na synercid i 1 oporny na tetracyklinę. Wszystkie badane szczepy były wrażliwe na chloramfenikol, ciprofloksacynę, daptomycynę, erytromycynę, gentamycynę, linezolid, tigeocyklinę i tylozynę. Wyniki były o tyle ciekawe, że dzikie zwierzęta nigdy nie były leczone z użyciem antybiotyków. Uzyskane wyniki prezentowaliśmy na międzynarodowej konferencji: Current Approaches to Health and Diseases in Animals and Humans. Lublin, 2014, w formie doniesienia: Lewtak-Piłat A., **Różańska H.**, Skrzypiec E., Osek J.: **Antimicrobial resistance of enterococci isolated from wild animals**, za które otrzymaliśmy nagrodę Komitetu Organizacyjnego. Następnym etapem naszych badań było określenie występowania *Enterococcus faecalis* w próbkach świeżego mięsa i ocena oporności izolatów na antybiotyki. Podobnych badań wcześniej w kraju nie publikowano.

Badaliśmy ogółem 111 izolatów, wyosobnionych z 224 próbek mięsa, w tym 52 izolaty z mięsa świń, 35 izolatów z wołowiny i 24 z mięsa drobiowego. Do izolacji enterokoków zastosowaliśmy przednamnażanie w bulionie mózgowo-sercowym, namnażanie selektywne w pożywce z azydkiem sodowym i fioletem krystalicznym, oraz posiew na podłoże agarowe wg Słanetz-Bartley'a. Identyfikacji izolatów dokonywaliśmy przy użyciu API rapid ID32STREP, a analizy wrażliwości na antybiotyki – przy użyciu testów Sensititre (Trek), płytki CMV3AGPF. Poza wysokim odsetkiem szczepów opornych na chinupristinę/dalfopristinę (ogółem 88 izolatów, tj. 79,3%), co jest naturalne dla *E. faecalis*, obserwowaliśmy częstą oporność na linkomycynę (94 izolaty), na tetracyklinę (60 szczepów) i erytromycynę (40 izolatów). Nieliczne szczepy były odporne na ciprofloksacynę, gentamycynę, penicylinę i wankomycynę. Wszystkie badane izolaty były wrażliwe na daptomycynę, nitrofurantoinę i tigecyklinę. Tylko 4 izolaty były wrażliwe na wszystkie analizowane substancje. Znaczące różnice w oporności szczepów izolowanych z mięsa wołowego, wieprzowego i drobiowego dotyczyły chloramfenikolu, erytromycyny, kanamycyny, ciprofloksacyny, streptomycyny i tylozyny. Na podstawie uzyskanych wyników mogliśmy wyróżnić 32 typy antybiotykooporności, przy czym 63 izolaty (56,8%) prezentowały oporność na 3 lub więcej substancji z różnych grup (szczepy wielooporne).

Wyniki przedstawiliśmy w pracy:

Hanna Różańska, Aleksandra Lewtak-Pilat, Jacek Osek: Antimicrobial resistance of *Enterococcus faecalis* isolated from meat. Bull Vet Inst Pulawy, 2015, 59, 229-233.

Mój udział w pracy, szacowany przeze mnie na **90%**, obejmował zebranie literatury, zaplanowanie, nadzorowanie i częściowe wykonanie doświadczeń, opracowanie wyników, przygotowanie i korektę publikacji.

Kolejny etap prac związanych z enterokokami obejmował próbki mleka od krów wykazujących kliniczne objawy zapalenia gruczołu mlekowego. Enterokoki są jednym z tzw. środowiskowych czynników etiologicznych *mastitis*, a ich oporność na antybiotyki ogranicza możliwości terapii. Ogółem badaliśmy 2000 próbek. Izolacja enterokoków obejmowała przednamnażanie w buforowanej wodzie peptonowej, selektywne namnażanie w bulionie z azydkiem sodu i fioletem krystalicznym oraz posiew na podłoże Słanetz-Bartley'a. Identyfikację enterokoków i określanie ich wrażliwość na antybiotyki przeprowadzaliśmy podobnie, jak w przypadku mięsa. Wyizolowaliśmy ogółem 426 szczepów *Enterococcus spp.*, w tym 350 szczepów zidentyfikowanych jako *E. faecalis* i 35 – *E. faecium*. Niewielka liczba izolatów reprezentowała inne gatunki *Enterococcus spp.* i nie była uwzględniona w opracowywaniu wyników. Najwyższy odsetek badanych szczepów (82,16%) wykazywał oporność na linkomycynę, w dalszej kolejności na tetracyklinę (61,5%), synergid (60,8%), erytromycynę (48,83%), kanamycynę (47,42%), streptomycynę (46,48%), chloramfenikol (44,83%) i tylozynę (42,49%). Najmniej izolatów wykazywało oporność na wankomycynę (0,94%) i ciprofloksacynę (0,47%). Wszystkie szczepy były wrażliwe na daptomycynę. Ogółem 193 izolaty (45,31%) były odporne na co najmniej 3 substancje reprezentujące różne klasy antybiotyków (szczepy wielooporne). Porównanie pomiędzy *E. faecalis* i *E. faecium* wykazało znaczące różnice w oporności, zwłaszcza na chloramfenikol, erytromycynę, nitrofurantoinę, synergid, streptomycynę i tetracyklinę. Ogólnie ujmując, izolaty *E. faecium*

były częściej wrażliwe na analizowane antybiotyki, niż *E. faecalis*. Analiza różnic obserwowanych w przypadku *E. faecalis* dla lat 2014 – 2017 wykazała postępujący spadek liczby izolatów opornych na chloramfenikol, erytromycynę, linkomycynę, streptomycynę, tetracyklinę i tylozynę.

Wyniki badań przedstawiliśmy w pracy:

Hanna Różańska, Aleksandra Lewtak-Piłat, Maria Kubajka, Marcin Weiner: Occurrence of enterococci in mastotic cow's milk and their antimicrobial resistance. J Vet Res 2019, 63, 93-97.

Mój udział w pracy obejmował zebranie piśmiennictwa, zaplanowanie, nadzorowanie i częściowe wykonanie badań, opracowanie wyników, przygotowanie i korektę manuskryptu. Oceniam go na **80%**.

Gram-ujemne pałeczki z rodziny *Enterobacteriaceae* wytwarzające beta-laktamazy o rozszerzonym spektrum substratowym (ESBL – extended spectrum beta-lactamases), enzymy typu AmpC oraz karbapenemazy uważane są za jeden z najbardziej istotnych problemów medycyny, wynikający z drastycznego ograniczenia opcji terapeutycznych w przypadkach zakażeń wywoływanych przez te drobnoustroje. Zainteresowało nas potencjalne występowanie tych bakterii w żywności zwierzęcego pochodzenia, wcześniej w Polsce nie badane. Dokonany przegląd piśmiennictwa wskazywał, że żywność może być potencjalnym źródłem szczepów *E. coli* wytwarzających ESBL i/lub AmpC, w tym patogennych dla człowieka. Szczegółową charakterystykę beta-laktamaz o rozszerzonym spektrum substratowym oraz dane dotyczące występowania w żywności *E. coli* wytwarzających te enzymy przedstawiliśmy w pracy:

Bernard Wasiński, Hanna Różańska, Jacek Osek: Wytwarzanie beta-laktamaz o rozszerzonym spektrum substratowym (ESBL) przez bakterie występujące w żywności. Med. Weter 2013, 69, 274-278.

Mój wkład w powstanie pracy obejmował zebranie i analizę piśmiennictwa, częściowe wykonanie badań, opracowanie wyników oraz korektę przygotowanego tekstu. Oceniam go na **50%**.

Wstępne badania nad występowaniem szczepów *E. coli* wytwarzających ESBL i AmpC w żywności obejmował 141 próbek mięsa, w tym 78 próbek wieprzowiny, 44 próbki wołowiny i 19 próbek mięsa drobiowego. Mięso było pobierane w zakładach zlokalizowanych w różnych częściach kraju, w okresie wrzesień 2012 – luty 2013. Procedura analityczna obejmowała przednamnażanie 25 g próbki z 225 ml zbuforowanej wody peptonowej, posiew do bulionu siarczynowo-laurylowo-tryptozowego (LST) i przesiew na podłoże agarowe MacConkey'a oraz równolegle na podłoże MacConkey'a z cefotaksymem (2 mg/L). Identyfikacji dokonywaliśmy przy użyciu testów API Rapid ID 32 E (bioMerieux). Szczepy wytwarzające ESBL i/lub cefalosporiny AmpC identyfikowaliśmy wstępnie przy zastosowaniu testu krążkowego D68C (Mast Diagnostica GmbH, Niemcy), i potwierdziliśmy techniką MIC, z użyciem testu Sensititre ESBL (Trek, USA). Obecność genów kodujących wytwarzanie ESBL i AmpC potwierdzaliśmy metodą PCR. Ogółem wyosobniliśmy 154 izolaty *E. coli*. 18 z nich (11,7%) fenotypowo zidentyfikowaliśmy jako ESBL+ i 7 (4,5%) jako AmpC+. Metodą PCR

potwierdziliśmy występowanie co najmniej jednego genu kodującego ESBL u 14 szczepów i AmpC u wszystkich 7 szczepów. 14 izolatów posiadało gen *bla*_{CTX}, 12 – *bla*_{SHV}, 7 – *bla*_{CMY-2}-*gropup* i 1 – *bla*_{TEM}. Wyniki przedstawiliśmy w pracach:

Bernard Wasiński, Hanna Róžańska, Jacek Osek: Occurrence of extended spectrum β -lactamase- and AmpC-producing *Escherichia coli* in meat samples. Bull Vet Inst Pulawy 2013, 57, 513-517.

Mój udział w pracy, który szacuję na **70%**, obejmował zaplanowanie, nadzorowanie i częściowe wykonanie badań, opracowanie wyników oraz przygotowanie piśmiennictwa i korektę manuskryptu.

Bernard Wasiński, Hanna Róžańska, Jacek Osek: Antimicrobial resistance of ESBL- and AmpC-producing *Escherichia coli* isolated from meat. Bull Vet Inst Pulawy 2014, 58, 567-571

Mój udział w pracy obejmował zaplanowanie, nadzorowanie i częściowe wykonanie badań, opracowanie wyników oraz przygotowanie piśmiennictwa i korektę publikacji. Oceniam go na **70%**.

Pałeczki z grupy *coli* stanowią jeden z najczęściej izolowanych czynników etiologicznych *mastitis* u krów mlecznych o różnym obrazie klinicznym. Zdolność tych bakterii do wytwarzania enzymów typu ESBL i AmpC znacząco utrudnia leczenie infekcji. Ponadto w stanach podklinicznych, kiedy nie występują objawy choroby, istnieje potencjalne ryzyko spożycia mleka zanieczyszczonego tymi bakteriami. Stąd wynikało nasze zainteresowanie występowaniem produkujących ESBL i AmpC *E. coli* w mleku mastitowym. Podobnych badań wcześniej w kraju nie prowadzono. Zbadaliśmy 650 próbek mleka i wydzieliny z gruczołu mlekowego krów. Badanie obejmowało przednamnażanie 10 ml próbki z 90 ml zbuforowanej wody peptonowej, następnie posiew do bulionu siarczynowo-laurylowo-tryptozowego (LST) i przesiew na podłoże agarowe MacConkey'a z cefotaksymem (2 mg/L). Identyfikacji typowych kolonii dokonywaliśmy przy użyciu testów API Rapid ID 32 E (bioMerieux). Szczepy wytwarzające ESBL i/lub cefalosporyny AmpC identyfikowaliśmy wstępnie przy zastosowaniu testu krążkowego D68C (Mast Diagnostica GmbH, Niemcy), i potwierdziliśmy techniką MIC, z użyciem testu Sensititre ESBL (Trek, USA). Ogółem 41 izolatów *E. coli* oceniliśmy na podstawie cech fenotypowych jako wytwarzające ESBL. U wszystkich stwierdziliśmy występowanie genu *bla*_{TEM}. Nie stwierdziliśmy występowania genów *bla*_{CTX}, *bla*_{SHV} i *bla*_{CMY-2}-*gropup*. Wyniki badań nad występowaniem *E. coli* wytwarzających ESBL i/lub AmpC w mleku mastitowym przedstawiliśmy w pracy:

Marcin Weiner, Hanna Róžańska, Maria Kubajka, Krzysztof Szulowski, Monika Krajewska, Bernard Wasiński: Occurrence and characterisation of MRSA and extended-spectrum β -lactamases producing *Escherichia coli* isolated from mastitic cow's milk. Bull Vet Inst Pulawy 2015, 59, 191-195.

Mój udział w pracy obejmował zebranie piśmiennictwa, zaplanowanie, nadzorowanie i częściowe wykonanie badań, opracowanie wyników, przygotowanie i korekta manuskryptu w zakresie *E. coli*. Oceniam go na **50%**.

Badania nad występowaniem *E. coli* oraz innych przedstawicieli *Enterobacteriaceae* wytwarzających beta-laktamazy o rozszerzonym spektrum substratowym są kontynuowane. Zakres badań poszerzyliśmy o karbapenemazy. Dotychczas nie stwierdziliśmy zdolności wytwarzania tych enzymów u izolowanych bakterii.

Pozostałe osiągnięcia naukowe po uzyskaniu stopnia doktora

Po obronie w 1999 roku pracy doktorskiej pt.: „Wpływ pozostałości antybiotyków na wyniki badań mikrobiologicznych mięsa” moje zainteresowania naukowe obejmowały kilka zasadniczych tematów. Pierwszym z nich było występowanie pozostałości substancji przeciwbakteryjnych w żywności zwierzęcego pochodzenia. Z ramienia Krajowego Laboratorium Referencyjnego ds. pozostałości substancji przeciwbakteryjnych (grupa B1) byłam odpowiedzialna za tworzenie i realizację krajowego programu badań kontrolnych obecności substancji niedozwolonych oraz pozostałości chemicznych, biologicznych i produktów leczniczych u zwierząt i w żywności zwierzęcego pochodzenia w zakresie metod skriningowych wykrywania substancji przeciwbakteryjnych. Dane zebrane w ramach realizacji tego programu na przestrzeni lat wskazują, że pozostałości substancji przeciwbakteryjnych, w tym antybiotyków, występują w polskiej żywności sporadycznie i nie stanowią realnego zagrożenia dla zdrowia konsumentów. Dane prezentowaliśmy w formie doniesień konferencyjnych oraz publikacji w czasopismach naukowych i popularno-naukowych:

1. **Róžańska H.:** Residues of antibiotics and other antibacterial substances in poultry meat and eggs in Poland . *Folia Vet* 2000, 44, 130-132
2. **Róžańska H.:** Pozostałości antybiotyków i innych substancji przeciwbakteryjnych w żywności zwierzęcego pochodzenia. *Pol J Human Nutr Met* 2000, 27 suppl., 287-289
3. **Róžańska H., Osek J., Posyniak A.:** Residues of antibacterial substances in animals and food of animal origin in Poland during the period 2005-2010. *Med. Weter* 2012, 68, 58-61
4. Gajda A. Posyniak A., Żmudzki J., **Róžańska H.:** Occurrence of tetracyclines in tissues and food of animal origin: causes and consequences. *Med. Weter* 2012, 68, 650-655
5. **Róžańska H., Niewiadowska A., Niedzielska J.:** Antybiotyki i inne substancje hamujące w mleku – postęp czy regres? *Przegląd Mleczarski* 2001, 5, 206-208
6. **Róžańska H.:** Pozostałości substancji hamujących w mleku – problem zdrowotny i ekonomiczny. *Przegląd Mleczarski* 2007, 4, 14-16
7. **Róžańska H., Skrzypiec E., Osek J.:** Pozostałości antybiotyków w żywności – ciągle aktualny problem. *Życie Wet* 2016, 91, 442-444
8. **Róžańska H., Osek J.:** Pozostałości leków weterynaryjnych i niektórych innych substancji u zwierząt i w produktach zwierzęcych w krajach UE w świetle raportu EFSA za 2014 r. *Życie Wet* 2016, 91, 841-845

Z badaniami nad występowaniem pozostałości substancji przeciwbakteryjnych w żywności zwierzęcego pochodzenia ściśle związane były prace nad ich farmakokinetyką oraz doskonaleniem metod wykrywania. Dużą rolę w tym zakresie odegrała współpraca z

Uniwersytetem Weterynaryjnym w Koszycach (Słowacja), w ramach której prowadziliśmy badania, których efekty opublikowaliśmy w szeregu prac:

1. Nagy J., Neuschl J., Sokol J., **Róžańska H.**, Popelka P., Turek P., Cabadaj R., Šutiak V.: Serum levels and oxytetracycline residues in milk after the administration of long acting preparations to ewes. Bull Vet Inst Pulawy 2000, 44, 259-266
2. Nagy J., Hajurka J., **Róžańska H.**, Popelka P., Sokol J., Cabadaj R., Hura V.: Tetracycline residues in cows milk after intrauterine administration. Bull Vet Inst Pulawy 2001, 45, 367-371
3. Kožarová I., Maté D., Cabadaj R., **Róžańska H.**, Hussein K., Laciaková A.: An evaluation of the microbiological diffusion methods as a tool for screening monensin residues in the tissues of broiler chickens. Folia Vet 2002, 46, 27-33
4. Hajurka J., Nagy J., Popelka P., **Róžańska H.**, Sokol J., Cabadaj R., Hura V.: Tetracycline concentrations in blood and milk of cows following intrauterine treatment of acute or subacute/chronic endometritis. Bull Vet Inst Pulawy 2003, 47, 435-447
5. Marcinčak S., Sokol J., Turek P., **Róžańska H.**, Dičáková Z., Maté D.: Comparative evaluation of analytical techniques to quantify malondialdehyde in broiler meat. Bull Vet Inst Pulawy 2003, 47, 491-496
6. Popelka P., Nagy J., Popelka P., Marcinčak S., **Róžańska H.**, Sokol J.: Comparison of sensitivity of various screening assays and liquid chromatography technique for penicillin residue detection in milk. Bull Vet Inst Pulawy 2004, 48, 273-276
7. Lohajová L., Nagy J., **Róžańska H.**, Popelka P., Jevinová P.: Suitability of STAR and PremiTest for the detection of amoxicillin residues in laying hens. Bull Vet Inst Pulawy 2006, 50, 367-371

Dla doskonalenia i ujednoczenia metod stosowanych w kraju do wykrywania pozostałości substancji przeciwbakteryjnych opracowaliśmy i wydaliśmy w formie instrukcji 3 metody mikrobiologiczne:

1. Wojtoń B., **Róžańska H.**: Jakościowa, mikrobiologiczna metoda wykrywania antybiotyków w tkankach zwierząt rzeźnych /test krążkowy/. Instrukcja Instytutu Weterynarii, 1986
2. **Róžańska H.**, Wojtoń B.: Mikrobiologiczna, dyfuzyjna metoda wykrywania pozostałości substancji hamujących w świeżym mięsie – 4-płytkowa. Instrukcja Instytutu Weterynarii, 1992
3. **Róžańska H.**, Osek J.: Instrukcja wykrywania pozostałości substancji przeciwbakteryjnych (Grupa B1) skrininową metodą mikrobiologiczną. Zatwierdzona przez Głównego Lekarza Weterynarii 21 lutego 2011 r GIWlab.800-14/11

Ponadto byłam autorką 5 procedur badawczych, które uzyskały akredytację Polskiego Centrum Akredytacji:

1. ZHZ/PB-01: Mikrobiologiczna, dyfuzyjna metoda wykrywania pozostałości substancji hamujących – „4-płytkowa”

2. ZHZ/PB-04: Wykrywanie pozostałości beta-laktamów i tetracyklin w mleku testem CHARM ROSA MRL BL/TET
3. ZHZ/PB-17: Mikrobiologiczna metoda wykrywania substancji przeciwbakteryjnych – Delvotest SP-NT
4. ZHZ/PB-24: Mikrobiologiczna, skринingowa metoda wykrywania pozostałości substancji przeciwbakteryjnych
5. ZHZ/PB-37: Wykrywanie pozostałości antybiotyków w mleku testem 4Sensor

W ramach pracy Krajowego Laboratorium Referencyjnego opiniowałam niemal wszystkie komercyjne testy przeznaczone do wykrywania pozostałości substancji przeciwbakteryjnych w mleku. Wykaz opinii przedstawiłam w załączniku nr 2 do niniejszego autoreferatu. Szybkie metody wykrywania pozostałości substancji hamujących w mleku przedstawiłam też w pracach:

1. **Róžańska H.**: Szybkie metody wykrywania substancji przeciwbakteryjnych w mleku. Przegląd Mleczarski 2010, 10, 18-21
2. **Róžańska H.**, Lewtak-Piłat A.: Metody przesiewowe wykrywania pozostałości antybiotyków w żywności. Życie Wet 2011, 86, 59-61

Kolejny obszar moich zainteresowań stanowiła jakość polskiego miodu, w tym jakość mikrobiologiczna i czynniki na nią wpływające. Nasze badania wykazały, że w miodzie mogą przeżywać długi czas drobnoustroje tlenowe, a beztlenowe laseczki przetrwalnikujące, które występują w relatywnie wysokiej liczbie, mogą namnażać się w trakcie przechowywania. Może to stanowić potencjalne zagrożenie dla konsumentów miodu, zwłaszcza dla dzieci. Zrozumiałe więc są zalecenia dotyczące niepodawania miodu małym dzieciom. Wyniki badań opublikowaliśmy w pracach:

1. **Róžańska H.**: Microbiological quality of Polish honey. Bull Vet Inst Pulawy 2011, 55, 443-445
2. **Róžańska H.**, Osek J.: Effect of storage on microbiological quality of honey. Bull Vet Inst Pulawy 2012, 56, 161-163

Podjęliśmy także badania nad występowaniem substancji przeciwbakteryjnych w małżach dwuskorupkowych. Badania wykazały, że w zależności od gatunku małży substancje o działaniu przeciwbakteryjnym występują w kilku – kilkunastu procentach próbek. Analizy wykonane przy zastosowaniu chromatografii cieczowej ze spektrometrią mas nie wykazały jednak obecności żadnego ze znanych antybiotyków. Na tej podstawie należy sądzić, że wykrywaliśmy obecność naturalnych inhibitorów w tkankach małży. Wyniki opublikowaliśmy w pracy:

Róžańska H., Michalski M., Osek J.: Antibacterial activity of tissues of bivalve molluscs available on Polish market. Bull Vet Inst Pulawy 2012, 56, 569-571

oraz jako rozdział w **monografii**:

Małże jako źródło zagrożeń mikrobiologicznych, red. J. Osek, PIwet-PIB, Puławy, 2013

Bardzo interesujące dla mnie były badania prowadzone we współpracy z Warszawskim Uniwersytetem Medycznym, których celem było oznaczenie stężeń amoksycyliny po podaniu tego antybiotyku kobietom poddawanym zabiegowi cesarskiego cięcia. Stężenie antybiotyku, podawanego doustnie, dożylnie lub dopochwowo oznaczaliśmy we krwi matki, w łożysku, we krwi płodu i w płynie owodniowym. W badaniach stosowaliśmy opracowaną przez nas i zwalidowaną metodę mikrobiologiczną z wykorzystaniem *Bacillus stearothermophilus* jako szczepu testowego. Metoda charakteryzowała się bardzo wysoką czułością dla amoksycyliny. Wyniki były podstawą do przygotowania dysertacji doktorskiej. Zostały też opublikowane w czterech pracach, których byłam współautorką:

1. Zaręba-Szczudlik J., Czajkowski K., **Róžańska H.**, Romejko-Wolniewicz E.: Ocena penetracji amoksycyliny do płynu owodniowego, łożyska oraz krwi płodu. *Ginekologia i Położnictwo*, 2008, 3, 9-17
2. Zaręba-Szczudlik J., Romejko-Wolniewicz E., Lewandowski Z., **Róžańska H.**, Czajkowski K.: Concentration of amoxicillin in maternal serum, cord blood, amniotic fluid and the placenta after vaginal administration. *J Matern-Fetal Neo M* 2015, 28, 2048-2052
3. Zaręba-Szczudlik J., Romejko-Wolniewicz E., Lewandowski Z., **Róžańska H.**, Malinowska-Polubiec A., Dobrowolska-Redo A., Wilczyński J., Czajkowski K.: Evaluation of the amoxicillin concentrations in amniotic fluid, placenta, umbilical cord blood and maternal serum two hours after intravenous administration. *Neuro Endocrinology Letters* 2016, 37, 403-409
4. Zaręba-Szczudlik J., Romejko-Wolniewicz E., Lewandowski Z., **Róžańska H.**, Malinowska-Polubiec A., Dobrowolska-Redo A., Wilczyński J., Czajkowski K.: Evaluation of the amoxicillin concentrations in amniotic fluid, placenta, umbilical cord blood and maternal serum two hours after oral administration. *Neuro Endocrinology Letters* 2017, 38, 502-508

W kolejnych latach pracy prowadziłam lub współprowadziłam także badania dotyczące zagrożeń związanych z jakością mikrobiologiczną żywności, których wyniki prezentowałam w formie doniesień oraz w formie publikacji:

1. Burdová O., Baranová M., Lauková A., **Róžańska H.**, Rola J.G.: Hygiene of pasteurized milk depending on psychotropic bacteria. *Bull Vet Inst Puławy* 2002, 46, 325-329
2. Domańska K., **Róžańska H.**: Microbiological quality of Polish edible offals processed meat products during storage. *Bull Vet Inst Puławy* 2003, 47, 217-223
3. **Róžańska H.**: Jakość mleka surowego dostarczanego do punktów skupu w wybranych regionach Polski w latach 1998-2000. *Przegląd Mleczarski* 2001, 4, 156-158

W swoim dorobku posiadam również recenzje przygotowywane dla uznanych czasopism naukowych:

1. An investigation of the presence of some vegetative and spore forming bacteria in honey samples. *Journal of Biological Research – Thessaloniki*, 2013
2. High prevalence of *Clostridium botulinum* spores in honey from semi-professional apiaries in Poland: qualitative and quantitative evaluation. *Journal of Apicultural Sciences*, 2014
3. Evaluation of hygienic-sanitary quality of honey from *Apis mellifera L.* obtained in semi arid region of Piaui, Brazil. *African Journal of Microbiology Research*, 2015
4. Drug residues in goat's milk after to the prophylactic use of antibiotics in intravaginal sponges for estrus synchronizaton. *Journal of Dairy Science*, 2015
5. Elisa validation and determination of cut-off level for chloramphenicol residues in honey. *Bulletin of Veterinary Institute Pulawy*, 2015

V. **Udział w projektach badawczych**

Uczestniczyłam jako koordynator lub współwykonawca w realizacji 8 projektów badawczych:

1. Projekt badawczy – grant promotorski: Wpływ pozostałości antybiotyków na wyniki badań mikrobiologicznych mięsa. 5 PO6K 042 12 (Umowa Nr 608/PO6/97/12)
2. Projekt celowy zamawiany Nr PCZ 014-26: Doskonalenie metod wykrywania oraz ocena zagrożeń w zakresie chorób odzwierzęcych i skażeń żywności – 2003
3. Badania monitoringowe nad jakością gleb, roślin, produktów rolniczych i spożywczych. Ministerstwo Rolnictwa i Gospodarki Żywnościowej, Państwowa Inspekcja Skupu i Przetwórstwa Artykułów Rolnych – Główny inspektorat, Rada Monitoringu Jakości Gleb, Roślin, Produktów Rolniczych i Spożywczych – 1997-2001
4. Narodowy Program Ochrony Antybiotyków „Chrońmy antybiotyki” – 2005 – 2010. Podzespół: Monitorowanie oporności – patogeny człowieka i zwierzęce”
5. European Antimicrobial Susceptibility Surveillance in Animals – IV (EASSA IV). CEESA, the Executive Animal Health Study Center – 2013 – 2014
6. Monitorowanie oporności izolowanych z próbek mięsa w obrocie szczepów *Escherichia coli* wytwarzających ESBL, AmpC i karbapenemazy, uzyskanych w ramach badań określonych w Decyzji Wykonawczej Komisji Nr 2013/652/UE z dnia 12 listopada 2013 r. 2015 –
7. Krajowy program badań kontrolnych obecności substancji niedozwolonych oraz pozostałości chemicznych, biologicznych i produktów leczniczych u zwierząt i w

żywności pochodzenia zwierzęcego – opracowywanie planów, wykonywanie badań, ocena wyników badań – 1985 –

8. European Antimicrobial Susceptibility Surveillance in Animals – V (EASSA V). CEESA, the Executive Animal Health Study Center – 2016 – 2017

Sumaryczne zestawienie dorobku naukowego i zawodowego

Sumaryczny impact factor	10,495	
Liczba cytowań wg Web of Science	221	bez autocytowań 212
H – index	7	
Liczba pkt ogółem – po doktoracie	394	
Promotorstwo pomocnicze	1	
Prace przeglądowe	21	
<i>W tym po doktoracie</i>	13	
Prace doświadczalne	39	
<i>W tym po doktoracie</i>	29	
Doniesienia na konferencje międzynarodowe	36	
Doniesienia na konferencje krajowe	52	
Współautorstwo rozdziałów w monografii	17	
Instrukcje laboratoryjne	3	
Procedury badawcze	6	
Współorganizacja konferencji naukowych	5	
Nagrody	3	
Opinie i raporty	65	
Recenzje	5	
Przynależność do organizacji	2	
Projekty badawcze	8	
Staże i szkolenia krajowe i zagraniczne	28	

VI. Szczegółowy wykaz dorobku naukowo-badawczego

Załącznik Nr 1

VII. Dorobek dydaktyczno-popularyzatorski

Załącznik Nr 2