

**Joanna Bigos**

*Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy  
w Puławach*

PROBLEMATYKA DOTYCZĄCA ZAKAŻEŃ BAKTERIAMI Z RODZAJU  
*SALMONELLA* WYSTĘPUJĄCYCH W ROLNICTWIE\*

**Słowa kluczowe:** nawozy naturalne, pasza, produkcja zwierzęca, *Salmonella*

---

**Wstęp**

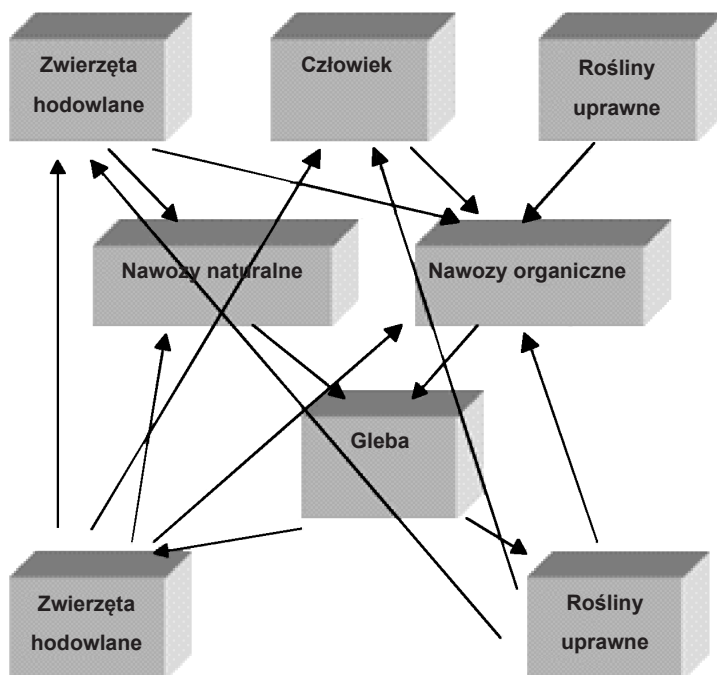
Jednym z istotnych problemów rolnictwa, obok skażenia gleb czy produktów rolnych substancjami chemicznymi, są zakażenia biologiczne, w tym wirusowe, grzybicze i bakteryjne, mogące pojawić się na każdym z etapów produkcji roślinnej oraz zwierzęcej.

Wystąpienie infekcji patogennymi mikroorganizmami na dużą skalę, oprócz zagrożenia sanitarno-epidemiologicznego, może przynieść ogromne straty ekonomiczne. Ze względu na fakt, iż rolnictwo stanowi dużą część gospodarki kraju, problemy występujące w produkcji roślinnej czy zwierzęcej mogą przyczynić się do zachwiania równowagi finansowej państwa.

Zakażenie chorobotwórczymi szczepami bakterii na którymkolwiek z poziomów przemysłu rolniczego stanowi poważne zagrożenie ze względu na możliwość przeniesienia kontaminacji na kolejny szczebel produkcji. Sytuacja zaniechania eliminacji patogenów w procesach obróbki produktów rolnych bądź zaniechania ich zwalczania wśród zwierząt hodowlanych doprowadziłaby do „zamkniętego koła zakażeń” (rys. 1). Dodatkowo istnieje wiele czynników zewnętrznych przyczyniających się do rekonaminacji produktów już po procesach higienizacji.

---

\* Opracowanie wykonano w ramach zadania 1.5 w programie wieloletnim IUNG-PIB.



Rys. 1. Schemat przedstawiający „zamknięte koło zakażeń” chorobotwórczymi bakteriami na różnych poziomach produkcji rolnej

W obrębie bakterii stanowiących szczególne zagrożenie epidemiologiczne wobec ludzi i zwierząt na uwagę zasługują pałeczki *Salmonella*, charakteryzujące się stosunkowo wysokim poziomem chorobotwórczości oraz szerokim zakresem gospodarzy i nosicieli. Duże znaczenie ma także zdolność tych mikroorganizmów do długotrwałej przeżywalności poza środowiskiem naturalnego bytowania oraz do zachowania przez ten okres zdolności do infekcji.

Wymienione cechy, które można przypisać pałeczkom *Salmonella*, przyczyniły się do wytypowania tych bakterii na organizm wskaźnikowy dla stanu sanitarnego gleby, zwierząt, nawozów i innych produktów rolnych, a ich dopuszczalny poziom w poszczególnych materiałach ustalają normy prawne.

Celem pracy był przegląd dostępnych danych, traktujących o obecności zakażeń bakteriami *Salmonella* na różnych poziomach produkcji rolnej, o przyczynach i skutkach ich występowania, regulacjach prawnych dopuszczenia produktów rolnych do obrotu w kontekście obecności pałeczek *Salmonella* oraz o sposobach eliminacji tych patogenów.

## Ogólna charakterystyka bakterii z rodzaju *Salmonella*

Domena:	Prokariota
Królestwo:	Bakterie
Typ:	Protobakterie
Klasa:	Gammaprotobakterie
Rząd:	<i>Enterobacteriales</i>
Rodzina:	<i>Enterobacteriaceae</i>
Rodzaj:	<i>Salmonella</i>

Bakterie *Salmonella* są Gram-ujemnymi pałeczkami wielkości 0,7-1,5 x 2-5  $\mu\text{m}$ , poruszającymi się za pomocą wici. Należą do fakultatywnych beztlenowców, chemoorganotrofów, prowadzących metabolizm tlenowy oraz procesy fermentacyjne. Optymalna temperatura dla ich rozwoju wynosi 37°C. *Salmonella* są bakteriami oksydazo-ujemnymi oraz katalazo-dodatnimi. Produkują siarkowodór, nie hydrolizują mocznika (21). Rosną na podłożu KCN (podłoże Moellera), które jest wybiórczą pożywką stosowaną do sprawdzenia czy mikroorganizm wykazuje wzrost w obecności cyjanku potasu. W skład podłoża wchodzi: pepton, chlorek sodu, fosforan potasu i sodu, cyjanek potasu oraz woda destylowana (28).

Bakterie rodzaju *Salmonella* są chorobotwórcze dla człowieka oraz dla wielu gatunków zwierząt stałocieplnych. Najczęściej powodują zatrucia ograniczone do układu pokarmowego, natomiast w sprzyjających warunkach zdolne są do wywołania salmonellozy narządowej (ropnie, zapalenie stawów, zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych) bądź uogólnionej infekcji organizmu gospodarza (posocznica). Rzadko występują zakażenia bezobjawowe, gdzie zainfekowany organizm jest nosicielem pałeczek *Salmonella*, które wydalane są z kałem (30; 42; 10).

Objawy infekcji bakteriami *Salmonella*, w postaci bólu głowy, bólu brzucha, biegunki i wymiotów, występują po 6-8 godzinach od wniknięcia patogenów do organizmu. Osobami najbardziej narażonymi na ostry przebieg infekcji są dzieci poniżej pierwszego roku życia oraz dorośli powyżej 60 roku życia. Zakażenie następuje drogą pokarmową. W zdecydowanej większości przypadków źródłem infekcji jest spożycie skażonej żywności (10). Najbardziej popularnymi źródłami salmonellozy są: wołowina, drób oraz jaja, jednak rezerwuarem bakterii *Salmonella* są również: gleba, osady ściekowe, woda, powietrze (30). Zdarzają się również sytuacje, kiedy do zakażenia dochodzi na drodze „człowiek-człowiek” bądź „zwierzę-człowiek” (10).

Wyniki przeprowadzonych badań wskazują, iż liczba omawianych bakterii konieczna do wywołania infekcji wynosi  $10^5$ - $10^{10}$ . Liczba ta nie jest stała, zależy bowiem od szczepu bakterii oraz kondycji fizjologicznej organizmu żywiciela. Natomiast wysokie stężenie mikroorganizmów jest niezbędne do zwalczania kwaśnego środowiska panującego w żołądku oraz do współzawodnictwa z naturalną mikroflorą jelita gospodarza (10).

Skuteczna infekcja bakteriami *Salmonella* wymaga skoordynowanej ekspresji genów kodujących czynniki wirulencji, które umożliwiają inwazję organizmu gospodarza oraz uniknięcie jego układu odpornościowego. *Salmonella* wywołują odpowiedź immunologiczną. Indukcja uogólnionego zakażenia wynika ze zdolności *Salmonella* do przeżycia oraz namnażania się w makrofagach, wraz z którymi bakterie te roznoszone są po całym organizmie żywiciela (42).

Znaczny wzrost liczby zakażeń bakteriami *Salmonella* u ludzi, notowany w ciągu ostatnich dwudziestu lat, ma związek z nagminnymi zaniedbaniami podczas procesu obróbki i obrotu żywności pochodzenia zwierzęcego, ale także z niedostatecznym zachowaniem higieny w przypadku produkcji i obrotu pasz (33). Sytuacja ta niesie za sobą poważne konsekwencje zdrowotne oraz ekonomiczne. Według Raportu Europejskiego Urzędu do spraw Bezpieczeństwa Żywności z 2008 roku, salmonelloza w krajach członkowskich Unii Europejskiej jest drugą pod względem liczby potwierdzonych przypadków infekcji chorobą odzwierzęcą (44). O zagrożeniu jakie stanowią bakterie *Salmonella* świadczy również fakt ich widnienia na liście mikroorganizmów wykorzystanych w postaci broni biologicznej przez grupy bioterrorystyczne (27).

### ***Salmonella* jako problem w produkcji zwierzęcej**

Głównym źródłem salmonellozy wśród ludzi jest spożycie pokarmu pochodzenia zwierzęcego, szczególnie drobiu, który jest przodującym rezerwuarem pałeczek *Salmonella*.

Niektóre spośród serotypów pałeczek *Salmonella* zakażają w sposób specyficzny tylko jednego gospodarza. Należą do nich m.in. *S. Dublin* – chorobotwórcza dla bydła, *S. Choleraesuis* – zakażająca trzodę chlewną oraz *S. Gallinarum* i *S. Pullorum* – odpowiedzialne za infekcje wśród drobiu. Inne, przede wszystkim *S. Enteritidis* i *S. Typhimurium*, są chorobotwórcze dla różnych zwierząt stałocieplnych jak również dla człowieka. Właśnie te dwa serotypy *Salmonella* wydają się być najbardziej znaczące w zakażeniach pokarmowych (34; 30). Według niektórych autorów wszystkie serotypy *Salmonella* należy uznać za potencjalnie chorobotwórcze dla człowieka i zwierząt (7).

### **Czynniki odpowiedzialne za wzrost liczby zachorowań wśród zwierząt gospodarskich**

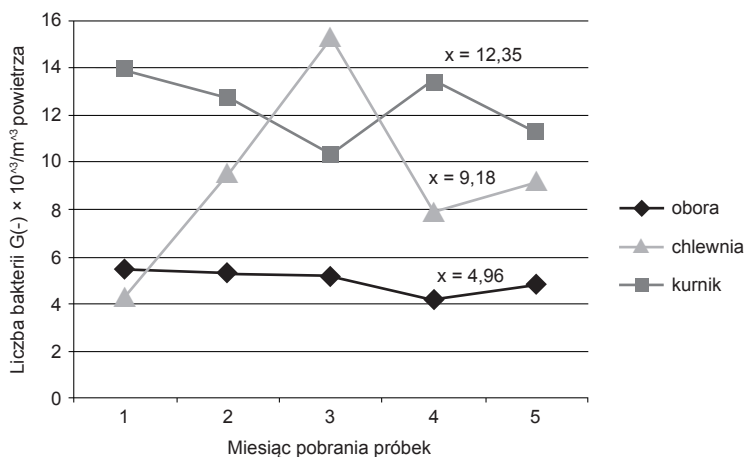
Jak podaje Krajowy Program zwalczania niektórych serotypów *Salmonella* w stadach brojlerów gatunku kura (*Gallus gallus*) wdrożony w 2009 roku, z analiz prowadzonych na terenie Polski w latach 2005-2006, dotyczących 383 gospodarstw posiadających powyżej 5000 brojlerów gatunku kura wynika, że procent stad hodowlanych zakażonych pałeczkami *Salmonella* wynosił 58,7 (od 37,5% w województwie podlaskim do 77,3% w województwie lubelskim). Ok 56% infekcji *Salmonella* powoduje *S. Enteritidis* (50). Szczep ten jest szczególnie niebezpieczny ze względu na zdolność zakażenia jajników. Skutkuje to przedo-

staniem się patogenów do jaj, z których infekcja przenoszona jest na pisklęta, a te z kolei są źródłem infekcji jaj i produktów jajecznych (30).

Za wzrost liczby zakażeń bakteriami *Salmonella* odpowiedzialna jest między innymi intensyfikacja hodowli zwierząt. Na małym obszarze gromadzona jest zbyt duża liczba osobników, co sprzyja obniżeniu odporności organizmu oraz zakażeniom krzyżowym (38).

Kolejną przyczyną zakażeń wśród zwierząt hodowlanych jest niepełne odizolowanie miejsca hodowli od środowiska zewnętrznego, co umożliwia ich kontakt ze zwierzętami dziko żyjącymi będącymi nosicielami *Salmonella* (ptaki, lisy, gryzonie) (38). Wrotami dostępu chorobotwórczych bakterii do pomieszczeń gospodarskich jest również wymiana powietrza poprzez kanały wentylacyjne (16).

Istotnym czynnikiem wpływającym na szerzenie się infekcji wśród zwierząt jest stan sanitarny miejsca ich hodowli. Badania prowadzone w pomieszczeniach gospodarczych przeznaczonych dla różnych gatunków zwierząt wskazują na obecność najwyższej liczby Gram-ujemnych drobnoustrojów w kurnikach (rys. 2.); (3).



Rys. 2. Liczebność bakterii G(-) w powietrzu różnych pomieszczeń gospodarskich (litera x wyraża wartość średnią), na podst. Bakutis i in., 2004 (3)

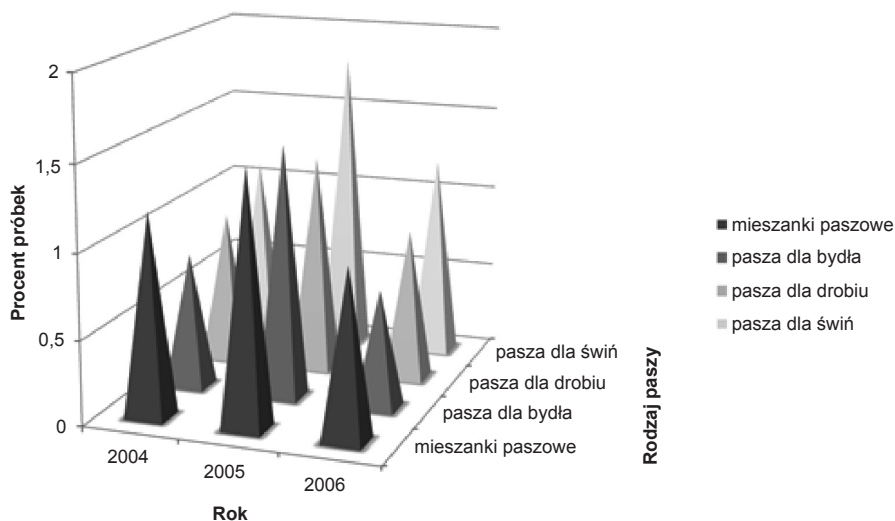
Doświadczenia wykonywane w pomieszczeniach drobiarskich sugerują, że na liczebność i aktywność mikroorganizmów mają wpływ takie czynniki jak temperatura, wilgotność, pH i okres użytkowania ściółki, a także właściwości fizykochemiczne powietrza (19; 60). Monitoring stanu sanitarnego ściółki (którą stanowiła cięta słoma) podczas pięciu tygodni odchowu kurcząt, prowadzony przez Witkowską i in. pozwolił na stwierdzenie najwyższego stężenia drobnoustrojów pod koniec odchowu. Miało to związek z nagromadzeniem ptasich odchodów i ze zmianami właściwości podłoża (m.in. wilgotności względnej, pH, stężenia amoniaku); (60). Wśród drobn-

ustrojów bytujących w kurnikach najczęściej stwierdza się obecność bakterii z rodzaju *Salmonella*, *Pseudomonas*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Micrococcus* i *Corynebacterium*, w obrębie których występują szczepy chorobotwórcze (16). Nieodpowiedni stan sanitarny pomieszczeń dla zwierząt gospodarskich stwarza zagrożenie środowiskowe i epidemiologiczne, dlatego ważny aspekt stanowi sprawny monitoring oraz ograniczenie występowania bakterii w środowisku bytowania zwierząt. Należy zwrócić uwagę na fakt, iż u zwierząt zakażenie bakteriami *Salmonella* bywa bezobjawowe, kiedy to występuje jedynie nosicielstwo, a patogeny wydalane są wraz z kałem stanowiącym źródło kolejnych zakażeń (30). Brak widocznych objawów choroby może być przyczyną zaniedbania ze strony hodowcy.

Jednak głównym czynnikiem mającym wpływ na powszechne występowanie bakterii *Salmonella* wśród zwierząt gospodarskich jest jakość mikrobiologiczna wody i pasz.

### Pasza jako wektor zakażeń *Salmonella*

Znaczenie pasz jako źródła *Salmonella* wydaje się być istotne ze względu na częstotliwość wykrywania w nich tych drobnoustrojów oraz obecny poziom ich produkcji (33). Wielkość przemysłowej produkcji pasz w Polsce oscyluje w granicach 5-8 mln ton rocznie. Biorąc pod uwagę pasze wytwarzane przez hodowców, łączna masa produkowanych pasz wzrasta do 16 mln ton rocznie (32). Według badań przeprowadzonych w latach 2004-2006 przez Kwiatek i in., poziom produktów paszowych zanieczyszczonych pałeczkami *Salmonella* wynosił 0-1,8% (rys. 3); (33).



Rys. 3. Częstotliwość występowania bakterii z rodzaju *Salmonella* w różnych rodzajach paszy. Do badań pobrano: 8539 próbek w 2004 roku, 6915 próbek w 2005 roku i 8819 próbek w 2006 roku (na podst. Kwiatek i in., 2008 (33); zmodyfikowano)

Bakterie *Salmonella* zakażające rośliny i ziarno mają bezpośredni wpływ na infekcje wśród zwierząt (36). Istnieją doniesienia o udowodnionych zakażeniach występujących wśród zwierząt hodowlanych po spożyciu pokarmu będącego rezerwuarem *Salmonella*. Obecność *S. Mbandaka* została stwierdzona u bydła po spożyciu zainfekowanej paszy złożonej z tłuszczów roślinnych, ziaren i słomy (25). Również wśród brojlerów kurzych obserwowano zwiększoną śmiertelność po spożyciu przez nie zakażonego ziarna (2).

Według Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady nr 2160/2003 kraje członkowskie UE mają obowiązek zwalczania bakterii *Salmonella* u zwierząt, w paszach i żywności pochodzenia zwierzęcego (46). Natomiast Krajowy Plan Kontroli Pasz wdrożony w 2007 roku nakłada obowiązek regularnej inspekcji w kierunku *Salmonella* (5). Według obecnych kryteriów oceny jakości, nie dopuszcza się obecności pałeczek *Salmonella* w 25 g paszy (46).

Ryzyko kontaminacji pasz występuje podczas wzrostu i zbiorów roślin, ich obróbki oraz przechowywania (36). Jak podaje Zielińska i in., źródłem zakażenia pasz, których 50-100% składu stanowią trwałe użytki zielone, jest nawożenie runi łąkowej nawozami organicznymi (obornik, gnojówka, gnojowica), które podnoszą walory smakowe i pokarmowe paszy, są jednak niebezpieczne ze względu na wysoką aktywność mikrobiologiczną (64).

Wzbogacenie wartości żywnościowych, walorów smakowych, czy strawności paszy może również mieć miejsce po etapie zbioru roślin. W tym celu substraty paszowe poddawane są procesom fizycznym i chemicznym (38; 36). Ważnym z punktu ekonomicznego procesem jest granulacja pasz, zmniejszająca ich objętość i koszty przechowywania. Procesy hydrotermiczne występujące podczas granulacji, przy okazji pozwalają na eliminację pałeczek *Salmonella* (24; 56). Według wyników badań prowadzonych przez Jones i in., po procesie granulacji następuje 82% redukcja liczebności *Salmonella* (24). Wyniki badań uzyskane przez innych naukowców wykazały, że pasza dla drobiu rozdrabniana przez hodowców była dużo częściej zakażona pałeczkami *Salmonella* (21%) w porównaniu do paszy granulowanej (1,4%); (56). Niestety istotną kwestią jest rekontaminacja paszy podczas procesów następujących już po granulacji, a mianowicie w trakcie mieszania, transportu czy składowania. Whyte i in. donoszą o zakażeniu bakteriami *Salmonella* 33,3% przebadanych próbek pyłu pobranych z mieszalni pasz oraz 57,1% próbek pochodzących z pojazdów transportujących (58). Duże zagrożenie podczas przechowywania paszy stwarza możliwość dostępu do produktów żywnościowych dziko żyjących organizmów zwierzęcych będących nosicielami *Salmonella*. Wśród ssaków należą do nich m.in.: szczury, myszy, nietoperze (36). W grupie nosicieli nie należących do gromady ssaków można wyróżnić ropuchy, żaby, jaszczurki i ptaki (13; 26). Ryzyko infekcji produktów żywnościowych stanowią również owady, w szczególności karaluchy (36; 13). Natomiast dla zdolności bakterii do przeżywalności w przechowywanej paszy duże znaczenie ma temperatura, wilgotność, odczyn środowiska (59; 36) oraz różne źródła

i różne stężenia białka (17). W temperaturze 25°C pałeczki *Salmonella* są zdolne do przeżycia 16 miesięcy, natomiast w temperaturze 11°C co najmniej 18 miesięcy (59). Jeżeli chodzi o wilgotność to podwyższenie jej poziomu negatywnie wpływa na przeżywalność *Salmonella* poza zakresem wartości optymalnym dla wzrostu tych bakterii (36). Natomiast zakwaszanie pasz poprzez wprowadzanie preparatów zawierających szczepy bakterii fermentacji mlekowej (kiszanie pasz) hamuje rozwój mikroorganizmów patogennych, w tym *Salmonella* (16).

Jeżeli chodzi o obróbkę paszy, udowodniono, że ma ona również pośredni wpływ na zdolność bakterii *Salmonella* do przeżycia w przewodach pokarmowych zwierząt. M i k k e l s e n i in., na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzili, że granulacja paszy ma znaczenie dla możliwości rozmnażania *S. Typhimurium* w przewodzie pokarmowym świń. Według badaczy, znaczne rozdrobnienie paszy sprzyja przeżywalności *Salmonella* w porównaniu do granulatu o większych rozmiarach cząstek (37).

W celu ograniczenia szczyrzenia się salmonellozy wśród zwierząt i zoonozy wśród ludzi narażonych na kontakt z produktami żywnościowymi pochodzenia zwierzęcego należy usprawnić procesy monitoringu kontaminacji paszy oraz pomieszczeń gospodarczych, a także infekcji wśród zwierząt hodowlanych. Ważne jest również usprawnianie metod detekcji patogenów.

### ***Salmonella* w nawozach naturalnych**

Celem stosowania nawozów jest dostarczenie roślinom niezbędnych substancji pokarmowych, bądź poprawa żyzności gleb. Źródłem nawozów naturalnych są odchody zwierząt gospodarskich. Obok nich wyróżnia się także nawozy organiczne, których podstawą produkcji są substancje organiczne, pozyskiwane z odpadów pochodzenia roślinnego (liście, trawy, trociny) i zwierzęcego (mocz, kał), kompostów, wermikompostów oraz osadów ściekowych, będących ubocznym produktem oczyszczania ścieków. Stosowanie nawozów organicznych w rolnictwie, szczególnie tych bazujących na osadach ściekowych, stanowi poważne zagrożenie dla środowiska oraz dla zdrowia ludzi i zwierząt (55).

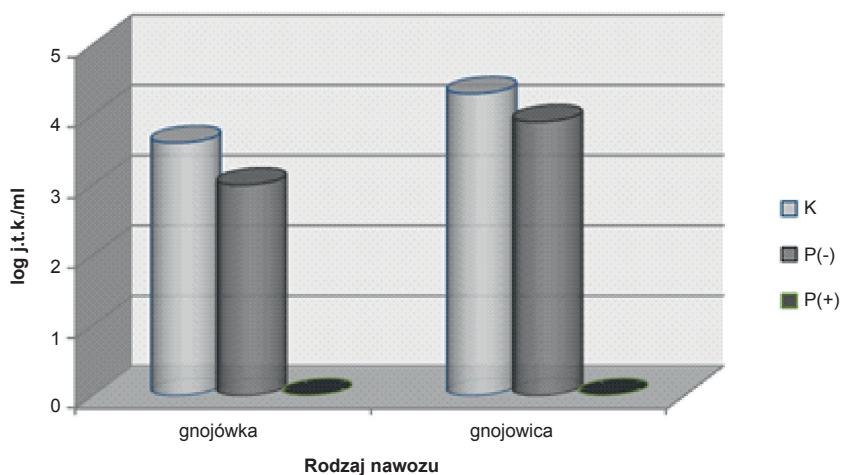
#### **Problematyka występowania *Salmonella* w nawozach naturalnych pochodzenia zwierzęcego**

Nawozy naturalne, w tym gnojówka, gnojowica i obornik są doskonałym źródłem wzbogacania produkcji roślinnej, szczególnie w gospodarstwach ekologicznych. Wśród zalet ich stosowania można wymienić: poprawę żyzności i struktury gleby, dostarczanie składników odżywczych niezbędnych dla roślin, zwiększenie zawartości substancji organicznej w glebie czy buforowanie odczynu gleby (23). Jest to także łatwo dostępny sposób zagospodarowania odchodów zwierząt. Jednak stosowanie wyżej wymienionych nawozów stanowi pewne zagrożenie ze względu na wysoką aktywność biologiczną (11). Mogą być one źródłem mikroorganizmów saprofitycz-

nych jak również patogennych bakterii, grzybów, wirusów, a także jaj pasożytów. Niewłaściwe metody higienizacji nawozów organicznych mogą prowadzić do zakażenia gleb, roślin uprawnych, a w konsekwencji mogą stać się źródłem zagrożenia epidemiologicznego dla ludzi i zwierząt (1). Wysoce prawdopodobna jest sytuacja zakażenia bakteriami fekalnymi zielonek przeznaczonych na pasze, pochodzących z gleb nawożonych nie do końca przefermentowaną gnojówką bądź gnojowicą. Ryzyko stanowią szczególnie nawozy pochodzące od zwierząt chorych, w tym bezobjawowo (20). Jak podaje Zielińska i in., w próbkach runi łąkowej, którą zbierano z użytków zielonych nawożonych gnojówką, lub gnojowicą, wykrywano bakterie z rodzaju *Salmonella*, podczas gdy ich obecności nie stwierdzano w przypadkach użytków nienawożonych (64).

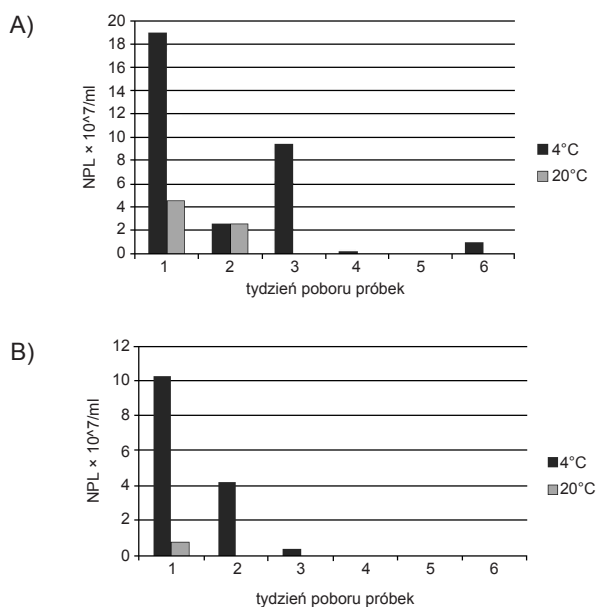
Według Rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi w sprawie wykonania niektórych przepisów ustawy o nawozach i nawożeniu, w nawozach organicznych i organiczno-mineralnych nie mogą występować bakterie z rodzaju *Salmonella* (47).

Jednym ze sposobów eliminacji bakterii *Salmonella*, zarówno z gnojówki, jak i gnojowicy, jest stosowanie preparatów zawierających szczepy bakterii fermentacji mlekowej. Według Zielińskiej i in., dziesięciodniowa inkubacja nawozu pochodzącego od bydła z kulturą starterową bakterii *Lactobacillus* (według wytycznych Rozporządzenia Rady WE nr 834/2007 wyizolowanych ze środowiska naturalnego (49) w temperaturze pokojowej pozwala na zupełne usunięcie pałeczek *Salmonella* (64); (rys. 4). Wzrost patogenów hamowany jest prawdopodobnie poprzez produkcję przez bakterie fermentacji mlekowej specyficznych metabolitów (m.in.: bakteriocyn, kwasu mlekowego, reuteryny); (16).



Rys. 4. Wpływ preparatu zawierającego bakterie fermentacji mlekowej na liczebność bakterii z rodzaju *Salmonella* w nawozach organicznych po okresie 10-dniowej inkubacji (K – próba kontrolna, P(-) – inkubacja bez dodatku preparatu, P(+) – inkubacja z dodatkiem preparatu; na podst. Zielińska i in., 2011, zmodyfikowano (64)

Na przeżywalność bakterii z rodzaju *Salmonella* w nawozach organicznych mają również wpływ warunki fizykochemiczne ich przechowywania. Wyniki badań prowadzonych nad wpływem temperatury składowania nawozów na liczebność bakterii różnych serotypów *Salmonella* wskazują wzrost ograniczenia ich rozmnażania wraz z podwyższeniem temperatury środowiska ich bytowania (rys. 5.); (52; 1; 43). Według Szejn i in., teoretyczny średni okres przeżycia pałeczek *Salmonella* Enteritidis w gnojowicy świńskiej składowanej w temperaturze 4°C wynosi 10,7 tygodni, natomiast w temperaturze 20°C czas ten nie przekracza 4,5 tygodnia (52). Z kolei Arrus i in. wykazali, iż redukcja *Salmonella* o 1 log w 37°C trwa 2 dni, w 25°C – 20 dni, natomiast w 4°C – 60 dni (1).



Rys. 5. Zmiany liczebności pałeczek *Salmonella* Typhimurium (A) i *Salmonella* Enteritidis (B) w trakcie składowania gnojowicy świńskiej w 4°C i 20°C (na podst. Olszewska i Skowron, 2013 (A) (43); Szejn i in., 2011 (B); zmodyfikowano (52).

Znacznie krótszy okres przeżywalności pałeczek *Salmonella* w nawozie organicznym przechowywanym w temperaturze 20°C w porównaniu do gnojowicy składowanej w temperaturze 4°C najprawdopodobniej jest wynikiem antagonistycznego działania wobec bakterii chorobotwórczych naturalnych mikroorganizmów, których wzmożony rozwój występuje w wyższej temperaturze (6). Patogenne bakterie przegrywają w tej sytuacji podczas rywalizacji o środowisko do życia oraz substancje pokarmowe.

## **Rolnicze wykorzystanie osadów ściekowych będących potencjalnym źródłem bakterii *Salmonella***

Alternatywą dla nawozów naturalnych pochodzenia zwierzęcego może być wykorzystanie jako nawozu substancji organicznych znajdujących się w osadach ściekowych, będących produktem ubocznym w procesie oczyszczania ścieków (53). Stosowanie unieszkodliwionych osadów ściekowych w formie nawozu jest aspektem budzącym pewne kontrowersje. Z jednej strony jest to idealne ulokowanie pozostałości oczyszczania ścieków i zapobiega ich składowaniu czy spalaniu, chroniąc przy tym środowisko naturalne (39). Dodatkowo osady posiadają skuteczną aktywność glebotwórczą, która przy wprowadzeniu osadu do powierzchniowych warstw gruntu nadaje mu właściwości charakterystyczne dla gleb urodzajnych (53). Glebotwórcze działanie ma związek głównie z wysoką aktywnością mikrobiologiczną osadów, związaną z obecnością w nich dużej ilości materii organicznej (39). Natomiast obecne w nich składniki mineralne, m.in. azot, fosfor, potas, magnez czy wapń (39) stanowią źródło pokarmowe dla roślin (53).

Ograniczeniem dla przyrodniczego wykorzystania osadów ściekowych jest fakt, że stanowią one pewne zagrożenie sanitarno-epidemiologiczne (53). W osadach ściekowych znajdują się wirusy, bakterie (głównie *E. coli*, *Salmonella spp.*, *Yersinia enterocolitica*, *Clostridium botulinum*, *Vibrio cholerae*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Bacillus anthracis*, *Listeria monocytogenes*, *Leptospira* (9; 7), *Shigella spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Clostridium perfringens* (52), grzyby, oraz jaja helmintów. Dużą ich część stanowią organizmy patogenne dla zwierząt i człowieka (7). Pomimo tego, iż ścieki czy osady ściekowe nie są naturalnym środowiskiem życia chorobotwórczych mikroorganizmów, to bakterie są w stanie w nich przetrwać i zachować stan wirulencji przez okres nawet do kilku miesięcy (39). Większość publikacji na temat stanu sanitarnego surowych osadów ściekowych donosi o obecności pałeczek *Salmonella* w 100% badanych próbek.

Według Rozporządzenia Ministra Środowiska z 2010 r. w sprawie komunalnych osadów ściekowych warunkiem ich stosowania w rolnictwie rozumianym jako „uprawa wszystkich płodów rolnych wprowadzanych do obrotu handlowego, włączając w to uprawy przeznaczone do produkcji pasz” oraz dla rekultywacji terenów, „w tym na cele rolne”, pod względem sanitarno-epidemiologicznym, jest brak obecności bakterii z rodzaju *Salmonella* w 100 g osadów. Osady nie mogą być też stosowane w okresie wegetacji roślin, jeśli te uprawiane są w celu bezpośredniego spożycia przez ludzi (48).

Charakterystyka osadów ściekowych pod względem sanitarnym zależna jest od wielu czynników, m.in. od standardu życia i stanu zdrowia osób zasiedlających dany obszar, od obecności na danym terenie rzeźni lub ośrodków przemysłowych, ale również od metod obróbki jakim poddawane są osady w celu ich unieszkodliwienia (54).

Wśród metod unieszkodliwiania osadów ściekowych należy wyróżnić: składowanie w lagunach (7), kompostowanie (63) i wapnowanie (12).

### **Kompostowanie**

Kompostowanie jest to naturalny proces rozkładu substancji organicznej przez bakterie tlenowe, prowadzony w kontrolowanych warunkach, przy odpowiedniej wartości temperatury i pH. Produkt mechanizmu kompostowania stanowi bogate źródło substancji odżywczych dla roślin oraz próchnicy, natomiast rozwój mikroorganizmów odpowiedzialnych za ten proces, a także znaczny wzrost temperatury oraz pH wpływa na zahamowanie wzrostu bakterii patogennych (22). Według wyników badań prowadzonych przez Wolną - Marukę i in. kompostowanie osadu ściekowego pozwala na całkowitą eliminację bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*, co jest skutkiem osiągnięcia w fazie termofilnej wartości temperatury powyżej 70°C i pH 8-9 (63).

### **Wapnowanie**

Higienizacja osadów ściekowych poprzez wapnowanie to metoda polegająca na reakcji wapna palonego z wodą zawartą w osadzie w jednorodnej mieszaninie CaO z osadem ściekowym przez 15-20 minut. W wyniku egzotermicznej reakcji hydratacji tlenku wapnia następuje pochłonięcie przez nie 32% wody. Wzrost temperatury mieszaniny (zwykle przekracza 60°C) skutkuje odparowaniem części wody i wzrostem suchej masy osadu. Dodatkowo, procesowi towarzyszy podwyższenie pH mieszaniny do poziomu przekraczającego 12 (31; 12). Do unieszkodliwiania osadów o niskiej zawartości suchej masy (2-4%) zwykle stosuje się mleko wapienne powstające poprzez rozpuszczenie w wodzie  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  (wapno gaszone) do końcowego stężenia 5-10%. Aktywność tego produktu prowadzi do wzrostu wartości pH, natomiast ze względu na brak reakcji egzotermicznej, nie powoduje wzrostu temperatury (31). Wśród korzyści wynikających ze stosowania wapnowania osadów ściekowych z wykorzystaniem CaO, które spośród dwóch opisanych metod jest skuteczniejsze, istotną z punktu widzenia mikrobiologicznego jest redukcja bakterii chorobotwórczych na poziomie log 6 (12).

### **Składowanie w lagunach**

Składowanie jest najprostszą i najtańszą formą zagospodarowania osadów ściekowych przed ich rolniczym wykorzystaniem. Jednak wydaje się, iż nie jest to skuteczna metoda pod względem eliminacji chorobotwórczych drobnoustrojów. Jak wskazują badania, spadek liczebności pałeczek *Salmonella* następuje dopiero po rocznym okresie magazynowania. Biorąc pod uwagę często stosowaną w przypadku małych oczyszczalni praktykę jedno- lub dwumiesięcznego okresu składowania osadów, po którym wprowadzane są do środowiska naturalnego, można stwierdzić, że osady poddane metodzie higienizacji jaką stanowi składowanie osadów w lagunach nie spełniają norm wymaganych dla ich rolniczego użytkowania (7). Jak podaje Biedrzycka, nawet w osadach badanych po 30 latach składowania wykryto pałeczki *Salmonella* (4).

Analizując publikowane dane można stwierdzić, iż stosowanie osadów ściekowych jak również obornika, gnojówki czy gnojowicy w formie nawozu nie stwarza

zagrożenia higieniczno-epidemiologicznego pod warunkiem skutecznego procesu ich unieszkodliwienia, rozumianego jako zupełna eliminacja bakterii chorobotwórczych i potencjalnie chorobotwórczych. Dodatkowo za praktyką wykorzystywania naturalnych nawozów organicznych przemawia aspekt ochrony środowiska.

### **Bakterie *Salmonella* jako wskaźnik w ocenie stanu sanitarnego środowiska glebowego**

Środowisko glebowe jest najbardziej zróżnicowanym, aktywnym i wrażliwym ekosystemem, dlatego też może z powodzeniem służyć jako wskaźnik jakości ogółu środowiska przyrodniczego. Gleba jest rezerwuarem mikroorganizmów saprofitycznych, będących neutralnymi dla ludzi i zwierząt, ale mogą znajdować się w niej również drobnoustroje patogenne, dla których gleba nie jest naturalnym środowiskiem bytowania, jednak dostają się do niej wraz z wydalaminami człowieka i zwierząt, opisanymi powyżej nawozami organicznymi (w tym z osadami ściekowymi) lub pochodzą z obiektów gospodarki komunalnej – oczyszczalni ścieków, wysypisk śmieci (30). Stwierdzono również, iż ilość i jakość mikroorganizmów chorobotwórczych w glebie skorelowana jest ze skażeniem mikrobiologicznym powietrza (15).

Gleba będąca źródłem zjadliwych szczepów bakterii stanowi zagrożenie epidemiologiczne, szczególnie dla zwierząt mających z nią częsty kontakt, ale również dla człowieka, który bezpośrednio styka się z glebą bądź ma kontakt z żywnością pochodzenia zwierzęcego lub roślinnego, w wyniku czego zaraża się pośrednio ze źródła infekcji jakim jest gleba (30). W literaturze można znaleźć przykłady opisów takich epidemii. W Darmstadt (Niemcy) zarejestrowano salmonellozę u 89% mieszkańców, natomiast w Stuttgarcie (Niemcy) opisano epidemię duru brzuszego, której ofiarą padło ponad 600 osób, wśród których 10 zmarło. Źródłem zachorowań w obu przypadkach było spożycie warzyw uprawianych w glebach nawożonych osadami ściekowymi (29).

Jednym z głównych wskaźników stanu sanitarnego środowiska glebowego jest monitoring występowania pałeczek z rodzaju *Salmonella*. Przy określeniu mikroorganizmu wskaźnikowego kierowano się szczególnie dwiema cechami charakterystycznymi dla *Salmonella*: (a) wysoka patogenność dla ludzi i zwierząt, (b) stosunkowo długi okres przeżywalności w glebie (15).

Na okres zdolności do przetrwania bakterii w środowisku glebowym ma wpływ wiele czynników: temperatura, pH i wilgotność otoczenia, dostępność składników odżywczych, rodzaj gleby, serotyp bakterii, jak również występowanie bakteriofagów, czy mikroorganizmów antagonistycznych (*E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*); (30).

Strzałkowski i Kopcowski wykazali, że w glebie, do której pałeczki *Salmonella* zostały wprowadzone eksperymentalnie, czas ich przeżywalności uzależniony jest od serotypu. *S. Enteritidis* przetrwała 451 dni, *S. Typhimurium* – 321 dni, natomiast *S. Choleraesuis* – 257 dni (51). Z kolei Stróczyńska-Sikorska i in.

dowodili zależności przeżycia *Salmonella* od rodzaju gleby i warunków klimatycznych otoczenia. Według wyników badań prowadzonych przez wymienionych naukowców *S. Enteritidis* w porze letniej, w piasku słabo-gliniastym przeżywa 59 dni, natomiast w okresie jesienno-zimowym, w glebie lessowej – 185 dni (30). Kłapeć i Cholewa podają, że okres przeżycia organizmów chorobotwórczych w glebie może wynosić nawet do 10 lat (29).

Jak już wspomniano, jednym ze źródeł drobnoustrojów chorobotwórczych w glebie są ścieki odprowadzane do wód powierzchniowych. Występowanie w nieodpowiednio oczyszczonych ściekach pałeczek *Salmonella* stwarza zagrożenie skażenia środowiska naturalnego, a przede wszystkim wód i gleb. Niestety doniesienia na temat jakości mikrobiologicznej oczyszczonych ścieków są niepokojące. Testy na obecność pałeczek *Salmonella*, którym poddano surowe ścieki, wykazały pozytywny wynik w 70% pobranych próbek. W następstwie procesu mechanicznego i biologicznego oczyszczania ścieków odsetek próbek zakażonych *Salmonella* obniżył się do 28%, natomiast w przypadku ścieków, które przeszły cały proces oczyszczania, 10% nadal stanowiły próbki charakteryzujące się obecnością *Salmonella*. Konsekwencją takiego stanu rzeczy jest bezpośrednie skażenie wód (30% próbek wody pobranych z Zatoki Puckiej i Gdańskiej wykazało obecność pałeczek *Salmonella*), a następnie infekcja gleb, roślin, zwierząt i człowieka (8).

### **Zwalczanie zakażeń bakteriami *Salmonella* z wykorzystaniem bakteriofagów**

Bakteriofagi należą do wirusów, których gospodarzami są bakterie. W dosłownym tłumaczeniu można nazwać je „zjadaczami bakterii” (45). Antybakteryjna aktywność bakteriofagów została odkryta na początku XX wieku, natomiast niedługo później zaczęto wykorzystywać je do leczenia zakażeń bakteryjnych.

Przewagą bakteriofagów w stosunku do antybiotyków jest ich przynależność do organizmów żywych, które charakteryzują się zmiennością mutacyjną, dzięki czemu mogą ewoluować wraz ze swoim gospodarzem i nie tracić możliwości jego infekcji. Na skutek ewolucji prawdopodobnie każdy szczep bakterii może być gospodarzem swoistych bakteriofagów. Z kolei poznanie sekwencji genomów fagowych pozwala na wprowadzenie w nich zmian skutkujących wzrostem skuteczności fagoterapii (35).

Kolejną zaletą terapii fagowej jest brak skutków ubocznych występujących przy podawaniu antybiotyków. Bakteriofagi są nieaktywne w stosunku do komórek eukariotycznych. Istotnym czynnikiem jest również wysoka specyficzność bakteriofagów w stosunku do konkretnych bakterii. Nie dochodzi do zniszczenia dużej części mikroflory organizmu, co ma miejsce w przypadku antybiotykoterapii, prowadzącej często do kolejnych zakażeń bakteryjnych lub grzybiczych (61). W przypadku stosowania preparatów fagowych w procesach produkcji żywności nie obserwuje się ich oddziaływania na naturalną florę bakteryjną czy kultury fermentujące. Ze względu na fakt powszechnego występowania bakteriofagów w środowisku naturalnym, ich

źródło można nazwać „niewyczerpalnym” (18). Izolacja bakteriofagów z przewodu pokarmowego bądź paszy może zapewnić ich przeżywalność w danym środowisku w przypadku ich zastosowania w celu likwidacji zakażenia (36).

Ze względu na drogę przebiegu infekcji w komórce bakteryjnej bakteriofagi można podzielić na fagi lizogenne (łagodne) i fagi obligatoryjnie lityczne (zjadliwe, wirulentne). Fagi zjadliwe charakteryzuje możliwość rozwoju podczas infekcji komórki bakteryjnej wyłącznie w cyklu litycznym, skutkującym rozpadem komórki gospodarza. Natomiast fagi łagodne mogą wykorzystywać drugą, alternatywną strategię namnażania – egzystują w komórce gospodarza w formie profaga, w postaci niskokopijnego plazmidu, bądź też fragmentu DNA wbudowanego do bakteryjnego genomu. Materiał genetyczny bakteriofaga ulega replikacji w każdym cyklu podziałowym komórki gospodarza. W momencie odblokowania transkrypcji genów związanych z rozwojem litycznym, następuje zniesienie stanu lizogenii, i fagi „łagodne” mogą lizować komórkę gospodarza (35; 41).

Ze względu na strategię rozwoju, w celu zwalczania zakażeń bakteryjnych skuteczne może być wykorzystanie jedynie bakteriofagów wirulentnych, w przypadku których w wyniku infekcji komórki bakteryjnej zawsze dochodzi do ekspresji ich materiału genetycznego, skutkującej lizą komórki (18).

Preparaty bakteriofagowe mogą być stosowane zarówno do zwalczania infekcji bakteryjnych wśród zwierząt gospodarczych, jak i w celu eliminacji zakażenia patogenymi mikroorganizmami paszy czy nawozów naturalnych bądź produktów żywnościowych pochodzenia zwierzęcego.

Udowodniono, iż doustne podanie bakteriofagów w odpowiedniej dawce w przypadku infekcji *Salmonella* wśród brojlerów kurzych spowodowało znaczną redukcję liczebności bakterii w porównaniu do kontroli. Jednak mimo prowadzenia terapii przez okres 3 tygodni, nie udało się uzyskać całkowitej eliminacji patogenów (14).

W h i c h a r d i in. opisują proces eliminacji *Salmonella* Typhimurium podczas produkcji drobiowych frankfurterek. Według otrzymanych przez badaczy wyników, zastosowanie preparatu zawierającego faga Felix-O1 skutkowało redukcją bakterii na poziomie  $2 \log_{10}$  (57), natomiast M o d i i in., podają przykład skutecznego zastosowania faga SJ2 w procesie produkcji sera cheddar z pasteryzowanego i surowego mleka. Początkowa liczebność *Salmonella* Enteritidis wynosiła  $10^8$  jtk (jtk – jednostki tworzące kolonie)/ml mleka. W przypadku próby kontrolnej, którą stanowiła produkcja sera bez dodatku fagów, po 99 dniach inkubacji w  $8^{\circ}\text{C}$  stężenie bakterii wyniosło  $10^3$  jtk/ml. W próbie badanej, w której do produkcji sera wykorzystano surowe mleko, po 99 dniach inkubacji zarejestrowano znaczną redukcję bakterii (50 jtk/ml), natomiast w próbie, gdzie do produkcji sera użyto mleka pasteryzowanego, po 89 dniach inkubacji nastąpiła całkowita eliminacja pałeczek *Salmonella* (40).

Prowadzone są również doświadczenia nad zastosowaniem bakteriofagów w celu detekcji patogenów. Jest to metoda wymagająca znacznie mniej czasu w porównaniu

z metodami konwencjonalnymi. Proces wykrywania bakterii z użyciem fagów opiera się na pomiarze aktywności genu reporterowego niesionego przez faga, który ulega ekspresji jedynie w przypadku infekcji komórki bakteryjnej (18).

Przykładem skutecznego zastosowania fagów do detekcji *Salmonella* jest opisane przez Wolbera użycie faga P22, w którego genom wprowadzony został gen *ina* (ang. *ice nucleation gene*). Wykorzystana metoda okazała się być stosunkowo czułą, pozwoliła na wykrycie bakterii w koncentracji 2 komórek na ml<sup>-1</sup> (62; 18).

Preparaty zawierające bakteriofagi mogą w przyszłości okazać się doskonałym narzędziem zarówno do eliminacji bakterii patogennych, jak i w celu ich detekcji. Jednak dla bezpieczeństwa i efektywności ich stosowania konieczne jest dopracowanie metod na poziomie laboratorium.

### Podsumowanie

Zakażenia bakteriami z rodzaju *Salmonella* mogą pojawić się na każdym z poziomów produkcji rolniczej: w produkcji roślinnej i zwierzęcej, w produkcji nawozów naturalnych i organicznych, produkcji pasz. Na każdym z tych szczebli powstają produkty, wobec których ustalono normy prawne określające dopuszczalną liczebność pałeczek *Salmonella* kwalifikującą je do obrotu, jak również opracowano metody zwalczania tychże bakterii. Zaniechanie odpowiedniej higieny na którymkolwiek etapie może przyczynić się do poważnych konsekwencji sanitarno-epidemiologicznych. Nowym sposobem zwalczania zakażeń, możliwym do zastosowania na każdym szczeblu produkcji, jest wykorzystywanie preparatów bakteriofagowych, jako naturalnych i specyficznych „zabójców” bakterii.

Ze względu na wysokie ryzyko jakie niesie ze sobą infekcja *Salmonella*, ale też innymi chorobotwórczymi mikroorganizmami obecnymi w środowisku rolniczym, niezbędne jest zachowanie najwyższego poziomu higieny i detekcji patogenów w przemyśle rolnym.

### Piśmiennictwo

1. Arrus K.M., Holley R.A., Ominski K.H., Tenuta M., Blank G.: Influence of temperature on *Salmonella* survival in hog manure slurry and seasonal temperature profiles in farm manure storage reservoirs. *Livestock Science*, 2006, **102**: 226-236.
2. Bains B.S., MacKenzie M.A.: Transmission of *Salmonella* through an integrated poultry organization. *Poult. Sci.*, 1974, **53**: 1114-1118.
3. Bakutis B., Monstvilienė G., Januskeviciene G.: Analyses of airborne contamination with bacteria, endotoxins and dust in livestock barns and poultry houses. *Acta Vet. Brno.*, 2004, **73**: 283-289.
4. Biedrzycka A.: Trudne laguny. Nowoczesne budownictwo Inżynieryjne. *Hydrotechnika*, 2009, 25-27.
5. Boruta J., Kwiatek K., Korol W.: Roczny Plan Urzędowej Kontroli Pasz na Rok 2010. Główny Inspektorat Weterynarii, Ministerstwo Rozwoju Rolnictwa i Wsi, Warszawa, 2010.

6. Budzińska K.: Survivability of *Salmonella* Senftenberg W775 in cattle slurry under various temperature conditions. *Folia Biol.*, 2005, **53**: 145-150.
7. Budzińska K., Jurek A., Michalska M., Berleć K., Szejniuk B.: Dynamika zmian mikroflory bakteryjnej w składowiskach osadów ściekowych. *Ochr. Śr.*, 2009, **11**: 1155-1164.
8. Budzińska K., Jurek A., Szejniuk B., Wroński G.: Skuteczność usuwania zanieczyszczeń bakteriologicznych w procesach oczyszczania ścieków z zastosowaniem stawów biologicznych. *Rocz. Ochr. Śr.*, 2011, **13**: 1519-1530.
9. Cebula J., Jodkowska T.: Aspekt higieniczno-sanitarny rolniczego wykorzystania osadów ściekowych. *Ochr. Śr.*, 1982, **4**: 5-11.
10. Darwin K.H., Miller V.L.: Molecular basis of the interaction of *Salmonella* with the intestinal mucosa. *Clin. Microbiol. Rev.*, 1999, **12**: 405-428.
11. Domąński P.J.: Nawożenie łąk i pastwisk. <http://www.ihar.edu.pl/nawozenie.php>, 11.04.2014. 2005.
12. Europejskie Stowarzyszenie Wapna. Wapnowanie: nowoczesna metoda higienizacji osadów ściekowych wykorzystywanych w rolnictwie.
13. Everard C.O.R., Tota B., Bassett D., Ali C.: *Salmonella* in wild life from Trinidad and Grenada W. I., J. Wildl. Dis., 1979, **15**: 213-219.
14. Fiorentin L., Vieira N.D., Barioni W.Jr.: Oral treatment with bacteriophages reduces the concentration of *Salmonella enteritidis* PT4 in caecal contents of broilers. *Avian Pathol.*, 2005, **34**: 258-263.
15. Frączek K.: Sezonowe zmiany wskaźników stanu sanitarnego gleby na terenie oraz w rejonie składowiska odpadów komunalnych aglomeracji krakowskiej. *Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie*, 2010, **10**: 49-60.
16. Gacka S.: Biologizacja kurnika. Nowe rozwiązania w hodowli drobiu eliminujące szkodliwe gazy i ograniczające rozwój chorobotwórczej mikroflory. *Nowe Technologie*, [www.polskie-drobiarstwo.pl/artykuly/GACKA.pdf](http://www.polskie-drobiarstwo.pl/artykuly/GACKA.pdf), 12.04.2014.
17. Ha S.D., Maciorowski K.G., Kwon Y.M., Jones F.T., Ricke S.C.: Indigenous feed microflora and *Salmonella* Typhimurium marker strain survival in poultry mash diets containing varying levels of protein. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 1998, **76**: 23-33.
18. Hagens S., Loessner M.J.: Application of bacteriophages for detection and control of foodborne pathogens. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2007, **76**: 513-519.
19. Himathongkham S., Riemann H.: Destruction of *Salmonella* Typhimurium, *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in chicken manure by drying and/or gassing with ammonia. *FEMS Microbiol. Lett.*, 1999, **171**: 179-182.
20. Holley R.A., Arrus K.M., Omiński K.H., Tenuta M., Blank G.: *Salmonella* survival in manure-treated soils during simulated seasonal temperature exposure. *J. Environ. Qual.*, 2006, **35**: 1170-1180.
21. Holt J.G.: Facultatively anaerobic Gram-negative rods. Family *Enterobacteriaceae*. 186. Holt J. G. *Bergey's manual of determinative bacteriology*. Wydanie 9., Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 1994 (pp: 816).
22. Ignatowicz K., Garlicka K., Breńko T.: Wpływ kompostowania osadów ściekowych na zawartość wybranych metali i ich frakcji. *Inżynieria Ekologiczna*, 2011, **25**: 231-241.
23. Jankowska-Huflejt H., Wróbel B.: Wpływ wiosennego nawożenia obornikiem i gnojówką na plony i jakość pokarmową oraz mikrobiologiczną kiszonki z runi łąkowej w warunkach gospodarowania ekologicznego. *J. Res. and Appl. Agric. Engng.*, 2011, **56**: 164-170.

24. Jones F.T., Axtell R.C., Rives D.V., Scheideler S.E., Tarver Jr.F.R., Walker R.L., Wineland M.J.: A survey of *Salmonella* contamination in modern broiler production. J. Food Prot., 1991, **54**: 502-507.
25. Jones P.W., Collins P., Brown G.T.H., Aitken M.: Transmission of *Salmonella* Mbandaka to cattle from contaminated feed. J. Hyg., 1982, **88**: 255-263.
26. Kapperud G., Stenwig H., Lassen J.: Epidemiology of *Salmonella* Typhimurium O:4-12 infection in Norway. Am. J. Epidemiol., 1998, **147**: 774-782.
27. Kaźmierczuk M.: Metoda izolowania i identyfikacji bakterii *Salmonella* sp. w komunalnych osadach ściekowych. ENVIRON, 2010, **44**: 99-106.
28. Kędzia W., Koniar H.: Diagnostyka mikrobiologiczna. 73. Wydawnictwo PZWL. Warszawa, 1980.
29. Kłapeć T., Cholewa A.: Zagrożenia dla zdrowia związane ze stosowaniem nawozów organicznych i organiczno-mineralnych. Medycyna Ogólna i Nauki o Zdrowiu, 2012, **18**: 131-136.
30. Kłapeć T., Stroczyńska-Sikorska M.: Salmonellozy jako wciąż aktualne zagrożenie środowiskowe dla ludzi i zwierząt. Med. Środ., 2011, **14**: 79-84.
31. Komisja Środowiska Naturalnego Związku Miast Bałtyckich, 2012. Higienizacja osadów ściekowych w: Projekt PURE (Project on Urban Reduction of Eutrophication).
32. Kwiatek K., Kukier E.: Zanieczyszczenia mikrobiologiczne pasz. Med. Weter., 2008, **64**: 24-26.
33. Kwiatek K., Kukier E., Wasyl D., Hoszowski A.: Jakość mikrobiologiczna mieszanek paszowych w Polsce. Med. Weter., 2008, **64**: 949-954.
34. Lax A.J., Barrow P.A., Jones P.W., Wallis T.S.: Current perspectives in salmonellosis. Brit. Vet. J., 1995, **151**: 351-377.
35. Łysiak K.: Bakteriofagi jako alternatywa dla antybiotyków – możliwości praktycznego ich zastosowania w chirurgii stomatologicznej. Dent. Med. Probl., 2004, **41**: 761-768.
36. Maciorowski K.G., Herrera P., Kundinger M.M., Ricke S.C.: Animal feed production and contamination by foodborne *Salmonella*. Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, 2006, **1**: 197-209.
37. Mikkelsen L.L., Naughton P.J., Hedemann M.S., Jensen B.B.: Effects of physical properties of feed on microbial ecology and survival of *Salmonella enteric* serovar Typhimurium in the pig gastrointestinal tract. Appl. Environ. Microbiol., 2004, **70**: 3485-3492.
38. Mituniewicz T.: *Salmonella* jako problem w produkcji drobiarskiej. Ogólnopolski Informator Drobiarski, 2013, **263**: 32-44.
39. Mizer A.: Green World. 2002.
40. Modi R., Hirvi Y., Hill A., Griffiths M.W.: Effect of phage on survival of *Salmonella enteritidis* during manufacture and storage of cheddar cheese made from raw and pasteurized milk. J. Food Prot., 2001, **64**: 927-933.
41. Nicklin J., Graeme-Cook K., Paget T., Killington R.: Mikrobiologia. PWN, Warszawa 2006, 148-149.
42. Ohl M.E., Miller S.I.: *SALMONELLA*: a model for bacterial pathogenesis. Annu. Rev. Med., 2001, **52**: 259-274.
43. Olszewska H., Skowron K.: Wpływ temperatury składowania oraz typu gnojowicy na przeżywalność pałeczek z rodzaju *Salmonella*. JCEA, 2013, **14**: 847-853.
44. Osek J., Wieczorek K.: Choroby odzwierzęce i ich czynniki etiologiczne w Raporcie Europejskiego Urzędu do spraw Bezpieczeństwa Żywności za 2008 r. Życie Wet., 2010, **85**: 315-324.

45. Parisien A., Allain B., Zhang J., Mandeville R., Lan C.Q.: Novel alternatives to antibiotics: bacteriophages, bacterial cell wall hydrolases, and antimicrobial peptides. *J. Appl. Microbiol.*, 2008, **104**: 1-13.
46. Rozporządzenie (WE) nr 2160/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 17 listopada 2003 r. w sprawie zwalczania *Salmonelli* i innych określonych odzwierzęcych czynników chorobotwórczych przenoszonych przez żywność. Dziennik Ustaw Nr 69, Poz. 625.
47. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 18 czerwca 2008 r. w sprawie wykonania niektórych przepisów ustawy o nawozach i nawożeniu. Dziennik Ustaw Nr 119, poz. 765.
48. Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 13 lipca 2010 r. w sprawie komunalnych osadów ściekowych. Dziennik Ustaw Nr 137, poz. 924.
49. Rozporządzenie Rady (WE) Nr 834/2007 z dnia 28 czerwca 2007 r. w sprawie produkcji ekologicznej i znakowania produktów ekologicznych i uchylające rozporządzenie (EWG) nr 2092/91. Dziennik Urzędowy Unii Europejskiej, L 189.
50. Rozporządzenie Rady Ministrów z dnia 18 maja 2012 r. w sprawie wprowadzenia „Krajowego programu zwalczania niektórych serotypów *Salmonella* w stadach brojlerów gatunku kura (*Gallus gallus*). Dziennik Ustaw poz. 550.
51. Strzałkowski L., Kopczeński A.: Przeżywalność w ziemi i w wodzie pałeczek rodzaju *Salmonella* izolowanych od lisów. *Med. Wet.*, 1991, **47**: 397-399.
52. Szajnuk B., Budzińska K., Wroński G., Kostrzewa M.M., Jurek A.: Przeżywalność pałeczek *Salmonella* Enteritidis w gnojowicy świńskiej. *Rocz. Ochr. Śr.*, 2011, **13**: 2049-2060.
53. Szwedziak K.: Charakterystyka osadów ściekowych i rolnicze wykorzystanie. *Inżynieria Rolnicza*, 2006, **4**: 297-302.
54. Środa K., Kijo-Kleczkowska A., Otwinowski H.: Termiczne unieszkodliwianie osadów ściekowych. *Inżynieria Ekologiczna*, 2012, **28**: 67-81.
55. Ustawa z dnia 10 lipca 2007 r. o nawozach i nawożeniu. Dziennik Ustaw Nr 147, poz. 1033.
56. Veldman A., Vahl H.A., Borggreve G.J., Fuller D.C.: A survey of the incidence of *Salmonella* species and *Enterobacteriaceae* in poultry feeds and feed components. *Vet. Rec.*, 1995, **136**: 169-172.
57. Whitchard J.M., Sriranganathan N., Pierson F.W.: Suppression of *Salmonella* growth by wild – type and large – plaque variants of bacteriophage Felix O1 in liquid culture and on chicken frankfurters. *J. Food Prot.*, 2003, **66**: 220-225.
58. Whyte P., McGill K., Collins J.D.: A survey of the prevalence of *Salmonella* and other enteric pathogens in a commercial poultry feed mill. *J. Food Saf.*, 2003, **23**: 13-24.
59. Williams J.E., Benson S.T.: Survival of *Salmonella* Typhimurium in poultry feed and litter at three temperatures. *Avian Dis.*, 1978, **22**: 742-747.
60. Witkowska D., Chorąży Ł., Mituniewicz T., Makowski W.: Zanieczyszczenia mikrobiologiczne ściółki i powietrza podczas odchowu kurcząt brojlerów. *Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie*, 2010, **30**: 201-210.
61. Wojtasik A. Nowy stary sposób na bakterie. *Przemysł Farmaceutyczny*, 2011, **4**: 26-29.
62. Wolber P.K.: Bacterial ice nucleation. *Adv. Microb. Physiol.*, 1993, **34**: 203-237.
63. Wolna-Marucka A., Czeakała J., Piotrowska-Cyplik A.: Określanie tempa inaktywacji bakterii chorobotwórczych w osadach ściekowych poddawanych procesowi kompostowania z różnymi dodatkami w bioreaktorze cybernetycznym. *J. Res. Appl. Agric. Engng.*, 2009, **54**: 73-79.

64. Zielińska K.J., Stecka K.M., Kupryś M.P., Kapturowska A.U., Miecznikowski A.H.: Ocena stopnia skażenia bakteriami potencjalnie patogennymi runi łąkowej i gleb nawożonych płynnymi nawozami organicznymi. J. Res. Appl. Agric. Engng., 2011, **56**: 212-215.
- 

Adres do korespondencji:

*mgr Joanna Bigos*  
*Zakład Mikrobiologii Rolniczej*  
*IUNG-PIB*  
*ul. Czartoryskich 8*  
*24-100 Puławy*  
*tel. (81) 47 86 960*  
*e-mail: jbigos@iung.pulawy.pl*