

Krzysztof Skowron^{1*}, Justyna Bauza-Kaszewska², Agnieszka Kaczmarek¹,
Anna Budzyńska¹, Eugenia Gospodarek¹

¹Katedra i Zakład Mikrobiologii, Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy
Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu

²Katedra Mikrobiologii i Technologii Żywności,
Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy im. J.J. Śniadeckich w Bydgoszczy

Wpłynęło w marcu 2014 r.

1. Wstęp. 2. Mikroflora gnojowicy. 3. Możliwości mikrobiologicznej kontaminacji środowiska. 4. Problem antybiotykooporności wśród szczepów z produkcji zwierzęcej. 5. Metody higienizacji gnojowicy na cele rolnicze. 6. Podsumowanie

Microbiological aspects of slurry management

Abstract: The animal manure may be a source of many pathogenic microorganisms, including *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* or *Campylobacter* spp. The agricultural utilization of slurry poses a serious threat related to the transfer of pathogens to the environment. Some of the bacterial strains are antibiotic-resistant and their resistance genes can be transferred horizontally to the soil microflora. In order to avoid the pathogens' transmission into the environment, different methods of slurry disinfection are necessary. Biological treatment seems to be the most common technique of slurry hygienization. Storage, anaerobic digestion, aeration or composting may result in effective reduction of pathogen level and guarantee biosafety of slurry application as soil fertilizer. Physical and chemical methods are not commonly used due to their reduced effectiveness in slurry decontamination and relatively high costs.

1. Introduction. 2. Microflora of slurry 3. The possibility of microbial contamination of the environment. 4. The problem of antibiotic resistance of strains from animal production. 5. Methods of slurry hygienization for agricultural purposes. 6. Summary

Słowa kluczowe: gnojowica, metody higienizacji, mikroflora gnojowicy, przeżywalność drobnoustrojów

Key words: slurry, hygienization methods, microflora of slurry, survival of microorganisms

1. Wstęp

Gnojowica to mieszanina kału i moczu zwierząt gospodarskich z wodą, wykorzystywana w rolnictwie jako nawóz naturalny pod rośliny uprawne [86, 96]. Zawiera od 8 do 10 % suchej masy, a jej skład chemiczny zależy od wielu czynników – przede wszystkim gatunku zwierząt, od których jest pozyskiwana, ale również ich wieku czy sposobu żywienia. Średnia zawartość azotu w gnojowicy wynosi – 0,2–0,35%, potasu 0,2–0,3%, natomiast fosforu tylko 0,05 – 0,1%. Dostępność składników zawartych w gnojowicy dla roślin jest wyższa niż w przypadku obornika. Duża zawartość azotu rozpuszczalnego w wodzie (około 50%) powoduje, że gnojowica uważana jest za nawóz szybko działający [29, 50].

Rolnicze wykorzystanie płynnych odchodów zwierzęcych do celów nawozowych jest najczęstszą formą ich zagospodarowania. W przypadku niedoboru gruntów, na których możliwe jest rozlewanie gnojowicy, należy ją transportować i stosować na innych, często odległych polach lub użytkach zielonych. Najczęściej jednak w takiej sytuacji rolnicy decydują się na przekraczanie dopuszczalnych dawek nawozowych i rozlewają całą wytworzoną gnojowicę we własnym gospodarstwie, bez względu na jego areał [101]. Jest to sytuacja bardzo niebezpieczna, zarówno z sanitarnego,

jak i ekologicznego punktu widzenia. Gnojowica jest bogata w pierwiastki biogenne, które trafiając do wód powierzchniowych i gruntowych, powodują ich przeżyźnienie i prowadzą do eutrofizacji zbiorników wodnych [99, 101]. Rozlewanie gnojowicy wiąże się także ze znaczną uciążliwością zapachową wynikającą z obecności w niej kwasów organicznych, amoniaku, fenoli, amin i innych związków lotnych [18].

Zagospodarowanie gnojowicy do celów rolniczych jest również limitowane przez szereg przepisów prawnych. Zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 16 kwietnia 2008 r. w sprawie szczegółowego sposobu stosowania nawozów oraz prowadzenia szkoleń z zakresu ich stosowania (Dz.U. 2008 nr 80 poz. 479) [83] i Rozporządzeniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 18 czerwca 2008 r. w sprawie wykonania niektórych przepisów ustawy o nawozach i nawożeniu (Dz.U. 2008 nr 119 poz. 765) [84] gnojowicę można stosować w okresie od 1 marca do 30 listopada. Wyjątek stanowi nawożenie roślin uprawianych w szklarniach, inspektach i namiotach foliowych. Gnojowicę rozlaną na pola należy wymieszać z glebą najpóźniej następnego dnia po jej zastosowaniu, oprócz jej wykorzystania w lasach i na użytkach zielonych. Gnojowicy nie wolno stosować na terenach położonych bliżej niż 20 m od strefy ochrony źródeł

* Autor korespondencyjny: Katedra i Zakład Mikrobiologii, Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, ul. M. Skłodowskiej-Curie 9, 85-094 Bydgoszcz; e-mail: krzysztof.skowron@cm.umk.pl

wody, ujęć wody, brzegu zbiorników i cieków wodnych, kąpielisk oraz obszarów morskiego pasa nadbrzeżnego. Nawóz ten można stosować na glebę, gdy poziom wody podziemnej znajduje się poniżej 1,2 m oraz na terenach poza obszarami płytkiego występowania skał szczelinowych [82]. Ustawa o nawozach i nawożeniu [97] zabrania stosowania gnojowicy na glebach zalanych wodą, przykrytych śniegiem, zamrzniętych do głębokości 30 cm, a także podczas opadów deszczu. W myśl Ustawy [97] niedopuszczalne jest nawożenie gnojowicą gleb pozbawionych okrywy roślinnej, położonych na stokach o nachyleniu większym niż 10% oraz stosowanie tego nawozu podczas wegetacji roślin przeznaczonych do bezpośredniej konsumpcji przez ludzi. Przepisy ustalają maksymalną roczną dawkę gnojowicy na poziomie, który gwarantuje wprowadzenie do gleby nie więcej niż 170 kg azotu w czystym składniku na hektar [22, 43, 82, 97]. Według KDPR [43] dawki gnojowicy powinny być ściśle dostosowane do rzeczywistego zapotrzebowania roślin na składniki pokarmowe. Roczna dawka gnojowicy nie powinna przekraczać 45 m³/ha. W przypadku gruntów ornych jej wielkość ustala się w oparciu o zawartość azotu w glebie, natomiast na użytkach zielonych pierwiastkiem determinującym jest potas [37, 51, 54, 55].

2. Mikroflora gnojowicy

W skład mikroflory gnojowicy wchodzi wirusy, bakterie, grzyby oraz pasożyty.

Wirusy, stanowiące jej składnik o szczególnym znaczeniu epidemiologicznym i epizootycznym, dostają się do gnojowicy przede wszystkim wraz z kałem zwierząt [71, 91]. W gnojowicy bydłowej dominują enterowirusy, parwowirusy, adenowirusy, reowirusy i rinowirusy [91]. Stwierdzenie obecności i przeżywalności wirusów w gnojowicy jest zagadnieniem bardzo złożonym. Enterowirus bydła jest bardzo wrażliwy na temperaturę magazynowania gnojowicy. W próbach tego nawozu przechowywanych w temperaturze 4°C wirus ten przeżywa nawet do 167 tygodni, a jego tygodniowe tempo eliminacji wynosi 0,03 log. Wzrost temperatury, w której składowana jest gnojowica do 20°C powoduje, że czas przeżycia enterowirusa bydła maleje do 8 tygodni, a jego tygodniowe tempo eliminacji wzrasta do wartości 0,65 log [68]. W gnojowicy stwierdza się także wirusy choroby Aujeszky, przeżywające 3–15 tygodni, wirusy choroby Borna – około 22 dni, wirusy choroby Mareka – około 7 dni, wirusy choroby cieszyńskiej – 3–25 dni, wirusy afrykańskiego pomoru świń – 6–160 dni oraz wirusy pryszczycy – 21–103 dni [91].

Bakterie są dominującym składnikiem w zespole organizmów zasiedlających gnojowicę. Obecne są tu zarówno bakterie saprofityczne, jak i chorobotwór-

cze [68]. Ogólna liczba bakterii tlenowych i względnie beztlenowych wynosi 10⁹–10¹⁰ jednostek tworzących kolonie (j.t.k.) w 1 cm³ gnojowicy [71]. W gnojowicy pochodzącej od zdrowego stada dominuje naturalna mikroflora jelitowa, cechująca się umiarkowaną lub znikomą zjadliwością [76]. W jej skład wchodzi zarówno drobnoustroje typowe dla gnojówki, jak i dla obornika [93]. Drobnoustroje typowe dla gnojówki są reprezentowane przez bakterie mocznikowe, spełniające funkcję amonifikatorów oraz inne bakterie wytwarzające ureazę, takie jak: *Pseudomonas fluorescens*, *Proteus vulgaris* czy *Azotobacter* spp. [93]. Obecne są także drobnoustroje mineralizujące kwas benzoowy, fenol i benzen (np. *Brevibacterium helvolum*) oraz rozkładające kwas moczowy (np. *Pseudomonas aeruginosa*) [93]. Dominującą rolę odgrywają jednak drobnoustroje wnoszone do gnojowicy wraz z kałem. Bakteriami najczęściej izolowanymi z gnojowicy są pałeczki z rodziny *Enterobacteriaceae* oraz enterokoki [71]. Dominującą rolę ma gatunek *Escherichia coli* występujący w liczbie 10⁵–10⁶ j.t.k. × cm⁻³ oraz pałeczki z rodzaju *Salmonella*, obecne w liczbie 10² j.t.k. × cm⁻³ [68, 71]. W gnojowicy może występować każdy drobnoustrój, który wraz z odchodami został wydalony z organizmu zwierzęcia. Z tego względu w nawozie tym stwierdza się sporadycznie *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* oraz bakterie z rodzaju *Campylobacter*. Czas przeżycia tych drobnoustrojów w gnojowicy jest zbliżony do ich przeżywalności w wodzie gnojowej i w nieznacznym stopniu zależy od temperatury. Pałeczki *Y. enterocolitica* są izolowane z gnojowicy przez około 10 dni, a bakterie z rodzaju *Campylobacter* przez 3 dni [27].

Gnojowica pochodząca od stad, w których występują zwierzęta chore lub nosiciele jest istotnym źródłem szerzenia się zoonoz i epizootii [91]. Lista bakterii, których pojawienie się w gnojowicy może stanowić poważne zagrożenie dla ludzi i zwierząt w warunkach europejskich, obejmuje: *Brucella* spp., *Chlamydia* spp., *E. coli* (enteropatogenne szczepy odporne na antybiotyki), *Leptospira* spp., *Rickettsia* spp., *Salmonella* spp., *Treponema hyodysenteriae*, *Bacillus anthracis*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Mycobacterium* spp. (m.in. *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. avium* complex). Ich obecność i liczba uzależniona jest od czynników środowiskowych, gatunku zwierząt, od których pochodzi gnojowica oraz jej fizykochemicznych właściwości i składu [91].

Wśród grzybów zasiedlających gnojowicę dominują drożdżopodobne, natomiast grzyby pleśniowe są mniej liczne i reprezentowane głównie przez rodzaje: *Mucor*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Botryotrichum*. Stosunkowo rzadko w gnojowicy stwierdza się grzyby patogenne [91].

Negatywną rolę odgrywa również obecność w gnojowicy pasożytów w oraz ich jaj i oocyst [71]. Organizmy te są przyczyną rozprzestrzeniania się chorób inwazyjnych [68]. W gnojowicy pochodzącej od bydła

stwierdza się najczęściej znaczną ilość oocyst pierwotniaków z rodzaju *Trichostrongylus*, których larwy charakteryzują się najdłuższą przeżywalnością wśród pasożytów, dochodzącą nawet do 92 dni. Jaja pierwotniaków *Trichostrongylus colubriformis* oraz *Cooperia punctata* przeżywają w gnojowicy magazynowanej w temperaturze 8°C przez 64 dni, natomiast w temperaturze 18°C – 26 dni. Larwy tych pierwotniaków, w zależności od stadium rozwoju, przeżywają w gnojowicy przechowywanej w temperaturze 8°C od 4 do 76 dni, a w temperaturze 18°C od 4 do 37 dni [91]. Dość powszechnie występują w gnojowicy jaja bardzo odpornej na czynniki środowiskowe motylicy wątrobowej (*Fasciola hepatica*). W nawozie tym spotyka się także jaja i larwy robaków z rodzaju *Strongyloides* oraz larwy z rodzaju *Dictyocaulus*, które charakteryzują się wysoką wrażliwością na czynniki środowiskowe. W gnojowicy odnotowuje się również obecność robaków z rodzaju *Dicrocoelium* i *Moniezia*, które w rozwoju osobniczym wymagają żywicieli pośrednich. Bardzo rzadko wykazywana jest niezwykle odporna na niesprzyjające warunki środowiska *Toxocara vitulorum*. W gnojowicy świńskiej występują pierwotniaki z rodzaju *Eimeria* i *Balantidium* oraz robaki z rodzaju *Ascaris* i ich jaja, a także robaki *Oesophagostomum* spp. Jaja glist w gnojowicy składowanej w temperaturze 8°C zachowują inwazyjność przez 75–85 dni, natomiast w temperaturze 18–26°C przeżywają przez około 28 dni. Z kolei dojrzałe człony tasiemca uzbrojonego przeżywają w gnojowicy świńskiej w temperaturze 8°C przez 76 dni [54, 55, 91].

Spśród stawonogów w gnojowicy bydłowej występują przedstawiciele rodzajów: *Psoroptes*, *Chorioptes* i *Sarcoptes* [91]. Znaczącą rolę odgrywają także pierwotniaki z rodzaju *Giardia* oraz *Cryptosporidium*, wykazujące częściową odporność na procesy higienizacji gnojowicy [68].

3. Możliwość mikrobiologicznej kontaminacji środowiska

Ogromne ilości odchodów produkowane przez zwierzęta gospodarskie, po wprowadzeniu do gleby stwarzają potencjalne ryzyko szerzenia się licznych chorób wirusowych, bakteryjnych i pasożytniczych [14]. Obligatoryjne i fakultatywne patogeny obecne w gnojowicy mogą rozprzestrzeniać się w środowisku glebowym i wodnym [68, 91] oraz przez długi czas zachowywać zakaźność [92]. Spśród znanych bakterii patogennych, aż 39,4% stanowią drobnoustroje zdolne do przenoszenia się zarówno pomiędzy zwierzętami, jak i ze zwierząt na ludzi [17]. Patogeny te znacznie częściej rozprzestrzeniają się drogami pośrednimi (np. wraz z gnojowicą) niż na skutek bezpośredniego kontaktu. Nawozowe wykorzystanie niehigienizowanej

gnojowicy jest głównym źródłem szerzenia się zakażeń na fermach i przenikania patogenów do łańcucha pokarmowego ludzi, szczególnie w przypadku, gdy na nawożonych gruntach uprawiane są rośliny przeznaczone do bezpośredniej konsumpcji lub na pastwiskach bezpośrednio przed wypasem [27, 38].

Zagrożenie stwarza również wykorzystanie do nawadniania upraw wody, do której trafiły patogeny z gnojowicy [27]. Skażeniu ulegają najczęściej warzywa korzeniowe lub te, których części jadalne mają kontakt z glebą, np. sałata. Znane są przypadki zachorowań po spożyciu sałaty kontaminowanej pałeczkami *E. coli* O157:H7 [65]. Ryzyko takie dotyczy także owoców, które spadają na ziemię, a następnie są zbierane i spożywane lub przetwarzane bez obróbki cieplnej [8]. Rolnicze zagospodarowanie gnojowicy zawierającej patogeny, stwarza nie tylko ryzyko zachorowań wśród ludzi, ale może też prowadzić do wymiernych strat ekonomicznych na skutek chorób i upadków inwentarza [5].

4. Problem antybiotykooporności wśród szczepów pochodzących z produkcji zwierzęcej

Ryzyko związane z nawozowym wykorzystaniem nieodpowiednio przetworzonej gnojowicy dotyczy nie tylko skażenia środowiska przez drobnoustroje chorobotwórcze. Istotnym zagrożeniem jest również wprowadzenie do tego środowiska antybiotyków i ich metabolitów oraz drobnoustrojów antybiotykooopornych, których obecność w gnojowicy jest wysoce prawdopodobna.

Antybiotyki stosowane są w hodowli zwierząt na bardzo szeroką skalę. Dla celów terapeutycznych, powinny być one aplikowane wyłącznie tym osobnikom, u których potwierdzono wystąpienie zakażenia. Ogólnie przyjętą praktyką jest jednak podawanie antybiotyku całemu stadu (cel metafilaktyczny). W wyjątkowych sytuacjach (szczepienia, odsadzanie młodych, mieszanie osobników z różnych stad) profilaktycznie otrzymują go zwierzęta, u których nie stwierdzono zakażenia, ale wobec których istnieje podwyższone ryzyko jego wystąpienia [9, 99, 102]. Używanie antybiotyków jako stymulatorów wzrostu (ASW – antybiotykowe stymulatory wzrostu) w krajach Unii Europejskiej jest od kilku lat zakazane.

Sprzedaż przeciwbakteryjnych produktów leczniczych weterynaryjnych w 2012 roku w Polsce wyniosła 519 ton, z czego 211 ton stanowiły tetracykliny, 130 ton penicyliny a 50 ton sulfonamidy. Łącznie, produkty z tych trzech grup stanowiły 76% całkowitej sprzedaży [62].

Ilość substancji przeciwbakteryjnych dodawanych do paszy zależna jest od gatunku zwierzęcia, sposobu prowadzenia chowu oraz rodzaju antybiotyku

i wynosi od 3 do 220 g · Mg⁻¹ paszy [99]. Wśród zwierząt gospodarskich najwięcej podaje się ich świniom, ze względu na duże zagęszczenie zwierząt na jednostce powierzchni. W rezultacie, w odchodach świńskich znajduje się też najwięcej antybiotyków i ich pozostałości [10]. Ponieważ stopień przyswajania i wchłaniania substancji przeciwbakteryjnych w jelitach zwierząt jest relatywnie niski, większość z tych substancji, jak również ich bioaktywne metabolity, wydalana jest w ciągu kilkudziesięciu godzin od momentu aplikacji. Szacuje się, że do środowiska wraz z odchodami może trafiać nawet 90% podanej dawki antybiotyku [32, 42, 56, 79].

Dowiedziano, że niektóre antybiotyki zawarte w gnojowicy mogą wpływać hamująco na efektywność procesów jej higienizacji, np. fermentacji metanowej. Karbadoks, kwas lasalowy i monensin hamują bioaktywność bakterii metanogennych i produkcję biogazu, w przeciwieństwie do, np. awoparcyny, tylosyny i erytromycyny [52]. W badaniach Panseri i wsp. [73] wydajność produkcji biogazu pod wpływem niektórych antybiotyków (danofloksacyna, linkomycyna/spektomycyna) obniżała się nawet o 25%. Ci sami autorzy podają, że fermentacja metanowa powodowała spadek ilości antybiotyków w gnojowicy w stopniu wyższym niż podanie jej działaniu wysokiej temperatury. Inaktywację niektórych antybiotyków notowano również w trakcie kompostowania odchodów zwierzęcych oraz w procesie fotodegradacji będącej skutkiem promieniowania słonecznego lub UV [42, 95, 107].

Największą grupę antybiotyków weterynaryjnych stanowią tetracykliny, sulfonamidy i makrolidy [42]. Wysoki, w przypadku izolatów wyisobnionych od zwierząt, odsetek szczepów opornych na tetracykliny jest modelowym przykładem potwierdzającym bezpośredni związek między podawaniem zwierzętom substancji przeciwbakteryjnych a wykształceniem mechanizmów oporności u bakterii. O ile w latach 40. XX wieku ludzkie i odzwierzęce izolaty *Salmonella* Typhimurium były wrażliwe na działanie tetracykliny, aktualnie ich oporność na te antybiotyki kształtuje się na poziomie 90–100%. Dotyczy to również innych gatunków i rodzajów bakterii, głównie pochodzenia jelitowego [9, 45, 101]. Stosowanie awoparcyny, podawanej zwierzętom w krajach Unii Europejskiej jako ASW, przyczyniło się do wzrostu liczebności wankomycynoopornych enterokoków (VRE – Vancomycin-Resistant *Enterococcus*) izolowanych od ludzi i zwierząt. Zjawisko takie nie notowano w USA, gdzie zwierzęta nie otrzymywały awoparcyny [9].

Powszechne używanie antybiotyków w produkcji zwierzęcej jest również jednym z czynników odpowiedzialnych za pojawienie się szczepu LA MRSA (Livestock Associated Methicillin Resistant *S. aureus*), izolowanego głównie od świń i cieląt [35], wykazującego oporność na antybiotyki beta-laktamowe oraz na

tetracykliny, makrolidy, linkozamidy, aminoglikozydy, trimetoprim oraz, w niewielkim odsetku, na fluorochinolony [28]. Szczepy LA MRSA, należące głównie do kompleksu klonalnego CC398, stwarzają duże zagrożenie dla hodowców zwierząt, osób mających z nimi bezpośredni kontakt oraz członków ich rodzin. Wykazano niższą liczbę tych gronkowców u pracowników gospodarstw, których kontakt ze zwierzętami został czasowo ograniczony [28]. Badania potwierdzają częstą obecność LA MRSA również w kurzu zanieczyszczającym powietrze na terenie ferm hodowlanych, w którym przeżyć mogą wiele miesięcy [24]. Dotychczas przypadki nosicielstwa szczepów z kompleksu CC398 były znacznie częstsze niż liczba powodowanych przez nie zakażeń. Nie można jednak lekceważyć informacji o zapaleniu wsierdza, zapaleniu płuc oraz podwyższonym ryzyku zakażenia ran, których drobnoustrój ten był potwierdzoną przyczyną [46, 98].

Pojawienie się szczepów antybiotykoopornych zachodzi na drodze selekcji naturalnej eliminującej ze środowiska drobnoustroje nie wykazujące cech oporności i jest efektem powtarzalnego kontaktu bakterii z antybiotykami oraz możliwością nabywania przez nie genów oporności [99]. Zjawisko to dotyczy najczęściej bakterii enteropatogennych, przede wszystkim pałeczek *Salmonella* spp., *E. coli* i *Campylobacter* spp. W związku z tym, że geny kodujące antybiotykooporność zlokalizowane są najczęściej w obrębie ruchomych elementów genetycznych, oporność nabywana i przekazywana jest na drodze horyzontalnego transferu tych genów poprzez transpozony, plazmidy i integrony [9, 80]. Plazmidy zawierające geny warunkujące oporność na antybiotyki mogą być przenoszone za pośrednictwem środowiska płynnego (woda, gnojowica) lub przy udziale bakteriofagów [6]. Oprócz wyżej wymienionych szczepów *S. aureus* opornych na metycylinę, z odchodów zwierzęcych izoluje się bakterie także z innymi mechanizmami oporności. Przykładem mogą być szczepy wytwarzające beta-laktamazy o rozszerzonym zakresie substratowym (ESBL – Extended Spectrum Beta-Lactamase), hydrolizujące penicyliny, cefalosporyny oraz monobaktamy. Ich obecność wykryto u *Salmonella* Enterica, *E. coli* oraz *Klebsiella pneumoniae* izolowanych z kału świń, bydła i koni [86, 103]. Obecnie jednym z najistotniejszych problemów w zakresie antybiotykooporności jest pojawienie się Gram-ujemnych pałeczek jelitowych wykazujących oporność także wobec karbapenemów [16, 23].

Niepokojące są wyniki badań potwierdzające wysoką częstotliwość pojawiania się w odchodach zwierząt szczepów charakteryzujących się opornością na dwa lub więcej antybiotyków [35, 100]. W jednym z doświadczeń odsetek szczepów *Salmonella* spp. wyizolowanych z gnojowicy świńskiej wykazujących oporność na dwa antybiotyki wyniósł około 58%, prawie 35% było

opornych na trzy, a niespełna 8% na cztery leki [101]. Wyniki kolejnych badań dowiodły, że oporność w stosunku do czterech lub więcej antybiotyków stwierdzona u 13,4% pałeczek *E. coli*, 19,6% *Enterococcus faecalis* i 25,3% *Enterococcus faecium* izolowanych ze świńskich odchodów [34].

Wprowadzenie do środowiska glebowego wraz z gnojowicą bakterii opornych na antybiotyki powodować może czasowy wzrost ich liczebności i, co ważniejsze, przyczynić się może do przekazania tej cechy bakteriom glebowym, takim jak: *Proteus* spp. i *Pseudomonas* spp. [4, 66, 102]. Zwiększa się również prawdopodobieństwo pojawienia się szczepów antybiotykoopornych w zlokalizowanych w pobliżu ferm hodowlanych środowiskach wodnych, jak też u dzikich zwierząt (myszy, nornice, ryjówki) żyjących na ich terenie [45].

Prawdopodobieństwo pojawienia się bakterii opornych na antybiotyki pochodzenia zwierzęcego u ludzi dotyczy przede wszystkim osób mających bezpośredni kontakt ze zwierzętami, ich otoczeniem lub odchodami. Jednak wprowadzanie do gleby nawozów zawierających lekooporne drobnoustroje stwarza dodatkowe ryzyko ich rozprzestrzeniania się na osoby nie mające kontaktu ze zwierzętami wraz z cząstkami kurzu lub przez żywność uprawianą na nawożonych polach [32].

Ograniczeniu zjawiska antybiotykooporności bakterii w produkcji zwierzęcej służyć ma przede wszystkim wprowadzanie ograniczeń w ilościach stosowanych leków, przy równoczesnej optymalizacji metod hodowli w warunkach intensywnej produkcji zwierząt. Ponadto, podejmowane są próby wprowadzania do pasz probiotyków, jako alternatywy dla zakazanych oficjalnie ASW [10].

5. Metody higienizacji gnojowicy na cele rolnicze

Świadomość zagrożeń związanych z wprowadzeniem do gleby wraz z gnojowicą zasiedlających ją drobnoustrojów patogennych i możliwością ich dalszego rozprzestrzeniania drogą wodną, powietrzną lub pokarmową obliuguje do wcześniejszego poddania tego nawozu zabiegom ograniczającym obecność w nim drobnoustrojów, zwłaszcza tych potencjalnie szkodliwych.

Ocena wpływu wybranej metody higienizacji gnojowicy na przeżywalność zasiedlających ją patogenów jest podstawowym kryterium pozwalającym na wiarygodne oszacowanie stopnia jej skuteczności.

Przeżywalność badanych drobnoustrojów w gnojowicy uzależniona jest od szeregu czynników, często silnie ze sobą powiązanych. Do najważniejszych z nich należą [11]:

- temperatura,
- gatunek zwierząt, od których pochodzi gnojowica (typ gnojowicy),

- zawartość suchej masy i suchej masy organicznej,
- odczyn,
- obecność antagonistycznej mikroflory naturalnej,
- wyjściowa liczebność badanych drobnoustrojów,
- właściwości danego serotypu i szczepu,
- zasobność gnojowicy w składniki odżywcze,
- rozpuszczone substancje gazowe oraz potencjał REDOX.

Jednoznaczną interpretację wyników dotyczących czasów przeżycia patogenów w odchodach zwierzęcych utrudnia fakt, że skład ekskrementów jest bardzo zróżnicowany [74]. Ponadto, istnieją wyraźne różnice przeżywalności środowiskowych szczepów bakterii patogennych w warunkach polowych oraz analogicznych szczepów hodowlanych wykorzystywanych do badań laboratoryjnych [47]. Poważne utrudnienie dla uzyskania jednoznacznych i porównywalnych wyników stanowi także zdolność niektórych drobnoustrojów do sporulacji, przejścia w stan „żywe, lecz nie dające się hodować” (viable but nonculturable, VBNC) oraz do wzajemnej agregacji lub przylegania do cząstek stałych, co ogranicza możliwość ustalenia rzeczywistej liczby patogenów metodami hodowlanymi [99].

Uzyskane w różnych badaniach różnice dotyczące czasu przeżycia patogenów w gnojowicy mogą wynikać także z sezonu poboru prób, z odmiennych fizyko-chemicznych właściwości gnojowicy oraz z innych sposobów żywienia poszczególnych stad zwierząt. Nie bez znaczenia pozostaje też zróżnicowany wiekowo i gatunkowo skład inwentarza oraz wykorzystanie do badań różnych szczepów bakterii testowych. Nawet działania mające na celu ujednoczenie parametrów fizycznych próbek gnojowicy nie zapewniają możliwości dokonywania bezpośrednich porównań [36, 64, 74].

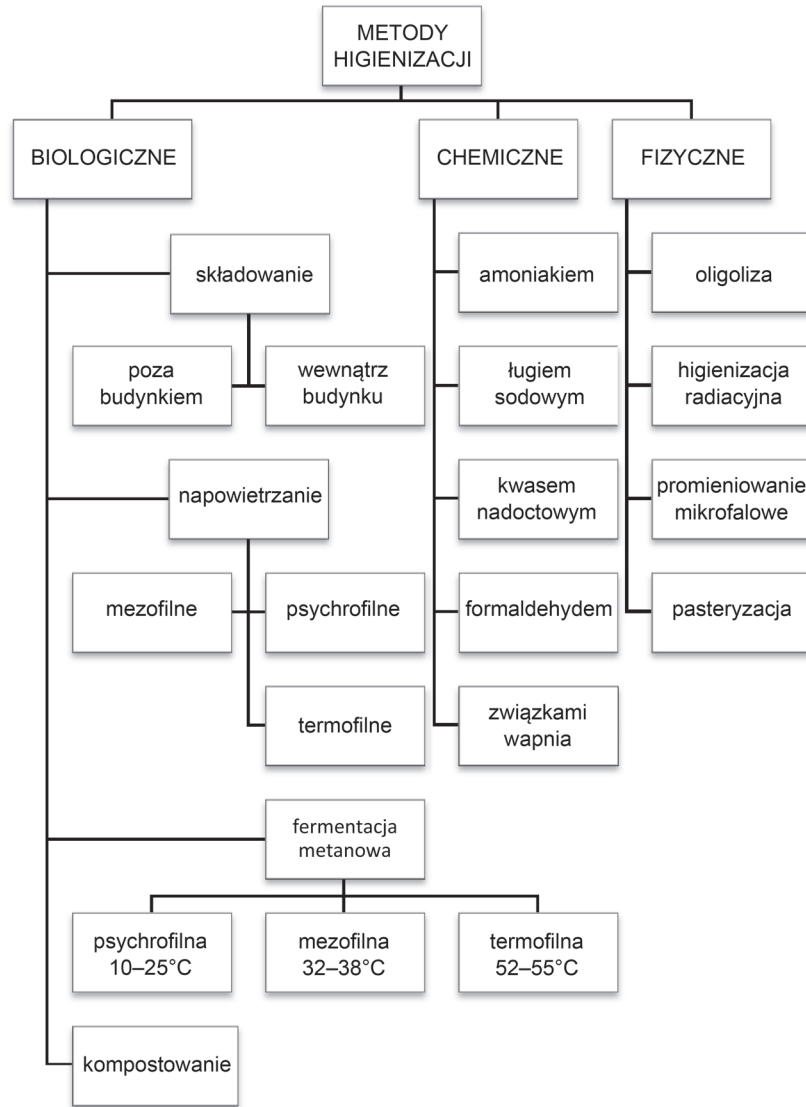
Metody stosowane w celu higienizacji gnojowicy można podzielić na fizyczne, chemiczne i biologiczne (Rys. 1).

5.1. Metody biologiczne higienizacji

Składowanie

Składowanie gnojowicy jest najprostszą oraz najtańszą metodą obróbki tego nawozu. Z tego względu cieszy się bardzo dużą popularnością i stosowane jest znacznie częściej niż inne metody uzdatniania gnojowicy na cele rolnicze. Głównymi czynnikami ograniczającymi skuteczność tej metody są temperatura oraz czas składowania.

Właściwości fizyko-chemiczne gnojowicy powodują, że w trakcie składowania nie ulega ona samoza-grzaniu, i charakteryzuje się stabilną temperaturą, która wynosi ok. 6°C zimą i 18°C latem. Brak zdolności gnojowicy do generowania ilości ciepła niezbędnej do biotermicznego samoodkażania wyraźnie ogranicza intensywność higienizacyjną procesu składowania [68, 80].



Rys. 1. Metody higienizacji gnojowicy

Składowanie jest metodą obróbki gnojowicy, w czasie której nie są podejmowane żadne aktywne metody stabilizacji tego nawozu, z wyjątkiem stosowanego niekiedy mieszania płynnych odchodów. Metoda ta wykorzystuje brak zdolności większości bakterii patogennych i pasożytów do namnażania się poza organizmem gospodarza [14]. Ponadto, drobnoustroje podlegają naturalnej stopniowej eliminacji w czasie składowania. Przeżywalność ich podczas tego procesu jest dość zróżnicowana i może być liczona w tygodniach lub miesiącach [14]. Eliminacja bakterii fekalnych podczas składowania zachodzi szybciej w porównaniu do pozostałych drobnoustrojów wchodzących w skład mikroflory gnojowicy, jednak czas przeżycia większości bakterii patogennych może wynosić nawet 20 tygodni [54]. Inaktywacja drobnoustrojów w czasie składowania jest możliwa pod warunkiem, że w czasie procesu nie są wprowadzane nowe porcje gnojowicy, stanowiące źródło składników odżywczych oraz kolejnych drobnoustrojów.

W metodzie składowania drobnoustroje najdłużej przeżywają w niskiej temperaturze. Jej wzrost, wiążący się z uwalnianiem większych ilości amoniaku w gnojowicy, skraca czas przeżycia drobnoustrojów [33]. Olszewska i Skowron [70] wykazali, że przeżywalność pałeczek z rodzaju *Salmonella* uzależniona jest zarówno od temperatury składowania, jak i od typu gnojowicy oraz serotypu bakterii. W przypadku *S. Typhimurium* wahała się od 30,27 do 101,10 dnia, a dla *S. Senftenberg* wynosiła od 32,50 do 114,24 dnia. Dane z piśmiennictwa wskazują także na wpływ temperatury składowania gnojowicy na przeżywalność pałeczek *E. coli* (10°C/30 dni, 4°C/40 dni) i enterokoków [47, 69]. *Brucella abortus* w gnojowicy bydłowej składowanej w temperaturze 10°C przeżywa przez okres 47–70 dni, podczas gdy w temperaturze 20°C w tej samej gnojowicy jej przeżywalność skraca się do 20 dni [14, 44].

Podczas pierwszych 2–4 tygodni składowania gnojowicy dochodzi do powstawania lotnych kwasów

tłuszczowych, co prowadzi do przejściowego obniżenia się pH tego nawozu [46]. Przemiany te powodują, że większość patogenów obecnych w gnojowicy ulega w 90% eliminacji w wyżej wymienionym przedziale czasowym [44]. Potwierdzają to badania Kearney i wsp. [40], którzy wykazali, że czas potrzebny do 90% redukcji *Y. enterocolitica* w gnojowicy składowanej w temperaturze 4°C wynosi 20,8 dnia, a w 17°C skraca się do 12,8 dnia.

Wielu autorów [14, 36, 91, 92] wykazało wpływ na przeżywalność bakterii również gatunku zwierząt, od których pochodzi gnojowica. Według nich, pałeczki z rodzaju *Salmonella* mogą przeżywać w składowanych odchodach świńskich ponad 110 dni [36], a w bydłych nawet 286 dni [92]. Udział suchej masy w składowanej gnojowicy również wyraźnie wpływa na przeżywalność wybranych bakterii wskaźnikowych. Przeważająca większość wyników wskazuje na dłuższy czas przeżycia drobnoustrojów w odchodach zwierzęcych wraz ze wzrostem zawartości suchej masy [60, 89]. Wyższy udział substancji stałych prawdopodobnie wpływa ochronnie na patogeny, poprzez umożliwienie ich agregacji lub adsorpcji na powierzchni cząstek stałych zawartych w gnojowicy [39].

Pomimo problemów z rozwarstwianiem się gnojowicy, emisją gazów w trakcie jej magazynowania oraz dość długim czasem przeżycia drobnoustrojów, składowanie stanowi skuteczną metodę pozyskiwania nawozu o zmniejszonej uciążliwości zapachowej i znikomym negatywnym wpływie na środowisko.

Fermentacja metanowa

Skład gnojowicy, zapewniający obecność wszystkich substancji niezbędnych dla rozwoju drobnoustrojów, przyczynia się, z jednej strony, do podwyższenia ryzyka sanitarnego, z drugiej pozwala na wykorzystanie jej w kontrolowanym procesie biodegradacji w czasie fermentacji metanowej.

Proces fermentacji metanowej opiera się na współdziałaniu licznych grup drobnoustrojów. Pierwszą grupę stanowią bakterie hydrolizujące, uczestniczące w procesie hydrolizy i powodujące rozkład polimerycznych związków organicznych (białka, tłuszcze i węglowodany) do substancji prostszych (aminokwasy, peptydy i cukry proste). Do drugiej grupy należą bakterie hydrolizujące acidogenne, które uczestniczą w kwasogenezie i powodują hydrolityczny rozkład aminokwasów, peptydów i cukrów prostych do kwasów tłuszczowych, kwasów organicznych, alkoholi, aldehydów i ketonów [1]. Zaliczamy tuaj głównie drobnoustroje z rodzajów: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Clostridium*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus* i *Enterobacterium* [19]. Trzecią grupą są bakterie octanogenne wytwarzające octany z wykorzystaniem węgla i energii z produktów kwasogenezy (syntrofy bakterii metanogennych) lub

z CO₂ i H₂ (bakterie homoocetanogenne) [1]. Należą tu m.in. rodzaje: *Syntrophomonas* i *Syntrophobacter* [19]. Czwartą grupę stanowią metanogenne *Archaeobacterie* wiążące CO₂ i H₂ z wytworzeniem CH₄ i H₂O lub rozkładające octany do CH₄ i CO₂ [1]. Do tej grupy zaliczamy rodzaje: *Methanobacterium*, *Methanospirillum*, *Methanococcus*, *Methanosarcina*, *Methanobrevibacter*, *Methanomicrobium* i *Methanothrix* [104].

Fermentacja metanowa gnojowicy może być prowadzona w warunkach mezofilnych lub termofilnych oraz sporadycznie w psychofilnych [14].

Na przeżywalność bakterii w czasie fermentacji wpływa szereg czynników, do których należą: czas hydraulicznej retencji, koncentracja lotnych kwasów tłuszczowych, pH, temperatura oraz typ gnojowicy, zawartość suchej masy i typ procesu fermentacji [40].

Fermentacja metanowa prowadzona w warunkach mezofilnych jest najczęściej stosowanym typem procesu anaerobowego. Charakteryzuje się on dużą stabilnością warunków i niższymi nakładami energetycznymi [14]. W naturalnej mikroflorze gnojowicy większość bakterii beztlenowych i względnie beztlenowych stanowią mezofile rozwijające się optymalnie w temperaturze 30–40°C [53]. Proces mezofilny jest jednak mniej efektywny i wymaga dłuższego czasu retencji gnojowicy w reaktorze. Eliminacja drobnoustrojów patogennych obecnych w gnojowicy zachodzi znacznie wolniej i mniej wydajnie w warunkach mezofilnych [14]. W celach higienizacyjnych zaleca się poprzedzać właściwą fermentację metanową w warunkach mezofilnych procesem pasteryzacji prowadzonym w temperaturze 70°C przez 20 minut [87].

Proces termofilny jest najbardziej wydajnym typem fermentacji metanowej. Wszystkie reakcje składające się na proces produkcji metanu z gnojowicy zachodzą znacznie szybciej i efektywniej, przez co możliwe jest stosowanie reaktorów o mniejszej objętości [31]. Proces termofilny wymaga jednak znacznie większych nakładów energetycznych. Problem stanowi także fakt, że mikroflora termofilna jest stosunkowo nieliczna w gnojowicy i musi namnożyć się do odpowiedniego poziomu, aby fermentacja mogła przebiegać prawidłowo. W związku z tym niezbędne jest zapewnienie warunków termofilnych już przy rozruchu reaktora [1, 2]. Fermentacja prowadzona w warunkach termofilnych przyczynia się do praktycznie całkowitej eliminacji patogenów z gnojowicy, dzięki czemu otrzymywany nawóz jest znacznie bardziej bezpieczny pod względem sanitarno-higienicznym [58].

Inaktywacja wirusów w trakcie fermentacji metanowej również uzależniona jest w znacznym stopniu od parametrów termicznych procesu. Prowadzona w przedziale temperatury 50–55°C powoduje utratę zakaźności wirusa pryszczycy (FMDV – Foot-and-Mouth Disease Virus) w ciągu godziny. Obniżenie

temperatury do 35°C przedłuża ten okres do 24 godzin. Szczególnie wysoką oporność wykazał się parwowirus świń (PPV – Porcine Parvovirus), którego inaktywacja w temperaturze 55°C trwała ponad tydzień [12]. Enterowirus bydłocy wprowadzony do gnojowicy poddanej fermentacji metanowej w 55°C eliminowany jest już po 30 minutach, podczas gdy w warunkach mezofilnych przeżywał 13 dni [96].

Tappouni [92] stwierdził, że wzrost stężenia lotnych kwasów tłuszczowych w gnojowicy powoduje spadek odczynu i przyczynia się do redukcji liczby bakterii w tym nawozie. Rozwój znacznej populacji bakterii metanowych posiadających zdolność do produkcji antybiotyków w gnojowicy poddanej fermentacji również powoduje wyraźne skrócenie czasu przeżycia patogenów [44].

Badania Kumara i wsp. [49] wykazały z kolei, że przeżywalność *Salmonella* Typhi w procesie fermentacji psychrofilnej była zależna od zawartości suchej masy w gnojowicy. W nawozie zawierającym 5–10% suchej masy bakterie te przeżywały w temperaturze pokojowej przez 20 dni, podczas gdy, w tych samych warunkach termicznych, przy udziale suchej masy równym 15%, przeżywalność wzrastała do 25 dni [49].

Liczne badania potwierdzają także wpływ typu procesu fermentacji na przeżywalność wybranych drobnoustrojów. Badania Kearney i wsp. [39] dowodzą różnic w przeżywalności bakterii patogennych w procesie mezofilnej fermentacji metanowej w zależności od sposobu jej realizacji. Czas dziesiątej eliminacji pałeczek *S. Typhimurium* wyniósł 0,9 dnia w systemie zamkniętym oraz 1,1 dnia w systemie półciąglym [39]. Z kolei w trakcie ciągłej fermentacji mezofilnej czas ten obejmował okres 2–4 dni [67]. Inne doświadczenia wykazały spadek liczby wyżej wymienionych bakterii w gnojowicy do poziomu 10^3 j.t.k./ml w ciągu 60 dni składowania oraz 8 i 10 dni mezofilnej fermentacji prowadzonej odpowiednio w systemie zamkniętym i półciąglym [39]. Szybsze tempo eliminacji bakterii patogennych w systemie zamkniętym może wynikać z niedoboru substancji odżywczych, spowodowanego brakiem dostaw świeżej gnojowicy do reaktora oraz wyższej koncentracji lotnych kwasów tłuszczowych, związanej z nieodprowadzaniem porcji przefermentowanej gnojowicy w trakcie procesu [94]. W przypadku pałeczek *E. coli* Kearney i wsp. [39] wykazali, że czas dziesiątej eliminacji był równy 0,8 dnia w systemie zamkniętym oraz 1,5 dnia w półciąglym. Z kolei podczas ciągłej fermentacji mezofilnej czas ten wynosił 1–2 dni [67].

Napowietrzanie

Proces napowietrzania polega na wprowadzaniu do gnojowicy drobnych pęcherzyków powietrza w celu przyspieszenia procesu jej stabilizacji poprzez mikro-

biologiczne utlenianie zawartych w tym nawozie substancji organicznych [14]. Wprowadzony tlen pozostaje w formie wolnej lub rozpuszcza się w gnojowicy i zostaje wykorzystany przez drobnoustroje tlenowe prowadzące reakcje rozkładu materii organicznej. Tlenowa stabilizacja gnojowicy stosowana jest w celu zmniejszenia jej uciążliwości zapachowej, mineralizacji i higienizacji tego nawozu, co umożliwia jego bezpieczne składowanie i zagospodarowanie [14].

Mineralizacja związków organicznych zawartych w gnojowicy, zachodząca podczas napowietrzania, pozwala uzyskać stabilny nawóz naturalny. Występujące w gnojowicy w formie mineralnej związki odżywcze są łatwiej przyswajalne dla roślin, dzięki czemu obciąża ona w mniejszym stopniu środowisko glebowe i wodne [81].

Proces napowietrzania gnojowicy może być realizowany w systemie ciągłym, półciąglym i zamkniętym. Sposób ciągły charakteryzuje się nieprzerwanym napływem gnojowicy do reaktora. Gwarantuje on utrzymanie stałych warunków procesu, dzięki czemu wszystkie przemiany biologiczne są na względnie stałym poziomie [44, 63]. System zamknięty polega na napowietrzaniu jednorazowo napełnionego reaktora, który po zakończeniu procesu jest całkowicie opróżniany. Ten typ napowietrzania charakteryzuje się znaczną fluktuacją warunków, rozwarstwieniem gnojowicy oraz zróżnicowanym zapotrzebowaniem na tlen [44, 63].

Gnojowica może być napowietrzana naturalnie w lagunach powierzchniowo, ciśnieniowo lub podciśnieniowo. W zależności od sposobu napowietrzania, powietrze wprowadzane może być za pomocą aeratorów mechanicznych (mieszadła rozbryzgowo, rotory szybkoobrotowe) lub urządzeń włączających sprężone powietrze w formie drobnych pęcherzyków [44, 63].

Procesy mikrobiologiczne, zachodzące podczas napowietrzania prowadzą do utleniania związków węgla z wytworzeniem energii. Jej część wykorzystywana jest w procesie namnażania bakterii, natomiast około 45–50% jest wydzielane w postaci ciepła [44]. W wyniku metabolizmu związków organicznych, prowadzonego przez drobnoustroje tlenowe, zostają wyprodukowane nawet około 4 kWh energii cieplnej z każdego kilograma tlenu wprowadzanego do gnojowicy. Może to prowadzić do samozagrzewania się tego nawozu do temperatury w granicach 55–70°C, umożliwiającej rozwój drobnoustrojów termofilnych [26, 44]. Mniej podatna na zagrzewanie w czasie napowietrzania jest gnojowica bydłoca, co wiąże się z mniejszą zawartością substancji odżywczych dla bakterii termofilnych [44].

Duża różnorodność związków organicznych zawartych w gnojowicy wymaga obecności, na poszczególnych etapach procesu, zróżnicowanej gatunkowo populacji bakterii zdolnych do ich rozkładu [44].

Stabilizacja tlenowa może być realizowana w różnych zakresach temperatury jako napowietrzanie [44, 63]:

- zimne (psychrofilne) przebiegające w temperaturze do 20°C i charakteryzujące się nieznacznym ubytkiem węgla oraz brakiem procesu nityfikacji,
- ciepłe (mezofilne) prowadzone w temperaturze 20–40°C i przyczyniające się do wyraźnej redukcji liczby drobnoustrojów patogennych w gnojowicy [14],
- gorące (termofilne) przebiegające w temperaturze 55–70°C, która osiągana jest na drodze reakcji egzotermicznych bez zewnętrznego źródła ciepła; reakcje te prowadzone są przez tlenowe termofilne drobnoustroje, których rozwój stymuluje intensywne napowietrzanie drobnopęcherzykowe; wchodzi one w skład naturalnej mikroflory gnojowicy, a ich intensywne namnażanie następuje w momencie osiągnięcia temperatury termofilnej.

Skuteczność higienizacyjna procesu napowietrzania zależy w znacznym stopniu od aktywności mikroflory tlenowej obecnej w gnojowicy [20]. Pod względem skuteczności higienizacji najważniejsza jest termofilna stabilizacja tlenowa. W gnojowicy poddanej napowietrzaniu gorącemu Martens i wsp. [58] po upływie kilku godzin nie izolowali pałeczek *Salmonella* spp. i enterowirusów, a po około jednym dniu – enterokoków i parwowirusów. Mniej efektywną eliminację patogenów z gnojowicy powoduje proces napowietrzania ciepłego. W czasie 3–4 tygodni prowadzenia takiej stabilizacji następuje 90,0–99,9% redukcja drobnoustrojów takich, jak *L. monocytogenes*, *Y. enterocolitica* i bakterii grupy *coli* [30]. Odsetek inwazyjnych jaj *Ascaris suum* w trakcie napowietrzania mezofilnego obniżył się do 37%, podczas gdy w procesie termofilnym zredukował się do 0% [78]. Skuteczność higienizacyjna procesu napowietrzania wynika z działania wysokiej temperatury, obecności w gnojowicy wolnego tlenu i amoniaku, niskiej zawartości substancji odżywczych i aktywacji antagonistycznej mikroflory [13]. Spośród wad procesu należy wymienić koszty energii niezbędnej do napowietrzania, dużą produkcję osadu zawierającego znaczną ilość masy bakteryjnej, ryzyko emisji amoniaku i tlenu azotu oraz potrzebę filtracji powietrza odprowadzonego z reaktora [14, 63].

Kompostowanie

Skuteczną metodą higienizacji i stabilizacji gnojowicy jest poddanie jej frakcji stałej kompostowaniu. Ponieważ istotą tego procesu jest biologiczny rozkład materii organicznej przeprowadzany przez drobnoustroje tlenowe, kluczowe znaczenie dla jego efektywności ma odpowiednie napowietrzenie materiału. Wśród innych czynników decydujących o jego powodzeniu znaczenie mają także temperatura, wilgotność i stosunek węgla do azotu. Niezbędną porowatość

kompostowanej biomasy zapewnia dodatek substancji strukturalnych, np. słomy, trocin lub torfu [81].

Eliminację zasiedlających gnojowicę patogenów zapewnia wysoka temperatura generowana w termofilnej fazie kompostowania. Wyniki wielu doświadczeń potwierdzają, że jej optymalne wartości, gwarantujące higienizację biomasy, powinny oscylować w granicach 55–65°C [57]. Ich uzyskanie, przy zapewnieniu prawidłowych warunków procesu, zwłaszcza odpowiedniej ilości tlenu, nie jest trudne do osiągnięcia. Dowiedziono, że rodzaj kompostowanych odchodów zwierzęcych ma większy wpływ na wysokość temperatury biomasy, niż dodany do niej materiał strukturalny [59, 81].

Odpowiednio przeprowadzone kompostowanie prowadzi do szybkiej inaktywacji większości drobnoustrojów patogennych. W badaniach Ross i wsp. [81] liczba *E. coli* i enterokoków podczas 60 dni kompostowania ulegała spadkowi rzędu 10^2 – 10^3 log. Podobne wyniki badań uzyskali Mac Carthy i wsp. [59], w których liczebność *E. coli* i enterokoków została ograniczona do wartości obowiązujących norm, podczas gdy liczba bakterii tworzących spory nie uległa zmianie (tab. I).

5.2. Metody fizyczne

Metody biologiczne są najczęściej wykorzystywane w celu higienizacji gnojowicy. Istnieje jednak szereg technik, sklasyfikowanych jako fizyczne i chemiczne, dla których skuteczność higienizacyjna została również dowiedziona (tab. II).

Pasteryzacja

Ze względu na wysokie koszty i konieczność korzystania ze specjalistycznej aparatury, proces pasteryzacji wykorzystywany jest wyłącznie w sytuacji podwyższonego zagrożenia epidemiologicznego. Pasteryzacja jest klasyczną metodą termiczną, wykorzystującą bakteriobójcze działanie wysokiej temperatury na struktury komórkowe drobnoustrojów. Utrzymanie w gnojowicy temperatury 70°C przez godzinę zapewnia inaktywację większości zasiedlających ją wirusów, bakterii i pierwotniaków o umiarkowanej termooporności [57]. Wirus choroby pęcherzykowej świń (SVDV – Swine Vesicular Disease Virus) ulega inaktywacji w 64°C już po 2 minutach, jednak w przypadku niektórych parwowirusów bydłowych nieskuteczna okazywała się temperatura nawet 70°C. Wyniki wielu badań dowodzą, że już 30-minutowe działanie temperaturą 70°C zapewnia likwidację pałeczek *Salmonella* spp., enterowirusów, jaj *Ascaris suum* i *Taenia saginata* [96].

Higienizacja radiacyjna

Wykorzystanie różnych rodzajów promieniowania pozwala na szybką i bardzo skuteczną inaktywację potencjalnych patogenów zasiedlających odchody

Tabela I
Wpływ wybranych biologicznych metod higienizacji na przeżywalność drobnoustrojów patogennych w gnojowicy

Metoda higienizacji	Mikroorganizm	Przeżywalność	Źródło
Składowanie	Aujeszky's Disease Virus (ADV)	15 tyg./5°C	[63]
		3–15 tyg.	[91]
	Foot and Mouth Disease (FMD)	3–15 tyg.	[91]
	<i>E. coli</i> O157:H7	15–18 dni/16°C	[88]
	S. Dublin	33 tyg./zima	[14]
		19 tyg./lato	
		2–9 tyg.	[91]
	S. Typhimurium	4–26 tyg.	[91]
	<i>Salmonella</i> spp.	1–30 tyg.	[14]
	<i>Yersinia enterocolitica</i>	6 tyg./8°C	
<i>Cryptosporidium parvum</i>	>90 dni/4°C		
	20 dni/20°C		
Napowietrzanie	Aujeszky's Disease Virus (ADV)	5 godz./40°C	[96]
		10 min./55°C	[63]
	Foot and Mouth Disease (FMD)	48 godz./50°C	[63]
	Swine Vesicular Disease Virus (SVDV)	48 godz./40°C	[96]
		2 min./64°C	[63]
	S. Enteritidis	40 godz./42°C	[63]
	S. Typhimurium	48 godz.	
	<i>Ascaris suum</i>	20 min/70°C	[14]
<i>Taenia saginata</i>	5–15 min/60–70°C		
Fermentacja metanowa	Aujeszky's Disease Virus (ADV)	1dzień/31°C	[58]
	Bovine enterovirus	30 min./55°C	[96]
	ECBO	9 dni/31°C	[58]
		6 godz./55°C	
	ERV	9 dni/31°C	[58]
		6 godz./55°C	
	parvovirus	30 min./55°C	[96]
	enterokoki	35–40 dni/18–25°C	[58]
		12 dni/31°C	[49]
		15–20 dni/35°C	[58]
		27 godz./55°C	[49]
	<i>E. coli</i>	20–25 dni/18–25°C	[49]
		10–15 dni/35°C	
	S. Senftenberg	8 dni/31°C	[58]
		6 godz./55°C	
	S. Typhi	20–25 dni/18–25°C	[49]
		10–15 dni/35°C	
	<i>Shigella dysenteriae</i>	10–15 dni/18–25°C	
5–10 dni/35°C			

zwierzęce. Promieniowanie gamma, emitowane, m.in., przez izotopy ^{60}Co lub ^{137}Cs , charakteryzuje wysoka zdolność penetracji różnych środowisk, a ich letalny wpływ na drobnoustroje oparty jest głównie na uszkodzeniu materiału genetycznego i hamowaniu podziału komórki [15]. Działanie biobójcze wiązki szybkich

elektronów polega na tym, że elektrony przyspieszane w akceleratorach przenikają w głąb sterylizowanego obiektu zapoczątkowując tysiące aktów jonizacji i wzbudzeń elektronowych atomów oraz cząsteczek. Proces ten przyczynia się do powstania nowych generacji rojów wtórnych szybkich elektronów o działaniu

Tabela II

Wpływ wybranych fizycznych i chemicznych metod higienizacji na przeżywalność drobnoustrojów patogennych w gnojowicy

Metoda higienizacji	Mikroorganizm	Parametry procesu	Źródło
Promieniowanie beta lub gamma	SVDV (Swine Vesicular Disease Virus)	40 kGy	[96]
	Poliovirus 1	6,5 kGy	
	<i>Enterococcus</i> spp.	6,45–8,84 kGy	[90]
	<i>E. coli</i>	5,10–6,06 kGy	
	<i>Salmonella</i> spp.	3,63–5,51 kGy	
	<i>Ascaris suum</i>	4–5,8 kGy	
Promieniowanie mikrofalowe	HCC (Hepatitis Contagiosa Canis)	1 kW/1 s/2450 MHz (efekt cieplny – 63–70°C)	[96]
	ECBO (Enteric Cytopathogen Bovine Orphan)	1 kW/1 s/2450 MHz (efekt cieplny – 58–62°C)	
	Poliovirus 1	10s/2450 MHz	
	<i>E. coli</i>	60 kW s	[106]
Wapnowanie	Enterowirus bydłocy	1 godz./pH 11,5	[96]
	<i>Salmonella</i> spp.	1–3 godz.	[78]
	<i>E. coli</i> O157:H7	2 godz.	[21]
Ług sodowy (50% r-r. NaOH)	Wirusy otoczkowe	4 dni – 20 kg/m ³	[57]
	Wirusy bezotoczkowe	4 dni – 30 kg/m ³	
	Formy wegetatywne bakterii	4 dni – 30 kg/m ³	
Formalina	Wirusy otoczkowe	4 dni – 10 kg/m ³	[57]
	Wirusy bezotoczkowe	4 dni – 15 kg/m ³	
	Formy wegetatywne bakterii	4 dni – 15 kg/m ³	
	Prątki	14 dni – 25 kg/m ³	
Kwas nadoctowy (15%)	Wirusy otoczkowe	4 dni – 40 kg/m ³	[57]
	Wirusy bezotoczkowe	4 dni – 25 kg/m ³	
	Formy wegetatywne bakterii	1 godz. – 25 kg/m ³	

letalnym dla komórek, co prowadzi do uszkodzenia kwasów nukleinowych oraz białek i błon komórkowych drobnoustrojów. Uszkodzenia indukowane są w wyniku bezpośredniego oddziaływania wiązki elektronów na mikroorganizm lub pośredniego wpływu produktów radiolizy wody (rodnik hydroksylowy, jony i zjonizowane grupy atomów) [61].

Produkty sterylizowane metodą radiacyjną są całkowicie bezpieczne i nie wykazują radioaktywności. Eliminacja drobnoustrojów uzależniona jest od ich stanu fizjologicznego, koncentracji w środowisku, składu chemicznego obiektu poddawanego sterylizacji oraz obecności wody i innych związków chemicznych [7].

Obecnie higienizacja radiacyjna znajduje zastosowanie głównie do sterylizacji wyrobów medycznych i kosmetycznych. Podejmowane są jednak prace badawcze mające na celu wykorzystanie tej techniki do dezynfekcji wody pitnej, ścieków i odpadów komunalnych [7].

Powyższa metoda higienizacji wymaga niestety dość dużych nakładów inwestycyjnych. Szacuje się, że koszt budowy i uruchomienia akceleratora elektronów generującego wiązkę o następujących parametrach: 2 kGy, 1 MeV, 400 kW wynosi około 4 miliony dolarów. Koszt

eksploatacyjny natomiast kształtują się na poziomie 0,3 dolara za każdy m³ higienizowanej gnojowicy [48]. Innymi mankamentami opisanej metody są także: konieczność frakcjonowania gnojowicy oraz skomplikowane procedury zapewnienia bezpieczeństwa procesu. Z kolei jej zaletą jest bardzo wysoka skuteczność higienizacyjna.

Wyniki wielu doświadczeń dowiodły, że promieniowanie gamma w dawce 5 kGy powoduje 10³–10⁴-krotny spadek liczby drobnoustrojów w naświetlanej gnojowicy. Wyższą oporność na promieniowanie wykazują wirusy. Do najmniej wrażliwych należy SVDV, do którego inaktywacji wymagana była dawka nawet 40 kGy [14].

Dawka 10 kGy całkowicie eliminuje bakterie i parazyty. W osadach ściekowych o wilgotności powyżej 40% stwierdzano inaktywację *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Salmonella* spp. i *E. coli* już przy dawce promieniowania gamma o wartości 1 kGy [3].

Badania Skowrona i wsp. [90] wykazały wysoką efektywność wiązki wysokoenergetycznych elektronów w stosunku do pałeczek *Salmonella* spp., *E. coli*, enterokoków oraz jaj pasożytów żołądkowo-jelitowych. W większości przypadków dawka o mocy 7 kGy

wystarczyła do pełnej higienizacji gnojowicy, przy czym satysfakcjonujące efekty uzyskiwano już przy dawce 3 kGy. Z kolei przy dawkach poniżej 1 kGy udawało się osiągnąć nawet 90% redukcję populacji badanych drobnoustrojów.

5.3. Metody chemiczne

Higienizacja chemiczna polega na zastosowaniu substancji, które w skuteczny sposób spowodują zniszczenie pasożytów, drobnoustrojów chorobotwórczych oraz ich form przetrwalnych. Skuteczność tych metod zależy od rodzaju drobnoustrojów, stężenia roztworu, a także czasu działania i warunków przeprowadzania całego procesu. Efektywność użytych środków uwarunkowana jest również czynnikami zewnętrznymi, do których zaliczyć można wilgotność, temperaturę, pH i obecność substancji organicznych [14].

Metody chemiczne higienizacji gnojowicy są najczęściej stosowane tylko w sytuacjach zagrożenia dla środowiska lub zdrowia ludzi i zwierząt. Wymagają one dodawania bardzo dużych objętości reagentów i są przeważnie nieopłacalne ekonomicznie.

Związkami najczęściej wykorzystywanymi w procesie dezynfekcji odchodów zwierzęcych jest tlenek i wodorotlenek wapnia. Osiągnięcie efektu higienizacji poprzez wapnowanie nie wymaga dużych nakładów finansowych ani skomplikowanej aparatury. W wyniku tego procesu możliwa jest eliminacja 95–100% zasiedlających odchody patogenów [14]. CaO charakteryzuje się dwukierunkowym działaniem. Powoduje silną reakcję egzotermiczną poprzez hydratację tlenku wapna z wodą, co skutkuje wzrostem temperatury do 55–60°C. Ponadto, wywołuje również gwałtowne podwyższenie odczynu osadu. Alkalinizacja odczynu środowiska, w połączeniu ze wzrostem temperatury, wynikającym z gwałtownej reakcji egzotermicznej związków wapna z wodą, stanowią doskonałą kompilację czynników hamujących rozwój zasiedlających to środowisko drobnoustrojów [31, 104]. Uzyskany w ten sposób produkt może być wykorzystany w rolnictwie do celów nawozowych, co wpływa szczególnie korzystnie na stan gleb kwaśnych [77].

Szereg badań dotyczących wpływu wapnowania na drobnoustroje w różnego typu odpadach wskazuje, że przy zoptymalizowanych parametrach tego procesu, gwarantuje on ich eliminację sięgającą nawet 95–100%. Enterowirusy wprowadzone do gnojowicy poddanej wapnowaniu ulegały inaktywacji w czasie od jednej godziny (enterowirus bydlęcy) do 24 godzin (enterowirus świński typu 3) [41, 96]. Szybką inaktywację *Salmonella* spp. i *E. coli* zapewnia już jednogodzinne działanie związków wapna [14, 72]. Ich dodanie do osadów ściekowych skutkowało niemal całkowitą eli-

minacją pałeczek *E. coli* i wysoką, sięgającą nawet 6 log, redukcją liczebności enterokoków [25].

W procesach higienizacji gnojowicy używa się również innych substancji chemicznych, przy czym z reguły podwyższeniu dawki towarzyszy wzrost skuteczności danego środka. Ług sodowy efektywnie eliminuje, m.in., wirusy pryszczycy, bakterie z rodzaju *Salmonella*, *Clostridium* i *Pasteurella*. Proces eliminacji herpeswirusów z wykorzystaniem kwasu nadoctowego o stężeniu 0,6%, trwa kilka dni. Wyższą wrażliwość na jego działanie wykazywały pałeczki *Salmonella* – przy końcowym stężeniu kwasu 0,5% powodował ich zabicie pałeczek w ciągu jednej godziny. Znacznie lepsze efekty uzyskiwano przy podwyższeniu stężenia do 1%, jednak zabieg taki dyskwalifikował tę metodę z powodów ekonomicznych [14, 96].

6. Podsumowanie

Rolnicze wykorzystanie odchodów powstających podczas produkcji zwierzęcej stanowi uzasadniony pod wieloma względami sposób ich zagospodarowania. Bogactwo łatwo przyswajanych składników odżywczych zawartych w gnojowicy i ich wysoka przyswajalność, czynią z niej doskonały nawóz naturalny. Wprowadzenie gnojowicy do gleby wiąże się jednak z problemami natury ekologicznej i higieniczno-sanitarnej. Możliwość pojawienia się w gnojowicy drobnoustrojów patogennych dla ludzi i zwierząt wymaga podjęcia kroków w kierunku realnego zmniejszenia ryzyka wynikającego z potencjalnej kontaminacji za jej pośrednictwem gleby, wody i roślin.

Coraz większego znaczenia nabiera również zjawisko rozprzestrzeniania za pomocą gnojowicy antybiotyków oraz opornych na nie drobnoustrojów. Wprowadzenie do gleby antybiotyków i ich aktywnych metabolitów sprzyjać może selekcji szczepów antybioopornych. Z kolei pojawienie się w tym środowisku drobnoustrojów z już wykształconym mechanizmem lekooporności prowadzi do przekazywania go innym drobnoustrojom na drodze transferu horyzontalnego. Szczególnemu monitorowaniu powinny podlegać coraz częstsze w środowisku ferm hodowlanych szczepy LA MRSA oraz Gram-ujemne pałeczki wytwarzające ESBL.

Biorąc pod uwagę ryzyko towarzyszące rolniczemu wykorzystaniu gnojowicy, wszystkie zabiegi, jakim poddawana jest gnojowica przed jej rolniczym zagospodarowaniem, powinny służyć, poza poprawą jej właściwości fizyko-chemicznych, przede wszystkim ograniczeniu stopnia jej aktywności mikrobiologicznej. Wśród znanych metod higienizacji gnojowicy, najszersze wykorzystanie znajdują metody biologiczne – składowanie, fermentacje metanowa i napowietrza-

nie. Prawidłowe postępowanie z gnojowicą opiera się na wiedzy o obecności i przeżywalności drobnoustrojów patogennych w niej zawartych oraz na poznaniu i zrozumieniu czynników wpływających na ich żywotność i infekcyjność. Przy zachowaniu odpowiednich standardów, ich działanie gwarantuje skuteczną eliminację drobnoustrojów patogennych z gnojowicy i umożliwia jej bezpieczne stosowanie w rolnictwie.

Piśmiennictwo

- Ahring B.K.: Perspectives for Anaerobic Digestion., *Adv. Biochem. Eng./Biotech.* **81**, 1–30 (2003)
- Ahring B.K., Mladenovska Z., Iranpour R., Westermann P.: State of the art and future perspectives of thermophilic anaerobic digestion. *Water Sci. Technol.* **45**, 293–298 (2002)
- Al-Bachir M., Al-Adawi M.A., Shamma M.: Synergetic effect of gamma irradiation and moisture content on decontamination of sewage sludge. *Bioresour. Technol.* **90**, 139–43 (2003)
- Bager F., Madsen M., Christensen J., Aarestrup F.M.: Avoparacin used as a growth promoter in associated with the occurrence of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* on Danish poultry and pig farms. *Prev. Vet. Med.* **31**, 95–112 (1997)
- Baloda S.B., Christensen I., Trajcevska S.: Persistence of a *Salmonella enterica* serovar typhimurium DT12 clone in a piggery and in agricultural soil amended with *Salmonella*-contaminated slurry. *Appl. Environ. Microbiol.* **67**, 2859–2862 (2001)
- Bass L., Lichert C.A., Lee M.D., Summers A.O., White D.G., Thayer S.G., Maurer J.J.: Incidence and characterization of integrons, genetic elements, mediating, multiple drug resistance in avian *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agent. Chem.* **43**, 2925–2929 (1999)
- Bazeli M.: Higieniczna i sanitarna ocena osadów pościekowych uzdatnianych przy użyciu wybranych metod fizycznych i chemicznych. Rozprawa doktorska. Akademia Techniczno-Rolnicza. Bydgoszcz, 2005
- Besser R.E., Lett S.M., Weber J.T., Doyle M.P., Barret T.J., Wells J.G., Griffin P.M.: An outbreak of diarrhea and hemolytic uremic syndrome from *Escherichia coli* O157:H7 in freshpressed apple cider. *J. Am. Assoc.* **269**, 2217–2220 (1993)
- Biernasiak J., Śliżewska K., Libudzisz Z.: Negatywne skutki stosowania antybiotyków. *Post. Nauk Rol.* **3**, 105–117 (2010)
- Biernasiak J., Śliżewska K., Libudzisz Z.: Probiotyki w żywieniu zwierząt. *Post. Nauk Rol.* **3**, 119–132 (2010)
- Böhm R.: Epidemiological risks related to chicken manure and strategies for the validation of treatment methods under the aspect of hygienic safety. Universität Hohenheim, Stuttgart, 2005
- Botner A., Belsham G.J.: Virus survival in slurry: analysis of the stability of foot-and-mouth disease, classical swine fever, bovine viral diarrhoea and swine influenza viruses. *Vet. Microbiol.* **157**, 41–49 (2012)
- Burton C.H., Sneth R.W., Misselbrook T.H., Pain B.F.: The effect of farms scale aerobic treatment of piggery slurry on odour concentration, intensity and offensiveness. *J. Agric. Eng. Res.* **71**, 203–211 (1998)
- Burton C.H., Turner C.: Manure Management: Treatment Strategies for Sustainable Agriculture. Silsoe Research Institute, Bedford, 2003
- Cadet J., Bellon S., Douki T., Frelon S., Gasparutto D., Muller E., Pouget J.P., Ravanat J.L., Romieu A., Sauvaigo S.: Radiation-induced DNA damage: formation, measurement, and biochemical features. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.* **23**, 33–43 (2004)
- Carlet J., Jarlier V., Harbarth S., Voss A., Goossens H., Pittet D.: Ready for a world without antibiotics? The Pensières Antibiotic Resistance Call to Action. *Antimicrob. Resist. Infect. Control*, **1**, 11 (2012)
- Cleaveland S., Laurenson M.K., Taylor L.H.: Diseases of humans and their domestic mammals: pathogen characteristics, host range and their risk of emergence. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* **356**, 991–999 (2001)
- Cotta M.A., Whitehead T.R., Zeltwanger R.L.: Isolation, characterization and comparison of bacteria from swine faeces and manure storage pits. *Environ. Microbiol.* **9**, 737–745 (2003)
- Czerwińska E., Kalinowska K.: Warunki prowadzenia procesu fermentacji metanowej w biogazowni. *Technika Rolnicza Ogrodnicza Leśna.* **2**, 12–14 (2014)
- Derbyshire J.B., Brown E.G.: The inactivation of viruses in cattle and pig slurry by aeration or treatment with calcium hydroxide. *J. Hyg. Camb.* **82**, 293–299 (1979)
- Duffy G.: Verocytotoxic *Escherichia coli* in animal faeces, manures and slurries. *J. Appl. Microbiol.* **94**, Supplement s1, 94–103 (2003)
- Dyrektorywa 91/676/EWG z dnia 12 grudnia 1991 r. dotycząca ochrony wód przed zanieczyszczeniami powodowanymi przez azotany pochodzenia rolniczego [Dz.Urz. WE L375 z 31.12.1991]
- van Duijn P.J., Dautzenberg M.J., Oostdijk E.A.: Recent trends in antibiotic resistance in European ICUs. *Curr. Opin. Crit. Care.* **17**, 658–665 (2011)
- Friesea A., Schulz J., Hoehle L., Fetsch A., Tenhagen B.-A., Hartung J., Roesler U.: Occurrence of MRSA in air and housing environment of pig barns. *Vet. Microbiol.* **158**, 129–135 (2012)
- Gantzer C., Gaspard P., Galvez L., Huyard A., Dumouthier N., Schwartzbrod J.: Monitoring of bacterial and parasitological contamination during various treatment of sludge. *Water Res.* **35**, 3763–3770 (2001)
- Graczyk M.: Kryteria stabilizacji stężonych ścieków i osadów ściekowych. Instytut Inżynierii Sanitarnej. WSIInż, Zielona Góra, 1986
- Guan T.Y., Holley R.A.: Pathogen survival in swine manure environments and transmission of human enteric illness – a review. *J. Environ. Qual.* **32**, 383–392 (2003)
- Graveland H., Duim B., van Duijkeren E., Heederik D., Wagenaar J.A.: Livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in animals and humans. *Int. J. Med. Microbiol.* **301**, 630–634 (2011)
- Hatch D.J., Chadwick D.R., Jarvis S.C., Roker J.A.: Controlling nitrogen flows and losses. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, 2004
- Heinonen-Tanski H., Niskanen E.M., Mielonen M.M., Räsänen H., Valta T., Leinonen P., Rinne K., Joki-Tokola E.: Aeration improves the hygiene of cattle slurry and the hygiene of grass forage and silage. *Acta Agric. Scand., B Soil Plant.* **48**, 212–221 (1998)
- Heinonen-Tanski H., Mohaibes M., Karinen P., Koivunen J.: Methods to reduce pathogen microorganisms in manure. *Livestock Sci.* **102**, 248–255 (2006)
- Heuer H., Schmitt H., Small K.: Antibiotic resistance gene spread due to manure application on agricultural fields. *Curr. Opin. Microbiol.* **14**, 236–243 (2011)
- Himathongkham S., Riemann H., Bahari S., Nuanualsuwan S., Kass P., Cliver D.O.: Survival of *Salmonella* Typhimurium and *Escherichia coli* O157:H7 in poultry manure and manure slurry at sublethal temperatures. *Avian Dis.* **44**, 853–860 (2000)
- Hölzel C.S., Schwaiger K., Harms K., Küchenhoff H., Kunz A., Meyer K., Müller C., Bauer J.: Sewage sludge and liquid pig manure as possible sources of antibiotic resistant bacteria. *Environ. Res.* **110**, 318–326 (2010)

35. Hunter P, Piddock L.J. i wsp.: Antimicrobial-resistant pathogens in animals and man: prescribing, practices and policies. *J. Antimicrob. Chemother.* **65**, Supl. 1, i3–i17 (2010)
36. Hutchison M.L., Walters L.D., Moore A., Avery S.M.: Declines of zoonotic agents in liquid livestock wastes stored in batches on-farm. *J. Appl. Microbiol.* **99**, 58–65 (2005)
37. Jankowska-Huflejt H.: Stosowanie gnojowicy na użytkach zielonych (w) *Poradnik Gospodarski* 12, 2004, s. 22–24
38. Jones D.L.: Potential health risks associated with the persistence of *Escherichia coli* O157 in agricultural environments. *Soil Use Manage.* **15**, 76–83 (1999)
39. Kearney T.E., Larkin M.J., Levet P.N.: The effect of slurry storage and anaerobic digestion on survival of pathogenic bacteria. *J. Appl. Bacteriol.* **74**, 86–93 (1993)
40. Kearney T.E., Larkin M.J., Frost J.P., Levett P.N.: Survival of pathogenic bacteria during mesophilic anaerobic digestion of animal waste. *J. Appl. Bacteriol.* **75**, 215–219 (1993)
41. Kim H.B., Lyoo K.S., Joo H.S.: Efficacy of different disinfectants in vitro against porcine circovirus type 2. *Vet. Record.* **164**, 599–600 (2009)
42. Kim K.R., Owens G.R., Kwon S.I., So K.H., Lee D.B., Ok Y.S.: Occurrence and environmental fate of veterinary antibiotics in the terrestrial environment. *Water Air Soil Pollut.* **214**, 163–174 (2011)
43. Kodeks Dobrej Praktyki Rolniczej. Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi, Ministerstwo Środowiska, 2002
44. Kołacz R., Dobrzański Z. Higiena i dobrostan zwierząt gospodarskich. Akademia Rolnicza we Wrocławiu, Wrocław, 2006
45. Kozak G.K., Boerlin P., Janecko N., Reid-Smith R.J., Jardine I.C.: Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolates from swine farms and in natural environments in Ontario, Canada. *Appl. Environ. Microbiol.* **75**, 559–566 (2009)
46. Köck, R., Mellmann F.A., Koksall M., Jurke A., Becker K. i wsp.: Livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) as causes of human infection and colonization in Germany. *PLoS One*, **8**, e55040 (2013)
47. Kudva I.T., Blanch K., Hovde C.J.: Analysis of *Escherichia coli* O157:H7 survival in ovine or bovine manure and manure slurry. *Appl. Environ. Microbiol.* **64**, 3166–3174 (1998)
48. Kuk S-H., S-M. Kim, W-G. Kang, B. Han: High-power accelerator for environmental applications. *J. Korean Phys. Soc.* **59**, 3485–3488 (2011)
49. Kumar R., Gupta M.K., Kanwar S.S.: Fate of bacterial pathogens in cattle dung slurry subjected to anaerobic digestion. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **15**, 335–338 (1999)
50. Kumar D., Shivay Y.S.: Definitional Glossary of Agricultural Terms, Vol. II., I.K. International Publishing House Pvt. Ltd, New Delhi, 2008
51. Kuś J., Jończyk K.: Dobra Praktyka Rolnicza w gospodarstwie rolnym. Materiały szkoleniowe projektu: „Upowszechnianie Kodeksu Dobrej Praktyki Rolniczej wśród rolników”, Radom, 2005
52. Lallai A., Mura G., Onnis N.: The effects of certain antibiotics on biogas production in the anaerobic digestion of pig waste slurry. *Bioresour. Technol.* **82**, 205–208 (2002)
53. Ledakowicz S., Krzystek L.: Wykorzystanie fermentacji metabolicznej w utylizacji odpadów przemysłu rolno-spożywczego. *Biotechnologia* **3**, 165–183 (2005)
54. Maćkowiak C.: Zasady stosowania gnojowicy. Zalecenia nawozowe cz. IV. Wydawnictwo IUNG, Puławy, 1994
55. Maćkowiak C.: Gnojowica, jej właściwości i zasady stosowania z uwzględnieniem ochrony środowiska. Materiały szkoleniowe 75/99, Wydawnictwo IUNG, Puławy, 1999
56. Marshall B.M., Levy S.B.: Food animals and antimicrobials: impacts on human health. *Clin. Microbiol. Rev.* **24**, 718–733 (2011)
57. Martens W., Böhm R.: Overview of the ability of different treatment methods for liquid and solid manure to inactivate pathogens. *Bioresour. Technol.* **100**, 5374–5378 (2009)
58. Martens W., Fink A., Phillip W., Weber W., Winter D., Böhm R.: Inactivation of viral and bacterial pathogens in large scale slurry treatment plants (w) Proceedings from RAMIRAN 98 8th Int. Conf. on Management Strategies for Organic Waste Use in Agriculture, red. J. Martinez i M.N. Maudet, Cemagref, Rennes, 1998, s. 529–539
59. Mc Carthy G., Lawlor P.G., Coffey L., Nolan T., Gutierrez M., Gardiner G.E.: An assessment of pathogen removal during composting of the separated solid fraction of pig manure. *Bioresour. Technol.* **102**, 9059–9067 (2011)
60. McGee P., Bolton D.J., Sheridan J.J., Earley B., Leonard N.: The survival of *Escherichia coli* O 157:H7 in slurry from cattle fed different diets. *Lett. Appl. Microbiol.* **32**, s. 152–155 (2001)
61. Michalik J.: Sterylizacja radiacyjna przeszczepów tkankowych. Wyd. Instytut Chemii i Techniki Jądrowej, Warszawa, 2009
62. Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi Departament Bezpieczeństwa Żywności i Weterynarii Przeciwbakteryjne produkty lecznicze weterynaryjne w 2012 roku w Polsce, http://www.wetgiw.gov.pl/index.php?action=art&a_id=4417 (16 kwietnia 2015 roku)
63. Mohaibes M., Heinonen-Tanski H.: Aerobic thermophilic treatment of farm slurry and food wastes. *Bioresour. Technol.* **95**, 245–254 (2004)
64. Nahm K.H.: Influences of fermentable carbohydrates on shifting nitrogen excretion and reducing ammonia emission of pigs. *Crit. Rev. Environm. Sci. Technol.* **33**, 165–186 (2003)
65. Nelson H.: The contamination of organic produce by human pathogens in animal manures. Ecological Agriculture Projects Faculty of Agricultural and Environmental Sci., McGill Univ. (Macdonald Campus), Ste-Anne-de-Bellevue, QC, Canada, 1997
66. Nijsten R., London N., Van de Bogaard A., Stobberingh E.: Antibiotic resistance among *Escherichia coli* isolated from fecal samples of pig farmers and pigs. *J. Antimicrob. Chemother.* **37**, 1131–1140 (1996)
67. Olsen J.E., Larsen H.E.: Bacterial decimation times in anaerobic digestions of animal slurries. *Biol. Wastes.* **21**, 153–168 (1987)
68. Olszewska H., Paluszak Z., Szejniuk B.: Badania przeżywalności drobnoustrojów *Salmonella* Enteritidis w gnojowicy, ścieku bytowym i wodzie w warunkach laboratoryjnych., Materiały na sympozjum: Problemy higieny w ekologicznej rolnictwa. SGGW, Warszawa, 1997, s. 208–213
69. Olszewska H., Skowron K., Skowron K.J., Gryń G., Świąder A., Rostankowska Z., Dębicka E.: Przeżywalność wybranych bakterii wskaźnikowych w składowanej gnojowicy świńskiej. *Ekologia i Technika*, **111**, 62–68 (2011)
70. Olszewska H., Skowron K.: Effect of storage temperature and type of slurry on survivability of *Salmonella*. *J. Cent. Eur. Agric.* **14**, 369–375 (2013)
71. Paluszak Z.: Badania nad zachowaniem i przeżywalnością wybranych drobnoustrojów fekalnych w glebie nawozonej gnojowicą. Rozprawy nr 85. Wydawnictwo Uczelniane ATR, Bydgoszcz, 1998
72. Paluszak Z., Bazeli M., Hermann J., Bauza-Kaszewska J.: Mikrobiologiczne badania osadów pościekowych higienizowanych tlenkiem wapnia. *Med. Wet.* **62**, 1427–1430 (2006)
73. Panseri S., D’Imporzano G., Pognani M., Cavalli M., Chiesa L., Adani F.: Effect of veterinary antibiotics on biogas and bio-methane production. *Int. Biodeter. Biodegr.* **85**, 205–209 (2013)
74. Park G.W., Diez-Gonzalez F.: Utilization of carbonate and ammonia-based treatments to eliminate *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* Typhimurium DT104 from cattle manure. *J. Appl. Microbiol.* **94**, 675–685 (2003)

75. Pell A.N.: Manure and microbes: Public and animal health problem. *J. Dairy Sci.* **80**, 2673–2861 (1997)
76. Pesaro F, Sorg I., Metzler A.: In situ inactivation of animal viruses and a coliphage in nonaerated liquids and semiliquid animal wastes. *Appl. Environ. Microbiol.* **61**, 92–97 (1995)
77. Placha I., Venglovsky J., Makova Z., Martinez J.: The elimination of *Salmonella* Typhimurium in sewage sludge by aerobic mesophilic stabilization and lime hydrated stabilization. *Bioresour. Technol.* **99**, 4269–4274 (2008)
78. Plachy P., Placha I., Vargova M.: Effects of physico-chemical parameters of sludge aerobic exothermic stabilisation on the viability of *Ascaris suum* eggs. *Helminthologia* **32**, 233–237 (1995)
79. Rho H., Bongjin S., Okbok L., Choi Y.-H., Rho J., Lee J.: Antibiotic resistance profile of bacterial isolates from animal farming aquatic environments and meats in a peri-urban community in Daejeon, Korea. *J. Environ. Monit.* **14**, 1616–1621 (2012)
80. Romaniuk W.: Gospodarka gnojowicą i obornikiem. Wydawnictwo NFOŚiGW EKO-efekt, Warszawa, 1995
81. Ros M., García C., Hernández T.: A full-scale study of treatment of pig slurry by composting: Kinetic changes in chemical and microbial properties. *Waste Manage.* **26**, 1108–1118 (2006)
82. Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 23 grudnia 2002 r. w sprawie szczegółowych wymagań, jakim powinny odpowiadać programy działań mających na celu ograniczenie odpływu azotu ze źródeł rolniczych [Dz.U. 2003 nr 4 poz. 44]
83. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 16 kwietnia 2008 r. w sprawie szczegółowego sposobu stosowania nawozów oraz prowadzenia szkoleń z zakresu ich stosowania [Dz.U. 2008 nr 80 poz. 479]
84. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 18 czerwca 2008 r. w sprawie wykonania niektórych przepisów Ustawy o nawozach i nawożeniu [Dz.U. 2008 nr 119 poz. 765]
85. Rzewuska M.: Antybiotykooporność Gram-ujemnych pałeczek wytwarzających beta-laktamazy. *Życie wet.* **84**, 200 (2009)
86. Sánchez M., González J.L.: The fertilizer value of pig slurry. I. Values depending on the type of operation. *Bioresour. Technol.* **96**, 1117–1123 (2005)
87. Sahlstrom L.: A Review of survival of pathogenic bacteria in organic waste used in biogas plants. *Bioresour. Technol.* **87**, 161–166 (2003)
88. Semenov A.V., Overbeek L., Termorshuizen A.J. i van Bruggen A.H.C.: Influence of aerobic and anaerobic conditions on survival of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in Luria Bertani broth, farm-yard manure and slurry. *J. Environ. Manage.* **92**, 780–787 (2011)
89. Skowron K., Olszewska H., Paluszak P., Skowron K.J. i Bauza-Kaszewska J.: Use of the Filter-Sandwich carriers in continuous effectiveness monitoring of slurry treatment methods as an element improving biosafety in agriculture. *Ann. Agric. Environ. Med.* **20**, 252–258 (2013)
90. Skowron K., Olszewska H., Paluszak Z., Zimek Z., Kałuska I., Skowron K.J.: Radiation hygienization of cattle and swine slurry with high energy electron beam. *Radiat. Phys. Chem.* **87**, 88–96 (2013)
91. Strauch D.: Survival of pathogenic micro-organisms and parasites in excreta, manure and sewage sludge. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* **10**, 813–846 (1991)
92. Strauch D., Ballarini G.: Hygienic aspects of the production and agricultural use of animal wastes. *J. Vet. Med. B.* **41**, 176–228 (1994)
93. Szember A.: Zarys mikrobiologii rolniczej. Wydawnictwo Akademii Rolniczej WAR, Lublin, 1997
94. Tappouni Y.A.: The fate of *Salmonella* in anaerobic digestion. PhD Thesis, University College, Cardiff, 1984
95. Thiele-Bruhn S. i Peters D.: Photodegradation of pharmaceutical antibiotics on slurry and soil surfaces. *Landbauforschung Völkenrode*, **1**, 13–23 (2007)
96. Turner C., Burton C.H.: The inactivation of viruses in pig slurries: A review. *Bioresour. Technol.* **61**, 9–20 (1997)
97. Ustawa z dnia 10 lipca 2007 r. o nawozach i nawożeniu [Dz.U. 2007 nr 147 poz. 1033]
98. Vanderhaeghen W., Hermans K., Haesebrouck F. i Butaye P.: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in food production animals. *Epidemiol. Infect.* **138**, 606–625 (2010)
99. Venglovsky J., Sasakova N. i Placha I.: Pathogens and antibiotic residues in animal manures and hygienic and ecological risks related to subsequent land application. *Bioresour. Technol.* **100**, 5386–5391 (2009)
100. Vignaroli C., Zandri G., Aquilanti L., Pasquaroli S., Biavasco F.: Multidrug-resistant enterococci in animal meat and faeces and co-transfer of resistance from an *Enterococcus durans* to a human *Enterococcus faecium*. *Curr. Microbiol.* **62**, 1438–1447 (2011)
101. Watabe M., Rao J.R., Stewart T.A., Xu J., Millar B.C., Xiao L., Lowery C.J., Dooley J.S. i Moore J.E.: Prevalence of bacterial faecal pathogens in separated and unseparated stored pig slurry. *Letts. Appl. Microbiol.* **36**, 208–212 (2003)
102. Wegener H.C.: Antibiotics in animal feed and their role in resistance development. *Curr. Opin. Microbiol.* **6**, 439–445 (2003)
103. Wellington E.M.H., Boxall A.B.A., Cross P., Feil E.J., Gaze W.H.: The role of the natural environment in the emergence of antibiotic resistance in Gram-negative bacteria. *The Lancet Infectious Diseases* **13**, 155–165 (2013)
104. Wong J.W.C., Selvam A.: Reduction of indicator and pathogenic microorganisms in pig manure through fly ash and lime addition during alkaline stabilization. *J. Hazard. Mater.* **169**, 882–889 (2009)
105. Worwąg M., Bień J., Zawieja I.: Zespoły mikroorganizmów w procesach beztlenowej stabilizacji osadów. Proceedings of EC Opole. **4**, 515–522 (2010)
106. Yu Y., Chan W.I., Liao P.H., Lo K.V.: Disinfection and solubilization of sewage sludge using the microwave enhanced advanced oxidation process. *J. Hazard. Mater.* **181**, 1143–1147 (2010)
107. Yuan F., Hu C., Hu X., Wei D., Chen Y. i Qu J.: Photodegradation and toxicity changes of antibiotics in UV and UV/H₂O₂ process. *J. Hazard. Mater.* **185**, 1256–1263 (2011)