

BERLINER UND MÜNCHENER

TIERÄRZTLICHE WOCHENSCHRIFT

84. Jahrgang, Heft 22 (1971), S. 429—436

Alle Rechte, auch die des auszugsweisen Nachdruckes, der photomechanischen Wiedergabe und der Übersetzung, vorbehalten.

Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg

*Aus dem Lehrstuhl für Tierhygiene (Prof. Dr. D. Strauch)
der Universität Hohenheim und dem Institut für Pflanzenernährung
(Direktor: Prof. Dr. A. Amberger)
der Technischen Hochschule München*

**Untersuchungen über
die Desinfektion von Flüssigmisten****I. Mitteilung: Desinfektionsversuche
mit Salmonellen
in Flüssigmisten von Rindern**

Mit 8 Tabellen

Von E. BEST, A. AMBERGER, D. STRAUCH, W. MÜLLER und A.

WÜNSCH

(Eingegangen am 2. 8. 1971)

Untersuchungen von HAHN (10), BLUM (5), MEESER (13) und BEST (4) haben gezeigt, wie lange Krankheitserreger in Flüssigmisten verschiedener Nutztierarten infektiös bleiben. Die Ergebnisse unterstreichen die epidemiologische Bedeutung der Flüssigmiste im Seuchenfall. Die früher übliche Entseuchung von Festmist durch Kompostieren ist bei den Flüssigmisten aufgrund ihrer Konsistenz nicht möglich. Eine Autosterilisation ist nach den gefundenen langen Überlebenszeiten pathogener Darmbakterien wirtschaftlich nicht tragbar, da die Kapazitäten der Flüssigmistgruben für Lagerzeiten von 300 Tagen und mehr nicht ausreichen.

Für die Desinfektion im Seuchenfalle sieht der Gesetzgeber lediglich in der Anlage A der Anweisung für das Desinfektionsverfahren bei Viehseuchen gemäß § 3 der Ausführungsvorschriften zum Viehseuchengesetz Maßnahmen vor, die auf Jauche und Schmutzwasser bezogen sind.

Die Desinfektion von Flüssigmist bereitet jedoch bei der Anwendung der herkömmlichen Desinfektionsmittel Schwierigkeiten, da durch den hohen Anteil organischer Substanzen im Flüssigmist die meisten Desinfektionsmittel schon bereits vor Einsetzen ihrer eigentlichen Aufgabe oxidiert werden bzw. in so großen Mengen angewandt werden müssen, daß das Entseuchungsverfahren wirtschaftlich nicht tragbar erscheint. Unter Berücksichtigung folgender Kriterien ist die Auswahl von Desinfektionsmitteln zur Entseuchung von Flüssigmist nicht groß: 1. bakterizide Wirkung, 2. Erhaltung des Flüssigmistes als Düngemittel, 3. Wirtschaftlichkeit und 4. einfache Anwendung. Als Substanzen, die diese vier Punkte erfüllen konnten, boten sich zwangsläufig bekannte Düngemittel an, bei denen, wie z. B. bei Superphosphat, bakterio-statische und bakterizide Eigenschaften schon bekannt waren (GORET und PILET 9, BRYAN und ANDREWS 7, PLAGEMANN 16, WALDHAUSEN 18).

Kalkstickstoff ist ein Stickstoffdüngemittel mit hohem Kalkgehalt und zahlreichen Nebenwirkungen, die im wesentlichen auf dem freien Cyanamid als erstem Umwandlungsprodukt des Kalkstickstoffs im Boden beruhen. Eine physiologische Erklärung für die seit langem bekannte herbizide Wirkung des Kalkstickstoffs bringen die Arbeiten von AMBERGER und WÜNSCH (1). Den Mechanismus der fungiziden Wirkung, insbesondere gegen pflanzliche Parasiten, behandeln die Untersuchungen von AMBERGER (2). Den bakteriziden Wirkungen des Kalkstickstoffs sind viele Arbeiten von H. GLATHE (3) und seinen Schülern gewidmet. Von PECHEUR (14, 15), VAN DEN BREUL (6) und KIRSCH (11) wurde neuerdings eine ovozide, larvizide und molluskizide Wirkung nachgewiesen.

Superphosphat und Kalkstickstoff sollen in der vorliegenden Arbeit auf ihre bakterizide Wirkung in Flüssigmist von Rindern geprüft werden. Sie sind nicht nur einfach und wirtschaftlich anzuwenden, sondern erhalten und verbessern den Flüssigmist als natürliches Düngemittel durch Zusatz von Phosphat bzw. Stickstoff. Außerdem wurden vergleichsweise die in der Anlage A und § 3 der BAVG in § 14 (2) vorgeschriebenen Desinfektionsverfahren für Jauche und Schmutzwasser auf ihre Brauchbarkeit für die Flüssigmistdesinfektion untersucht.

Nach § 14 (2) der Anlage A soll eine Desinfektion von Jauche und Schmutzwasser mit Kalk oder dicker Kalkmilch, Chlorkalk oder dicker Chlorkalkmilch durchgeführt werden. Es sind mindestens ein Raumteil Kalk oder Chlorkalk oder 3 Raumteile dicke Kalkmilch oder dicke Chlorkalkmilch auf hundert Raumteile Jauche oder Schmutzwasser zu verwenden. Neben dicker Kalk- und dicker Chlorkalkmilch wurde auch Ätznatron als Desinfektionsmittel untersucht, da es zur Entseuchung von Jauche aufgrund eines Runderlasses des Reichsministers des Inneren, betr. Bekämpfung der Schweinepest und der ansteckenden Schweinelähme (Teschener Krank-

heit) vom 27. Dez. 1940 — III A 6134/40 — 2330 (RMBLiV 1941 S. 25) mit der Änderung vom 19. Dez. 1941 (RMBLiV 1942 S. 95) und 9. Febr. 1951 (Erlaß BMfELa FI/4 a — 2016/50) zugelassen ist.

Gemäß Absatz III, 3 darf Stalljauche mindestens 3 Monate nach Ausräumung des Schweinebestandes nicht abgefahren werden, damit das Virus der Seuche durch das Ausfaulen der Jauche abgelötet wird. Muß vorher Jauche abgefahren werden, so ist ihr soviel Natronlauge zuzusetzen, daß sie 3% Natronlauge enthält. Ein derartig behandelter Flüssigmist ist aufgrund seiner hohen Alkalität (pH-Wert 12) nicht mehr geeignet, als Dünger auf Grün- oder Ackerland ausgefahren zu werden, da eine zu große Oberflächenschädigung bzw. Versengung des Pflanzenwuchses stattfinden würde.

Material und Methoden

Der Berechnung der Menge Superphosphat/m³ Flüssigmist lagen die Angaben von LAGNEAU (12) sowie PLAGEMANN (16) zugrunde, die nach Bestreuen der hinteren Standfläche mit 500 g Superphosphat/GVE und Tag eine Abnahme der Mastitiserkrankungen nachweisen konnten. Daraus ergibt sich bei einer Tagesproduktion von 45—50 l Flüssigmist eine Dosierung von 500 g bzw. umgerechnet auf 1 m³ Flüssigmist von 10 kg Superphosphat. Ferner wurde unter gleichen Bedingungen ein weiterer Versuch mit doppelter Menge Superphosphat, d. h. 20 kg/m³ Flüssigmist durchgeführt. Bei allen Versuchen wurde gekörntes Superphosphat mit 18% Phosphorsäure verwandt.

Die Desinfektionswirkung von Kalkstickstoff wurde ebenfalls in jeweils 2 Konzentrationen, 10 kg und 20 kg/m³, Flüssigmist untersucht. Dabei wurde gekörnter Kalkstickstoff mit 20% Gesamtstickstoffgehalt benutzt.

Dicke Kalk- und Chlorkalkmilch wurden nach Vorschrift des § 11 Ziffer 2 der Anlage A zu § 3 der BAVG vor jedem Versuch frisch angesetzt. In der 1. und 2. Versuchsreihe wurde dicke Kalkmilch im Verhältnis 1 bzw. 2 Raumteile auf 100 Raumteile und in der 3. Versuchsreihe 3 bzw. 6 Raumteile auf 100 Raumteile Flüssigmist zugegeben.

Dicke Chlorkalkmilch wurde nur in der 3. Versuchsreihe in einer Menge von 3 bzw. 6 Raumteilen auf 100 Raumteile Flüssigmist in 2 parallel angelegten Versuchsreihen geprüft.

Atznatron wurde in Form von Natriumhydroxid-Plätzchen (Merck) als eine 2%ige Lösung im Verhältnis 1 bzw. 2 Raumteile auf 100 Raumteile in der 1. und 2. Versuchsreihe zugegeben. In der 3. Versuchsreihe wurde soviel NaOH zugesetzt, daß es 2%ig bzw. 3%ig im Flüssigmist enthalten war.

Als Testkeime dienten *S. typhimurium* und *S. manchester*, die sich in früheren Versuchen als besonders widerstandsfähig gegenüber Rindergülle erwiesen hatten (4).

1. Erste Desinfektionsversuchsreihe

Zunächst wurde in dieser ersten Versuchsreihe ermittelt, ob die zu untersuchenden Substanzen in angegebener Dosierung bakterizide Eigenschaften gegenüber *S. typhimurium* und *S. manchester* besitzen. 500 ml einer 0,9%igen Kochsalzlösung wurden im Verhältnis 10 : 1 mit beimpfter Kulturflüssigkeit kontaminiert. Nach Zugabe der Desinfektionsmittel wurden stündlich Proben entnommen, in dem 0,1 ml der Suspension in 10 ml Bouillon 16—18 Stunden bei 37° C bebrütet wurden. Als Kontrollen wurden pro Stamm 500 ml 0,9%iger NaCl-Lösung, die in gleicher Weise kontaminiert wurde, mitgeführt (Ergebnisse Tabelle 1).

Alle folgenden Versuche wurden in offenen 5-Liter-Gefäßen durchgeführt.

Der Flüssigmist wurde für jeden Versuch frisch entnommen. Er stammte aus einem Milchviehbestand mit ca. 45 Großvieheinheiten. Alle Tiere wurden in einem Laufboxenstall mit Spaltenboden gehalten. Die Fütterung besteht ganzjährig neben Kraftfutter aus einer Gras-Luzerne-Mais-Rübenblatt-Silage. Im Sommer wird der zweite Graswuchs abgeweidet.

Der Flüssigmist war verhältnismäßig homogen, d. h. es waren keine ausgeprägte Schwimmdecke, flüssige Schicht und Sinkschicht vorhanden, so daß nach kurzem Umrühren an der Entnahmestelle aus der Grube jedes Mal ein in Qualität und Konsistenz gleichbleibender Flüssigmist entnommen werden konnte.

Die Kontamination des Flüssigmistes erfolgte wie in der ersten Versuchsreihe im Verhältnis 10 : 1 durch eine mit *S. typhimurium* bzw. *S. manchester* beimpfte Tryptic Soy Broth (Difco). Die Proben wurden zunächst nach 2 und 6 Stunden, dann täglich mit einem geeichten Glasrohr entnommen. 3 ml Flüssigmist wurden in 30 ml Na-Tetrathionat-Anreicherung nach KAUFFMANN mit Malachitgrünzusatz (7 ml einer alkoholischen Malachitgrünlösung 1 : 1000 pro 1 Anreicherung) gegeben.

Nach 16—18stündiger Bebrütung bei 37° C wurden je 2 Tropfen der Anreicherung auf Brilliantgrün-Phenolrot-Laktose Agar (BPLA) nach KRISTENSEN aufgespatelt und bei 37° C 18—24 Stunden und 48 Stunden lang bebrütet. Verdächtig wachsende Kolonien wurden auf Kligler-Iron-Agar verbracht. Wenn auch hier nach 24 Stunden bei 37° C verdächtiges Wachstum bestand, d. h. H₂S-Bildung und keine Laktosevergärung, wurde die Objektträger-Schnellagglutination mit O- und H-Antiseren (Behringwerke) durchgeführt. Bei nicht eindeutiger Agglutination wurden die verdächtigen Kolonien auf ihr biochemisches Verhalten geprüft.

2. Zweite Desinfektionsversuchsreihe

4,5 Liter Flüssigmist wurden mit 450 ml beimpfter Kulturflüssigkeit gut verrührt und 1 Stunde stehen gelassen, da-

mit die eingebrachten Salmonellen sich innig mit ihrer Umgebung vermischen konnten. Dann wurden je 50 g (100 g) Superphosphat oder Kalkstickstoff sowie je 50 ml (100 ml) dicke Kalkmilch oder 2%ige NaOH-Lösung hinzugegeben und durch gründliches Umrühren mit dem Flüssigmist vermengt (Anlage A § 14 (2)). Nach dem erstmaligen gründlichen Umrühren wurde der Flüssigmist im weiteren Verlauf des Versuches nicht mehr ~~vermengt~~geführt, da unter natürlichen Bedingungen ein mehrmaliges Aufrühren einer Güllegrube mit Schwierigkeiten und Kosten verbunden ist.

Als Kontrolle wurden pro Stamm 4,5 Liter Flüssigmist, mit 450 ml beimpfter Bouillon kontaminiert, mitgeführt. Der Versuch fand bei 4—5° C statt (Ergebnisse Tabelle 2).

3. Dritte Desinfektionsversuchsreihe

Die Versuchsanordnung war die gleiche wie im vorherigen Versuch. Geändert wurde die Dosierung für dicke Kalkmilch und Atznatron. Anstatt 1 bzw. 2 Raumteile wurden 3 bzw. 6 Raumteile dicke Kalkmilch auf 100 Raumteile Flüssigmist und soviel Atznatron, daß es 2%ig bzw. 3%ig im Flüssigmist enthalten ist, zugegeben. Dazu kamen noch zwei weitere Dosierungen von Kalkstickstoff von 5 und 15 kg pro m³ Flüssigmist und dicke Chlorkalkmilch in einer Menge von 3 bzw. 6 Raumteilen auf 100 Raumteile Flüssigmist. Der Versuch fand bei 18—20° C statt (Ergebnisse Tabelle 3).

4. Veränderung des pH-Wertes des Flüssigmistes nach Zugabe der Desinfektionsmittel

Der pH-Wert der frisch entnommenen Rindergülle schwankte zwischen 6,8 und 7,2. Nach Zugabe der einzelnen Desinfektionsmittel veränderte sich der pH-Wert der Gülle wie folgt (siehe nächste Seite):

Die pH-Werte wurden im 3. Versuch mit einem Gerät der Fa. „Wissenschaftliche Technische Werkstätten“ in Weilheim (OBB) gemessen.

Für die Wiederanzüchtung der Salmonellen wurden 3 ml behandelter Flüssigmist in 30 ml Natriumtetrathionatanreicherung gegeben. Natriumtetrathionatanreicherung hat einen pH-Wert von 7,6. Nach Zugabe der Flüssigmistproben veränderte sich der pH-Wert wie folgt:

	Na-Tetra- thionat-A.	Gülle + 100 g Kalk- stickstoff	Na-Tetrathionat Gülle + 300 ml dicke Kalkmilch	Gülle + NaOH 3%
pH-Wert	7,6	8,9	8,8—8,9	9,9—11,0

	Gülle	Gülle + Super-phosphat	Gülle + Kalkstickstoff	Gülle + dicke Kalkmilch	Gülle + dicke Chlorkalkm.	Gülle + NaOH
% Menge/5 l Gülle		1% 2% 50 g 100 g	1% 2% 50 g 100 g	3% 6% 150 ml 300 ml	3% 6% 150 ml 300 ml	2% 3%
pH-Wert	6,8—7,2	5,9 5,8	9,3 10,3	8,3 10,4	7,2 7,2	12 12

5. Vierte Desinfektionsversuchsreihe

Da das Wachstumsoptimum für Salmonellen bei pH 7,2 bis 7,4 liegt, ist anzunehmen, daß die Na-Tetrathionat-Anreicherung nach Zugabe der Proben durch die Veränderung des pH-Wertes kein optimales Anreicherungsmedium für Salmonellen mehr darstellt und somit die negativen Salmonellenfunde bei der Reisolierung unter Umständen nicht auf die Wirkung des Desinfektionsmittels zurückzuführen sind, sondern aufgrund des pH-veränderten Anreicherungsmediums Salmonellen keine optimalen Lebensbedingungen mehr finden und nicht mehr angereichert werden können.

Um diese Frage zu klären, wurde folgende 4. Versuchsreihe durchgeführt:

4,5 Liter frisch entnommener Flüssigmist wurden mit 450 ml mit *S. manchester* beimpfter Bouillon vermischt. An Desinfektionsmitteln wurden geprüft: 100 g Kalkstickstoff, 300 ml dicke Kalkmilch, NaOH 3%ig pro 5 Liter Flüssigmist.

Um die Veränderung des pH-Wertes nach Zugabe der Proben in die Na-Tetrathionat-Anreicherung zu vermeiden, wurden nach einem Tag ca. 100 ml behandelte Gülle mit 96—98 %iger Schwefelsäure auf pH 7 eingestellt und täglich Proben davon entnommen. Vom 2.—8. Versuchstag wurden weitere 100 ml behandelte Gülle entnommen und jeweils auf pH 7 eingestellt, von denen ebenfalls täglich Proben angereichert wurden.

Der Versuch fand bei 18—20° C statt. Die pH-Werte wurden täglich geprüft (Ergebnisse Tabellen 4, 5 und 6).

Ergebnisse

1. Versuchsreihe

In der niedrigen Konzentration erwiesen sich Kalkstickstoff und dicke Kalkmilch für beide Salmonellenarten bakterizid.

Mit der doppelten Konzentration konnte auch mit Superphosphat und einer 2%igen Natronlauge eine bakterizide Wirkung erzielt werden (Tabelle 1).

2. Versuchsreihe

Superphosphat, dicke Kalkmilch und 2%ige NaOH-Lösung zeigten in der angegebenen Dosierung keine befriedigende Wirkung. Bis zum 13. Tag waren noch Salmonellen nachweisbar.

Bei einer Dosierung von 100 g Kalkstickstoff pro 5 Liter Flüssigmist, d. h. 20 kg/m³ Flüssigmist kann *S. typhimurium* schon nach 2 Stunden und *S. manchester* nach 24 Stunden nicht mehr nachgewiesen werden (Tabelle 2).

3. Versuchsreihe

Superphosphat erwies sich in der Dosierung von 50 g und 100 g pro 5 Liter Flüssigmist wieder als unbrauchbar, was

Tabelle 1
 1. Desinfektionsversuchsreihe in 500 ml 0,9 %iger NaCl-Lösung
 Versuchsdauer: 4 Tage Temperatur: 18—20° C

Desinfektionsmittel:	Superphosphat	Kalkstickstoff	Dicke Kalkmilch	2 % NaOH-Lösung
Konzentration	1 %	2 %	1 %	2 %
S. typhimurium	60 Std.	3 Std.	1 Std.	36 Std.
pH - Wert	3,9	3,2	11,9	12
S. manchester	54 Std.	-	2 Std.	1 Std.
pH - Wert	3,9	3,2	11,9	12

Alle mitgeführten Kontrollen waren positiv.
 Die Zeitangabe in Stunden bedeutet die letzte mögliche Wiederanzüchtung der Salmonellen.

Tabelle 2
 2. Desinfektionsversuchsreihe in 5 Liter Rindergülle
 Versuchsdauer: 25 Tage Temperatur: 4—5° C

Desinfektionsmittel:	Superphosphat	Kalkstickstoff	Dicke Kalkmilch	2 % NaOH-Lösung
Konzentration	1 %	2 %	1 %	2 %
Stämme:				
S. typhimurium	13 Tage	13 Tage	3 Tage	-
S. manchester	13 Tage	13 Tage	5 Tage	1 Tag

Alle mitgeführten Kontrollen waren positiv.
 Die Zeitangabe in Tagen bedeutet die letzte mögliche Wiederanzüchtung der Salmonellen.

einer Menge von 10 kg und 20 kg pro m³ Flüssigmist entspricht. Dicke Chlorkalkmilch konnte sowohl in der vom Viehseuchengesetz geforderten als auch in der doppelten Dosierung von 3 bzw. 6 Raumteilen auf 100 Raumteile Flüssigmist auch nach 33 Tagen die Salmonellen noch nicht vollständig abtöten. Der Versuch wurde nach dieser Zeitdauer abgebrochen.

Die Wirkung von Kalkstickstoff wurde in Dosierungen von 5, 10, 15 und 20 kg/m³ Flüssigmist untersucht. Bei 20 kg/m³ konnte *S. typhimurium* nur noch nach 2 Stunden und *S. manchester* nach 6 Stunden nachgewiesen werden. Bei den niedrigeren Konzentrationen dauerte die Abtötung bis zu 12 Tagen.

NaOH wurde in dieser Versuchsreihe soviel zugesetzt, daß es 2%ig bzw. 3%ig im Flüssigmist enthalten ist. Nach 2 Stunden konnten schon keine Salmonellen mehr nachgewiesen werden.

Dicke Kalkmilch in einer Konzentration von 6 Raumteilen auf 100 Raumteile Flüssigmist erwies sich in dieser Dosierung als bakterizid. Nach 24 Stunden konnten keine Salmonellen mehr angezüchtet werden (Tabelle 3).

4. Versuchsreihe

Versuch A: Aus Gülle mit 3%iger NaOH konnten schon nach 6 Stunden keine Salmonellen mehr isoliert werden. Auch die Entnahmen aus den auf pH 7 eingestellten Proben waren negativ (Tabelle 4).

Versuch B: Aus Gülle mit 20 kg Kalkstickstoff/m³ Flüssigmist konnten bis zum ersten Tag noch Salmonellen angezüchtet werden. Die Probe, die nach einem Tag auf pH 7 eingestellt wurde, enthielt bis zu 3 Tagen noch Salmonellen. Aus der Probe, die am 2. und 4. Tag auf pH 7 eingestellt wurde, konnten jeweils noch am gleichen Tag Salmonellen nachgewiesen werden. Alle anderen Entnahmen bis zum 8. Tag verliefen negativ (Tabelle 5).

Versuch C: Aus Gülle mit 300 ml dicker Kalkmilch/5 Liter wurden noch nach 6 Stunden Salmonellen isoliert. Aus den Proben, die am 1. und 2. Tag auf pH 7 eingestellt wurden, ließ sich *S. manchester* noch bis zum 7. Tag nachweisen (Tabelle 6).

In Versuch 4 (B) konnte nachgewiesen werden, daß noch 4 Tage nach Kalkstickstoffzugabe Salmonellen im Flüssigmist festgestellt werden konnten. In diesem Zusammenhang war es wichtig, zu wissen, wie lange und in welchem Umfang Kalkstickstoff bzw. Cyanamid in dem Flüssigmist erhalten bleibt. Dazu wurden ergänzend folgende Untersuchungen durchgeführt:

Reines Cyanamid (Cy) bzw. Kalkstickstoff (Ka) wurden in Mengen, wie sie zur Entseuchung angewandt werden, frischer Rindergülle zugesetzt und diese nach verschiedenen Tagen mittels chromatographischer und kolorimetrischer

Tabelle 3
 3. Desinfektionsversuchsreihe in 5 Liter Rindergülle
 Versuchsdauer: 33 Tage Temperatur: 18—20 ° C

Desinfektions- mittel	Superphosphat		Kalkstickstoff				Dicke Kalkmilch		NaOH	Dicke Chlorkalkmilch
	1 %	2 %	0,5 %	1 %	1,5 %	2 %	3 %	6 %		
S. typhimurium	24 Tage	17 Tage	5 Tage	5 Tage	4 Tage	2 Std.	4 Tage	6 Std.	-	33 Tage (33 Tage)
										33 Tage (33 Tage)
S. manchester	24 Tage	17 Tage	12 Tage	12 Tage	4 Tage	6 Std.	4 Tage	6 Std.	-	33 Tage (33 Tage)
										33 Tage (21 Tage)

Alle mitgeführten Kontrollen waren positiv.
 Die Zeitangabe in Stunden und Tagen bedeutet die letzte mögliche Wiederanzüchtung der Salmonellen.

Tabelle 4
 4. Desinfektionsversuchsreihe in 5 Liter Rindergülle
 (Versuch A mit 150 g NaOH = 3%) Versuchsdauer: 8 Tage
 Temperatur: 18—20° C Teststamm: S. manchester

Entnahmen	6 Std.	1 Tag	2 Tage	3 Tage	4 Tage	5 Tage	6 Tage	7 Tage	8 Tage
Gülle + NaOH 3%	-	-	-	-	-	-	-	-	-
pH nach 1 Tag auf 7 eingest.		-	-	-	-	-	-	-	-
pH nach 2 Tagen auf 7 eingest.			-	-	-	-	-	-	-
pH nach 3 Tagen auf 7 eingest.				-	-	-	-	-	-
pH nach 4 Tagen auf 7 eingest.					-	-	-	-	-
pH nach 5 Tagen auf 7 eingest.						-	-	-	-
pH nach 6 Tagen auf 7 eingest.							-	-	-
pH nach 7 Tagen auf 7 eingest.								-	-
pH nach 8 Tagen auf 7 eingest.									-

+ = Salmonellen noch anzüchtbar.
 - = Salmonellen nicht mehr anzüchtbar.

Methoden auf Cyanamid bzw. mögliche Umwandlungsprodukte untersucht. Ein Teil der Ansätze wurde belüftet (Durchsaugen von feuchter Luft). Die Versuche wurden bei Raumtemperatur durchgeführt.

I. Zusatz von reinem Cyanamid

1. Ohne Belüftung. Ansatz: 50 ml Gülle + 2,63 bzw. 0,263 g Cy (entsprechend 175 bzw. 17,5 kg Ka/m³). Nach 0, 2, 7, 9 und 14 Tagen wurde chromatographisch (halbquantitativ) und nach 6, 8 und 12 Tagen kolorimetrisch (quantitativ) untersucht.

2. Mit Belüftung. Ansatz: 250 ml Gülle + 13,15 g Cy (entsprechend 175 kg Ka/m³) wurden täglich ca. 5 h belüftet, nach 0, 2, 7, 9 und 14 Tagen chromatographische und kolorimetrische Untersuchungen durchgeführt.

II. Zusatz von Ka

(Ka gepulvert, in der Reibschale staubfein verrieben)

1. Ohne Belüftung. Ansatz: 250 ml Gülle + 2,5 g bzw. 5,0 g Ka (entsprechend 10 bzw. 20 kg Ka/m³). Nach 0, 2, 7, 9 und 14 Tagen wurden der pH-Wert sowie chromatographische und kolorimetrische Untersuchungen durchgeführt.

2. Mit Belüftung. Ansatz und Untersuchungen wie II/1, aber täglich Durchleiten von Luft (5 Stunden).

Ohne Belüftung blieb reines Cy in der Gülle während des ganzen Untersuchungszeitraumes praktisch vollständig erhalten.

Bei Belüftung erfolgt eine langsame Abnahme des Cy (Tabelle 7); Umwandlungsprodukte konnten nicht festgestellt werden.

Die Ergebnisse der Versuche mit Ka sind in Tabelle 8 zusammengefaßt.

Aus den angegebenen Daten läßt sich ableiten, daß reines Cyanamid zur Gülle gegeben bei Raumtemperatur und ohne Belüftung im Versuchszeitraum weitgehend erhalten bleibt. Wird der Ansatz belüftet, so erfolgt eine Verminderung der Cy-Konzentration auf weniger als die Hälfte (von 4,738 auf 2,138 g/100 ml Gülle). Sowohl belüftet wie auch ohne Durchsaugen von Luft sind — auch bei hohen Cy-Gaben — keine Umsetzungsprodukte des Cy zu finden.

Anders liegen die Verhältnisse bei Verwendung von handelsüblichem Kalkstickstoff. Beide Behandlungsarten (mit und ohne Luft) bedingen eine Abnahme des Cy-Gehaltes. Die Geschwindigkeit dieser Verminderung ist offensichtlich von der Ka-Menge abhängig (1287,5 → 800,0 g Cy bei 10 kg/m³ gegenüber 2225,0 → 637,5 g Cy bei 20 kg/m³).

Durch die Belüftung tritt eine Verzögerung des Abbaues ein (1300,0 → 1100,0 g Cy mit Belüftung gegenüber 1287,5 → 800,0 g Cy ohne Belüftung). Dies steht im Gegensatz zu den Untersuchungen mit reinem Cy und scheint mit der Änderung des pH-Wertes zusammenzuhängen. Ferner

Tabelle 5
 4. Desinfektionsversuchsreihe in 5 Liter Rindergülle
 (Versuch B mit 100 g Kalkstickstoff = 2%)
 Temperatur: 18—20° C
 Versuchsdauer: 8 Tage
 Teststamm: S. manchester

Entnahmen	6 Std.	1 Tag	2 Tage	3 Tage	4 Tage	5 Tage	6 Tage	7 Tage	8 Tage
Gülle + 2 % Kalkstickstoff	+	+	-	-	-	-	-	-	-
pH nach 1 Tag auf 7 eingest.		+	+	+	-	-	-	-	-
pH nach 2 Tagen auf 7 eingest.				+	-	-	-	-	-
pH nach 3 Tagen auf 7 eingest.					-	-	-	-	-
pH nach 4 Tagen auf 7 eingest.						+	-	-	-
pH nach 5 Tagen auf 7 eingest.							-	-	-
pH nach 6 Tagen auf 7 eingest.								-	-
pH nach 7 Tagen auf 7 eingest.									-
pH nach 8 Tagen auf 7 eingest.									-

+ = Salmonellen noch anzüchtbar.
 — = Salmonellen nicht mehr anzüchtbar.

Tabelle 6
 4. Desinfektionsversuchsreihe in 5 Liter Rindergülle
 (Versuch C mit 300 ml dicker Kalkmilch = 6%)
 Versuchsdauer: 8 Tage
 Teststamm: S. manchester
 Temperatur: 18—20° C

Entnahmen	6 Std.	1 Tag	2 Tage	3 Tage	4 Tage	5 Tage	6 Tage	7 Tage	8 Tage
Gülle + 300 ml 6 % dicke Kalkmilch	+	-	-	-	-	-	-	-	-
pH nach 1 Tag auf 7 eingest.		+	+	+	+	-	-	+	-
pH nach 2 Tagen auf 7 eingest.			+	-	-	-	-	+	-
pH nach 3 Tagen auf 7 eingest.				-	-	-	-	-	-
pH nach 4 Tagen auf 7 eingest.					-	-	-	-	-
pH nach 5 Tagen auf 7 eingest.						-	-	-	-
pH nach 6 Tagen auf 7 eingest.							-	-	-
pH nach 7 Tagen auf 7 eingest.								-	-
pH nach 8 Tagen auf 7 eingest.									-

+ = Salmonellen noch anzüchtbar.
 - = Salmonellen nicht mehr anzüchtbar.

Tabelle 7
Cyanamidgehalt in belüfteter Gülle

Untersuchungstermin (Tage)	Cy - Gehalt (g / 100 ml Gülle)
0	4,738
2	3,800
7	2,813
9	2,775
14	2,138

Tabelle 8
Cyanamidgehalt in unbelüfteter und
belüfteter Gülle nach Kalkstickstoff-
zusatz

Ohne Belüftung	Untersuchungs- termin (Tage)	Cy g / m ³	chromatographische Untersuchung	pH
10 kg Ka / m ³	0	350	Cy ; - -	7,90
	2	1287,5	Cy ; (Didi) (Gu)	9,39
	7	1212,5	Cy ; (Didi) (Gu)	9,95
	9	1025,0	Cy ; ((Didi)) (Gu)	10,03
	14	800,0	Cy ; ((Didi)) Gu	9,95
20 kg Ka / m ³	0	787,5	Cy ; - ((Gu))	8,70
	2	2225,0	Cy ; (Didi) (Gu)	10,03
	7	1475,0	Cy ; <u>Didi</u> Gu	10,78
	9	925,0	Cy ; <u>Didi</u> Gu	11,00
	14	637,5	Cy ; <u>Didi</u> Gu	11,54
Mit Belüftung 10 kg Ka / m ³	0	350,0	Cy ; - -	7,90
	2	1300,0	Cy ; (Didi) (Gu)	9,52
	7	1287,5	Cy ; (Didi) (Gu)	9,15
	9	1162,5	Cy ; - (Gu)	9,03
	14	1100,0	Cy ; ((Didi)) (Gu)	8,64
20 kg Ka / m ³	0	787,5	Cy ; - ((Gu))	8,70
	2	2362,5	Cy ; (Didi) (Gu)	9,94
	7	1750,0	Cy ; <u>Didi</u> Gu	10,25
	9	1362,5	Cy ; <u>Didi</u> Gu	10,25
	14	1075,0	Cy ; <u>Didi</u> Gu	9,54

Zeichenerklärung: (()) = Spuren, gerade noch erkennbar
() = geringe Menge,
eindeutig erkennbar

Cy = Cy gut nachweisbar

Didi = Didi sehr reichlich vorhanden

Abkürzungen:

Cy = Cyanamid

Didi = Dicyandiamid

Gu = guanidinhaltige, nicht näher
identifizierte Substanz

treten im Versuch mit Kalkstickstoff unter starker pH-Erhö-
hung (Kalkzufuhr!) Umwandlungsprodukte des Cy auf (Dicy-
anamid und „Guanidin“).

Der Konzentrationsanstieg des Cyanamids vom Tag 0
zum Tag 2 (siehe Tabelle 8: 350 → 1287,5 g) stellt keinen
methodischen Fehler dar, sondern ist auf das langsame in-
Lösung-Gehen des Ka bzw. CaCN_2 zurückzuführen.

Die Frage, ob mit Ka behandelte Gülle nach einer ge-
wissen Lagerzeit unbedenklich (in bezug auf Cy-Schäden)
zu Düngezwecken verwendet werden kann, ist mit dieser
Versuchsreihe noch nicht geklärt. Dazu sind ähnliche Unter-
suchungen über einen längeren Zeitraum notwendig (ent-
sprechend der üblichen Lagerungszeit für Gülle). Da in
einer Güllegrube aber doch andere Verhältnisse vorliegen
als im Laborversuch, ist diese Frage eventuell in Großver-
suchen zu testen. Nach dem Ausbringen auf das Feld erfolgt
die Umsetzung des Cyanamids zweifellos sehr rasch.

Besprechung der Ergebnisse

Kalkstickstoff hat sich in allen Versuchen in einer
Dosierung von 20 kg/m³ Flüssigmist als bakterizid gegenüber
Salmonellen erwiesen. Diese Ergebnisse stehen unter Um-
ständen mit den von PECHEUR (14, 15), POUPLARD (17), VAN DEN
BREUL (6) und KIRSCH (11) im Einklang, die eine abtötende
Wirkung gegenüber Parasiteneiern und -larven sowie
Schnecken feststellen. Das aus Kalkstickstoff entstehende
Hydrolyseprodukt Cyanamid, welches anscheinend die keim-
tötende Eigenschaft des Kalkstickstoffes bewirkt, tritt schon
kurze Zeit (2—6 Stunden) nach Zugabe von Kalkstickstoff
in Flüssigmist auf und erreicht die größte Konzentration
nach 2 Tagen.

Der Cyanamidgehalt in Flüssigmist nimmt erst nach
einigen Tagen allmählich wieder ab, so daß Kalkstickstoff
über mehrere Tage hinweg eine desinfizierende Wirkung
besitzt.

Außer der primär bezweckten bakteriellen und parasi-
tären Entseuchung tritt bei Anwendung von Kalkstickstoff
eine Anreicherung des Flüssigmistes mit Stickstoff ein. Das
hat den Vorteil, daß von der mit Kalkstickstoff angereicher-
ten Gülle nur geringere Mengen/ha ausgefahren zu werden
brauchen, um den gleichen Düngungserfolg zu erzielen. Da
aber der Düngewert des aufgewendeten Kalkstickstoffes
nicht verloren geht, entstehen für die Desinfektion keine
zusätzlichen Kosten; Kalkstickstoff wird also lediglich über
den Umweg „Flüssigmist“ auf Acker bzw. Grünland gebracht.

Ein weiterer Vorteil dieser Kalkstickstoffanwendung ist
eine geringere Belästigung beim Ausstreuen bzw. Schädigung
durch Einatmen von Kalkstickstoffstaub. Ernsthafte Gefahr
besteht aber nur bei gleichzeitigem Genuß von Alkohol
(2 Glas Bier), wodurch die Giftwirkung um das 30fache ge-
steigert wird (GLAUBACH, 8).

Das Düngemittel Superphosphat hatte in der Dosierung von 20 kg/m³ Flüssigmist keine bakterizide Wirkung. Die von GORET und PILET (9) sowie WALDHAUSEN (18) beschriebene bakterizide Eigenschaft des Superphosphates tritt erst bei höheren Konzentrationen (10—20 %ige Lösung) ein, während in unseren Versuchen maximal nur eine Konzentration von 2 % vorlag. HAHN (10) konnte bei einem Gehalt von 0,2 % Superphosphat keine bakterizide Wirkung feststellen. Um die von GORET und PILET (9) und WALDHAUSEN (18) angegebenen Konzentrationen in Flüssigmist zu erreichen, müßten 100 bis 200 kg Superphosphat/m³ Flüssigmist gegeben werden. In diesem Fall sind dann die Wirtschaftlichkeit, Anwendungsmöglichkeit und der Düngewert des Flüssigmistes (starke Säuerung!) erheblich in Frage gestellt.

Ebenso wie mit Superphosphat konnte mit dicker Chlorkalkmilch keine ausreichende Desinfektion erzielt werden. Weder in der vom Gesetzgeber für Jauche und Schmutzwasser angegebenen noch in der doppelten Konzentration konnten Salmonellen in Flüssigmist abgetötet werden.

Dicke Chlorkalkmilch, die im allgemeinen schon nach 2 Stunden stark bakterizid wirkt, ist für die Flüssigmistdesinfektion nicht geeignet, da dieser für die Wirkung der Chlorkalkmilch zu viel hemmende Faktoren wie organische Substanzen (Proteine, Aminosäure) und anorganische Substanzen (z. B. NH₃) (WALLHÄUSER, SCHMIDT, 19) enthält. Aus demselben Grund wurde die früher zur Stuhl-desinfektion oft verwendete Chlorkalkmilch nicht mehr in die Liste der vom Bundesgesundheitsamt geprüften und anerkannten Desinfektionsmittel und -verfahren aufgenommen. Die Chlorzehrung der Faeces ist viel zu hoch, um noch genügend Chlor für die Desinfektion übrig zu lassen.

Im Gegensatz zu unseren Ergebnissen konnte BLUM (5) befriedigende Resultate mit Chlorkalk bei der Flüssigmist-desinfektion erzielen. Er macht jedoch die Einschränkung, daß der Desinfektionserfolg abhängig ist von einer nachfolgenden bakteriologischen Untersuchung des Flüssigmistes mit negativem Ergebnis.

Mit dicker Kalkmilch nach Vorschrift und Dosierung für Jauche und Schmutzwasser kann man Flüssigmist entseuchen. Eine schnellere Desinfektion tritt jedoch bei doppelter Dosierung ein. Vergleicht man dicke Kalkmilch mit Kalkstickstoff als Desinfektionsmittel, so ist die bakterizide Wirkung bei beiden gleich gut und schnell. Der Düngewert des Flüssigmistes wird jedoch außer einer Erhöhung des Kalkgehaltes nicht wesentlich verbessert. Dadurch erhöhen sich die Kosten für die Desinfektion im Vergleich zu Kalkstickstoff. Außerdem ist die Anwendung von dicker Kalkmilch umständlicher, da sie vor Gebrauch gemäß § 11 der Anlage A zu § 3 der BAVG jedes Mal frisch zubereitet werden muß.

Als letztes Desinfektionsmittel wurde Natriumhydroxid (NaOH) untersucht, das im Vergleich zu dicker Kalkmilch und Kalkstickstoff am stärksten bakterizid wirkte. Schon nach 2 Stunden bei einer 2%igen Konzentration in Flüssigmist konnten keine Salmonellen mehr nachgewiesen werden. Dagegen ist aber nach Anwendung von Natriumhydroxid der Flüssigmist nicht mehr als Düngemittel zu verwenden. Die Reaktion des Flüssigmistes steigt auf pH 12. Außerdem läßt sich die behandelte Flüssigkeit nach Konsistenz, Farbe und Geruch nicht mehr als Flüssigmist identifizieren.

Die Desinfektionsversuche mit dicker Kalkmilch und Kalkstickstoff ergaben, daß Salmonellen nach 2 bis 6 Stunden Einwirkungszeit nicht wieder angezüchtet werden konnten. Da die Na-Tetrathionat-Anreicherung nach Zugabe der auf Salmonellen zu untersuchenden Flüssigmistprobe sich in ihrer Ionenkonzentration von pH 7,6 auf pH 8,9 veränderte, bestand der Verdacht, daß die Salmonellen in der Na-Tetrathionat-Anreicherung keine optimalen Lebensbedingungen mehr vorfanden und dadurch teilweise die negativen Wiederanzüchtungsergebnisse hervorgerufen wurden. In einem anschließenden Versuch, in dem die mit dicker Kalkmilch und Kalkstickstoff behandelten Flüssigmistproben vor der Zugabe in Na-Tetrathionat-Anreicherung auf pH 7 eingestellt wurden, konnten die Vermutungen bestätigt werden. Es waren noch bis zu 3 Tagen nach Behandlung mit dicker Kalkmilch bzw. bis zu 4 Tagen nach Behandlung mit Kalkstickstoff Salmonellen in den auf pH 7 eingestellten Flüssigmistproben anzüchtbar.

Das hat für eine praktische Flüssigmistanwendung die Bedeutung, daß nach Ausbringung von desinfiziertem Flüssigmist durch das Pufferungsvermögen des Bodens der pH-Wert des Flüssigmistes zum Neutralpunkt hin sich verschiebt und somit Salmonellen unter Umständen wieder reaktiviert werden.

Daher müssen Lagerzeiten von mindestens 3 bis 4 Tagen nach der stattgefundenen Desinfektion unbedingt eingehalten werden. Aufgrund der gefundenen Ergebnisse muß sogar angenommen werden, daß bei der seit Jahrzehnten üblichen und gesetzlich vorgeschriebenen Desinfektion mit dicker Kalkmilch z. B. von Abortgrubeninhalt, der vergleichsweise dem Flüssigmist entspricht, nach nicht genügend langer Einwirkungszeit der dicken Kalkmilch pathogene Erreger der Typhus-Paratyphus-Gruppe nach Ausbringen auf Felder wieder Anlaß zu neuen Infektionen sein konnten, und somit die Effektivität mancher durchgeführten Desinfektion hinfällig wurde.

Bei der Anwendung der beschriebenen Desinfektionsmittel kommt es auf innige Vermischung mit dem Flüssigmist an. Dies kann entweder in Gruben mit stationär eingebauten Rührwerken bzw. mit einem propellerartigen Rührmixer oder mit Hilfe eines Kompressortankwagens erfolgen.

Zusammenfassung

Es wurden fünf verschiedene chemische Desinfektionsmittel für die Flüssigmist-Entseuchung untersucht. Als geeignet erwiesen sich:

Bei Erhaltung des Flüssigmistes als Düngemittel Kalkstickstoff in einer Dosierung von 20 kg/m³ Flüssigmist sowie dicke Kalkmilch in einer Dosierung von 6 % (6 Raumteile auf 100 Raumteile Flüssigmist). Bei Zerstörung des Flüssigmistes als Düngemittel Natronlauge in einer Konzentration, daß sie 2 % in Flüssigmist enthalten ist. Als ungeeignet erwiesen sich Superphosphat in einer Dosierung von 10 und 20 kg/m³ Flüssigmist sowie dicke Chlorkalkmilch in einer Dosierung von 3 bis 6 % (3 bzw. 6 Raumteile auf 100 Raumteile Flüssigmist).

E. Best, A. Amberger, D. Strauch, W. Müller and A. Wunsch:
Research into disinfection of liquid dung. 1. Report: Disinfection tests on salmonella in liquid dung from cattle.

Summary

Five different chemical disinfectants were used in tests for decontaminating liquid dung. The following were found to be suitable: When liquid dung is to be kept as fertiliser, calcium nitrate in an amount of 20 kg/m³ liquid dung and lime water in an amount of 6 % (6 parts to 100 parts liquid dung): to break up liquid dung as fertiliser, sodium hydroxide in a concentration to a content of 2 % in the liquid dung. Superphosphate in a dosage of 10 and 20 kg/m³ of liquid dung was found to be unsuitable, as was also thick chlorinated lime in an amount of 3 to 6 % (3 to 6 parts to 100 parts of liquid dung).

Literaturverzeichnis

1. AMBERGER, A.: Über die Hemmung pflanzlicher Katalase durch Cyanamid. *Z. Physiolog. Chemie* **325**, 183 (1961). Über die Wirkung von Cyanamid auf Katalase und Peroxidase in Pflanzen. *Z. Pflanzenern. u. Bodenkunde* **95**, 123 (1961). — u. A. Wunsch: Pflanzenphysiologische Wirkungen des Cyanamids. *Landwirtschaftl. Forschung* **16**, 162 (1963).
2. AMBERGER, A.: Untersuchungen zum Atmungsstoffwechsel von *Cercospora herpotrichoides* Fr. *Z. Pflanzenern. u. Bodenkunde* **107**, 105 (1964). — Untersuchungen über SH-gruppenhaltige Redoxsysteme und terminale Atmung. *Agrochimica, Sonderband* **7**, 109 (1964). — Wirkungsmechanismus von Cyanamid auf den Atmungsstoffwechsel parasitärer Pilze. *Z. Pflanzenern. u. Bodenkunde* **119**, 1 (1968).
3. GLATHE, H. (1971): Kalkstickstoff und Mikroflora des Bodens. *Z. Pflanzenern. u. Bodenkunde* **128**, 41. —
4. BEST, E. (1969): Tenazitäts- und Desinfektionsversuche mit Salmonellen in natürlich gelagerten Flüssigmisten von Rindern und Kälbern. *Vet. Med. Diss., Gießen* 1969. —
5. BLUM, J. (1968): Untersuchungen über Vorkommen, Tenazität, Wachstum und Desinfektion von Salmonellen in Abwasser von Landwirtschaftsbetrieben. *Vet. Med. Diss., Bern.* —

6. VAN DEN BREUL, W. E. (1967): Examen critique des possibilités actuelles de destruction par la cyanamide calcique de *Limnaea truncatula*, O. F. Müller, hôte intermédiaire de *Fasciola hepatica* L. *Parasitica*, Tome XXIII, Nr. 1, 1—21.
7. BRYAN, C. S., and F. A. ANDREWS (1934): Does hydrated lime or 20 per 100 superphosphate kill any bacteria when used in the dairy barn? *Michigan Quart. Bull.* **16**, 230—236.
- 8. GLAUBACH (1965): zit. nach Moeschlin, *Klinik und Therapie der Vergiftungen*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 283.
- 9. GORET, P., und Ch. PILET (1957): Activité bactériostatique et bactéricide du superphosphate de chaux. *Rec. med. vet.* **133**, 1056—1067.
- 10. HAHN, G. (1967): Untersuchungen über die Tenazität von Salmonellen in Schwemmisten verschiedener Zusammensetzungen. *Vet. Med. Diss.*, Gießen.
- 11. KIRSCH, H. (1970): Zur Bekämpfung der Leberegeltschnecke auf Rinderweiden mit Hilfe von Kalkstickstoff. *Tierärztl. Umschau* **25**, 299—301.
- 12. LAGNEAU, F. (1957): Bakteriostatische Wirkung des Superphosphates, seine Rückwirkung auf den Gesundheitszustand der Tiere. Übersetzung: „*Rev. Elev.*“; Prospekt des Vereins Deutscher Düngemittel Fabrikanten, Hamburg 29. 10. 1957.
- 13. MEESER, G. (1960): Der Schweinekot als Salmonellenreservoir und seine Bedeutung für die Teichwirtschaft. *Vet. Med. Diss.*, Berlin.
- 14. PECHEUR, M. (1962): Etude de l'influence du pH et de l'action de la Cyanamide calcique sur les oeufs et les larves de *Trichostrongyles* et de *Strongyloides*. *Ann. Méd. Vét.* **I**, 18—41.
- 15. PECHEUR, M. (1966): Distomatose et Prophylaxie. *Diss. der Faculté des Sciences Agronomiques*, Louvain.
- 16. PLAGEMANN, B. (1966): Statistische Auswertung des Auftretens von Mastitiden in Milchviehstallungen mit und ohne Superphosphateinstreu. *Vet. Med. Diss.*, Gießen 1966.
- 17. POUPLARD, L. (1966): Prophylaxie de la Bronchite Vermineuse. Arbeit aus der Faculté de Médecine Vétérinaire de l'état, Brüssel 1966.
- 18. WALDHAUSEN, S. (1963): Der Einfluß der Superphosphateinstreu auf das Stallklima, Gesundheit und Leistung der Schweine. *Vet. Med. Diss.*, München.
- 19. WALLHÄUSER, K. H., und H. SCHMIDT (1967): Sterilisation, Desinfektion, Konservierung, Chemotherapie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart.

Anschrift der Verff.: Dr. E. Best, Prof. Dr. D. Strauch, Dr. W. Müller, Lehrstuhl für Tierhygiene der Universität Hohenheim, 7000 Stuttgart 70, Postfach 106.
Prof. Dr. A. Amberger, Dr. A. Wünsch, Institut für Pflanzenernährung der Technischen Universität München, 805 Freising-Weihenstephan.