

Paweł J. Zawadzki¹, Bohdan Starościk², Wanda Baltaza^{3,5}, Monika Dybicz⁴,
Krzysztof Pionkowski³, Witold Pawłowski⁵, Małgorzata Kłysz⁶, Lidia Chomicz³

THE THREATS FOR HUMAN HEALTH INDUCED BY FOOD PESTS OF *PLODIA INTERPUNCTELLA* AS RESERVOIRS OF INFECTIOUS MICROBIOTA

ZAGROŻENIA ZDROWIA CZŁOWIEKA INDUKOWANE PRZEZ SZKODNIKI ŻYWNOSCI *PLODIA INTERPUNCTELLA* JAKO REZERWUARY INFEKCYJNYCH MICROBIOTA

¹Medical University of Warsaw, Poland, Clinic of Cranio-Maxillo-Facial and Oral Surgery and Implantology

²Medical University of Warsaw, Poland, Department of Pharmaceutical Microbiology

³Medical University of Warsaw, Poland, Department of Medical Biology

⁴Medical University of Warsaw, Poland, Chair and Department of General Biology and Parasitology

⁵Medical University of Warsaw, Poland, Department of Disaster Medicine

⁶Pedagogical University of Cracow, Poland, Institute of Biology,
Department of Ecology and Environmental Protection

¹Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa, Polska
Klinika Chirurgii Czaszkowo-Szczękowo-Twarzowej, Chirurgii Jamy Ustnej i Implantologii

²Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa, Polska
Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej

³Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa, Polska, Zakład Biologii Medycznej

⁴Warszawski Uniwersytet Medyczny, Polska
Katedra i Zakład Biologii Ogólnej i Parazytologii

⁵Warszawski Uniwersytet Medyczny, Polska, Studium Medycyny Katastrof

⁶Uniwersytet Pedagogiczny, Kraków, Polska
Instytut Biologii, Zakład Ekologii i Ochrony Środowiska

ABSTRACT

INTRODUCTION. World-wide distributed pests of *Plodia interpunctella* occur with increasing frequency also in Poland, in areas where food is prepared and stored, in dwellings, buildings of public use, hospitals. Larvae damage various products causing economic losses. There were no data about microbiota transmission by pests. The aim of our systematic studies firstly conducted in Poland was to explain a role of pests as reservoirs of microbiota and assess health risk induced by them in human environments.

MATERIAL AND METHODS. 300 adults and 200 larvae, collected in households and health facilities by traps and directly from products, were examined by light microscopy, *in vitro* cultivations, molecular techniques; the susceptibility/resistance of microbiota to chemicals was also assessed.

RESULTS. Gram+ bacteriae of genera *Enterococcus*, *Micrococcus*, *Bacillus*, Gram-: *Klebsiella*, *Escherichia*, mold fungi: *Aspergillus*, *Penicillium* and yeast-like fungi were identified, including strains potentially pathogenic for humans.

CONCLUSIONS. In the European Union countries, the food circulation is audited by the law; chemicals are applied to eliminate *P.interpunctella* pests causing economic losses. Our successive studies showed that pyralids may generate health problems as food pests and as reservoirs of microbiota. Sources of the pathogenic, drug-resistant strains revealed by us, not identified earlier, may be particularly dangerous for elder persons, with weakened immune system, persons from groups of high risk of infections. The increased awareness of the problem is necessary for more efficacy of preventive measures. A monitoring of consequences of the health risk induced by the pests may supply data useful for adequate practical approach.

Key words: health threats, *Plodia interpunctella* food pests, reservoirs of microbiota, opportunistic strains

STRESZCZENIE

WSTĘP. Rozpowszechnione w świecie szkodniki żywności z gatunku *Plodia interpunctella* stwierdza się z wzrastającą częstością także w Polsce, w miejscach produkcji i przechowywania żywności, w mieszkaniach, obiektach użyteczności publicznej, szpitalach. Larwy żerują w różnych produktach powodują ich nieprzydatność do spożycia, objawy alergii; straty ekonomiczne obniżane są poprzez kontrolę higieny żywności, usuwanie szkod, zwalczanie chemiczne. Nie było wcześniej danych o przenoszeniu mikroorganizmów przez te szkodniki. Celem systematycznych badań, podjętych w Polsce po raz pierwszy, było poznanie roli omacnic jako rezerwuarów drobnoustrojów oraz ocena ryzyka zdrowotnego, indukowanego przez nie w otoczeniu człowieka.

MATERIAŁ I METODY. 300 form imago *Plodia interpunctella* i 200 larw, zebranych w kuchniach, mieszkaniach i pomieszczeniach szpitalnych, na pułapki i bezpośrednio z żywności oceniono pod względem zawartych w nich microbiota. Prowadzono badania mikroskopowe, hodowle na podłożach, badania molekularne, testy wrażliwości na chemioterapeutyki.

WYNIKI. W larwach i dorosłych omacnicach wykryto bakterie Gram+ z rodzajów *Enterococcus*, *Micrococcus*, *Bacillus*, Gram- *Klebsiella*, *Escherichia*, grzyby pleśniowe oraz drożdżopodobne z grupy *Candida albicans*, szczepy oportunistyczne, potencjalnie patogeniczne dla człowieka.

WNIOSKI. W krajach Unii Europejskiej ochrona żywności przed stadiami rozwojowymi owadów m. innymi z gatunku *P.interpunctella* z powodu strat ekonomicznych realizowana jest w ramach ustawowych. Spożycie żywności zanieczyszczonej przez wylinki i odchody owadów może powodować zaburzenia zdrowia, w tym alergię. W sukcesywnych badaniach własnych wykazaliśmy, że omacnice mogą być również rezerwuarami microbiota. Wykryte przez nas, przedtem nierozpoznane, źródła szczepów chorobotwórczych, w tym lekoopornych, zagrażają szczególnie zdrowiu osób z obniżoną odpornością, starszych, z grup wysokiego ryzyka cięższego przebiegu infekcji. Efektywność profilaktyki wymaga wzrostu świadomości problemu. Monitorowanie zagrożeń zdrowia indywidualnego / publicznego indukowanych przez te szkodniki żywności powinno zwiększyć skuteczność działań prewencyjnych.

Słowa kluczowe: zagrożenia zdrowia, szkodniki żywności *P.interpunctella*, rezerwuary microbiota, szczepy oportunistyczne / patogeniczne dla człowieka.

INTRODUCTION

During the last years, in different regions of world, including Poland dispersion of food pests of *Plodia interpunctella* (Pyralidae) has increased in human environments; the harmful insects were described for the first time in the state of California in United States of America as grain, nut, candy pests (1). The pyralids occur in various areas where food is prepared and stored: in mills, factories producing foodstuffs, storage areas, bakeries, gastronomic enterprises, shops, also in our homes (2-8). These difficult for elimination insects, their excretions and body parts are considered main contaminants of the food and processing industry (2-5, 9,10). The common insects develop in different human environments during all year; adult moths mainly active at evening and night are frequently mistaken with clothing pests. Females can lay eggs several times through the whole season, in all 200-500 eggs, in the vicinity or on products that young larvae will feed. Larvae of *Plodia interpunctella* are considered as the most harmful for stored foodstuffs; these forms contaminate surfaces of products, spin massive amounts of the silk web that accumulate insect feces, egg shells and remnants of damaged foods (4-7).

WSTĘP

W ostatnich latach w wielu rejonach Świata, również w Polsce, zauważalny jest wzrost dyspersji szkodników spożywczych, należących do rodziny omacnicowatych (Pyralidae) - omacnicy spichrzanki *Plodia interpunctella*, po raz pierwszy opisanej w Kalifornii w USA (1) jako szkodnik żywności: zbóż, orzechów, słodczy. Omacnice występują wszędzie, gdzie produkuje się i przechowuje żywność: w młynach, zakładach produkcyjnych, magazynach, piekarniach, sklepach, zakładach gastronomicznych, także w naszych mieszkaniach (2-8). Te trudne do eliminacji owady, ich wydaliny i części ich ciał stanowią główne zanieczyszczenia żywności nieprzetworzonej i przetworzonej (2-5, 9,10). Omacnice, powszechnie występujące szkodniki rozwijają się w ciągu całego roku; formy dorosłe *P.interpunctella* to motyle aktywne zwłaszcza wieczorami i nocą, często mylone z molami odzieżowymi. Samice, po kilkakrotnym złożeniu, łącznie od 200-500 jaj na produkty, którymi odżywiać się będą młode larwy, żyją krótko, do kilkunastu dni. Larwy -gąsienice uznaje się za formy najbardziej szkodliwe dla przechowywania żywności; zanieczyszczają one powierzchnię produktów, przędąc jedwabiste nici, sklejające cząstki żywności z ich odchodami i wylinkami; powstają watawate oprzędę, widoczne w porażonych produktach (4-7).

The larval stages can feed on different types of food: groats, pastas, rice, breakfast cereals, cookies, chocolate, coffee, dried milk, dried fruits, peanuts, spices; also, dry pet food for dogs, cats, birds, fish may also be affected (2-4, 8-11).

The larvae damage stored food products that change flavor and smell, and became useless for consumption; the big amounts of the webs may block tubes in mills (9, 10). Economic losses caused by feeding larvae are many years problem of food industry. In different regions of World searches for effective elimination of the pests are conducted. The first programs introduced in USA have led to eliminate contaminations and to prevent pyralid's dispersion.

Various insecticides and other chemicals were investigated and applied to control *Plodia interpunctella* populations (e.g. acetone vapors against eggs, methoprene, thiamethoxam, imidacloprid against larvae), however, effectiveness of these agents was limited: after use, a resistance to many insecticides has developed (12, 13).

Different control measures were applied to reduce damages caused by pyralid pests in areas where foodstuffs were produced and stored. The systematic inspection of food was undertaken, contaminated products were thrown out to prevent of the pest's dispersion. It has been revealed that the light and temperature influence the pyralid development (3-6, 9, 14-16), e.g. freezing of infested products in temperature -18°C for several days kills insects, however many products can't be frozen. Also, the pyralids are killed when the infested products are maintained at 54°C - 66°C for 24 hours (14, 17).

In the biological control, insecticides containing endotoxins extracted of *Bacillus thuringiensis* spores indicated the limited efficacy as a resistance of pests to the agents developed. In the laboratory conditions, insecticidal efficacy was determined for strains of *Trichogramma* and *Bracon* genera (Hymenoptera) and *Heterorhabditis* nematods (18-20). Recently, nontoxic pheromone traps are useful and commonly applied as the good monitoring tool for early detection and reduction of *P.interpunctella* infestation in areas where food or grain products are stored.

Although insect larvae, their webs and feces are common contaminates of the stored foodstuffs, and adult forms live in human environments also out of food, no systematic investigations were conducted in terms of possible transmission by the pests of microbiota potentially pathogenic for humans.

The intensified dispersion of pyralids observed by us for more than 5 years in households and public use facilities: in social rooms of offices, schools, hospital kitchens, food storage areas, drugstores, pharmacy warehouses inspired us to undertake the

Larwy żerują na różnych produktach: kaszach, makaronach, ryżu, płatkach owsianych, ciastkach, czekoladzie, kawie, mleku w proszku, suszonych owocach, orzechach, przyprawach, suszonych ziołach, także na suchej karmie dla zwierząt: psów, kotów, ptaków, rybek itp. (2-4, 8-11) Szkody są bardzo dotkliwe: produkty spożywcze stają się nieprzydatne do spożycia, w młynach i wytwórniach pasz duża ilość oprzędów może zapychać rury spadowe (9, 10). Straty ekonomiczne, powstałe wskutek żerowania larw, to problem, z którym od lat boryka się przemysł spożywczy.

W różnych krajach Świata poszukuje się skutecznych sposobów eliminacji szkodników. Pierwsze programy, wprowadzane w Stanach Zjednoczonych, skierowane były na likwidację już istniejących zanieczyszczeń oraz zapobieganie rozprzestrzenianiu się omacnic. Badano i stosowano przeciw *P.interpunctella* insektycydy i inne chemiczne substancje, wcześniej wykorzystywane przeciw innym szkodnikom i ich formom rozwojowym: acetonowe pochodne przeciw jajom, methoprene, thiamethoxam, imidacloprid przeciw larwom. Skuteczność tych środków okazała się jednak ograniczona, stwierdzano pojawianie się oporności owadów w stosunku do wielu insektycydów (12, 13).

W celu zmniejszenia szkód powodowanych przez te szkodniki stosowano różne zabiegi w składach żywności i jej przetworów. Dokonywano systematycznej inspekcji żywności, usuwano porażone produkty, stosowano zabiegi higieniczne w pomieszczeniach, produkty przechowywano w zabezpieczonych pojemnikach, stosowano obróbkę termiczną; wykazano, że temperatura i światło wpływają na rozwój omacnic (3-6, 9, 14-16). Mrożenie żywności przez cztery dni w temperaturze -18°C zabija stadia rozwojowe omacnicy, jednak nie wszystkie produkty spożywcze nadają się do zamrażania. Skuteczne okazało się przetrzymywanie zagrożonych przetworów żywności w temperaturze od 54°C do 66°C przez 24 godziny i umieszczenie niewielkich porcji paczkowanej żywności w 66°C na minimum 20 minut (14, 17).

Biologiczne metody z wykorzystaniem w insektycydach owadobójczej aktywności endotoksyn ze spor bakterii środowiskowych *Bacillus thuringiensis* wykazały ograniczoną skuteczność z powodu pojawiania się oporności owadów. Badania laboratoryjne wykazały owadobójcze właściwości błonkówek pasożytniczych z rodzaju *Trichogramma* i *Bracon* oraz nicieni *Heterorhabditis* (18-20). Od kilku lat używane są nietoksyczne feromonowe pułapki stanowiące dobre narzędzie do wykrywania, monitorowania i redukcji szkodników w miejscach, w których produkowana jest i przechowywana żywność.

Mimo powszechnego zanieczyszczania produktów spożywczych przez omacnice, ich wylinki, oprzędy i odchody oraz ich bytowania, szczególnie form imago, w środowisku człowieka poza żywnością, nie było wcześniej danych o przenoszeniu mikroorganizmów przez te szkodniki.

interdisciplinary epidemiological studies on the question in the Department of Medical Biology; students of Scientific Circle participated in the works; a part of the material was compiled as doctor dissertation (21-24). In the studies, the presence of microorganisms in the developmental forms of *P.interpunctella* was revealed thus further investigations have been undertaken. Results of the studies showed that not only economic losses in foodstuffs production can be caused by pyralids, but also the pests can contain microbiota potentially pathogenic for humans (21-24).

In this work we analyze results of our studies on the health risk induced by food pests of *Plodia interpunctella* as reservoirs of microbiota related to disclosure of their potential role in dispersion of infectious microorganisms in human environments.

MATERIAL AND METHODS

The material for this analysis was collected in the household kitchen and adjacent spaces, drugstore, hospital kitchen and adjacent spaces and food storage areas of shops (2014-2016).

Data of 300 form imago *P.interpunctella* collected with use of pheromone traps „E” and „R”, and 200 larvae collected directly from food products in households and public use facilities were assessed.

Homogenates from each insect were examined individually; standard microscopic assessment in direct preparations, microbiological investigations were applied with Gram method and cultivation to detect and identify bacteria and fungi (25, 26). Chapman's plate growth medium for recovery and isolation of *Staphylococci*, and McConkey's medium for detection of *Enterobacteriaceae* were used. To detect mold and yeast - like fungi, Sabouraud medium and Chromagar - *Candida* BBL plates were applied, respectively. Genera and species of microbiota were determined by BioMerieux (France) testes: API 20C Aux, STAPH ID 32, ID 32 GN, API 32 STREP. Prevalence of bacteria and fungi detected in particular sites were assessed and compared. The disc-diffusion methods (standard antibiotic discs Becton-Dicinson BBL, USA) were used to mark a susceptibility/resistance of bacteria and fungi isolated from the *Plodia interpunctella* moths to antimicrobial agents; aminoglycosides (streptomycine, gentamicine), penicillin G, fluorochinolons, macrolides – amphotericin B, nystatin, metronidazole, clotrimazole).

Wyraźnie zauważalna, nasiloną dyspersją szkodników, obserwowana przez nas od ponad 5 lat w pomieszczeniach mieszkalnych i w obiektach użyteczności publicznej: socjalnych pomieszczeniach biur, uczelni stanowiła uzasadnienie podjęcia badań interdyscyplinarnych w aspekcie epidemiologicznym. Prace podjęto w Zakładzie Biologii Medycznej Wydziału Nauki o Zdrowiu WUM; w zbieraniu materiału, jego opracowaniu i popularyzacji wyników uczestniczyli członkowie Koła Naukowego; część materiału ujęto w rozprawie doktorskiej (21-24). Wyniki, uzyskane w tych badaniach nad składem microbiota bytujących w formach rozwojowych *P. interpunctella*, wykazały w nich obecność różnych drobnoustrojów; stanowiły one podstawę dalszych prac nad udziałem tych owadów w rozprzestrzenianiu się mikroorganizmów w otoczeniu człowieka. Rezultaty wykazały, że szkodniki te powodują nie tylko straty ekonomiczne w obrocie żywnością, ale mogą zawierać drobnoustroje potencjalnie chorobotwórcze dla człowieka (21-24).

W pracy analizujemy wyniki naszych badań nad ryzykiem zdrowotnym, indukowanym przez formy rozwojowe *P.interpunctella* jako rezerwuary microbiota w związku z potencjalną rolą tych szkodników w dyspersji czynników infekcyjnych w środowisku człowieka.

MATERIAŁ I METODY

Uwzględniono dane z 300 form imago *P.interpunctella* odłowionych na dostępne w Polsce nietoksyczne pułapki „E” i „R”, nasycone feromonami samic, przyciągającymi samce oraz z 200 larw, zebranych z produktów żywnościowych w mieszkaniach i kilku pomieszczeniach użyteczności publicznej, w tym w aptece i kuchniach szpitalnych.

Homogenaty owadów indywidualnie poddano analizie w celu wykrycia i zidentyfikowania bakterii i grzybów; wykonano badania mikrobiologiczne i mikologiczne; identyfikowano mikroorganizmy z zastosowaniem metody Grama i metod hodowlanych (25, 26). Dokonano izolacji szczepów bakterii z użyciem odpowiednich podłoży wybiórczo-różnicujących: McConkeya dla Gram ujemnych *Enterobacteriaceae*, Chapmana dla bakterii Gram dodatnich z rodzaju *Staphylococcus* oraz podłoży Sabouraud i Chromagar *Candida* BBL w celu wykrycia grzybów pleśniowych i drożdżopodobnych. Wyizolowane mikroorganizmy identyfikowano do rodzajów i gatunków przy użyciu zestawów firmy BioMerieux (Francja): API 20C Aux, STAPH ID 32, ID 32 GN, API 32 STREP. Izolowane ze szkodników bakterie i grzyby oceniano pod względem ich wrażliwości /oporności na różne chemioterapeutyki: aminoglikozydy (streptomycynę, gentamycynę), penicylinę G, fluorochinolony, makrolidy – amphoterycynę B, nystatynę, azole – metronidazol, clotrimazol; zastosowano standardowe krążki Becton-Dicinson BBL (USA).

Table I. List of microbiota isolated from *P.interpunctella* larvae and imago collected in household spaces and public use facilitiesTabela I. Wykaz microbiota wyizolowanych z larw oraz imago *P.interpunctella* zebranych w obiektach mieszkalnych i użyteczności publicznej

Sites /pyralid's stages	Gram positive bacteria strains	Gram negative bacteria strains	mold fungi	yeast-like fungi
(larvae)	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Bacillus sp</i>	Enterobacteriaceae <i>Escherichia coli</i>	<i>Aspergillus niger</i> ; <i>Aspergillus sp.</i>	
household kitchen and adjacent spaces	<i>Enterococcus faecium</i> <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Micrococcus luteus</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Bacillus cereus</i> <i>Bacillus sp.</i>	<i>Enterobacteriaceae</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Aspergillus niger</i> ; <i>A.clavatus</i> <i>A.versicolor</i> <i>A.flavus</i> <i>Aspergillus sp.</i>	<i>Candida albicans</i> <i>C.glabrata</i> <i>Candida sp.</i>
(adults)			<i>Penicilium sp.</i>	
drugstore	<i>Micrococcus luteus</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Bacillus sp.</i>		<i>Aspergillus niger</i> ; <i>Aspergillus sp.</i>	<i>Candida albicans</i> <i>C.glabrata</i> <i>Candida sp</i>
(larvae)	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Bacillus sp.</i>			
hospital kitchen and adjacent spaces	<i>Enterococcus faecalis</i> <i>E.faecium</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Bacillus sp.</i>	<i>Enterobacteriaceae</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Aspergillus niger</i> ; <i>A. flavus</i> <i>Aspergillus sp.</i>	
(adults)				
food storage areas of shops	<i>Enterococcus faecalis</i> <i>Micrococcus luteus</i> <i>Bacillus sp.</i>		<i>Aspergillus niger</i> ; <i>Aspergillus sp.</i>	
(adults)				

For molecular analysis, imago, larvae and washings of these forms served for DNA extraction using commercial kit for DNA isolation from tissue (NucleoSpin, Macherey-Nagel, Düren, Germany). To detect fungi from *Aspergillus* genus, primers designed for ITS1-5.8S rRNA-ITS2 region, were used (27). PCR was carried out in PTC-200 thermal cycler (MJ Research, Waltham, USA) in the following conditions: initial denaturation for 5min at 94°C; 40 cycles of denaturation for 30s at 94°C, annealing for 30s at 50°C, extension for 1min at 72°C. PCR was performed in a volume of 50µl. Reaction mixture consisted of: 1 µl DNA, 10 pM of each primer (Genomed S.A., Warsaw, Poland), 0.2 mM of each dNTP (Qiagen, Hilden, Germany), 2.5mM MgCl₂ (Qiagen, Hilden, Germany) and 1 U Taq DNA polymerase (Qiagen, Hilden, Germany).

Formy imago, larwy oraz próbki z popłuczyn z osobników dorosłych *P.interpunctella* posłużyły do badań molekularnych; izolację DNA wykonano przy użyciu komercyjnego zestawu NucleoSpin, Macherey-Nagel, Düren (Germany). Do wykrycia grzybów z rodzaju *Aspergillus* zastosowano startery zaprojektowane do regionu ITS1-5,8S rRNA-ITS2 (27). PCR przeprowadzono z użyciem termocyklera PTC-200 (MJ Research, Waltham, USA) wg następującego schematu: wstępna denaturacja - 94°C, 5 min.; 40 cykli: denaturacja - 94°C, 30 s; przyłączanie starterów - 50°C, 30 s; wydłużanie - 72°C, 1min.; końcowe wydłużanie - 72°C, 5 min. Skład mieszaniny reakcyjnej (50 µl): 1 µl DNA, 0,1 mM dNTP (Qiagen, Hilden, Germany), 2,5 mM MgCl₂ (Qiagen, Hilden, Germany), 10 pM startera Asper1 i Asper2 (Genomed S.A., Warszawa, Polska), 1,0 U polimerazy Taq (Qiagen, Hilden, Germany).

In the statistical analysis, Pearson Chi² test was applied for comparison of microbiota prevalences from different sites included in the studies.

RESULTS

Different strains of bacteriae and fungi have been detected in larvae and imago forms of *Plodia interpunctella*; the microbiota occurred in pests collected in all sites examined; many of them were identified as potentially pathogenic for humans.

The list of microbota species: Gram positive and Gram negative bacteriae, molds and yeast-like fungi isolated from *P.interpunctella* larvae and imago collected in household spaces and public use facilities is presented in Table I.

Table II. The comparison of microbiota prevalences detected in *P.interpunctella* adults collected in households and public use facilities

Tabela II. Porównanie prevalencji microbiota wykrytych w dorosłych formach *P.interpunctella* zebranych w poszczególnych obiektach mieszkalnych i użyteczności publicznej

Sites	air temperature	number of pests analyzed	microbiota strain	prevalence (%)
household kitchen and adjacent spaces	20 - 25°C	130	<i>Enterococcus faecalis</i>	10.0
			<i>Micrococcus luteus</i>	<u>19.23</u>
			<i>Bacillus subtilis</i>	<u>30.7</u>
			<i>Escherichia coli</i>	4.6
			<i>Klebsiella oxytoca</i>	3.8
			<i>Aspergillus niger</i>	<u>40</u>
			<i>Aspergillus sp</i>	23.0
drugstore	18 - 20°C	40	<i>Micrococcus luteus</i>	<u>7.5</u>
			<i>Bacillus subtilis</i>	25.0
			<i>Aspergillus niger</i> ,	<u>10</u>
			<i>Aspergillus sp</i>	10
hospital kitchen and adjacent spaces	19 - 22°C	50	<i>Enterococcus faecalis</i>	6.25
			<i>Bacillus subtilis</i>	<u>24.0</u>
			<i>Escherichia coli</i>	6
			<i>Klebsiella oxytoca</i>	4
			<i>Aspergillus niger</i>	<u>44</u>
food storage areas of shops	10 - 12°C	80	<i>Enterococcus faecalis</i>	5.0
			<i>Micrococcus luteus</i>	<u>8.75</u>
			<i>Bacillus sp.</i>	12.5
			<i>Aspergillus niger</i> ,	<u>12.5</u>
			<i>Aspergillus sp .</i>	20.0

Statistically significant differences ($p < 0.05$) in prevalences of selected microbiota collected from particular sites have been underlined.

The comparison of prevalences of microbota detected in adults of pests collected in several sites is compiled in Table II. Prevalences and intensity of abundance of bacteriae of *Bacillus* and *Micrococcus* genera, and mold fungi of *Aspergillus* genus were significantly higher in pest populations living in the household and hospital kitchens than in public use

W analizie statystycznej zastosowano test Chi² Pearsona do porównania różnic w prevalencji mikroorganizmów wykrytych w szkodnikach z różnych obiektów objętych badaniami.

WYNIKI

W larwach i formach dorosłych omacnic wykryto różne szczepy bakterii oraz grzybów pleśniowych i drożdżopodobnych. Microbiota te występowały w owadach odłowionych w mieszkaniach, obiektach szpitalnych i w aptecznym magazynie z gotowymi farmaceutykami i substratami do przygotowywania leków. Wiele z nich zidentyfikowano jako szczepy potencjalnie patogiczne dla człowieka.

Wykaz gatunków bakterii Gram dodatnich, Gram ujemnych, grzybów pleśniowych i drożdżopodobnych, wykrytych na/w larwach i dorosłych stadiach *P. interpunctella*, zebranych w różnych obiektach, przedstawiono w Tabeli I.

Porównanie prevalencji microbiota zidentyfikowanych w dorosłych szkodnikach z poszczególnych

facilities, drugstore and food storage of shops; e. g. *Aspergillus niger* strains were identified in 40% of pyralids from the household kitchen population and in 12.5% of pests collected from food storage areas of shops. In Table II, statistically significant differences ($p < 0.05$) in prevalences of these microbiota collected from particular sites have been underlined. The temperature level could be a factor promoting development of pests and influencing a higher number of the moths detected in household and hospital kitchen spaces.

In molecular studies, PCR products were gained from the isolates of: 5 adult moths, 1 larva and 2 washing samples from adults. The fragment of about 600bp was obtained from the isolates of 5 adults, 1 larva and 1 washing sample and is characteristic for a few *Aspergillus* species: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus* i *Aspergillus niger*. The fragment of about 610bp was produced from 1 washing sample and is characteristic for *A. terreus*.

There were drug resistant bacterial and fungal strains in pyralids from all sites examined: *Bacillus cereus* and *Enterococcus faecalis* strains chinolone-resistant were found; also, among *Aspergillus* genera some fungal strains of *A. niger* and *A. flavus* were resistant to anti-fungal drugs: flukonazole, ketokonazole and itrakonazole.

DISCUSSION

In the European Union countries, production and circulation of food as important problem of public health are audited by the law to ensure food safety through safeguard against pollution, leading to economic losses (HACCP System Hazard Analysis and Critical Control Point). Practical aspects of food hygiene have to include the specific activities for foodstuffs safety (28 -30). The surveillance, monitoring and limitation of biological, chemical and physical contaminations in production, distribution and store food are important for reduction of food-born threats for human population health.

Accordingly to literature, food pests not only can contaminate products with their webs and feces, but also cause increase in temperature and humidity in their living areas thus conditions appear favorable for multiplying of microbiota (9, 10). It is evidenced that some sanitary important insects: ants, cockroaches, flies can participate in transmission of microorganisms pathogenic for humans (31-34). Particularly, threats for human health is underlined related to a dispersion of the pests in hospital environments and transmission by them microorganisms – etiological agents of nosocomial infections.

obiektów mieszkalnych i użyteczności publicznej przedstawiono w Tabeli II. Stwierdzono różną częstość występowania szczepów bakterii i grzybów wykrytych w tych obiektach. Prewalencja oraz intensywność zakażenia owadów dorosłych bakteriami z rodzaju *Bacillus* i *Micrococcus luteus* oraz grzybami pleśniowymi z rodzaju *Aspergillus* była wyraźnie wyższa u omacnic pozyskanych ze szpitalnej kuchni i z pomieszczeń kuchennych w mieszkaniach niż z obiektów użyteczności publicznej takich jak apteka i magazyny sklepów z żywnością, w których utrzymywana jest temperatura niższa niż w mieszkaniach.

W Tabeli II podkreślone zostały dane dotyczące statystycznie istotnych ($p < 0.05$) różnic w prewalencji tych microbiota wyizolowanych z omacnic, pozyskanych z poszczególnych pomieszczeń.

W badaniach molekularnych produkt PCR uzyskano z izolatów od 5 osobników imago, larwy i 2 prób popłuczyn z osobników dorosłych. Fragment wielkości ok. 600 par zasad (pz), otrzymany z tych izolatów, jest charakterystyczny dla kilku gatunków z rodzaju *Aspergillus*: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus* i *Aspergillus niger*; fragment około 610pz uzyskany z próby z popłuczyn z imago odpowiada *Aspergillus terreus*.

Zarówno w mieszkaniach jak i obiektach użyteczności publicznej wśród bakterii i grzybów wyizolowanych ze szkodników występowały szczepy odporne na różne chemioterapeutyki. Zidentyfikowano szczepy bakterii *Bacillus cereus* oraz *Enterococcus faecalis* odporne na chinolony; wykryte grzyby z rodzaju *Aspergillus*: *A. niger* i *A. flavus* były odporne na środki przeciwgrzybicze – flukonazol, ketokonazol, flucytozynę oraz itrakonazol.

DYSKUSJA

W krajach Unii Europejskiej w obszarze zdrowia publicznego bezpieczeństwo żywności, jej produkcja oraz obrót żywnością nieprzetworzoną i przetworzoną ustawowo podlegają kontroli. System HACCP (*Hazard Analysis and Critical Control Point*) - Analizy Zagrożeń i Krytycznych Punktów Kontroli jest specyficznie ukierunkowany na bezpieczeństwo zdrowotne żywności (28 -30). W szczególności, wg ustawy z 25 sierpnia 2006r. praktyka higieny żywności powinna obejmować „działania, które muszą być podjęte i warunki higieniczne, które muszą być spełnione na wszystkich etapach produkcji i obrotu żywnością, aby zapewnić bezpieczeństwo żywności”.

Skuteczne prowadzenie nadzoru, monitorowanie i ograniczenie w znacznym stopniu biologicznych, chemicznych i fizycznych zanieczyszczeń przy produkcji, przetwarzaniu, dystrybucji, magazynowaniu żywności i przygotowywaniu gotowych posiłków zmniejszają zagrożenia zdrowia populacji, które mogą być powodowane przez żywność.

Analysis of results of the present studies showed that investigated pyralids may cause not only economic losses in the stored food, but, in public use facilities, hospitals and households the pests may induce threats for human health as reservoirs of microbiota (22, 33).

Among the Gram positive bacteriae, *Bacillus cereus* strains are known as pathogens of humans that may cause food-borne illness and opportunistic infections transmitted by oral rout. Spores of the bacteria can survive cooking procedures, their vegetative cells multiply in products improperly preserved. In humans, the illness of diarrhoeal type, with symptoms appearing from 8-16 h after eating the food contaminated with *B.cereus* and the emetic type, with nausea and vomiting that appear from 1-5 h after ingestion of contaminated products may develop (25).

Enterococcus faecium and *E.faecalis*, Gram positive cocci detected in adult insects may act as an agent of life-threatening opportunistic infections in immunocompromised patients and in elderly persons; some strains of the bacteriae are recognized with increasing frequency in hospital-acquired infections: pneumonia, stomatopathy, nosocomial urinary tract infections (25). The diseases are often difficult for therapy due to drug resistant strains. Gram positive bacteriae of *Micrococcus luteus* living in the human mouth, mucosal linings of the upper pharynx, and respiratory tract usually considered as non-pathogenic saprophytes, in persons with weakened immune system may cause serious pneumonia, septic arthritis, endocarditis, and also infections associated with surgical procedures (25).

In pyralids collected in the same sites, Gram negative bacteria *Escherichia coli* occurred particularly in people with weakened immune system may cause respiratory tract infections, urinary tract infections, severe diarrhea in adults and children, also nosocomial infections and sepsis (25) *Klebsiella oxytoca*. detected in adult pests, human colon symbionts, may infect different tissues and organs; in persons with immunological disability the bacteriae cause serious systemic diseases. Drug resistant strains of the species are found; they are also known as causative agents of hospital-acquired infections (25).

Different strains of yeast-like and mold fungi isolated by us from pyralids are common in human environments. Potentially pathogenic strains of *Candida albicans* group can easy infect various tissues and organs via ingestion, inhalation, and damaged mucosal membranes. The local and systemic candidoses as opportunistic infections may induce lowering of immunological response, treatment complications particularly dangerous for persons of high risk groups, thus infections with these fungi present serious medical problem. Molds of *Penicilium sp.* producing spores are believed to be causative agents

Wg piśmiennictwa, szkodniki żywności nie tylko zanieczyszczają produkty wylinkami, odchodami, ale także powodują wzrost wilgotności oraz temperatury produktów (9,10). Warunki takie sprzyjają namnażaniu mikroorganizmów. Owadzie szkodniki (karaczany, mrówki, muchówki) stwarzają poważne zagrożenie zdrowia w związku z ich udowodnioną rolą w przenoszeniu drobnoustrojów chorobotwórczych dla człowieka (31-34). Szczególnie podkreśla się zagrożenie bezpieczeństwa epidemiologicznego pacjentów generowane przez szkodniki bytujące w środowisku szpitalnym, transmitujące m.innymi mikroorganizmy znane jako czynniki zakażeń zakładowych.

Analiza wyników badań własnych wykazała, że tzw. mole spożywcze—omacnice, oprócz powodowania strat ekonomicznych w produkcji i przechowywaniu żywności, mogą zagrażać ludzkiemu zdrowiu jako rezerwuary drobnoustrojów, bytujące zarówno w obiektach mieszkalnych jak i użyteczności publicznej, w tym w pomieszczeniach związanych ze służbą zdrowia oraz w przestrzeni wokół obiektów szpitalnych (22, 33).

Spśród wykrytych w omacnicach bakterii Gram dodatnich, szczepy *Bacillus cereus* to znane czynniki etiologiczne infekcji oportunistycznych przenoszonych drogą pokarmową; ich spory mogą przeżywać obróbkę termiczną, a komórki wegetatywne namnażają się łatwo w niewłaściwie zabezpieczonych produktach spożywczych. Po spożyciu zanieczyszczonej tymi bakteriami produktów w ciągu kilku godzin wystąpić mogą mdłości, wymioty oraz biegunka (25).

Wykryte w dorosłych owadach *Enterococcus faecium* i *E.faecalis* to oportunistyczne paciorkowce kałowe, ujawniające patogeniczność w zakażeniach pozajelitowych, szczególnie groźnych dla osób z obniżoną odpornością, w podeszłym wieku; mogą powodować ropnie, zakażenia okołozabiegowe, stomatopatie, zakażenia układowe; wykazują wzrostowy trend prewalencji w zakażeniach szpitalnych. Infekcje te są trudne terapeutycznie ze względu na występowanie szczepów lekoopornych (25). Gram dodatnie mikrokokki *Micrococcus luteus*, saprofity, które bytują na ludzkiej skórze i błonach śluzowych, u osób z upośledzeniem odporności powodują zakażenia oportunistyczne: stany zapalne płuc, stawów, wsierdza, również związane z procedurą zabiegową (25).

W omacnicach z pomieszczeń kuchennych mieszkań i szpitala wykryte zostały pałeczki *Escherichia coli*. Bakterie te bytują jako symbionty w jelicie człowieka; różne ich szczepy są powszechne w środowisku, w tym szczególnie groźne szczepy lekooporne; u osób z obniżoną odpornością mogą one powodować ciężkie biegunki, zakażenia układowe; są one częstą przyczyną zakażeń szpitalnych i posocznicy (25). W szkodnikach z tych samych pomieszczeń wykryto

of non-food allergies which intensity of symptoms is connected with changes in the spore production; the severity of the disease depends on the immunological status of infected individuals (26,35).

A high prevalence of pyralids contaminated with *Aspergillus niger* molds was observed in all sites assessed by us. Spores and mycotoxins (aflatoxines, ochratoxines) produced by *Aspergillus* strains may cause serious health risk for humans (26, 35, 36). The mold conidia that may be inhaled from air, dust and water droplets are recorded as the causative agents of serious pulmonary human infections, and even asthma. In persons with severe compromised host defense, belonging to high risk group, an invasive aspergillosis may develop that is recorded as an multiorgan opportunistic disease. Particularly, high density human populations living in difficult socio-economic and sanitary-hygienic circumstances, also people of some occupational groups are at risk of the infections (25, 35,36). Additionally, it should be underlined that a resistant to some anti-fungal azoles revealed for *A.niger* strains detected by us in *P. interpunctella* may be a factor influencing poor treatment efficacy (33,35).

The controlling standards of foodstuffs produce and storage (System HACCP) are the greatest importance and should be high practiced in factories producing foodstuffs, storage areas, bakeries, gastronomic enterprises for avoidance of the pyralids dispersion in our homes and public use facilities (28-30).

CONCLUSIONS

Results of our analysis show that developmental stages of *P.interpunctella* insects contaminating foodstuffs not only damage stored food products and cause economic losses but may induce the serious threat for human health as reservoirs / sources of infectious microbiota including opportunistic species. It should be taken into consideration that they may also act as active mechanical vectors for pathogenic and allergenic bacterial and fungal strains, and for causative agents of nosocomial infections.

The participation of pyralids in the dispersion of microbiota, frequently drug-resistant, in the public sphere may result not only in direct contamination of food products but also in spread of the microorganisms in air, dust, water droplets in household, public use facility and hospital environments. For this reason, particularly persons with weakened immune system, hospitalized patients, and also people of some occupational groups: personnel of the food production, storage and service, workers in alimentary industries, hospital staff may be at risk of development of infectious diseases. The maintenance of low air temperature and proper humidity in food storage areas in homes, public use facilities, health services, are important preventive

Gram ujemne bakterie *Klebsiella oxytoca*. Infekcje różnych tkanek i narządów, powodowane przez te bakterie, stanowiące składniki microbiota jelita grubego człowieka, w warunkach obniżenia odporności mogą powodować choroby układowe i uogólnione o ciężkim przebiegu; bakterie te są znanymi czynnikami zakażeń wewnątrzszpitalnych, szczególnie groźnych z powodu coraz większej liczby szczepów lekoopornych (25).

Szczepy wykrytych w omacnicach grzybów drożdżopodobnych i pleśniowych są rozpowszechnione w środowisku człowieka. Często dochodzi do zakażenia drożdżakami z rodzaju *Candida* za pośrednictwem przedmiotów, z zanieczyszczoną żywnością, nierzadkie są zakażenia około zabiegowe, wtórne. Następstwem takiej infekcji może być kandydoza narządowa, stanowiąca poważny problem medyczny szczególnie u osób z zaburzeniami odporności. Zakażenie grzybami *Penicillium* spp. może powodować infekcje oportunistyczne, głębokie grzybice skóry, śluzówek, narządów wewnętrznych oraz poważne objawy alergiczne (26, 35).

Spory oraz mikotoksyny (aflatoksyny, ochratoxyny) grzybów z rodzaju *Aspergillus* mogą stanowić przyczynę poważnych zaburzeń ludzkiego zdrowia (26, 35, 36). Zakażenia nimi drogą wziewną mogą powodować zapalenia płuc o ostrym przebiegu. Do grupy wysokiego ryzyka ciężkiego przebiegu infekcji, wywoływanych przez oportunistyczne szczepy *A. niger* należą m. innymi osoby starsze, z upośledzoną odpornością, leczone cytostatykami, immunosupresyjnie po transplantacji narządów, u których aspergilloza może rozwijać się jako wielonarządowa infekcja oportunistyczna. Szczególnie narażone mogą być populacje ludzkie o wysokim zagęszczeniu, znajdujące się w trudnych warunkach sanitarno-higienicznych i socjalno-ekonomicznych oraz osoby z grup zawodowo związanych z produkcją żywności (25, 35, 36). Należy podkreślić, że skuteczność postępowania terapeutycznego może dodatkowo utrudniać lekooporność szczepów grzybów, stwierdzona również w badaniach własnych nad udziałem synantropijnych stawonogów w dyspersji oportunistycznych microbiota wewnątrz pomieszczeń szpitalnych oraz w ich otoczeniu (33,35).

Tym większego znaczenia w procesie przygotowywania i w obrocie żywności nabiera przestrzeganie wysokich standardów higienicznych produkcji i magazynowania, zwłaszcza w punktach żywienia zbiorowego, magazynach, sklepach, aptekach, szpitalach. Mimo to zdarza się, że szkodniki dostają się do gotowych, zapakowanych produktów. Bardzo ważne jest przestrzeganie przez producentów i dystrybutorów żywności prewencyjnego Systemu HACCP, ukierunkowanego na zapewnienie bezpieczeństwa zdrowotnego i wysokiej jakości produktów spożywczych poprzez systematyczną kontrolę punktów zagrożeń, zabezpieczenie przed zanieczyszczeniami oraz kontrolę skuteczności wdrożonych działań (28-30).

measures decreasing risk of the food pest development and spread of microbiota; the use of pheromone traps is hopeful in removing pyralids from a human space.

Threats for individual and public human health generated by *P. interpunctella* food pests as sources of infectious microbiota should be taken into account, and the observance sanitary and controlling standards applied in food produce and storage is of great importance. Therefore, the educational efforts are desirable for the better understanding of serious medical problems that may be induced by the pyralids and by potentially pathogenic microbiota spread by the pests.

REFERENCES

1. Hamlin JC, Reed WD, Phillips ME. Biology of the Indianmeal moth on dried fruits in California. USDA Technical Bulletin 1931;242:27.
2. Ignatowicz S. Wykrywanie szkodników magazynowych w przechowywanym zbożu i produktach jego przemiału. Zastosowanie pułapek z feromonami płciowymi i atraktantami pokarmowymi. Przegl Zboż-Młyn 1998;8:33–35.
3. Rees D. Insects of Stored Products. Australia, Collingwood, CSIRO Publishing, 2004.
4. Mason LJ. Indianmeal moth *Plodia interpunctella* (Hübner). Purdue University, Department of Entomology. Grain Insect Fact Sheet 2003;E-223-W.
5. Mohandass S, Arthur FH, Zhu KY et al. Biology and management of *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae) in stored products. J Stored Prod Res 2007;43:302–311.
6. Fasulo TR, Knox MA. Indian meal moth, *Plodia interpunctella* (Hübner). University of Florida IFAS Extension, 2007;EENY-026.
7. Cranshaw WS. Home & Garden - Indian Meal Moth. Colorado State University Extension 2008;5:598.
8. Olejarski P, Ignatowicz S. Szkodniki magazynowe w produktach spożywczych. Prog Plant Prot 2010;50:600–604.
9. Siemińska E. Szkodliwe motyle: Omacnica spichrzanka - *Plodia interpunctella*. 2010, <http://www.omacnica-spichrzanka.carsekt.eu>.
10. Sady E. Latajaca sublokatorka - *Plodia interpunctella*. 2014, http://www.szkodniki.waw.pl/omacnica-spichrzanka_latajaca-sublokatorka.php.
11. Beckemeyer EF, Shirk PD. Development of the larval ovary in the moth, *Plodia interpunctella*. J Insect Physiol 2004;50:1045–1051.
12. Pourmirza AA, Nasab FS, Zadeh AH. Evaluation of acetone vapors toxicity on *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) eggs. Pak J Biol Sci 2007;10:2442–2447.
13. Yue B, Wilde GE, Arthur FH. Evaluation of thiamethoxam and imidacloprid as seed treatments to control European corn borer and Indian meal moth

WNIOSKI

Analiza wyników i naszych badań wskazuje, że formy rozwojowe tzw moli spożywczych *Plodia interpunctella*, zanieczyszczając żywność, nie tylko powodują straty ekonomiczne, ale zagrażają ludzkiemu zdrowiu jako rezerwuary szczepów oportunistycznych i alergogennych. Nie można także wykluczyć roli omacnic jako mechanicznych wektorów mikroorganizmów, potencjalnych czynników infekcji oportunistycznych. Dyspersja tych drobnoustrojów, często wielolekoopornych w strefie publicznej jest szczególnie groźna dla osób z obniżoną odpornością, z narastających liczebnie grup podwyższonego ryzyka ciężkiego przebiegu zakażeń.

Niezwykle istotne dla ograniczenia dyspersji tych szkodników spożywczych do naszych mieszkań i obiektów użyteczności publicznej są działania o charakterze profilaktycznym: utrzymywanie niższej temperatury i umiarkowanej wilgotności pomieszczeń, w których są magazynowane produkty spożywcze, przechowywanie ich w szklanych lub metalowych pojemnikach. Niedopuszczenie do rozprzestrzeniania się omacnic m. innymi w przestrzeni wewnątrz szpitalnej może być realizowane przez zastosowanie pułapek feromonowych, które nie tylko umożliwiają detekcję szkodników, ale stanowią metodę ich usuwania.

Działania prewencyjno-kontrolne związane były dotąd głównie ze świadomością ekonomicznych skutków dyspersji szkodników. Zagrożenia ludzkiego zdrowia, które mogą generować szkodniki żywności omacnice *Plodia interpunctella* ponieważ są rezerwuarami potencjalnie patogenicznych microbiota, stanowią wcześniej nie uwzględniane aspekty indywidualnego i publicznego ryzyka zdrowotnego.

Uważamy za niezbędne podjęcie działań edukacyjnych w celu propagowania wiedzy, dotyczącej ocenionych przez nas zagrożeń zdrowia publicznego. Niezmiernie ważne jest przestrzeganie standardów sanitarnych w produkcji i w przechowywaniu żywności oraz w zapobieganiu/ minimalizowaniu / eliminowaniu dyspersji w środowisku człowieka różnych form rozwojowych omacnicy spichrzanki, szkodników, będących źródłem microbiota potencjalnie patogenicznych dla człowieka.

- larvae. J Econ Entomol 2003;96:503–509.
14. Johnson JA, Wofford PL, Whitehand LC. Effect of diet and temperature on development rates, survival and reproduction of the Indian meal moth (Lepidoptera: Pyralidae). J Econ Entomol 1992;85:561–566.
15. Sambaraju KR, Phillips TW. Responses of adult *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) to light and combinations of attractants and light. J Insect Behav 2008;21:422–439.
16. Ignatowicz S. Zapobieganie występowaniu omacnicy spichrzanki i mklików w magazynach paszowych. Ogólnopolski Informator Drobiarski 2011;4:26–34.

17. Mahroof R, Subramanyam BH. Susceptibility of *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae) developmental stages to high temperatures used during structural heat treatments. *Bull Entomol Res* 2006;96:539–545.
18. Salama HS, El-Moursy A, Aboul-Ela R et al. Potency of different varieties of *Bacillus thuringiensis* (Berl.) against some lepidopterous stored product pests. *J Appl Entomol* 1991;112:19–26.
19. Mbata GN, Shapiro-Ilan DI. Laboratory evaluation of virulence of heterorhabditid nematodes to *Plodia interpunctella* Hübner (Lepidoptera: Pyralidae). *Environ Entomol* 2005;34:676–682.
20. Grieshop MJ, Flinn PW, Nechols JR et al. Host-foraging success of three species of *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in a simulated retail environment. *J Econ Entomol* 2007;100:91–98.
21. Chomicz L, Starościak B, Chruścikowska A et al. Microorganisms transmitted by pests from genus *Plodia* (Insecta: Lepidoptera, Pyralidae) as a risk for human health. In: Buczek A, Błaszak C (eds.). *Arthropods. Human and animal parasites*. Lublin, Akapit, 2011;157–165.
22. Chomicz L, Chruścikowska A, Starościak B et al. *Plodia interpunctella* (Arthropoda: Insecta) as a risk factor for spread of opportunistic/ pathogenic microorganisms in different areas of human environment. In: Buczek A, Błaszak C (eds.). *Arthropods The medical and veterinary aspects*. Lublin, Koliber, 2013;85–92.
23. Chruścikowska A, Chomicz L, Starościak B et al. The infestation of selected household areas in Poland with pyralid pests, health risk factors as reservoirs/vectors for human pathogens. In: Buczek A, Błaszak C. (eds.). *Arthropods. Threat to human and animal health*. Lublin, Koliber, 2014;359–368.
24. Chruścikowska A. Ocena zagrożeń ludzkiego zdrowia generowanych przez szkodniki żywności *Plodia interpunctella* w pomieszczeniach mieszkalnych i użyteczności publicznej. Doctoral dissertation. Department of Medical Biology, Medical University of Warsaw. Warsaw, 2015.
25. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH et al. *Manual of clinical microbiology*. 9th edition. Washington, USA, ASM Press 2007;390–473,1721–1838.
26. Krzysiak P., Skóra M., Macura A.B. Atlas grzybów chorobotwórczych człowieka. *Med Pharm Polska* 2011;1-342.
27. White T, Burns T, Lee S, Taylor J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics, In M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, and T. J. White (ed.), *PCR protocols. A guide to methods and applications*. Academic Press, Inc., San Diego, California, 1990;315–322.
28. Turlejska H. Zasady GMP/GHP oraz system HACCP jako narzędzia zapewnienia bezpieczeństwa zdrowotnego żywności. Warszawa, FAPA, 2003.
29. Ustawa z dnia 25 sierpnia 2006 r. o Bezpieczeństwie żywności i żywienia, Dz.1, Art. 3.
30. Kłyś M. Various aspects of the harmful impact of arthropod pests on stored cereal grain and food products. In: Buczek A, Błaszak C (eds.) *Arthropods. The medical and veterinary aspects*. Lublin, Koliber, 2013;73–81.
31. Mikulak E, Gliniewicz A, Myślewicz J et al. Microorganism carried by insects in hospital environment. In: Buczek A, Błaszak C (eds.) *Arthropods. Threat to human and animal health*. Lublin, Koliber, 2014;369–378.
32. Stypułkowska-Misiurewicz H, Pancer KW, Gliniewicz A et al. Synantropijne karaczany (*Blattella germanica* L.) w środowisku szpitalnym - narażenie mikrobiologiczne pacjentów i oszacowanie ryzyka zakażeń szpitalnych. *Przeegl Epidemiol* 2006;60:609-616.
33. Zawadzki P, Starościak B, Dybicz M et al. Opportunistic strains - risk factors of infections in humans - detected in synanthropic arthropods occurring inside and in vicinity of health facilities. In: Buczek A., Błaszak C (eds.). *Arthropods. Interrelationships in the host-ectoparasite-pathogen system*. Lublin, Koliber, 2016;89–96.
34. Wodzisławska-Czapla D, Mendera-Bożek U, Solarz K. Monitoring obecności stawonogów w placówkach leczniczych jako narzędzie pracy zespołu ds. zakażeń zakładowych na wybranym przykładzie z województwa śląskiego. In: Buczek A., Błaszak C (eds.). *Arthropods. Interrelationships in the host-ectoparasite-pathogen system*. Lublin, Koliber, 2016;51–58.
35. Palmas F, Consentino S, Cardia P. Fungal airborne spores as health risk factors among workers in alimentary industries. *Europ J Epidemiol* 1989;5:239-243.
36. Dutkiewicz J., Górny R.L. Biologiczne czynniki szkodliwe dla zdrowia –klasyfikacja i kryteria oceny narażenia. *Medycyna Pracy* 2002;53:29-39.

Received: 21.07.2016

Accepted for publication: 2.11.2016

Otrzymano: 21.07.2016

Zaakceptowane do druku: 2.11.2016 r.

Address for correspondence:

Adres do korespondencji:

Lidia Chomicz, Zakład Biologii Medycznej WUM,

Wydział Nauki o Zdrowiu,

02-018 Warszawa, Nowogrodzka 73

e-mail: lidia.chomicz@wum.edu.pl