Zanieczyszczenia mikrobiologiczne pasz – aktualne zagrożenia i nowe wyzwania*

✉ MAGDALENA GOLDSZTEJN, ✉ TOMASZ GREJDA, ✉ BEATA KOZAK,
✉ NINA KOZIEŁ, ✉ KRZYSZTOF KWIATEK

Zakład Higieny Pasz, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach,
al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Otrzymano 08.10.2021

Zaakceptowano 02.11.2021

Goldsztein M., Grejda T., Kozak B., Kozieł N., Kwiatek K.

Microbiological contamination of feed – current hazards and new challenges

Summary

Feed microflora remains a very complex and still largely uncharacterized ecosystem. Given the wide range of potential sources of microbial contamination that may come into contact with feed, a variety of microorganisms, including pathogenic ones, can be expected. Microbiological contamination of feeds depends on environmental factors, which are a natural, primary source related to the microflora carried on feed materials and coming from soil, water and air. Microbial contamination may also emerge secondarily in the processing and distribution stages of feed, but also in the breeding stage, where feed may be contaminated by animals showing disease symptoms or asymptotically. A wide variety of pathogenic microorganisms that are transmitted symptomatically or asymptotically can cause economic losses to feed producers and farmers, and some of them due to their zoonotic nature can also pose a potential risk to consumers. New feed materials appear on the market, i.e. Insect Processed Animal Proteins, which are part of the strategy of replacing traditional protein sources. These materials are under investigation for their benefits as well as for microbiological safety. The aim of this review was to present the current knowledge on the main microbiological risk factors influencing the quality and safety of feed, as well as new analytical challenges related to the introduction of new feed materials.

Keywords: feed, microbiological safety, pathogens, insect processed animal protein (IPAP)

Na zanieczyszczenie mikrobiologiczne pasz mają wpływ czynniki środowiskowe, stanowiące naturalne, pierwotne źródło związane z mikroflorą przenoszoną na materiałach paszowych i pochodzącą z gleby, wody, powietrza. Zanieczyszczenia mikrobiologiczne mogą pojawić się wtórnie na etapach procesów przetwarzania i dystrybucji pasz, ale także na etapie chowu i hodowli, gdzie pasze mogą być zanieczyszczone przez zwierzęta wykazujące objawy chorobowe lub będące bezobjawowymi nosicielami patogenów. Szeroka gama mikroorganizmów chorobotwórczych wywołujących objawowe lub bezobjawowe zakażenia może powodować straty ekonomiczne producentów pasz i rolników, a niektóre z nich ze względu na swój zoonotyczny charakter mogą również stanowić potencjalne zagrożenie dla konsumentów. Wielokrotnie jako źródło zanieczyszczenia mikrobiologicznego identyfikowane były odchody. Mogą one być zagrożeniem nie tylko w przypadku

kontaminacji mieszanek paszowych, ale także skutkują rozprzestrzenianiem się patogenów poprzez organiczne nawożenie pól uprawnych lub pastwisk. Różnorodność patogenów i ich grup serologicznych wymaga szerokiego zakresu metod mikrobiologicznych jako narzędzia kontroli oraz zapewnienia odpowiedniego bezpieczeństwa pasz (14-16, 26).

Regulacje prawne dotyczące zanieczyszczeń mikrobiologicznych w paszach

W odniesieniu do zanieczyszczeń mikrobiologicznych w paszach prawodawstwo UE, zgodnie z dyrektywą 2003/99/WE (13), zobowiązuje państwa członkowskie Unii Europejskiej do monitorowania różnych chorób odzwierzęcych, w tym salmonellozy, w obszarze wszystkich ogniw łańcucha żywnościowego. Państwa członkowskie są zobowiązane do wdrożenia programu zwalczania *Salmonella* spp. zgodnie z rozporządzeniem (WE) 2160/2003 (55). Na podstawie tych dwóch wymienionych rozporządzeń każde państwo członkowskie jest także zobligowane do tworzenia krajowych planów urzędowej kontroli pasz. Konkretnie kryteria mikro-

* Praca finansowana przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach projektu realizowanego w latach 2018-2021, GOSPOSTRATEG 1/385141/16/NCBR/2018. „Opracowanie strategii wykorzystania alternatywnych źródeł białka w żywieniu zwierząt umożliwiającej rozwój jego produkcji na terytorium RP „OWADY”.

biologiczne dla każdej paszy i materiału paszowego nie są szczegółowo opisane (14, 56, 58, 59). W rozporządzeniu (WE) 183/2005 art. 5, p. 3 (54) pojawia się odniesienie do rynku pasz i obowiązków związanych z nim podmiotów, zgodnie z którym: „podmioty działające na rynku pasz:

a) przestrzegają zgodności ze szczególnymi kryteriami mikrobiologicznymi;

b) stosują środki lub procedury niezbędne do realizacji określonych celów.”

We wspomnianych celach brak jest jednak szczegółów. Określone wymagania dotyczące kryteriów mikrobiologicznych są wyznaczone jedynie w rozporządzeniu wykonawczym (UE) 142/2011 (58) do Rozporządzenia (WE) 1069/2009 (59) i dotyczą karm surowych dla zwierząt domowych, materiałów paszowych pochodzenia zwierzęcego wprowadzanych do obrotu oraz przetworzonego białka zwierzęcego (PAP) pozyskiwanego z ubocznych produktów pochodzenia zwierzęcego kategorii III. W odniesieniu do pozyskiwania PAP, wspomniane produkty można poddawać obróbce metodami od 1 do 5 i 7. Wymagania te ograniczają się do stwierdzenia obecności *Salmonella* spp. w 25 g i określonego limitu liczby *Enterobacteriaceae* w 1 g produktu. W przypadku zastosowania metody nr 7 wymagana jest kontrola produktów końcowych odbywająca się codziennie przez okres 30 dni produkcyjnych, obejmująca limit liczby *Enterobacteriaceae* w 1 g, występowania *Salmonella* spp. w 25 g oraz rozszerzona o obecność *C. perfringens* w 1 g.

***Salmonella* spp. w paszach**

Według opinii EFSA z 2008 r. (14) *Salmonella* spp. jest uznawana za główne zanieczyszczenie mikrobiologiczne pasz. Oprócz *Salmonella* spp. wymieniane są także inne potencjalne zagrożenia, do których należą: *Campylobacter* spp., *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 i *Clostridium* spp. Spośród ponad 2500 serowarów *Salmonella* spp. mniej niż 100 jest odpowiedzialnych za infekcje u ludzi. Natomiast *S. enterica* sv. Enteritidis i *S. enterica* sv. Typhimurium są uznawane za najważniejsze serowary przenoszone przez żywność (Veterinary Laboratories Agency.: *Salmonella* in livestock production in GB: 2005 report. 2006b. <http://www.defra.gov.uk/corporate/vla/science/science-salm-rep05.htm>).

Wśród zwierząt liczne serowary *Salmonella* spp. mogą być przenoszone bezobjawowo lub skąpoobjawowo – gdy objawy pojawiają się sporadycznie. Ponadto, w dużych skupiskach i zagęszczeniu zwierzęta często zakażają się między sobą, kontaminując jednocześnie środowisko. Uznaje się, że określone serowary *Salmonella* spp. są przyczyną charakterystycznych objawów u określonych gatunków zwierząt gospodarskich, np. *S. Gallinarum* i *S. Pullorum* powodują tyfus i pulorozę u drobiu, *S. Choleraesuis* jest odpowiedzialny za zapalenie jelit i posocznicę u świń, *S. Dublin* jest czynnikiem etiologicznym posocznicy oraz aborcji

i zapalenia jelit u bydła, *S. Abortusovis* zazwyczaj powoduje poronienia owiec (16).

Poziom zanieczyszczenia paszy pałeczkami *Salmonella* spp. może się różnić w zależności od regionów geograficznych (24). Nawet jeśli trudno jest ocenić dokładne źródło zanieczyszczenia (pasza, źródła środowiskowe, urządzenia itp.), zawsze istnieje możliwość przeniesienia *Salmonella* spp. przez paszę (15, 71). Ogólna częstość występowania *Salmonella* spp. w 2018 r., w materiałach paszowych pochodzenia zwierzęcego i roślinnego oceniana na terenie UE, kształtowała się na poziomie 0,93%. Według raportu EFSA z 2018 r., w zależności od rodzaju, odsetek mieszanek paszowych zanieczyszczonych przez *Salmonella* spp. kształtował na następujących poziomach: 0,52% (pasze dla drobiu), 0,45% (pasze dla bydła) i 0,33% (pasze dla świń) (18). Należy podkreślić, że serowary *Salmonella* spp., występujące u ludzi rzadko występują w paszach dla zwierząt.

Wśród materiałów paszowych, nasiona oleiste i PAP (Processed Animal Proteins) są uznawane za główny rezerwuar pałeczek *Salmonella* odpowiedzialny za wprowadzenie tego patogenu do łańcucha żywnościowego. Według danych literaturowych nieprzetworzone zboża są w niewielkim stopniu zanieczyszczone przez *Salmonella* spp., natomiast nieprzetworzona soja bywa często zanieczyszczona tym patogenem. Niektóre serowary *Salmonella* są izolowane endemicznie, np. *S. Enteritidis* jest izolowany rzadko, z wyjątkiem Japonii, natomiast częściej obserwuje się występowanie *S. Typhimurium* (Enter-net annual report 2004; surveillance of enteric pathogens in Europe and beyond. 2006a. Enter-Net. http://ecdc.europa.eu/documents/ENTER_NET/annual_report2004.pdf). Coroczne badania zakażeń ludzi przez pałeczki *Salmonella* potwierdzają ich częsty związek z występowaniem następujących serowarów Enteritidis, Newport, Typhimurium, Javiana i jednofazowego Typhimurium w Stanach Zjednoczonych (CDC. National enteric disease surveillance: *Salmonella* annual report. Centers for Disease Control and Prevention 2016, Atlanta, GA: <https://www.cdc.gov/nationalsurveillance/pdfs/2016-Salmonella-report-508.pdf>.) oraz Enteritidis, Typhimurium, jednofazowe Typhimurium, Infantis i Newport w Unii Europejskiej (17).

***Campylobacter* w paszy**

Według opinii EFSA z 2008 r. (14), *Campylobacter* spp. jest uznawany za najczęstszą przyczynę chorób odzwierzęcych przenoszonych przez żywność. Te Gram-ujemne, ciepłolubne bakterie kolonizują błonę śluzową jelit większości stałocieplnych gospodarzy, w tym zwierząt gospodarskich i ludzi. Powszechnie występują w jelitach ptaków, u których pełnią rolę mikroorganizmu komensalnego, natomiast u ludzi, szczególnie u dzieci i dorosłych, w krajach uprzemysłowionych, występowanie *Campylobacter* spp. jest często związane z ostrym zapaleniem jelit. W literaturze nie ma danych

na temat paszy jako potencjalnego źródła zakażenia *Campylobacter* u zwierząt gospodarskich. Uważa się to za mało prawdopodobne, ponieważ mikroorganizm ten słabo przeżywa w suchym środowisku (charakterystycznym dla przechowywania pasz), a jego odporność na środki dezynfekujące i obróbkę cieplną jest mniejsza niż w przypadku *Salmonella* spp., dlatego patogen ten nie jest uznawany za istotny epidemiologicznie na etapach produkcji, przechowywania i dystrybucji pasz (49).

Listeria monocytogenes w paszy

Listeria monocytogenes to wszechobecny mikroorganizm, który bytuje w glebie, wodzie, ściekach i paszach, zdolny do wzrostu w szerokim zakresie temperatur od $-1,5^{\circ}\text{C}$ do 45°C (40). Patogen ten może występować bezobjawowo w jelitach różnych gatunków zwierząt, u których objawy listeriozy opisywane są sporadycznie, np. u różnych gatunków przeżuwaczy (Enter-net annual report 2004; surveillance of enteric pathogens in Europe and beyond. 2006a. Enter-Net. http://ecdc.europa.eu/documents/ENTER_NET/annual_report2004.pdf). Niektóre doniesienia literaturowe wskazują, że *Listeria* spp. może zanieczyszczać pasze dla drobiu zarówno przed, jak i po obróbce cieplnej (4). Występowanie *Listeria monocytogenes* w paszach kształtuje się na ogół, na niskim poziomie i jest mało prawdopodobne, aby powodowało poważne zagrożenie dla zwierząt (23). Ryzyko intensywnego wzrostu *Listeria monocytogenes* jest związane z karmieniem świń na mokro w okresie tuczu. Ponadto powszechnie wiadomo, że występowanie *Listeria monocytogenes* w kiszonkach jest związane z listeriozą u bydła, owiec i kóz (19, 50, 64, 69).

Escherichia coli O157:H7 w paszy

Również *Escherichia coli* O157:H7 jest uznawana przez EFSA za ważny odzwierzęcy czynnik chorobotwórczy, który jest raczej rzadko wykrywany w paszy (14). Szczepy *Escherichia coli* (STEC) wytwarzające toksynę Shiga to bakterie komensalne u bydła o wysokim potencjale przenoszenia na ludzi. Serotyp *E. coli* O157:H7 jest główną przyczyną krwotocznego zapalenia jelita grubego i zespołu hemolityczno-mocznikowego u ludzi (38). Niektóre dane literaturowe sugerują, że *E. coli* O157 może być przenoszona przez paszę i stanowić potencjalne źródło tego patogenu u bydła (10, 11). Niektóre doniesienia literaturowe wskazują, że czas i temperatury stosowane w komercyjnych procesach granulowania są niewystarczające do inaktywacji *E. coli* O157:H7 (33).

Clostridium spp. w paszy

Clostridium spp. obejmuje beztlenowe Gram-dodatnie bakterie, zdolne do wytwarzania bardzo opornych przetrwalników, trudnych do wyeliminowania podczas produkcji pasz dla zwierząt. Clostridia są wszechobecne w środowisku i występują głównie w górnych warstwach gleby, także w pyłach, wodzie i przewodzie pokarmowym ludzi oraz zwierząt. Przeżywalność większości szczepów może sięgać temperatury do 80°C , dlatego

granulowanie paszy nie jest wystarczające do ich inaktywacji (28). Stosowanie metod przetwarzania, takich jak ekstrakcja soi heksanem, opiekanie śruty sojowej lub obróbka termiczna w piecu, może również nie być wystarczające do inaktywacji wszystkich zarodników (24). Większość szczepów *Clostridium* spp. to saprofity, jednak niektóre z nich mogą być chorobotwórcze dla ludzi i zwierząt. Z punktu widzenia epidemiologicznego za gatunki o największym znaczeniu uważa się szczepy *C. perfringens* i *C. botulinum* (21, 34, 67).

C. perfringens jest gatunkiem powszechnie występującym w glebie, ściekach, pożywieniu i odchodach. Może być przenoszony do paszy w postaci komórek wegetatywnych lub ciepłoopornych przetrwalników, a prawdopodobieństwo jego występowania jest wyższe w przypadku materiałów paszowych zanieczyszczonych glebą, np. roślin okopowych (28). Szczepy tego gatunku są klasyfikowane do jednego z siedmiu typów toksycznych (od A do G) według kombinacji głównych toksyn α , β , ι , ϵ , enterotoksyny *Clostridium perfringens* (CPE) i nekrotoksyny (NetB). Oprócz wymienionych toksyn głównych, ten mikroorganizm może wytwarzać ok. 30 toksyn pobocznych (35). Bakterie te są uznawane za patogeny oportunistyczne, a ich występowanie nie jest w oczywisty sposób związane ze stanem chorobowym, dlatego też ich patogenność jest przedmiotem ciągłej dyskusji na łamach czasopism naukowych (9). Zanieczyszczenie paszy w szczególności przez *C. perfringens* typu C jest związane z ogniskami martwiczego zapalenia jelit u drobiu (12, 25). Występowanie *C. perfringens* typu A w przewodzie pokarmowym bydła jest fizjologicznie naturalne, jednak patogeniza *C. perfringens* typu A zależy od stanu fizjologicznego zwierząt, sprzyja jej immunosupresja. *C. perfringens* typu A jest powiązany z niektórymi chorobami bydła, np. zapalenie jelit u cieląt, gdzie obserwuje się także krwotoczne zapalenie lub owrzodzenie trawieńca (28). Niektóre izolaty *C. perfringens* typu A ze zdolnością do wytwarzania toksyny pobocznej β_2 mogą powodować (wraz z toksyną α) rozwój krwotocznych zmian w jelicie cienkim w przypadku enterotoksemii bydła. Sugeruje się również, że izolaty *C. perfringens* typu A mogą być przyczyną krwotocznego zespołu jelitowego (JHS – jejunal hemorrhage syndrome) u bydła mięsnego i mlecznego. Hipoteza ta nie jest jednak w pełni udowodniona, co sugeruje możliwość obecności innych czynników przyczyniających się lub predysponujących do etiologii tej choroby. Niedawno opisano toksotyp G, który jest zdolny do wytwarzania toksyny NetB. Według Goosens i wsp. (28) może on odgrywać ważną rolę w martwicowym zapaleniu jelit u kurcząt brojlerów.

Clostridium botulinum jest patogenem zdolnym do wytwarzania najsilniejszych toksyn (BoNT), naturalnie występujących w środowisku. Wśród zwierząt gospodarskich botulizm jest odnotowywany z większą częstotliwością u bydła, głównie na tle BoNT/C i D lub ich odmian mozaikowych (BoNT/CD i BoNT/DC). Według Moellera i wsp. (45) mediana dawki toksycznej (MTD50) BoNT/C dla bydła wynosi 0,388

ng/kg (tj. ok. 3,88 dawek śmiertelnych dla myszy/kg). Wskazuje to, że bydło jest 12,88 razy bardziej wrażliwe na działanie BoNT/C niż mysz w przeliczeniu na kilogram masy ciała. Przypadki zatrucia jadem kielbasianym u bydła są stosunkowo rzadkie, ale wyrządzają znaczące straty ekonomiczne. Większość przypadków botulizmu bydła wiązana jest ze skarmieniem zwierząt sianokiszonką lub kiszonką zanieczyszczoną przez przetrwalniki *C. botulinum* lub BoNT/C, D oraz ich odmiany mozaikowe (47). Problematiczne może być także nawożenie pól uprawnych pomiotem kurzym. Ptaki nie są zazwyczaj wrażliwe na działanie BoNT/D, a źródłem przetrwalników *C. botulinum* może być materiał paszowy zanieczyszczony pomiotem kurzym, który jest wykorzystywany do produkcji kiszonek dla bydła. Dane literaturowe wskazują, że drób jest mniej podatny niż bydło na zatrucie jadem kielbasianym typu D i mozaikową formą DC (41). Bezobjawowy transfer toksyny typu D i jej wariantu mozaikowego jest nadal koncepcją tylko hipotetyczną, przy czym nadal jest przedmiotem badań i dyskusji. Wydaje się uzasadnione zalecenie rolnikom kontroli, bezpiecznego przechowywania i właściwego utylizowania ściółki drobiowej (41, 47). Botulizm jest odnotowywany także, względnie często, u zwierząt futerkowych skarmianych ubocznymi produktami poubojowymi (42). *C. botulinum* to gatunek drobnoustrojów charakteryzujący się dużą różnorodnością genetyczną, a zwłaszcza szczepy zaliczane do III grupy, powodujące większość ognisk botulizmu (46, 47).

Drożdże i pleśnie w paszy

Zanieczyszczenie pasz grzybami i ich zarodnikami jest częstym tematem doniesień w literaturze światowej (7, 30). Według raportu Hegazy i wsp. (30), głównymi grzybami pleśniowymi występującymi w paszach dla przeżuwaczy są: *Penicillium* spp., *Aspergillus flavus*, *Cladosporium* spp., *Mucor* spp., *Trichoderma* spp., *Aspergillus niger*, *Alternaria* spp., *Rhizopus* spp., *Fusarium* spp., *A. fumigates* i *A. terreus*. Jak wynika z badań Cegielskiej-Radziejewskiej (7), do najczęstszych rodzajów grzybów pleśniowych wykrywanych w paszach dla drobiu należą: *Aspergillus*, *Rhizopus* i *Mucor*.

Grzyby pleśniowe, które są szeroko rozpowszechnione w glebie, powietrzu, materiale roślinnym i wytwarzane przez nie mikotoksyny stwarzają poważne zagrożenie higieniczne dla zdrowia zwierząt gospodarskich, w wyniku spożywania przez nie zanieczyszczonej paszy (8, 68). W konsekwencji zanieczyszczenie to może wpłynąć na jakość i bezpieczeństwo żywności pochodzenia zwierzęcego, zwłaszcza mleka i mięsa. Również zarodniki grzybów z zanieczyszczonej paszy i materiałów paszowych, takich jak: siano, kiszonka, ziarno piwowarskie, buraki cukrowe – po spożyciu mogą powodować różne schorzenia, takie jak grzybica i poronienie grzybicze (u bydła) (7). Z drugiej strony, niektóre grzyby mogą być wykorzystywane jako probiotyki i mieć pozytywny wpływ na zdrowie zwierząt,

np. *Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus oryzae*, *Pleurotus* spp., *Antrodia cinnamomea* i *Cordyceps militaris*. Grzyby te są bogate w glukany, polisacharydy, polifenole, triterpeny, ergosterol, adenozyne i lakazy – składniki funkcjonalne, które odgrywają ważną rolę w regulacji układu odpornościowego (8, 30).

Nowe wyzwania w bezpieczeństwie pasz

Obecnie, w perspektywie przewidywanego dalszego wzrostu spożycia mięsa, coraz częściej podejmuje się dyskusję o alternatywnych źródłach białka paszowego. Wciąż obserwuje się, że intensywna uprawa roślin i intensywny chów zwierząt powodują poważne negatywne konsekwencje, takie jak niszczenie zasobów naturalnych, zakłócanie równowagi środowiskowej. Znaczenie nowych, alternatywnych rozwiązań żywieniowych wydaje się fundamentalne. Jednym z nich jest przetworzone białko zwierzęce pochodzące z owadów (Insect Processed Animal Proteins – IPAP).

W ostatnich dekadach IPAP zostało uznane za potencjalne przyszłe źródło materiału paszowego, spełniające zapotrzebowania żywieniowe. Poza tym na korzyść zastosowania PAP owadziego w żywieniu zwierząt składają się takie aspekty, jak: wpływ na produkcję gazów cieplarnianych lub mniejsze zużycie wody przez owady w porównaniu ze zwierzętami hodowanymi (6, 32, 52, 60). Widoczne są również korzyści ekonomiczne płynące z hodowli owadów, np. mniejsza powierzchnia terenu wymagana do pozyskania 1 kg białka lub możliwość biokonwersji odpadów organicznych (66). Dostrzeżono także możliwość znacznego wzrostu biomasy w stosunku do powierzchni hodowli umożliwiającej osiągnięcie dużego zagęszczenia. Owady mają niską podatność na choroby i wyróżniają się krótkim stadium larwalnym. Do najbardziej obiecujących gatunków, które mogłyby zastąpić tradycyjne źródła białka, należą mącznik (*Tenebrio molitor*), mucha domowa (*Musca domestica*) i mucha czarna żołnierz (*Hermetia illucens*) (39, 65, 70).

Pomimo wymienionych wyżej zalet, pojawiają się wątpliwości dotyczące m.in. występowania patogenów, toksycznych wydzielin jako mechanizmu obronnego, potencjalnych reakcji alergicznych, niedoboru tiaminy, przenoszenia pestycydów z roślin. Wymienione czynniki są przedmiotem intensywnej dyskusji na temat aspektów bezpieczeństwa (43, 51, 62). W literaturze opisano potencjalne mikrobiologiczne zagrożenia powodowane przez entomofagię, takie jak: botulizm, gruźlica bydła, grypa A, pasożyty (31, 37, 61).

Dane literaturowe wskazują, że z jelit owadów istnieje możliwość wyizolowania takich gatunków chorobotwórczych, jak: *C. botulinum*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aureginosa*, *B. cereus* (44, 48, 66). Piśmiennictwo podaje wiele informacji i doniesień wskazujących na owady jako potencjalne źródło toksynotwórczych bakterii z rodzaju *Clostridium* (3, 20, 27, 29, 31).

Regulacje prawne dotyczące owadów jako paszy są zróżnicowane i zależą od poszczególnych regionów

świata. Istnieje kilka wymogów prawnych, które mają wpływ na wykorzystywanie owadów jako pożywienia i paszy. Należy podkreślić, że na prawodawstwo europejskie miała wpływ gąbczasta encefalopatia bydła (BSE). Według rozporządzenia (UE) 2017/893 (56), karmienie PAP owadźm było dozwolone wyłącznie w przypadku zwierząt akwakultury. Niedawno opublikowano nowe Rozporządzenie (UE) 2021/1372 (57), które zezwala na stosowanie przetworzonego białka zwierzęcego pochodzącego od owadów do karmienia drobiu i trzody chlewnej na takich samych warunkach, jakie są wymagane do karmienia zwierząt akwakultury.

Mikrobiom jelitowy owadów jest zróżnicowany i zależy od warunków hodowli oraz diety. Przetwarzanie owadów odbywa się po opróżnieniu treści jelitowej, jednak pomimo tego niewykluczone są pozostałości kału i obecność mikroorganizmów powierzchniowych, które mogą być chorobotwórcze dla ludzi i zwierząt. Wspomniane patogeny mogą być przenoszone z owadów na paszę. Mikrobiom owadów może zawierać bakterie z rodzajów: *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Escherichia*, *Micrococcus*, *Lactobacillus*, *Acinetobacter* (1, 2, 5, 6). Nieprzetworzone, świeżo zebrane owady wykazują występowanie bakterii przetrwalnikujących i *Enterobacteriaceae* (36). Według raportu przygotowanego przez Komitet Naukowy Belgijskiej Federalnej Agencji Bezpieczeństwa Łańcucha Żywnościowego (22), owady hodowlane przeznaczone do produkcji żywności mogą wykazywać wysokie wartości zanieczyszczeń (do 10^7 jtk/g) ogólnej liczby bakterii.

Mikroflora pasz pozostaje bardzo złożonym i wciąż w dużej mierze niescharakteryzowanym ekosystemem. Szeroki zakres potencjalnych źródeł zanieczyszczeń mikrobiologicznych, które mogą mieć kontakt z paszą, wskazuje na możliwość występowania różnych mikroorganizmów, także tych patogennych.

Większość drobnoustrojów stanowiących mikroflorę paszy ma charakter łagodny, saprofityczny, niewpływający negatywnie na zdrowie zwierząt, jednak pasze są często identyfikowane jako źródło groźnych patogenów, m.in. z rodzajów: *Listeria*, *Clostridium*, *Salmonella*. Prawdopodobnie najlepiej udokumentowanym, o najistotniejszym znaczeniu epidemiologicznym patogenem są pałeczki *Salmonella*, które były wielokrotnie izolowane i identyfikowane z szerokiej gamy mieszanek i materiałów paszowych. Na przykładzie drobnoustrojów z rodzaju *Salmonella* wiadomo, że wychwycenie pasz zanieczyszczonych tymi patogenami jest zadaniem skomplikowanym i ograniczonym przez ich nierównomierne rozmieszczenie, dlatego też niezwykle ważne jest monitorowanie wskaźników jakości mikrobiologicznej, tj. ogólnej liczby drobnoustrojów, liczby grzybów i pleśni, ogólnej liczby bakterii, liczby *Enterobacteriaceae*, itp. Na tej podstawie, można w dużym przybliżeniu określać jakość mikrobiologiczną pasz. Ramy prawne regulujące wymagania mikrobiologiczne dla pasz nie są rygorystyczne, a rozszerzenie ich w sposób zrównoważony jest procesem skompli-

kowanym i wymagającym wielu analiz na wszystkich etapach łańcucha żywnościowego. Niezwykle istotne jest stosowanie zasad Dobrej Praktyki Produkcyjnej (GMP) oraz dalsze badania laboratoryjne nad potencjalnymi patogenami, które zanieczyszczają pasze. Obserwowany stały wzrost produkcji pasz, pojawianie się nowych dodatków i materiałów paszowych wymaga dyskusji pomiędzy producentami, inspektorami, personelem laboratoryjnym, a także ciągłego doskonalenia narzędzi kontroli mikrobiologicznej w celu zapewnienia bezpieczeństwa we wszystkich ogniwach łańcucha żywnościowego.

Piśmiennictwo

1. Agabou A., Alloui N.: Importance of *Alphitobius diaperinus* (Panzer) as a reservoir for pathogenic bacteria in Algerian broiler houses. *Veterinary World* 2010, 3, 71-73.
2. Amadi E. N., Kiin-Kabari D. B.: Nutritional composition and microbiology of some edible insects commonly eaten in Africa, hurdles and future prospects: a critical review. *J. Food Microbiol. Saf. Hyg.* 2016, 1, 1.
3. Anza I., Vidal D., Mateo R.: New insight in the epidemiology of avian botulism outbreaks: necrophagous flies as vectors of *Clostridium botulinum* type C/D. *Environ. Microbiol. Rep.* 2014, 6, 738-743.
4. Blank G., Savoie S., Campbell L. D.: Microbiological decontamination of poultry feed-evaluation of steam conditioners. *J. Sci. Food Agric.* 1996, 72, 299-305.
5. Braide W., Oranusi S. U., Udeghunam L. I., Oguoma O. I., Akobundu C., Nwaoguikpe R. N.: Microbiological quality of an edible caterpillar of an emperor moth, *Bunaea alcinoe*. *J. Ecol. Nat. Environ.* 2011, 3, 176-180.
6. Calvert C. C.: Use of animal excreta for microbial and insect protein synthesis. *Journal of Animal Science* 1979, 48, 178-192.
7. Cegielska-Radziejewska R., Stuper K., Szablewski T.: Microflora and mycotoxin contamination in poultry feed mixtures from western Poland. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 2013, 20, 30-35.
8. Chuang W. Y., Hsieh Y. C., Lee T.-T.: The Effects of Fungal Feed Additives in Animals: A Review. *Animals (Basel)* 2020, 10, 805.
9. Craven S. E.: Colonization of the intestinal tract by *Clostridium perfringens* and fecal shedding in diet-stressed and unstressed broiler chickens. *Poultry Science* 2000, 79, 843-849.
10. Dargatz D. A., Wells S. J., Thomas L. A., Hancock D. D., Garber L. P.: Factors associated with the presence of *Escherichia coli* O157 in feces of feedlot cattle. *J. Food Prot.* 1997, 60, 466-470.
11. Dodd C. C., Sanderson M. W., Sargeant J. M., Nagaraja T. G., Oberst R. D., Smith R. A., Dee Griffin D.: Prevalence of *Escherichia coli* O157 in Cattle Feeds in Midwestern Feedlots. *Appl. Environ. Microbiol.* 2003, 69, 5243-5247.
12. Dosoky R. M.: The role of environment in the occurrence of clostridial infection among fowl. *Assiut Veterinary Medical Journal* 1990, 24, 165-171.
13. Dyrektywa 2003/99/WE Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 17 listopada 2003 r. w sprawie monitorowania chorób odzwierzęcych i odzwierzęcych czynników chorobotwórczych, zmieniająca decyzję Rady 90/424/EWG i uchylająca dyrektywę Rady 92/117/EWG.
14. EFSA. Microbiological risk assessment in feeding stuffs for food-producing animals. Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards. The EFSA Journal 2008, 720, 1-84.
15. EFSA. The Community Summary Report on Foodborne Outbreaks in The European Union in 2007. The EFSA Journal 2009b, 271.
16. EFSA. The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents, Antimicrobial Resistance and Foodborne Outbreaks in The European Union in 2007. The EFSA Journal 2009a, 223.
17. EFSA. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017. EFSA Journal 2018 16:e05500.
18. EFSA and ECDC. The European Union One Health 2018 Zoonoses Report. EFSA J. 2019, 17, 5926.
19. El Marnissi B., Bennani L., Cohen N., El Ouali Lalami A., Belkhou R.: Presence of *Listeria monocytogenes* in raw milk and traditional dairy products marketed in the north-central region of Morocco. *Afr. J. Food Sci.* 2013, 7 (5), 87-91.
20. Espelund M., Klaveness D.: Botulism outbreaks in natural environments – an update. *Front. Microbiol.* 2014, 5, 287.
21. European Commission.: Clostridia in medical, veterinary and food microbiology diagnosis and typing. European Concerted Action QLK2-CT2001-01267 Genus *Clostridium*. Brussels 2006.
22. FASFC.: Food safety aspects of insects intended for human consumption (Sci Com dossier 2014/04; SHC dossier n° 9160). FASFC's Scientific Committee and the Committee of the Superior Health Council (SHC). Brussels (Belgium) 2014.

23. Fenlon D. R.: *Listeria monocytogenes* in the natural environment, [w:] E. T. Ryser, E. H. Marth (red.): *Listeria, listeriosis and food safety*. 2nd ed. Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y. 1999, p. 21-38.
24. Ferrari R. G., Rosario D. K. A., Cunha-Neto A., Mano S. B., Figueiredo E. E. S., Conte-Junior C. A.: Worldwide epidemiology of *Salmonella* serovars in animal-based foods: a meta-analysis. *Appl. Environ. Microbiol.* 2019, 85, e00591-19.
25. Frame D. D., Bickford A. A.: An outbreak of coccidiosis and necrotic enteritis in 16-week-old cage-reared layer replacement pullets. *Avian Diseases* 1986, 30, 601-602.
26. Frazier W. C., Westhoff D. C.: *Food microbiology*. 4th ed., McGraw-Hill, New York 1988.
27. Garofalo C., Osimani A., Milanović V., Taccari M., Cardinali F., Aquilanti L., Riolo P., Ruschioni S., Isidoro N., Clementi F.: The microbiota of marketed processed edible insects as revealed by high-throughput sequencing. *Food Microbiology* 2017, 62, 15-22.
28. Goossens E., Valgaeren B. R., Pardon B., Haesebrouck F., Ducatelle R., Deprez P. R., Van Immerseel F.: Rethinking the role of alpha toxin in *Clostridium perfringens*-associated enteric diseases: a review on bovine necro-haemorrhagic enteritis. *Vet. Res.* 2017, 48, doi: 10.1186/s13567-017-0413-x.
29. Grabowski N. T., Klein G.: Microbiology of processed edible insect products – Results of a preliminary survey. *International Journal of Food Microbiology* 2017, 243, 103-107.
30. Hegazy S. M. S., Hassan W. H., Shawki H. M., El-Lateef Osama W. A.: Study on toxigenic fungi in ruminant feeds under desert conditions with special references to its biological control. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences* 2015, 4, 167-173.
31. Hubalek Z., Halouzka J.: Persistence of *Clostridium botulinum* type C toxin in blow fly (*Calliphoridae*) larvae as a possible cause of avian botulism in spring. *Journal of Wildlife Diseases* 1991, 27, 81-85.
32. Huis A. van, Oonincx D. G. A. B.: The environmental sustainability of insects as food and feed. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 2017, 37, 43.
33. Hutchison M. L., Thomas D. J. I., Avery S. M.: Thermal death of *Escherichia coli* O157:H7 in cattle feeds. *Lett. Appl. Microbiol.* 2007, 44, 357-363.
34. Immerseel F. van: *Clostridium perfringens* in poultry: an emerging threat for animal and public health. *Avian Pathology* 2004, 33, 537-549.
35. Kiu R., Hall L. J.: An update on the human and animal enteric pathogen *Clostridium perfringens*. *Emerg. Microbes. Infect.* 2018, 7, 1-15.
36. Klunder H. C., Wolters-Rooijackers J., Korpela J. M., Nout M. J. R.: Microbiological aspects of processing and storage of edible insects. *Food Control* 2012, 26, 628-631.
37. Kruse H., Kirkemo H.-M., Handeland K.: Wildlife as source of zoonotic infections. *Emerging Infectious Diseases* 2004, 10, 2067-2072.
38. Kutkowska J., Michalska-Szymaszek M., Matuszewska R., Chmiel E., Urbanik-Sypniewska T.: Cell-surface antigens and virulence factors of *Escherichia coli* O157. *Advancements of Microbiology* 2015, 54, 53-64.
39. Kwiatek K., Sieradzki Z., Osiński Z., Bakula T., Kowalczyk E.: Wytyczne dobrej praktyki higienicznej, produkcyjnej i bioasekuracji w wytwarzaniu białka owadziego dla celów paszowych i spożywczych. Wydawnictwo PIWet-PIB, Puławy 2021, s. 8-39.
40. Lado B. H., Yousef A. E.: Characteristics of *Listeria monocytogenes* important to food processors, [w:] Ryser E. T., Marth E. H. (eds) *Listeria, listeriosis and food safety*. 3rd ed., CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton 2007, s. 157-213.
41. Le Marechal C., Woudstra C., Fach P.: Botulism, [w:] F. A. Uzal, J. G. Songer, J. F. Prescott, M. R. Popoff (red.): *Clostridial Diseases of Animals*. Blackwell Publishing, Ames, IA, 2016, s. 303-330.
42. Lindström M., Nevas M., Kurki J., Sauna-aho R., Latvala-Kiesila A., Pölönen I., Korkeala H.: Type C botulism due to toxic feed affecting 52,000 farmed foxes and minks in Finland. *J. Clin. Microbiol.* 2004, 42, 4718-4725.
43. Liu Z., Xia L., Wu Y., Xia Q., Chen J., Roux K. H.: Identification and characterization of an arginine kinase as a major allergen from silkworm (*Bombyx mori*) larvae. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2009, 150, 8-14.
44. Maciel-Vergara G., Jensen A. B., Eilenberg J.: Cannibalism as a possible entry route for opportunistic pathogenic bacteria to insect hosts, exemplified by *Pseudomonas aeruginosa*, a pathogen of the giant mealworm *Zophobas morio*. *Insects* 2018, 9, 88.
45. Moeller R. B. Jr., Puschner B., Walker R. L., Rocke T., Galey F. D., Cullor J. S., Ardans A. A.: Determination of the median toxic dose of type C. botulinum toxin in lactating dairy cows. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2003, 15, 523-526.
46. Myllykoski J., Nevas M., Lindström M., Korkeala H.: The detection and prevalence of *Clostridium botulinum* in pig intestinal samples. *Int. J. Food. Microbiol.* 2006, 110, 172-177.
47. Nakamura K., Kohda T., Umeda K., Yamamoto H., Mukamoto M., Kozaki S.: Characterization of the D/C mosaic neurotoxin produced by *Clostridium botulinum* associated with bovine botulism in Japan. *Vet. Microbiol.* 2010, 140, 147-154.
48. Nayduch D., Cho H., Joyner C.: Staphylococcus aureus in the House Fly: Temporospatial fate of bacteria and expression of the antimicrobial peptide defensin. *J. Med. Entomol.* 2013, 50, 171-178.
49. Newell D. G., Fearnley C.: Sources of *Campylobacter* colonization in broiler chickens. *Appl. Environ. Microbiol.* 2003, 69, 4343-4351.
50. Nightingale K. K., Schukken Y. H., Nightingale C. R., Fortes E. D., Ho A. J., Her Z., Grohn Y. T., McDonough P. L., Wiedmann M.: Ecology and transmission of *Listeria monocytogenes* infecting ruminants and in the farm environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 2004, 70, 4458-4467.
51. Nishimune T., Watanabe Y., Okazaki H., Akai H.: Thiamin is decomposed due to *Anophe* spp. entomophagy in seasonal ataxia patients in Nigeria. *J. Nutr.* 2000, 130, 1625-1628.
52. Oonincx D. G. A. B., van Itterbeeck J., Heetkamp M. J. W., van den Brand H., van Loon J. J. A., van Huis A.: An exploration on greenhouse gas and ammonia production by insect species suitable for animal or human consumption. 2010, 5, e14445.
53. Queiroz O. C. M., Ogunade I. M., Weinberg Z., Adesogan A. T.: Silage review: Foodborne pathogens in silage and their mitigation by silage additives. *J. Dairy Sci.* 2018, 101, 4132-4142.
54. Rozporządzenie (WE) nr 183/2005 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 12 stycznia 2005 r. ustanawiające wymagania dotyczące higieny pasz.
55. 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.
56. Rozporządzenie Komisji (UE) 2017/893 z dnia 24 maja 2017 r. zmieniające załączniki I i IV do rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 999/2001 oraz załączniki X, XIV i XV do rozporządzenia Komisji (UE) nr 142/2011 w odniesieniu do przepisów dotyczących przetworzonego białka zwierzęcego.
57. Rozporządzenie Komisji (UE) 2021/1372 z dnia 17 sierpnia 2021 r. zmieniające załącznik IV do rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 999/2001 w odniesieniu do zakazu karmienia zwierząt gospodarskich innych niż przeżuwacze, innych niż zwierzęta futerkowe, białkiem pochodzącym od zwierząt.
58. Rozporządzenie Komisji (UE) nr 142/2011 z dnia 25 lutego 2011 r. w sprawie wykonania rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1069/2009 określającego przepisy sanitarne dotyczące produktów ubocznych pochodzenia zwierzęcego, nieprzeznaczonych do spożycia przez ludzi, oraz w sprawie wykonania dyrektywy Rady 97/78/WE w odniesieniu do niektórych próbek i przedmiotów zwolnionych z kontroli weterynaryjnych na granicach w myśl tej dyrektywy.
59. Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1069/2009 z dnia 21 października 2009 r. określające przepisy sanitarne dotyczące produktów ubocznych pochodzenia zwierzęcego, nieprzeznaczonych do spożycia przez ludzi, i uchylające rozporządzenie (WE) nr 1774/2002 (rozporządzenie o produktach ubocznych pochodzenia zwierzęcego).
60. Rumpold B. A., Oliver K., Schlüter O. K.: Potential and challenges of insects as an innovative source for food and feed production. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 2013, 17, 1-11.
61. Rumpold B. A., Schlüter O. K.: Nutritional composition and safety aspects of edible insects. *Mol. Nutr. Food Res.* 2013, 57, 802-823.
62. Saeed T., Dagga F. A., Saraf M.: Analysis of residual pesticides present in edible locusts captured in Kuwait. *Arab. Gulf J. Sci. Res.* 1993, 11, 1-5.
63. Sargeant J. M., Gillespie J. R., Oberst R. D., Phebus R. K., Hyatt D. R., Bohra L. K., Galland J. C.: Results of a longitudinal study of the prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 on cow-calf farms. *Am. J. Vet. Res.* 2000, 61, 1375-1379.
64. Skovgaard N., Morgen C. A.: Detection of *Listeria* spp. in faeces from animals, in feeds, and in raw foods of animal origin. *Int. J. Food Microbiol.* 1988, 6, 229-242.
65. Sogari G., Amato M., Biasato I., Chiesa S., Gasco L.: The potential role of insects as feed: a multi-perspective review. *Animals* 2019, 9, 119.
66. Song F., Peng Q., Brillard J., Lereclus D., Nielsen-LeRoux C.: An insect gut environment reveals the induction of a new sugar-phosphate sensor system in *Bacillus cereus*. *Gut Microbes* 2014, 5, 58-63.
67. Songer J. G.: Clostridial enteric diseases of domestic animals. *Clinical Microbiology Reviews* 1996, 9, 216-234.
68. Variane A. C. F., dos Santos F. C., Fernandes de Castro F., Barbosa-Tessmann I. P., dos Santos G. T., dos Santos Pozza M. S.: The occurrence of aflatoxigenic *Aspergillus* spp. in dairy cattle feed in Southern Brazil. *Braz. J. Microbiol.* 2018, 49, 919-928.
69. Wagner M., Melzner D., Bagò Z., Winter P., Egerbacher M., Schilcher F., Zangana A., Schoder D.: Outbreak of Clinical Listeriosis in Sheep: Evaluation from possible Contamination Routes from Feed to Raw Produce and Humans. *J. Vet. Med. B.* 2005, doi: 10.1111/j.1439-0450.2005.00866.x.
70. Wang Y., Shelomi M.: Review of black soldier fly (*Hermetia illucens*) as animal feed and human food. *Foods* 2017, 6, 91.
71. Whyte P., Mc Gill K., Collins J. D.: A survey of the prevalence of *Salmonella* and other enteric pathogens in a commercial poultry feedmill. *J. Food Saf.* 2003, 23, 13-24.

Autor korespondencyjny: dr inż. Tomasz Grenda, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy; e-mail: tomasz.grenda@piwet.pulawy.pl