

Pseudomonas aeruginosa jako flora bytująca w nasieniu zwierząt z uwzględnieniem patogenności zarazka

ANNA POBUCEWICZ, PAWEŁ NAWROTEK, AGNIESZKA CZECZOTT-URBAN, JAN UDAŁA*, ANTONI J. FUROWICZ, DANUTA CZERNOMYSY-FUROWICZ

Katedra Immunologii i Mikrobiologii Wydziału Biotechnologii i Hodowli Zwierząt ZUT, ul. Doktora Judyma 24, 71-466 Szczecin

*Katedra Rozrodu Zwierząt Wydziału Biotechnologii i Hodowli Zwierząt ZUT, ul. Doktora Judyma 6, 71-466 Szczecin

Pobucewicz A., Nawrotek P., Czeczott-Urban A., Udała J., Furowicz A. J., Czernomysy-Furowicz D.
Pseudomonas aeruginosa as microflora existing in semen taking into account its pathogenicity

Summary

Pseudomonas spp., are Gram-negative rods belonging to the Pseudomonadaceae family. These bacteria often change their phenotypic characteristics, are very adaptable and also resistant to most of the utilized antibiotics and disinfectants. The major representative of these bacteria is *Pseudomonas aeruginosa* (blue pus rod), which is primarily considered as a dangerous pathogen not only to humans but also for animals. *P. aeruginosa* is isolated from the gastrointestinal tract but these bacteria also constitute physiological microflora of the semen. Strains with increased virulence present in semen may involve the reproductive processes of the utilized breeds. These microorganisms are also used in ecology for the decomposition of oil-derivative components.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, semen, environment protection

Rodzaj *Pseudomonas* to tlenowe, Gram-ujemne pałeczki (33, 34). Prawie połowa gatunków tego rodzaju wytwarza fluoryzujące lub niefluoryzujące barwniki fenazyne, a także barwniki karotenoidowe o kolorze zielonym, niebieskim, brązowym, czerwonym, łososiowym, żółtym bądź fioletowym (18). Pałeczki *Pseudomonas aeruginosa* (pałeczki ropy błękitnej), szczególnie szczepy izolowane ze środowiska szpitalnego, są częstą przyczyną różnych zakażeń człowieka (20). Nie są wrażliwe na większość stosowanych powszechnie środków dezynfekcyjnych, co więcej – mogą je wykorzystywać do budowy własnych komórek jako źródło węgla (preparaty na bazie heksachlorofenu) i azotu (czwartorzędowe związki amonowe) (13, 19). Według Kędzi (19), oporność na dezynfektanty determinuje wyższą zjadliwość tych drobnoustrojów.

Pałeczki te rozkładają związki ropopochodne (15, 26), tworzywa sztuczne oraz mają znaczny udział w procesach biodegradacji innych związków organicznych zanieczyszczających środowisko, takich jak np. kwasy tłuszczowe, pestycydy. Tak więc mikroorganizmy te po odpowiednim przygotowaniu i podaniu ograniczają wpływ substancji powodujących skażenie wód gruntowych, ziemi uprawnej i otwartych zbiorników wodnych; tym samym mogą eliminować następ-

stwa oddziaływania tych substancji, często bardzo toksycznych i niekiedy kancerogennych dla zwierząt i człowieka (15, 26).

Chorobotwórczość *Pseudomonas aeruginosa*

Toksyczność oraz inwazyjność tych bakterii związana jest z następującymi czynnikami: letalną egzotoksyną A, endotoksyną (lipopolisacharydem – LPS), leukocydyną, enterotoksyną, enzymami proteolitycznymi – kolagenazą i elastazą, hemolizynami i zewnątrzkomórkowym śluzem. Za zjawisko adhezji i kolonizacji *P. aeruginosa* odpowiedzialne są swoiste dla tego gatunku fimbrie adhezyjne (9, 17, 23, 24, 28). Ważną rolę w patogenezie odgrywa także piocyjanina, która ze względu na właściwości antybiotyczne hamuje wzrost innych drobnoustrojów, ułatwiając tym samym kolonizację osłabionego organizmu przez *Pseudomonas* spp. (9, 24, 38).

Istotną sprawą w patogenności pałeczek *P. aeruginosa* jest ich wzrost w postaci biofilmu („city of microbes”). Dotyczy to także wzrostu ich oporności na antybiotyki i środki odkażające, jak również na elementy układu odpornościowego (35). Generalnie uważa się, iż komórki bakteryjne występujące w formie biofilmu mogą być do 1000 razy bardziej odporne na

antybiotyk aniżeli ten sam drobnoustroj namnażający się w formie planktonowej. Dotyczy to poza szczepami *Pseudomonas*, drobnoustrojów *Acinetobacter spp.* oraz gronkowców (35, 41). Właściwość bakterii do syntezy biofilmu jest uważana za bardzo istotny element wirulencji, ważny w patogenezie (41). Występowanie pałeczek *P. aeruginosa* w formie biofilmu stwierdza się, m.in. u chorych z przewlekłą chorobą oskrzelowo-płucną. Aktywność metaboliczną biofilmów można także odnotować w badaniach *in vitro*. Dotyczy to m.in. wydzielania aktywnych proteaz i piovwerdiny *P. aeruginosa* do podłoża hodowlanego (35). W płwocinie chorych na mukowiscydozę, w rezultacie długotrwałego zakażenia, bakterie te dosyć szybko się dzielą. Tak więc wbrew wcześniejszym sugestiom nie są one „uśpione” metabolicznie. Wydzielane przez nie elementy zjadliwości (proteazy, lipazy) prowadzą do destrukcji tkanek gospodarza (człowieka lub zwierzęcia) oraz stymulacji odpowiedzi zapalnej (35).

Należy także podkreślić, iż leczenie zakażeń na tle *P. aeruginosa* jest trudne, gdyż często są one odporne na wiele antybiotyków (13). Natomiast wrażliwość wykazują z reguły na: imipenem (39), piperacylinę, polimiksyny oraz częściowo na karbenicylinę, gentamycynę, tobramycynę, kanamycynę i neomycynę (13, 39, 40). Lekooporne szczepy powstają na drodze mutacji i przenoszenia materiału genetycznego (plazmid R) (3).

Pałeczka ropy błękitnej jest oportunistą i wywołuje infekcje u organizmów ludzkich i zwierzęcych z obniżoną odpornością (13, 21, 25, 28). Stanowi przyczynę ciężkich powikłań oparzeń i ran pooperacyjnych (6, 20). Ponadto *P. aeruginosa* może powodować: infekcje układu oddechowego, dróg moczowych, oczu, skóry, zakażenia płodów, zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych (głównie noworodków), zapalenie ucha środkowego i zewnętrznego, kości kończyn. Może być także przyczyną zatruc pokarmowych, jako następstwo zanieczyszczenia żywności, głównie mleka i jego przetworów (6, 20, 37).

Odnotowano, iż *Pseudomonas aeruginosa* może wywoływać infekcje nie tylko różnych gatunków zwierząt (13, 25), ale również roślin (4, 22, 32). Wśród roślin najbardziej wrażliwe na zakażenia pałeczkami ropy błękitnej są warzywa: seler, pomidory, cykoria, marchew, ogórek, zielona sałata oraz kwiaty: aster, fiołek afrykański, azalia, petunia, begonia i chryzantema (22, 32). Wśród zwierząt natomiast największą podatność na zakażenia obserwuje się u: bydła, świń, koni, kóz oraz owiec. Dotyczy to głównie zwierząt, które były nieprawidłowo żywione i/lub długo i z reguły bezskutecznie leczone antybiotykami (13, 25) bądź też osobników o obniżonej odporności (11). Najczęściej występującymi schorzeniami zwierząt na tle pałeczek ropy błękitnej są: *mastitis* i *endometritis* u bydła, *otitis externa* u psów i kotów (6, 13), zapalenie gałki ocznej u owiec (13), zamieranie zarodków kurzych o przebiegu enzootycznym (6) oraz zamieranie piskląt indyjskich (30).

***Pseudomonas aeruginosa* jako flora obecna w nasieniu**

Najczęściej występującymi w nasieniu mikroorganizmami są: *Staphylococcus spp.*, *P. aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* (29), *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus zooepidemicus*, a także wirusy i pierwotniaki (27). Większość bakterii kolonizująca zewnętrzne narządy płciowe i występująca w nasieniu zwierząt nie jest uznawana za patogenne (27). Dopiero w sprzyjających warunkach mogą one powodować różne schorzenia (27).

Pseudomonas spp. mogą być izolowane z nasienia ogierów, knurów (1, 5, 25) oraz buhajów (11, 12, 29), gdzie stanowią często jedynie mały odsetek wśród różnych grup bakterii i są izolowane przeważnie od samców z prawidłową płodnością (8). Najczęściej z nasienia izolowany jest *P. aeruginosa* oraz rzadziej – *P. fluorescens* (5, 8). Drobnoustroje te, bytując w narządach rozrodczych samca, nie wywołują z reguły widocznych objawów klinicznych. Największym ich rezerwuarem jest napletek, skąd w czasie ejakulacji przedostają się w dużych ilościach do nasienia. Sporadycznie izolowane są szczepy o znacznym stopniu potencjalnej zjadliwości, zdolne do produkcji toksyn, inwazyj i innych metabolitów (1, 6). Wykazano, że zwiększona liczba drobnoustrojów w ejakulatach może wywierać niekorzystny wpływ na przeżywalność i ruchliwość plemników, a tym samym na skuteczność zabiegów inseminacyjnych (5, 16, 25). Gączarzewicz i wsp. (16) stwierdzili, że nawet niewielka liczba komórek *P. aeruginosa* skraca czas przeżywalności plemników w rozrzedzonym nasieniu knurów. Ponadto, wraz z każdą kolejną dobą przechowywania rozrzedzonego nasienia knura powyżsi autorzy wykazywali gwałtowne namnażanie pałeczek ropy błękitnej obecnych w dawkach inseminacyjnych. Czeczott-Urban i wsp. (5) izolowali te pałeczki zarówno z pełnego, jak i rozcieńczonego nasienia knurów. Wykazali oni, że konserwowane nasienie knura zawierało do 150 000 komórek *P. aeruginosa* w 1 cm³. Do rozcieńczonego nasienia knura dodawana jest m.in. gentamycyna. Izolowane z takiego nasienia pałeczki *P. aeruginosa* w powyższych badaniach Czeczott-Urban i wsp. (5) były odporne na gentamycynę, natomiast wrażliwe jedynie na imipenem oraz norfloksacynę. Do podobnych wniosków doszli Eaglesome i wsp. (11, 12), którzy wykazali, że wykorzystywana do konserwowania rozcieńczonego nasienia gentamycyna zmniejszała jedynie liczbę pałeczek ropy błękitnej (12).

Inseminacja nasieniem zanieczyszczonym toksycznymi szczepami *P. aeruginosa* może niekiedy powodować stany zapalne narządów rodnych loch oraz zakażenia prosiąt noworodków, tym bardziej, jeżeli szczepy te posiadają gen *toxA*, determinujący syntezę letalnej toksyny (6). Dietz i wsp. (10) udowodnili natomiast, że piperacylina i tikarcylicyna nie wpływały na ruchliwość plemników koni. Ponadto odnotowali, że

piperacylina skuteczniej ograniczała wzrost pałeczek *P. aeruginosa* stanowiących fizjologiczną florę zasiedlającą zewnętrzne narządy płciowe ogierów (10). Z kolei, według Vaillancourta i wsp. (36), skutecznymi i najczęściej dodawanymi antybiotykami przy przechowywaniu nasienia okazały się gentamycyna (100 ug/mL) z polimyksyną B (1000 U/mL). Antybiotyki te powodowały zahamowanie wzrostu pałeczek ropy błękitnej już po 30 minutach. Według nich, zapobiegały one zakażeniom macicy na tle *P. aeruginosa* u inseminowanych klaczy (36). Aurich i Spersger (1) izolowali te pałeczki z zewnętrznych narządów płciowych zdrowych ogierów i wykazali ich negatywny wpływ na ruchliwość i szybkość plemników już po 24 godzinach przechowywania w temperaturze -80°C , w wyniku uszkodzenia błon otaczających te komórki. Obniżona liczba ruchliwych plemników oraz ograniczenie ich szybkości przyczyniły się do zmniejszenia liczby zapłodnionych klaczy. Badacze ci stwierdzili także, że dodatek gentamycyny nie powoduje zahamowania wzrostu tych pałeczek w nasieniu ogierów (1, 2). Aurich i Spersger (2) wykazali także, że gentamycyna w stężeniach większych niż 1 mg/mL wpływa negatywnie na funkcje plemników. Vaillancourt i wsp. (36) wykazali wpływ temperatury, w której przechowywane było nasienie, na liczebność bakterii. Odnotowali oni, że liczba bakterii zanieczyszczających nasienie ulegała zmniejszeniu, gdy próby były przechowywane w temperaturze 5°C , natomiast nie zmniejszała się w temperaturze 20°C przez 24-48 godzin. Powyżsi autorzy zauważyli także, że liczba drobnoustrojów w nasieniu zwiększała się już po jednej godzinie inkubacji w temperaturach 37°C oraz 38°C , gdy nie dodawano antybiotyków. Wykazali oni ponadto, że nasienie ogierów przechowywane w temperaturze 20°C przez 48 godzin charakteryzowało się zmniejszonymi zdolnościami zapładniającymi, za co najprawdopodobniej były odpowiedzialne obecne w nim drobnoustroje. W temperaturze tej nasienie może być przechowywane nie dłużej niż przez 8 godzin, o ile dodano do niego antybiotyki. Okazało się ponadto, że przedłużenie czasu przechowywania nasienia wymaga obniżenia temperatury do 5°C . W tej temperaturze plemniki zachowywały swoją żywotność, a liczebność mikroorganizmów zanieczyszczających nasienie zmniejszała się. Wymienieni autorzy wskazali ponadto, iż stosowanie właściwie dobranych antybiotyków polepsza przeżywanie plemników w nasieniu, redukuje zakażenia macicy u klaczy oraz zwiększa skuteczność zająścia w ciążę (36).

Danek i wsp. (8), identyfikując mikroflorę zanieczyszczającą nasienie ogierów, stwierdzili w nim obecność rodzaju *Pseudomonas* oraz dowiedli, iż pałeczki te nie tylko mogą być przenoszone w czasie krycia, ale często są czynnikami etiologicznymi stanów zapalnych narządów płciowych klaczy, co powoduje ronienia i jałowość. Dotyczy to także infekcji narządów rodnych u samców (8). Według innych badaczy, izo-

lowane z nasienia ogierów pałeczki ropy błękitnej mogą być przyczyną *endometritis* (10, 31, 36), przedłużających się stanów zapalnych układu rozrodczego klaczy (2, 27) spadku płodności (10) lub nawet niepłodności klaczy (27, 31, 36). Maciak i wsp. (25) donoszą, że *P. aeruginosa* były przyczyną ronień u krów, owiec, lisów i czarnych panter. Odnotowano, iż w dawnym województwie gdańskim pałeczka ta stanowiła przyczynę 0,31% przypadków ronień u bydła w hodowli wielkostadnej (25). Prince i wsp. (29) izolowali *P. aeruginosa* z nasienia pochodzącego od buhajów płodnych i bezpłodnych, sugerując, że mimo iż drobnoustroje te w większości przypadków nie mają zasadniczego wpływu na płodność samców, to jednak w pojedynczych przypadkach mogą być przyczyną niepłodności. Stwierdzili oni także, że mimo iż pałeczka ropy błękitnej jest jednym z mniej wirulentnych drobnoustrojów wyosobnianych z nasienia, to w sprzyjających warunkach może wywoływać poważne schorzenia u zwierząt (29).

Pseudomonas aeruginosa może być przyczyną poważnych chorób układu rozrodczego krów, jednak nie jest do końca wyjaśnione, na czym polega jej rola w powodowaniu tych schorzeń (11, 12). Eaglesome i Garcia (11) prowadząc badania nad obecnością pałeczek ropy błękitnej w nasieniu buhajów stwierdzili, że dodatek różnych antybiotyków do prób nasienia wykorzystywanego do inseminacji krów nie powinien mieć szkodliwego wpływu na jego jakość ani na płodność inseminowanych zwierząt. Zauważyli oni także, że aby wyeliminować całkowicie te pałeczki z nasienia, czas jego inkubacji z antybiotykami powinien być dłuższy niż w przypadku innych drobnoustrojów i wynosić co najmniej 40 minut. Eaglesome i wsp. (12) w wyniku swoich doświadczeń wykazali, że obecność tych pałeczek nie powodowała spadku płodności krów wykorzystywanych do inseminacji ani nie miała negatywnego wpływu na rozwój w warunkach *in vitro* pobranych od nich zarodków. Pozostaje jednak możliwość, że ich obecność może być przyczyną zmniejszenia ruchliwości plemników, a także może powodować poronienia. Z kolei D'Angelo i wsp. (7) stwierdzili, że pałeczki *P. aeruginosa* stanowią zanieczyszczenie w hodowlach zarodków powstałych na drodze zapłodnienia *in vitro*, i że nasienie przeznaczone do sztucznego zapłodnienia powinno być całkowicie pozbawione tych drobnoustrojów, które w tym środowisku ze względu na dogodnie dla nich warunki ulegają szybkiemu rozwojowi. Należy podkreślić, że niektóre typy piocyjanowe *P. aeruginosa* występujące w nasieniu buhajów zostały określane jako szczepy wyjątkowo chorobotwórcze dla człowieka, o charakterze drobnoustrojów szpitalnych. Badania takie zostały zrealizowane przez Furowicza i wsp. (14).

Jak wskazuje większość badań, obecność pałeczek *P. aeruginosa* w nasieniu może być bardzo kłopotliwa i tym samym może wpływać negatywnie na funkcje plemników, stan narządów płciowych oraz powodo-

wać ronienia. Należy podkreślić, iż w tym kontekście jest rzeczywiście uważana za jeden z mniej chorobotwórczych drobnoustrojów izolowanych z nasienia, ale w sprzyjających warunkach powodujący poważne schorzenia zwierząt. Dlatego też należałoby wyeliminować lub ograniczyć obecność tych pałeczek w nasieniu.

Piśmiennictwo

- Aurich C., Spergser J.: Influence of bacteria and gentamicin on cooled-stored stallion spermatozoa. *Theriogenology* 2007, 67, 912-918.
- Aurich C., Spergser J.: Influence of genitally pathogenic bacteria and gentamicin on motility and membrane integrity of cooled-stored stallion spermatozoa. *Anim. Reprod. Sci.* 2006, 94, 117-120.
- Cebzat S., Mordarski M.: Genetyka pałeczek z rodzaju *Pseudomonas*, [w:] B. Kędzia (red.): Pałeczki *Pseudomonas*, właściwości, zakażenia, profilaktyka. PZWL, Warszawa 1982, 63-74.
- Choi J. Y., Sifri C. D., Goumnera B. C., Rahme L. G., Ausubel F. M., Calderwood S. B.: Identification of virulence genes in a pathogenic strain of *Pseudomonas aeruginosa* by representational difference analysis. *J. Bacteriol.* 2002, 184, 4, 952-961.
- Czczott-Urban A., Czernomysy-Furowicz D., Gączarzewicz D., Udała J., Błaszczuk B.: Wrażliwość szczepów z rodzaju *Pseudomonas* wyizolowanych z nasienia knurów na wybrane antybiotyki. *Zesz. Nauk. Przeg. Hod.* 2003, 68, 02, 71-75.
- Czczott-Urban A., Furowicz A. J.: Oznaczanie genu *toxA* determinującego syntezę toksyny letalnej u szczepów *Pseudomonas aeruginosa* wyosobnionych z nasienia knurów. *Medycyna Wet.* 2005, 61, 330-331.
- D'Angelo M., Pavão D. L., Melo G. M., Rojas N., Souza R. J., Athayde C., Galuppo A. G., Pinheiro E. S.: Acceptable microorganisms concentration in a semen sample for in vitro embryo production. *Braz. J. Microbiol.* 2006, 37, 571-572.
- Danek J., Wiśniewski E., Krumrych W., Dąbrowska J.: Występowanie i wrażliwość na antybiotyki warunkowo chorobotwórczych bakterii izolowanych z nasienia ogierów. *Medycyna Wet.* 1994, 50, 385-387.
- Deckert J.: Metabolizm pałeczek z rodzaju *Pseudomonas*, [w:] B. Kędzia (red.): Pałeczki *Pseudomonas*, właściwości, zakażenia, profilaktyka. PZWL, Warszawa 1982, 39-62.
- Dietz J. P., Sertich P. L., Boston R. C., Benson C. E.: Comparison of ticarcillin and piperacillin in Kenney's semen extender. *Theriogenology* 2007, 68, 848-852.
- Eaglesome M. D., Garcia M. M.: Comparisons of antibiotic combinations to control *Pseudomonas aeruginosa* in bovine semen. *Can. J. Vet. Res.* 1995, 59, 73-75.
- Eaglesome M. D., Garcia M. M., Bielanski A. B.: A study on the effect of *Pseudomonas aeruginosa* in semen on bovine fertility. *Can. J. Vet. Res.* 1995, 59, 76-78.
- Furowicz A. J., Nowakowski W., Matuszczyk S.: Aktualne poglądy na toksyczne i inwazyjne właściwości pałeczek *Pseudomonas aeruginosa* z uwzględnieniem ich krążenia w przyrodzie. *Medycyna Wet.* 1980, 36, 268-272.
- Furowicz A. J., Nowakowski W., Wierzbowski S.: Studies on biochemical properties and aeruginocin typing of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from the frozen bull semen. *Indian J. Pathol. Microbiol.* 1984, 27, 249-259.
- Galas E., Kwapisz E., Tarabosz-Szymańska K., Krystynowicz A., Antczak T., Oryńska A.: Charakterystyka wybranych szczepów bakterii degradujących węglowodory ropy naftowej. *Biotechnologia* 1997, 36, 145-157.
- Gączarzewicz D., Udała J., Błaszczuk B., Czernomysy-Furowicz D., Czczott-Urban A.: Zanieczyszczenie mikrobiologiczne konserwowanego w rozcieńczalniku BTS nasienia knura. *Zesz. Nauk. Przeg. Hod.* 2003, 68, 77-86.
- Holder I. A., Neely A. N.: *Pseudomonas* elastase acts as a virulence factor in burned hosts by Hageman factor-dependent activation of the host kinin cascade. *Infect. Immun.* 1989, 57, 3345-3348.
- Kędzia B.: Morfologia, fizjologia, izolacja i identyfikacja pałeczek z rodzaju *Pseudomonas*, [w:] B. Kędzia (red.): Pałeczki *Pseudomonas*, właściwości, zakażenia, profilaktyka. PZWL, Warszawa 1982, 11-28.
- Kędzia W. B.: Dezynfekcja i antyseptyka w profilaktyce zakażeń wywołanych przez pałeczki *Pseudomonas*, [w:] B. Kędzia (red.): Pałeczki *Pseudomonas*, właściwości, zakażenia, profilaktyka. PZWL, Warszawa 1982, 113-132.
- Kędzia W. B.: Zakażenia i chorobotwórczość pałeczek z rodzaju *Pseudomonas*, [w:] B. Kędzia (red.): Pałeczki *Pseudomonas*, właściwości, zakażenia, profilaktyka. PZWL, Warszawa 1982, 75-92.
- Kimata N., Nishino T., Suzuki S., Kogure K.: *Pseudomonas aeruginosa* isolated from marine environments in Tokyo bay. *Microb. Ecol.* 2004, 47, 41-47.
- Kominos S. D., Copeland C. E., Delenko C. A.: *Pseudomonas aeruginosa* from vegetables, salads and other foods served to patients with burns, [w:] V. M. Young (red.): *Pseudomonas aeruginosa*: ecological aspects and patient colonization. Raven Press Books, New York 1977, 59-75.
- Lau G. W., Ran H., Kong F., Hassett D. J., Mavrodi D.: *Pseudomonas aeruginosa* pyocyanin is critical for lung infection in mice. *Infect. Immun.* 2004, 72, 4275-4278.
- Leisinger T., Margraff R.: Secondary metabolites of the fluorescent *Pseudomonas*. *Microb. Rev.* 1979, 43, 422-442.
- Maciak T., Sawicka-Wrzosek K., Gosiewska A.: *Pseudomonas aeruginosa* w materiale diagnostycznym nadsyłanym do ZHW w Warszawie. *Życie Wet.* 1996, 71, 116-119.
- Małachowska-Jutusz A., Mrozowska J., Kozielska M., Mikach K.: Aktywność enzymatyczna w glebie skażonej związkami ropopochodnymi w procesie jej detoksykacji. *Biotechnologia* 1997, 36, 79-91.
- Metcalf E. S.: The role of international transport of equine semen on disease transmission. *Anim. Reprod. Sci.* 2001, 68, 229-237.
- Potvin E., Lehoux D. E., Kukavica-Ibrulj I., Richard K. L., Sanschagrin F., Lau G. W., Levesque R. C.: In vivo functional genomics of *Pseudomonas aeruginosa* for high-throughput screening of new virulence factors and antibacterial targets. *Environ. Microbiol.* 2003, 5, 1294-1308.
- Prince P. W., Almquist J. O., Reid J. J.: Bacteriological studies of bovine semen. II. The incidence of specific types of bacteria and the relation to fertility. *J. Dairy Sci.* 1949, 32, 849-855.
- Ramza J.: Zakażenie piskląt indyjskich pałeczką ropy błękitnej (*Pseudomonas aeruginosa*). *Pol. Drob.* 2003, 12, 29-30.
- Samper J. C., Tibary A.: Disease transmission in horses. *Theriogenology* 2006, 66, 551-559.
- Schroth M. N., Cho J. J., Green S. K., Kominos S. D.: Epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* in agricultural areas, [w:] V. M. Young (red.): *Pseudomonas aeruginosa*: ecological aspects and patient colonization. Raven Press Books, New York 1977, s. 1-29.
- Szewczyk E.: Diagnostyka bakteriologiczna. PWN, Warszawa 2005, 101-108, 292-295 i 330-331.
- Szumala A.: Budowa komórek pałeczek z rodzaju *Pseudomonas*, [w:] B. Kędzia (red.): Pałeczki *Pseudomonas*, właściwości, zakażenia, profilaktyka. PZWL, Warszawa 1982, 29-38.
- Trafny E. A.: Rola biofilmów w patogenezie zakażeń człowieka. *Post. Mikrobiol.* 2008, 47, 353-357.
- Vaillancourt D., Guay P., Higgins R.: The effectiveness of gentamicin or polymyxin B for the control of bacterial growth in equine semen stored at 20°C or 5°C for up to forty-eight hours. *Can. J. Vet. Res.* 1993, 57, 277-280.
- Wiedmann M., Weilmeyer D., Dineen S. S., Ralyea R., Boor K. J.: Molecular and phenotypic characterization of *Pseudomonas* spp. isolated from milk. *Appl. Environ. Microbiol.* 2000, 66, 2085-2095.
- Wilson R., Sykes D. A., Watson D., Rutman A., Taylor G. W., Cole P. J.: Measurement of *Pseudomonas aeruginosa* phenazine pigments in sputum and assessment of their contribution to sputum sol toxicity for respiratory epithelium. *Infect. Immun.* 1988, 56, 2515-2517.
- Wolska K., Bukowski K., Jakubczak A., Procka-Bal A.: Wrażliwość szczepów *Pseudomonas aeruginosa* na wybrane chemioterapeutyki. *Zesz. Nauk. AP, Rolnictwo* 2001, 60, 5-10.
- Wolska K., Jakubczak A., Anusz Z., Bukowski K.: Wrażliwość szczepów *Pseudomonas aeruginosa* na antybiotyki i chemioterapeutyki. *Medycyna Wet.* 1999, 55, 812-817.
- Wróblewska M.: Znaczenie kliniczne bakterii z rodzaju *Acinetobacter* – nowe zagrożenia. *Post. Mikrobiol.* 2008, 47, 345-352.

Adres autora: mgr inż. Anna Pobuciewicz, ul. Chopina 51/416, 71-450 Szczecin; e-mail: anna.pobuciewicz@zut.edu.pl