

Hygienestatus von Gärrückständen aus österreichischen Biogasanlagen

P. MUCH, M. SINGER, E. PFUNDTNER und E. M. PÖTSCH

Einleitung

Im Zeitraum Herbst 2002 bis Frühjahr 2003 wurden im Zuge des Projekts BAL 2941, „Nährstoffgehalt von Gärrückständen aus landwirtschaftlichen Biogasanlagen und deren Einsatz im Dauergrünland und Ackerbau“ insgesamt 87 Gärrückstände parallel zur Bestimmung des Nährstoffgehalts und der Ausbringungseigenschaften auch mikrobiologisch auf deren Hygienestatus hin untersucht. Dabei wurde der Schwerpunkt auf die hygienische Unbedenklichkeit nach der EU-Klärschlammrichtlinie 86/278/EWG des Rates gelegt. Eine hygienische Unbedenklichkeit ist nach der Empfehlung über den sachgerechten Einsatz von Biogasgülle und Gärrückständen im Acker- und Grünland vom Fachbeirat für Bodenfruchtbarkeit und Bodenschutz dann gegeben, wenn in 50 Gramm Nasssubstanz keine Salmonellen, nicht mehr als 5000 Koloniebildende Einheiten pro Gramm (KBE/g) Nasssubstanz *Enterobacteriaceae* und keine gefährlichen Wurmeier enthalten sind. Neben der Untersuchung auf Salmonellen, Wurmeier und *Enterobacteriaceae* interessierte uns auch noch der Gehalt an *E. coli*, enterohämorrhagische *E. coli*, *Campylobacter* spp., Enterokokken, Listerien inkl. *Listeria monocytogenes* und *Clostridium perfringens* in den Gärrückständen.

Beschreibung der Erreger

Die Familie der *Enterobacteriaceae* stellen eine große Gruppe von meist fakultativ pathogenen Organismen dar, das sind Mikroorganismen, die nur unter Vorliegen infektionsbegünstigender Faktoren Krankheiten auslösen können, zu denen aber auch die Gattung der Salmonellen, aber auch die Species *Escherichia coli*, auch als *E. coli* bezeichnet, oder der Erreger der Pest, *Yersinia pestis* zählen.

Die fakultativ pathogenen Vertreter dieser Familie stellen einen Teil der normalen Darmflora beim Menschen und den meisten Warmblütern dar. Gelangen diese Erreger z. B. nach Verletzungen in die Blutbahn können sie schwerste Infektionen, so genannte Blutvergiftungen auslösen. Zur Gruppe der obligat pathogenen *E. coli* gehören unter anderem auch die enterohämorrhagischen *E. coli*, (= EHEC), die schwere Entzündungen des Dickdarmes, aber auch Symptome außerhalb des Darmes auslösen können. Diese EHEC-Bakterien bilden dabei ein Gift, das als Shiga Toxin bezeichnet wird. Dieses Toxin kann in die Nieren gelangen, wo es sich sammelt und schwere Schäden verursacht, die zur Funktionsunfähigkeit der Nieren führen können. Die Erkrankung kann mit einer Nierentransplantation enden, kann aber auch zum Tode führen. Diese Komplikationen, die auch als Hämolytisch Urämisches Syndrom (HUS) bezeichnet werden, treten vor allem bei Kindern auf, was eine EHEC-Infektion besonders dramatisch macht. Solche Bakterien, die vom Tier auf den Menschen und umgekehrt übertragen werden, nennt man Erreger von Zoonosen, die u. a. über rohes Fleisch oder über kontaminierte Milch ihren Weg in die menschliche Nahrungskette finden.

Die Spezies der Salmonellen, ebenfalls Zoonoseerreger, sind bekannt als wichtige darmpathogene Krankheitserreger, die durch Wasser und durch verseuchte Nahrungsmittel übertragen werden. Viele der humanen darmpathogenen Salmonella-Varianten haben ihren ursprünglichen Lebensraum im Darm oder sogar im Magen von Tieren, ihre hohe Widerstandsfähigkeit ermöglicht ihnen das wochen- bzw. monatelange Überleben in der kontaminierten Umwelt. Werden sie von Wiederkäuern, Geflügel oder Schweinen auf den Menschen übertra-

gen - dies kann durch kontaminiertes Fleisch oder durch infizierte Eier geschehen-, dann lösen sie Darminfektionen - die Salmonellosen aus. Die Salmonellosen äußern sich nach einer Inkubationszeit von meist nur 5 - 72 Stunden durch Durchfälle, Leibschmerzen, Fieber, Übelkeit, Erbrechen und Kopfschmerzen. Pathogene Salmonellen können in menschliche Zellen eindringen und sich in einem durch Membranen umhüllten, vor dem Immunsystem geschützten Raum, der Vakuole vermehren. Dadurch können sich Dauerausscheider entwickeln, die 3 - 6 Wochen, Säuglinge noch länger, Salmonellen ausscheiden und damit für das Umfeld wiederum Ansteckungsquellen darstellen.

Einen weiteren bedeutsamen Erreger von Zoonosen stellen die Campylobakter-Bakterien dar, die ebenfalls als Kommensalen des Gastrointestinaltrakts von Haus- und Wildtieren vorkommen aber bei den genannten Tieren und dem Menschen Darmerkrankungen auslösen, bei Menschen vermutlich sogar das wichtigste bakterielle durchfallauslösende Agens darstellen; diese Mikroorganismen können beim Menschen auch extraintestinale, neurologische Komplikationen verursachen, die zu schlaffen Lähmungen führen.

Ein anderer Darmbewohner sind die Enterokokken, die außerhalb des Darmes, wie schon weiter oben für die Enterobakterien beschrieben, wenn sie an den falschen Ort im Körper geraten, Blutvergiftungen oder Harnwegsinfektionen auslösen können. Ungefährliche Arten der Enterokokken werden in der Milchverarbeitenden Industrie, zum Beispiel für die Herstellung von Joghurts verwendet.

Die beiden letzten Bakterienfamilien, auf die noch kurz beschrieben werden sollen, stellen die Listerien und Clostridien

Autoren: Dr. Peter MUCH, AGES, Institut für Veterinärmedizinische Untersuchungen Mödling und Dr. Erwin PFUNDTNER, Institut für Bodengesundheit und Pflanzenernährung, Spargelfeldstraße 191, A-1226 WIEN, Univ.DoZ. Dr. Erich M. PÖTSCH und Meinhard SINGER, Bundesanstalt für Alpenländische Landwirtschaft Gumpenstein, A-8952 IRDNING

dar. Diese beiden sind ubiquitär in der Umwelt, besonders in der Erde vorhanden, wodurch sie von unseren pflanzenfressenden Haustieren besonders leicht aufgenommen und deshalb ebenfalls im Darm häufig angetroffen werden können. Die Listerien weisen die Fähigkeit des Wachstums bei niedrigen Temperaturen, z. B. bei 4 °C auf, was zur Folge hat, dass sich ein krankmachender Vertreter dieser Gruppe, nämlich *Listeria monocytogenes* in kontaminierten Speisen wie Käse, Salat oder Fleisch auch im Kühlschrank vermehren kann. Nehmen schwangere Frauen diese Keime auf, besteht die Möglichkeit eines Übergangs der Infektion auf das ungeborene Kind mit der Gefahr, dass das Kind infiziert geboren wird oder es zu einer Früh- oder Totgeburt kommt. Bei den Clostridien möchte ich nur auf *Clostridium perfringens* eingehen, die entweder Wundinfektionen, den Gasbrand oder schwere Darminfektionen, den Darmbrand auslösen können. Diese Bakterien weisen als Besonderheit die Fähigkeit auf, dass sie Dauerformen, so genannte Endosporen ausbilden können, die unter für das Bakterium ungünstigen Lebensbedingungen gebildet werden und in diesem Stadium jahrelang überleben können, ähnlich, wie es für den Erreger des Milzbrandes, *Bacillus anthracis* bekannt ist.

Wurmeier von Parasiten, die z. B. die Lunge, die Gallengänge der Leber oder den Darm von Mensch und Tier besiedeln können und dann über den Darm ausgeschieden werden, können im Menschen als Endwirt, Zwischenwirt oder auch als Fehlwirt, abhängig vom betroffenen Organ Krankheiten auslösen.

Untersuchte Erreger

Die 87 Gärrückstände wurden auf die oben beschriebenen Bakterien hin untersucht. Dabei interessierte uns, ob in 50 g Nasssubstanz lebensfähige Salmonellen und Listerien und in 0,5 g Shigatoxin bildende *E. coli* nachweisbar waren, sowie die Anzahl an *Enterobacteriaceae*, *E. coli*, *Campylobacter* spp., Enterokokken, *Clostridium perfringens* und Wurmeier.

Ergebnisse

Die Beurteilung der mikrobiologischen Untersuchungen der Gärrückstände nach

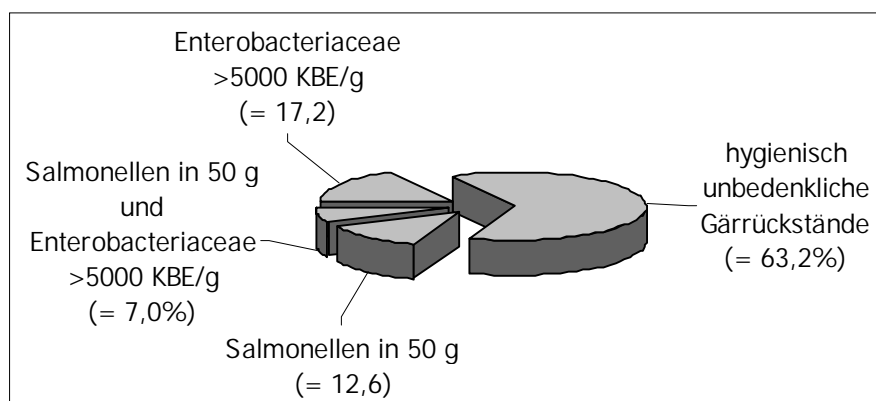


Abbildung 1: Hygienisch unbedenkliche und bedenkliche Gärrückstände mit Darstellung der Verteilung der nachgewiesenen, für die hygienische Bedenklichkeit relevanten Bakterien

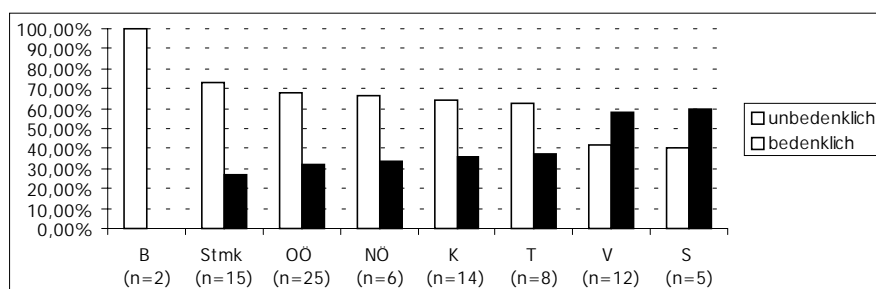


Abbildung 2: Hygienische Beschaffenheit der untersuchten Gärrückstände in den Bundesländern

den Empfehlungen des Fachbeirates für Bodenfruchtbarkeit und Bodenschutz - keine Salmonellen in 50 g Nasssubstanz, weniger als 5000 KBE je Gramm *Enterobacteriaceae*, keine gefährlichen Wurmeier - ergab, dass 32 Gärrückstände, das sind 36,8 % der untersuchten Proben bedenklichen Hygienestatus aufwiesen.

Dabei konnten Wurmeier in keinem der untersuchten Gärrückstände nachgewiesen werden. In 6 der hygienisch bedenklichen Proben wurden sowohl Salmonellen als auch eine zu hohe Anzahl von Enterobakterien gefunden, in 15 Proben lag nur die Anzahl der Enterobakterien

über dem empfohlenen Wert und in 11 weiteren Proben wurden nur Salmonellen nachgewiesen.

Die Verteilung der hygienischen Beschaffenheit der Gärrückstände in den Bundesländern mit der Anzahl der untersuchten Proben kann *Abbildung 2* entnommen werden, wobei nur 2 Gärrückstände aus dem Burgenland untersucht wurden.

Die Auswertungen der im Fragebogen erhobenen sowie der mikrobiologisch ermittelten Daten zeigte, dass die hygienische Beschaffenheit der Gärrückstände zum Teil vom verwendeten Substrat

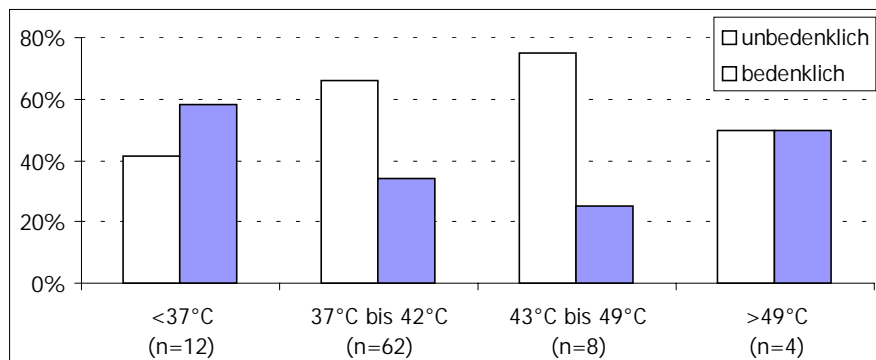


Abbildung 3: Auswirkung der Temperatur im Fermentor auf den Hygienestatus der untersuchten Gärrückstände

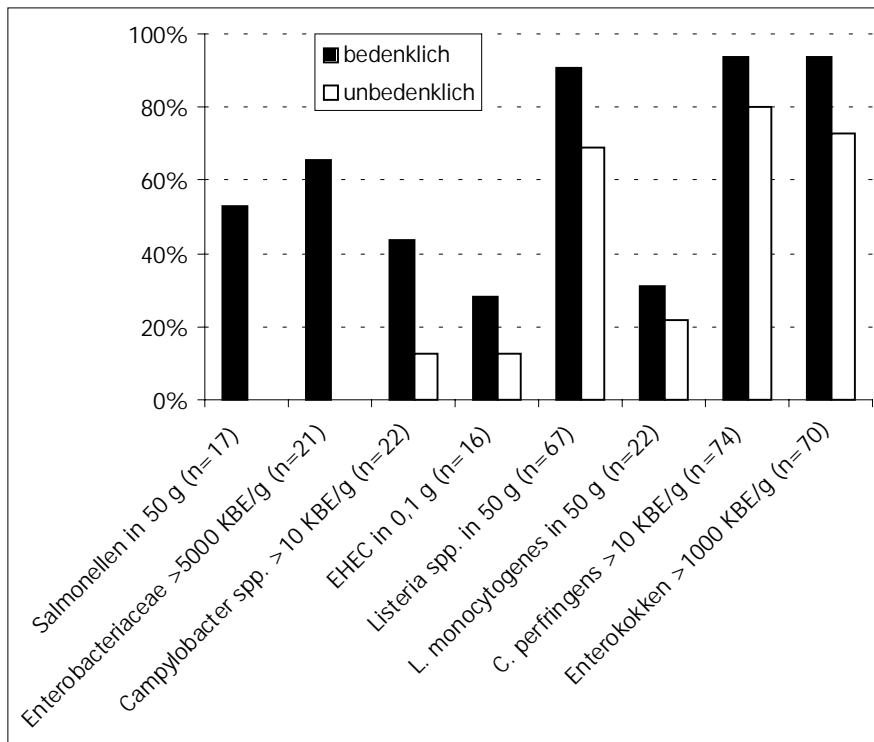


Abbildung 4: Vergleich der hygienisch bedenklichen mit den unbedenklichen Gärrückständen nach dem Gehalt an den untersuchten Bakterien

abhängig sein kann: So fiel auf, dass die untersuchten Rückstände aus Anlagen mit eingeleiteter Gülle aus der Milchkuhhaltung (n = 54) zu 50 %, aber aus Anlagen ohne Gülle aus der Milchkuhhaltung (n = 31) nur zu 16 % hygienisch bedenklich waren. Interessant erscheint auch, dass, wenn kein organischer Abfall (n = 10) verwendet wurde, nur 10 % der untersuchten Proben hygienisch bedenklich waren, hingegen 40 % der Gärrückstände, in die organische Abfälle eingeleitet wurden. Keinen entscheidenden Einfluss auf die hygienischen Aspekte scheint der Einsatz nachwachsender Rohstoffe, wie Grassilage, Grünschnitt oder Silomais zu haben, ebenso wie das Einleiten häuslicher Abwässer, wobei aber darauf hingewiesen werden soll, dass die untersuchten Gärrückstände mit eingeleiteten häuslichen Abwässern zu einem geringeren Anteil hygienische Bedenklichkeit aufwiesen.

Die Auswirkung der Fermentortemperatur auf den Hygienestatus von 86 Gärrückständen (zu 1 Probe waren keine Angaben verfügbar), dargelegt in *Abbildung 3* zeigt, wie erwartet, dass mit der Erhöhung der Temperatur im Fermenter die hygienische Bedenklichkeit abnimmt. Als so genannter „Ausreißer“ in dieser Grafik sind die Werte für den Temperaturbereich >49 °C zu sehen, da nur 4 Fermentoren in diese Kategorie gehören. Überraschend erscheint, dass es im Temperaturbereich von 37 °C bis 42 °C, in dem sich Salmonellen und *E. coli* bekanntermaßen gut vermehren, trotzdem zu einer gewissen Hygienisierung kommen muss.

Ein Blick auf zeitliche Verteilung der Probenziehung (November 02 bis März 02) zeigte, dass sich das Verhältnis an hygienisch bedenklichen zu unbedenklichen Fermentationsendprodukten in später gezogenen Proben zu früher gezogenen nicht verändert hat. Das dürfte

ein Hinweis darauf sein, dass die Vielfalt der bakteriellen Spezies und die Gesamtkeimzahl nach Abschluss der Fermentation über einen langen Zeitraum erhalten bleiben. Diese Beobachtung deckt sich mit Literaturstellen, in denen beschrieben ist, dass pathogene Mikroorganismen mit der Zeit absterben, die Absterberate aber von den Umweltfaktoren abhängt, wobei unter einigen Bedingungen, wie pH-Wert, Temperatur, Anzahl und Art der enthaltenen pathogenen Bakterien, Anteil an kompetitiven Mikroorganismen die Bakterien etliche Monate überleben können.

Die Ergebnisse aus den weiteren mikrobiologischen Untersuchungen sind in der *Abbildung 4* dargestellt. Es fällt dabei auf, dass *Campylobacter*, EHEC, *Listeria*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens* und Enterokokken zu einem höheren Prozentsatz in den hygienisch bedenklich eingestuften Gärrückständen gefunden wurden.

Zusammenfassung

Abschließend muss festgehalten werden, dass über ein Drittel der untersuchten Gärrückstände den Empfehlung über den sachgerechten Einsatz von Biogasgülle und Gärrückständen im Acker- und Grünland, festgelegt vom Fachbeirat für Bodenfruchtbarkeit und Bodenschutz entsprechend der EU-Klärschlammrichtlinie 86/278/EWG, für die hygienische Unbedenklichkeit, wonach Salmonellen in 50 g Nasssubstanz und Wurmeier nicht nachgewiesen werden sollen, die Anzahl an *Enterobacteriaceae* in 1 g unter 5000 KBE liegen sollen, nicht entsprochen haben. Wie weit nun von den pathogenen Keimen in diesen Rückständen eine Gefahr ausgehen kann, hängt von vielen Faktoren ab, u.a. wie lange die Gülle gelagert wird, wie und zu welchem Zeitpunkt in der Vegetationsphase sie ausgebracht wird, wie lange nach der Ausbringung mit der Beweidung gewartet wird und natürlich welche klimatischen Bedingungen jeweils vorliegen.