

Wpłynęło 16.10.2017 r.
Zrecenzowano 8.12.2018 r.
Zaakceptowano 22.01.2018 r.
A – koncepcja
B – zestawienie danych
C – analizy statystyczne
D – interpretacja wyników
E – przygotowanie maszynopisu
F – przegląd literatury

WŁAŚCIWOŚCI MIKROBIOLOGICZNE OBORNIKA W BEZSTAJENNYM I BOKSOWYM SYSTEMIE UTRZYMANIA KONI

Katarzyna WOLNY-KOŁADKA^{ABCDEF},
Barbara BŁOK^{BDF}, **Anna KUŚ**^{BDF}

Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Wydział Rolniczo-Ekonomiczny, Katedra Mikrobiologii

Streszczenie

Dobrostan zwierząt oraz higiena pracowników ośrodków jazdy konnej, a także zachowanie odpowiedniego stanu czystości na terenie stajni to sposób na zapobieganie rozprzestrzenianiu się drobnoustrojów patogennych. Obornik jest źródłem mikroorganizmów odzwierciedlających naturalną mikroflorę jelita zwierząt. Drobnoustroje te charakteryzuje znikoma zjadliwość, jednak w stanach chorobowych zwierzęcia odchody mogą być źródłem szczepów patogennych wywołujących zoonozy i epizootie. Dlatego celem niniejszej pracy była ocena właściwości mikrobiologicznych obornika w trzech ośrodkach jazdy konnej różniących się sposobem utrzymania koni. Analizie poddano obornik pobrany z jednego ośrodka, prowadzącego bezstajenny tryb hodowli koni, oraz dwóch różniących się wielkością stajni boksowych. Obornik pobierano przez trzy lata (2015–2017), cztery razy w roku (wiosna, lato, jesień, zima), w celu uwzględnienia zjawiska sezonowości. Liczebność wybranych mikroorganizmów, tj. bakterie tlenowe mezofilne, grzyby pleśniowe, *Staphylococcus* spp., *E. coli* i *Salmonella* spp., określano metodą seryjnych rozcieńczeń według Kocha. Stwierdzono, że system utrzymania koni wpływa na występowanie badanych drobnoustrojów. Obornik pobrany z największego ośrodka jeździeckiego, prowadzącego boksowy system utrzymania koni, był najliczniej zasiedlony przez mikroorganizmy. W badanych próbkach zidentyfikowano m.in. bakterie *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Salmonella* spp. i *E. coli* oraz grzyby z rodzajów *Aspergillus*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Penicillium*, *Trichothecium*, *Cladosporium* i *Alternaria*.

Słowa kluczowe: konie, mikroorganizmy, obornik, system bezstajenny, system boksowy

Do cytowania For citation: Wolny-Koładka K., Błok B., Kuś A. 2018. Właściwości mikrobiologiczne obornika w bezstajennym i boksowym systemie utrzymania koni. Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie. T. 18. Z. 2 (62) s. 99–113.

WSTĘP

Badania dotyczące analizy zagrożeń mikrobiologicznych występujących w budynkach inwentarskich są często prowadzone [SEEDORF 2004; WITKOWSKA i in. 2008; SZADKOWSKA-STANČZYK i in. 2010; BUCZYŃSKA, SZADKOWSKA-STANČZYK 2010; ROUSSEL i in. 2011; KILISZCZYK i in. 2013; ROPEK, FRĄCZEK 2016]. W większości dotyczą one mikrobiologicznego zanieczyszczenia powietrza obór, chlewni i kurników, rzadko spotyka się publikacje dotyczące zanieczyszczenia ściółki [WITKOWSKA i in. 2010], poza tym w dalszym ciągu badacze koncentrują się na pomieszczeniach fermowych. Niestety, zupełnie pomijany jest aspekt oceny potencjalnego zagrożenia ze strony drobnoustrojów zasiedlających obornik pochodzący od koni sportowych i rekreacyjnych. Obecnie w Polsce obserwuje się wzrost zainteresowania jeździectwem. Jazda konna to już nie tylko dziedzina sportowa, ale także forma spędzania wolnego czasu, rekreacja, a nawet rehabilitacja. Polski Związek Jeździecki zrzesza ok. 30 000 osób, które w różny sposób powiązane są z jeździectwem, aż ok. 300 000 osób w Polsce czynnie jeździ konno. Poza rozwojem jeździectwa kwalifikowanego jako sport coraz popularniejszą formą aktywnego wypoczynku jest jazda rekreacyjna i turystyczna [WOLNY-KOŁADKA, MALINA 2017]. Oczywiście, wraz z rozwojem jeździectwa rośnie również poziom oferowanych usług, w tym dużą wagę przywiązuje się do standardów higienicznych panujących w stajniach, ponieważ czystość w boksie konia jest niezwykle istotna z powodów zdrowotnych. Jak podają LLOYD i in. [2003], wilgotna i brudna ściółka jest przyczyną wielu chorób związanych z kopytami (np. gnicie strzałki kopytowej, bakteryjna infekcja skóry – gruda), sierścią i układem oddechowym (ze względu na dużą zawartość amoniaku). Brudna słoma sprzyja także rozwojowi bakterii i grzybów. Według PESARO [1995], obornik pochodzący od zdrowych zwierząt zawiera naturalną mikroflorę jelitową, którą cechuje umiarkowana lub znikoma zjadliwość. W oborniku występować może każdy mikroorganizm, który został wydalony z organizmu zwierzęcia wraz z fekaliami [GUAN, HOLLEY 2003]. Jednak odchody osobników chorych lub bezobjawowych nosicieli stanowią zagrożenie epidemiologiczne dla innych zwierząt oraz ludzi mających z nimi kontakt. Najczęściej izolowanymi bakteriami ze ściółki zmieszanej z końskimi, drobiowymi, bydłecyymi bądź świńskimi odchodami są: *Lactobacillus* spp., *Salmonella* spp., *Klebsiella* spp., *Pseudomonas* spp., *Escherichia coli*, a także *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Aerococcus* spp. i *Micrococcus* spp. Wśród grzybów dominującymi rodzajami są: *Candida*, *Cryptococcus*, *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium*, *Trichosporon* oraz *Aspergillus* [CHMIELOWIEC-KORZENIOWSKA i in. 2008; STRAUCH 1991; WITKOWSKA i in. 2010].

W badaniach prezentowanych w niniejszej pracy oceniano liczebność zasiedlających obornik tlenowych bakterii mezofilnych i grzybów pleśniowych oraz drobnoustrojów, tj. *Staphylococcus* spp., *E. coli* i *Salmonella* spp., które mogą stanowić zagrożenie z epidemiologicznego punktu widzenia. Obornik pobierano w ośrod-

kach jazdy konnej dysponujących dwoma systemami utrzymania koni: boksowym i wolnowybiegowym (system bezstajenny). System boksowy zapewnia zwierzęciu możliwość ograniczonego przemieszczania oraz kontaktu z innymi końmi w jego najbliższym sąsiedztwie. System boksowy jest często stosowany, szczególnie w przypadku ras szlachejnych bądź osobników szczególnie cennych, np. klacze żrebne, ogiery, konie sportowe, ale także egzemplarze agresywnych i chorych. Jest to także bardzo wygodny sposób utrzymania koni, niewymagający częstego ich dozoru, z jednoczesnym łatwym dostępem do zwierząt. Należy pamiętać, że nie jest to optymalny system dla koni, które mają silny instynkt stadny. Natomiast system bezstajenny zapewnia koniom możliwość nieskrępowanego ruchu i kontaktu z innymi osobnikami, co najbardziej odpowiada naturze konia. Wzajemne kontakty w obrębie stada umożliwiają ustalenie hierarchii oraz utrzymanie zwierząt w spokoju. Ważne jest to, aby odpowiednio dobrać poszczególne osobniki, eliminując egzemplarze agresywne i złośliwe. System bezstajenny wymusza cykliczną obserwację koni, w celu ich dozoru, a także poprzez ciągłą obecność zwierząt na pastwisku utrudnia do nich dostęp. System bezstajenny sprawdza się idealnie w przypadku koni rasy huculskiej, wytrzymałych, odpornych na niekorzystne warunki klimatyczne i mających silny instynkt stadny [WARAN 2002]. Niezależnie od systemu utrzymania koni, warunki, w jakich przebywają muszą być na tyle optymalne i dopasowane do ich potrzeb, aby utrzymać je w dobrym zdrowiu i kondycji.

Celem podjętych badań było określenie liczby bakterii tlenowych mezofilnych, grzybów pleśniowych, *Staphylococcus* spp., *E. coli* i *Salmonella* spp., bytujących w oborniku pochodzącym z ośrodków jazdy konnej, w których konie utrzymywane są w dwóch systemach – boksowym i bezstajennym.

METODY BADAŃ

PUNKTY POBIERANIA MATERIAŁU

Badania właściwości mikrobiologicznych obornika prowadzono w trzech, różniących się od siebie sposobem chowu koni ośrodkach jazdy, znajdujących się na terenie Małopolski (Polska). Ośrodek Jazdy Konnej Pegaz w Krakowie (OJK Pegaz) jest przykładem niewielkiej stajni z 7 boksami zamkniętymi oraz 8 typu angielskiego. W ośrodku na stałe znajduje się 13 koni, należących do ras: koń szlachejny półkrwi, koń wielkopolski, kuc szetlandzki, pozostałe 2 szt. to konie prywatnych właścicieli, nieuczestniczące w badaniu. Konie znajdujące się w ośrodku to konie rekreacyjne, poza końmi prywatnymi rotacja koni nie występuje. Punkty pobierania materiału zlokalizowano w każdym z 13 boksów koni należących do OJK Pegaz. Klub Jazdy Konnej Szary w Michałowicach (KJK Szary), to jedna z większych i nowocześniejszych stajni w Polsce, mająca łącznie ok. 100 boksów typu zamkniętego. W KJK Szary znajdują się konie rekreacyjne i sportowe wielu

ras: koń szlachetny półkrwi, koń wielkopolski, kuc szetlandzki, belgijski koń gorącokrwisty. Ośrodek prowadzi także pensjonat dla koni, stąd duża rotacja zwierząt. Dlatego do badań wytypowano 13 koni przebywających stale w tych samych bokсах i tam zlokalizowano punkty pobierania obornika. Stadnina Koni Huculskich w Nielepicach (SKH Nielepice) jako jedyna prowadzi bezstajenny chów zwierząt. Konie rasy huculskiej przebywają na wolnym powietrzu przez cały rok. Hucule trzymane są na pastwiskach w dwóch oddzielonych od siebie stadach (klacze – 10 szt. oraz wałachy – 18 szt. i ogiery – 2 szt.) i korzystają jedynie ze schronień w drewnianych szopach bez drzwi. Dlatego punkty pobierania obornika zlokalizowano w 6 losowo wybranych miejscach, znajdujących się na otwartym powietrzu pod wiatą, gdzie konie oczekują na jeźdźców. Stajnie w OJK Pegaz i KJK Szary sprzątane są codziennie i każdego dnia boksy są ściółkowane. SKH Nielepice ze względu na bezstajenny sposób utrzymania koni nie prowadzi ściółkowania, odchody są w miarę potrzeb usuwane spod wiaty, a ściółka wymieniana na nową.

POBÓR PRÓBEK OBORNIKA I ANALIZA MIKROBIOLOGICZNA

Próbki obornika analizowano co cztery miesiące (wiosna – kwiecień, lato – lipiec, jesień – październik, zima – styczeń), przez 3 lata, co dało 12 terminów pobierania materiału. Każdorazowo próbki obornika pobierano tego samego dnia we wszystkich ośrodkach jazdy konnej: OJK Pegaz (13), KJK Szary (13), SKH Nielepice (6). W każdym z ośrodków jazdy konnej mierzono także temperaturę powietrza (termometr cyfrowy, Biowin, Polska). Świeży obornik pobierano do jałowych pojemników o pojemności 500 ml i niezwłocznie transportowano do laboratorium, gdzie prowadzono analizy mikrobiologiczne z wykorzystaniem metody seryjnych rozcieńczeń według Kocha. Zastosowano podłoża mikrobiologiczne w celu określenia liczebności bakterii tlenowych mezofilnych (agar TSA, BTL, Polska), grzybów pleśniowych (agar MEA, BTL, Polska), *Staphylococcus* spp. (Chapman agar, BTL, Polska), *Escherichia coli* (agar TBX, BTL, Polska), *Salmonella* spp. (agar SS, BTL, Polska). Za pomocą pH-metru (Elmetron, Polska) zmierzono odczyn pobranych próbek obornika. Hodowle inkubowano w następujących warunkach: bakterie tlenowe mezofilne, *Staphylococcus* spp., *Salmonella* spp. 37°C, 24–48 h, grzyby pleśniowe 28°C, 3–5 dni, *E. coli* 44°C, 48 h. Po okresie inkubacji zliczono wyrosnięte kolonie, podając wyniki w jednostkach tworzących kolonie na gram suchej masy obornika (jtk·g⁻¹ s.m.). Przeprowadzono również wstępną identyfikację drobnoustrojów wyizolowanych z obornika z wykorzystaniem kluczy diagnostycznych [DOMSCH i in. 1980; HOLT 1994]. Podczas całego okresu badawczego kontrolowano, czy konie biorące udział w doświadczeniu pozostają w dobrej kondycji i czy nie są leczone farmakologicznie z użyciem antybiotyków, co mogłoby mieć wpływ na mikroflorę przewodu pokarmowego.

ANALIZA STATYSTYCZNA

Stosując program Statistica v. 12.5 (StatSoft) wykonano dwuczynnikową analizę wariancji w celu sprawdzenia istotności wpływu pory roku i sposobu utrzymania koni na liczebność analizowanych drobnoustrojów w oborniku.

WYNIKI I DYSKUSJA

Na podstawie trzyletnich badań dotyczących właściwości mikrobiologicznych obornika w chowie bezstajennym i boksowym koni stwierdzono występowanie w analizowanym materiale bakterii z rodzajów *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Salmonella*, *Micrococcus*, *Diplococcus*, *Sarcina* i *E. coli*. Wśród grzybów zidentyfikowano rodzaje *Aspergillus*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Penicillium*, *Trichothecium*, *Cladosporium* i *Alternaria*. Zgodnie z badaniami innych autorów są to drobnoustroje typowe dla środowiska pomieszczeń inwentarskich [MACHNICKA, ŻELAZNY 2005; WITKOWSKA i in. 2010; KILISZCZYK i in. 2013; ROPEK, FRĄCZEK 2016]. Na podstawie wywiadu środowiskowego nie stwierdzono, aby konie biorące udział w doświadczeniu w omawianym okresie chorowały oraz były leczone farmakologicznie. W tabelach 1–3 przedstawiono średnie liczebności badanych grup drobnoustrojów, średnie wartości temperatury powietrza i odczyn obornika z uwzględnieniem pór roku oraz miejsca izolacji. Duże wahania temperatury i pH mogą wpływać na liczebność mikroorganizmów w pomieszczeniach inwentarskich [WITKOWSKA i in. 2010]. Jak wskazują dane zawarte w tabelach 1–3, odczyn obornika zawierał się dla poszczególnych ośrodków jeździeckich w przedziałach: OJK Pegaz 6,32–9,31, KJK Szary 6,40–8,81 i SKH Nielepice 6,78–8,57. Odczyn obornika stwierdzony w badaniach oscylował w granicach pH obojętnego, w niektórych przypadkach osiągając wartości lekko zasadowe lub lekko kwaśne, tym samym nie wpływając w sposób istotny na wzrost mikroorganizmów. Temperatura powietrza podczas pobierania materiału do badań nie odbiegała od zwykle stwierdzanych wartości w poszczególnych porach roku w tym rejonie kraju. Temperatura mierzona w stajniach i na zewnątrz budynków ze względu na dobre przewietrzanie obiektów często jest zbliżona. Wartości temperatury w stajniach zmierzone przez BOMBIK i in. [2011] mieściły się w zakresie 8,5–14,4°C, a na zewnątrz budynków 7,4–14,8°C. Natomiast KWIATKOWSKA-STENZEL i in. [2011], porównując warunki mikroklimatyczne panujące w stajni boksowej i biegałni, stwierdzili wartości temperatury zawierające się kolejno w przedziałach –0,9–15,5°C i –7,1–13,4°C. BUDZINSKA i in. [2016] w zależności od pory roku odnotowała w stajniach temperaturę: wiosna (12,4°C), lato (21,2°C), jesień (12,6°C), zima (8,2°C). Na podstawie analizy wyników uzyskanych w badaniach własnych można uznać, że w porach roku odznaczających się wyższą temperaturą stwierdzano większą liczebność drobnoustrojów zasiedlających obornik.

Tabela 1. Średnia liczebność ($\cdot 10^5$ jtk $\cdot g^{-1}$ s.m.) mikroorganizmów w oborniku końskim – OJK Pegaz**Table 1.** Mean number ($\cdot 10^5$ cfu $\cdot g^{-1}$ d.m.) of microorganisms in the horse's manure – OJK Pegaz

Punkt pobrania Sampling point	Bakterie Bacteria	Grzyby pleśniowe Mould fungi	<i>Staphylococcus</i> spp.	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i> spp.	pH
1	2	3	4	5	6	7
Wiosna – temperatura 16,25°C Spring – temperature 16.25°C						
1.	26,0	0,27	1,04	14,01	0	8,28
2.	411,7	0,04	0,94	1,5	0	7,41
3.	28,6	0,03	0,13	3,14	0	7,41
4.	360,6	0,01	5,43	202,3	0,13	8,48
5.	55,3	0,005	0,27	3,37	0	7,22
6.	18,5	0,03	0,91	0,73	0	6,99
7.	207,6	0,22	0,16	0,29	0	7,35
8.	295,6	0,03	6,93	15,41	0	9,31
9.	31,7	0,14	1,88	1,43	0	6,64
10.	681,9	0,01	0,77	18,37	0	6,82
11.	30,8	0,03	8,21	0,26	0	6,40
12.	666,9	0,02	0,25	0,03	0	6,57
13.	17,9	0,001	2,17	0,00082	0	8,53
Lato – temperatura 24,07°C Summer – temperature 24.07°C						
1.	2783,3	0,32	0,41	5,46	0	7,59
2.	2273,3	0,03	3,30	21,4	0	7,16
3.	3476,7	0,02	0,86	20,62	0	7,21
4.	89,3	0,02	0,04	0,91	0	6,86
5.	220,0	0,09	68,94	3,25	0	6,85
6.	3300,0	0,02	2,80	8,01	0	7,85
7.	2966,7	0,02	2,60	0,84	0	6,81
8.	168,2	0,004	0,84	5,33	0	7,26
9.	69,0	0,004	2,33	1,97	0	6,51
10.	2620,0	0,06	0,07	4,30	0	7,34
11.	513,3	0,01	3,54	2,24	0	6,56
12.	67,1	0,01	0,06	1,75	0	6,70
13.	520,0	0,07	0,02	8,75	0	6,90
Jesień – temperatura 11,04°C Autumn – temperature 11.04°C						
1.	350,9	0,002	0,18	0,27	0	7,12
2.	603,3	0,03	0,43	0,11	0	6,58
3.	498,4	0,02	3,25	0,17	0	7,59
4.	627,3	0,002	0,51	0,084	0	6,85
5.	555,6	0,03	0,27	0,076	0	7,10
6.	592,0	0,04	0,66	0,25	0	6,69
7.	385,3	0,04	0,57	0,13	0	6,55
8.	460,2	0,01	1,11	0,04	0	7,66
9.	461,9	0,02	0,38	0,03	0	6,83

cd. tab. 1

1	2	3	4	5	6	7
10.	372,1	0,02	0,07	0,02	0	7,11
11.	587,7	0,01	0,31	0,05	0	6,76
12.	616,4	0,03	0,55	0,03	0	6,65
13.	686,3	0,04	0,67	0,04	0	6,65
Zima – temperatura 3,95°C Winter – temperature 3.95°C						
1.	720,0	0,005	5	0,34	0,02	6,98
2.	569,0	0,04	0,28	1,0	0	7,33
3.	272,7	0,003	0,41	1,9	0,02	7,16
4.	836,7	0,003	0,17	0,31	0	7,49
5.	219,3	0,001	0,042	0,26	0	7,16
6.	164,0	0,003	0,117	0,58	0,02	6,54
7.	1388,3	0,004	0,09	0,07	0	7,41
8.	198,3	0,003	0,27	0,14	0	6,57
9.	102,0	0,002	0,06	0,01	0	6,72
10.	536,3	0,001	0,12	0,11	0	6,70
11.	3,94	0,003	1,62	0,02	0	6,38
12.	212,3	0,037	0,11	0,29	0	6,32
13.	352,6	0,02	0,13	0,3	0	6,46

Źródło: wyniki własne. Source: own study.

Tabela 2. Średnia liczebność ($\cdot 10^5$ jtk $\cdot g^{-1}$ s.m.) mikroorganizmów w oborniku końskim – KJK Szary**Table 2.** Mean number ($\cdot 10^5$ cfu $\cdot g^{-1}$ d.m.) of microorganisms in the horse's manure – KJK Szary

Punkt pobrania Sampling point	Bakterie Bacteria	Grzyby pleśniowe Mould fungi	<i>Staphylococcus</i> spp.	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i> spp.	pH
1	2	3	4	5	6	7
Wiosna – temperatura 14,89°C Spring – temperature 14.89°C						
1.	257,0	0,04	7,36	0,81	0	6,66
2.	4916,7	0,05	2,61	37,2	0	7,28
3.	3790,0	0,33	3,3	28,5	0	6,76
4.	4427,3	0,01	11,05	48,4	0	6,89
5.	4066,0	0,04	4,53	186,0	0	7,24
6.	5350,0	0,33	130,3	201,0	0	7,40
7.	4991,1	0,045	124,2	49,0	0	7,32
8.	5735,7	0,045	0,44	219,0	0	7,25
9.	2889,7	0,06	3,14	238,0	0	7,46
10.	4040,8	0,013	15,94	194,8	0	7,33
11.	3561,7	0,019	21,33	172,7	0	7,31
12.	3412,7	0,04	3,18	74,7	0	7,15
13.	63,0	0,004	0,73	0,04	0	6,40

cd. tab. 2

1	2	3	4	5	6	7
Lato – temperatura 22,25°C Summer – temperature 22.25°C						
1.	2300	0,003	14,68	4,11	0	7,31
2.	2506,7	0,03	0,3	55,7	0	6,85
3.	3613,3	0,75	0,49	34,3	0	7,61
4.	3813,3	0,19	298,2	0,7	0	7,74
5.	2560,0	0,004	0,3	78,0	0	8,10
6.	4220,0	0,16	230,8	36,8	0	7,14
7.	4200,0	0,017	17,3	16,9	0	8,81
8.	3176,7	0,07	0,05	152,5	0	6,82
9.	2570,0	0,004	0,54	28,9	0	7,22
10.	4229,3	0,003	3,77	53,3	0	7,72
11.	3000,0	0,002	0,61	83,5	0	7,09
12.	3073,3	0,008	0,007	144,0	0	7,48
13.	1518,0	0,002	71,1	0,52	0,02	8,36
Jesień – temperatura 14,55°C Autumn – temperature 14.55°C						
1.	847,6	0,1	9,22	1,85	0	6,64
2.	2708,9	0,06	0,45	0,11	0,009	8,21
3.	733,6	0,09	6,82	0,63	0	6,75
4.	1704,2	0,48	36,6	0,74	0,16	7,80
5.	2147,7	0,18	2,88	25,24	0	7,68
6.	126,4	0,02	0,49	1,73	0	6,61
7.	1833,6	0,04	6,23	5,82	0	7,73
8.	522,7	0,06	0,27	0,73	0	6,91
9.	27,4	0,002	0,42	0,26	0	6,75
10.	2797,3	0,001	3,41	12,44	0	7,23
11.	1907,3	0,005	38,22	5,16	0	7,49
12.	164,7	0,01	0,04	4,08	0	6,90
13.	159,7	0,004	0,3	0,03	0	6,54
Zima – temperatura 4,60°C Winter – temperature 4.60°C						
1.	40,7	0,06	0,2	0	0	7,45
2.	73,8	0,005	6,5	0,001	0	7,7
3.	283,3	0,02	0,27	0,28	0	8,14
4.	270,3	0,06	1,04	0	0	7,66
5.	1428,4	0,036	1,06	0,036	0,005	7,50
6.	145,2	0,05	1,46	0	0	7,86
7.	164,4	0,12	7,25	0,012	0	7,54
8.	152,3	0,04	0,77	0,21	0	7,14
9.	1548,0	0,01	0,2	0,034	0	7,44
10.	2095,5	0,03	0,19	0,07	0	7,23
11.	2347,1	0,02	4,48	0,031	0	7,44
12.	2660,0	0,005	5,81	0,02	0	7,58
13.	2195,7	0,02	7,71	0,002	0	7,61

Źródło: wyniki własne. Source: own study.

Tabela 3. Średnia liczebność ($\cdot 10^5$ jtk \cdot g $^{-1}$ s.m.) mikroorganizmów w oborniku końskim – SKH Nielepice**Table 3.** Mean number ($\cdot 10^5$ cfu \cdot g $^{-1}$ d.m.) of microorganisms in the horse's manure – SKH Nielepice

Punkt pobrania Sampling point	Bakterie Bacteria	Grzyby pleśniowe Mould fungi	<i>Staphylococcus</i> spp.	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i> spp.	pH
Wiosna – temperatura 15,30°C Spring – temperature 15.30°C						
1.	3436,7	0,03	3,86	3,98	0,038	7,68
2.	2610,0	0,043	3,86	26,2	0,38	7,46
3.	424,1	0,003	0,026	13,33	0	6,78
4.	2710,1	0,04	3,02	33,36	0	6,81
5.	2626,3	0,008	0,34	9,03	0	7,36
6.	3064,5	0,03	0,37	0,18	0,33	7,64
Lato – temperatura 22,60°C Summer – temperature 22.60°C						
1.	188,5	0,005	0,34	2	0	8,13
2.	5553,3	0,005	0,34	25,6	0	7,48
3.	3416,7	0,006	5,4	5,5	0	7,32
4.	4356,7	0,005	0,3	37,4	0	7,60
5.	6,48	0,003	4,7	1,4	0	7,44
6.	686,7	0,006	0,5	4,46	0	7,64
Jesień – temperatura 14,10°C Autumn – temperature 14.10°C						
1.	1616,7	0,036	0,29	0,009	0	8,56
2.	15,9	0,38	1,26	0,042	0	8,12
3.	876,7	0,07	0,48	0,49	0	8,27
4.	215,0	0,05	0,085	0,35	0,087	7,40
5.	1376,7	0,06	0,049	0,004	0	8,57
6.	4013,3	0,06	0,33	0,01	0	8,34
Zima – temperatura 3,30°C Winter – temperature 3.30°C						
1.	486,7	0,02	0,015	0,003	0	7,65
2.	416,0	0,006	0,13	0,007	0	7,40
3.	49,9	0,03	0,004	0	0	7,90
4.	433,3	0,004	0,01	0	0	7,74
5.	353,7	0,03	0,015	0	0	7,54
6.	134,5	0,007	0,07	0	0	7,34

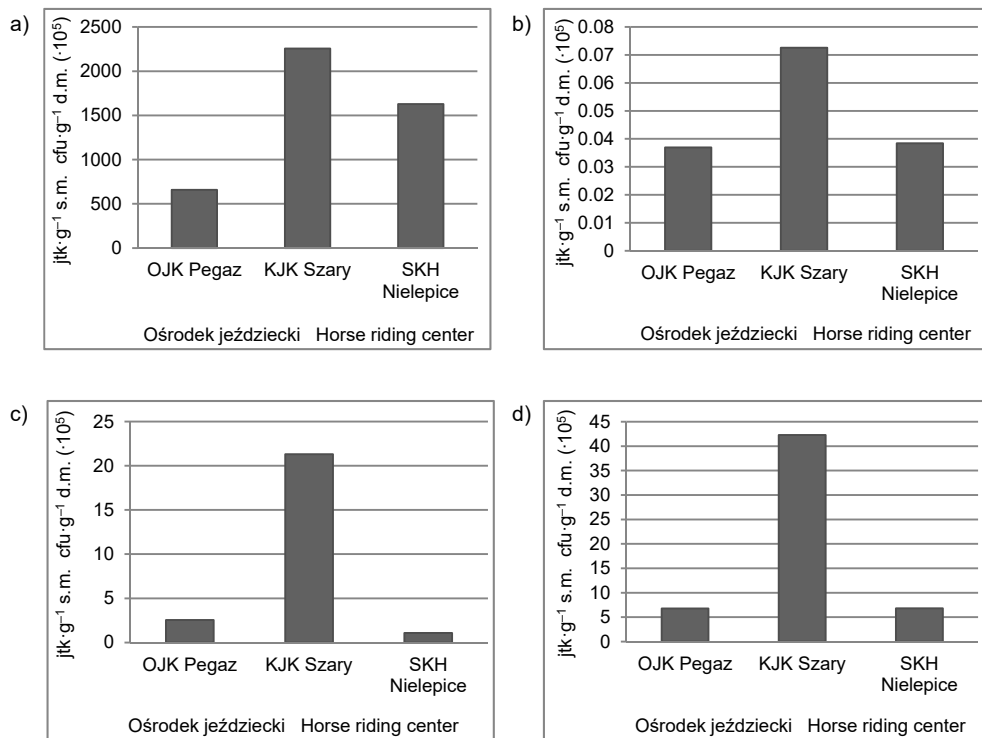
Źródło: wyniki własne. Source: own study.

Ze względu na brak doniesień literaturowych dotyczących mikrobiologicznego zanieczyszczenia końskiego obornika uzyskane wyniki zostały porównane z badaniami prowadzonymi w innych pomieszczeniach inwentarskich. WITKOWSKA i in. [2010] stwierdzili, że liczba bakterii w ściółce kurnika podczas pięciu tygodni odchowu brojlerów zwiększała się z $955 \cdot 10^5$ do $232 \cdot 10^7$ jtk \cdot g $^{-1}$ s.m. Natomiast w badaniach WITKOWSKIEJ i in. [2010] stwierdzono liczebność grzybów na poziomie od $24 \cdot 10^5$ do $13 \cdot 10^7$ jtk \cdot g $^{-1}$ s.m. ściółki. DOBRZAŃSKI i in. [1994] maksy-

malną liczebność bakterii w ściółce drobiowej wyznaczyli na poziomie $122 \cdot 10^9$ jtk·g⁻¹ ś.m., natomiast grzybów – $605 \cdot 10^2$ jtk·g⁻¹ ś.m. Według ŁOJKA i ŁOJEK [2013] głównym źródłem grzybów w stajniach jest ściółka i siano, dlatego tak istotna jest regularna wymiana ściółki oraz przechowywanie siana w odpowiednich warunkach.

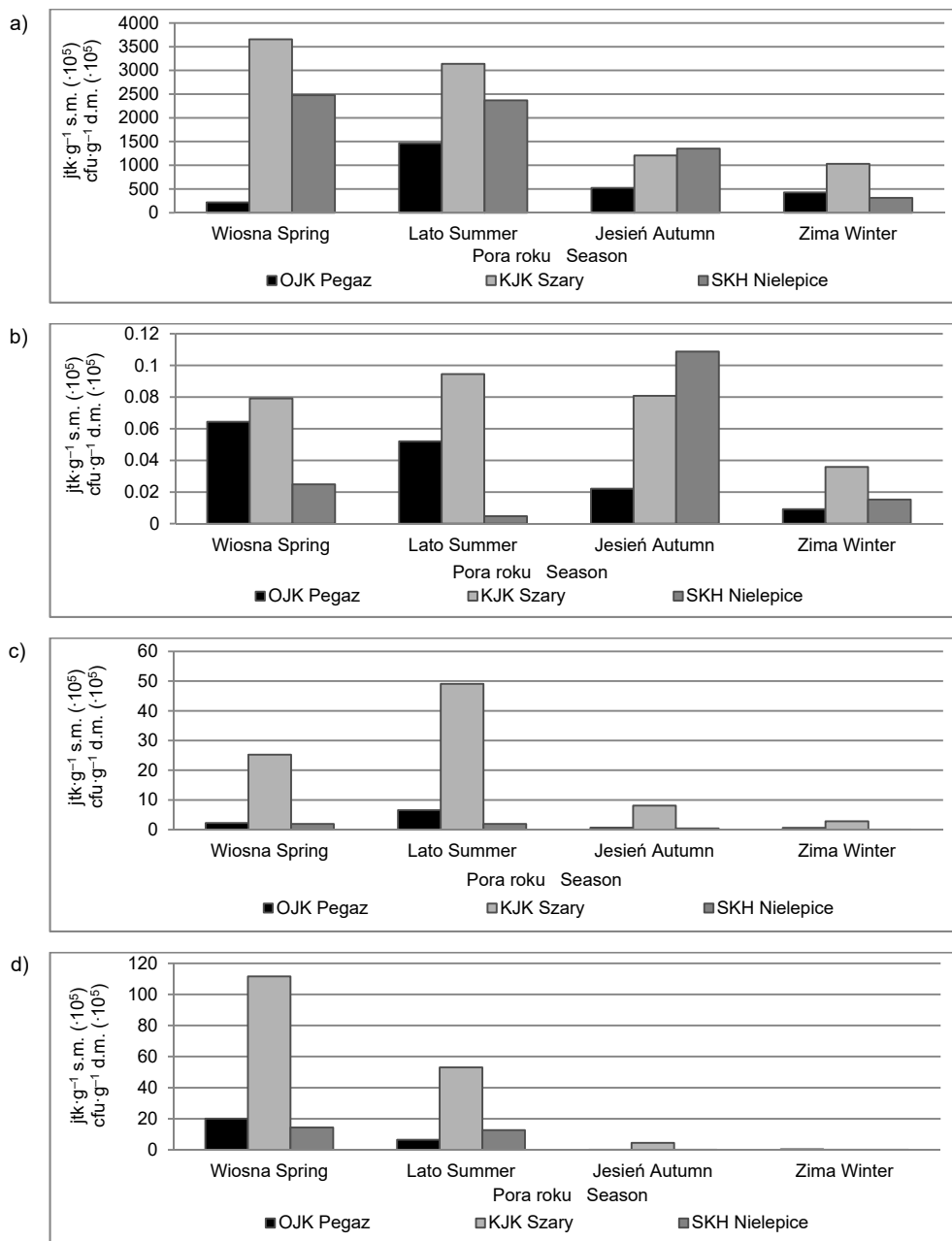
Na podstawie analizy wyników liczebności tlenowych bakterii mezofilnych, grzybów pleśniowych, *Staphylococcus* spp. oraz *E. coli* w poszczególnych ośrodkach jazdy konnej, należy stwierdzić, że w oborniku pobranym w KJK Szary badanych drobnoustrojów było najwięcej (rys. 1). Bakterie z rodzaju *Salmonella* najliczniej występowały w SKH Nielepice, jednakże zostały wyizolowane w dużej liczebności tylko w kilku próbkach, co miało wpływ na uzyskane wyniki, dlatego wykresów dotyczących występowania tych bakterii nie zamieszczono.

Wiosna i lato były porami roku, w których z większości próbek pobranego obornika cyklicznie izolowano największą liczbę drobnoustrojów (rys. 2).



Rys. 1. Średnia liczebność drobnoustrojów: a) bakterii, b) grzybów pleśniowych, c) *Staphylococcus* spp., d) *E. coli*; źródło: wyniki własne

Fig. 1. Mean number of microorganisms: a) bacteria, b) mould fungi, c) *Staphylococcus* spp., d) *E. coli*; source: own study



Rys. 2. Średnia liczebność drobnoustrojów w zależności od pory roku: a) bakterii tlenowych mezofilnych, b) grzybów pleśniowych, c) *Staphylococcus* spp., d) *E. coli*; źródło: wyniki własne

Fig. 2. Mean number of microorganisms depending on the season: a) mesophilic aerobic bacteria, b) mould fungi, c) *Staphylococcus* spp., d) *E. coli*; source: own study

Odchody końskie stanowią źródło łatwo przyswajalnych składników odżywczych, co czyni je doskonałym nawozem naturalnym. Wprowadzanie obornika do gleby wiąże się jednak z problemami higieniczno-sanitarnymi i ekologicznymi. Istnieje możliwość pojawienia się w odchodach końskich drobnoustrojów patogennych, groźnych dla zdrowia zwierząt i ludzi, co może prowadzić do skażenia gleb i wody oraz infekcji roślin [SKOWRON i in. 2015]. Dlatego liczna obecność w badanym materiale bakterii potencjalnie chorobotwórczych, tj. *Staphylococcus* spp. i *E. coli*, a także grzybów toksynotwórczych budzi niepokój. Należy zauważyć, że liczebność poszczególnych grup drobnoustrojów podlega sezonowym zmianom. Ponadto, na podstawie analizy liczebności mikroorganizmów w poszczególnych stajniach stwierdzono, że w dużym ośrodku jazdy konnej utrzymującym boksowy system chowu (KJK Szary) liczebność wszystkich analizowanych grup drobnoustrojów była bardzo duża. Może to być spowodowane faktem, że – mimo zachowania wysokiego standardu higieny w obiekcie – tak duża liczba zwierząt oraz ilość przechowywanej ściółki i paszy jest istotnym czynnikiem wpływającym na wzrost liczby drobnoustrojów w stajni [LLOYD i in. 2003; ŁOJEK, ŁOJEK 2013]. Natomiast liczne występowanie bakterii mezofilnych i grzybów pleśniowych w oborniku pobranym w SKH Nielepice może wskazywać na to, że równie ważnym źródłem tych drobnoustrojów jest środowisko naturalne, tj. powietrze i gleba [ŁOJEK, ŁOJEK 2013].

Na podstawie analizy statystycznej uzyskanych wyników określono, które różnice w liczebności mikroorganizmów pomiędzy poszczególnymi porami roku oraz systemami utrzymania koni są istotne statystycznie (tab. 4).

Tabela 4. Wyniki analizy wariancji dotyczące liczebności badanych grup mikroorganizmów w oborniku końskim

Table 4. Results of variance analysis showing the number of investigated groups of microorganisms in horses' manure

Wskaźniki mikrobiologiczne Microbiological indexes	Wartość współczynnika <i>F</i> The value of the <i>F</i> factor	
	pora roku season	system utrzymania koni system of horse keeping
Bakterie Bacteria	17,91 ¹⁾	0,67
Grzyby pleśniowe Mould fungi	2,88 ¹⁾	1,19
<i>Staphylococcus</i> spp.	1,58	4,62 ¹⁾
<i>E. coli</i>	10,24 ¹⁾	8,95 ¹⁾
<i>Salmonella</i> spp.	20,52 ¹⁾	21,25 ¹⁾

¹⁾ Wartości istotne, gdy $p < 0,05$. ¹⁾ Values significant at $p < 0,05$.

Źródło: wyniki własne. Source: own study.

WNIOSKI

1. Wyniki przeprowadzonych analiz wskazują, że istnieją zależności między systemem utrzymania koni a zasiedleniem obornika przez mikroorganizmy.
2. Liczebność drobnoustrojów izolowanych z końskiego obornika podlegała sezonowym zmianom.
3. W stajniach boksowych zasadna jest codzienna wymiana ściółki, aby obornik mogący być źródłem patogennych drobnoustrojów w nich nie zalegał. Takie postępowanie jest jednym z elementów dbania o dobrostan zwierząt.

Podziękowania

Panu Marianowi Mikołajewiczowi (Stadnina Koni Huculskich w Nielepicach), Panu Bogdanowi Germanowi (Ośrodek Jazdy Konnej Pegaz w Krakowie) oraz Pani Annie Szary-Ziębickiej (Klub Jazdy Konnej Szary w Michałowicach) składamy serdeczne podziękowania za umożliwienie badań i pomoc okazaną w trakcie realizacji prac. Badania zostały sfinansowane ze środków przeznaczonych na działalność statutową Katedry Mikrobiologii Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie – DS 3157/KM.

BIBLIOGRAFIA

- BOMBIK E., BOMBIK T., FRANKOWSKA A. 2011. Evaluation of selected parameters of horse stabling environment in box-stall stables. *Acta Scientiarum Polonorum Zootechnica*. Vol.10. Iss. 4 s. 13–22.
- BU CZYŃSKA A., SZADKOWSKA-STAN CYZK I. 2010. Problemy higieny pracy i zagrożenia zdrowotne towarzyszące intensywnej produkcji trzody chlewnej [Occupational hygiene and health hazards related to intensive animal feeding operations (CAFOs)]. *Medycyna Pracy*. Vol. 61. Iss 3 s. 323–331.
- BUDZINSKA K., SZEJNIUK B., JUREK A., MICHALSKA M., TRACZYKOWSKI A., BERLEC K. 2016. Evaluation of selected physical and microbiological parameters of air in a box-stall stable. *Acta Scientiarum Polonorum Zootechnica*. Vol. 15. Iss. 1 s. 3–18.
- CHMIELOWIEC-KORZENIOWSKA A., HRECZUCH W., GRZESIEWICZ R. 2008. Ocena skuteczności dezynfekcji powietrza w odchowni świń metodą zamgławiania ditlenkiem chloru [Evaluation of the effectiveness of air disinfection in swine fodder by fogging using chlorine dioxide]. *Życie Weterynaryjne*. Vol. 4 s. 314–315.
- DOB RZAŃSKI Z., DYNOWSKI Z., JAMROZ D., LATAŁA A., MAZURKIEWICZ M., TRONINA S. 1994. Badania nad wykorzystaniem preparatu Humokarbomit w odchowie kurcząt brojlerów [Studies on the use of the formulation Humokarbomit rearing broilers]. *Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej we Wrocławiu. Zootechnika*. T. 39. Z. 252 s. 41–48.
- DOMSCH K.H., GAMS W., ANDERSON T.H. 1980. *Compendium of soil fungi*. London. Academia Press Ltd. ISBN 0122204018 ss. 860.
- GUAN T.Y., HOLLEY R.A. 2003. Pathogen survival in swine manure environments and transmission of human enteric illness – a review. *Journal of Environmental Quality*. Vol. 32 s. 383–392.
- HOLT J.G. (red.) 1994. *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 9-th ed. Baltimore. Williams & Wilkins. ISBN 0-683-00603-7 pp. 500.
- KILISZCZYK A., PODLASKA B., SADOWIEC K., ZIELIŃSKA-POLIT B., RYTEL M., RUSSEL S. 2013. Ocena występowania grzybów oraz amoniaku i metanu w powietrzu w wybranym budynku inwentar-

- skim [An assessment of the presence of airborne fungi, ammonia and methane in the atmosphere in a selected stable]. *Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie*. T. 13. Z. 3(43) s. 79–89.
- KWIATKOWSKA-STENZEL A., SOWIŃSKA J., MITUNIEWICZ T., IWAŃCZUK-CZERNIK K., WÓJCIK A., RAZYMIŃSKA M. 2011. The comparison of horses management conditions in the box stall stable and the horse-barn. *Polish Journal of Natural Sciences*. Vol. 26. Iss. 1 s. 27–36.
- LLOYD D.H., LITTLEWOOD J.D., CRAIG J.M. THOMSETT L.R. 2003. *Practical equine dermatology*. Oxford. Blackwell Science. ISBN 9780632048076 pp. 144.
- ŁOJEK J., ŁOJEK A. 2013. Dobrostan i utrzymanie koni. W: *Hodowla i użytkowanie koni [Welfare and maintenance of horses]*. T. 2. Warszawa. Wydaw. SGGW p. 83–104.
- MACHNICKA A., ŻELAZNY H. 2005. Zagrożenie zdrowotno-toksyczne mikroorganizmami występującymi w budynkach inwentarskich [Health and toxicological danger regarding microorganisms found in farm buildings]. *Inżynieria Rolnicza*. T. 9. Z. 1 s. 101–107.
- PESARO F., SORG I., METZLER A. 1995. In situ inactivation of animal viruses and a coliphage in non-aerated liquids and semiliquid animal wastes. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 61 s. 92–97.
- ROPEK D., FRĄCZEK K. 2016. Mikrobiologiczna jakość powietrza w obiektach inwentarskich gospodarstw rolnych [Microbiological air quality in livestock farm buildings]. *Medycyna Środowiskowa-Environmental Medicine*. Vol. 19. Iss. 3 s. 16–22. DOI 10.19243/2016302.
- ROUSSEL S., SUDRE B., REBOUX G., WASER M., BUCHELE G., VACHEYROU M., DALPHIN J.C., MILLON L., BRAUN-FAHRLÄNDER C., VON MUTIUS E., PIARROUX R. 2011. Exposure to moulds and actinomycetes in Alpine farms: A nested environmental study of the PASTURE cohort. *Environmental Research*. Vol. 111 s. 744–750. DOI 10.1016/j.envres.2011.05.002.
- SEEDORF J. 2004. An emission inventory of livestock-related bioaerosols for Lower Saxony, Germany. *Atmospheric Environment*. Vol. 38 s. 6565–6581.
- SKOWRON K., BAUZA-KASZEWSKA J., KACZMEREK A., BUDZYŃSKA A., GOSPODAREK E. 2015. Mikrobiologiczne aspekty gospodarki gnojowicą [Microbiological aspects of slurry management]. *Postępy Mikrobiologii*. T. 54. Z. 3 s. 235–249.
- STRAUCH D. 1991. Survival of pathogenic microorganisms and parasites in excreta, manure and sewage sludge. *Revue Scientifique et Technique*. Vol. 10 s. 813–846.
- SZADKOWSKA-STANCZYK I., BRODKA K., BUCZYŃSKA A. 2010. Ocena narażenia na bioaerozole pracowników zatrudnionych przy intensywnej hodowli trzody chlewnej [Exposure to bioaerosols among CAFO workers (swine feeding)]. *Medycyna Pracy*. Vol. 61. Iss. 3 s. 257–269.
- WARAN N. (red.) 2002. *The welfare of horses*. Secaucus, NJ, USA. Kluwer Academic Publishers. ISBN 1402007663 ss. 225.
- WITKOWSKA D., CHORAŻY Ł., MITUNIEWICZ T., MAKOWSKI W. 2010. Zanieczyszczenia mikrobiologiczne ściółki i powietrza podczas odchowu kurcząt brojlerów [Microbiological contamination of litter and air during rearing of broiler chickens]. *Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie*. T.10. Z. 2(30) s. 201–210.
- WITKOWSKA D., CHORAŻY Ł., SOWIŃSKA J., IWAŃCZUK-CZERNIK K., WÓJCIK A., MITUNIEWICZ T. 2008. Mikrobiologiczne zanieczyszczenia powietrza w oborze krów mlecznych przy zastosowaniu różnych rodzajów wymiany powietrza [Microbiological air pollution in dairy cows with different types of air exchange]. *Ekologia i Technika*. Vol. 16. Iss. 5A s. 186–189.
- WOLNY-KOŁADKA K., MALINA D. 2017. Toxicity assessment of silver nanoparticles against *Escherichia coli* strains isolated from horse dung. *Micro and Nano Letters*. Vol. 12. Iss. 10 s. 772–776. DOI 10.1049/mnl.2017.0129.

Katarzyna WOLNY-KOŁADKA, Barbara BLOK, Anna KUŚ

MICROBIOLOGICAL PROPERTIES OF MANURE IN FREE-RANGE AND BOX-STALL STABLE SYSTEM OF HORSE KEEPING

Key words: box-stall stable, free-range, horses, manure, microorganisms

S u m m a r y

The welfare of animals and the hygiene of workers in horse riding centres, as well as proper level of cleanliness within stables, is a way to prevent the spread of pathogenic microorganisms. Manure is a source of microorganisms reflecting the natural microflora of the animal intestines. These microorganisms are characterized by low virulence, but in the case of animal disease, faeces can be a source of pathogenic strains that cause zoonoses and epizooties. Therefore, the aim of this study was to evaluate the microbial contamination of manure in three horse riding centres differing in the system of horse keeping. The manure was sampled in one horse riding centre with free-range horse keeping system and in two centres with different areas of box-stall stables. The samples of manure were collected over a period of three years (2015–2017), four times per year (spring, summer, autumn, winter) in order to verify the seasonal variations. The number of selected microorganisms, i.e. mesophilic aerobic bacteria, mould fungi, *Staphylococcus* spp., *E. coli* and *Salmonella* spp., was determined using the Koch's serial dilution method. The studies indicated that the system of horse keeping affected the occurrence of the examined microorganisms. The manure collected from the largest facility, with the box-stall stable system of horse keeping was the most contaminated by microorganisms. The following microorganisms were identified in the analysed samples: bacteria from the genus *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Salmonella* and species *E. coli*, and mould fungi from the genus *Aspergillus*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Penicillium*, *Trichothecium*, *Cladosporium* and *Alternaria*.

Adres do korespondencji: dr inż. Katarzyna Wolny-Koładka, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Katedra Mikrobiologii, al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków; tel.: +48 12 662-40-96, e-mail: katarzyna.wolny@urk.edu.pl