

Mechanizmy kolonizacji przewodu pokarmowego świń przez *Salmonella* spp.

MARIAN TRUSZCZYŃSKI, ZYGMUNT PEJSAK

Zakład Chorób Świń Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego,
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Truszczyński M., Pejsak Z.

Mechanisms of colonization of the swine intestinal tract by *Salmonella* spp.

Summary

In the first part of the paper the bacteriology and epidemiology of *Salmonella* infections in swine is characterized. The differences from symptomless colonization of the intestinal tract to gastroenteritis and systemic infection with clinical symptoms are mentioned. The degree of pathogenicity of *Salmonella* organisms is related to the genes. The most frequent is colonization of the intestines, which are the major reservoir of *Salmonella* organisms as pathogens transmitted to humans on account of pork and pork product consumption. Strains of *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Derby and *Salmonella* Enteritidis of swine origin play an important role in toxicoinfections of humans worldwide.

The second part of the paper deals with genes coding the property of the colonization of the intestines and different degrees of virulence of *Salmonella* organisms. It is hoped that this knowledge will enable the improvement of methods essential in the prevention of colonization of the intestines of swine, which would minimize the carrier-ship of *Salmonella* organisms. In particular it may contribute to the improvement of the efficacy of vaccines against colonization. These would be based on the selection for vaccine production of *Salmonella* strains which are responsible for intestinal colonization. Until now this was not possible since mostly strains originating from systemic infection, after inactivation or attenuation, were used. Probably because of this approach the presently available vaccines did not immunize swine to a sufficient degree against the colonization of the intestines by *Salmonella* organisms.

Keywords: *Salmonella*, colonization, intestines, swine, mobile genetic elements

Salmonella enterica jest gatunkiem rodziny *Enterobacteriaceae*, który obejmuje aktualnie ponad 2600 serowarów. Ich szczepy są, zależnie od zjadliwości, bezwzględnie chorobotwórcze lub, co jest znacznie częstsze, warunkowo chorobotwórcze. Wywołują zachorowania u człowieka i zwierząt, które dodatkowo stanowią rezerwuuar szczepów zoonotycznych. Powodują – w skali globalnej – infekcje od bezobjawowej kolonizacji przewodu pokarmowego do zapalenia jelit i biegunki lub manifestującego się posocznicą uogólnionego systemowego procesu chorobowego. Wymienione różnice zależą od genetycznych i w konsekwencji fenotypowych właściwości danego szczepu oraz odporności wrodzonej i nabytej narażonego na infekcję gospodarza. Zakażenia od zwierząt ludzi, u których rozwija się biegunka (określane jako toksyko-infekcje lub zatrucia pokarmowe), wywodzą się najczęściej z łańcucha żywnościowego za pośrednictwem surowców zwierząt rzeźnych oraz ze środowiska fer-

my, ubojni i zakładów przetwórstwa mięsnego. Wywołują je przede wszystkim szczepy *Salmonella*, które bezobjawowo kolonizują jelita zwierząt (utrzymując się tam do uboju), skąd za pośrednictwem kału zanieczyszczają po uboju mięśnie i narządy wewnętrzne. Ważnym źródłem infekcji ludzi w przypadku drobiu są dodatkowo jaja.

Kolonizacja przez większość serowarów *Salmonella* u świń, ale najczęściej przez *S. Typhimurium* i *S. Derby* oraz *S. Enteritidis* jest zazwyczaj ograniczona do jelit, przy występowaniu też w migdałkach i węzłach chłonnych krezkowych (3, 8, 11, 20, 40, 44). Ten komensalopodobny stan u świń, nosicieli *Salmonella*, ustanawia znaczące źródło zanieczyszczeń salmonellami wieprzowiny i produktów pochodnych w czasie uboju i przetwarzania oraz ryzyko zakażenia konsumenta. Środowiskiem występowania salmonelli jest nie tylko zakażone mięso, ale też nawóz i woda, jak również warzywa i produkty roślinne (22). Znacznie rza-

dziej we wtórnym zanieczyszczeniu produktów zwierzęcych biorą udział szczepy, które pochodzą z przypadków posocznicy, czyli w przeciwieństwie do bezobjawowej kolonizacji, choroby systemowej, kończącej w znacznym procencie zejściem śmiertelnym zwierzęcia.

W nawiązaniu do powyższego celem niniejszego artykułu przeglądowego jest przedstawienie aktualnych danych na temat szczepów *Salmonella*, które uczestniczą w bezobjawowej kolonizacji przewodu pokarmowego świń, a równocześnie stanowią przyczynę zatruc pokarmowych u ludzi.

Bakteriologia i epidemiologia

Kolonizacja, czyli zasiedlanie przewodu pokarmowego zwierząt salmonellami, ma bardzo często miejsce przy nie rozwijaniu się następnie objawów klinicznych, jednak pewne szczepy po dotarciu do jelit, przede wszystkim w następstwie sprzyjających ujawnieniu się chorobotwórczości czynników, wywołują zapalenie jelit i biegunkę. U świń dotyczy to zwłaszcza serowarów *S. Choleraesuis* i *S. Typhimurium*. Konsekwencją może być rozwój choroby systemowej z ogólnym zakażeniem krwi. Produkty przeznaczone do spożycia z tego rodzaju przypadków z reguły nie trafiają w wyniku nadzoru weterynaryjnego do łańcucha żywnościowego. Zatem, co wyżej podkreślono, prawie wyłącznym odzwierzęcym źródłem infekcji człowieka są salmonelle posiadające zdolność kolonizowania przewodu pokarmowego świń (oraz innych gatunków zwierząt rzeźnych) nie powodujące objawów klinicznych i ogólnego zakażenia krwi u zwierzęcia będącego ich nosicielem i siewcą. Znaczenie tego źródła infekcji ludzi ilustrują dane Stevensa i wsp. (40). Wynika z nich, że salmonelle odzwierzęce, w tym również pochodzące od świń, wywołują 1,4 miliona infekcji u ludzi w USA w ciągu roku; są przyczyną 15 000 hospitalizacji i 400 zejść śmiertelnych. Całkowity koszt, który za sobą pociągają interwencje lekarskie, szacuje się w granicach 2,54 miliardów USD rocznie. Dane te oraz inne publikacje potwierdzają zatem, że kolonizacja przewodu pokarmowego i bezobjawowe nosicielstwo salmonelli u zwierząt rzeźnych odgrywa z sanitarnego i ekonomicznego punktu widzenia większą rolę niż wynoszą straty z powodu salmonellozy jako choroby o objawach klinicznych i zejściach śmiertelnych (21).

Od spektakularnego wzrostu w latach dziewięćdziesiątych XX wieku, utrzymującego się do niedawna, najważniejszym serowarem wywołującym toksykoinfekcje ludzi była *S. Enteritidis*. Jednak dzięki znacznemu spadkowi zakażeń u kur niosek szczepami tego serowaru, którego źródłem zakażenia człowieka są głównie jaja, obecnie *S. Typhimurium* od świń (i ewentualnie innych gatunków zwierząt rzeźnych) w Europie jest prawdopodobnie najczęstszą, względnie mniej więcej równie częstą, przyczyną infekcji człowieka. Ocenia się, że spośród wszystkich przypadków sal-

monellozy ludzi 15-23% jest obecnie wynikiem konsumpcji wieprzowiny jako wyłącznego źródła salmonelli w spożywanej wieloskładnikowej diecie (28, 37). W USA w następstwie spożycia wyłącznie wieprzowiny rocznie zachorowuje 100 000 osób (31).

Wśród serowarów *S. enterica* wyróżnia się *Salmonella* Typhi, która wywołuje u człowieka (oraz u naczelnych) chorobę systemową o nazwie dur brzuszny (typhoid fever). Drugą grupę serowarów, głównie związanych z powodowaniem zachorowań u jednego gatunku zwierząt, np. u świń, ale zdolnych być, chociaż znacznie rzadziej, chorobotwórczymi dla innych gospodarzy, stanowią *S. Choleraesuis* i *S. Typhisuis* (39); powodują one u świń nie tylko zapalenie jelit, ale też chorobę systemową (analogiczną do duru brzuszego człowieka) (21). Pozostała, przeważająca liczba serowarów (czyli grupa trzecia) i związane z nimi szczepy bardzo rzadko stanowią czynnik etiologiczny infekcji systemowej u zwierząt rzeźnych. Uczestniczą natomiast prawie wyłącznie w zasiedlaniu bezobjawowym przewodu pokarmowego dużej liczby gatunków zwierząt, w tym zwierząt rzeźnych. W odniesieniu do świń są to, jak wspomniano, najczęściej szczepy *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis* i *S. Derby* (3, 8, 11, 20, 40, 44). Do niedawna ostatnio wymienionej, trzeciej grupie szczepów, w porównaniu do dwóch poprzednich, poświęcano stosunkowo najmniej prac badawczych. Liczba ich zwiększa się obecnie, gdyż bezobjawowe nosicielstwo, charakteryzujące się zdolnością do kolonizacji przewodu pokarmowego, migdałków oraz węzłów chłonnych krezkowych świń, stanowi poważne zagrożenie dla zdrowia człowieka w związku z zanieczyszczeniem salmonellami wieprzowiny (2, 4).

Molekularne mechanizmy nabywania cech patogenności przez szczepy *Salmonella*

Znaczącą rolę odgrywają w zmienności bakterii geny chromosomalne inkorporowane do genomów bakteriofagów oraz geny plazmidowe. Określane są one jako geny ruchome dzięki częstemu przechodzeniu z posiadającej je komórki bakteryjnej do następnej, w której dotychczas nie występowały. Posiadają one zdolność przenoszenia tym sposobem informacji, stanowiących podstawę kodowania określonych właściwości fenotypowych przez nabywające je bakterie nawet odległych filogenetycznie gatunków.

Jak się okazało (15, 29, 30, 36, 41), szczególnie znaczący w procesie ewolucji salmonelli jest udział bakteriofagów przenoszących materiał genetyczny wśród szczepów tych bakterii. Bliższe dane na ten temat przedstawia Dera-Tomaszewska (18).

Do plazmidowych genów typu F *S. Typhimurium* należą geny operonu *pef* (6), zawierające informację genetyczną dotyczącą syntezy jednego z kilku rodzajów fimbrii ważnych w kolonizacji jelit oraz gen *rck*, kodujący oporność na działanie komplementu, czyn-

nika istotnego w odporności przeciwwakaznej gospodarza (24).

Reasumując, za pośrednictwem genów ruchomych drogą transferu horyzontalnego następuje szczególnie częste przenoszenie do komórki bakteryjnej nowych genów, które w konsekwencji kodują nowe właściwości, w tym zdolność kolonizowania jelit, wirulencję lub szerzej – chorobotwórczość. Na to ostatnio wymienione pojęcie składa się adhezja do komórek epitelialnych gospodarza za pośrednictwem fimbrii, wytwarzanie toksyn i inwazyjność z nabyciem możliwości wnikania do wymienionych komórek i licznymi w nich mechanizmami ekspresji patogenności, prowadzącymi do rozwijania charakterystycznego u poszczególnych gatunków zwierząt, w tym świni, obrazu chorobowego salmonellozy.

Właściwości, w tym ważne z medycznego punktu widzenia, takie jak wymieniona wyżej zdolność do kolonizacji przez salmonelle przewodu pokarmowego, ale również jak lekooporność, zjadliwość i wywoływanie choroby występują nie u wszystkich szczepów. W konsekwencji nie wszystkie szczepy *Salmonella* zdolne są do zasiedlania błony śluzowej jelit świń. Tym bardziej nie we wszystkich przypadkach dochodzi do ujawnienia chorobotwórczości salmonelli w obrębie jelit, a jeszcze rzadziej do rozwoju infekcji systemowej, ale właściwości te mogą się pojawić i pojawiają się u salmonelli dzięki wspomnianym genom ruchomym.

Identyfikacja genów kodujących kolonizację jelit jako szansa poprawy wykrywania szczepów zagrażających zdrowiu

Mechanizmy infekcji wywołanej przez *S. Typhimurium* i inne serowary u świni oraz innych gatunków zwierząt rzeźnych, odnoszącej się do kolonizacji jelit, z uwzględnieniem technik biologii molekularnej, scharakteryzowali Wallis i Barrow (43). Mimo pełnego określenia sekwencji genomu głównych izolatów z weterynaryjnego i medycznego punktu widzenia, w tym o kluczowym znaczeniu u zwierząt rzeźnych jako źródła zakażeń ludzi, rola poszczególnych genów kodujących zdolność do kolonizacji oraz ich wykrywalność wymagają dalszych badań (7, 40).

Od kilku lat metoda znakowanej mutagenyzy transpozonowej (Signature-tagged transposon mutagenesis, STM) (25) znacznie przyczynia się do sprecyzowania znaczenia poszczególnych genów w kolonizacji jelit przez salmonelle *in vivo*. Dzięki tej metodzie mutanty transpozonowe *S. Typhimurium* były badane pod kątem ich możliwości kolonizowania jelit myszy, cieląt, świń i kurcząt (16, 34, 42). Prace te wykazały, że salmonelle zawierają swoiste w odniesieniu do gospodarza genetyczne czynniki kolonizowania jelit. Wykrycie tego rodzaju wskaźników stanowi ważne stwierdzenie dla dalszych prac badawczych, których celem byłaby identyfikacja takich szczepów. Spośród tych

genów liczne umiejscowione są w regionach chromosomu, gdzie nagromadzone są też geny związane z wirulencją; regiony te nazywane są wyspami patogenności *Salmonella* (*Salmonella* pathogenicity islands, SPI). Szczegółowo scharakteryzowane zostały one przez Morgana (33).

U świń, myszy i bydła zidentyfikowano salmonelle z licznymi niezależnymi mutacjami genów w obrębie SPI-1 i SPI-2 oraz atenuowano w oparciu o te dane określone mutanty szczepów pod kątem produkcji szczepionek (16, 34, 42). Wydaje się, że tego rodzaju postępowanie umożliwi bardziej trafny dobór szczepów do szczepionek przeciw kolonizacji jelit niż dotychczas stosowany sposób ich selekcji przeważnie w oparciu o model myszy, charakteryzujący się posocznicy (systemowym) przebiegiem infekcji przy nie uwzględnianiu kolonizacji jelit.

Wykazano, że geny zawarte w SPI-1 i SPI-2 kodują typu III systemy sekrecji białek (T3 SSs), które należą do najlepiej scharakteryzowanych spośród wszystkich czynników zjadliwości salmonelli. Białka te modulują procesy komórkowe na korzyść patogenu, co zwiększa chorobotwórczość (38). Przenoszony za pośrednictwem bakteriofaga gen *SopE* nie jest obecny u wszystkich szczepów *S. enterica*, natomiast jego występowanie jest skorelowane z chorobą u ludzi (27) oraz z potencjałem epidemicznym szczepów *S. Typhimurium* izolowanych od bydła (32). Stanowi on zatem wartościowy wskaźnik chorobotwórczości wyosobnionego szczepu *Salmonella*. Inne geny (też jako indykatory) uruchamiają poprzez system sekrecji wewnątrzkomórkowe przeżywanie i replikację *Salmonella* po inwazji komórki gospodarza (1).

Potwierdzeniem wyższości przedstawionych metod doboru szczepów *Salmonella* do produkcji szczepionek nad modelem mysim selekcyjnym w tym celu szczepy o szczególnie wysokiej zdolności wywoływania posocznicy, a nie uwzględniającym zdolności do kolonizacji jelit są następujące publikacje (8, 9, 11). W nawiązaniu do tych danych porównanie wyników badań metodą mutagenyzy transpozonowej salmonelli u świń, bydła i drobiu wskazało na istnienie indywidualnych swoistych genów *Salmonella*, istotnych w trakcie zasiedlania przewodu pokarmowego (34). Wykazano też, że dla zaistnienia patogenności *S. Typhimurium* (23) konieczny jest złożony zestaw genów kodujących zjadliwość łącznie z genami znajdującymi się we wspomnianych wcześniej wyspach patogenności salmonelli (SPI) (5, 17). Przykładowo wykazano, że zestaw produktów genów SPI-1 niezbędny jest dla inwazji bakteryjnej komórek epitelialnych w przewodzie żołądkowo-jelitowym, natomiast produkty genowe SPI-2 są nieodzowne dla systemowej infekcji i wewnątrzkomórkowego przeżycia (45, 46). Dodatkowo z danych Hensla i wsp. (26) wynika, że inne niż kodujące zdolność do kolonizacji przez salmonelle jelit geny są niezbędne do wywołania systemowej salmo-

nellozy u myszy. Zatem zgodnie też z danymi innych autorów (5, 45) wydaje się, że wskaźniki genowe, kodujące zdolność do kolonizacji jelit trafniej niż model myszy (posocznicy) umożliwią dobór szczepów *Salmonella* do produkcji szczepionek bardziej skutecznych niż obecnie dostępne, zwłaszcza w odniesieniu do przeciwdziałania kolonizacji jelit.

O znaczeniu drogi podawania świńom salmonelli zawierających geny kodujące kolonizację jelit świadczą badania Boyena i wsp. (8, 11). Po podaniu *per os* mutantu *ssrAB S. Typhimurium* okazało się, że kolonizował on przewód pokarmowy i był też wydalany z kałem. Natomiast po dożylniej aplikacji jego zdolność do kolonizacji jelit została znacząco obniżona.

Porównując rolę genów w patogenezie salmonellozy Brumme i wsp. (13) wykazali, że mutacja genu *SPI sseD* obniża kliniczne objawy salmonellozy świń w porównaniu do genu przed mutacją odnośnie do szczepu *S. Typhimurium*. Jak dotychczas najszerze badania dotyczące roli genów *S. Typhimurium*, które uczestniczą w kolonizacji i zjadliwości w odniesieniu do świni wykonali Carnell i wsp. (16), stosując metodę znakowanej mutagenyzy transpozycyjnej (STM). Dane na ten temat znajdują się też w następujących publikacjach (10, 12, 14, 19, 35), jednakże nadal stosunkowo nieliczne badania uwzględniające wymienione techniki biologii molekularnej, w porównaniu do wykonanych przy użyciu do selekcji szczepów modelu mysiego, dotyczą świni oraz innych gatunków zwierząt rzeźnych, dlatego ze względów praktycznych należy je rozszerzyć. Mogą bowiem okazać się przydatne w udoskonaleniu zwalczania salmonellozy świń i innych zwierząt rzeźnych, a w tych ramach przede wszystkim w ograniczaniu jelitowego rezerwuaru salmonelli u zwierząt rzeźnych, wywołujących zatrucia pokarmowe u ludzi, co nadal stanowi problem nierozwiązany w skali globalnej.

Piśmiennictwo

1. *Abrahams G. L., Hensel M.*: Manipulating cellular transport and immune responses: dynamic interactions between intracellular *Salmonella enterica* and its host cells. *Cell. Microbiol.* 2006, 8, 728-737.
2. *Anon.*: Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on the request from the Commission related to „Risk assessment and mitigation options of *Salmonella* in pig production”. *EFSA Journal* 2006, 341, 1-131.
3. *Anon.*: *Salmonella* on U.S. Swine Site – Prevalence and Antimicrobial Susceptibility. http://www.aphis.usda.gov/animal_health/nahms/swine/index.shtml#swine2006. NAHMS 2009.
4. *Anon.*: Trends and Sources of Zoonoses and Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2009. *EFSA Journal* 2011, 9, 3, 2090, 1-378.
5. *Bakowski M. A., Braun V., Brumell J. H.*: *Salmonella*-containing vacuoles: directing traffic and nesting to grow. *Traffic* 2008, 9, 2022-2031.
6. *Bäumler A. J., Tsolis R. M., Bowe F. A., Kusters J. G., Hoffmann S., Heffron F.*: The *pef* fimbrial operon of *Salmonella typhimurium* mediates adhesion to murine small intestine and is necessary for fluid accumulation in the infant Mouse. *Infect. Immun.* 1996, 64, 61-68.
7. *Bearson B. L., Bearson S. M. D.*: Host specific differences alter the requirement for certain *Salmonella* genes during swine colonization. *Vet. Microbiol.* 2011, 150, 215-219.
8. *Boyen F., Haesebrouck F., Maes D., Van Immerseel F., Ducatelle R., Pasmans F.*: Non-typhoidal *Salmonella* infections in pigs: A closer look at epidemiology, pathogenesis and control. *Vet. Microbiol.* 2008, 130, 1-19.
9. *Boyen F., Pasmans F., Donne E., Van Immerseel F., Morgan E., Adriaensen C., Hernalsteens J. P., Wallis T. S., Ducatelle R., Haesebrouck F.*: The fibronectin binding protein *ShdA* is not a prerequisite for long term faecal shedding of *Salmonella typhimurium* in pigs. *Vet. Microbiol.* 2006, 115, 284-290.
10. *Boyen F., Pasmans F., Van Immerseel F., Donne E., Morgan E., Ducatelle R., Haesebrouck F.*: Porcine in vitro and in vivo models to assess the virulence of *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* for pigs. *Lab. Anim.* 2009, 43, 46-52.
11. *Boyen F., Pasmans F., Van Immerseel F., Morgan E., Botteldoorn N., Heyndrickx M., Volf J., Favoreel H., Hernalsteens J. P., Ducatelle R., Haesebrouck F.*: A limited role for *SsrA/B* in persistent *Salmonella Typhimurium* infections in pigs. *Vet. Microbiol.* 2008, 128, 364-373.
12. *Boyle E. C., Bishop J. L., Grassl G. A., Finlay B. B.*: *Salmonella*: from pathogenesis to therapeutics. *J. Bacteriol.* 2007, 189, 1489-1495.
13. *Brumme S., Arnold T., Sigmarsson H., Lehmann J., Schulz H. C., Hardt W. D., Hensel A., Truyen U., Roesler U.*: Impact of *Salmonella Typhimurium* DT104 virulence factors *invC* and *sseD* on the onset, clinical course, colonization patterns and immune response of porcine salmonellosis. *Vet. Microbiol.* 2007, 124, 274-285.
14. *Callaway T. R., Edrington T. S., Anderson R. C., Byrd J. A., Nisbet D. J.*: Gastrointestinal microbial ecology and the safety of our food supply as related to *Salmonella*. *J. Anim. Sci.* 2008, 86, 163-172.
15. *Canchaya C., Fournous G., Chibani-Chennoufi S., Dillmann M. L., Brüßow H.*: Phage as agents of lateral gene transfer. *Curr. Opin. Microbiol.* 2003, 6, 417-424.
16. *Carnell S. C., Bowen A., Morgan E., Maskell D. J., Wallis T. S., Stevens M. P.*: Role in virulence and protective efficacy in pigs of *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* secreted components identified by signature-tagged mutagenesis. *Microbiology* 2007, 153, 1940-1952.
17. *Coburn B., Grassl G. A., Finlay B. B.*: *Salmonella*, the host and disease: a brief review. *Immunol. Cell. Biol.* 2007, 85, 112-118.
18. *Dera-Tomaszewska B.*: Plazmidy i bakteriofagi występujące u bakterii *Salmonella*. *Post. Mikrobiol.* 2011, 50, 201-208.
19. *Doyle M. P., Erickson M. C.*: Reducing the carriage of foodborne pathogens in livestock and poultry. *Poultry Sci.* 2006, 85, 960-973.
20. *Fedoraka-Cray P. J., Gray J. T., Wray C.*: *Salmonella* infections in pigs, [w:] Wray C., Wray A. (wyd.): *Salmonella* in Domestic Animals. CAB International, Wallingford 2000, 191-207.
21. *Griffith R. W., Schwartz K. J., Meyerholz D. K.*: *Salmonella*, [w:] Straw B. E., Zimmerman J. J., D'Allaire S., Taylor D. J. (wyd.): *Diseases of Swine*. Blackwell Publishing, Ames, Iowa 2006, 739-754.
22. *Hanning I. B., Nutt J. D., Ricke S. C.*: *Salmonellosis* outbreaks in the United States due to fresh produce: sources and potential intervention measures. *Foodborne Pathog. Dis.* 2009, 6, 635-648.
23. *Haraga A., Ohlson M. B., Miller S. I.*: *Salmonellae* interplay with host cells. *Nat. Rev. Microbiol.* 2008, 6, 53-66.
24. *Heffernan E. J., Harwood J., Fierer J., Guiney D.*: The *Salmonella typhimurium* virulence plasmid complement resistance gene *rck* is homologous to a family of virulence-related outer membrane protein genes including *pagC* and *ail*. *J. Bacteriol.* 1992, 174, 84-91.
25. *Hensel M., Shea J. E., Gleeson C., Jones M. D., Dalton E., Holden D. W.*: Simultaneous identification of bacterial virulence genes by negative selection. *Science* 1995, 269, 400-403.
26. *Hensel M., Shea J. E., Waterman S. R., Mundy R., Nikolaus T., Banks C., Vazquez-Torres A., Gleeson C., Fang F. C., Holden D. W.*: Genes encoding putative effector proteins of the type III secretion system of *Salmonella* pathogenicity island 2 are required for bacterial virulence and proliferation in macrophages. *Mol. Microbiol.* 1998, 30, 163-174.
27. *Hopkins K. L., Threlfall E. J.*: Frequency and polymorphism of *sopE* in isolated of *Salmonella enterica* belonging to the ten most prevalent serotypes in England and Wales. *J. Med. Microbiol.* 2004, 53, 539-543.
28. *Jansen A., Frank C., Stark K.*: Porcine pork products as a source for human salmonellosis in Germany. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* 2007, 120, 340-346.
29. *Kropiński A. M., Sulakwelidze A., Konczyk P., Poppe C.*: *Salmonella* phages and prophages – Genomics and practical aspects, [w:] Schatten A., Eisenstark A. (red.): *Salmonella. Methods and Protocols*. Human Press Inc., Totowa, New Jersey 2007, 133-175.
30. *McClelland M., Sanderson K. E., Spieth J., Clifton S. W., Laterille P., Courtney L., Porwollik S., Ali J., Dante M., Du F., Hou S., Layman D., Leonard S., Nguyen C., Scott K., Holmes A., Rewal N., Mulvaney E., Ryan E., Sun H., Florea L., Miller W., Stoneking T., Nhan M., Waterston R., Wilson R. K.*:

- Complete genome sequence of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium LT2. *Nature* 2001, 413, 852-856.
31. Miller G. Y., Liu X., McNamara P. E., Barber D. A.: Influence of *Salmonella* in pigs preharvest and during pork processing on human health costs and risks from pork. *J. Food Prot.* 2005, 68, 1788-1798.
 32. Mirolid S., Rabsch W., Rohde M., Stender S., Tschape H., Rüssmann H., Igwe E., Hardt W. D.: Isolation of a temperate bacteriophage encoding the type III effector protein SopE from an epidemic *Salmonella typhimurium* strain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1999, 96, 9845-9850.
 33. Morgan E.: *Salmonella* pathogenicity islands, [w:] Rhen M., Maskell D., Maistroeni P., Threlfall J. (wyd.): *Salmonella: Molecular Biology and Pathogenesis*. Horizon Bioscience, Norfolk 2007, 67-88.
 34. Morgan E., Campbell J. D., Rowe S. C., Bispham J., Stevens M. P., Bowen A. J., Barrow P. A., Maskell D. J., Wallis T. S.: Identification of host-specific colonization factors of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Mol. Microbiol.* 2004, 54, 994-1010.
 35. Ojha S., Kostrzyńska M.: Approaches for reducing *Salmonella* in pork production. *J. Food Prot.* 2007, 70, 2676-2694.
 36. Parkhill J., Dougan G., James K. D., Thomson N. R., Piccard D., Wain J., Chucher C., Mungall K. L., Bentley S. D., Holden M. T. G., Sebaihia M., Baker S., Basham D., Brookes K., Chillingworth T., Connor P., Cronin A., Davis P., Davies R. M., Dowd L., White N., Farrar J., Feltwell T., Hamlin N., Haque A., Hien T. T., Holroyd S., Jagels K., Krogh A., Larsen T. S., Leather S., Moule S., Ó'Gaora P., Parry C., Quail M., Rutherford K., Simmonds M., Skelton J., Stevens K., Whitehead S., Barrell B. G.: Complete genome sequence of a multiple drug resistant *Salmonella enterica* serovar Typhi CT18. *Nature* 2001, 413, 848-852.
 37. Pelt W. van, Van Giessen A., Van Leeuwen W., Wannet W., Henken A., Evers E., De Wit M., Van Duynhoven Y.: Oorsprong, omvang en kosten van humane salmonellose. *Infectieziekten Bull.* 2000, 11, 4-8.
 38. Schlumberger M. C., Hardt D.: *Salmonella* type III secretion effectors: pulling the host cell's strings. *Curr. Opin. Microbiol.* 2006, 9, 46-54.
 39. Selander R. K., Beltran P., Smith N. H., Helmuth R., Rubin F. A., Kopecko D. J., Ferris K., Tall B. D., Cravioto A., Musset J. M.: Evolutionary genetic relationships of clones of *Salmonella* serovars that cause human typhoid and other enteric fevers. *Infect. Immun.* 1990, 58, 2262-2275.
 40. Stevens M. P., Humphrey T. J., Maskell D. J.: Molecular insights into farm animal and zoonotic *Salmonella* infections. *Phil. Trans. R. Soc.* 2009, 364, 2709-2723.
 41. Thomson N., Baker S., Piccard D., Fookes M., Anjum M., Halin N., Wain J., Mouse D., Brutta Z., Chan K., Falkow S., Parkhill J., Woodward M., Ivens A., Dougan G.: The role of prophage-like elements in diversity of *Salmonella enterica* serovars. *J. Mol. Biol.* 2004, 339, 279-300.
 42. Tsolis R. M., Townsend S. M., Miao E. A., Miller S. I., Fichte T. A., Adams L. G., Bäuml A. J.: Identification of a putative *Salmonella enterica* serotype Typhimurium host range factor with homology to *spah* and *YopM* by signature-tagged mutagenesis. *Infect. Immun.* 1999, 67, 6385-6393.
 43. Wallis T. S., Barrow P. A.: *Salmonella* epidemiology and pathogenesis in food-producing animals, [w:] R. Cuertiss III i wsp. (red.): *EcoSal – Escherichia coli and Salmonella: Cellular and Molecular Biology*. Washington, DC: ASM Press. Chapter 8.6.2.1. <http://ecosal.org>. 2005.
 44. Wasyl D., Hozzowski A.: Występowanie *Salmonella* u świń rzeźnych w Polsce. *Wyd. PIWet-PIB, Puławy* 2007, 1-26.
 45. Waterman S. R., Holden D. W.: Functions and effectors of the *Salmonella* pathogenicity island 2 type III secretion system. *Cell. Microbiol.* 2003, 5, 501-511.
 46. Zhou D., Galan J.: *Salmonella* entry into host cells: the work in concert of type III secreted effector proteins. *Microbes Infect.* 2001, 3, 1293-1298.

Adres autora: prof. dr hab. Marian Truszczyński, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy; e-mail: mtruszcz@piwet.pulawy.pl