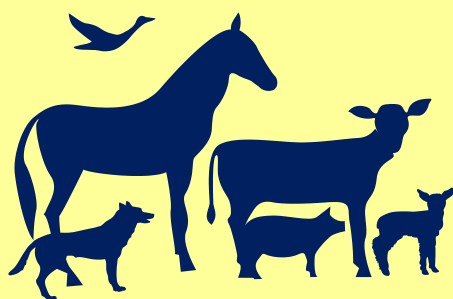


BIULETYN DLA DORADCÓW ODR



nr 2/2025

WYDAWNICTWO

Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego

Puławy, 2025

BIULETYN
DLA
DORADCÓW ODR

Redakcja:

prof. dr hab. Stanisław Winiarczyk

prof. dr hab. Mirosław Polak

Korekta:

mgr Renata Wydra

Dyrekcja Instytutu składa podziękowania Koleżankom i Kolegom z
Centrum Doradztwa Rolniczego oraz Ośrodków Doradztwa
Rolniczego za podjęcie współpracy i współinicjowanie
określonych działań

Wydawnictwo Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego
Instytutu Badawczego w Puławach

Nakład 100 egzemplarzy

Wszelkie prawa zastrzeżone

SPIS TREŚCI

Szczepienia przeciwko chorobie Newcastle (ND) – inwestycja w zdrowe stado	5
Oznaczanie zawartości PCDD, PCDF i dl-PCB w paszach z użyciem biotestu XDS-CALUX – badania monitoringowe	14
Promieniotwórcze izotopy cezu w rybach słodkowodnych na przykładzie karpia (<i>Cyprinus carpio</i>) – badania monitoringowe	23
Zawartość dioksyn i polichlorowanych bifenyli w produktach wieprzowych – ocena zanieczyszczenia	30
Zawartość promieniotwórczych izotopów cezu w mieszankach i dodatkach paszowych.....	36
Wybrane aspekty jakości i bezpieczeństwa kiszonek stosowanych w żywieniu bydła	43
Znaczenie <i>Clostridium butyricum</i> w produkcji zwierzęcej	57
Występowanie w glebie przetrwalników <i>clostridium botulinum</i> jako zagrożenie dla produkcji zwierzęcej i bezpieczeństwa żywności	68

Szczepienia przeciwko chorobie Newcastle (ND) – inwestycja w zdrowe stado

Katarzyna Pasik¹, Ewa Borzym¹, Katarzyna Domańska-Blicharz²

¹Dział Kontroli Produktów Leczniczych Weterynaryjnych,

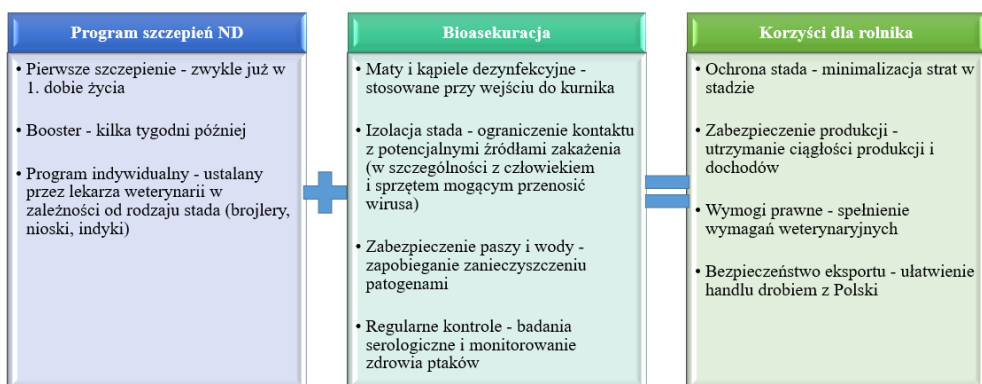
²Dział Wirusologii i Chorób Wirusowych Zwierząt

Polska od lat jest liderem w produkcji mięsa drobiowego w Unii Europejskiej. Produkcja drobiarska stanowi jeden z filarów polskiego rolnictwa, dostarczając mięso i jaja, a także gwarantując stabilne źródło dochodu dla licznych gospodarstw. Niestety, jest ona ciągle zagrożona przez choroby zakaźne. Jedną z najgroźniejszych jest rzekomy pomór drobiu – choroba Newcastle (ND), która od lat stanowi jeden z najpoważniejszych problemów zdrowotnych w hodowli drobiu na świecie (1, 3).

Chorobę wywołuje *Orthoavulavirus javaense* z rodziny *Paramyxoviridae*. Wirus ten cechuje się dużą odpornością na temperaturę (w środowisku kurnika w temperaturze 10-21°C przeżywa nawet do 112 dni), jednak wykazuje wrażliwość na szereg związków używanych do dezynfekcji (preparaty zawierające chlor i jod) czy światło UV (2). Do zakażenia dochodzi najczęściej drogą kropelkową, przez bezpośredni kontakt z chorymi ptakami, a także przez paszę, wodę, ściółkę, sprzęt oraz ludzi i pojazdy poruszające się między kurnikami (2). Objawy choroby są zróżnicowane i zależą od zjadliwości szczepu. Mogą obejmować problemy z oddychaniem, spadek nieśności, uporczywą biegunkę, a także charakterystyczne objawy neurologiczne, takie jak skręt szyi czy porażenia kończyn (3, 4). W ostrych postaciach choroby śmiertelność może sięgać nawet 70% zakażonego stada (3). Choć wirus nie stanowi zagrożenia dla życia ludzi, kontakt z nim może powodować łagodne zapalenie spojówek lub podrażnienia dróg oddechowych (2).

Choroba Newcastle, wg prawa AHL UE („Prawo o zdrowiu zwierząt”) należy, obok innej jednostki chorobowej występującej u drobiu – wysoce zjadliwej grypy ptaków, do chorób kategorii A, D, E co oznacza, że całe stado po stwierdzeniu choroby musi być zlikwidowane, muszą być podjęte środki zapobiegające rozprzestrzenianiu (wyznaczanie odpowiednich stref), a choroba musi być w danym kraju nadzorowana. Każde ognisko choroby musi być zgłaszane do Światowej Organizacji Zdrowia Zwierząt (WOAH, dawniej OIE), co ma wpływ także na handel międzynarodowy (3). Podstawą ochrony przeciw chorobie Newcastle jest bioasekuracja oraz szczepienia profilaktyczne (2, 3, 6) (Rycina 1). W wielu krajach szczepienia przeciwko ND są od lat obowiązkowe w produkcji towarowej (np. Belgia, Dania), w Polsce miały do tej pory charakter dobrowolny.

Przez szereg lat, w okresie od 1975 do lipca 2023, kiedy wystąpiły 4 ogniska ND, Polska była krajem wolnym od zakażeń zjadliwą formą NDV. Sytuacja diametralnie się zmieniła jesienią 2024 r. – choroba ponownie pojawiła się i rozprzestrzeniła na niemal cały obszar Polski. Pociągnęło to za sobą prawne konsekwencje. W kwietniu 2025 r., w Polsce wprowadzono nowe przepisy mające na celu zwiększenie kontroli nad chorobą Newcastle, a tym samym ograniczenie strat nią wywołanych. Na mocy Rozporządzenia Ministerstwa Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 25 kwietnia 2025 r. (Dz.U. 2025, poz. 564) od 13 maja 2025 r. obowiązkowe stały się szczepienia wszystkich kur i indyków w stadach drobiu komercyjnego oraz w zakładach wylęgowych, a także w gospodarstwach, w których utrzymuje się do 350 sztuk drobiu średniorocznie (9). U zaszczepionych kur i indyków należy prowadzić ocenę poziomu zaindukowanych szczepieniem przeciwciał, przy czym wytyczne w sprawie realizacji monitoringu serologicznego zostały określone w odrębnym dokumencie GIW (10).



Rycina 1. Szczepienia przeciw ND i bioasekuracja, a korzyści dla rolnika

Szczepionki przeciwko ND będące w obrocie w Polsce

Szczepionki przeciwko chorobie Newcastle to jedne z najczęściej sprzedawanych w Polsce biopreparatów przeznaczonych dla drobiu, głównie dedykowanych dla kur. Tylko w 2024 roku stanowiły one 12% wszystkich immunologicznych weterynaryjnych produktów leczniczych (IWPL czyli szczepionek weterynaryjnych) przeznaczonych dla tego gatunku zwierząt gospodarskich. Łącznie w ubiegłym roku sprzedano ponad 3 mld dawek IWPL przeciwko ND przeznaczonych dla kur. Skala tych produktów wprowadzanych do obrotu zdecydowanie wzrosła w 2025 roku, co z całą pewnością ma związek z obecną sytuacją epidemiologiczną odnośnie ND w kraju, ale także z wejściem w życie nowych aktów prawnych wprowadzających obowiązek szczepienia. Już w połowie roku 2025 odnotowano sprzedaż na poziomie 1,9 mld dawek, co plasuje ND na drugiej pozycji w klasyfikacji jednostek chorobowych względem których prowadzona jest w Polsce immunoprofilaktyka kur. Na pierwszym miejscu od lat znajduje się zakaźne zapalenie oskrzeli kur (ponad 7 mld dawek w pierwszej połowie 2025 r.).

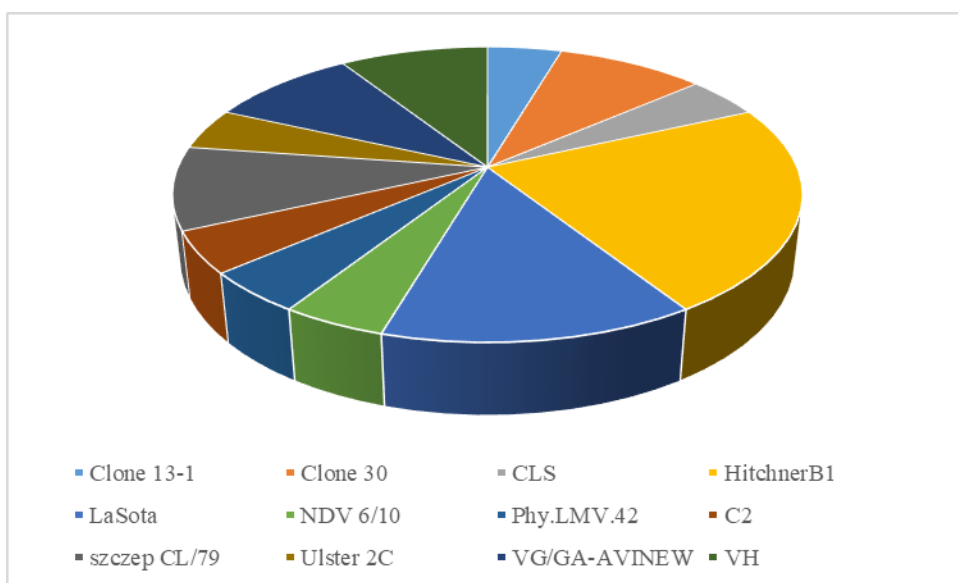
Na przestrzeni lat opracowano różne rodzaje szczepionek przeciwko chorobie Newcastle – żywe, inaktywowane i wektorowe – które różnią się

sposobem działania i zakresem ochrony (Tabela 1). Dobór odpowiedniego programu szczepień powinien uwzględniać warunki lokalne, status zdrowotny stada, poziom odporności matczynej oraz presję wirusa w regionie (5, 7, 8). W obrocie dominują szczepionki żywe (22 IWPL), w których stosowanych jest 12 różnych szczepów szczepionkowych (Tabela 1). Większość zarejestrowanych szczepionek żywych zawiera szczep HitchnerB1 (23%) (Rycina 2). Natomiast wśród 14 zarejestrowanych szczepionek inaktywowanych dominują IWPL zawierające szczep Clone30 (43%) (Rycina 3). Pozostałe szczepionki przeciwko ND w Polsce są to immunopreparaty wektorowe (3 IWPL) czyli preparaty oparte na rekombinowanym wirusie HVT, w który wprowadzono gen kodujący białko fuzyjne (F) wirusa choroby Newcastle.

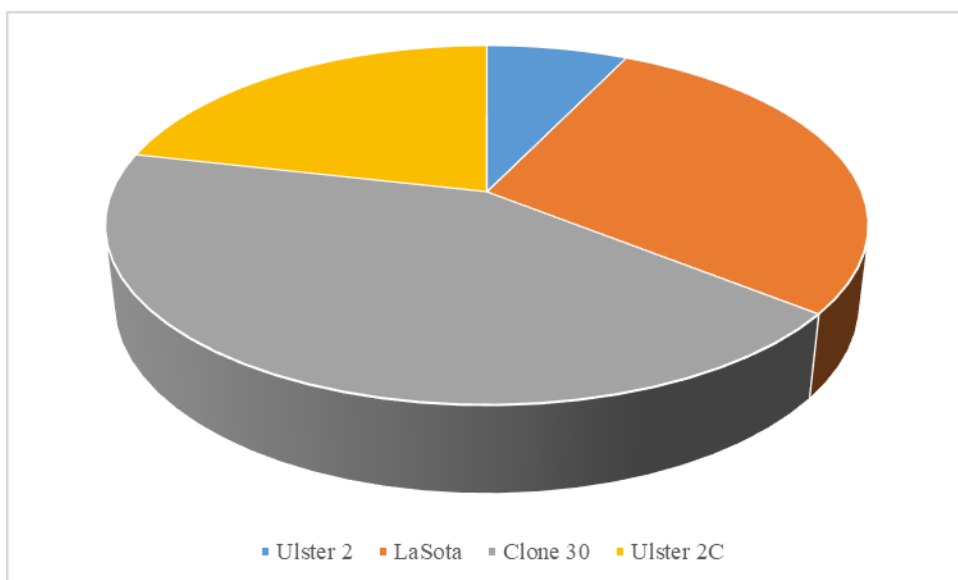
Szczepionki żywe przeciwko ND są zwykle liofilizatami lub tabletkami musującymi do rozpuszczenia, podawanymi wziewnie, w wodzie do picia lub kroplą do oka lub nosa. Szczepionki inaktywowane dostępne są głównie w postaci emulsji do wstrzykiwań, które po sporządzeniu podaje się domięśniowo lub podskórnio. Natomiast szczepionki wektorowe występują w postaci zawiesiny i rozpuszczalnika do sporządzania zawiesiny do wstrzykiwań i podawane są podskórnio lub *in ovo* (do jaja). Większość szczepionek żywych i inaktywowanych przeciwko ND należy przechowywać w temperaturze 2-8°C, chronić je przed światłem i zużyć przygotowany roztwór w ciągu kilku godzin. Wszystkie szczepionki wektorowe ND muszą być natomiast przechowywane w stanie zamrożenia w ciekłym azocie.

Tabela 1. Charakterystyka szczepionek przeciwko chorobie Newcastle (ND) w Polsce

Rodzaj szczepionki przeciwko ND	Sposób uzyskania	Mechanizm działania	Typ odporności	Szczepy NDV w szczepionkach przeciwko ND
Żywa atenuowana	Zawiera pełny, żywy wirus lentogeniczny lub apatogeny o obniżonej zjadliwości (atenuowany)	Wirus wnika do komórek, imituje naturalne zakażenie i wywołuje silną odpowiedź immunologiczną	Odporność miejscowa i humoralna (ogólna)	▪ Clone 13-1 ▪ Clone 30 ▪ CLS ▪ HitchnerB1 ▪ LaSota ▪ NDV 6/10 ▪ Phy.LMV.42 ▪ C2 ▪ CL/79 ▪ Ulster 2C ▪ VG/GA-AVINEW ▪ VH
Inaktywowana	Wirus pozbawiony zdolności zakażenia za pomocą metod chemicznych lub fizycznych (np. temperatura, promieniowanie)	Stymuluje organizm jedynie do produkcji przeciwciał krążących we krwi	Wyłącznie odporność humoralna (ogólna)	▪ Ulster 2 ▪ LaSota ▪ Clone 30 ▪ Ulster 2C
Wektorowa	Zastosowanie wektora z wprowadzonym genem patogenu (produkt inżynierii genetycznej łączący materiał dawcy i wektora)	Indukuje odpowiedź ukierunkowaną zarówno przeciw wektorowi, jak i patogenowi-dawcy	Wyłącznie odporność humoralna (ogólna)	gen F szczepów wirusa ND (szczepu D-26 lub określonych jako lentogeniczne klasy II)



Rycina 2. Szczepy szczepionkowe zawarte w żywych IWPL przeciw ND stosowanych w Polsce



Rycina 3. Szczepy szczepionkowe zawarte w inaktywowanych IWPL przeciw ND stosowanych w Polsce

Kontrola szczepionek ND przez laboratoria OMCL

Szczepionki przeciwko ND w Europie podlegają ścisłej kontroli Państwowych Laboratoriów Kontroli Produktów Leczniczych (OMCL), zrzeszonych w sieci GEON i koordynowanych przez Europejski Dyrektoriat ds. Jakości Leków i Ochrony Zdrowia (EDQM). EDQM współpracuje m.in. z Europejską Agencją Leków (EMA) oraz Światową Organizacją Zdrowia (WHO), zapewniając bezpieczeństwo i skuteczność preparatów. Harmonizacja prawa farmaceutycznego umożliwia wzajemne uznawanie wyników analiz OMCL w całej UE. W Polsce szczepionki dopuszcza do obrotu Urząd Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych (URPL).

Szczepionki ND znajdują się na tzw. „Short list” – „Krótkiej liście IWPL, dla których uzgodniono listę parametrów podlegających ocenie (Tabela 2) oraz wykaz powiązanych wytycznych dla OMCL” (EU Administrative Procedure for Application of Official Control Authority Batch Release of Immunological Veterinary Medicinal Products According to Article 128) (11). Aby seria IWPL przeciwko rzekomemu pomorowi drobiu mogła zostać wprowadzona do obrotu, musi otrzymać certyfikat Official Control Authority Batch Release – OCABR (12). Zgodnie z obowiązującymi wytycznymi EDQM “EU Official Control Authority Batch Release Immunological Veterinary Medicinal Products – List of OMCLs able to provide OCABR certificates”, w Europie istnieje 6 laboratoriów OMCL uprawnionych do wydawania certyfikatów OCABR dla szczepionek przeciwko ND. Są to OMCL-e z następujących Państw UE: Belgii, Czech, Niemiec, Węgier, Rumunii i Słowacji (Tabela 2). OCABR dla danej serii szczepionek przeciwko ND wydany przez jedno z wymienionych laboratoriów OMCL jest wzajemnie uznawany przez wszystkie OMCL-e z pozostałych państw członkowskich. Polskie laboratorium

OMCL PIWet-PIB wykonuje natomiast corocznie badania monitoringowe wybranych IWPL przeciwko chorobie Newcastle, zlecone przez Głównego Lekarza Weterynarii, w zakresie parametrów wskazanych na „Short list” oraz dodatkowo parametrów fizykochemicznych. Badania jakościowe prowadzone są procedurami badawczymi atestowanymi przez EDQM.

Tabela 2. Zatwierdzona przez EDQM lista testów kontrolnych dla szczepionek przeciwko chorobie Newcastle, przeprowadzanych przez OMCL celem wydania certyfikatu OCABR

Lp.	Rodzaj szczepionek	Wymagane testy kontrolne	Laboratoria OMCL, które wykonują badania
1	Szczepionki żywe	▪ Wygląd ▪ Rozpuszczalność ▪ Miano wirusa ▪ Tożsamość	▪ Belgia ▪ Czechy ▪ Niemcy ▪ Węgry ▪ Rumunia ▪ Słowacja
2	Szczepionki inaktywowane	▪ Wygląd ▪ Moc	▪ Belgia (tylko szczep LaSota) ▪ Czechy ▪ Niemcy ▪ Węgry ▪ Słowacja

Obecność szczepionek ND na tzw. „krótkiej liście” (z ang. short list) czyli liście restrykcyjnie badanych IWPL podkreśla, jak rygorystycznie kontrolowana jest ich jakość, aby mogły być wprowadzone do obrotu.

Piśmiennictwo

1. Charlton B.R.: Avian disease manual. AAAP 6th edition 2006; s. 55–60.
2. Saif Y.M.: Diseases of Poultry. Iowa State Press, 11th edition 2003; s. 63–88.
3. OIE. Newcastle Disease. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2012. vol. 1, s. 555–574.

4. Aldous E.W., Alexander D.J.: Detection and differentiation of Newcastle disease virus (avian paramyxovirus type 1). *Avian Pathol.* 2001, 30, 117–128.
5. Koopman R.: Newcastle disease vaccination of broilers. *International Hatchery Practice* 2007, 21, 17–19.
6. Muhammad Bashir Bello M.B.; Khatijah Y. Aini I., Hair-Bejo M., Peeters B.P.H., Omar A.R.: Diagnostic and Vaccination Approaches for Newcastle Disease Virus in Poultry: The Current and Emerging Perspectives. *Hindawi BioMed Research International*. 2018; pp. 1–18.
7. Dimitrov K.M., Afonso C.L., Yu Q., Miller P.J.: Newcastle disease vaccines – A solved problem or a continuous challenge? *Vet. Microbiol.* 2016, 206, 126–136.
8. Hodorowicz, W. (2021). Rzekomy pomór drobiu – przegląd strategii szczepień i zapobiegania chorobie. *Życie Weterynaryjne*, 96(8), 579–588.
9. Rozporządzenie MRiRW z dnia 25 kwietnia 2025 r. (Dz.U. 2025, poz. 564).
10. Wytyczne Głównego Lekarza Weterynarii w sprawie realizacji monitoringu serologicznego stad kur i indyków, podlegających obowiązkowi szczepienia przeciwko rzekomemu pomorowi drobiu (chorobie Newcastle, ND), Warszawa, czerwiec 2025 r.
11. EU Administrative Procedure for Official Batch Release of Immunological Veterinary Medicinal Products in Application of Article 128 of Regulation (EU) 2019/6. European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM) Strasbourg: Council of Europe (2022). In force from 1 July 2022.
12. Rozporządzenie (UE) 2019/6 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 11 grudnia 2018 r. w sprawie weterynaryjnych produktów leczniczych i uchylające dyrektywę 2001/82/WE, art. 128 ust. 3.

Oznaczanie zawartości PCDD, PCDF i dl-PCB w paszach z użyciem biotestu XDS-CALUX – badania monitoringowe

Beata Furga, Ewelina Bigoraj, Małgorzata Warenik-Bany, Paweł Małagocki,
Joanna Cebulska, Ewelina Milczarczyk

Dział Badań Chemicznych Żywności i Pasz

Wstęp

Pasza to pożywienie złożone z surowców roślinnych, zwierzęcych i mineralnych, które dostarcza niezbędnych składników odżywczych zwierzętom hodowlanym i domowym, wpływając na ich zdrowie i rozwój, a co za tym idzie efektywność produkcji żywności pochodzenia zwierzęcego. Dobrej jakości pasze zawierają odpowiednie proporcje witamin i minerałów a także są wolne od zanieczyszczeń chemicznych i mikrobiologicznych. Do najczęściej stwierdzanych w paszach ksenobiotyków należą dioksyny (polichlorowane dibenzo-p-dioksyny (PCDD), polichlorowane dibenzofurany (PCDF)) oraz dioksynopodobne polichlorowane bifenyle (dl-PCB). Jest to grupa toksycznych związków chemicznych, które powstają głównie jako niepożądane produkty uboczne w procesach spalania i niektórych procesach przemysłowych. Są one trwałe w środowisku i łatwo kumulują się w organizmach żywych, szczególnie w tkance tłuszczowej. Związki te działają toksycznie na organizm człowieka, gdyż uszkodzają układ nerwowy i odpornościowy, zaburzają gospodarkę hormonalną, a także mogą działać rakotwórczo. Do zanieczyszczenia pasz związkami toksycznymi może dojść na skutek np. nieprawidłowo przeprowadzonego procesu suszenia owoców, warzyw, przypraw czy odpadów piekarniczych, które następnie są mielone i dodawane do pasz. Innym źródłem zanieczyszczenia jest osadzanie się zanieczyszczonego pyłu z powietrza na uprawach i paszach. Do skażenia pasz może również dojść na skutek uzupełnienia paszy dodatkiem np. mączki

rybnej. Jest ona najczęściej przygotowana z ryb pochodzących z Morza Bałtyckiego, które jest skażone dioksynami i dioksynopodobnymi PCB. Jeżeli związki te dostaną się do łańcucha żywnościowego poprzez pasze dla zwierząt będą one obecne również w żywności pochodzenia zwierzęcego i mogą stanowić zagrożenie dla człowieka. Dlatego wychodząc naprzeciw potrzebom konsumentów Komisja Europejska przyjęła strategię „od pola do stołu” (ang. *from farm to fork*), której głównym elementem jest kontrola produkcji żywności na wszystkich etapach. Elementami tej kontroli są przepisy, które określają najwyższe dopuszczalne poziomy zanieczyszczeń w paszach i żywności, a także Krajowe Plany Urzędowej Kontroli Pasz realizowane w poszczególnych krajach członkowskich UE. Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach od 2004 roku prowadzi badania monitoringowe pasz w kierunku zawartości dioksyn (PCDD/F), a od 2008 roku do monitorowanych substancji dołączyły dioksynopodobne polichlorowane bifenyle (dl-PCB). Monitoring dostarcza na bieżąco informacji dotyczących skażeń pasz i ich komponentów, pozwala również w dłuższej perspektywie czasu ocenić stopień skażenia pasz oraz zidentyfikować potencjalnie niebezpieczne ich rodzaje. Jest to szczególnie ważne w obecnej sytuacji geopolitycznej, gdyż wschodnia granica Polski stanowi również granicę Unii Europejskiej, dlatego wszelkie pasze i dodatki paszowe muszą spełniać wymogi UE.

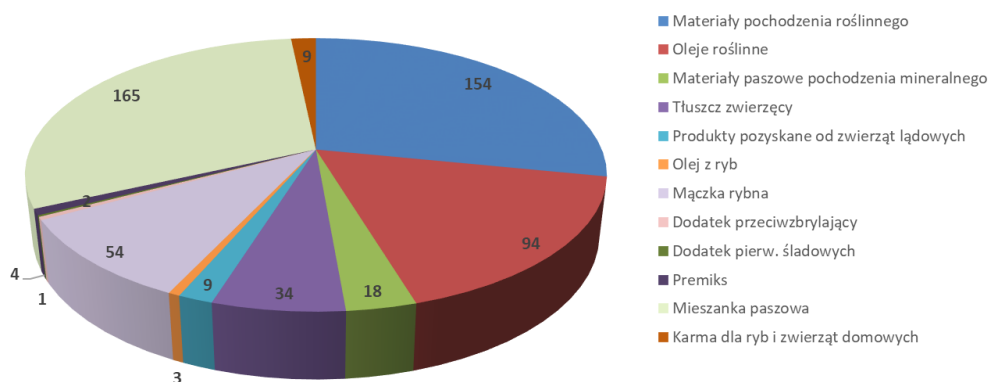
Materiały i metody

W latach 2023-2024 w ramach Krajowego Planu Urzędowej Kontroli Pasz przebadano łącznie 547 próbek pasz pobranych z terenu całego kraju. Pasze podzielono na dwanaście kategorii (zgodnie z Rozporządzenie Komisji (UE) nr 277/2012 z dnia 28 marca 2012 r.), których rodzaje przedstawiono w tabeli nr 1 natomiast liczbę badanych próbek przedstawiono na rycinie 1.

Tabela 1. Kategorie pasz

Lp.	Kategoria	Rodzaj
1.	Materiały pochodzenia roślinnego	owies, pszenica, jęczmień, młoto browarniane otręby pszenne, śruta sojowa, wysłodki buraczane, uboczne produkty piekarnicze
2.	Oleje roślinne i ich produkty uboczne	oleje: sojowy, rzepakowy, słonecznikowy lniany, makuchy, tłuszcz chroniony Optima, śruta sojowa poekstrakcyjna, kwasy tłuszczowe
3.	Materiały paszowe pochodzenia mineralnego	Suplexan, chlorek sodu, Bentonit, węglan wapnia, siarczan miedzi
4.	Tłuszcz zwierzęcy	tłuszcze paszowe: drobiowy, wieprzowy, wołowy, mieszany, tłuszcz zwierzęcy kat. 3
5.	Produkty pozyskane od zwierząt lądowych	skwarki suszone, przetworzone białko zwierzęce, hemoglobina, mączka drobiowa, mączka z piór, suszona plazma, mączka z krwi drobiowej
6.	Olej z ryb	olej z ryb
7.	Mączka rybna	mączka rybna
8.	Dodatek przeciwbrylający	sole wapniowe kwasów tłuszczowych, glina kaolinowa
9.	Dodatek pierw. śladowych	aminochelaty
10.	Premiks	premiks
11.	Mieszanka paszowa	mieszanki paszowe: uzupełniające mineralne, uzupełniające, pełnoporcjowe, własne
12.	Karma dla ryb i zwierząt domowych	mieszanka paszowa dla ryb, karma dla zwierząt domowych, zanęta wędkarska, mieszanka paszowa dla psów i kotów

Do oznaczenia PCDD, PCDF i dl-PCB zastosowano biologiczną metodę przesiewową (biotest XDS-CALUX) oraz instrumentalną metodę chemiczną. Metoda biologiczna wykorzystuje do detekcji zmodyfikowaną genetycznie linię komórkową hepatomy mysiej (H1L6.1c3). Metoda ta umożliwiła selekcję próbek „podejrzanych”, w których stężenie analitów przekraczało wartość odcięcia (ang. cut-off value). Próbkę podejrzaną poddawano analizie metodą potwierdzającą HRGC-HRMS (wysokorozdzielcza chromatografia gazowa w połączeniu ze spektrometrią mas wysokiej rozdzielczości). Obie metody posiadają akredytację Polskiego Centrum Akredytacji (AB957).



Rycina 1. Liczba i rodzaj badanych próbek

Wyniki i omówienie

Uśrednione wyniki badań PCDD/PCDF, dl-PCB oraz sumy PCDD/PCDF/dl-PCB wraz z zakresem dla poszczególnych kategorii przedstawiono w tabeli 2. Wyniki badań wykonanych metodą bioanalityczną podano w ng BEQ/kg paszy o zawartości wilgoci 12%. BEQ jest wskazaniem wartości TEQ w próbce uzyskanym metodą bioanalityczną zgodnie z wymaganiami Rozporządzenia Komisji (UE) nr 2017/771 z dnia 5 kwietnia 2017 r. (Dz. Urz. UE L 115 z 4.5.2017, str. 22–42).

Materiały pochodzenia roślinnego

Spośród 154 próbek materiałów pochodzenia roślinnego przebadanych metodą przesiewową, stwierdzono 4 próbki podejrzane. Badanie metodą potwierdzającą potwierdziło przekroczenie dopuszczalnych limitów określonych w rozporządzeniu nr 277/2012/UE w jednej z tych próbek. Była to próbka suszu z korzenia cykorii, w której oznaczono stężenie sumy PCDD/PCDF $0,93 \pm 0,13$ ng WHO-TEQ/kg paszy o zawartości wilgoci 12% na poziomie przekraczającym maksymalny dopuszczalny poziom (ML), który wynosi 0,75 ng WHO-TEQ/kg paszy o zawartości wilgoci 12%.

W badanych materiałach roślinnych średnie stężenia PCDD/F wynosiły $0,22 \pm 0,19$ ng BEQ/kg paszy o zawartości wilgoci 12% (29% ML), a sumy PCDD/F/PCB $0,49 \pm 0,27$ ng BEQ/kg paszy o zawartości wilgoci 12% (ok. 39%).

Tabela 2. Wyniki badań

L.p.	Kategoria matrycy	Ilość próbek	PCDD/PCDF		dl-PCB	Σ PCDD/F/dl-PCB	
			Średnia $\pm$ SD Zakres	Limit PCDD/F	Średnia $\pm$ SD Zakres	Średnia $\pm$ SD Zakres	Limit sumy
1.	Materiały pochodzenia roślinnego	154	$0,22 \pm 0,19$ 0,18 - 2,44	0,75	$0,26 \pm 0,18$ 0,20 - 1,49	$0,49 \pm 0,27$ 0,40 - 2,64	1,25
2.	Oleje roślinne	94	$0,20 \pm 0,04$ 0,18 - 0,38	0,75	$0,23 \pm 0,11$ 0,17 - 0,73	$0,43 \pm 0,11$ 0,35 - 0,91	1,5
3.	Materiały paszowe pochodzenia mineralnego	18	$0,21 \pm 0,03$ 0,20 - 0,31	0,75	$0,15 \pm 0,04$ 0,13 - 0,27	$0,36 \pm 0,05$ 0,33 - 0,50	1
4.	Tłuszcz zwierzęcy	34	$0,30 \pm 0,16$ 0,26 - 1,01	1,5	$0,34 \pm 0,19$ 0,18 - 1,03	$0,64 \pm 0,28$ 0,44 - 1,45	2
5.	Produkty pozyskane od zwierząt lądowych	9	$0,22 \pm 0,05$ 0,20 - 0,36	0,75	$0,20 \pm 0,00$ 0,20 - 0,20	$0,42 \pm 0,05$ 0,40 - 0,56	1,25
6.	Olej z ryb	3	$1,52 \pm 0,10$ 1,43 - 1,62	5	$2,70 \pm 0,66$ 2,12 - 3,42	$4,22 \pm 0,62$ 3,62 - 4,85	20
7.	Mączka rybna	54	$0,57 \pm 0,35$ 0,31 - 2,12	1,25	$0,69 \pm 0,14$ 0,64 - 1,24	$1,26 \pm 0,40$ 0,95 - 2,76	4
8.	Dodatek przeciwbrylający	2	$0,74 \pm 0,34$ 0,50 - 0,98	0,75	$0,59 \pm 0,01$ 0,58 - 0,60	$1,33 \pm 0,33$ 1,10 - 1,56	1,5
9.	Dodatek pierw. śladowych	1	0,20 -	1	0,13 -	0,33 -	1,5
10.	Premiks	4	$0,28 \pm 0,08$ 0,20 - 0,39	1	$0,15 \pm 0,03$ 0,13 - 0,20	$0,43 \pm 0,08$ 0,33 - 0,52	1,5
11.	Mieszanka paszowa	165	$0,23 \pm 0,16$ 0,18 - 1,96	0,75	$0,24 \pm 0,11$ 0,17 - 1,15	$0,47 \pm 0,20$ 0,35 - 2,16	1,5
12.	Karma dla ryb i zwierząt domowych	9	$0,46 \pm 0,45$ 0,31 - 1,67	1,75	$0,64 \pm 0,00$ 0,64 - 0,64	$1,10 \pm 0,45$ 0,95 - 2,31	5,5
Razem		547					

Oleje roślinne i ich produkty uboczne

Średnie stężenia dioksyn i sumy dioksyn i dl-PCB oznaczone w olejach roślinnych były na niskim poziomie i stanowiły odpowiednio ok. 27% i 28% najwyższych dopuszczalnych limitów. W badanych olejach roślinnych i ich produktach ubocznych średnie stężenia PCDD/F wynosiły $0,20 \pm 0,04$ ng BEQ/kg paszy o zawartości wilgoci 12%, a sumy PCDD/F/PCB $0,43 \pm 0,11$ ng BEQ/kg paszy o zawartości wilgoci 12%.

Materiały paszowe pochodzenia mineralnego

W badanych minerałach (n=18) średnie stężenie sumy PCDD/PCDF wynosiło 0,21 ng BEQ/kg paszy o zawartości wilgoci 12% (ok. 28% limitu oznaczalności) i 0,36 ng BEQ/kg paszy o zawartości wilgoci 12% dla Σ PCDD/F/dl-PCB (36% limitu oznaczalności).

Tłuszcz zwierzęcy

Średnie stężenia badanych analitów w tłuszczach pochodzenia zwierzęcego wynosiły dla dioksyn 0,30 ng BEQ/kg paszy o zawartości wilgoci 12% i 0,64 ng BEQ/kg paszy o zawartości wilgoci 12% dla Σ PCDD/F/dl-PCB, co stanowiło ok. 20% i 32% najwyższego dopuszczalnego poziomu odpowiednio dla dioksyn jak i sumy dioksyn i PCB.

Inne produkty pozyskane od zwierząt lądowych

Oprócz tłuszczu zwierzęcego, przebadano 9 próbek innych produktów pochodzenia zwierzęcego. Średnie stężenia dioksyn i sumy PCDD/PCDF/dl-PCB oznaczone w tych próbkach wynosiły $0,22 \pm 0,05$ i $0,42 \pm 0,05$ ng BEQ/kg paszy o zawartości wilgoci 12%.

Olej z ryb

Analizie poddano 3 próbki oleju rybnego. Średnie stężenia dioksyn oznaczone w olejach rybnych były na poziomie ok. 30% ($1,52$ ng BEQ/kg paszy o zawartości wilgoci 12%), a średnie stężenie sumy dioksyn i dl-PCB wynosiły

ok. 21% (4,22 ng BEQ/kg paszy o zawartości wilgoci 12%) najwyższych dopuszczalnych limitów.

Mączka rybna

W 54 analizowanych metodą bioanalityczną, próbkach mączek rybnych stwierdzono 4 próbki podejrzane. Po przebadaniu ich chemiczną metodą potwierdzającą HRGC/HRMS, w jednej z nich oznaczono stężenie sumy PCDD/PCDF ($0,99 \pm 0,14$ ng WHO-TEQ/kg paszy o zawartości wilgoci 12%) na poziomie przekraczającym próg podejmowania działań (ang. action level, AL), który wynosi 0,75 ng WHO-TEQ/kg paszy o zawartości wilgoci 12%. W trzech pozostałych nie stwierdzono przekroczenia najwyższych dopuszczalnych stężeń zarówno dla sumy PCDD/PCDF jak i sumy dioksyn i dl-PCB. Średnia zawartość analizowanych związków w pozostałych mączkach rybnych stanowiła odpowiednio ok. 44% i 31% najwyższej dopuszczalnej zawartości.

Dodatek przeciwbrylający

Analizie poddano 2 próbki dodatku przeciwbrylającego. Po analizie metodą przesiewową stwierdzono w nich podwyższoną zawartość PCDD/F i Σ PCDD/PCDF/dl-PCB, jednak analiza potwierdzająca nie wykazała przekroczenia najwyższego dopuszczalnego limitu zarówno dla Σ PCDD/PCDF, jak i Σ PCDD/PCDF/dl-PCB.

Dodatek pierwiastków śladowych i premiks

Badaniom poddano 1 próbkę dodatku pierwiastka śladowego i 4 próbki premiksów. Średnie stężenia Σ PCDD/F i Σ PCDD/F/dl-PCB zarówno dla pierwiastka śladowego jak i premiksów stanowiły poniżej 30% dopuszczalnego poziomu.

Mieszanki paszowe

Spośród 165 przebadanych próbek mieszanek paszowych stwierdzono 2 próbki podejrzane, a w próbce mieszanki mineralnej stwierdzono

podwyższone stężenie PCDD/F. Po wykonaniu analizy potwierdzającej 2 próbek podejrzanych nie stwierdzono przekroczenia najwyższego maksymalnego poziomu w żadnej próbce. Badanie potwierdzające próbki mieszanki mineralnej potwierdziło przekroczenie najwyższego maksymalnego poziomu dioksyn.

Średnia zawartość sumy dioksyn w pozostałych mieszankach paszowych wynosiła $0,23 \pm 0,16$ ng BEQ/kg paszy o zawartości wilgoci 12%, natomiast średnia zawartość sumy dioksyn i PCB wynosiła $0,47 \pm 0,20$ ng BEQ/kg paszy o zawartości wilgoci 12%. Stanowiło to ok. 27% najwyższych dopuszczalnych limitów dla PCDD/PCDF oraz ok. 28% najwyższych dopuszczalnych limitów dla Σ PCDD/PCDF/dl-PCB.

Mieszanki paszowe dla zwierząt domowych i ryb

Średnie stężenia zarówno PCDD/F jak i sumy PCDD/F/PCB oznaczone w badanych próbkach były na niskim poziomie i wynosiły odpowiednio $0,46 \pm 0,45$ ng BEQ/kg paszy o zawartości wilgoci 12% oraz $1,10 \pm 0,45$ ng BEQ/kg paszy o zawartości wilgoci 12%, co stanowi odpowiednio ok. 26% i ok. 20% maksymalnych dopuszczalnych limitów.

Podsumowanie

Program urzędowy badań kontrolnych pasz pozwala na stały nadzór i kontrolę nad produkcją pasz oraz na uwzględnienie aktualnych problemów występujących w sektorze paszowym. W latach 2023-2024 stwierdzono dwa przekroczenia dopuszczalnych limitów określonych w rozporządzeniu nr 277/2012/UE. Była to próbka paszy pochodzenia roślinnego (susz z korzenia cykorii), w której oznaczono stężenie sumy PCDD/PCDF ($0,93 \pm 0,13$ ng WHO-TEQ/kg paszy o zawartości wilgoci 12%) oraz próbka mieszanki paszowej, w której stężenie sumy PCDD/PCDF wynosiło $4,60 \pm 0,07$ ng WHO-TEQ/kg paszy o zawartości wilgoci 12%, a stężenie Σ PCDD/PCDF/dl-PCB wynosiło

4,60 ± 0,10 ng WHO-TEQ/kg paszy o zawartości wilgoci 12%. Ponadto w próbce mączki rybnej oznaczono stężenie sumy PCDD/PCDF (0,99 ± 0,14 ng WHO-TEQ/kg paszy o zawartości wilgoci 12%) na poziomie przekraczającym próg podejmowania działań AL, który wynosi 0,75 ng WHO-TEQ/kg paszy o zawartości wilgoci 12%.

Wyniki badań monitoringowych potwierdzają wysoką jakość pasz dostępnych na rynku polskim. Natomiast ze względu na sporadycznie wykrywane przypadki przekroczeń najwyższych dopuszczalnych poziomów, badania monitoringowe potwierdzają, że niezbędna jest kontrola pasz oraz różnorodnych komponentów paszowych, a w szczególności materiałów poddanych procesowi suszenia, jak również mączek rybnych. Stała kontrola pozwala wykryć incydentalne przypadki skażeń, a co za tym idzie eliminację ich źródeł. Pomaga to kontrolować bezpieczeństwo pasz i żywności, które stanowią ogniwa łańcucha żywnościowego, na końcu którego znajduje się człowiek.

Promieniotwórcze izotopy cezu w rybach słodkowodnych na przykładzie karpia (*Cyprinus carpio*) – badania monitoringowe

Paweł Czerski, Magdalena Gembal, Małgorzata Warenik-Bany

Dział Badań Chemicznych Żywności i Pasz

Wstęp

Jednym z obszarów środowiska który został skażony po awarii jądrowej w Czarnobylu w 1986 roku, był obszar wodny na terenie Polski. Bezpośrednio po wybuchu reaktora czarnobylskiego uwolniona została radioaktywna chmura, czego następstwem był opad promieniotwórczy. Doprowadził on do skażenia powierzchniowych warstw gleby oraz wód powierzchniowych. Najważniejszymi radionuklidami uwolnionymi podczas awarii w Czarnobylu były ^{137}Cs ($T_{1/2}=30,2$ lat) oraz ^{134}Cs ($T_{1/2}=2,06$ lat). Ze względu na swój długi czas półtrwania oraz właściwości, promieniotwórczy izotop ^{137}Cs do dziś jest obecny w środowisku naturalnym. Radionuklidy te przez swoje powinowactwo do potasu mają zdolność do kumulowania się głównie w tkance mięśniowej i stale wchodzi do łańcucha żywnościowego zwierząt. W celu oceny aktualnego poziomu skażenia promieniotwórczego środowiska wodnego, w Zakładzie Radiobiologii, a obecnie w Dziale Badań Chemicznych Żywności i Pasz PIWet-PIB, od wielu lat prowadzone są systematycznie badania zawartości radioizotopów cezu w rybach między innymi w tkance mięśniowej karpia (*Cyprinus carpio*). Jest to gatunek ryby słodkowodnej, hodowanej i poławianej na dużą skalę jako ryba konsumpcyjna. Ryby są uznawane za doskonałe źródło pełnowartościowego białka pochodzenia zwierzęcego. Karpie mogą akumulować szkodliwe substancje chemiczne, takie jak metale ciężkie (rtęć, ołów, kadm), pestycydy chloroorganiczne,

dioksyny i polichlorowane bifenyle (PCB) oraz radionuklidy promieniotwórcze, zwłaszcza gdy są hodowane w zanieczyszczonych wodach.

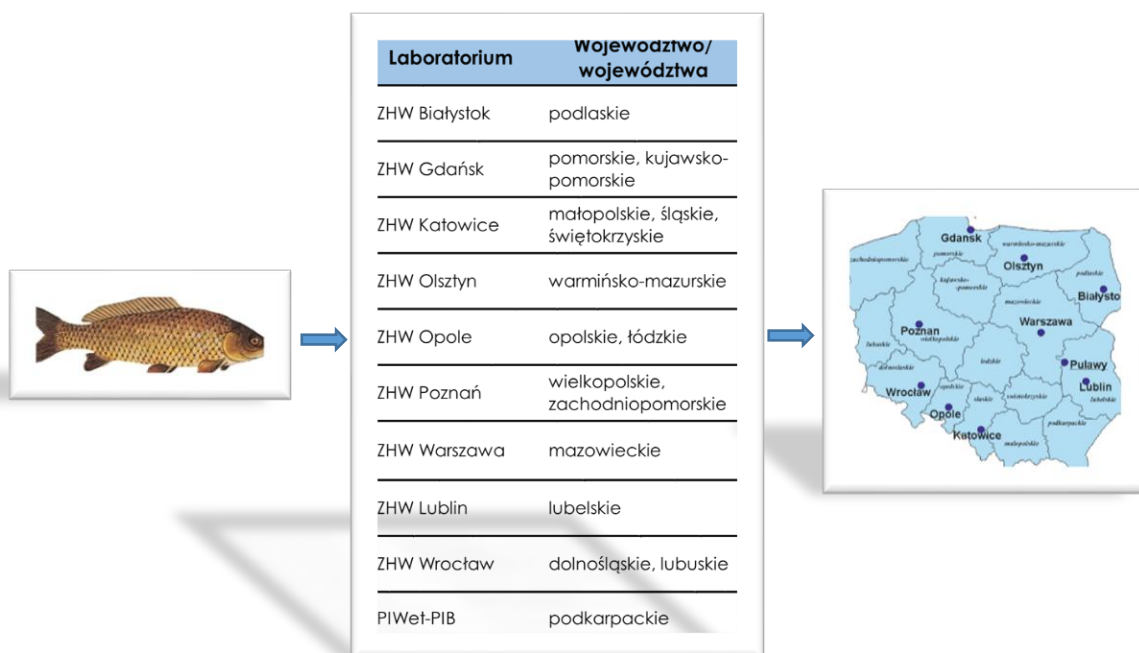
Podstawy prawne kontroli skażeń promieniotwórczych

Na podstawie rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 21 czerwca 2017 r. w sprawie monitorowania substancji niedozwolonych, pozostałości chemicznych, biologicznych, produktów leczniczych i skażeń promieniotwórczych, każdego roku prowadzone są badania kontrolne skażeń promieniotwórczych żywności pochodzenia zwierzęcego, które umożliwiają wiarygodną ocenę sytuacji radiologicznej w kraju. Powszechnie stosowanym wskaźnikiem stanu tych skażeń jest oznaczanie radioizotopów cezu (^{137}Cs , ^{134}Cs). Zadanie realizuje 9 Zakładów Higieny Weterynaryjnej oraz Dział Badań Chemicznych Żywności i Pasz PIWet-PIB, który pełni rolę laboratorium referencyjnego, odwoławczego i koordynującego funkcjonowanie systemu badań kontrolnych skażeń promieniotwórczych żywności. Coroczny raport z badań kontrolnych przesyłany jest do Głównego Inspektoratu Weterynarii i publikowany na stronach GIW. Raport przesyłany jest również do Państwowej Agencji Atomistyki (PAA).

Stężenie izotopów promieniotwórczych w produktach żywnościowych należy odnosić do wartości określonych w Rozporządzeniu Rady Ministrów z dnia 27 kwietnia 2004 r. Maksymalne dozwolone poziomy w produktach spożywczych nie mogą przekraczać 1250 Bq/kg. Dodatkowo, zgodnie z prawem europejskim, stężenia izotopów promieniotwórczych w środkach spożywczych i produktach spożywczych należy odnosić do wartości określonych w Rozporządzeniu Wykonawczym Komisji (UE) 2024/256 z dnia 17 stycznia 2024 r. W dokumencie tym określono m.in., że stężenie izotopu ^{137}Cs nie może przekraczać 370 Bq/kg w mleku i przetworach mlecznych oraz 600 Bq/kg we wszystkich innych środkach spożywczych i produktach.

Materiał i metody

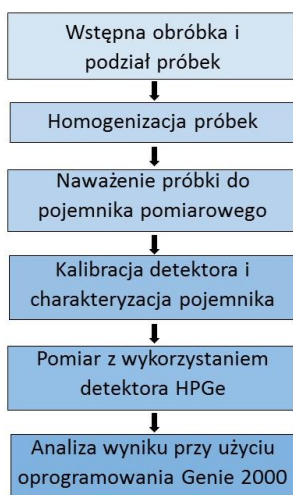
Do badań pobierano losowo co kwartał w każdym województwie próbki o masie ok. 1 kg, pochodzące z gospodarstw lub zakładów hodowlanych. Próbki z obszaru całego kraju przesyłano do wyznaczonych laboratoriów urzędowych (Zakłady Higieny Weterynaryjnej) oraz laboratorium KLR w Puławach (Rycina 1).



Rycina 1. Wyznaczone laboratoria urzędowe na terenie Polski

Do oznaczenia radioaktywnego stężenia ^{137}Cs i ^{134}Cs zastosowano metodę spektrometrii promieniowania gamma, która wykorzystuje detektor półprzewodnikowy (detektor germanowy o wysokiej czystości) lub detektor scyntylacyjny (kryształ NaI(Tl)). Po rozdrobnieniu i ujednoliceniu próbki przenoszono do pojemników pomiarowych typu Marinelli (450 cm^3), zachowując przy tym geometrię wielonuklidowego źródła kalibracyjnego,

którego użyto do wzorcowania detektorów. Pojemniki pomiarowe z próbkami umieszczano na detektorach, w których zastosowano specjalne ołowiane osłony oddzielające próbkę od promieniowania zewnętrznego a następnie wykonywano oznaczenia. Czas pomiaru każdej analizy wynosił 20 godzin (72 000 sekund). Zebrane widma promieniowania gamma analizowano, stosując oprogramowanie Genie 2000 (Rycina 2).



Rycina 2. Schemat metody badawczej

W pomiarach radiometrycznych rolę rolę LoD (Limit of Detection – Granica wykrywalności) i LoQ (Limit of Quantification – Granica oznaczalności) pełni MDA (Minimum Detectable Activity – Minimalna Wykrywalna Aktywność). Jeśli stwierdzone wartości stężeń promieniotwórczych radioizotopów cezu były mniejsze niż MDA, do obliczeń wykorzystywano wartości MDA. Do przeprowadzenia pomiarów zastosowano metodę akredytowaną (AB 485) przez Polskie Centrum Akredytacji, która została

wielokrotnie poddana sprawdzeniu w badaniach biegłości uzyskując wyniki pozytywne.

Wyniki

W latach 2015-2024 przebadano łącznie 1203 próbki karpia. W tabeli 1 przedstawiono uzyskane średnie stężenia promieniotwórcze radioizotopu ^{137}Cs z podziałem na województwa. Ze względu na aktualny brak występowania ^{134}Cs w środowisku (krótki czas półtrwania), wszystkie jego zmierzone wartości są wartościami poniżej MDA.

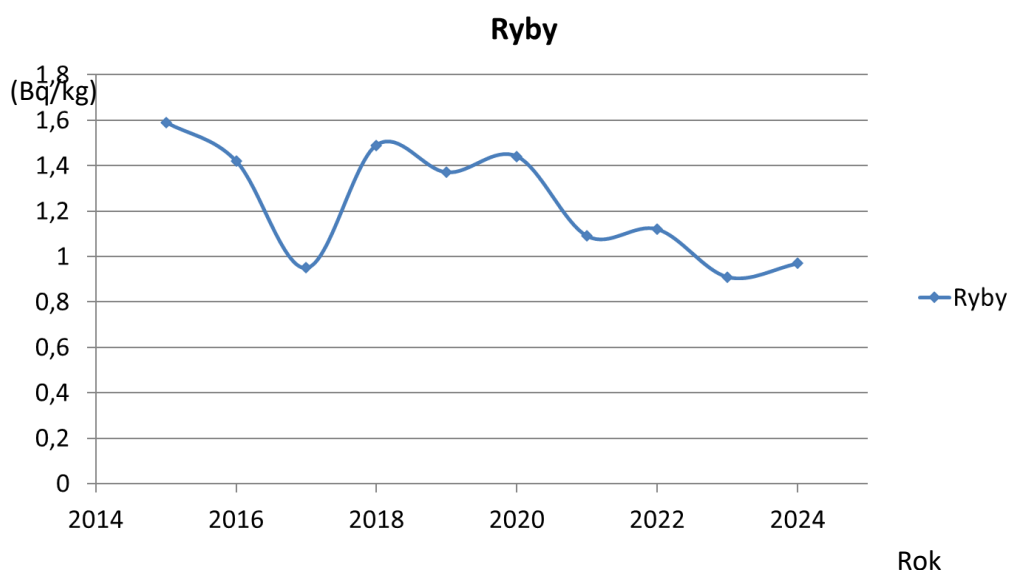
Tabela 1. Średnie stężenia ^{137}Cs w poszczególnych województwach w karpniu w latach 2015-2024.

	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023	2024
Podlaskie	2,14	2,20	0,00	3,57	2,39	2,93	2,17	1,97	1,94	1,93
Pomorskie	0,00	0,00	0,00	1,98	2,10	2,10	0,00	0,70	0,00	0,70
Kujawsko-pomorskie	1,93	2,10	0,00	2,10	2,10	2,10	0,88	0,70	0,70	0,70
Małopolskie	0,72	0,62	0,95	0,74	0,88	0,71	0,92	1,09	1,05	1,57
Śląskie	0,64	1,03	0,95	0,86	0,76	0,77	1,03	0,96	1,02	1,52
Świętokrzyskie	2,19	2,00	0,66	0,74	1,27	0,91	0,75	0,73	1,20	1,66
Warmińsko-mazurskie	2,75	2,70	0,00	2,87	2,65	2,49	2,09	1,61	0,00	0,00
Opolskie	1,84	2,01	3,80	1,41	1,17	1,50	1,08	0,69	0,68	1,11
Łódzkie	1,44	1,98	0,95	1,41	0,95	1,06	0,58	0,96	0,40	0,53
Wielkopolskie	0,62	0,83	1,05	0,56	0,62	0,62	0,58	0,60	0,58	0,59
Zachodnio-pomorskie	0,59	0,60	0,56	0,80	0,61	1,46	0,55	0,61	0,58	0,59
Mazowieckie	2,19	2,04	2,00	2,07	2,01	2,00	2,00	2,00	2,00	0,50
Lubelskie	2,21	2,20	2,14	2,20	2,19	2,13	2,18	2,18	2,13	2,13
Dolnośląskie	2,50	0,72	0,50	0,50	0,50	0,50	0,86	0,93	0,50	0,50
Lubuskie	2,50	0,55	0,50	0,83	0,50	0,50	0,50	1,07	0,50	0,50
Podkarpackie	1,22	1,23	1,20	1,14	1,22	1,23	1,24	1,18	1,23	1,04

Oceniając uzyskane wyniki badań, można stwierdzić, że stężenia promieniotwórcze radioizotopów cezu są niskie, zdecydowanie poniżej dopuszczalnych limitów ustanowionych w rozporządzeniach unijnych i krajowych. W około 96% próbek stwierdzono wartości stężenia promieniotwórczego ^{137}Cs poniżej MDA wynoszące 1-2 Bq/kg. W części próbek karpia obserwowano stężenia promieniotwórcze w zakresie od 3 do

7 Bq/kg. Najwyższe zmierzone stężenie promieniotwórcze ^{137}Cs w mięśniach karpia wynosiło 9,21 Bq/kg.

We wskazanym okresie pomiarowym na rycinie 2 przedstawiono zależność stężenia ^{137}Cs (Bq/kg) od czasu – w karpie. Średnie stężenie ^{137}Cs utrzymuje się na stałym poziomie na przestrzeni lat i jest zdecydowanie poniżej dopuszczalnych limitów ustanowionych w rozporządzeniach unijnych i krajowych.



Rycina 3. Średnie stężenia ^{137}Cs w karpie na przestrzeni lat 2015-2024

Wyniki przeprowadzonych badań kontrolnych wskazują na występowanie ^{137}Cs w rybach na przykładzie karpia królewskiego. Izotopy promieniotwórcze pobierane są przez zwierzęta bezpośrednio ze środowiska, które zostało zanieczyszczone radionuklidami uwolnionymi podczas awarii w elektrowni jądrowej w Czarnobylu. Uzyskane wyniki wykazały obecność ^{137}Cs również w środowisku wodnym. Posługując się danymi statystycznymi z ostatnich lat, ryby zajmują ważną część koszyka żywieniowego Polaków. Droga pokarmowa stanowi główne narażenie na ^{137}Cs ze spożytych

potencjalnie skażonych ryb. Jednakże zmierzone poziomy stężenia ^{137}Cs w rybach słodkowodnych są niskie, zdecydowanie poniżej ustanowionych dopuszczalnych limitów czyniąc karpie bezpieczne w spożyciu.

Wnioski

- ✓ Wyniki badań pozwalają stwierdzić, że krajowe ryby słodkowodne są bezpieczne w aspekcie ochrony radiologicznej konsumentów.
- ✓ Uzyskane wyniki potwierdzają obecność ^{137}Cs w środowisku naturalnym.

Zawartość dioksyn i polichlorowanych bifenyli w produktach wieprzowych – ocena zanieczyszczenia

Ewelina Bigoraj, Małgorzata Warenik-Bany, Paweł Małagocki, Beata Furga, Joanna Cebulska, Magdalena Gembal, Ewelina Milczarczyk

Dział Badań Chemicznych Żywności i Pasz

Wstęp

Polichlorowane dibenzo-p-dioksyny (PCDD) i dibenzofurany (PCDF), powszechnie znane jako dioksyny, a także dioksynopodobne polichlorowane bifenyle (dl-PCB) to trwałe, lipofilowe zanieczyszczenia organiczne, które uwalniane są do środowiska w wyniku różnych działalności człowieka. Krajowy Ośrodek Bilansowania i Zarządzania Emisjami (KOBiZE) w raporcie z 2024 r. jako główne źródło dioksyn i polichlorowanych dibenzofuranów podaje kategorię, w której dominuje emisja z procesów spalania paliw w gospodarstwach domowych. Z tej kategorii pochodzi 70% emisji krajowej. Drugim znacznym źródłem dioksyn jest kategoria (17% krajowej emisji), w której dominująca jest emisja z pożarów składowisk odpadów, budynków (zarówno mieszkalnych, jak i przemysłowych) oraz samochodów. Należy podkreślić, że wg danych GUS w 2024 r. liczba pożarów miejsc gromadzenia odpadów wzrosła o 276% w stosunku do roku poprzedniego. W przypadku polichlorowanych bifenyli są to procesy spalania w szeroko pojętym przemyśle energetycznym oraz procesy przemysłowe odpowiednio 69,05% i 23,19% krajowej emisji.

Dioksyny i PCB wywołują szereg efektów toksycznych w organizmach ludzi i zwierząt. U człowieka mogą powodować zaburzenia równowagi hormonalnej, uszkadzać układ odpornościowy i rozrodczy, mają również działanie teratogenne. Ponadto, zgodnie z informacjami udostępnionymi przez Międzynarodową Agencję Badań nad Rakiem (IARC) najbardziej

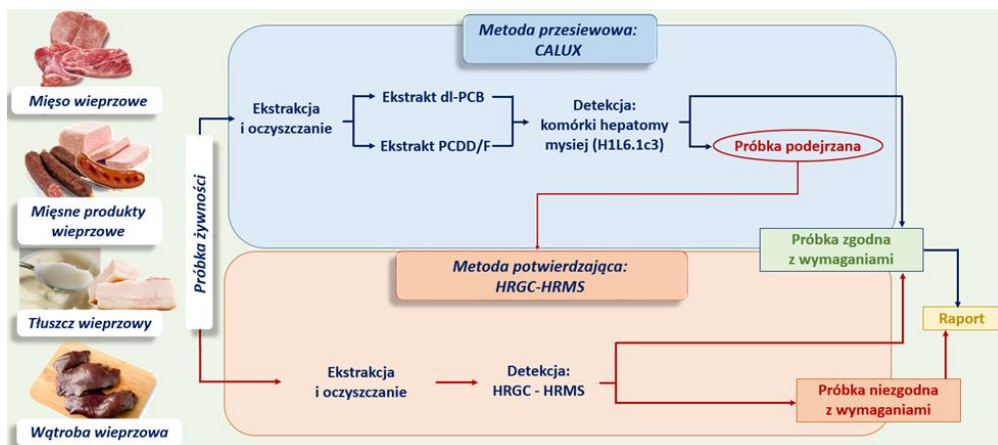
aktywna biologicznie dioksyna (TCDD) oraz wszystkie kongenery dl-PCB zostały zaklasyfikowane do 1 grupy kancerogenów. W Unii Europejskiej od 2001 r. obowiązuje strategia ds. dioksyn i PCB, której celem jest ochrona zdrowia publicznego przed szkodliwymi skutkami działania tych trwałych związków. Wprowadzone zostały najwyższe dopuszczalne poziomy tych związków w żywności i paszach oraz opracowane zostały wymagania, które muszą spełniać metody analityczne stosowane w badaniach żywności i pasz.

Pomimo, że dioksyny i związki dioksynopodobne znajdują się w różnych elementach środowiska to 90% narażenia człowieka na te związki odbywa się poprzez spożycie żywności, w szczególności żywności pochodzenia zwierzęcego bogatej w tłuszcze. Dane te dotyczą mięsa zwierząt gospodarskich oraz ryb, a także mleka, przetworów mlecznych i jaj. W celu poprawy bezpieczeństwa konsumentów, istotna jest kontrola żywności pochodzenia zwierzęcego, a w szczególności, żywności najchętniej spożywanej przez konsumentów. Krajowe dane wskazują, że wieprzowina jest jednym z najchętniej spożywanych mięs w Polsce, co czyni ją kluczowym elementem diety Polaków. Według szacunkowych danych roczna konsumpcja wieprzowiny na osobę wynosi około 40-45 kg. Celem niniejszych badań była ocena poziomów dioksyn i dl-PCB w produktach wieprzowych pochodzących z lokalnego rynku i/lub przeznaczonych na eksport.

Materiały i metody

Analizie poddano 128 próbek mięsa i produktów wieprzowych, które podzielono na cztery kategorie: mięso wieprzowe (n=50: szynka, łopatka, karkówka); tłuszcz wieprzowy (n=31: słonina, smalec); mięsne produkty wieprzowe (n=24: kiełbasa, kabanosy, wędzonka, lunchmeat) oraz wątroba wieprzowa (n=23).

Schemat badania przedstawiono na rycinie 1. W badaniach zastosowano dwie komplementarne, akredytowane metody: przesiewową (CALUX – Chemical Activated Luminescence Expression) i potwierdzającą (wysokorozdzielczą chromatografię gazową sprzężoną z wysokorozdzielczą spektrometrią mas, HRGC-HRMS). Akredytowana metoda przesiewowa składała się z części chemicznej i biologicznej. Część chemiczna metody obejmowała ekstrakcję dioksyn i dl-PCB rozpuszczalnikami organicznymi wraz z frakcją lipidową z zastosowaniem przyspieszonej ekstrakcji rozpuszczalnikami ASE (Accelerated Solvent Extractor). Następnie ekstrakty oczyszczano z wykorzystaniem klasycznej chromatografii kolumnowej, w której wykorzystywano modyfikowany kwasem siarkowym żel krzemionkowy oraz węgiel aktywny.



Rycina 1. Schemat postępowania z próbkami żywności z wykorzystaniem metody przesiewowej (CALUX) oraz potwierdzającej (HRGC-HRMS)

W kolejnych etapach dioksyny i dl-PCB eluowano z węgla aktywnego, a otrzymany eluat zagęszczano. Detekcję prowadzono z wykorzystaniem genetycznie zmodyfikowanej linii komórkowej mysiej hepatomy (H1L6.1c3). Badanie przesiewowe miało na celu selekcję próbek „podejrzanych”

(tj. próbek o podwyższonej zawartości badanych związków) oraz pozwoliło określić całkowitą toksyczność próbki (BTEQ). Następnie próbki „podejrzane” poddano badaniu potwierdzającemu z zastosowaniem spektrometrii mas wysokiej rozdzielczości sprzężonej z chromatografią gazową (HRGC-HRMS). Metoda ta stanowi tzw. „złoty standard”, który pozwala na identyfikację oraz ilościowe oznaczanie kongenerów dioksyn oraz dl-PCB objętych ustawodawstwem unijnym. Komplementarny proces badania próbek pozwala skrócić czas i koszty badania, przez wskazanie próbek zgodnych z wymaganiami, a przekazanie do droższej i bardziej skomplikowanej analizy potwierdzającej jedynie próbek podejrzanych. Jest to niezwykle istotne przy monitorowaniu żywności na szeroką skalę (np. badania w sytuacji kryzysowej).

Wyniki i omówienie

Uśrednione wyniki badań PCDD/PCDF, dl-PCB oraz Σ PCDD/PCDF/dl-PCB wraz z zakresem dla poszczególnych kategorii matryc przedstawiono w tabeli 1. Wyniki badań wykonanych bioanalityczną metodą przesiewową CALUX dla próbek wątrób wieprzowych podano w pg BEQ/ g świeżej masy, natomiast dla pozostałych próbek pg BEQ/ g tłuszczu. BEQ jest wskazaniem wartości TEQ w próbce uzyskanym metodą bioanalityczną zgodnie z wymaganiami Rozporządzenia Komisji (UE) nr 2017/771 z dnia 5 kwietnia 2017 r. (Dz. Urz. UE L 115 z 4.5.2017, str. 22–42).

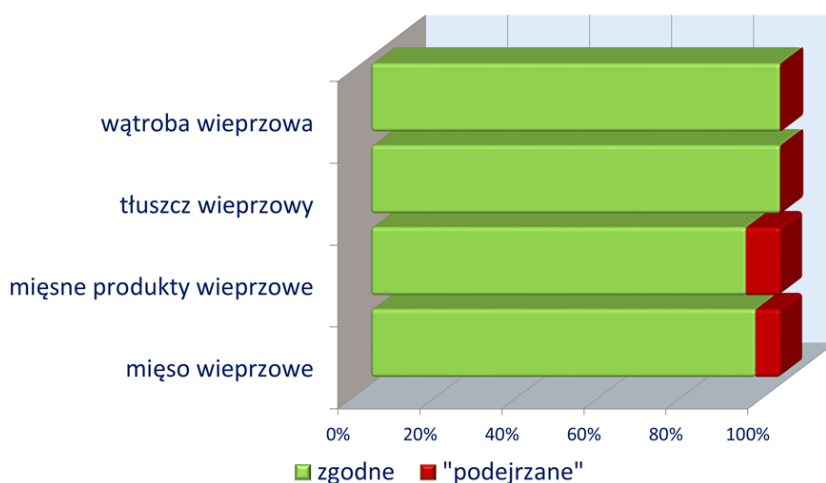
Tabela 1. Wyniki badań

L.p.	Kategoria matrycy	Ilość próbek	PCDD/PCDF		dl-PCB	Σ PCDD/F/dl-PCB	
			Średnia $\pm$ SD* Zakres	ML** PCDD/ F	Średnia $\pm$ SD Zakres	Średnia $\pm$ SD Zakres	ML sumy
1.	Mięso wieprzowe	50	0,41 $\pm$ 0,34 0,26 - 2,44	1,0	0,49 $\pm$ 0,79 0,20 - 4,95	0,90 $\pm$ 0,96 0,46 - 5,46	1,25
2.	Mięsne produkty wieprzowe	24	0,45 $\pm$ 0,55 0,26 - 2,99		0,53 $\pm$ 0,80 0,18 - 3,95	0,98 $\pm$ 1,33 0,44 - 6,94	
3.	Tłuszcz wieprzowy	31	0,34 $\pm$ 0,10 0,26 - 0,64		0,29 $\pm$ 0,12 0,18 - 0,59	0,63 $\pm$ 0,14 0,44 - 0,94	
4.	Wątroba wieprzowa	23	0,13 $\pm$ 0,07 0,04 - 0,20	0,3	0,14 $\pm$ 0,10 0,04 - 0,50	0,27 $\pm$ 0,14 0,08 - 0,54	0,5
Razem		128					

*SD – odchylenie standardowe; **ML – najwyższy dopuszczalny poziom

Wszystkie badane próbki były zgodne z wymaganiami rozporządzenia Komisji Europejskiej nr 915/2023 w sprawie najwyższych dopuszczalnych poziomów niektórych zanieczyszczeń chemicznych w żywności. Jedynie 5 spośród 128 próbek wskazano jako „podejrzane”, ale metoda potwierdzająca (HRGC-HRMS) wykazała ich zgodność z wytycznymi zawartymi w rozporządzeniach Komisji Europejskiej. Łączne wyniki analiz mięsa i produktów wieprzowych z podziałem na próbki zgodne i „podejrzane” przedstawiono na rycinie 2.

W badaniach wykazano, że zawartość dioksyn i dl-PCB w krajowym mięsie i produktach wieprzowych jest znacznie niższa od najwyższych dopuszczalnych poziomów w Unii Europejskiej.



Rycina 2. Łączne wyniki analiz z wykorzystaniem metody przesiewowej (CALUX) z podziałem na próbki zgodne i „podejrzane”

Podsumowanie

Na podstawie wyników badań można stwierdzić, że mięso i produkty wieprzowe w Polsce charakteryzują się wysoką jakością i nie stanowią zagrożenia toksykologicznego ze względu na zawartość dioksyn i dl-PCB. Jednak biorąc pod uwagę bezpieczeństwo konsumenta, należy stale kontrolować poziomy dioksyn i PCB w produktach spożywczych, jako końcowego ogniwa łańcucha żywnościowego. Jest to szczególnie istotne w procesie zapewnienia bezpieczeństwa żywności oraz w celu eliminacji źródeł dioksyn i PCB.

Zawartość promieniotwórczych izotopów cezu w mieszankach i dodatkach paszowych

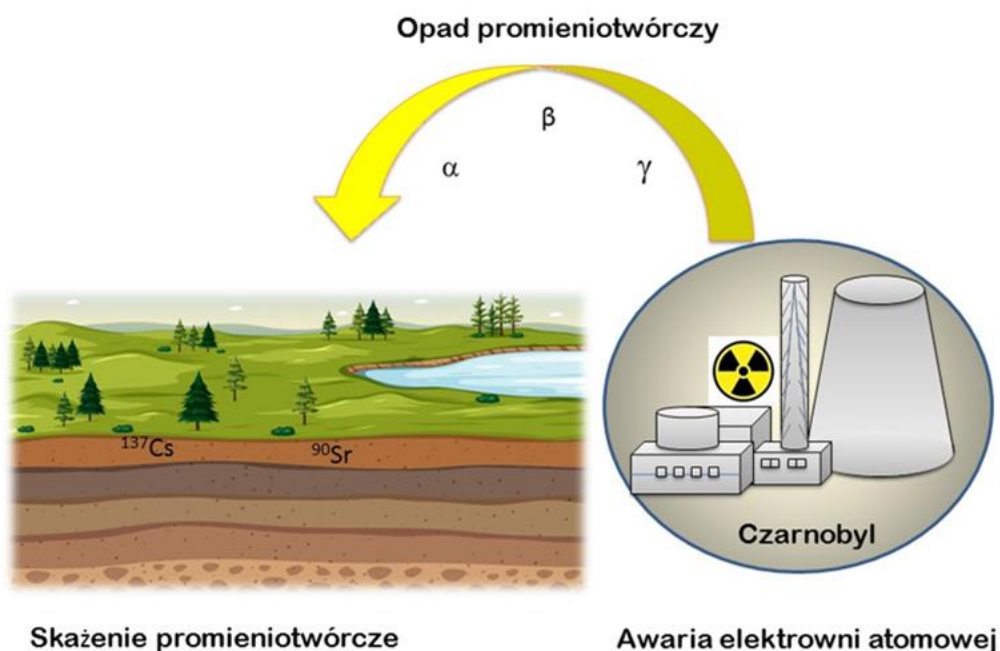
Magdalena Gembal, Paweł Czerski, Małgorzata Warenik-Bany

Dział Badań Chemicznych Żywności i Pasz

Wstęp

Wszystkie formy życia są nieustannie poddawane oddziaływaniu czynników zewnętrznych, m.in. różnych rodzajów promieniowania, które stanowią nieodzowny element życia. Zarówno promieniowanie jonizujące jak i niejonizujące, powszechnie występują w świecie i czynią je z natury promieniotwórczymi. Do przykładowych rodzajów promieniowania należą: promieniowanie kosmiczne, promieniowanie pochodzące od wewnętrznych struktur geologicznych ziemi, promieniowanie od naturalnych jak i sztucznych substancji wytworzonych przez człowieka. Z punktu widzenia ochrony radiologicznej, istotne jest zwrócenie uwagi przede wszystkim na promieniowanie jonizujące, które może być bardzo szkodliwe dla struktur komórkowych organizmów żywych. Izotopy promieniotwórcze po przedostaniu się do organizmu mogą być w nim rozmieszczone nierównomiernie i kierunkowo wchłaniać się do określonych organów. Wynika to między innymi z właściwości chemicznych izotopów, a przez to ich powinowactwa do tkanki kostnej (^{90}Sr) lub niektórych tkanek miękkich oraz narządów wewnętrznych (^{137}Cs).

Głównym źródłem zanieczyszczenia promieniotwórczego sztucznymi radioizotopami, występującego na terenie Polski była awaria elektrowni jądrowej w Czarnobylu w 1986 roku. W wyniku tej awarii, radioaktywna chmura rozprzestrzeniła się na obszar całej Polski powodując nierównomierne skażenie (Rycina 1).



Rycina 1. Transfer izotopów promieniotwórczych do środowiska

Najważniejszymi uwolnionymi radionuklidami były ^{137}Cs (okres półtrwania $T_{1/2}=30,2$ lat) oraz ^{134}Cs ($T_{1/2}=2,06$ lat). Na terenach gdzie wystąpiły opady deszczu i panowało w atmosferze duże stężenie radioaktywnej chmury, nastąpiło większe skażenie promieniotwórcze. Nierównomiernemu skażeniu uległy główne elementy biotyczne tj. roślinność. Zdecydowana większość ^{137}Cs zgromadziła się w wierzchniej warstwie gleby, bogatej w związki organiczne i mineralne. Badania pokazują, że radioaktywny ^{137}Cs w ten sposób przedostaje się do łańcucha gleba-roślina-roślinożerca-mięsożerca, stwarzając realne zagrożenie jakie niesie ze sobą promieniowanie jonizujące tego izotopu.

Zanieczyszczenie żywności pochodzenia zwierzęcego może wynikać z nieodpowiedniej jakości pasz. Pasze i materiały paszowe stanowią bardzo ważną grupę produktów do skarmiania zwierząt. Są to różnego rodzaju

surowce pochodzenia roślinnego, zwierzęcego, mineralnego bądź też innego rodzaju dodatki. Stosowanie pasz ma na celu zaspokojenie potrzeb żywieniowych zwierząt przez dostarczenie im odpowiednich ilości energii, białka, tłuszczów, węglowodanów, witamin i szeregu innych niezbędnych składników odżywczych. Dodatkowo stosowanie pasz pozwala zapobiec niedoborom występującym w naturalnej diecie zwierząt, a przez to też poprawia procesy trawienne składników pokarmowych. Te wszystkie zalety wynikające ze stosowania materiałów paszowych przekładają się na wspieranie zdrowia i odporności zwierząt oraz pozytywnie wpływają na poprawę parametrów wydajnościowych produkcji.

W celu szerszej oceny potencjalnego skażenia stosowanych pasz i materiałów paszowych poddano je badaniom pod kątem zawartości promieniotwórczych izotopów cezu. Radioizotopy cezu pobierane są przez rośliny z gleby wraz z innym pierwiastkami przez system korzeniowy, następnie z karmą trafiają do organizmów zwierząt roślino- i mięsożernych, a w końcowym łańcuchu żywieniowym do organizmu człowieka gdzie w skrajnych przypadkach mogą stwarzać zagrożenie zdrowia.

Podstawne prawne kontroli skażeń promieniotwórczych

Systematyczne badania skażeń promieniotwórczych umożliwiają wiarygodną ocenę sytuacji radiologicznej w kraju. Powszechnie stosowanym wskaźnikiem stanu tych skażeń jest oznaczanie radioizotopów cezu (^{137}Cs , ^{134}Cs). Aktywność izotopów promieniotwórczych w materiałach paszowych należy odnosić do wartości określonych w Rozporządzenie Rady Ministrów z dnia 27 kwietnia 2004 r. w sprawie wartości poziomów interwencyjnych dla poszczególnych rodzajów działań interwencyjnych oraz kryteriów odwołania tych działań (Dz.U. 2004 nr 98 poz. 987). Maksymalne dozwolone poziomy izotopów cezu ^{134}Cs i ^{137}Cs w środkach żywienia zwierząt wynoszą: dla trzody

chlewnej – 1250 Bq/kg, dla drobiu, cieląt i jagniąt – 2500 Bq/kg oraz dla pozostałych zwierząt – 5000 Bq/kg.

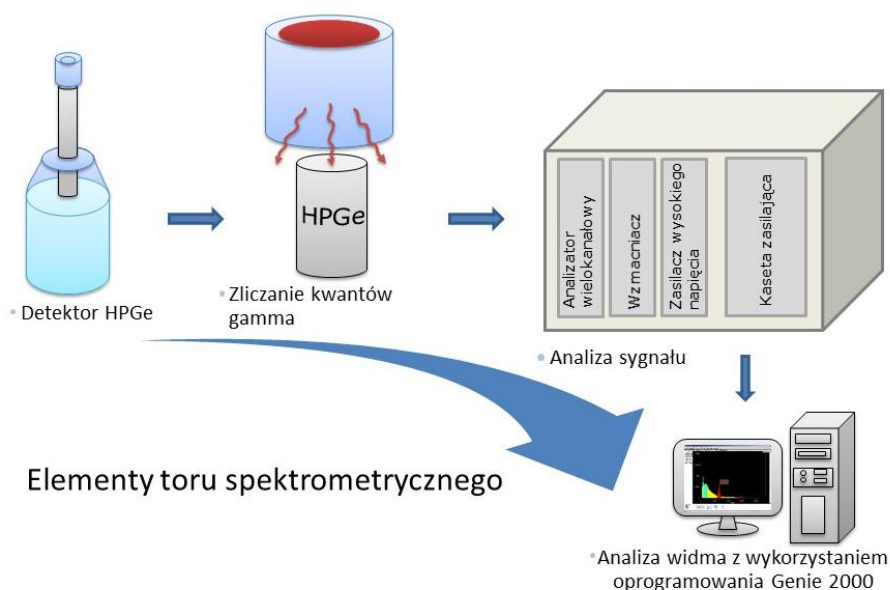
Materiał i metody

Łącznie w latach 2021-2024 pod kątem obecności promieniotwórczego ^{137}Cs i ^{134}Cs zostało przetestowanych 215 próbek pasz i materiałów paszowych: mieszanki paszowe pełnoporcjowe (151), mieszanki paszowe uzupełniające (52) oraz dodatki paszowe (12). Próbki pobierane były na terenie kraju przez inspekcję weterynaryjną w ramach badań kontrolnych. Mieszanki paszowe pełnoporcjowe przeznaczone są do bezpośredniego skarmiania zwierząt, których skład jest optymalny do zaspokojenia dziennych potrzeb żywieniowych zwierząt danego gatunku, w określonym wieku lub użytkowanych w dany sposób. Mieszanki paszowe uzupełniające charakteryzują się wysoką zawartością wybranych składników pokarmowych lecz nie zaspokajają pełnych potrzeb żywieniowych zwierząt, dlatego stosuje się ją zawsze z innymi paszami. Trzecią grupą badanych materiałów były dodatki paszowe czyli substancje stosowane w żywieniu zwierząt jako uzupełnianie podstawowych składników pokarmowych, witamin i związków mineralnych.

Próbki zostały przeanalizowane przy użyciu metody spektrometrii promieniowania gamma, wykorzystującej detektor półprzewodnikowy (HPGe) lub detektor scyntylicyjny NaI(Tl) oraz specjalistyczne oprogramowanie sterująco-analityczne Genie 2000 (Rycina 2). Badania wykonano akredytowaną przez Polskie Centrum Akredytacji metodą (Nr AB 485). Plan potwierdzania ważności wyników obejmuje kalibrację detektora przy użyciu wielonuklidowego źródła kalibracji, wykonywaną przez certyfikowany serwis Canberra Packard. Ponadto przed każdym pomiarem stosuje się punktowe źródło kalibracji w celu sprawdzenia czy detektor działa

prawidłowo oraz certyfikowane materiały odniesienia (CRM) dla których prowadzone są karty kontrolne. Laboratorium wielokrotnie brało udział w badaniach biegłości organizowanych przez Międzynarodowej Agencji Energii Atomowej (MAEA), zawsze kończyło je z sukcesem.

Próbki po rozdrobnieniu i zhomogenizowaniu przenoszono do pojemników pomiarowych typu Marinelli (450 cm^3), zachowując przy tym geometrię wielonuklidowego źródła kalibracyjnego, którego użyto do wzorcowania detektorów. Pojemniki pomiarowe z próbkami umieszczano na detektorach osłoniętych ołowianymi domkami i wykonywano oznaczenia. Czas pomiaru każdej wynosił 20 godzin (72 000 sekund). Zebrane widma promieniowania gamma analizowano, stosując oprogramowanie Genie 2000. W pomiarach radiometrycznych rolę LoD (Limit of Detection – Granica wykrywalności) i LoQ (Limit of Quantification – Granica oznaczalności) pełni MDA (Minimum Detectable Activity – Minimalna Wykrywalna Aktywność). Jeśli stwierdzone wartości stężeń promieniotwórczych radioizotopów cezu były mniejsze niż MDA, do obliczeń wykorzystywano wartości MDA.



Rycina 2. Schemat wykonania pomiaru

Wyniki

W tabeli 1 przedstawiono średnie stężenia promieniotwórcze radioizotopów ^{137}Cs i ^{134}Cs oraz liczbę próbek z podziałem na matryce w poszczególnych latach 2021-2024.

Tabela 1. Średnie stężenia oraz liczba próbek w latach 2021-2024

Materiał badawczy	Mieszanki paszowe		Mieszanki uzupełniające		Dodatki paszowe	
	Cez-137 (Bq/kg)	Cez-134 (Bq/kg)	Cez-137 (Bq/kg)	Cez-134 (Bq/kg)	Cez-137 (Bq/kg)	Cez-134 (Bq/kg)
Rok						
2021	1,74 (n=40)	1,48 (n=40)	2,31 (n=10)	2,40 (n=10)	1,18 (n=5)	1,04 (n=5)
2022	1,98 (n=41)	1,88 (n=41)	1,77 (n=10)	1,69 (n=10)	-	-
2023	1,47 (n=34)	1,47 (n=34)	1,36 (n=16)	1,33 (n=16)	1,44 (n=3)	0,99 (n=3)
2024	1,97 (n=36)	1,72 (n=36)	1,38 (n=16)	1,34 (n=16)	1,84 (n=4)	1,50 (n=4)

Oceniając uzyskane wyniki badań, można stwierdzić, że stężenia promieniotwórcze radioizotopów cezu są niskie, zdecydowanie poniżej dopuszczalnych limitów ustanowionych w rozporządzeniu krajowym. W 90% próbek stwierdzono wartości stężenia promieniotwórczego ^{137}Cs poniżej MDA, którego wartość wyznaczono w zakresie 1-3 Bq/kg. W 2021 roku oznaczono najwyższe stężenie ^{137}Cs w mieszance paszowej pełnoporcjowej, które wynosiło 5,20 Bq/kg, w 2022 roku w mieszance zbożowej (pszenica, żyto, owies) 4,21 Bq/kg, w 2023 roku w mieszance paszowej pełnoporcjowej 3,76 Bq/kg, a w 2024 roku w mieszance paszowej pełnoporcjowej wynosiło 8,13 Bq/kg.

Ze względu na aktualny brak występowania ^{134}Cs w środowisku (krótki czas półtrwania), wszystkie jego zmierzone wartości są wartościami poniżej MDA.

Dyskusja

Wykonane badania dostarczyły informacji o poziomach ^{137}Cs w materiałach paszowych (mieszkach paszowych pełnoporcjowych, mieszkach paszowych uzupełniających oraz dodatkach paszowych). Stężenia były niskie w odniesieniu do obowiązujących limitów. Z przeprowadzonych badań wynika, że materiały paszowe, którymi skarmiane są zwierzęta hodowlane, są w pełni bezpieczne pod kątem skażeń promieniotwórczych.

Wnioski

- ✓ Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że mieszanki paszowe pełnoporcjowe, mieszanki paszowe uzupełniające oraz dodatki paszowe, którymi skarmiane są zwierzęta hodowlane są bezpieczne pod kątem skażeń promieniotwórczych.

Zdrowe materiały paszowe przekładają się na zdrową żywność pochodzenia zwierzęcego.

Wybrane aspekty jakości i bezpieczeństwa kiszonek stosowanych w żywieniu bydła

Krzysztof Kwiatek

Dział Badań Mikrobiologicznych Żywności i Pasz

W celu konserwacji i utrwalania żywności już od bardzo dawna wykorzystywane są bakterie fermentacji mlekowej, w takich procesach jak: sporządzanie zakwasów chlebowych, produkcja sera twarogowego i serów dojrzewających, fermentacja mleka, dojrzewanie niektórych gatunków win, fermentacja mięsa, wędlin, ryb, nasion roślin strączkowych czy wytwarzanie spożywczych kiszonek warzywnych. Stąd już jest niedaleka droga do zastosowania procesów fermentacji mlekowej w konserwacji i utrwalaniu roślinnych materiałów paszowych celem zastosowania w żywieniu zwierząt gospodarskich.

Można dzisiaj już stwierdzić, że obok suszenia, kiszenie materiałów roślinnych jest obecnie jednym z podstawowych sposobów konserwacji pasz roślinnego pochodzenia dla bydła. W efekcie tego procesu następuje znaczne obniżenie odczynu pH materiału roślinnego. Proces ten może być wynikiem zastosowania konserwantów chemicznych lub następować na skutek bakteryjnej fermentacji mlekowej – samorzutnej bądź inicjowanej celowo poprzez dodatek inokulantów. Obecnie na świecie preferowane są naturalne sposoby kiszenia pasz, a przebieg fermentacji mlekowej może być stymulowany dodatkiem bakteryjnych preparatów, otrzymanych metodami biotechnologicznymi. Mianem bakterii fermentacji mlekowej określa się takie rodzaje drobnoustrojów jak *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Carnobacterium*, *Bifidobacterium* i *Leuconostoc*. Bakterie fermentacji mlekowej, które stanowią kultury starterowe biopreparatów

przeznaczonych do stymulowania procesu kiszenia pasz, powinny charakteryzować się następującymi cechami: intensywnym namnażaniem biomasy i szybkim opanowaniem środowiska, intensywnym wytwarzaniem kwasu mlekowego w pierwszej dobie kiszenia, biosyntezą pożądaných enzymów: amylaz, celulaz, glukanaz i ksylanaz. Poza tym istotna jest zdolność do biosyntezy metabolitów o aktywności antybakteryjnej, antygrzybowej oraz przeciwdziałających procesom wtórnej fermentacji tlenowej kiszzonek, a także biosyntezy związków odpowiedzialnych za aromat i smakowitość pasz. Ważnym aspektem tej dobroczynnej aktywności może być również wytwarzanie metabolitów zdolnych do neutralizacji związków toksycznych, które obecne są w roślinach.

Wykonanie dobrych jakościowo kiszzonek, z np.: ziarna zbóż i surowych ziemniaków, wysłodków buraczanych, wywaru gorzelniczego, odpadów piwowarskich, charakteryzujących się niską zawartością suchej masy jak również cukrów prostych dostępnych bezpośrednio dla bakterii fermentacji mlekowej, wymaga stymulacji procesu kiszenia. Natomiast dodatek kultur starterowych bakterii fermentacji mlekowej do kiszenia pasz zielonych – traw i roślin motylkowych, poprawia przebieg procesu i zapewnia wysoką jakość kiszzonek. Obecnie zwiększa się zapotrzebowanie rolników, w tym pochodzących z gospodarstw ekologicznych, na wysokiej jakości kiszzone pasze wytworzone z roślin zielonych, ziarna zbóż, a zwłaszcza kukurydzy, jak również z odpadowych surowców przemysłu rolno-spożywczego takich jak np. młóto i gęstwa drożdżowa pochodzących z procesu produkcji piwa.

Po wejściu Polski do UE w hodowli zwierząt gospodarskich, a szczególnie bydła, coraz bardziej widoczna jest tendencja do zwiększania udziału kiszzonek w dziennej dawce pokarmowej. Stąd powinno dążyć się do zapewniania produkcji jak najlepszych jakościowo kiszzonek, ze względu na ich dominującą

pozycję w recepturze paszy pełnoporcjowej. Przyjmuje się, że dobra jakościowo kiszonka cechuje się wartością odczynu pH w zakresie 4-5, wysoką wartością pokarmową, odpowiednią smakowitością (dobrze zachowana pierwotna struktura, przyjemny zapach, jasny – oliwkowy kolor). Ponadto ważna jest tzw. stabilność tlenowa czyli niepodatność na wtórną fermentację oraz związana z tym prawidłowa jakość mikrobiologiczna. W przypadku karmienia bydła niestabilną tlenowo kiszonką z kukurydzy, zaobserwować można zahamowanie fermentacji w żwacu, wzrost odczynu pH płynu żwaczowego, obniżenie ogólnej zawartości lotnych kwasów tłuszczowych (octowy, propionowy) oraz wzrost ilości kwasu masłowego i amoniaku. W konsekwencji sytuacja ta powoduje obniżenie poziomu wykorzystania białka paszy i spowalnia syntezę białka mikrobiologicznego w żwacu. Ponadto tego rodzaju kiszonki mogą obniżać także koncentrację pierwotniaków w żwacu, zmieniać zabarwienie i zapach płynu żwaczowego. W rezultacie tej niestabilności i rozwoju wtórnej fermentacji kiszzonek pogarsza się ich smakowitość, obniża się pobieranie paszy. W efekcie tego rodzaju sytuacja może prowadzić do zmian w składzie i jakości mleka surowego pozyskiwanego od żywionych tego rodzaju kiszonkami krów mlecznych. Poza tym karmienie bydła niewłaściwej jakości kiszonką wpływa także na stan odporności immunologicznej zwierząt, co skutkuje częstszym występowaniem chorób przewodu pokarmowego i wymion (mastitis). Rzutuje to również na stan zdrowia i odporność nowonarodzonych cieląt, które są mniej żywotne i bardziej podatne na zachorowania o charakterze biegunkowym oraz podwyższoną śmiertelność. W przypadku rozwoju grzybów pleśniowych należy obawiać się obecności mikotoksyn, które nie są obojętne dla zdrowia przeżuwaczy.

Cechy biologiczno-fizyko-chemiczne kiszonej paszy, wysoka zawartość wody oraz technologia wytwarzania sprawiają, że jakość higieniczno-żywnościowa kiszonki jest przede wszystkim zależna od mikroflory obecnej w zielonce, uzyskanych warunków fermentacji i ewentualnie użytego do zakiszania preparatu kiszonkarskiego. Mikroflora zakiszanych surowców roślinnych jest odzwierciedleniem mikroflory środowiska, z którego zostały te surowce pozyskane. Można stwierdzić, że mikroflora ta, zależy od: regionu geograficznego, jakości gleby, nawożenia, zwierząt występujących na danym terenie (gryzonie, ptaki, owady) czy warunków klimatycznych. Na roślinach przeznaczonych do zakiszania występują bakterie tlenowe, bakterie beztlenowe i grzyby mające bezpośredni wpływ na jakość mikrobiologiczną otrzymanej kiszonki. Dominującą grupą w mikroflorze są drobnoustroje tlenowe i fakultatywnie tlenowe, a liczba bakterii kwasu mlekowego, odpowiedzialna za procesy fermentacyjne kiszonki, w surowej zielonce do kiszenia jest znacznie niższa niż inne grupy mikroorganizmów.

Przebieg procesów biotechnologicznych z udziałem bakterii fermentacji mlekowej jest zależny od stosowanych szczepów. Wspólną cechą bakterii fermentacji mlekowej jest wytwarzanie kwasu mlekowego jako głównego produktu metabolizmu węglowodanów. Produktami ubocznymi są natomiast kwas octowy, etanol i dwutlenek węgla. Wiele gatunków mikroflory wytwarza bakteriobójczy nadtlenu wodoru, bakteriocyny i inne substancje wykazujące właściwości bakteriostatyczne wobec niepożądanego w kiszonce mikroflory (*Salmonella spp.*, *Bacillus spp.*, *Listeria spp.* czy *Escherichia coli*). Wykazano, że zastosowanie dodatku bakterii kwasu mlekowego (preparaty do zakiszania) do kiszonki zapewnia niższy odczyn pH i wyższą stabilność tlenową kiszonki w porównaniu do metody naturalnej fermentacji.

Do niepożądaney mikroflory występującej w środowisku kiszonki zaliczyć należy m.in.: drożdże, grzyby pleśniowe, laseczki tlenowe z rodzaju *Bacillaceae*, bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae*, beztlenowe laseczki przetrwalnikujące z rodzaju *Clostridium* oraz *Listeria monocytogenes*.

Uważa się, i wiele faktów na to wskazuje, że drożdże są tą grupą drobnoustrojów tlenowych, która ma największy wpływ na jakość i wartość odżywczą kiszonki. Do wzrostu i namnażania się, ten rodzaj mikroflory, potrzebuje cukrów i kwasu mlekowego, które są podstawowymi składnikami kiszonek. Posiadana zdolność wzrostu nawet przy pH 3,5 sprawia, że w większości przypadków drożdże są pierwszą grupą mikroflory namnażającej się, gdy do kiszonki dostaje się tlen (w sytuacji rozszczelnienia silosu czy w trakcie wybierania kiszonki). Znacznie wolniej w takich warunkach rosną bakterie kwasu octowego i grzyby pleśniowe. Namnażanie drożdży w warunkach tlenowych z wykorzystaniem kwasu mlekowego podnosi odczyn pH kiszonki co ułatwia namnażanie innych drobnoustrojów tlenowych rozkładających materię organiczną, szczególnie gdy odczyn pH wzrasta do powyżej 4,5.

Grzyby pleśniowe to mikroflora powszechnie występująca w środowisku (gleba) i na roślinach uprawnych, która może namnażać się i wzrastać w warunkach tlenowych. W masie kiszonki grzyby pleśniowe pojawiają się wówczas, gdy ta ulegnie widocznemu zepsuciu spowodowanemu działalnością drożdży i innej mikroflory tlenowej. Wskazuje to na niską jakość kiszonki, w której można się spodziewać istotnego skażenia mikotoksynami. Mikotoksyny najczęściej produkowane przez gatunki *Fusarium* w kiszonkach to trichoteceny deoksyniwalenol (DON), toksyny T2 i HT2, zearalenon (ZEA) oraz fumonizyny. Produkcja mikotoksyn fuzaryjnych odbywa się jedynie w trakcie wegetacji roślin, ponieważ pleśnie z rodzaju

Fusarium nie mogą namnażać się w kwaśnym i beztlenowym środowisku kiszonki. Mikotoksynami najczęściej występującymi w kiszonkach z kukurydzy są DON i ZEA, a kiszonka z kukurydzy jest ich najważniejszym źródłem dla zwierząt.

Wysokie skażenie kiszonek przez mikotoksyny fuzaryjne obserwuje się w zewnętrznych partiach kiszonki, gdzie ma miejsce zaawansowany proces psucia tlenowego. Ponieważ większość gatunków grzybów pleśniowych jest obligatoryjnymi tlenowcami, nie mogą one rozwijać się w dobrze zakonserwowanej, cechującą się wysoką beztlenowością kiszonce. W praktyce jednak, szczelność beztlenowego środowiska kiszonki jest naruszana przez uszkodzenia mechaniczne opakowań (gryzonie, ptaki), porowatość stosowanych opakowań oraz otwieranie kiszonki podczas jej wybierania. Dlatego też grzyby pleśniowe występują częściej w wierzchnich warstwach kiszonki, a prawidłowo prowadzony proces kiszenia, w tym dobre ubicie kiszonki, gwarantuje relatywnie niski poziom mikotoksyn w kiszonce, porównywalny do poziomu w zakiszanych zielonkach, sianokiszonkach.

Z kolei bakterie kwasu octowego są mikroorganizmami tlenowymi rosnącymi przy niskim odczynie pH, rozkładającymi etanol do kwasu octowego, a po jego wyczerpaniu kwas octowy do dwutlenku węgla i wody. Podnosi to odczyn pH kiszonki i umożliwia wzrost innym drobnoustrojom tlenowym, pogarszając jakość kiszonki. Do takiej mikroflory zalicza się między innymi bakterie z rodziny *Bacillaceae* (laseczki tlenowe przetrwalnikujące) i liczna grupa drobnoustrojów z rodziny *Enterobacteriaceae*. Laseczki tlenowe z rodziny *Bacillaceae* rozkładają cukry i kwasy organiczne w kiszonce, kontynuując rozpoczęty już proces psucia się kiszonki, któremu towarzyszy wzrost odczynu pH i temperatury nawet do 40-50°C oraz pojawianie się wyczuwalnej organoleptycznie śliskości kiszonki. Natomiast drobnoustroje

z rodziny *Enterobacteriaceae* jako mikroflora tlenowa i względnie beztlenowa nie namnaża się w środowisku kiszonki, gdy odczyn pH spada poniżej 4,5-5,0. W sprzyjających warunkach tlenowych i podwyższonym odczynie pH mikroflora ta może się intensywnie namnażać i osiągać poziom nawet 108 jtk/g jednocześnie wytwarzając gaz w silosie. Ponadto, wynikiem aktywności tego rodzaju mikroflory są niepożądane związki w kiszonce takie jak: kwas bursztynowy i 2,3-butanodiol. Obecność wysokiej liczby drobnoustrojów z rodziny *Enterobacteriaceae* stwarza również ryzyko obecności endotoksyn w kiszonce, choć jak dotąd niewiele wiadomo na ten temat. Podejrzewa się też, że produkty metabolizmu *Enterobacteriaceae* są bezpośrednią przyczyną niskiej smakowitości i słabszego pobierania kiszonki przez zwierzęta z powodu wysokiej zawartości kwasu octowego.

Kolejną ważną grupę mikroflory zanieczyszczającej kiszonki stanowią drobnoustroje beztlenowe z rodzaju *Clostridium*, które czasem stwarzają problemy zdrowotne u żywionego bydła. W tym przypadku rezerwuarem *Clostridium spp.* w środowisku produkcji zwierzęcej jest uprawna warstwa gleby i treść przewodu pokarmowego organizmów żywych. Stąd też można stwierdzić, że to liczba drobnoustrojów z rodzaju *Clostridium* w zakiszanej zielonej masie roślinnej jest wskaźnikiem zanieczyszczenia glebowego i kałowego. Beztlenowe laseczki przetrwalnikujące z rodzaju *Clostridium* są bezwzględnie beztlenowcami, a ich aktywność metaboliczna wpływa na jakość kiszonki dopiero, gdy bakterie kwasu mlekowego zakończą fazę aktywnego wzrostu. Biorąc pod uwagę fermentowane substraty wyróżnia się trzy grupy *Clostridium* w kiszonce: proteolityczne, fermentujące głównie aminokwasy; grupę *Clostridium butyricum*, fermentującą węglowodany i gatunek *Clostridium tyrobutyricum*, który metabolizuje głównie kwas mlekowy. Produktami rozkładu aminokwasów są amoniak, aminy i dwutlenek

węgla, a głównymi metabolitami grupy *C. butyricum* i gatunku *C. tyrobutyricum* są: kwas masłowy, octowy, wodór i dwutlenek węgla. Nie do końca poznano mechanizm negatywnego wpływu metabolitów *Clostridium* na jakość kiszonki, jednak pewne jest, że zwierzęta niechętnie pobierają kiszonkę, gdy poziom kwasu masłowego przekracza 5g/kg suchej masy. U krów w okresie laktacji wzrasta też ryzyko ketozy. Ponadto, rozkład kwasu mlekowego do kwasu masłowego jest jedną z najbardziej energochłonnych reakcji, w której następuje utrata około 50% suchej masy kiszonki.

Biorąc pod uwagę powyższe dane można stwierdzić, że w tym „żywym” i aktywnym mikrobiologicznie środowisku kiszonek obecna tam mikroflora wykazuje mniejszą lub większą aktywność metaboliczną. Ważne jest, aby w tym sprzyjającym rozwojowi mikroorganizmów środowisku mokrej, organicznej masy kiszonki zapewniać kontrolę przebiegających procesów fermentacyjnych. Stąd niezwykle ważna jest poprawność całego procesu produkcji kiszonki (zbiór zielonek we właściwym stadium wegetacji, odpowiednie ubicie kiszonki, szczelność silosu fermentacyjnego, prawidłowe wybieranie kiszonki ograniczające do minimum dostęp tlenu), ograniczająca aktywność biologiczną niepożądanych grup drobnoustrojów.

Poziom mikrobiologicznego zanieczyszczenia poszczególnymi rodzajami drobnoustrojów w kiszonce informuje przede wszystkim o jej stanie higienicznym i wartości odżywczej. Laboratoryjna ocena jakości mikrobiologicznej kiszonki uwzględniać powinna aspekt bezpieczeństwa mikrobiologicznego w zakresie dotyczącym obecności patogenów i toksyn bakteryjnych. Według Europejskiego Urzędu ds. Bezpieczeństwa Żywności najważniejszymi patogenami jakie mogą występować i namnażać się w kiszonkach są *Clostridium botulinum*, *Listeria monocytogenes* oraz

Escherichia coli O157:H7. Kiszonki są również wskazywane jako źródło toksynotwórczych pleśni, będących przyczyną mikotoksykoz zwierząt.

Rezerwuarem i wektorem *C. botulinum* jest gleba, pomiot kurzy, osady wodne, padłe dzikie ptaki. Przetrwanie w niekorzystnych warunkach środowiskowych umożliwia temu gatunkowi wytwarzanie termoopornych przetrwalników. Biorąc pod uwagę rezerwuuar patogenu i sposób produkcji pasz, najwyższym ryzykiem wystąpienia *C. botulinum* i toksyn botulinowych wśród pasz są kiszonki z powodu bezpośredniego kontaktu zielonki z glebą i innymi zanieczyszczonymi materiałami biologicznymi. Zasadnicze znaczenie w występowaniu botulizmu u bydła odgrywa odczyn pH kiszonki, ponieważ toksyny botulinowe są produkowane przy odczynie pH powyżej 4,6. Stosunkowo wysokie prawdopodobieństwo zanieczyszczenia toksynami botulinowymi posiadają kiszonki o wysokiej zawartości suchej masy, kiedy zakiszenie dotyczy przesuszonego materiału roślinnego lub zebranego w późniejszym stadium wegetacji. Należy podkreślić, że kiełkowaniu spor *C. botulinum* i produkcji toksyn botulinowych w kiszonkach sprzyjają dodatkowo letnie upały. Wydaje się również, że nawożenie upraw polowych przeznaczonych na kiszonki pozostałościami fermentacyjnymi z biogazowni może być powodem obecności *C. botulinum* w zielonce, a w konsekwencji botulizmu bydła. Wynika to z faktu występowania w osadach pofermentacyjnych z biogazowni licznych przetrwalników *Clostridium spp.* (104-106 spor/g), co identyfikuje dygestat jako źródło beztlenowców dla nawożonych nim roślin.

W Polsce obserwuje się rocznie od kilku do kilkunastu diagnozowanych ognisk botulizmu zwierząt gospodarskich. Zachorowania te dotyczą głównie bydła karmionego kiszonkami, rzadziej u koni karmionych sianokiszonką. Obserwowane przypadki botulizmu bydła w Polsce obejmują zwykle od kilku

do kilkunastu sztuk zwierząt w stadzie, co sugeruje ogniskowe występowanie patogenu i jego toksyn w kiszonkach, a w przypadku sianokiszonek objawy choroby wykazują zwykle zwierzęta karmione sianokiszonką z tej samej beli. Choroba przebiega z objawami wiotkiego paralizu mięśni szkieletowych, spowodowanego blokowaniem przewodnictwa nerwowo-mięśniowego. Porażenia zaczynają się najczęściej od mięśni głowy i mają charakter zstępujący. Objawy pojawiają się od 18 do 48 h po spożyciu paszy zanieczyszczonej toksyną botulinową (rzadziej od 6 h do 10 dni). U bydła pojawia się osłabienie języka, ślinotok, trudności w połykaniu, opadanie uszu, chwiejny i powolny chód, zaleganie, brak apetytu, zmniejszone napięcie skóry, obniżona temperatura, wysokie tętno i niski odczyn pH krwi. U koni obserwuje się letarg, brak apetytu, trudności w żuciu i połykaniu pokarmu, wypadanie języka (brak reakcji na pociągnięcie języka), utratę masy ciała, osłabienie (drżenie) mięśni piersiowych i przednich kończyn oraz podwyższone tętno. Zwierzęta mogą przyjmować charakterystyczną pozycję żaby (kończyny tylne szeroko rozstawione, przednie kończyny wysunięte do przodu), co ułatwia im oddychanie. Powikłaniem botulizmu może być zachłystowe zapalenie płuc. Nieleczony botulizm może prowadzić do śmierci w wyniku porażenia mięśni oddechowych.

Innym czynnikiem zagrożenia mikrobiologicznego związanego z produkcją kiszonek i żywieniem bydła jest *Listeria monocytogenes*, która powszechnie występuje w środowisku produkcji rolniczej. Patogen ten izolowany był z gleby, wody (jeziora, rzeki, wody przybrzeżne), gnijących roślin, ścieków i przewodu pokarmowego zdrowych zwierząt gospodarskich. Ocenia się że *L. monocytogenes* może występować w około 10% kiszonek, zwłaszcza złej jakości, tj. niewystarczająco sprasowanych (liczne kieszenie tlenowe), słabo sfermentowanych, o pH wyższym niż 4,2 czy eksponowanych

na tlen. Również szczepy należące do rodzaju *Listeria* izolowano częściej z kiszonek o pH $\geq 4,5$ (30%) niż z kiszonek o pH $< 4,5$ (6%). *L. monocytogenes* izolowana jest częściej z kiszonek belowanych w porównaniu do kiszonek przyprawianych, co wynika z trudności w ubiciu, słabszej fermentacji i wyższej podatności opakowań bel na uszkodzenia mechaniczne. Większość szczepów *L. monocytogenes* wyizolowano z wierzchnich warstw kiszonek, kiszonek o wyższym odczynie pH i bardziej podatnych na degradację tlenową. Opisywane dotąd przypadki listeriozy zwierząt hodowlanych wskazują na kiszonki, jako pierwotne lub wysoce prawdopodobne źródło tego patogenu. Ponadto, *L. monocytogenes* rośnie w szerokim zakresie temperatur (0-45°C), przy pH od 4,2 do 9,6, toleruje wysokie stężenia soli (do 10%), niską aktywność wody i jest względnym beztlenowcem.

Listerioza wywołana przez *L. monocytogenes* jest chorobą zakaźną, przebiegająca najczęściej w formie sporadycznych zachorowań w stadzie. Do najważniejszych objawów listeriozy zwierząt należy wzrost ciepłoty ciała oraz objawy nerwowe takie jak: ślinienie, światłowstręt, wyciek z oczu, nozdrzy, skurcze mięśni, zgrzytanie zębami, ruchy powolne, kręcenie się w koło (w jednym kierunku), parcie na przeszkody. Obserwowane są również okresy podniecenia z utratą świadomości, a w końcowym okresie choroby występują porażenia i niedowłady. W niektórych przypadkach jedynym objawem choroby mogą być ronienia. U cieląt noworodków w formie septycznej występuje biegunka. Warto zaznaczyć, że *L. monocytogenes* jest czynnikiem zoonotycznym, a patogen obecny w żywności pochodzenia zwierzęcego (mleko, sery) może wywoływać listeriozę u ludzi.

Jakość mikrobiologiczną kiszonek stosowanych w żywieniu bydła w Polsce oceniano wcześniej w Zakładzie Higieny Pasz PIWet-PIB w Puławach. Badania obejmowały 122 próbki kiszonek z kukurydzy, traw, lucerny,

koniczyny, wyśłodków buraczanych i sorgo pochodzących z 13 województw. Próbkę kiszonek były pobierane w miesiącach od stycznia do czerwca. Fermy hodowlane, które wykorzystywały te kiszonki, liczyły od 7 do 2700 sztuk bydła. W uprawie roślin przeznaczonych na kiszonki stosowano nawozy naturalne (gnojowica, obornik), nawozy mineralne oraz mocznik. W przypadku dwunastu kiszonek zastosowano preparaty do zakiszania. Z uzyskanego wywiadu wynikało, że w czasie skarmiania kiszonek nie obserwowano zachorowań zwierząt, które mogłyby być spowodowane niewłaściwą jakością mikrobiologiczną kiszonek (listerioza, botulizm). Badania obejmowały wykrywanie *Salmonella spp.*, *C. botulinum*, *L. monocytogenes*, oznaczanie liczby *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli*, *C. perfringens*, *Clostridium spp.*, *Bacillus spp.*, koagulazododatnich *Staphylococcus spp.*, bakterii tlenowych mezofilnych, grzybów i *Lactobacillus spp.* oraz określanie toksyczności izolatów z gatunku *C. perfringens* i *C. botulinum*.

Przeprowadzone badania wykazały, że 75,4% badanych próbek kiszonek miało niewłaściwą wartość odczynu pH (od 3,07 do 7,13), co wskazuje na nieprawidłowości w prowadzonym procesie zakiszania. W przypadku 29,5% analizowanych próbek zanotowano odczyn pH wyższe niż 5 i były to zarówno sianokiszonki (66%) jak i kiszonki z kukurydzy (33%). Można stwierdzić, że są to dane wskazujące na zbyt wysoką zawartość suchej masy w kiszonce, będący efektem zakiszania przesuszonego materiału roślinnego lub zebranego w zbyt późnym stadium wegetacji. W niemal 45% wszystkich badanych kiszonek stwierdzono odczyn pH niższe od wartości 4,0 i było to obserwowane jedynie w kiszonce z kukurydzy. Świadczy to o niskiej zawartości suchej masy w kiszonce, będącej następstwem burzliwego przebiegu fermentacji. Zjawisko to jest również niekorzystne, ze względu na straty składników odżywczych kiszonce.

Liczba drobnoustrojów w badanych kiszonkach wahała się od $1,3 \times 10^3$ do $5,3 \times 10^9$ jtk/g, liczba bakterii tlenowych mezofilnych od $1,3 \times 10^3$ do $4,9 \times 10^{11}$ jtk/g, liczba grzybów od 10 do $5,0 \times 10^8$ jtk/g, liczba bakterii z rodzaju *Lactobacillus* od 10 do $2,4 \times 10^9$ jtk/g, a liczba bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* od wartości poniżej 10 do $2,7 \times 10^4$ jtk/g. Obecność *E. coli* stwierdzono w 4 (3,3%) próbkach kiszonek, a liczba tych bakterii wahała się od poniżej 10 do $3,2 \times 10^3$ jtk/g. Obecność *C. perfringens* stwierdzono w 21 badanych kiszonkach (17,2%), a liczba bakterii z tego gatunku wynosiła od poniżej 10 do $4,0 \times 10^2$ jtk/g. Wszystkie wyizolowane szczepy *C. perfringens* należały do toksotypu A, a 13 izolatów (62%) posiadało również gen kodujący toksynę beta2. Liczba beztlenowych laseczek przetrwalnikujących z rodzaju *Clostridium* wynosiła od poniżej 10 do 105 jtk/g. *L. monocytogenes* wyizolowano z 1 próbki sianokiszonki (0,8%), a *L. ivanovii* z 5 próbek kiszonek z kukurydzy i 4 próbek sianokiszonek. Obecność niepatogennych gatunków *Listeria* wykazano w 21 badanych próbkach kiszonek (17,2%) i należały one do gatunków: *L. seeligeri* (9 kiszonek z kukurydzy, 4 sianokiszonki), *L. welshimeri* (4 kiszonki z kukurydzy, 3 sianokiszonki) i *L. innocua* (2 kiszonki z kukurydzy, 2 sianokiszonki). W badanych kiszonkach nie stwierdzono obecności bakterii z gatunków *C. botulinum*, *B. cereus*, *Staphylococcus aureus* czy *Salmonella spp.*, co ma istotne znaczenie w aspekcie zapewnienia ich bezpieczeństwa i epidemiologii.

Odnosząc uzyskane wyniki badań próbek kiszonek do wymienionych powyżej jednostek chorobowych zwierząt należy stwierdzić, że występowanie potencjalnych czynników patogennych w kiszonkach stosowanych w Polsce jest niskie (*L. monocytogenes*) lub bardzo niskie (*C. botulinum*) zwłaszcza, gdy materiał jest pobierany z głębszych warstw kiszonki. Występowanie tych patogenów w kiszonkach znacząco rośnie, gdy próbki kiszonek pobierane są z

ognisk botulizmu czy listeriozy zwierząt i ludzi lub z tych partii kiszonek, gdzie ma dostęp tlen (*Listeria spp.*). Ponadto, zachorowania zwierząt na tle niewłaściwej jakości mikrobiologicznej kiszonek mają miejsce zwykle, gdy zakiszanie roślin odbywa się niezgodnie z regułami sztuki (błędy nawożenia upraw, niewłaściwa dojrzałość zakiszanych roślin, błędy ubijania i/lub pakowania, niewłaściwe wybieranie z silosu). Regułę tą potwierdzają także przypadki botulizmu zwierząt hodowlanych odnotowywane w ostatnich latach w Polsce. W większości z nich źródłem przetrwalników *C. botulinum* w kiszonce był pomiot kurzy, którym przez wiele lat nawożono pola przeznaczone do uprawy roślin kiszonkowych. W niektórych gospodarstwach botulizm bywała pojawiał się jeszcze przez wiele lat po zaprzestaniu tego rodzaju nawożenia, podobnie jak ma to miejsce na terenach endemicznie skażonych przez *C. botulinum*. Zapobieganie zachorowaniom zwierząt i ludzi na tle w/w patogenów musi obejmować właściwe praktyki nawożenia terenów, z których pozyskuje się surowiec roślinny oraz poprawnie prowadzony proces zakiszania pozyskanego materiału.

Znaczenie *Clostridium butyricum* w produkcji zwierzęcej

Magdalena Sapała, Aleksandra Jarosz, Tomasz Grenda

Dział Badań Mikrobiologicznych Żywności i Pasz

Wstęp

Choroby bakteryjne powodują znaczne straty ekonomiczne w hodowli zwierzęcej i stanowią zagrożenie dla konsumentów. Jednym z czynników chorobotwórczych jest *Clostridium perfringens*, który jest istotnym patogenem w przemyśle drobiarskim. W celu jego zwalczania zazwyczaj stosowane są antybiotyki, niemniej jednak, w obliczu narastającej antybiotykoodporności coraz częściej jako alternatywę wykorzystuje się probiotyki.

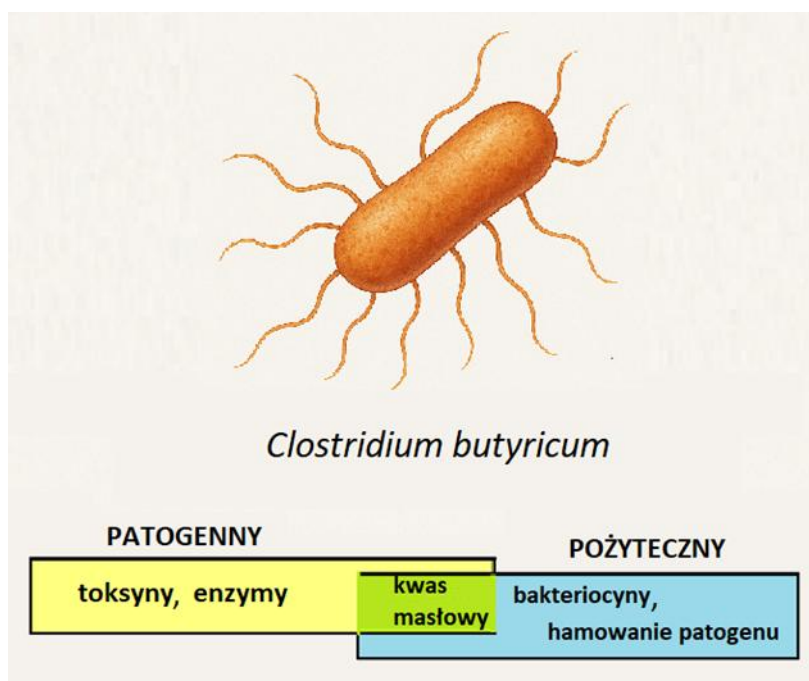
Bakterie z rodzaju *Clostridium* to w większości saprofity, choć niektóre z nich mogą wywoływać poważne schorzenia u zwierząt i ludzi. Rodzaj *Clostridium* obejmuje gatunki Gram-dodatnich, beztlenowych laseczek, które wytwarzają przetrwalniki i występują w glebie, wodzie oraz przewodzie pokarmowym zwierząt. Część z nich jest patogenna i produkuje silne toksyny, powodując choroby takie jak tężec (*C. tetani*), zatrucia pokarmowe i zgorzel gazową (*C. perfringens*), czy botulizm (*C. botulinum*). Mimo potencjalnego zagrożenia, bakterie z rodzaju *Clostridium* stanowią odsetek na poziomie 10-40%. Chociaż często opisuje się je z punktu widzenia zagrożenia biologicznego – wiele z nich ma jednak pozytywne właściwości i mogą być wykorzystywane w wielu gałęziach przemysłu, a także wspierać terapie korzystne dla zdrowia ludzi i zwierząt.

Historia badań nad bakteriami *Clostridium spp.* rozpoczęła się w drugiej połowie XIX wieku, kiedy to Ludwik Pasteur opisał po raz pierwszy izolację bakterii beztlenowych. Wyizolowany szczep nazwano *Vibrio Butyrique*,

inspirując się jego zdolnością do produkcji kwasu masłowego oraz wyglądem przypominającym paciorkowce. Nazwa *Clostridium butyricum*, opisana po raz pierwszy przez Adama Prażmowskiego pod koniec XIX wieku, jest obecnie stosowanym określeniem dla tego mikroorganizmu.

***Clostridium butyricum* – charakterystyka**

Clostridium butyricum to gram dodatnia, beztlenowa bakteria tworząca przetrwalniki, która posiada zdolność do produkcji kwasu masłowego. Ten gatunek jest szeroko rozpowszechniony w środowisku, glebie, wodzie, przewodzie pokarmowym ludzi i zwierząt, a także w fermentowanych produktach spożywczych, takich jak warzywa i produkty mleczne. *Clostridium butyricum* często określa się mianem mikroorganizmu o „podwójnej naturze”, ponieważ różne szczepy mogą wykazywać zarówno probiotyczne jak i patogenne właściwości (Rycina 1). Bakteria ta fermentuje błonnik pokarmowy, wytwarzając krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe – głównie jest to maślan (kwas masłowy). Kwas masłowy, mimo nieprzyjemnego, ostrego zapachu (przypominającego zjełczałe masło), jest kluczowym źródłem energii dla komórek nabłonka jelita grubego, wspierając regenerację i wzmacnianie bariery jelitowej. Ułatwia również wchłanianie minerałów, w tym także wapnia. Zastosowanie w suplementach diety w postaci maślanu sodu niweluje intensywny aromat zachowując jego właściwości.



Rycina 1. *Clostridium butyricum* jako mikroorganizm o „podwójnej naturze”

Działanie probiotyczne szczepów *Clostridium butyricum* polega na regulacji mikrobiomu jelitowego poprzez wspieranie rozwoju korzystnych bakterii takich jak *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* przy jednoczesnym ograniczeniu wzrostu m.in.: *E. coli*, *Salmonella*, *C. perfringens*. Bakteria ta stabilizuje również napięcie mięśni okrężnicy i wspomaga regenerację nabłonka po przebytych biegunkach. Występuje wiele zróżnicowanych szczepów *C. butyricum*, różniących się aktywnością metaboliczną, zdolnością do wytwarzania toksyn i potencjalnym zastosowaniem. Jednym z najlepiej zbadanych i najważniejszych szczepów o udowodnionym działaniu prozdrowotnym jest *Clostridium butyricum* MIRYAIRI 588 (CBM 588).

Właściwości probiotyczne *C. butyricum* MIYAIRI (CRM 588)

Pierwszy szczep *C. butyricum* MIYAIRI (CRM 588) został wyizolowany z próbek ludzkiego stolca w 1933 roku przez Chikaji Miyairi, natomiast w 1963

roku także z próbek gleby. Szczep ten znalazł zastosowanie w Japonii, jako lek wspomagający odbudowę nabłonka w trakcie biegunki i antybiotykoterapii. Szczep *Clostridium butyricum* (CBM 588) został formalnie dopuszczony na rynek Unii Europejskiej jako nowy składnik żywności w 2024 roku na mocy rozporządzenia Parlamentu Europejskiego (WE) nr 258/97.

CBM 588 poddano wielu badaniom laboratoryjnym na zwierzętach, które potwierdziły, że jego stosowanie jako dodatek paszowy jest bezpieczne. Szczep CBM 588 wykazuje dużą tolerancję na czynniki stresowe, takie jak niskie pH oraz obecność środków przeciwdrobnoustrojowych. Przyjmowany doustnie, pomaga zrównoważyć skład mikroflory jelitowej, wspierając rozwój pożytecznych bakterii i ograniczając szkodliwe szczepy. Skutkuje to lepszym trawieniem i ogólną poprawą pracy układu pokarmowego. Tworzy on środowisko niesprzyjające patogenom, głównie dzięki produkcji kwasu masłowego i zdolności przylegania do nabłonka, co tworzy barierę ochronną jelit. Ta cecha minimalizuje ryzyko infekcji. Dodatkowo, szczep ten może wzmacniać odporność jelitową poprzez stymulację zdrowej mikroflory. Efekt probiotyczny CBM 588 można wzmocnić, łącząc go z innymi szczepami, na przykład ze specyficznymi bakteriami kwasu mlekowego (LAB), takimi jak *Lactobacillus brevis* JL16 i *Lactobacillus parabuchneri* MH44, co zostało potwierdzone w badaniach. CBM 588 to szczep wykorzystywany w zapobieganiu biegunce poantybiotykowej oraz jako dodatek paszowy dla zwierząt. Choć naukowcy wciąż badają dokładny sposób, w jaki te bakterie chronią jelita, wiadomo że CBM 588 pozytywnie wpływa na mikroflorę. U myszy z zaburzoną florą bakteryjną po leczeniu antybiotykami zaobserwowano, że szczep ten zwiększa liczbę korzystnych bakterii (takich jak *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* i *Lactococcus*) i poprawia szczelność bariery jelitowej. CBM 588 pomaga także kontrolować stan zapalny wywołany

antybiotykami, zwiększając poziom przeciwzapalnych związków lipidowych, w tym kwasu palmitynowego, 15d-prostaglandyny J2 i protektyny D1. Badania wskazują również, że podanie *Clostridium butyricum* jest skutecznym sposobem na odbudowę równowagi jelit po zabiegach chirurgicznych, co przyspiesza powrót do zdrowia.

Clostridium butyricum znajduje zastosowanie jako dodatek paszowy, którego celem jest regulacja składu mikroflory jelitowej oraz poprawa jakości mięsa zwierzęcego. Suplementacja ta przynosi wymierne korzyści, takie jak podwyższenie gęstości energetycznej karmy i dostarczenie kluczowych nienasyconych kwasów tłuszczowych. Efektem tego działania jest zwiększona wydajność przyrostu masy mięśniowej u przeżuwaczy, a także polepszenie wartości odżywczej i stabilności oksydacyjnej finalnego produktu mięsnego. Suplementacja *Clostridium butyricum* sprzyja poprawie metabolizmu lipidów oraz wydajności wzrostu u prosiąt dotkniętych wewnątrzmacicznym zahamowaniem wzrostu (IUGR), pozytywnie wpływając również na ich zdolności ssania. Badania przeprowadzone na prosiątach karmionych mlekiem matki sugerują, że podawanie *C. butyricum* prowadzi do zmniejszenia populacji patogenów oportunistycznych w jelicie krętym, w tym *Streptococcus* i *Enterococcus*. Mikroorganizmy te są zdolne do hydrolizy soli żółciowych, co skutkuje wzrostem stężenia wolnych kwasów żółciowych, które transportowane do wątroby mogą aktywować receptory LXR α (receptor wątrobowy X α) oraz FXR (receptor farnesoidowy X) jako cząsteczki sygnałowe. Redukcja liczebności wspomnianych patogenów przyspiesza syntezę i proces utleniania kwasów tłuszczowych oraz obniża poziom cholesterolu. W efekcie normalizuje to metabolizm lipidów, poprawia stan morfologiczny wątroby prosiąt z IUGR i zwiększa ich wydajność ssania.

Badania naukowe sugerują, że *Clostridium butyricum* wykazuje właściwości hepatoprotekcyjne (ochraniające wątrobę) u okonia morskiego. Efekt ten jest widoczny poprzez redukcję aktywności aminotransferazy asparaginianowej (AST) w wątrobie oraz jednocześnie podwyższenie aktywności fosfatazy alkalicznej (AKP) i fosfatazy kwaśnej (ACP). Co więcej, mikroorganizm ten znacząco wzmacnia odporność wątroby. *Clostridium butyricum* moduluje stężenia kluczowych biomarkerów metabolicznych, takich jak arachidonian, krotonylo-CoA i D-glukoza-1-fosforan, wpływając tym samym na główne szlaki metaboliczne glukoneogenezy, lipogenezy oraz metabolizmu aminokwasów.

Probiotyk CBM 588 jest produktem o długiej historii stosowania, powszechnie dostępnym na rynkach azjatyckich, w tym w Japonii. Uznaje się go za bezpieczny, nawet w populacji pacjentów z obniżoną odpornością, ze względu na zdolność hamowania rozwoju bakterii patogennych. Szczep ten jest wykorzystywany w terapii oraz profilaktyce biegunek i zakażeń jelitowych. Oprócz wspierania mikrobiomu jelitowego, wykazuje działanie przeciwzapalne. W krajach azjatyckich CRM 588 znajduje również zastosowanie jako psychobiotyk, wspomagający leczenie stanów depresyjnych i stresu.

Nieliczne szczepy *C. butyricum* stanowią potencjalne zagrożenie, ponieważ mogą być wektorami genów toksyny botulinowej typu E, wywołując botulizm niemowląt lub wykazując działanie cytotoksyczne. Innym ryzykiem związanym z określonymi szczepami jest możliwość wywołania martwiczego zapalenia jelit (NEC). Spektrum objawów klinicznych NEC, o zmiennym nasileniu, obejmuje m.in.: krwawienie z przewodu pokarmowego, owrzodzenia prowadzące do martwicy błony śluzowej, wzdęcia brzucha, a także obecność gazu w żyły wrotnej oraz odmě jelitową. Z uwagi na wciąż

niejasny mechanizm powstawania NEC, kluczowe jest stosowanie wyłącznie zweryfikowanych szczepów i zarejestrowanych preparatów medycznych.

***Clostridium butyricum* jako probiotyczny dodatek paszowy**

Stosowanie *C. butyricum* w żywieniu zwierząt jest prawnie uregulowane na poziomie Unii Europejskiej. Komisja Europejska wydaje pozwolenia na użycie tego probiotyku w odniesieniu do konkretnych gatunków, takich jak prosięta, kurczęta czy indyki. Aby zarejestrować taki dodatek paszowy, wnioskodawca musi spełnić szereg formalnych wymogów. Proces ten jest ściśle określony przez artykuł 5 rozporządzenia (WE) nr 1831/2003. Decyzje o dopuszczeniu lub zakazie stosowania dodatku opierają się na naukowej opinii Europejskiego Urzędu ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) i uwzględniają dobrostan zwierząt, bezpieczeństwo ludzi i środowiska. Następnie, EFSA ocenia bezpieczeństwo produktu na podstawie dostarczonych danych, a cały proces decyzyjny koncentruje się na korzyściach dla zwierząt i ochronie konsumentów końcowych.

Preparaty zawierające *C. butyricum* są stosowane w celu zapobiegania lub leczenia infekcji wywołanych przez bakterie *Clostridium* spp. i *Escherichia coli*. Mogą służyć jako alternatywa dla antybiotyków, zwłaszcza gdy ich użycie jest niewskazane (np. u kur niosek). Suplementacja u kur poprawia również wydajność nieśności, zwiększając masę i liczbę jaj, co jest efektem lepszego funkcjonowania bariery jelitowej.

Bariera jelitowa drobiu to złożony system obronny (mikrobiota, śluz, nabłonek, komórki odpornościowe) chroniący przed patogenami i toksynami. Warstwa śluzu, bogata w mucyny, jest pierwszą linią obrony. Badania na myszach sugerują, że enzymatyczny rozpad mucyny (dezintegracja) może prowadzić do stanów zapalnych, co podkreśla znaczenie utrzymania jej prawidłowej struktury.

Eksperymenty wykazały, że podanie *C. butyricum* myszom zwiększyło grubość ściany śluzowej okrężnicy i wydzielanie mucyny, zmniejszając uszkodzenia nabłonka po antybiotykoterapii. Suplementacja ta poprawia także przepuszczalność jelit.

Kluczowa dla odporności drobiu i bezpieczeństwa żywności jest zdrowa bariera jelitowa, jej uszkodzenie prowadzi do chorób i problemów z wchłanianiem. *Clostridium butyricum* to obiecujący mikroorganizm w leczeniu dysbiozy związanej z chorobami metabolicznymi, neurologicznymi czy nowotworowymi. Choć mechanizmy nie są w pełni jasne, dowody wskazują, że jego korzystne działanie (ochronne dla przewodu pokarmowego) wynika z produkcji krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (SCFA).

Podsumowanie

Rola *Clostridium butyricum* w zdrowiu jelit i produkcji zwierzęcej, mechanizmy działania i korzyści przedstawiono w poniższej tabeli (Tabela 1).

Tabela 1. Rola *Clostridium butyricum* w zdrowiu jelit i produkcji zwierzęcej – mechanizmy działania i korzyści

1. <i>Clostridium butyricum</i> – charakterystyka	•Gram-dodatnia laseczka beztlenowa •Tworzy przetrwalniki •Produkuje SCFA, głównie kwas masłowy •Występuje w glebie, wodzie, przewodzie pokarmowym oraz produktach fermentowanych •Szczepy probiotyczne i patogenne •MIYAIRI 588 (CBM 588): dopuszczony w UE, stabilny, probiotyczny
2. Mechanizmy działania <i>C. butyricum</i>	•Produkcja kwasu masłowego (butyratu): regeneracja nabłonka, wzmocnienie bariery jelitowej •Modulacja mikrobiomu: ↑ <i>Lactobacillus</i>, <i>Bifidobacterium</i>; ↓ <i>C. perfringens</i>, <i>E. coli</i>, <i>Salmonella</i>

	•Metabolizm lipidów i wątroby: normalizacja profilu lipidowego, regulacja LXRα i FXR •Immunomodulacja: regulacja cytokin, redukcja stanów zapalnych
3. Efekty zdrowotne u zwierząt	•Ochrona przed biegunką poantybiotykową •Wzmocnienie odporności miejscowej jelit •Mniejsze ryzyko kolonizacji patogenów
4. Efekty metaboliczne i produkcyjne	•Lepsze przyrosty masy ciała, w tym u prosiąt IUGR •Lepsze wykorzystanie paszy •Wyższa wydajność nieśna u drobiu •Poprawa jakości mięsa i profilu lipidowego
5. Informacja bezpieczeństwa – zagrożenia	•Nieliczne szczepy mogą wytwarzać toksynę botulinową typu E (bardzo rzadko) W hodowli zwierząt często pojawiają się różne schorzenia. Niewłaściwe warunki chowu, takie jak zbyt duża liczba zwierząt w obiekcie, nadmierna wilgotność czy zła wentylacja, zwiększają ryzyko chorób bakteryjnych. Aby zapobiec rozprzestrzenianiu się patogenów, niezbędna jest szybka izolacja osobników, u których podejrzewa się infekcję. Stosowanie probiotyków ma na celu poprawę zdrowia stada, lepsze wykorzystanie paszy, wzmocnienie odporności i zwiększenie wydajności produkcji. Kluczem do sukcesu w hodowli jest równowaga między jakościową paszą a suplementami oraz stała obserwacja zwierząt. W tym aspekcie <i>C. butyricum</i> stwarza nowe możliwości prowadzenia wydajnej i bezpiecznej produkcji zwierzęcej. •Należy stosować wyłącznie zweryfikowane preparaty, np. CBM 588

W hodowli zwierząt często pojawiają się różne schorzenia. Niewłaściwe warunki chowu, takie jak zbyt duża liczba zwierząt w obiekcie, nadmierna wilgotność czy zła wentylacja, zwiększają ryzyko chorób bakteryjnych. Aby zapobiec rozprzestrzenianiu się patogenów, niezbędna jest szybka izolacja osobników, u których podejrzewa się infekcję.

Stosowanie probiotyków ma na celu poprawę zdrowia stada, lepsze wykorzystanie paszy, wzmocnienie odporności i zwiększenie wydajności produkcji. Kluczem do sukcesu w hodowli jest równowaga między jakościową paszą a suplementami oraz stała obserwacja zwierząt. W tym aspekcie *C. butyricum* stwarza nowe możliwości prowadzenia wydajnej i bezpiecznej produkcji zwierzęcej.

Piśmiennictwo:

1. Di Bella S., Sanson G., Monticelli J., Zerbato V., Principe L., Giuffrè M., Pipitone G., Luzzati R.: *Clostridioides difficile* infection: history, epidemiology, risk factors, prevention, clinical manifestations, treatment, and future options. Clin Microbiol Rev. 2024 Jun 13;37(2):e0013523. doi: 10.1128/cmr.00135-23. Epub 2024 Feb 29. PMID: 38421181; PMCID: PMC11324037.
2. Stoeva M.K., Garcia-So J., Justice N., Myers J., Tyagi S., Nemchek M., McMurdie P.J., Kolterman O., Eid J.: Butyrate-producing human gut symbiont, *Clostridium butyricum*, and its role in health and disease. Gut Microbes. 2021 Jan-Dec;13(1):1–28. doi: 10.1080/19490976.2021.1907272. PMID: 33874858; PMCID: PMC8078720.
3. Cassir N., Benamar S., La Scola B.: *Clostridium butyricum*: from beneficial to a new emerging pathogen, Unité de Recherche sur les Maladies Infectieuses et Tropicales Emergentes (URMITE), UM63 CNRS 7278 IRD 198 INSERM U1095, Facultés de Médecine et de Pharmacie, Aix-Marseille Université, Marseille, France.
4. Liang J., Wang S., Kou S., Chen C., Zhang W., Nie C.: *Clostridium butyricum* Prevents Diarrhea Incidence in Weaned Piglets Induced by *Escherichia coli* K88 through Rectal Bacteria–Host Metabolic Cross–Talk. Animals 2024, 14, 2287. <https://doi.org/10.3390/ani14162287>.

5. Pelaseyed T., Bergström J., Gustafsson J., Ermund A., Birchenough G., Schütte A., Post S., Svensson F., Rodríguez-Piñeiro A., Nyström E., Wising C., Johansson M., Hansson G. (2014): The mucus and mucins of the goblet cells and enterocytes provide the first defense line of the gastrointestinal tract and interact with the immune system. *Immunological Reviews*, 260. <https://doi.org/10.1111/imr.12182>.
6. Cheng H., Li H., Li Z., Wang Y., Liu L., Wang J., , Ma X., Tan B. (2025): The role of glycosylated mucins in maintaining intestinal homeostasis and gut health. *Animal Nutrition*, 21, 439–446. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2025.03.004>.
7. Hagihara M., Kuroki Y., Ariyoshi T., Higashi S., Fukuda K., Yamashita R., Matsumoto A., Mori T., Mimura K., Yamaguchi N., Okada S., Nonogaki T., Ogawa T., Iwasaki K., Tomono S., Asai N., Koizumi Y., Oka K., Yamagishi Y., Takahashi M., Mikamo H. (2019): *Clostridium butyricum* Modulates the Microbiome to Protect Intestinal Barrier Function in Mice with Antibiotic-Induced Dysbiosis. *iScience*, 23. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2019.100772>.
8. Kato M., Hamazaki Y., Sun S., Nishikawa Y., Kage-Nakadai E.: *Clostridium butyricum* MIYAIRI 588 Increases the Lifespan and Multiple-Stress Resistance of *Caenorhabditis elegans*. *Nutrients*. 2018 Dec 5;10(12):1921. doi: 10.3390/nu10121921. PMID: 30563064; PMCID: PMC6316807.
9. Ariyoshi T., Hagihara M., Tomono S., Eguchi S., Minemura A., Miura D., Oka K., Takahashi M., Yamagishi Y., Mikamo H.: *Clostridium butyricum* MIYAIRI 588 Modifies Bacterial Composition under Antibiotic-Induced Dysbiosis for the Activation of Interactions via Lipid Metabolism between the Gut Microbiome and the Host. *Biomedicines*. 2021 Aug 22;9(8):1065. doi: 10.3390/biomedicines9081065. PMID: 34440269; PMCID: PMC8391242.
10. DECYZJA WYKONAWCZA KOMISJI (UE) 2014/907/UE z dnia 11 grudnia 2014 r. zezwalająca na wprowadzenie do obrotu *Clostridium butyricum* (CBM 588) jako nowego składnika żywności zgodnie z rozporządzeniem (WE) nr 258/97 Parlamentu Europejskiego i Rady. Dziennik Urzędowy Unii Europejskiej.
11. Czajkowska A., Szponar B.: Krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe (SCFA) jako produkty metabolizmu bakterii jelitowych oraz ich znaczenie dla organizmu gospodarza. doi: 10.5604/01.3001.0011.646.

Występowanie w glebie przetrwalników *Clostridium botulinum* jako zagrożenie dla produkcji zwierzęcej i bezpieczeństwa żywności

Aleksandra Jarosz, Magdalena Sapała, Tomasz Grenda

Dział Badań Mikrobiologicznych Żywności i Pasz

Wprowadzenie

Botulizm stanowiący groźną chorobę neuroparalityczną u ludzi i zwierząt, pozostaje jednym z najistotniejszych problemów toksykologicznych w produkcji zwierzęcej. Etiologia schorzenia związana jest z obecnością toksyn botulinowych (BoNTs), wytwarzanych przez beztlenowe bakterie przetrwalnikujące należące głównie do gatunku *Clostridium botulinum*. Formy przetrwalnikowe tego mikroorganizmu cechują się wyjątkową odpornością na niekorzystne czynniki środowiskowe, umożliwiając im wieloletnie przeżycie w glebie i wpływając na ich powszechność w środowisku naturalnym oraz trudności w eliminacji ryzyka związanego z botulizmem na poziomie gospodarstw rolnych.

Gleba jest jednym z kluczowych rezerwuarów spor *C. botulinum* niezależnie od intensywności użytkowania rolniczego, a koncentracja przetrwalników bywa podwyższona w glebach bogatych w materię organiczną oraz na obszarach zalewowych. Wystąpienie środowiska beztlenowego może prowadzić do aktywacji spor, a następnie namnażania bakterii i produkcji neurotoksyn botulinowych. Szczególne znaczenie wydają się mieć procesy technologiczne, które sprzyjają tworzeniu warunków anaerobowych.

Do najważniejszych spośród nich należy zakiszanie pasz objętościowych. W procesie tym materiał roślinny ulega fermentacji w warunkach

ograniczonego dostępu tlenu. Prawidłowo przeprowadzona fermentacja prowadzi do zakwaszenia kiszonki, obniżenia pH i powstania środowiska niesprzyjającego rozwojowi *C. botulinum*. Wszelkie nieprawidłowości w procesie, takie jak nadmierna suchość czy niska zawartość cukrów utrudnia w znacznym stopniu uzyskanie odpowiednio niskiego pH. W takich warunkach tworzy się środowisko, które umożliwia przeżycie i potencjalny rozwój bakterii beztlenowych. W praktyce rolniczej wielokrotnie wykazano, że ogniska botulizmu u bydła miały swój początek w kiszonce, w której proces fermentacji przebiegał nieprawidłowo lub która została niewłaściwie zabezpieczona przed dostępem powietrza.

Analogiczne ryzyko dotyczy również innych pasz i produktów ubocznych stosowanych w żywieniu zwierząt, takich jak wywary gorzelniane, pulpa buraczana czy niektóre komponenty wysokobiałkowe przechowywane w silosach. Ich wysoka wilgotność i ograniczony dostęp tlenu tworzą środowisko sprzyjające rozwojowi bakterii beztlenowych, zwłaszcza wtedy, gdy materia organiczna została wcześniej skażona sporamiz *Clostridium botulinum*. Dodatkowym elementem ryzyka jest fermentujący obornik i gnojowica, które przy niewłaściwym prowadzeniu procesu magazynowania i higienizacji również mogą stanowić istotne źródło spor wprowadzanych następnie na użytki zielone.

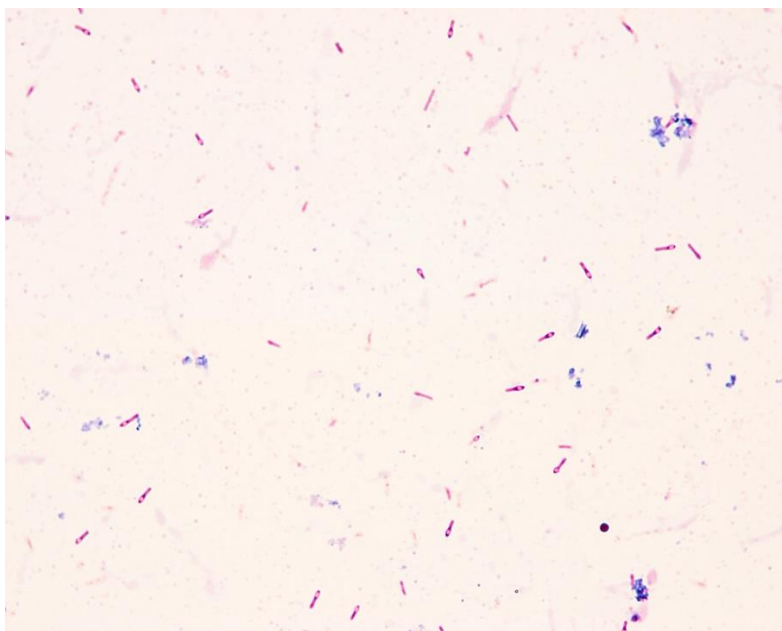
Z punktu widzenia bezpieczeństwa żywności zagrożenie wynikające z obecności *C. botulinum* w środowisku jest szczególnie istotne, ponieważ toksyna botulinowa nie wpływa na sensoryczną jakość produktów spożywczych. Oznacza to, że produkty spożywcze nie wykazują charakterystycznych oznak zepsucia, co sprawia, że potencjalne skażenie może pozostać niezauważone. W rezultacie, działania prewencyjne stają się kluczowym elementem zarządzania ryzykiem, obejmując zarówno nadzór nad

jakością pasz, jak i właściwe praktyki rolnicze ograniczające możliwość przenoszenia przetrwalników z gleby do dalszych ogniw łańcucha żywnościowego.

Zrozumienie mechanizmów rozprzestrzeniania przetrwalników *C. botulinum* jest zatem fundamentem skutecznych działań profilaktycznych w produkcji zwierzęcej. Niniejsza praca koncentruje się na ekologii *C. botulinum*, analizie czynników odpowiedzialnych za utrzymywanie się spor w środowisku oraz wpływie tych mikroorganizmów na zdrowie zwierząt i bezpieczeństwo żywności. Podejście to pozwala nie tylko na scharakteryzowanie patogenu, lecz także na wskazanie krytycznych etapów w produkcji rolnej, w których możliwe jest ograniczenie ryzyka botulizmu w perspektywie „od pola do stołu”.

Charakterystyka gatunku *Clostridium botulinum* i innych bakterii zdolnych do produkcji toksyn botulinowych

Clostridium spp. obejmuje szeroką i zróżnicowaną grupę beztlenowych laseczek Gram-dodatnich. W ujęciu morfologicznym bakterie te mają postać wydłużonych komórek o kształcie laseczkowatym, przyjmujących długość zwykle od kilku do kilkunastu mikrometrów, z charakterystyczną tendencją do tworzenia form przetrwalnych, prowadzących do powstawania rozdęć komórkowych. Spory mogą być umiejscowione centralnie, podbiegunowo lub biegunowo, niekiedy nadając komórce kształt „wrzecionowaty” lub przypominający raketkę, co stanowi cechę diagnostyczną w analizach mikroskopowych.



Rycina 1. Obraz mikroskopowy beztlenowych bakterii przetrwalnikujących *Clostridium* spp.

Heterogeniczność rodzaju *Clostridium* przejawia się zarówno w morfologii tych bakterii jak i właściwościach metabolicznych. Poszczególne gatunki mogą wykorzystywać odmienne szlaki fermentacyjne – jedne rozkładają głównie białka, inne preferują węglowodany, a jeszcze inne przetwarzają kwasy tłuszczowe lub alkohole. Te różnice ekologiczne i metaboliczne przekładają się na ogromną różnorodność środowisk, które gatunki *Clostridium* spp. są w stanie zasiedlać: od kompostu i odchodów zwierząt, przez glebę, osady denne i kiszonki, po układ pokarmowy ludzi i zwierząt.

Szczególne znaczenie chorobotwórcze mają bakterie zdolne do wytwarzania najsilniejszych, naturalnych toksyn występujących w środowisku, określanych jako neurotoksyny botulinowe (BoNTs). Obecnie rozpoznawalnych jest siedem wariantów toksycznych, oznaczonych literami

A – G, a także około 40 ich podtypów. Tradycyjnie za główny czynnik etiologiczny botulizmu uważa się gatunek *Clostridium botulinum*, jednak w świetle współczesnych danych genetycznych i epidemiologicznych wiadomo, że toksyny botulinowe mogą być wytwarzane także przez inne gatunki rodzaju *Clostridium*. Mechanizm ten wynika z faktu, że geny BoNTs często zlokalizowane są na ruchomych elementach genetycznych, przede wszystkim plazmidach lub bakteriofagach, które mogą być przenoszone poziomo pomiędzy różnymi bakteriami.

Poza wspomnianym *C. botulinum*, do wytwarzania BoNTs są zdolne także szczepy innych gatunków z rodzaju *Clostridium*. W przeszłości izolowano nieliczne szczepy *Clostridium butyricum*, zdolne do wytwarzania toksyny botulinowej typu E. Gatunek ten posiada głównie charakter saprofityczny, a w przypadku niektórych szczepów nawet probiotyczny, jednak nieliczne szczepy zostały opisane jako zdolne do wytwarzania toksyny botulinowej. Były one jednoznacznie powiązane z przypadkami botulizmu niemowląt, w których bakterie kolonizują światło jelita grubego dziecka i produkują toksynę *in situ*. Podobne właściwości toksynotwórcze przypisuje się nielicznym szczepom gatunku *Clostridium baratii*, u których opisano zdolność wytwarzania toksyny typu F, oraz niektórym szczepom *Clostridium sporogenes* wytwarzającym toksynę B, choć gatunek ten morfologicznie i filogenetycznie jest blisko spokrewniony z *C. botulinum*.

Ze względu na właściwości metaboliczne i fizjologiczne szczepów, w obrębie gatunku *Clostridium botulinum* wyróżnić można cztery następujące grupy: grupa I obejmuje szczepy proteolityczne typu A, B i F, zaś do grupy II klasyfikuje się nieproteolityczne szczepy typu E, B i F. Grupa III obejmuje szczepy produkujące toksyny typu C, D oraz ich formy mozaikowe C/D i D/C,

które mają kluczowe znaczenie w epidemiologii botulizmu zwierząt. Ostatnia, grupa IV obejmuje szczepy *C. botulinum* zdolne do produkcji toksyny G.

Uwzględniając morfologię, zdolność sporulacji oraz właściwości metaboliczne, bakterie należące do rodzaju *Clostridium* stanowią unikatowy przykład organizmów, które dzięki swojej różnorodności i adaptacyjności są w stanie funkcjonować w różnorodnych środowiskach i jednocześnie generować poważne zagrożenie toksykologiczne. Ich obecność w glebie, przewodzie pokarmowym, wodach i materiałach organicznych sprawia, że są one trwałym elementem mikrobiologicznego środowiska, zdolnym do wywoływania ognisk botulizmu zarówno u ludzi, jak i u zwierząt gospodarskich.

Patogeneza botulizmu – mechanizm działania toksyn botulinowych

Patogeneza botulizmu opiera się na właściwościach neurotoksyny botulinowej, dla zrozumienia których konieczne jest uwzględnienie jej specyficznej budowy, determinującej zarówno sposób wnikania toksyny do neuronów, jak i jej efekt końcowy w postaci postępującego, wiotkiego porażenia mięśni. Toksyna botulinowa jest białkiem o masie około 150 kDa, zbudowanym z dwóch fragmentów polipeptydowych: łańcucha ciężkiego i łańcucha lekkiego, połączonych mostkiem dwusiarczkowym. Łańcuch ciężki odpowiada za wysoką selektywność toksyny wobec neuronów ruchowych, ponieważ rozpoznaje specyficzne receptory na powierzchni synaps cholinergicznych i umożliwia transport cząsteczki do wnętrza komórki nerwowej za pośrednictwem endocytozy. Łańcuch lekki natomiast pełni funkcję właściwego elementu toksycznego – jego aktywność proteolityczna skierowana jest przeciwko białkom kompleksu SNARE (SNAP-25, syntaksyna, synaptobrewina), które uczestniczą w procesie egzocytozy pęcherzyków synaptycznych. Zahamowanie aktywności któregośkolwiek z tych białek

skutecznie blokuje uwalnianie acetylocholino, co powoduje przerwanie przewodnictwa nerwowo-mięśniowego.

Po pobraniu przez zwierzę skażonej paszy toksyna, chroniona przez białka towarzyszące, przechodzi przez barierę jelitową w formie czynnej. Następnie rozprzestrzenia się wraz z krwią w kierunku obwodowych zakończeń nerwowych. W momencie dotarcia do neuronów ruchowych łańcuch ciężki wiąże się z receptorami komórkowymi, co zapoczątkowuje proces internalizacji. Po wnikięciu do komórki presynaptycznej toksyna podlega aktywacji i uwalnia łańcuch lekki, który w cytoplazmie rozpoczyna proteolizę białek odpowiedzialnych za fuzję pęcherzyków synaptycznych z błoną komórkową. Efektem jest całkowite zahamowanie uwalniania acetylocholino, co prowadzi do stopniowego wygaszania skurczu mięśni szkieletowych. Toksyna nie niszczy strukturalnie nerwu, lecz funkcjonalnie „odłącza” jego połączenia z mięśniami, a przywrócenie prawidłowego przewodnictwa wymaga rozwoju nowych zakończeń nerwowych. U zwierząt proces ten jest powolny, przez co objawy botulizmu utrzymują się tygodniami, w ciężkich przypadkach dochodzi do zgonu zanim możliwa będzie regeneracja uszkodzonych synaps.

Obraz kliniczny botulizmu u zwierząt gospodarskich jest bezpośrednim odzwierciedleniem mechanizmu molekularnego. Początkowe objawy są subtelne i często pozostają niezauważone – obejmują osłabienie, zmniejszoną aktywność ruchową i niewyraźne zaburzenia koordynacji. W miarę narastania blokady nerwowo-mięśniowej dochodzi do widocznego obniżenia napięcia mięśniowego, trudności w utrzymaniu pozycji stojącej i charakterystycznej chwiejności. U bydła pojawia się chwiejny chód, konie wykazują problemy z unoszeniem głowy i ogona, a u ptaków wodnych obserwuje się opadnięcie skrzydeł. Z czasem dochodzi również do zaburzeń połykania oraz nasilonego

ślinotoku, które są konsekwencją upośledzenia działania mięśni gardła i przełyku. Zahamowanie perystaltyki prowadzi do zaparc oraz zatrzymania treści w przewodzie pokarmowym, co w połączeniu z odwodnieniem pogarsza stan zwierzęcia. Choroba postępuje w kierunku coraz bardziej nasilonego porażenia mięśni tułowia i kończyn, aż w końcu obejmuje mięśnie oddechowe. Porażenie przepony i mięśni międzyżebrowych prowadzi do niewydolności oddechowej, która stanowi najczęstszą przyczynę śmierci zwierząt dotkniętych botulizmem.

Nasilenie i tempo rozwoju objawów zależą od dawki i typu toksyny oraz wrażliwości gatunkowej. Bydło i konie zwykle rozwijają objawy w ciągu kilkudziesięciu godzin, a ich stan kliniczny stopniowo się pogarsza. U ptaków wodnych, szczególnie przy ekspozycji na toksynę typu C, przebieg bywa gwałtowny i kończy się śmiercią w ciągu jednego do dwóch dni.

Botulizm u zwierząt gospodarskich ma charakter głównie intoksykacji pokarmowej co oznacza, że toksyna jest pobierana z zewnątrz, najczęściej z pasz poddanych niewłaściwej fermentacji lub zanieczyszczonych rozkładającą się materią organiczną. Produkcja toksyny w organizmie na tle toksykoinfekcji, jest zjawiskiem rzadkim, niezależnie jednak od formy ekspozycji na działanie toksyn botulinowych, patogenеза przebiega zgodnie z tym samym schematem – toksyna blokuje przekazywanie impulsów nerwowych do mięśni, prowadząc do ich całkowitego porażenia z zachowaniem świadomości zwierzęcia, co czyni przebieg choroby wyjątkowo ciężkim.

Ekologia środowiskowa przetrwalników *Clostridium botulinum*

Ekologia przetrwalników *Clostridium botulinum* opiera się na współdziałaniu wielu elementów ekosystemu, w których spory nieustannie przemieszczają się między glebą, roślinnością, zwierzętami, materią

organiczną i wodą. Przetrwalniki umożliwiają bakterii utrzymywać się w różnych niszach ekologicznych przez długie okresy, nawet w czasie braku sprzyjających warunków do wzrostu.

Gleba stanowi podstawowy rezerwuár przetrwalników, a jednocześnie środowisko, w którym mogą one pozostawać w stanie uśpiania przez wiele lat. Jej zróżnicowana struktura sprzyja powstawaniu licznych warstw glebowych o ograniczonej dostępności tlenu i zwiększonej wilgotności, które umożliwiają okresowe kiełkowanie spor. Kluczowym elementem tego cyklu są procesy związane z rozkładem szczątków zwierzęcych. Miejsca, w których zachodzi rozkład materii zwierzęcej, tworzą naturalne środowiska beztlenowe bogate w składniki odżywcze, co sprzyja przechodzeniu przetrwalników w formy wegetatywne i rozwojowi bakterii. Po wyczerpaniu zasobów formy wegetatywne ponownie sporulują, zwiększając pulę przetrwalników w glebie i kontynuując środowiskowy obieg bakterii.

Zwierzęta odgrywają kluczową rolę w rozprzestrzenianiu przetrwalników. Ptaki, zwłaszcza gatunki związane z siedliskami wodnymi, pobierają spory wraz z mułem i osadami dennymi, a następnie przenoszą je na kolejne obszary w trakcie żerowania lub migracji. Zwierzęta gospodarskie, takie jak bydło, mogą natomiast pobierać niewielkie ilości przetrwalników z paszą lub wodą i wydalać je w odchodach, co zwiększa ich lokalne nagromadzenie. Wprowadzanie obornika i gnojowicy na pola sprawia, że cykl ten ulega dalszemu nasileniu, a spory regularnie powracają do gleby uprawnej.

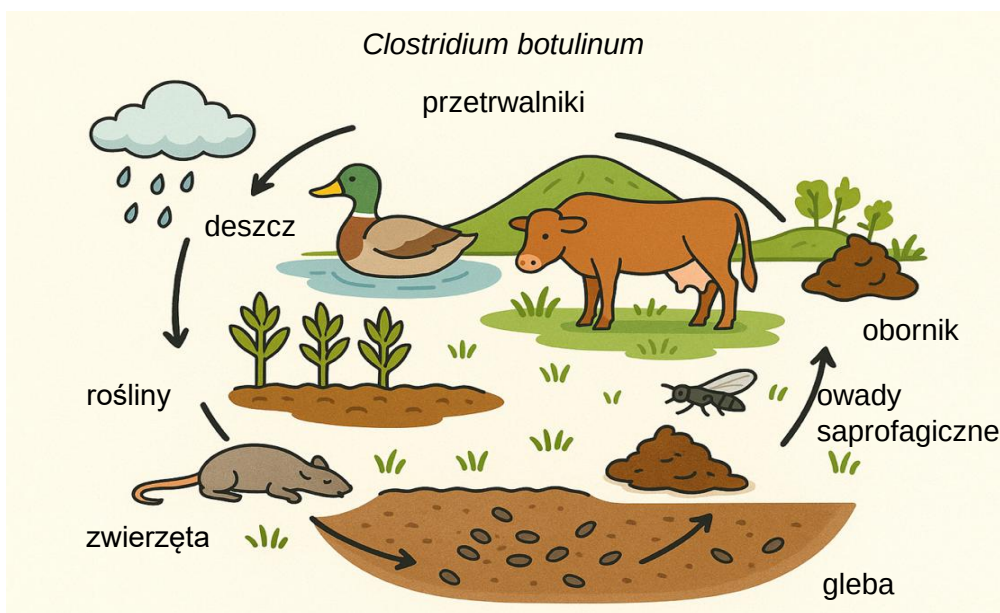
Transport przetrwalników zachodzi również poprzez rośliny. Cząstki ziemi unoszone przez deszcz, wiatr lub przemieszczane w trakcie zabiegów agrotechnicznych mogą osadzać się na powierzchni roślin, które w kolejnych etapach stają się pośrednim nośnikiem spor. Ma to szczególne znaczenie

w przypadku upraw przeznaczonych na kiszonki – zanieczyszczenie materiału glebą lub niewłaściwe warunki zakiszania, takie jak nadmierna wilgotność czy niedostateczne ubicie, mogą prowadzić do powstawania warunków umożliwiających germinację spor i rozwój form wegetatywnych bakterii.

Na przemieszczanie przetrwalników wpływają również procesy związane z obiegiem wody w środowisku. Intensywne opady czy powolne przesiąkanie wody przez profil glebowy mogą przenosić spory z miejsc ich pierwotnego występowania do niżej położonych części krajobrazu. Woda spływająca po powierzchni pól i łąk unosi ze sobą drobne cząstki gleby, które stają się nośnikami przetrwalników. W konsekwencji trafiają one do zagłębień terenu, stref podmokłych, poboczy rowów oraz niewielkich zbiorników wodnych – miejsc charakteryzujących się wysoką wilgotnością i ograniczoną dostępnością tlenu. Takie warunki sprzyjają okresowej aktywacji bakterii beztlenowych i zwiększają prawdopodobieństwo ich namnażania, co ponownie zasila środowiskowy obieg *Clostridium botulinum*.

W cyklu ekologicznym przetrwalników znaczenie mają także owady saprofagiczne oraz inne drobne bezkręgowce zasiedlające środowiska bogate w materię organiczną. Przemieszczają się one pomiędzy warstwami gleby, roślinami i strefami rozkładu, transportując spory na niewielkie, lecz ekologicznie istotne odległości. Wiele gatunków owadów wykazuje naturalną odporność na działanie toksyny botulinowej, co czyni je wyjątkowo skutecznymi wektorami dla przetrwalników *C. botulinum*. Ich rola nie ogranicza się jednak wyłącznie do przenoszenia spor – owady stanowią także pokarm dla licznych zwierząt, umożliwiając wielokierunkowe przenoszenie przetrwalników, zasilając środowiskowy cykl *C. botulinum* i sprzyjając tym samym rozszerzaniu potencjalnych stref ryzyka.

Współdziałanie wszystkich tych procesów – rozkładu materii, aktywności zwierząt i owadów, transportu hydrologicznego oraz interakcji gleby z roślinami – sprawia, że przetrwalniki *Clostridium botulinum* są stale obecne w ekosystemach naturalnych i rolniczych. Stanowią one dynamiczny element obiegu biologicznego, którego skala i kierunek zależą od lokalnych warunków środowiskowych, sezonowości oraz praktyk rolniczych. Taka złożona ekologia sprawia, że całkowite wyeliminowanie przetrwalników ze środowiska jest praktycznie niemożliwe, co podkreśla potrzebę zrozumienia ich cyklu w kontekście zapobiegania botulizmowi u zwierząt i ochrony bezpieczeństwa żywności.



Rycina 2. Interakcje środowiskowe umożliwiające rozprzestrzenianie spor *C. botulinum*.

Zagrożenia dla produkcji zwierzęcej

Obecność przetrwalników *Clostridium botulinum* na terenach gospodarstw rolnych tworzy szczególny rodzaj zagrożenia, który nie wynika

wyłącznie z obecności bakterii w środowisku, ale z ich zdolności do wykorzystania nawet niewielkich błędów w przygotowaniu pasz, czy zarządzaniu bezpieczeństwem przestrzeni produkcyjnej.

W produkcji zwierzęcej znaczenie ma sposób przygotowania i przechowywania pasz, zwłaszcza tych poddanych fermentacji. Materiał roślinny wykorzystywany do zakiszania jest szczególnie podatny na procesy, w których niewielkie ilości zanieczyszczeń organicznych mogą stworzyć warunki sprzyjające wytwarzaniu toksyn. Tempo zakwaszania, zróżnicowanie wilgotności i dostęp powietrza wpływają na to, czy bakterie mają możliwość namnażania. Z punktu widzenia praktyki rolniczej poważnym problemem jest również długotrwałe przechowywanie paszy.

Ryzyko botulizmu rośnie również w sytuacjach, w których zwierzęta mają dostęp do pasz o złożonym składzie, powstających z wielu partii surowców. Mieszanki paszowe całkowite (TMR) mogą stanowić szczególne wyzwanie, ponieważ nawet pojedynczy zanieczyszczony komponent może doprowadzić do skażenia całej mieszanki. W praktyce oznacza to, że nie tylko sama jakość kiszonki, lecz także sposób komponowania i podawania paszy wpływają na poziom ryzyka w stadzie.

W produkcji bydła i koni dużym problemem jest fakt, że objawy botulizmu mogą być początkowo bardzo dyskretne i łatwo je pomylić z niedoborami mineralnymi, urazami lub chorobami metabolicznymi. W efekcie choroba bywa rozpoznawana dopiero wtedy, gdy niewydolność mięśni oddechowych staje się widoczna, co znacząco ogranicza możliwości terapeutyczne.

W intensywnej produkcji drobiarskiej zagrożenie ma inny charakter, ponieważ ptaki mogą reagować gwałtownie nawet na śladowe ilości toksyny obecnej w paszy. Nagłe padnięcia, spadek aktywności i osłabienie nóg tworzą

obraz kliniczny, który często wymaga natychmiastowego działania, zanim choroba obejmie znaczną część stada. W praktyce oznacza to konieczność stałego monitoringu jakości wody oraz skrupulatnego usuwania resztek organicznych z przestrzeni bytowania ptaków.

Znaczącym, choć nie zawsze dostrzeganym zagrożeniem jest również kumulacja przetrwalników w systemach wodnych wykorzystywanych przez zwierzęta. W niewielkich zbiornikach wodnych mogą okresowo tworzyć się warunki beztlenowe, co ułatwia występowanie przetrwalników w obecności rozkładającej się materii organicznej. Zwierzęta narażone są na przyjęcie toksyny w sposób nagły, co może prowadzić do błyskawicznego rozwoju objawów klinicznych w całej grupie.

Skuteczne ograniczanie zagrożeń związanych z obecnością przetrwalników *Clostridium botulinum* w produkcji zwierzęcej wymaga wdrożenia spójnych działań bioasekuracyjnych obejmujących zarówno środowisko paszowe, jak i bezpośrednie otoczenie zwierząt. Kluczowym elementem bioasekuracji jest nadzór nad całym procesem wytwarzania pasz objętościowych. Odpowiednie przygotowanie pól, minimalizowanie zaciągania gleby podczas zbioru oraz stosowanie precyzyjnych metod ugniatania i uszczelniania pryzm oraz monitorowanie szczelności folii ograniczają ryzyko aktywacji przetrwalników.

W ramach bioasekuracji niezbędne jest również utrzymanie wysokiej higieny miejsc magazynowania pasz treściwych i komponentów wykorzystywanych do sporządzania mieszanek TMR. Szczelne silosy, kontrola temperatury i wilgotności w magazynach oraz ochrona przed dostępem gryzoni i ptaków są warunkiem minimalizującym ryzyko skażenia surowców. Szczególne znaczenie ma również usuwanie resztek paszy pozostałych w korytach i wozach paszowych, które mogą stanowić środowisko sprzyjające

rozwojowi mikroorganizmów, jeśli pozostaną w wysokiej temperaturze lub wilgotności.

Skuteczna bioasekuracja opiera się zatem na spójnym systemie działań, które ograniczają możliwość pojawienia się warunków sprzyjających aktywacji przetrwalników i produkcji toksyny. Jej celem nie jest eliminacja bakterii ze środowiska, lecz przerwanie ciągu zdarzeń prowadzących do intoksykacji zwierząt gospodarskich. Tylko w ten sposób możliwe jest rzeczywiste zmniejszenie ryzyka wystąpienia botulizmu w stadach i zapewnienie stabilności produkcji zwierzęcej.

Botulizm w kontekście bezpieczeństwa żywności

Zapewnienie bezpieczeństwa żywności w kontekście botulizmu wymaga spojrzenia na łańcuch żywnościowy jako na złożony i wieloetapowy system, w którym potencjalne zagrożenie może pojawić się nie tylko w jednym miejscu, lecz na różnych jego odcinkach, w zależności od kombinacji czynników technologicznych, środowiskowych i organizacyjnych. *Clostridium botulinum* samo w sobie nie musi stanowić problemu, jeśli system produkcji żywności jest w stanie skutecznie utrzymać warunki uniemożliwiające aktywację przetrwalników i powstawanie toksyny botulinowej. Dlatego kluczowe znaczenie ma nie tyle samo źródło zanieczyszczenia, ile jakość zarządzania procesami, które mogą sprzyjać rozwojowi bakterii lub wytwarzaniu toksyny w trakcie przygotowania i przechowywania żywności. W tym ujęciu, botulizm traktowany może być jako zagrożenie procesowe, silnie związane z parametrami technologii żywności.

W łańcuchu żywnościowym toksyna botulinowa stanowi potencjalne ryzyko przede wszystkim tam, gdzie istnieje możliwość powstania warunków sprzyjających rozwojowi bakterii beztlenowych – dotyczy to szczególnie produktów pakowanych hermetycznie, o niskiej kwasowości oraz wysokiej

aktywności wodnej. Produkty takie, w tym liczne przetwory warzywne, pasty smarowne, konserwy oraz dania gotowe, wymagają precyzyjnie kontrolowanych procesów technologicznych, ponieważ naturalne właściwości surowców mogą sprzyjać przeżyciu przetrwalników. Choć sama obecność przetrwalników nie oznacza zagrożenia dla konsumenta, staje się ono realne, gdy produkt zostanie zamknięty w warunkach beztlenowych, a parametry obróbki cieplnej nie zapewnią wystarczającej inaktywacji spor.

Właśnie z tego powodu w technologii żywności szczególne znaczenie ma tzw. „botulinum cook”, czyli proces sterylizacji prowadzony w temperaturze 121°C przez 3 minuty, odpowiadający wartości $F_0 = 3$. To minimalny czas i temperatura uznawane za wystarczające do inaktywacji najbardziej odpornych przetrwalników typów A i B *Clostridium botulinum*, które są kluczowe technologicznie w produkcji żywności.

W przypadku gdy proces sterylizacji jest niewłaściwy – zbyt krótki, nierównomierny, prowadzony w nieodpowiedniej temperaturze – przetrwalniki mogą pozostać w produkcie zdolne do aktywacji. Jeśli następnie produkt będzie przechowywany w warunkach sprzyjających rozwojowi bakterii, może dojść do wytworzenia toksyny botulinowej w zamkniętym opakowaniu, bez jakichkolwiek zewnętrznych oznak psucia.

Współczesny łańcuch żywnościowy jest silnie zintegrowany, co oznacza, że zakłócenie na jednym etapie może przenosić się na kolejne. Ognisko botulizmu lub samo podejrzenie nieprawidłowości związanych z bezpieczeństwem sterylizacji wymaga natychmiastowych działań obejmujących izolację partii produktów, przeprowadzenie dodatkowych badań, analizę dystrybucji oraz często wycofanie produktów z rynku. Tego typu działania są nie tylko kosztowne, ale także logistycznie skomplikowane i mogą prowadzić do destabilizacji funkcjonowania zakładów przetwórczych.

Dlatego kontrola zagrożenia *C. botulinum* w całym łańcuchu żywnościowym jest jednym z fundamentów systemu HACCP, gdzie stanowi klasyczny przykład zagrożenia wymagającego wyznaczenia krytycznych punktów kontrolnych.

Równolegle zagrożenie botulizmem może wynikać z niewłaściwych warunków przechowywania gotowej żywności. Produkty przeznaczone do przechowywania w temperaturze chłodniczej, które omyłkowo trafią do przechowywania w temperaturze pokojowej, mogą stworzyć warunki umożliwiające rozwój bakterii. W przypadku żywności o przedłużonej trwałości szczególne znaczenie ma również szczelność opakowań.

Botulizm w łańcuchu żywnościowym nie jest więc zagrożeniem jednego etapu, jednej grupy produktów czy jednego rodzaju surowca. Jest zagrożeniem „systemowym”, powstającym tam, gdzie zawodzą bariery technologiczne. Dlatego skuteczne zapobieganie opiera się nie na eliminacji *C. botulinum*, lecz na konsekwentnym utrzymywaniu parametrów, które uniemożliwią przetrwalnikom przekształcenie się w formy aktywne stanowiące zagrożenie dla konsumentów.

Tabela 1. Czynniki ryzyka w łańcuchu żywnościowym

Obszar/czynnik ryzyka	Znaczenie w kontekście botulizmu	Skutki zaburzenia	Działania prewencyjne/bariery bezpieczeństwa
pH żywności	wartości powyżej 4,6 umożliwiają rozwój <i>C. botulinum</i>	możliwość produkcji toksyny w produkcie zamkniętym	korekta kwasowości, kontrola receptur
aktywność wodna (aw)	wysoka aktywność wodna sprzyja germinacji spor	szybszy rozwój mikroorganizmów i ryzyko produkcji toksyny	odpowiednie odwodnienie, obróbka cieplna, stabilizacja produktu
warunki beztlenowe	bezwzględny warunek rozwoju <i>C. botulinum</i>	aktywacja i namnażanie bakterii w produktach hermetycznych	walidacja technologii pakowania, kontrola szczelności
temperatura przechowywania	nieodpowiednia temperatura sprzyja rozwojowi bakterii	wzrost ryzyka produkcji toksyny w produktach trwałych	chłodzenie poniżej 4°C
obróbka cieplna	zbyt niska temperatura nie gwarantuje inaktywacji przetrwalników	przetrwalniki mogą germinować w czasie przechowywania	zastosowanie „gotowania botulinowego”: 121°C/3 min (F0 = 3)
zanieczyszczenia środowiskowe	mogą wprowadzać spory do surowców	zanieczyszczenie linii technologicznej i produktów	mycie i sortowanie surowców, higiena linii produkcyjnych
szczelność opakowań	uszkodzone opakowania zmieniają atmosferę gazową	możliwość rozwoju drobnoustrojów i wytwarzania toksyny	kontrola integralności opakowań, testy szczelności

Podsumowanie

Clostridium botulinum oraz inne gatunki zdolne do wytwarzania toksyn botulinowych stanowią wyjątkowe zagrożenie z punktu widzenia zdrowia

zwierząt i bezpieczeństwa żywności. Ich przetrwalniki, naturalnie obecne w środowisku, tworzą złożony cykl ekologiczny, w którym gleba, woda, roślinność, padlina i zwierzęta działają jako wzajemnie powiązane ogniwa umożliwiające utrzymanie i rozprzestrzenianie się bakterii. W rolnictwie istotnym problemem jest fakt, że intoksykacja zwierząt wynika z pobrania wcześniej wytworzonej toksyny, co czyni prawidłowe gospodarowanie paszami i wodą kluczowym elementem profilaktyki botulizmu. Zanieczyszczenie materiału roślinnego glebą, niewłaściwe warunki zakiszania, zaburzenia fermentacji czy kontakt pasz z rozkładającą się materią organiczną mogą prowadzić do powstawania toksyny jeszcze przed skarmieniem. Z perspektywy bezpieczeństwa żywności zagrożenie ma charakter systemowy i obejmuje wszystkie etapy łańcucha żywnościowego – od pierwotnej produkcji, przez przetwórstwo, po dystrybucję i przechowywanie produktów. Krytyczne znaczenie mają parametry technologiczne, zwłaszcza obróbka cieplna żywności o niskiej kwasowości, w której to właściwie przeprowadzona sterylizacja stanowi podstawową barierę chroniącą przed przeżyciem przetrwalników i wytwarzaniem toksyny botulinowej. Niedostateczne dostosowanie procesów cieplnych, błędy w pakowaniu próżniowym, niewłaściwe warunki przechowywania lub zanieczyszczenie surowców mogą prowadzić do poważnych zakłóceń w funkcjonowaniu łańcucha dostaw i konieczności wycofywania produktów. Skuteczne ograniczanie ryzyka związanego z botulizmem wymaga wdrożenia zintegrowanego podejścia, łączącego bioasekurację na poziomie gospodarstw rolnych, higienę produkcji oraz precyzyjne procesy technologiczne. Dzięki temu możliwe jest zapewnienie stabilności produkcji zwierzęcej i wysokiego poziomu ochrony zdrowia publicznego.

Piśmiennictwo:

1. Anderson N.M., Larkin J.W., Cole M.B., Skinner G.E., Whiting R.C., Gorris L.G., Rodriguez A., Buchanan R., Stewart C.M., Hanlin J.H., Keener L., Hall P.A.: Food safety objective approach for controlling *Clostridium botulinum* growth and toxin production in commercially sterile foods. J Food Prot., 2011, 1956–89. doi: 10.4315/0362-028X.
2. Driehuis F., Wilkinson J.M., Jiang Y., Ogunade I., Adesogan A.T.: Silage review: Animal and human health risks from silage. J Dairy Sci, 2018, 101, 4093–4110. doi: 10.3168/jds.2017-13836.
3. Espelund M., Klaveness D.: Botulism outbreaks in natural environments – an update. Front Microbiol., 2014, 11. doi: 10.3389/fmicb.2014.00287.
4. Guizelini C.C., Lemos R.A.A., de Paula J.L.P., Pupin R.C., Gomes D.C., Barros C.S.L., Neves D.A., Alcântara L.O.B., Silva R.O.S., Lobato F.C.F., Martins T.B.: Type C botulism outbreak in feedlot cattle fed contaminated corn silage. Anaerobe, 2019, 55, 103–106. doi: 10.1016/j.anaerobe.2018.11.003.
5. Le Maréchal C., Huneau A., Solanas S., Avouac A., Jambou L., Roux A., Boulonne L., Rouxel S., Jolivet C., Poezevara T., Chemaly M., Hartmann A.: Overview of botulinum neurotoxin-producing clostridia in soils in France. Microbiol Spectr, 2025, 5. doi: 10.1128/spectrum.00114-25.
6. Lindström M., Kiviniemi K., Korkeala H.: Hazard and control of group II (non-proteolytic) *Clostridium botulinum* in modern food processing. Int J Food Microbiol., 2006, 15, 92–104. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2005.11.003.
7. Lonati D., Schicchi A., Crevani M., Buscaglia E., Scaravaggi G., Maida F., Cirronis M., Petrolini V.M., Locatelli C.A.: Foodborne Botulism: Clinical Diagnosis and Medical Treatment. Toxins (Basel), 2020, 7. doi: 10.3390/toxins12080509.
8. Munir M.T., Mtimet N., Guillier L., Meurens F., Fravallo P., Federighi M., Kooh P.: Physical Treatments to Control *Clostridium botulinum* Hazards in Food. Foods, 2023, 7. doi: 10.3390/foods12081580.
9. Portinha I.M., Douillard F.P., Korkeala H., Lindström M.: Sporulation Strategies and Potential Role of the Exosporium in Survival and Persistence of *Clostridium botulinum*. Int J Mol Sci., 2022, 11. doi: 10.3390/ijms23020754.

10. Rasetti-Escargueil C., Lemichez E., Popoff M.R.: Public Health Risk Associated with Botulism as Foodborne Zoonoses. *Toxins* (Basel), 2019, 30, 1. doi: 10.3390/toxins12010017.
11. Rawson A.M., Dempster A.W., Humphreys C.M., Minton N.P.: Pathogenicity and virulence of *Clostridium botulinum*. *Virulence*, 2023 , 14, 2205251. doi: 10.1080/21505594.2023.2205251.
12. Relun A., Dorso L., Douart A., Chartier C., Guatteo R., Mazuet C., Popoff M.R., Assié S.: A large outbreak of bovine botulism possibly linked to a massive contamination of grass silage by type D/C *Clostridium botulinum* spores on a farm with dairy and poultry operations. *Epidemiol Infect.*, 2017, 145, 3477–3485. doi: 10.1017/S0950268817002382.
13. Salvarani F.M., Vieira E.V.: Clostridial Infections in Cattle: A Comprehensive Review with Emphasis on Current Data Gaps in Brazil. *Animals* (Basel), 2024, 10. doi: 10.3390/ani14202919.
14. Souillard R., LE Marechal C., Balaine L., Rouxel S., Poezevara T., Ballan V., Chemaly M., LE Bouquin S.: Manure contamination with *Clostridium botulinum* after avian botulism outbreaks: management and potential risk of dissemination. *Vet Rec*, 2020, 19. doi: 10.1136/vr.105898.

