Mikrobiološka analiza unutarnjeg i vanjskog zraka farme svinja u Slavoniji

Augustin, Kristijan

Master's thesis / Diplomski rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:204:820526

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb

Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet

University of Zagreb
Faculty of Agriculture

MIKROBIOLOŠKA ANALIZA UNUTARNJEG I VANJSKOG ZRAKA FARME SVINJA U SLAVONIJI

DIPLOMSKI RAD

Kristijan Augustin

Zagreb, rujan, 2020.

Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet

University of Zagreb
Faculty of Agriculture

Diplomski studij:

Agroekologija – Mikrobna biotehnologija u poljoprivredi

MIKROBIOLOŠKA ANALIZA UNUTARNJEG I VANJSKOG ZRAKA FARME SVINJA U SLAVONIJI

DIPLOMSKI RAD

Kristijan Augustin

Mentor:

izv. prof. dr. sc. Mirna Mrkonjić Fuka

Komentor:

dr. sc. Ivančica Kovaček

Zagreb, rujan, 2020.

Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet

University of Zagreb
Faculty of Agriculture

IZJAVA STUDENTA

O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, **Kristijan Augustin**, JMBAG 017 809 8840, rođen 17.5.1994. u Sisku, izjavljujem da sam samostalno izradio diplomski rad pod naslovom:

MIKROBIOLOŠKA ANALIZA UNUTARNJEG I VANJSKOG ZRAKA FARME SVINJA U SLAVONIJI

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedini autor ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznat s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____ _____

Potpis studenta

Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet

University of Zagreb
Faculty of Agriculture

IZVJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studenta **Kristijana Augustina**, JMBAG 017 809 8840, naslova

MIKROBIOLOŠKA ANALIZA UNUTARNJEG I VANJSKOG ZRAKA FARME SVINJA U SLAVONIJI

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____ , dana _____ .

Povjerenstvo:	potpisi:
1. izv. prof. dr. sc. Mirna Mrkonjić Fuka, mentor	_____
2. dr. sc. Ivančica Kovaček, komentor	_____
3. prof. dr. sc. Zoran Luković, član	_____
4. doc. dr. sc. Dubravko Škorput, član	_____

Zahvala

Zahvaljujem izv. prof. dr. sc. Mirni Mrkonjić Fuka na mentorstvu, nesebičnoj pomoći i savjetima pri pisanju ovoga rada.

Puno hvala Irini Tanuwidjaja, mag. ing. agr. čije su konzultacije od četiri sata za pomoć pri pisanju ovoga rada proletjele kao da su trajale 15 minuta.

Veliko hvala dr. sc. Ivančici Kovaček prije svega što me primila na praksu na Odjelu za mikrobiološke analize hrane, predmeta opće uporabe i okolišnih uzoraka na Nastavnom zavodu za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar“ ali i na pristanku da pod njenim komentorstvom u sklopu Odjela radim ovaj rad.

Hvala i mr. sc. Ivoni Majić, dipl. ing. na pomoći u praktičnom dijelu ovoga rada (prikupljanju uzoraka s terena) te na bezgraničnoj strpljivosti pri odgovaranju na sva moja pitanja kojih je bilo mnogo (ako ne i previše).

Zahvaljujem se i ostalim djelatnicima Odjela za mikrobiološke analize hrane, predmeta opće uporabe i okolišnih uzoraka. Osim što sam od svih puno naučio također su bili i fantastično društvo koje je učinilo moju praksu na Odjelu vrlo ugodnim i nezaboravnim iskustvom.

Ovaj rad je napravljen unutar projekta „Centar za sigurnost i kvalitetu hrane“ (KK.01.1.1.02.0004).

Projekt je sufinancirala Europska unija iz Europskog fonda za regionalni razvoj.

Sadržaj

1. Uvod ... 1
2. Pregled literature ... 2
2.1. Uzgoj svinja ... 2
2.1.1 Mikroklimatski uvjeti u nastambama svinja ... 2
2.1.2 Nastambe za držanje svinja ... 3
2.2. Preventivne mjere i održavanje higijene ... 5
2.3. Kvaliteta zraka ... 6
2.4. Lebdeće čestice (PM) - aerosoli i bioaerosoli ... 7
2.5. Izvori mikroorganizama na farmi svinja ... 9
2.5.1 Fekalna materija ... 10
2.5.2 Sluznica dišnog sustava ... 10
2.5.3 Hrana ... 10
2.5.4 Stelja ... 14
2.5.5 Voda ... 16
2.6. Hipoteza i cilj istraživanja ... 18
3. Materijali i metode ... 19
3.1. Hranjive podloge za uzgoj bakterija i plijesni ... 19
3.1.1 Krvni agar (KA) ... 19
3.1.2 Sabouraud-dekstrozni agar (SAB) ... 19
3.2. Uređaj za mjerenje ekofizioloških uvjeta FLUKE 975V AirMeter™ ... 20
3.3. Uređaj za uzorkovanje zraka ... 20
3.4. Uzorkovanje ... 21
3.5. Određivanje ekofizioloških uvjeta ... 23
3.6. Određivanje ukupnog broja aerobnih mezofilnih bakterija ... 23
3.7. Određivanje ukupnog broja plijesni ... 23
3.8. Statistička analiza ... 24
4. Rezultati ... 25
4.1. Temperatura i relativna vlažnost unutarnjeg i vanjskog zraka farme ... 25
4.2. Ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija ... 26
4.3. Ukupan broj plijesni ... 27
5. Rasprava ... 30
6. Zaključci ... 34
7. Literatura ... 35

Sažetak

Diplomskog rada studenta **Kristijana Augustina**, naslova

MIKROBIOLOŠKA ANALIZA UNUTARNJEG I VANJSKOG ZRAKA FARME SVINJA U SLAVONIJI

Zbog velike koncentracije životinja na relativno malom prostoru, zrak na farmama svinja može biti kontaminiran mikroorganizmima koji mogu imati štetan utjecaj na zdravlje svinja i radnika na farmi. Postoji i mogućnost širenja bioaerosola s farme u okolinu što može predstavljati problem okolnom stanovništvu. Budući da koncentracije mikroorganizama u zraku farme i oko nje mogu biti povećane, nužna je mikrobiološka kontrola unutarnjeg i vanjskog zraka da bi se po potrebi, u slučaju prekoračenja standardnih vrijednosti, mogle provesti određene mjere suzbijanja kontaminacije. Kako bi se odredila mikrobiološka kvaliteta zraka unutar farme svinja u Slavoniji te mikrobiološka kvaliteta vanjskog zraka s porastom udaljenosti od farme, prikupljeni su uzorci zraka na pet lokacija unutar farme (odgajalište, tovilište 1, tovilište 2, pripustilište i grupno čekalište) te na četiri lokacije udaljene 1,5, 5, 10 i 15 m od farme. Uzorkovanje se vršilo impakcijom pomoću uređaja SAS SUPER 90 u 4 ponavljanja (n=36). Paralelno je tijekom uzorkovanja pomoću uređaja FLUKE 975V AirMeter mjerena temperatura i relativna vlažnost zraka. Svi uzorci zraka analizirani su na Sabouraud-dekstroznom agaru za uzgoj plijesni, te na krvnom agaru za uzgoj aerobnih mezofilnih bakterija (AMB) te su dobivene CFU/m^3 vrijednosti uspoređene s referentnim vrijednostima propisanim standardom ("Diario da Republica n.° 235/2013, 1° Suplemento, Serie I de 2013-12-04"). Broj aerobnih mezofilnih bakterija u zraku na svih pet lokacija unutar farme bio je iznad dozvoljenih referentnih vrijednosti. Povećanjem udaljenosti od farme zabilježen je pad broja AMB u zraku. Ukupan broj AMB u zraku na farmi bio je značajno viši ($p < 0,05$) u odnosu na vanjski zrak. Ukupan broj plijesni na dvije lokacije unutar farme (odgajalište i tovilište 1) također ne zadovoljava kriterije propisane standardom. Kao i za AMB, zabilježen je pad ukupnog broja plijesni s povećanjem udaljenosti od farme. Međutim, u slučaju plijesni, nisu detektirane značajne razlike ($p > 0,05$) u brojnosti s obzirom na vanjski i unutarnji zrak.

Ključne riječi: farma svinja, kvaliteta zraka, bioaerosoli, aerobne mezofilne bakterije, plijesni

Summary

Of the master's thesis - student **Kristijan Augustin**, entitled

MICROBIOLOGICAL ANALYSIS OF INDOOR AND OUTDOOR AIR ON A PIG FARM IN SLAVONIA

Due to a large concentration of animals living in a relatively small area, air on pig farms can be contaminated by microorganisms which can have an adverse effect on the health of pigs and farm workers. There is also a possibility of spreading bioaerosol from the farm to the surrounding area which can become a problem for the surrounding populace. Since the concentration of microorganisms in the air around and on the farm can be increased, a microbiological control of indoor and outdoor air is necessary. If the standard values are exceeded, measures of contamination suppression must be taken. To ascertain the microbiological air quality on a pig farm in Slavonia, as well as the changes in the microbiological air quality when moving away from the farm, five samples were taken from the pig farm (nursing ground, feeding ground 1, feeding ground 2, breeding ground, farrowing ground) and four samples were taken 1.5, 5, 10 and 15 meters away from the farm. The sampling was done by impaction, using the SAS SUPER 90 in four iterations (n=36). At the same time, the FLUKE 975V AirMeter device was used to measure the temperature and relative humidity. All air samples were analyzed on a Sabouraud dextrose agar for mold cultivation, as well as on a blood agar for cultivation of aerobic mesophilic bacteria (AMB), and these CFU/m^3 values were compared to the standard values ("Diario da Republica n.° 235/2013, 1° Suplemento, Serie I de 2013-12-04"). The number of airborne aerobic mesophilic bacteria on all five farm locations was over the referential value prescribed by the common standards. By moving away from the farm, a drop in the number of airborne AMB was noted. The overall number of indoor air AMB was significantly higher ($p>0.05$) than in outdoor air. The amount of molds on two farm locations (nursing ground and feeding ground 1) also did not meet the criteria prescribed by the common standards. Just like AMB, a drop in the amount of mold was noted when moving away from the farm. However, there were no notable differences ($p>0.05$) in their number when comparing indoor and outdoor air.

Keywords: swine farm, air quality, bioaerosols, aerobic mesophilic bacteria, moulds

1. Uvod

Mikroorganizmi imaju iznimno veliki utjecaj na biljni i životinjski svijet, kako pozitivan tako i negativan, izravan ili neizravan. Važni su za održavanje života na Zemlji kroz hranidbeni lanac (proizvođači i razlagači) i biogeokemijske cikluse, ali isto tako mogu i štetno djelovati na zdravlje živih bića uzrokujući promjene u njihovom organizmu koje mogu rezultirati bolešću i prestankom životnih funkcija.

Mikroorganizmi su sveprisutni. Nastanjuju sve sfere okoliša (hidrosferu, litosferu i atmosferu), unutrašnjost i površinu biljnih i životinjskih organizama te neekstremne, ali i ekstremne ekosustave koje odlikuje visoki salinitet, ekstremno visoke ili niske temperature, visoke doze radijacije i slično.

Iako je zrak smjesa plinova, on isto može biti kontaminiran mikroorganizmima. Naime, u njemu se nalaze **aerosoli** – krute ili tekuće čestice suspendirane u zraku koje mogu štetno djelovati na ljudsko zdravlje kroz dišne puteve. Ti aerosoli mogu imati ulogu prijenosnika čestica biološkog (mikrobnog, biljnog ili životinjskog) porijekla. U tom se slučaju nazivaju **bioaerosoli**. Zbog bioaerosola zrak postaje posrednik za prijenos mikroorganizama te u konačnici dolazi do širenja bolesti uzrokovanih virusima, bakterijama, gljivicama i protozoama koje osim na ljudsko, imaju djelovanje i na zdravlje životinja i biljaka (Pepper i Gerba 2015.).

S obzirom da zrak može biti kontaminiran mikroorganizmima, potrebno je kontrolirati njegovu kvalitetu ukoliko se posumnja na kontaminaciju. Jedno od mjesta na kojima se kontrolira kvaliteta zraka su farme životinja.

Zbog intenzivnog uzgoja velikog broja životinja na relativno malim prostorima, današnje farme predstavljaju kritične točke širenja velikog broja mikroorganizama kako zbog same gustoće životinja tako i zbog vlage zraka i temperatura koje mogu biti optimalne za rast mikroorganizama zbog neadekvatne ventilacije, ali i nedovoljne higijene prostora.

Povećane koncentracije mikroorganizama u zraku mogu imati štetne posljedice prvenstveno na same životinje i radnike na farmi, ali i na okolinu izvan same farme zbog njihove emisije u okoliš. Tu je također i neugodan miris koji može potjecati s farme, ali njegova prisutnost ne mora uvijek značiti prisutnost mikroorganizama u zraku ili negativan utjecaj na zdravlje.

Na osnovu navedenog, potrebno je pratiti i provesti istraživanje kvalitete zraka na farmama životinja. Na zahtjev stranke provedena je mikrobiološka analiza zraka na farmi svinja u Slavoniji u svrhu utvrđivanja potrebe za provođenjem preventivnih higijenskih mjera ukoliko kvaliteta zraka ne odgovara zadanim standardima te je u sklopu tog istraživanja napravljen ovaj rad.

2. Pregled literature

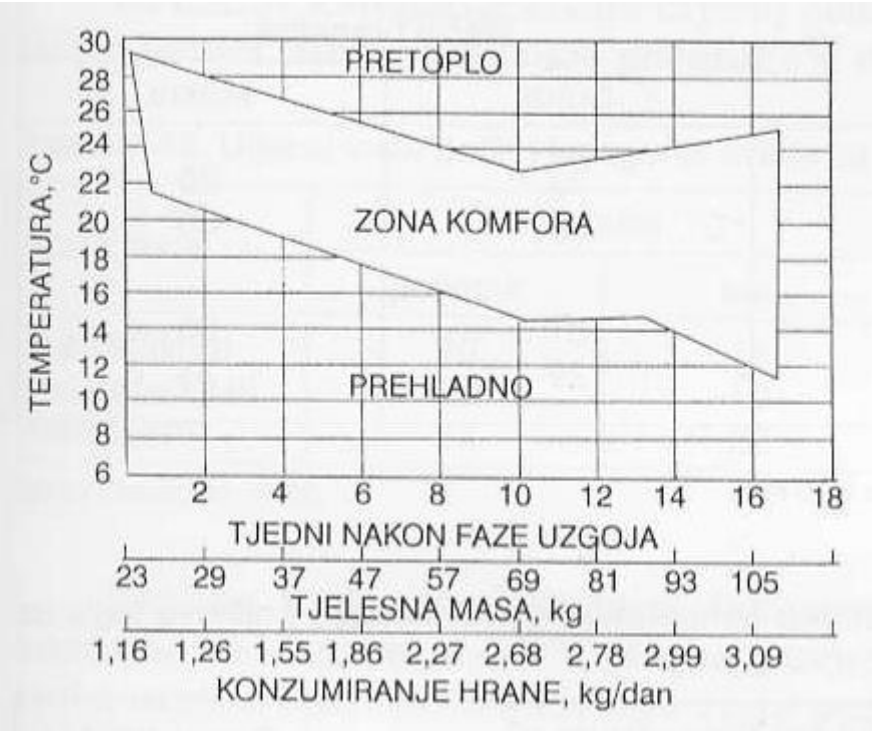
2.1. Uzgoj svinja

2.1.1 Mikroklimatski uvjeti u nastambama svinja

Mikroklima je jedan od važnih čimbenika za uzgoj svinja jer o njoj ovise rezultati u pojedinim fazama svinjogojske proizvodnje. Ona ovisi o temperaturi zraka, relativnoj vlažnosti zraka, razini strujanja zraka, sastavu zraka i svjetlosti (Uremović i Uremović 1997.).

2.1.1.1 Temperatura

Temperatura je jedan od najvažnijih čimbenika mikroklime koji utječe na rast svinja, iskorištenje hrane, kakvoću proizvoda i rezultate razmnožavanja svinja. Temperatura u nastambi može jako varirati i kretati se od kritičnih do optimalnih. Optimalna je ona temperatura u kojoj je metabolizam svinja minimalan i stalan te se u njoj energija rasta maksimalno iskorištava, dok su kritične temperature one iznad ili ispod granice optimalne temperature pri kojima se smanjuje ili ubrzava metabolizam u organizmu svinja. Raspon zone optimalne temperature varira ovisno o dobi i tjelesnoj masi svinja, intenzitetu hranidbe i načinu držanja životinja (Slika 1.) (Uremović i Uremović 1997.).



Slika 1. Zona komfora za svinje (Uremović i Uremović 1997.)

2.1.1.2 Relativna vlažnost

Relativna vlažnost zraka (RV) pokazuje zasićenost zraka vodenom parom u postotcima. Svinje su u granicama optimalne temperature prilagođene na RV u rasponu od 50-90%. RV iznad 90% pogoršava utjecaj visokih temperatura na organizam svinja, što se očituje u većoj pojavi bronhopneumonije i uginuća svinja. RV ispod 50% djeluje na povećanje dišnih infekcija. Optimalna RV za odrasle svinje iznosi 65-70%, a za prasad od 50-60%. Pri visokim vanjskim temperaturama i visokoj RV javlja se toplinski udar kod životinja. Ako se temperatura snizi ispod optimalne, RV u nastambi svinja treba biti niža, jer vlažan zrak pridonosi odvodnji topline iz organizma svinja. Relativna vlažnost zraka uz koju se postižu dobri proizvodni rezultati za pojedine kategorije svinja prikazana je u Tablici 1. (Uremović i Uremović 1997.).

Tablica 1. Granice RV za pojedine kategorije svinja (Uremović i Uremović 1997.)

Kategorija svinja	RV_{min} [%]	RV_{max} [%]
Suprasne krmače i nerastovi	40	75
Dojne krmače s leglom	40	80
Prasad	50	70
Tovne svinje	60	80

2.1.2 Nastambe za držanje svinja

Svinjama se, kako rastu, brzo mijenjaju fiziološka stanja biološkog ciklusa u kojima svinje zahtijevaju posebne nutritivne potrebe, potrebe mikroklime, načina držanja, njege i higijene. S obzirom na to, biološki se ciklus može podijeliti u više zatvorenih i odvojenih proizvodnih cjelina. Te proizvodne cjeline mogu biti smještene u posebnim nastambama ili u zajedničkoj nastambi gdje su međusobno prostorno odvojene zbog posebnih zahtjeva za mikroklimatskim uvjetima (Uremović i Uremović 1997.). Spomenute cjeline su iduće:

2.1.2.1 Pripustilište

Pripustilište je dio objekta ili zasebni objekt u koji se smještaju krmače[1] nakon odbijanja prasadi. Taj objekt ima važnu ulogu u proizvodnom ciklusu svinja jer se u njemu otkriva estrus (gonjenje) i obavlja oplodnja krmača. Postoje dva načina držanja nazimica[2] i krmača u pripustilištu, a to su skupno i individualno držanje. S obzirom da je otkrivanje estrusa najvažniji posao u pripustilištu, potrebno je između boksova s nazimicama i krmačama izgraditi boksove za nerastove[3]. Prisutnost nerasta stimulira estrus kod plotkinja. Plotkinje u pripustilištu ostaju 35 dana, a nakon toga prebacuju se u čekalište (Gutzmirtl i Kucjenić 2003.).

[1] Ženka svinje nakon prvog prasenja.
[2] Spolno zrela ženka svinje, koja se još nije prasila.
[3] Spolno zreli mužjak svinje, namijenjen za rasplod.

2.1.2.2 Čekalište

U čekalištu se nalaze suprasne krmače i nazimice od dana utvrđivanja suprasnosti do 5 dana prije prasenja. U čekalištu se krmače najčešće drže u skupinama po 5 krmača. Razvrstane su prema tjelesnoj masi i datumu očekivanog prasenja. U ovoj fazi plotkinje su osjetljive, te je potrebno pažljivo postupati prema njima. Boksovi moraju biti tako koncipirani da svaka krmača ima odvojeni pristup hrani. U zadnjoj trećini suprasnosti fetus se počinje naglo razvijati, pa je pravilna hranidba iznimno bitna. Osim grupnog držanja krmače se mogu držati i u individualnim boksovima. Za oba načina držanja podovi u boksovima najčešće su dijelom rešetkasti, a dijelom puni. Držanje suprasnih krmača na pašnjaku, tj. na otvorenom, ima niz prednosti te se drži najpovoljnijim načinom (Gutzmirtl i Kucjenić 2003.).

2.1.2.3 Prasilište

Prasilište služi za boravak krmača i sisajuće prasadi sve do odbijanja. Smještaj krmača u prasilište potrebno je obaviti 5-6 dana prije prasenja da bi se krmača u tom razdoblju prilagodila uvjetima držanja. S obzirom da je uzgoj sisajuće prasadi najosjetljiviji dio proizvodnog ciklusa, potrebno je u prasilištu osigurati odgovarajuće uvjete za uzgoj, što zahtijeva velika ulaganja u izgradnju i opremanje objekta. Sisajuća prasad ima veće zahtjeve za toplinom nego krmača te je potrebno dodatno grijati prostor za prasad (Gutzmirtl i Kucjenić 2003.).

2.1.2.4 Uzgajalište (odgajalište)

Uzgajalište je nastamba ili dio nastambe u koju se prebacuju prasad iz prasilišta nakon odbijanja od krmače. Prasad je tada u dobi od 21-28 dana i mase oko 6 kg.

Koncepcijski gledano postoji više načina uzgoja prasadi, a to su:

Podni način, gdje prasad boravi na punom podu izrađenom od različitih materijala, najčešće uz prostirku. Ovaj način uzgoja ne koristi se na većim farmama zbog neekonomičnosti ali se koristi na obiteljskim gospodarstvima.

Kavezni način uzgoja drži se prihvatljivijim načinom jer ima niz prednosti u odnosu na podni način. U kavezima je bolje zdravstveno stanje prasadi, bolji su i higijenski uvjeti, potrebna je manja površina po prasetu, potrebno je manje fizičkog rada, postižu se veći dnevni prirasti, a manja je potrošnja hrane za kilogram prirasta. Kapacitet boksova obično je oko 10 prasadi. Glavno svojstvo podova u kavezima jest poroznost, tj. mogućnost propadanja izmeta kroz pod (Gutzmirtl i Kucjenić 2003.).

2.1.2.5 Tovilište

Tovilišta su objekti ili dio objekta u kojemu se obavlja tov svinja od 25-100 kg. Tovilišta su obično podijeljena na prostor za predtov, tj. uzgoj svinja do 60 kg i prostor za tov svinja iznad 60 kg mase. U tovilištu su svinje smještene u boksove po 10 komada. Hranilice se rabe u hranidbi suhom hranom, a mokra se hrana daje iz valova. Podovi u boksovima za tov mogu biti rešetkasti, polurešetkasti ili puni. Uzgoj na sva 3 tipa podova ima svoje prednosti i nedostatke, ali zbog najboljih proizvodnih rezultata najčešće se u tovilištu koristi polurešetkasti pod.

Tov svinja na dubokoj prostirci

Za ovaj način uzgoja prasadi sve je veći interes proizvođača, a ponajviše zbog ekološki prihvatljivih prednosti. S obzirom da prasad ima visoke zahtjeve za toplinom, u ovom načinu uzgoja te su potrebe velikim dijelom zadovoljene fermentacijom stelje i izmeta. Mikroklima je povoljnija jer se fermentacijom razgrađuju mnoge štetne tvari te je zdravstveno stanje bolje i ima manje uginuća (Gutzmirtl i Kucjenić 2003.).

2.2. Preventivne mjere i održavanje higijene

Prašina se iz staja uklanja izvedenim djelotvornim sustavom gravitacijskog (pasivnog) ili mehaničkog (aktivnog) načina prozračivanja. Gravitacijskim prozračivanjem protok zraka se postiže pomoću temperaturnih razlika i vjetrom dok se pri mehaničkom to postiže ventilatorima direktno ugrađenima u zidove i prozore ili u cijevima koje odvode ili dovode zrak u prostoriju. Pri prozračivanju i ulasku vanjskog svježeg zraka doći će do razrjeđenja i smanjenja broja mikroba u zraku staja, a na zidovima, stropu, podu i opremi redovnom temeljitom sanitacijom i dezinfekcijom (Rupić 2011.).

Rupić (2011.) ističe tri načina držanja svinja: način u kojem se sva razdoblja tehnološkog procesa svinjogojske proizvodnje nalaze pod jednim krovom, način u kojem se pojedina razdoblja tehnološkog procesa odvijaju u odvojenim nastambama i kombinirani način gdje se proizvodnja prasadi (do 25 kg tjelesne mase) odvija u jednoj nastambi (reprocentru), a potom ista prasad tovi u drugoj nastambi. Za način u kojem su sva razdoblja tehnološkog procesa proizvodnje pod jednim krovom ističe nedostatak da nije moguće provesti higijensko profilaktički postupak „sve unutra sve van“ (engl. *all in all out*) jer se prostorije određenim redoslijedom kontinuirano naseljavaju svinjama. Suprotno tome, u slučaju načina u kojem su razdoblja tehnološkog procesa proizvodnje svinja u odvojenim nastambama, Rupić (2011.) ističe da je jedna od prednosti tog načina mogućnost primjene higijenskog postupka „sve unutra sve van“ (engl. *all in all out*) te se zbog toga može provesti remont, sanitacija i dezinfekcija svih prostorija i opreme u nastambi.

Popescu *et al*. (2014.) navode pokvarene ventilacijske sustave, visoki sadržaj vlage krmiva, nepravilnu higijenu i neadekvatne klimatske uvjete kao uzroke kontaminacije zraka u svinjcima te ističu da efikasna ventilacija omogućuje održavanje razine kontaminacije zraka ispod kritičnih vrijednosti koje mogu biti prijetnja životinjskom i ljudskom zdravlju.

Problem kvalitete zraka je taj da ovisi o higijeni ostatka nastambe svinja, što znači da ako se u ostatku postrojenja za uzgoj svinja ne održava čistoća, zrak će također biti kontaminiran.

2.3. Kvaliteta zraka

Prema Pavić *et al*. (2001.), prije uvođenja Pravilnika o dobroj proizvođačkoj praksi, 8. srpnja 1999. godine (NN 71/1999), u Hrvatskoj nisu postojali nikakvi standardi ili propisi o mikrobiološkoj kakvoći zraka. S obzirom da se spomenuti pravilnik odnosi isključivo na regulative mikrobioloških kriterija u proizvodnji lijekova i drugih medicinskih pripravaka koji se rade u sterilnim uvjetima, i dalje postoji potreba za izradom i drugih kriterija mikrobiološke kakvoće zraka u drugim djelatnostima koje su od posebne važnosti (npr. poljoprivreda).

Kovaček (2018.) također ističe problem nedostatka standarda te kao neke od posljedica toga navodi otežano identificiranje mikroorganizama odgovornih za utjecaj na zdravlje, nepostojanje podataka o količini bioloških agenasa na pojedinim radnim mjestima i u okolišu, metode uzorkovanja koje uglavnom nisu standardizirane što dovodi do otežanog (pa čak i nemogućeg) međusobnog uspoređivanja prikupljenih podataka te nedostatak kriterija koji koči razvitak analitičkih metoda. Nadalje, Rupić (2011.) ističe velike razlike u rezultatima u različitoj literaturi u kojoj se određivao ukupni broj mikroba u zraku te kao razlog tomu navodi korištenje različitih tehnika uzimanja uzoraka – još jedan primjer problema nepostojanja standarda.

Od zakonske legislative u Hrvatskoj vezano za općenitu sigurnost na radnim mjestima mogu se još istaknuti i Zakon o zaštiti na radu (NN 071/2014, 118/2014, 094/2018 i 096/2018) te Pravilnik o zaštiti radnika od rizika zbog izloženosti biološkim agensima pri radu (N.N.155/2008) donesenog na temelju Direktive o biološkim agensima (2000/54/EZ) (Kovaček 2018).

Zakonom o zaštiti na radu propisuju se opća načela sprječavanja rizika na radu i zaštite zdravlja, pravila za uklanjanje čimbenika rizika i postupci osposobljavanja radnika te postupci obavješćivanja i savjetovanja radnika i njihovih predstavnika s poslodavcima i njihovim ovlaštenicima dok se Pravilnikom o zaštiti radnika od rizika zbog izloženosti biološkim agensima pri radu utvrđuju minimalni zahtjevi glede sigurnosti i zdravlja radnika pred rizicima po njihovo zdravlje i sigurnost, uključujući i sprječavanje takvih rizika koji proizlaze ili bi mogli proizaći iz izloženosti biološkim agensima pri radu.

Iako su prethodno navedeni zakon i pravilnici korisni, njihov je nedostatak što nisu specifični kao što bi bili standardi. Stoga se može reći da u Hrvatskoj ne postoji standardna regulativa za dozvoljeni broj mikroorganizama u zraku (pogotovo za svaku granu djelatnosti posebno) te se za interpretiranje rezultata nakon analize prikupljenih uzoraka koriste strani standardi. Primjer takvog standarda je portugalski standard "Diario da Republica n.° 235/2013, 1° Suplemento, Serie I de 2013-12-04". Spomenuti standard definira referentnu vrijednost za aerobne mezofilne bakterije u zraku na način da koncentracija ukupnog broja bakterija unutarnjeg zraka mora biti niža od njihove koncentracije u vanjskom zraku + 350 CFU/m^3, a u slučaju plijesni na način da koncentracija plijesni unutarnjeg zraka mora biti niža od one vanjskog zraka.

2.4. Lebdeće čestice (PM) - aerosoli i bioaerosoli

Lebdeće čestice (PM – engl. *particulate matter*) su kompleksne smjese suspendiranih čestica različitih fizičkih, kemijskih i bioloških svojstava koja utječu na njihovo kretanje i utjecaj koji imaju na okoliš i zdravlje (EPA 2004). Ista se definicija može primijeniti i na aerosole samo što se pojam „aerosol“ češće koristi u grani znanosti o atmosferi (Cambra-López *et al*. 2010.).

Aerosoli su u zraku suspendirane krute ili tekuće čestice koje zbog malih veličina i malih brzina taloženja dulje vrijeme mogu lebdjeti zrakom (Tellier 2009.). Predstavljaju prijetnju zdravlju ljudi i životinja zbog mogućnosti udisanja i depozicije u dišnim putevima (Pepper i Gerba 2015.).

Heterogenu smjesu PM čine čestice različitih vrsta, oblika, veličina, gustoće i kemijskog sastava što se također odnosi i na PM iz prostora za uzgoj stoke. Slika 2. prikazuje uzorak PM iz prostora za uzgoj zečeva, pahuljastih, ovalnih i čestica kristalnog oblika, veličina od nekoliko nanometara pa do desetak mikrometara u promjeru. Valja napomenuti da se PM iz prostora za uzgoj stoke razlikuje od drugih vrsta čestica zbog tri razloga:

- Koncentracije PM iz prostora za uzgoj stoke veće su 10-100 puta od čestica u drugim tipovima unutarnjeg prostora
- Prenose neugodne mirise i štetne plinove
- Biološki su aktivne tj. sadrže različite vrste mikroorganizama u većim koncentracijama.

Slika 2. Elektronski mikrograf (povećanje 1 500x) heterogene smjese PM iz prostora za uzgoj zečeva prikupljene na filteru od staklenih vlakana (Cambra-López *et al*. 2010.)

Nekoliko je načina klasifikacije PM: po veličini s obzirom na utjecaj na zdravlje, po veličini za uzorkovanje te po načinu širenja.

Međunarodna organizacija za standardizaciju (ISO) u ISO 7708 i Europski odbor za normizaciju (CEN) u EN 581, definirali su veličine PM s obzirom na utjecaj na zdravlje tj. na osnovu dubine njihovog ulaska u respiratorni trakt čovjeka, a to su:

- Inhalabilne čestice – koje se mogu udahnuti kroz nos i usta,
- Torakalne čestice – koje, jednom udahnute, mogu prodrijeti u grkljan,
- Respirabilne čestice – koje prolaze grkljan i prodiru u dijelove dišnog sustava bez cilija i
- Visokorizične respirabilne čestice – u slučaju djece i oboljelih (Cambra-López *et al*. 2010.).

Američka agencija za zaštitu okoliša (USEPA) podijelila je aerosole u dvije kategorije na osnovi veličine za uzorkovanje: PM_{10}, što se odnosi na čestice promjera jednakog ili manjeg od 10 μm i $PM_{2,5}$, koje su čestice jednakog ili manjeg promjera od 2,5 μm. Aerolosi manjih veličina mogu putovati dublje u dišni sustav od većih aerosola zbog čega predstavljaju veći rizik za zdravlje (Pepper i Gerba 2015.).

Po načinu širenja, PM se dijeli na nukleacijske, akumulacijske i grube čestice. Nukleacijske čestice su najmanjeg promjera, kratkog životnog vijeka u atmosferi te su podložne difuziji. Akumulacijske čestice većeg su promjera i životnog vijeka u atmosferi od nukleacijskih, prevelike su da bi bile podložne difuziji, a premale da bi se brzo taložile pod utjecajem gravitacije. Iz atmosfere se uklanjaju ispiranjem te suhom i mokrom depozicijom. Grube su pak čestice većeg promjera od akumulacijskih, ali kraćeg životnog vijeka u atmosferi jer se brzo talože zbog utjecaja gravitacije, iako mogu pod utjecajem strujanja zraka proći velike udaljenosti. Zbog brzog taloženja imaju i najmanji utjecaj na zdravlje i okoliš (Cambra-López *et al*. 2010.).

Lebdeće čestice u prostoru za smještaj stoke smatraju se onečišćenjem unutarnjeg prostora koje ima štetno djelovanje kako na životinje tako i na radnike. Udahnute čestice ulaze u respiratorni sustav uzrokujući kronični suhi i mokri kašalj, kronični bronhitis, alergijske reakcije i simptome astme. Osim što mogu utjecati na zdravlje ljudi i životinja, emisije PM prijetnja su i okolišu (biljkama i drugim organizmima) uzrokujući vegetacijski stres i promjene ekosustava. Visoke koncentracije PM u okolišu utječu i na klimatske promjene poput formiranja oblaka i zračenje te smanjuju vidljivost u atmosferi (problem za ptice i zračni promet), a ukoliko su nošene vjetrom, mogu biti i štetne za stanovništvo u okolici farmi (Cambra-López *et al*. 2010.).

U svrhu zaštite okoliša i očuvanja zdravlja ljudi i životinja unutar i u okolici prostora za uzgoj stoke, potrebno je moći odrediti koncentraciju i emisiju PM unutar tih objekata. Da bi se znalo kako dolazi do formacije PM, potrebno je prikupiti podatke za dvije osnovne karakteristike čestica: njihovu morfologiju (prvenstveno veličina) i sastav. Pomoću toga bi se mogli identificirati i kvantificirati njihovi izvori. Da bi se bolje razumjeli načini i uzročnici emisije PM u vanjski okoliš, potrebno je i kvantificirati količinu emitiranih PM (Cambra-López *et al*. 2010.).

Ukoliko su za aerosole vezane organske komponente tada je riječ o **bioaerosolima**. Te organske komponente mogu biti bakterijske stanice ili samo njihovi dijelovi, spore i hife gljivica (plijesni), virusi te nusprodukti mikrobnog metabolizma (endotoksini i mikotoksini) (Stetzenbach 2009).

Bioaerosoli su jedan od najznačajnijih izvora onečišćenja na farmama. Životinje i radnici na farmi izloženi visokim koncentracijama bioaerosola, kao i njihovim produktima. Ti zrakom prenosivi mikroorganizmi uzročnici su mnogih zaraznih, alergijskih i imunotoksičnih bolesti (Karwowska 2005.).

Izlaganje bioaerosolima koji sadrže mikroorganizme i njihove nusprodukte može rezultirati poremećajima dišnog sustava, infekcijama te pojavom hipersensitivnog pneumonitisa (Yassin i Almouqatea 2010.).

Yassin i Almouqatea (2010.) ističu da se u okolišu spore plijesni i bakterija mogu prenositi zrakom te da time poprime ubikvistička svojstva (u obliku spora je olakšano preživljavanje u nepovoljnim uvjetima). Provjetravanjem prostorija ili uporabom ventilacijskih sustava te spore mogu doći u unutarnji prostor i onečistiti ga.

Osim onečišćenja unutarnjeg prostora zrakom iz vanjskoga, isto može biti i obrnuto. Sve ovisi koji zrak je manje, a koji više onečišćen. Tako su Cambra-López *et al*. (2010.) istaknuli da sadržaj PM u zraku prostora za smještaj stoke nije bitan samo unutar istog već i izvana jer se onečišćenja nastala u unutarnjem prostoru ventilacijom ispuštaju u okolinu.

2.5. Izvori mikroorganizama na farmi svinja

Prema Zhao *et al*. (2014.), opće je prihvaćeno da su svi izvori PM također i izvori zrakom nošenih mikroorganizama jer sam izvorni materijal sadrži određene mikrobne vrste koje se odnose zajedno s prašinom (bioaerosolima). Problem nastaje u pokušaju identifikacije mikrobnog izvora jer je postupak kompleksniji od identifikacije izvora PM općenito. Razlog tome su otežani uzgoj mikrobnih vrsta zbog njihove velike raznolikosti na izvornom materijalu te dinamična vijabilnost mikroorganizama na izvornom materijalu, što znači da brojnost mikroorganizama nije konstantna, može se smanjivati ili povećavati, što je isto potrebno uzeti u obzir, dok kod uzorkovanja prašine to ne predstavlja prepreku.

Iako su emisije PM u stočarskoj proizvodnji relativno niske (8% od ukupnih PM_{10} emisija i 4% od ukupnih $PM_{2,5}$ emisija) njihov značaj za okoliš će se povećati jer će se prema trenutnim predviđanjima ostali izvori PM smanjiti. Primjerice, emisije PM u grani poljoprivrede u Nizozemskoj iznose 25%, a ako se gleda poljoprivreda na razini Europe, intenzivan uzgoj peradi i svinja u zatvorenom prostoru je glavni izvor PM emisija (oko 50% od ukupnih PM emisija za perad i 30% za svinje) (Cambra-López *et al*. 2010.).

Prema Yassin i Almouqatea (2010.), mnogi rodovi mikroorganizama potječu od unutarnjih izvora poput životinja, tegli s cvijećem u kućanstvima i kantama za odlaganje otpada. U većini slučajeva pojava mikroorganizama u zraku nije štetna, no njihovo prekomjerno razmnožavanje, koje se potakne prekomjernom vlagom u zraku te visokim sadržajem vode u materijalima za gradnju, predstavlja rizik za zdravlje u unutarnjem prostoru.

Uzrok tome su propusti tijekom izgradnje objekata (npr. nedostatak toplinske izolacije) ali i ponašanje korisnika prostorija (npr. zanemarivanje higijene prostora).

Koncentracija i vrsta mikroorganizama u unutarnjem zraku ovisi o tehnološkim faktorima (poput namjene i starosti objekta), broju ljudi i životinja, načinu grijanja i ventilaciji te o mikroklimatskim uvjetima (temperaturi, relativnoj vlažnosti, koncentraciji plinova, osvjetljenju i koncentraciji prašine). Nepravilno provođenje radnih metoda te neodržavanje higijene prostora također može biti uzrok znatnog zagađenja zraka mikrobima (Karwowska 2005.).

2.5.1 Fekalna materija

Glavni izvor velikog broja mikroorganizama iz životinja je fekalna ekskrecija. Učestale bakterijske vrste koje se mogu naći u uzorcima stolice su *Salmonella* spp. i *Escherichia coli*. Mikroorganizmi se iz osušenih fekalnih čestica prenose strujanjem zraka ili zbog životinjske aktivnosti. U istraživanju su Duan *et al*. (2009.) otkrili sličnosti između sojeva *E. coli* u zraku unutar farme i u smjeru puhanja vjetra izvan farme svinja. Također je uočena sličnost između bakterija *E. coli* iz zraka s onima izoliranim iz uzoraka fekalne materije svinja.

Sadržaj vode povezuje čestice u fekalijama i onemogućuje njihovu suspenziju u zrak te zbog toga mikroorganizmi u osušenim fekalijama s niskim sadržajem vode brže prelaze u bioaerosole od mikroorganizama iz svježih fekalija. Sadržaj vode svježe stolice je u rasponu od 60-90%, ovisno o vrsti životinja. Uzevši u obzir općenite uvjete za uzgoj stoke, potrebno je nekoliko sati pa čak i nekoliko dana da se sadržaj vode u stolici smanji na manje od 20% što je količina vode u aerosolima u sustavima za uzgoj stoke (Aarnink *et al.* 1999., prema Zhao *et al*., 2014.; Zhao *et al.*, 2013.). To znači da mikroorganizmi moraju proći kroz latentno razdoblje od trenutka ekskrecije fekalija do trenutka prelaska u aerosole (Zhao *et al*. 2014.).

2.5.2 Sluznica dišnog sustava

Disanjem, kašljanjem i kihanjem životinje mogu izbaciti mikroorganizme iz sluznice dišnih organa. U slučaju čovjeka, ovaj je način prijenosa bolesti i patogenih mikroorganizama izdahnutim aerosolima značajniji nego kod životinja. Iako su Hermann *et al*. (2008.) identificirali *Mycoplasma hyopneumoniae* i *Bordetella bronchiseptica* iz izdahnutog zraka zaraženih svinja, nisu uspjeli identificirati viruse u aerosolima koje su našli u brisevima usta i nosa tih istih svinja. Slično je otkriveno i u istraživanju Zhao *et al*., (2013.): u uzorcima izdahnutog zraka tovnih pilića zaraženih gumborskom bolešću, nije bilo virusa koji uzrokuju istu. S obzirom na to, Zhao *et al*., (2013.) pretpostavljaju da nisu svi organizmi iz sluznice dišnog sustava podložni aerosolizaciji, te da je sluznica manje značajan izvor bioaerosola od fekalija. Također kao još jedan razlog nemogućnosti detekcije navode i ograničenost uređaja korištenih za prikupljanje uzoraka, tj. da su količine izdahnutih mikroorganizama bile ispod granica detekcije uređaja za uzorkovanje te ističu potrebu za novim i efikasnijim metodama.

2.5.3 Hrana

Osim što požete žitarice služe kao izvor energije za životinje u obliku hrane, one su isto tako supstrat i prijenosnik za jednostanične prokariote i eukariote. Krmiva sadrže raznoliku

mikrobiotu prenesenu iz različitih okolišnih izvora poput tla, prašine, vode i insekata. Mikroorganizmi na žitarice mogu prijeći u bilo kojem trenutku tijekom rasta, žetve, prerađivanja, skladištenja i hranjenja životinja. Mikrobiota pronađena u krmivima potječe iz različitih ekoloških niši poput tla ili gastrointestinalnog trakta te se mora prilagođavati drukčijim uvjetima novog staništa (žitarica i krmiva) da bi preživjela i rasla. Mikrobna raznolikost krmiva ovisi o aktivitetu vode, parcijalnom tlaku kisika, pH i nutritivnom sastavu matriksa krmiva dok mikrobni rast ovisi o sadržaju vlage u krmivu. Neki su se mikroorganizmi (pretežno plijesni) prilagodili uvjetima bez slobodne vode što im omogućuje rast i na uskladištenim žitaricama. No ipak, drugi organizmi moraju naći druge strategije preživljavanja do dovoljne razine vode za mikrobnu aktivnost. Mikrobiota može negativno utjecati na kvalitetu žitarica mijenjajući joj nutritivnu vrijednost, uzrokujući fizičku štetu ili ispuštanjem sekundarnih metabolita (endotoksina i mikotoksina) (Maciorowski *et al*. 2007.).

Maciorowski *et al*. (2007.) ističu mogućnost inficiranja usjeva prije žetve kombinacijom zemlje pomiješane s fekalijama, bilo direktnom ekskrecijom ili uporabom gnojiva. U ovom slučaju dolazi do miješanja mikroorganizama iz tla s onima iz fekalija te ukoliko se prilagode novim stanišnim uvjetima (relativno sušnim i siromašnim hranjivom) mogu biti preneseni na novog domaćina.

Intenzitet prijenosa mikroorganizama putem bioaerosola s hrane u okolinu i na životinju ovisi o tipu hrane: suha ili mokra te praškastog ili oblika peleta. Što se tiče bakterija, njihov se prijenos može odvijati i pomoću kukaca dok im niski aktivitet vode u skladištima žitarica ograničava razmnožavanje. U slučaju silaže pod vlažnim i anaerobnim uvjetima, raznolikost bakterija ograničena je niskim pH (Zhao *et al*. 2014.).

U Tablici 2. istaknute su važne patogene bakterije koje se prenose hranom te sindromi i bolesti koje uzrokuju.

Tablica 2. Potencijalni bakterijski patogeni pronađeni u krmi, simptomi i/ili bolesti koje uzrokuju, te bilješke vezane za njihovu ekologiju (Maciorowski *et al*. 2007.)

Bakterije	**Simptomi/bolesti**	**Bilješke**
Clostridium perfringens	Proširenje želuca, nekrotični enteritis (perad), gangrenozni dermatitis (purani)	Kontaminacija neadekvatno siliranih žitarica
Clostridium botulinum	Botulizam	Kontaminacija neadekvatno siliranih žitarica, produkcija šest imunološki različitih toksina.
Listeria spp. (*L. monocytogenes*)	Septikemija, pobačaji, encefalitis, infekcije očiju	Kontaminacija neadekvatno siliranih žitarica, acidorezistentni sojevi mogu kontaminirati visokokvalitetnu silažu čiji je pH < 4
Escherichia coli	Septikemija, celulitis, sindrom otečene glave (perad), upala zračnih vrećica (perad)	Različiti mehanizmi preživljavanja okolišnog stresa, indikator fekalne kontaminacije
Salmonella spp.	Enteritis, proljev, septikemija	Različiti mehanizmi preživljavanja okolišnog stresa, posebno rezistentne na dehidraciju

Plijesni su od većeg značaja od bakterija u slučaju kontaminacije krmiva. Plijesni uzrokuju smanjenje klijavosti sjemena, neugodan miris, gubitak suhe tvari i nutrijenata, zgušnjavanje, proizvodnju mikotoksina te u konačnici pad ekonomske vrijednosti krmiva (Zhao *et al*. 2014.).

2.5.3.1 Mikotoksini

Bolesti uzrokovane plijesnima najčešće su uzrokovane konzumacijom njihovih mikotoksina. Intenzitet mikotoksikoza ovisi o samom toksinu te o njemu izloženoj vrsti. Tako su svinje otpornije na učinak aflatoksina B_1 od peradi, koja je preko 20 puta otpornija nego zečevi. U slučaju goveda, otpornija su na učinke deoksinivalenola od svinja zbog tipičnog probavnog sustava kod svih preživača, u čijem se posebnom kompartimentu (buragu) toksin razgrađuje.

Mikotoksini koji su važni iz agronomskog aspekta istaknuti su u Tablici 3. zajedno s plijesnima koje ih proizvode i simptomima bolesti koje uzrokuju.

Tablica 3. Mikotoksini, plijesni koje ih proizvode i karakteristike toksičnosti (Maciorowski *et al*. 2007.)

Toksin	**Plijesni**	**Karakteristike toksičnosti**
Aflatoksin (B_1, B_2, G_1, G_2)	*Aspergillus* spp. (*A. flavus, A. parasiticus*)	Hepatotoksičan
Okratoksin A	*Aspergillus* spp. (*A. ochraceus*), *Penicillium* spp. (*P. verrucosum*)	Nefrotoksičan, karcinogen, teratogen (embriotoksičan), neurotoksičan, imunotoksičan
Trikoteceni (T2 toksin, diacetoksiscirpenol, vomitoksin, nivalenol)	*Fusarium* spp., *Myrothecium* spp., *Stachybotrys* spp., *Trichoderma* spp., *Cephalosporium* spp., *Trichothecium* spp., *Verticimonosporium* spp.	Mučnina, gubitak apetita, iritacija sluznice, neurotoksičan
Fumonizini	*Fusarium* spp. (*F. verticillioides* Nirenberg, *F. proliferatum* Nirenberg)	Hepatoksičan, nefrotoksičan, plućni edem (svinje), leukoencefalomalacija (konji), hepatokarcinom (štakori)
Zearalenon	*Fusarium* spp. (*F. graminearum, F. culmorum, F. sacchari*)	Estrogen, neplodnost, prolaps maternice, smanjena proizvodnja mlijeka

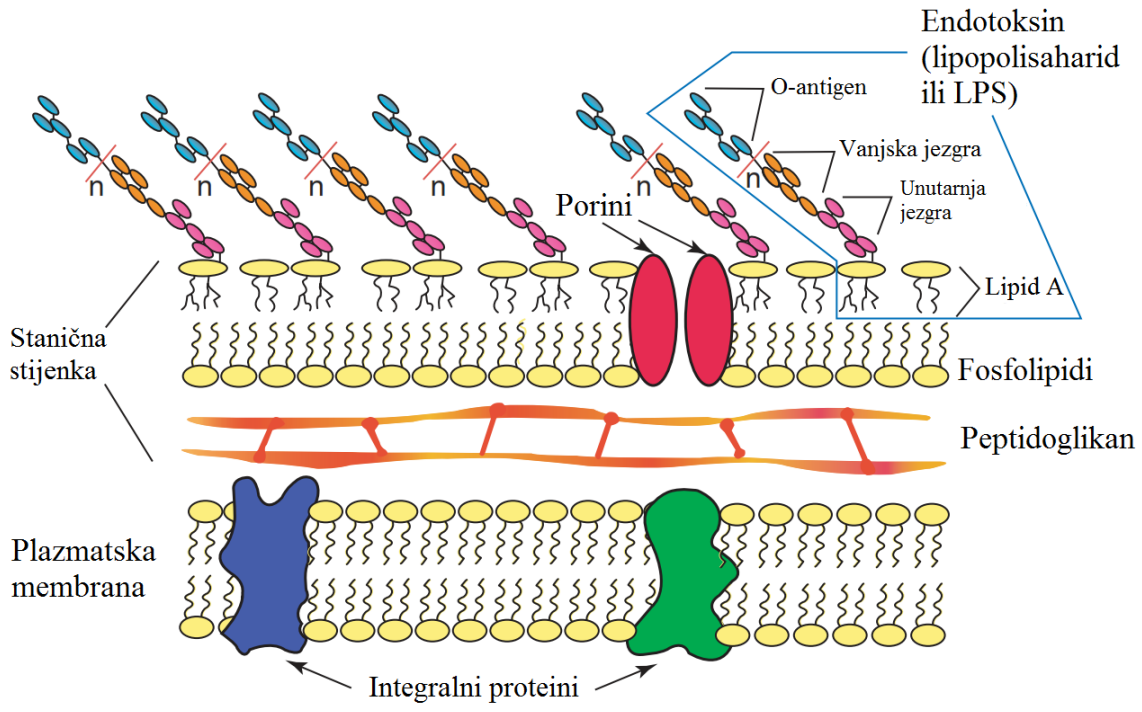
Miller *et al*. (2004.) istraživali su zanimljiv slučaj aspergiloze kod 2 tjedna starih divljih patki uzgajanih u zatočeništvu za lovne rezervoare. Zbog neadekvatnih higijenskih uvjeta i ventilacije tog prostora za uzgoj, plijesni *Aspergillus* spp. su bujale zbog optimalnih uvjeta za njihov rast i razvoj. Spore plijesni kontaminirale su čitav prostor, uključujući stelju i hranu. Prašinu koju su podizale svojom aktivnošću, patke su udisale kontaminirajući vlastita pluća gdje su se plijesni umnožile i rasle uzrokujući oboljenja i smrt.

Rezultati istraživanja Niculita-Hirzel *et al*. (2016.) su pokazali da su mikotoksini deoksinivalenol, nivalenol i zearalenon često prisutni u aerosolima nastalim tijekom obrade pšenice što ukazuje na njihove ubikvističke karakteristike u prašini i zrnima pšenice. Također, ističu i učestalu izloženost radnika aerosolima tijekom žetve. Iako su se preventivne mjere zaštite pokazale učinkovitima, većina radnika je zbog vrste posla u direktnom kontaktu s aersolima: primjerice radnici koji kontroliraju kvalitetu ili čiste strojeve kao i oni koji sakupljaju uzorke zrna pšenice za analizu. Iako se predlaže nošenje zaštitne opreme tijekom obrade pšenice, u praksi su se radnici toga rijetko pridržavali. Pogotovo tijekom procesa čišćenja gdje je izloženost aerosolima s mikotoksinima najveća.

Karwowska (2005.) ističe da stočna hrana često može biti kontaminirana plijesnima roda *Aspergillus*, *Penicillium* i *Fusarium* čije konidiospore mogu kontaminirati zrak i u obliku bioaerosola inficirati dišne puteve životinja, uzrokujući gljivična oboljenja (astma, kronična pneumonija konja, aspergiloza ptica, pobačaji i dr.).

2.5.3.2 Endotoksini

Dok su nusprodukti plijesni mikotoksini, nusprodukt bakterija su endotoksini. Endotoksin, je komponenta vanjske membrane gram negativnih bakterija (G-), sastavljen od ugljikohidrata, masnih kiselina, fosfata i pridruženih metalnih iona. Poznat je kao lipopolisaharid (LPS), a između bakterijskih sojeva i vrsta varira po sastavu ugljikohidrata i lipida. Unatoč varijacijama, neke sastavnice su ipak konstantne kod većine LPS molekula poput negativno nabijenog hidrofilnog heteropolisaharida (O-antigen), centralne oligosaharidne regije i lipida A, koji uglavnom sadrži dva glukozamina povezanih sa šest masnih kiselina (Slika 3.). Lipid A je toksični dio LPS-a čija bioaktivnost ovisi o sadržaju disaharida, fosfata i masnih kiselina. Pošto se endotoksini nalaze u G- bakterijama i njihovim produktima ili ostatcima, široko su rasprostranjeni u okolišu (prašina, otpad životinjskog podrijetla, hrana i ostali materijal izložen ili porijeklom iz G- bakterijskih produkata). Prema tome, radnici povezani s intenzivnim uzgojem stoke i drugim agronomskim djelatnostima često su izloženi povećanim razinama endotoksina. Endotoksini u obliku bioaerosola bitni su uzročnici bolesti dišnog sustava radnika ali i životinja. Uz to, mehanički ili patogenom izazvana ozljeda može rezultirati sekundarnom bakterijskom infekcijom tkiva i krvi što izaziva snažnu imunološku reakciju (Bertics *et al*., 2006.).



Slika 3. Shematski prikaz strukture endotoksina i smještaja u G- bakteriji *E. coli* (Bertics *et al*., 2006.)

Escherichia coli, *Pantoea agglomerans*, *Pseudomonas* spp., i *Acinetobacter* spp., često izolirane iz prostora za uzgoj krava, svinja ili peradi, zrakom su prenosive G- bakterije koje su uzročnici dišnih bolesti kod čovjeka i životinja (Stetzenbach 2009.).

2.5.4 Stelja

Stelja je mješavina materijala za stelju (poput usitnjenih komadića drveta, nasjeckane slame, piljevine ili rižinih ljuski), životinjskih fekalija i krmiva. Može biti nova ili ponovno

uporabljena nakon pročišćavanja. Kvaliteta materijala za stelju ima direktan utjecaj na zdravlje i prinos životinja, kvalitetu mesa te na njihovu opću dobrobit. Idealan materijal za stelju treba biti suh s mogućnošću upijanja velikih količina vode ali bi također trebao moći upijenu vlagu brzo otpustiti u svrhu prozračivanja (pročišćavanja). Materijal s prekomjernom razinom sadržaja vode podložan je rastu patogenih mikroorganizama te stvaranju amonijaka koji može biti štetnog utjecaja za životinje ali i okoliš. Ukoliko je stelja previše suha dolazi do stvaranja prekomjernih količina prašine što može biti uzrok respiratornih bolesti kod životinja, ali i ljudi (Torok *et al*. 2009.).

Zhao *et al*. (2014.) ukazuju da iako stelja pozitivno utječe na dobrobit životinja, sadržaj aerosola/bioaerosola u zraku će biti veći u nastambi sa steljom nego u onoj bez stelje. Također navode izvore mikroorganizama u stelji: žetva/prikupljanje i obrađivanje materijala za stelju, sekrecija i ekskrecija životinja.

U svome su istraživanju Lu *et al*. (2003.) u stelji pilića detektirali mikroorganizme *Globicatella sulfidofaciens*, *Corynebacterium ammoniagenes*, *Corynebacterium urealyticum*, *Clostridium aminovalericum*, *Arthrobacter* sp., i *Denitrobacter permanens* koji mogu razgrađivati drvo i sudjeluju u ciklusu dušika i sumpora. Od potencijalno patogenih su bakterija detektirali one navedene u Tablici 4.

Tablica 4. Potencijalno patogene bakterije u stelji pilića (Lu *et al*. 2003.)

Rod	**Vrsta**
Clostridium	*Clostridium* spp.
Staphylococcus	*S. cohnii*, *S.* succinus, S. *lentus*, *S. arlettae*, *S. aureus*
Facklamia	*Facklamia* spp.
Bordetella	*Bordetella bronchiseptica*
Enterococcus	*E. faecalis*, *E. cecorum*, *E. faecium*
Brevibacterium	*B. avium*
Vagococcus	*V. fluvialis*

Neke bakterije koje su pronađene u fekalijama životinja (poput *E. coli*, *Salmonella* spp. i *Campylobacter* spp.) nisu detektirane u stelji (Lu *et al*. 2003). Razlog tome bi mogli biti neadekvatni uvjeti za preživljavanje u smjesi fekalija i stelje u usporedbi sa samim fekalijama.

Kao moguće razloge povećane koncentracije prašine Kim *et al*. (2008.) navode duboku stelju koja može pridonijeti stvaranju prašine jer se za pokrivanje poda u Koreji pretežno koristi piljevina. Navode i hranu (krmu) koja isto može biti izvor prašine. Ujedno, aktivnost životinja i suhoća poda mogu pridonijeti stvaranju prašine tako što životinje dodatno podižu već slegnutu prašinu. Razlog manjoj koncentraciji prašine u svinjcima s rešetkastim podovima je taj što je manja površina poda na koji se prašina može nataložiti te ponovno podići u zrak.

Kim *et al*. (2008.) u istraživanju ističu i moguće razloge varijacija koncentracije prašine u svinjcima:

- Godišnja doba (koncentracija prašine razlikovat će se tijekom ekstremnih i umjerenih doba godine)
- Način i vrijeme mjerenja koncentracije prašine (razlike u mjestima i vremenu uzorkovanja, vremenskim uvjetima te metodama analize uzoraka)
- Tipovi mehaniziranih ventilacija koji su drugačiji u pojedinim zemljama („zračnjak“ u SAD-u, ventilatori na stropu u Europi te zidna ventilacija u Koreji).

2.5.5 Voda

Vodom prenosive bolesti problem su na globalnoj razini za koji se procjenjuje da uzrokuje 2,2 milijuna smrtnih slučajeva godišnje i učestala oboljenja poput proljeva, bolesti gastrointestinalnog sustava i sistematskih bolesti. Oko 1,4 milijuna smrtnih slučajeva su djeca. Procjenjuje se da vodom prenosive bolesti uzrokuju ekonomsku štetu u vrijednosti od 12 milijardi USD godišnje dok se na svjetskoj razini procjenjuje vrijednost od 12 milijardi USD. Vodom prenosive bolesti uzrokovane su konzumacijom, udisanjem aerosola ili izravnim kontaktom s kontaminiranom vodom inficiranom bakterijama, virusima, protozoama i parazitskim glistama. Opasniji vodom prenosivi bakterijski patogeni navedeni su u Tablici 5. (Ramírez-Castillo *et al*. 2015.).

Tablica 5. Vodom prenosivi bakterijski patogeni i simptomi i bolesti koje uzrokuju (Ramírez-Castillo *et al*., 2015.)

Bakterije	**Simptomi i bolesti**
Campylobacter spp., *C. jejuni*	Proljev, gastroenteritis
Yersinia enterocolitica	Proljev, reaktivni artritis
Escherichia coli, pogotovo EHEC, EPEC, ETEC i EIEC sojevi	Akutni proljev, krvavi proljev, gastroenteritis
Burkholderia pseudomallei	Melioidoza
Legionella pneumophila	Akutna respiratorna bolest, pneumonija (legioneloza)
Netuberkulozne mikobakterije	Plućne bolesti, kožne infekcije
Pseudomonas aeruginosa	Infekcije pluća, mokraćne cijevi i bubrega, može uzrokovati upalu i sepsu
Salmonella enterica serovar typhi	Trbušni tifus, paratifusna groznica i ostale salmoneloze
Ostale salmonele	Gastroenteritis, reaktivni artritis
Shigella spp.	Šigeloze
Vibrio cholerae	Gastroenteritis, kolera
Helicobacter pylori	Kronični gastritis, čir želuca i rak želuca

Mikrobni patogeni poput bakterija ili protozoa potječu iz fecesa i mokraće mnogih vrsta kralježnjaka. Divlje životinje, domaće životinje i ljudi mogući su izvor raznih vrsta vodom

prenosivih patogena. Također, zbog barijere prijenosa između vrsta, samo je nekolicina patogena koja može prijeći s čovjeka na životinje i obrnuto. Neke od bakterija koje potječu od životinja, a mogu zaraziti čovjeka su *Campylobacter*, *Salmonella*, i *E. coli*. (Atwill *et al*., 2012.).

Vodena korita koja se koriste kao izvor vode za piće za krave izvor su enterobakterija, mnoge od kojih su i hranom prenosivi patogeni. Razina kontaminacije korita povezana je s faktorima koji se mogu kontrolirati (npr. temperatura vode, tj. izloženost insolaciji, čistoća korita). Neki od izvora onečišćenja vode u koritima su hrana povraćena iz buraga, fekalna materija, prašina, krmna hrana i stelja, no voda može biti kontaminirana mikroorganizmima i prije nego se njome napune korita (LeJeune *et al*., 2001.).

LeJeune *et al*. (2001.) su također primijetili veću kontaminaciju onih korita s vodom koja su postavljena blizu hranilica. Veća količina hrane upada u vodu povećavajući stupanj kontaminacije vode, ali i pružajući nutritivno bogati supstrat za mikroorganizme nataložen na dnu korita. Uobičajeno je da su koncentracije bakterija i do 1 000 puta veće u nataloženom materijalu nego u stupcu vode iznad istog. Osim hrane kao izvora hranjiva, preživljavanju mikroorganizama u vodi pridonosi i direktna insolacija, optimalna temperatura te međusobna kompeticija. Bakterije pronađene u kontaminiranim koritima za vodu su koliformne bakterije, *E. coli* (uključujući i soj O157:H7) i *Salmonella* spp.

Iako su putevi prijenosa mikroorganizama iz vode uglavnom probavom, postoji mogućnost da se voda iz pojilica aerosolizira, primjerice potreskivanjem, te suspendirane čestice dospiju do životinja. No u slučaju kontaminacije vode veća bi opasnost bila od direktne konzumacije nego od aerosolizacije.

2.6. Hipoteza i cilj istraživanja

Hipoteze

- S obzirom na veliku koncentraciju životinja na farmi svinja i s obzirom na razlike unutarnjeg prostora od vanjskog (uporaba stelje, velike količine hrane i vode, različita temperatura i vlaga zraka) postoji veća koncentracija aerobnih mezofilnih bakterija i plijesni u zraku unutar farme u odnosu na vanjski zrak.
- S porastom udaljenosti od farme pada brojnost aerobnih mezofilnih bakterija i plijesni u zraku.

Ciljevi istraživanja

- Utvrditi brojnost aerobnih mezofilnih bakterija i plijesni u zraku unutar farme.
- Utvrditi brojnost aerobnih mezofilnih bakterija i plijesni u vanjskom zraku s porastom udaljenosti od farme.

3. Materijali i metode

3.1. Hranjive podloge za uzgoj bakterija i plijesni

3.1.1 Krvni agar (KA)

Sastav gotove dehidrirane podloge krvni agar (Oxoid, Ujedinjeno Kraljevstvo) prikazan je u Tablici 6.

Tablica 6. Sastav krvnog agara (KA, Oxoid, Ujedinjeno Kraljevstvo)

Opća formulacija	Sastav [g/L]
Proteoza pepton	15,0
Digest jetre (engl. *liver digest*)	2,5
Ekstrakt kvasca	5,0
NaCl	5,0
Agar	12,0
pH 7.4 ± 0.2 pri 25 °C	

KA podloga (Oxoid, Ujedinjeno Kraljevstvo) je pripremljena otapanjem 40,0 g KA podloge u 1 L destilirane vode. Podloga je zagrijana do vrenja da se sastojci u potpunosti otope i sterilizirana u autoklavu pri 121 °C tijekom 15 min. Podloga je ohlađena na 45-50 °C te joj je dodano 7% sterilne krvi. Ohlađena podloga je razlijana u sterilne petrijeve zdjelice.

3.1.2 Sabouraud-dekstrozni agar (SAB)

Sastav gotove dehidrirane podloge Sabouraud-dekstrozni agar (Oxoid, Ujedinjeno Kraljevstvo) prikazan je u Tablici 7.

Tablica 7. Sastav Sabouraud-dekstroznog agara (SAB, Oxoid, Ujedinjeno Kraljevstvo)

Opća formulacija	Sastav [g/L]
Mikološki pepton	10,0
Glukoza (dekstroza)	40,0
Agar	15,0
pH 5.6 ± 0.2 pri 25 °C	

SAB podloga (Oxoid, Ujedinjeno Kraljevstvo) je pripremljena otapanjem 65,0 g SAB podloge u 1 L destilirane vode. Podloga je zagrijana do vrenja da se sastojci u potpunosti otope i sterilizirana u autoklavu pri 121 °C tijekom 15 min. Nakon hlađenja razlijana je u sterilne petrijeve zdjelice.

3.2. Uređaj za mjerenje ekofizioloških uvjeta FLUKE 975V AirMeter™

Temperatura i relativna vlažnost zraka mjerene su uređajem Fluke 975V AirMeter™ (Fluke Corporation, SAD). To je prijenosni ručni uređaj koji osim temperature i relativne vlažnosti zraka može mjeriti i razine CO i CO_2 te brzinu vjetra pomoću dodatne sonde.

3.3. Uređaj za uzorkovanje zraka

Za uzorkovanje vanjskog i unutarnjeg zraka na farmi svinja korišten je uređaj SAS Super 90 (International PBI S.p.A. Milan, Italija) (Slika 4.). Mjereni volumen zraka usisava se kroz uređaj pri čemu se mikroorganizmi iz zraka utiskuju na odgovarajući hranjivi medij. Prema tehničkoj dokumentaciji proizvođača „SAS SUPER 100/180, DUO SAS SUPER 360, SAS ISOLATOR (prema RU-81-052) preporučeni volumeni usisanog zraka su:

- 10-200 L za jako kontaminirane prostore (zajedničke prostorije, proizvodnja)
- 200-500 L za prosječno kontaminirane prostore (laboratorijski stolovi, stanovi)
- 500-1 000 L za sterilne prostore s visokim rizikom (čisti prostori, operacijske sale).

Prema standardnom operativnom postupku (SOP-368-052), prilikom uzorkovanja aktivnom metodom, čestice veće od 4 μm provlače se kroz standardnu aspiracijsku glavu sa 487 rupa aspiracijom od 90 L/min. Aspiracijska glava se dezinficira alkoholom prije samog uzorkovanja te prije i poslije prikupljanja svakog uzorka (RU-81-052).

Prema RU-81-052, prvo se uzorkuje u prostorima u kojima se očekuje najmanji broj mikroorganizama pa u prostorima u kojima se očekuje veći broj, na visini od 0,75 do 1,5 m iznad zemlje.

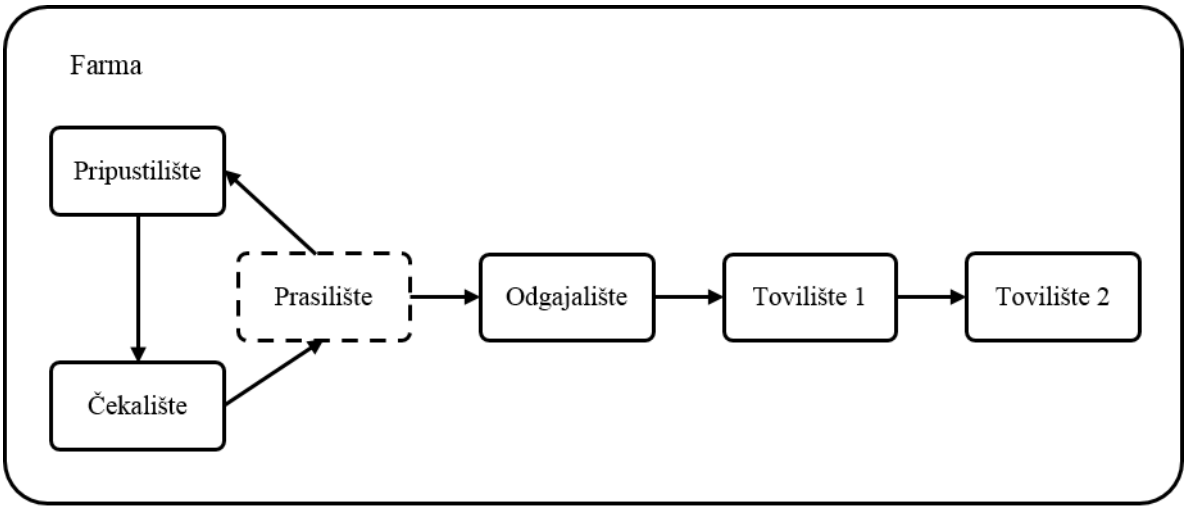
Slika 4. SAS Super 90 (lijevo: s aspiracijskom glavom, desno: bez aspiracijske glave)

3.4. Uzorkovanje

Uzorci zraka prikupljeni su na farmi svinja u Slavoniji, u srpnju, 2019. godine. Farma je intenzivnog i zatvorenog načina uzgoja s mehaničkom ventilacijom. Točan broj svinja na farmi i tip podnice u vrijeme uzorkovanja nije bio poznat.

Zrak je uzorkovan na 5 lokacija unutar farme (Slika 5.) i 4 lokacije izvan farme (Slika 6). Unutar farme, uzorci zraka (dalje u tekstu unutarnji zrak) su prikupljeni na sljedećim lokacijama (Slika 5.):

1. Odgajalište
2. Tovilište 1
3. Tovilište 2
4. Pripustilište i
5. Grupno čekalište

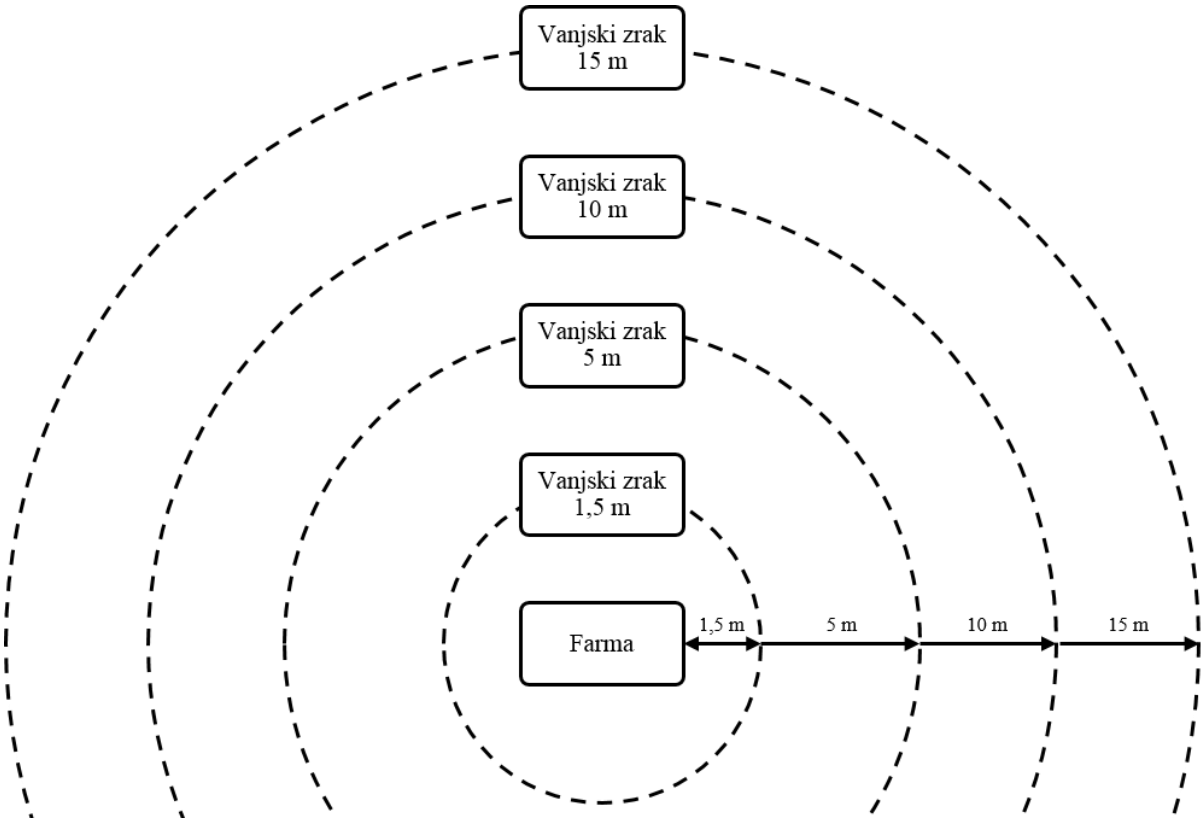


Slika 5. Shematski prikaz lokacija na kojima su prikupljeni uzorci unutarnjeg zraka

Izvan farme uzorci zraka prikupljeni su na različitim udaljenostima od farme (Slika 6):

1. Na udaljenosti od 1,5 m
2. Na udaljenosti od 5 m
3. Na udaljenosti od 10 m i
4. Na udaljenosti od 15 m

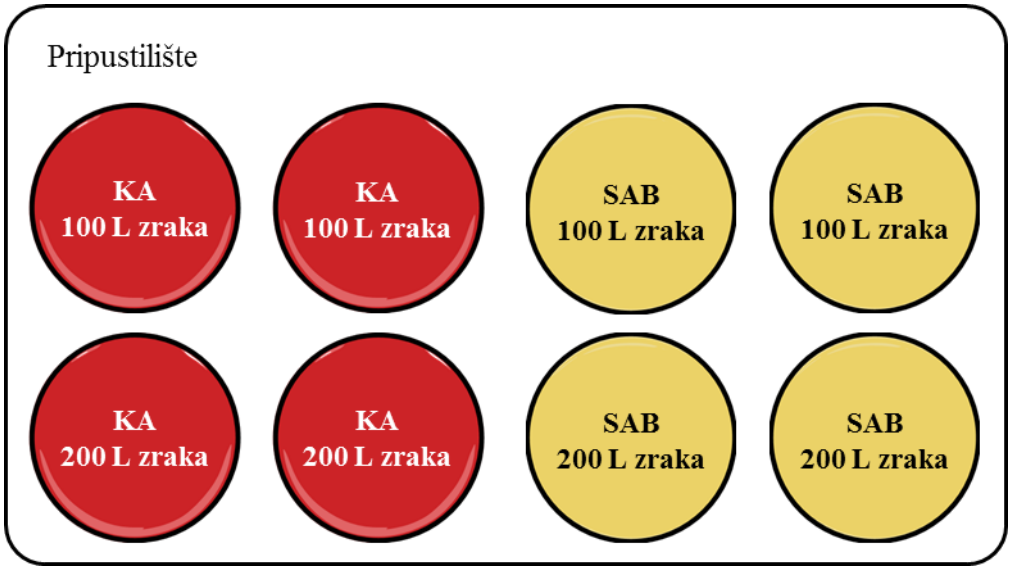
Za potrebe standarda i određivanja referentne vrijednosti dodatno je sakupljen kontrolni uzorak vanjskog zraka.



Slika 6. Shematski prikaz lokacija na kojima su prikupljeni uzorci unutarnjeg zraka

Za uzorkovanje unutarnjeg i vanjskog zraka korišten je uređaj SAS SUPER 90 s hranjivim podlogama specifičnim za ispitivane grupe mikroorganizma, krvni agar (KA) za AMB i Sabouraud-dekstrozni agar (SAB) za plijesni.

Na svakoj od navedenih lokacija uzorci su prikupljeni prema SOP-368-052. Za svaku lokaciju (n = 9) prikupljene su po četiri ploče za AMB i četiri ploče za plijesni, gdje je kroz dvije ploče usisano 100 L, a kroz druge dvije 200 L zraka aspiracijom od 90 L/min (Slika 7.).



Slika 7. Shematski prikaz uzorka prikupljenog na svakoj lokaciji za aerobne mezofilne bakterije (krvni agar (KA)) i plijesni (Sabouraud-dekstrozni agar (SAB)) na primjeru pripustilišta.

Uzorci su transportirani u Laboratorij za mikrobiološku analizu zraka Nastavnog zavoda za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar“ pri 4 °C (SOP-368-052).

3.5. Određivanje ekofizioloških uvjeta

Na svim lokacijama izmjerena je temperatura i relativna vlažnost zraka uređajem FLUKE-975V (Fluke Corporation, SAD).

3.6. Određivanje ukupnog broja aerobnih mezofilnih bakterija

Ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija (AMB) određen je prema HRN EN 13098:2008 (Hrvatski zavod za norme 2008.) operativnom postupku (SOP-368-052) uz nekoliko izmjena. AMB su prikupljene na četiri KA ploče za svaku lokaciju.

Ploče su inkubirane pri 25±3 °C tijekom dva dana. Nakon inkubacije su izbrojane pojedinačne kolonije (SOP-368-052).

Ukupan broj AMB izračunat je prema formuli:

$$C_I = \frac{n_{cfu}}{V_I}$$

gdje su:

- C_I ukupan broj AMB
- n_{cfu} ukupni broj CFU na svim pločama i
- V_I ukupni volumen uzorka zraka [m^3]

Brojnost AMB je izražena kao CFU/m^3.

Prema portugalskom standardu "Diario da Republica n.° 235/2013, 1° Suplemento, Serie I de 2013-12-04" koncentracija ukupnog broja AMB unutarnjeg zraka mora biti niža od koncentracije vanjskog zraka na kontrolnoj točki + 350 CFU/m^3.

3.7. Određivanje ukupnog broja plijesni

Ukupan broj plijesni određen je prema ISO 16000-17:2011 (Internacionalna organizacija za standardizaciju, 2011) uz nekoliko izmjena. Plijesni su prikupljene na četiri SAB ploče za svaku lokaciju. Ploče su inkubirane pri 25 °C tijekom dva dana. Nakon inkubacije izbrojane su pojedinačne kolonije na svim pločama. Ukupan broj plijesni izračunat je prema formuli opisanoj u odjeljku 3.6 i izražen kao CFU/ m3.

Prema portugalskom standardu "Diario da Republica n.° 235/2013, 1° Suplemento, Serie I de 2013-12-04" koncentracija plijesni unutarnjeg zraka mora biti niža od one vanjskog zraka na kontrolnoj točki.

3.8. Statistička analiza

Za izračun srednjih vrijednosti i standardne devijacije te testiranje značajnih razlika između temperature, relativne vlažnosti zraka, ukupnog broja AMB i plijesni u unutarnjem i vanjskom zraku korišten je *Microsoft Excel 2016*. Kako bi se utvrdilo postoje li značajne razlike korišten je t-test. Razlike su smatrane značajnima ako je $p < 0,05$.

4. Rezultati

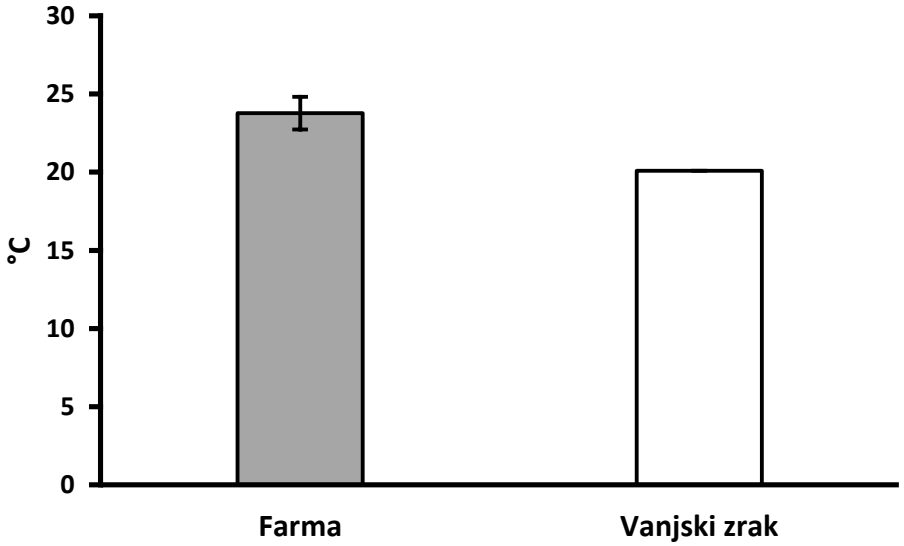
4.1. Temperatura i relativna vlažnost unutarnjeg i vanjskog zraka farme

Na svakoj lokaciji su izmjerene temperatura i relativna vlažnost zraka (Tablica 8).

Tablica 8. Temperatura i relativna vlažnost unutarnjeg i vanjskog zraka

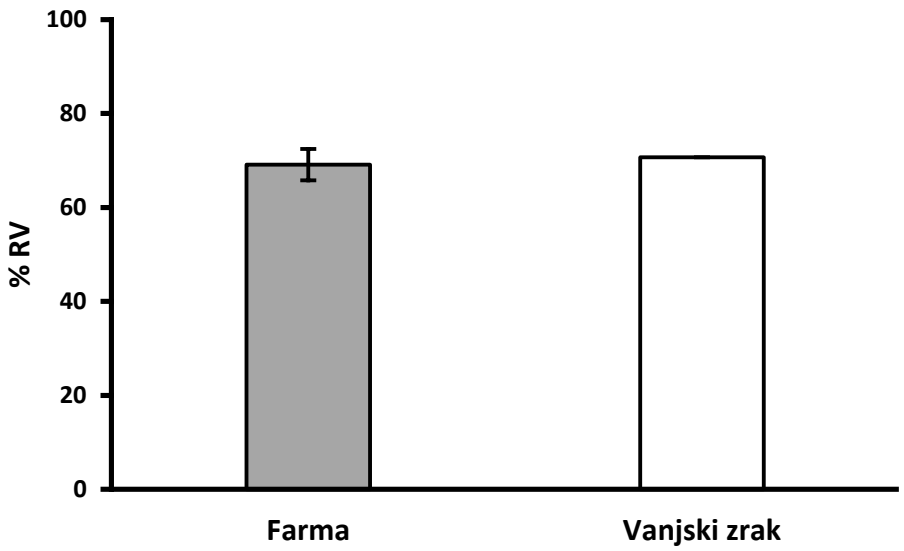
Lokacija	Temperatura [°C]	Relativna vlažnost zraka [%]
Odgajalište	24,2	73,4
Tovilište 1	25,3	71,7
Tovilište 2	22,5	67,6
Pripustilište	23,4	67,7
Grupno čekalište	23,5	65,2
Vanjski zrak na svim udaljenostima (1,5 m, 5,0 m, 10,0 m i 15,0 m)	20,1	70,7

Temperatura unutar farme vrlo malo varira i kreće se između 22,5 – 25,3 °C. Temperatura vanjskog zraka je konstantna (20,1 °C) i značajno niža ($p < 0,05$) od temperature zraka u farmi (Grafikon 1).



Grafikon 1. Razlike u temperaturi između farme i vanjskog zraka

Relativna vlažnost zraka znatno više varira u odnosu na temperaturu (Tablica 8). Najviša vrijednost je izmjerena u odgajalištu (73,4%), a najniža u grupnom čekalištu (65,2%). Relativna vlažnost vanjskog zraka je slična relativnoj vlažnosti u farmi ($p = 0,17$; Grafikon 2).



Grafikon 2. Razlike u relativnoj vlažnosti zraka između farme i vanjskog zraka

4.2. Ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija

Određen je ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija (AMB) u zraku prikupljenom na 5 lokacija unutar farme i na 4 lokacije na različitoj udaljenosti od farme (Grafikon 3.).

U Grafikonu 3. prikazane su vrijednosti ukupnog broja AMB za svaku mjernu lokaciju. Prema portugalskom standardu, izračunata granična referentna vrijednost (Potpoglavlje 3.6) iznosi 1 050 CFU/m^3 (1,05 * 10^3 CFU/ m^3). Granična referentna vrijednost određena je vrijednošću ukupnog broja AMB na kontrolnoj lokaciji (700 CFU/ m^3) kojoj je prema standardu, dodana vrijednost od 350 CFU/ m^3.

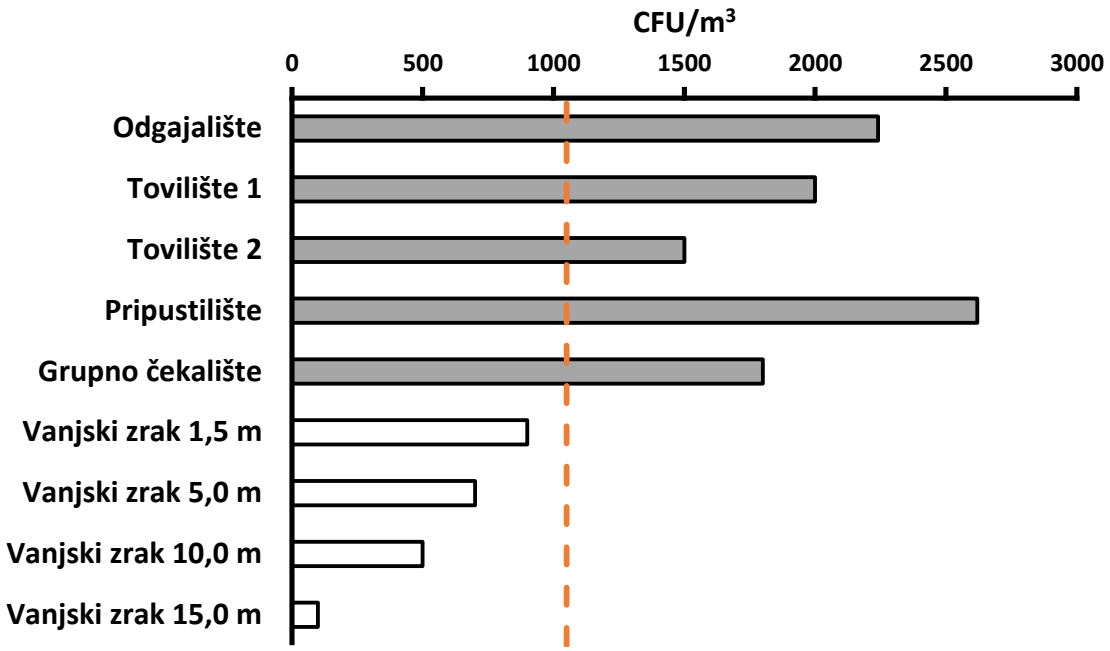
Sve mjerne lokacije unutar farme (Grafikonu 3.) prelaze referentnu vrijednost iz portugalskog standarda:

- Odgajalište = 2 240 CFU/ m^3 = 2,24 * 10^3 CFU/ m^3
- Tovilište 1 = 2 000 CFU/ m^3 = 2,00 * 10^3 CFU/ m^3
- Tovilište 2 = 1 500 CFU/ m^3 = 1,50 * 10^3 CFU/ m^3
- Pripustilište = 2 620 CFU/ m^3 = 2,62 * 10^3 CFU/ m^3
- Grupno čekalište = 1 800 CFU/ m^3 = 1,80 * 10^3 CFU/ m^3.

Na temelju dobivenih rezultata za mjerne lokacije vanjskog zraka 1,5 do 15 m (Grafikonu 3.) se vidi da se povećanjem udaljenosti od farme smanjuje ukupan broj bakterija:

- Vanjski zrak 1,5 m = 900 CFU/ m^3 = 9 * 10^2 CFU/ m^3
- Vanjski zrak 5 m = 700 CFU/ m^3 = 7 * 10^2 CFU/ m^3
- Vanjski zrak 10 m = 500 CFU/ m^3 = 5 * 10^2 CFU/ m^3

- Vanjski zrak 15 m = 100 CFU/ m^3 = 1 * 10^2 CFU/ m^3.



Grafikon 3. Brojnost AMB unutarnjeg i vanjskog zraka farme (sivom bojom je označen broj AMB u zraku unutar farme, a bijelom u vanjskom zraku, narančasta isprekidana linija - referentna vrijednost 1 050 CFU/m^3)

4.3. Ukupan broj plijesni

U Grafikonu 4. prikazane su vrijednosti ukupnog broja plijesni za svaku mjernu lokaciju. Prema portugalskom standardu, izračunata referentna vrijednost za plijesni iznosi 410 CFU/m^3.

Iduće mjerne lokacije (Grafikonu 4) unutar farme prelaze referentnu vrijednost (Potpoglavlje 3.7) (410 CFU/m^3 (4,10 * 10^2 CFU/m^3)) iz portugalskog standarda:

- Odgajalište = 580 CFU/m^3 = 5,80 * 10^2 CFU/ m^3
- Tovilište 1 = 840 CFU/m^3 = 8,40 * 10^2 CFU/ m^3,

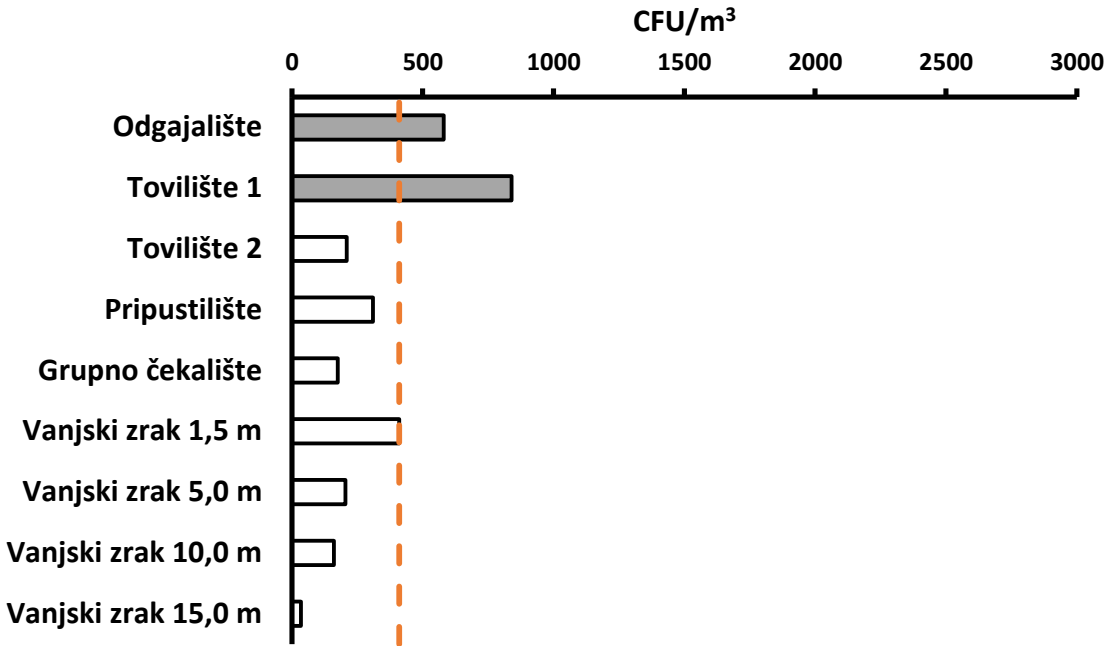
dok ostale ne prelaze referentnu vrijednost:

- Tovilište 2 = 210 CFU/m^3 = 2,10 * 10^2 CFU/ m^3
- Pripustilište = 310 CFU/m^3 = 3,10 * 10^2 CFU/ m^3
- Grupno čekalište = 175 CFU/m^3 = 1,75 * 10^2 CFU/ m^3.

Rezultati za mjerne lokacije vanjskog zraka 1,5 do 15 m (označeni bijelom bojom na Grafikonu 4.) pokazuju smanjenje ukupnog broja plijesni s povećanjem udaljenosti od farme:

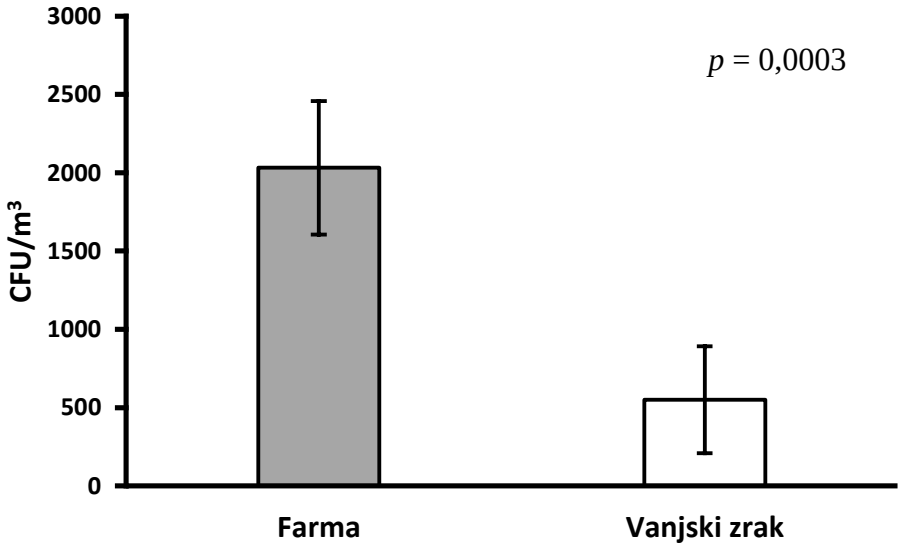
- Vanjski zrak 1,5 m = 410 CFU/m^3 = 4,10 * 10^2 CFU/ m^3
- Vanjski zrak 5 m = 205 CFU/m^3 = 2,05 * 10^2 CFU/ m^3

- Vanjski zrak 10 = 160 CFU/m^3 = 1,60 * 10^2 CFU/ m^3
- Vanjski zrak 15 = 35 CFU/m^3 = 3,50 * 10^1 CFU/ m^3.

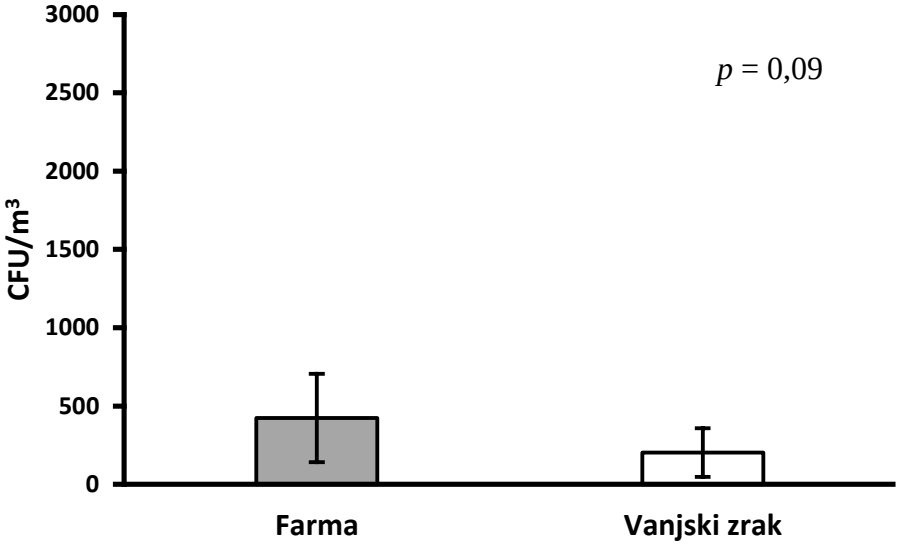


Grafikon 4. Brojnost plijesni unutarnjeg i vanjskog zraka farme (sivo su označene mjerne lokacije unutar farme gdje broj plijesni prelazi referentnu vrijednost, a bijelom bojom mjerne lokacije unutar farme gdje je broj plijesni unutar referentnih vrijednosti i vanjski zrak, narančasta isprekidana linija - referentna vrijednost 410 CFU/m^3)

Broj AMB u zraku unutar farme je značajno viši u odnosu vanjski zrak ($p < 0,05$, Grafikon 5.), dok se broj plijesni u zraku ne razlikuje značajno unutar i van farme ($p > 0,05$, Grafikon 6.).



Grafikon 5. Srednja vrijednost brojnosti AMB u vanjskom i unutarnjem zraku



Grafikon 6. Srednja vrijednost brojnosti plijesni u vanjskom i unutarnjem zraku

5. Rasprava

Povećana potražnja za hranom i preferencije potrošača utjecale su na intenzifikaciju stočarske proizvodnje za koju je karakterističan uzgoj velikog broja životinja na relativno malim prostorima. Ukoliko je takav uzgoj praćen neadekvatnom ventilacijom i higijenom prostora, može doći do nastanka optimalnih uvjeta za prekomjeran razvoj mikroorganizama na farmama. Mikroklima takvih farmi može biti opasna za životinje i radnike te one mogu postati kritične točke širenja velikog broja mikroorganizama u okoliš u obliku bioaerosola.

U istraživanju Karwowska (2005.) je među ostalim mikroorganizmima određivala i brojnost mezofilnih bakterija i plijesni u zraku moderniziranih i konvencionalnih farmi svinja, krava i peradi. Temperature unutar farmi bile su u rasponu od 10-12 °C, a relativna vlažnost oko 80-90%. Ispitivanja koja su bila vezana uz farme svinja vršena su u „moderniziranom“ svinjcu (u uporabi manje od 10 godina, s mehaniziranom ventilacijom, suvremenim sustavom hranjenja, bez ili s tankim slojem stelje) i „konvencionalnom“ svinjcu (stariji od 10 godina, s prirodnim načinom ventilacije, tradicionalnim načinom hranjenja i stelje). U „moderniziranom“ svinjcu detektirano je najznačajnije mikrobiološko onečišćenje te vrlo jaka kontaminacija plijesnima.

Prema Karwowska (2005.), prosječna vrijednost mezofilnih bakterija u „moderniziranim“ je stajama iznosila $(3,9 \pm 2,6) * 10^4$ CFU/ m^3 dok je na farmi u Slavoniji srednja vrijednost AMB unutarnjeg zraka manja ($(2.03 \pm 0,4) * 10^3$ CFU/ m^3).

Prosječna vrijednost brojnosti plijesni također je veća kod Karwowska (2005.) u odnosu na farmu u Slavoniji („modernizirane“ staje = $(1,5 \pm 0,5) * 10^4$ CFU/ m^3 ; farma u Slavoniji = $(4.23 \pm 2,8) * 10^2$ CFU/ m^3).

Razlog veće brojnosti mikroorganizama kod Karwowska (2005.) bi mogla biti povećana relativna vlažnost zraka (80-90%) koja je na farmi u Slavoniji iznosila ~69%.

Također bi se zbog veće temperature na farmi u Slavoniji i toplijeg godišnjeg doba tijekom kojeg se uzorkovalo očekivala veća brojnost mikroorganizama u odnosu na Karwowska (2005.), no tako ipak nije bilo. Srednja vrijednost temperature unutar farme u Slavoniji iznosila je oko 23,7 °C i uzorkovanje se vršilo u srpnju (ljeto) dok je kod Karwowska (2005.) temperatura iznosila 10-12 °C, a uzorkovalo se u siječnju i veljači (zima). Razlog tome bi opet mogla biti veća vlažnost zraka u smislu da ona više utječe na brojnost bakterija od temperature, ali također bi i razlog mogao biti ventilacija: ljeti se možda više prozračivao prostor farme te je stoga brojnost na farmi u Slavoniji tijekom ljeta bila manja. Brojnost životinja također može imati utjecaja na koncentraciju bioaerosola u zraku, ali s obzirom da je točan broj svinja na farmi u Slavoniji nepoznat, ne može se napraviti usporedba s Karwowska (2005.).

U suprotnome, Kim i Ko (2019.) su zapazili da je brojnost mikroorganizama u zraku najveća ljeti te potom proljeću, zimi i jeseni, a kao mogući razlog tomu navode povećanu temperaturu u ljetnom periodu koja je optimalna za razmnožavanje bakterija.

Kim i Ko (2019.) su u svome istraživanju otkrili da kroz sva četiri godišnja doba na ispitivanim farmama svinja u Koreji, tovilišta sadrže najveću koncentraciju zrakom prenosivih bakterija nakon kojih slijede prasilišta, a potom čekališta. Mogući razlog tome navode fazu rasta i aktivnost svinja u smislu da je brojnost mikroorganizama u zraku tovilišta najveća jer su svinje same po sebi najveće u fazi tova i najviše su aktivne u smislu kretanja (podizanje aerosola). Kao razlog najmanje brojnosti mikroorganizama u čekalištima navode relativno malu aktivnost svinja jer se oplođene svinje drži u posebnim kavezima/odvojcima koji im onemogućuju kretanje.

Za razliku od Kim i Ko (2019.), ovo istraživanje je pokazalo da je koncentracija AMB veća u čekalištu nego u tovilištu što bi moglo ukazivati na kontaminaciju vjerojatno uzrokovanu neadekvatnom ventilacijom i/ili higijenom prostora.

Popescu *et al*. (2014.) su u svom istraživanju ispitivali mikrobiološku kvalitetu unutarnjeg i vanjskog zraka na dvije farme tijekom hladne (siječanj-veljača) i tople sezone (svibanj-lipanj). Na obje je farme broj mezofilnih bakterija bio značajno veći tijekom hladne sezone u usporedbi s toplom. Manju brojnost mikroorganizama u toploj sezoni pripisuju povećanoj ventilaciji da bi se snizila temperatura prostora, ali ujedno ističu da povećana ventilacija može uzrokovati veću emisiju u okoliš, što je također jedan od mogućih razloga koji su utjecali na rezultate našeg istraživanja.

Popescu *et al*. (2014.) zabilježili su trend smanjenja brojnosti mikroorganizama s povećanjem udaljenosti od farme u oba slučaja. Isti je trend zabilježen i u ovom istraživanju, na farmi u Slavoniji.

Kim *et al*. (2008.) procijenjivali su izloženost farmera u Koreji prašini u svinjcima te emisiju prašine tako što su utvrđivali koncentraciju iste u zraku. Rezultati su pokazali da je u svinjcima s dubokom steljom razina prašine najveća dok je u svinjcima s prirodnom ventilacijom i rešetkastim podom razina prašine najmanja. Također su i u svinjcima s mehaniziranom ventilacijom i mehaniziranim strugačem poda od nečistoća utvrdili visoke razine koncentracije prašine u zraku. Iako je nepoznato koja je vrsta podnice te na koji se način uklanja fekalna materija s poda na farmi u Slavoniji, moglo bi se pretpostaviti da mehanizirana ventilacija pridonosi koncentraciji aerosola (te samim time i bioaerosola) u zraku. No, nepoznato je da li mehanizirana ventilacija sama po sebi pridonosi povećanju koncentracije ili samo ako je neodržavana ili pokvarena jer je ispravnost iste na farmi u Slavoniji nepoznata.

Što se tiče emisije prašine iz svinjaca u vanjski zrak, Kim *et al*. (2008.) ustanovili su da je najmanja vrijednost ukupne emisije prašine bila kod onih svinjaca s prirodnom ventilacijom dok je kod onih s mehaniziranom ventilacijom bila najveća. S obzirom da je na farmi u Slavoniji sustav mehanizirane ventilacije, ona bi mogla pridonijeti emisiji bioaerosola u okoliš.

Iako je istraživanje od Kim *et al*. (2008.) fokusirano na prašinu (aerosole), njihovi zaključci se mogu odnositi i na bioaerosole koji i jesu aerosoli, ali s privezanim organskim komponentama (npr. mikroorganizmima).

Yuan *et al*. (2010.) u svome su istraživanju koristili *E. coli* kao indikator širenja bioaerosola u unutarnjem i vanjskom zraku svinjaca na određenim udaljenostima (10 i 50 m od svinjca suprotno od smjera puhanja vjetra te 10, 50, 100, 200 i 400 m od svinjca u smjeru puhanja vjetra). Pomoću ERIC-PCR tehnologije umnožili su izolirane DNA uzorke *E. coli* iz uzoraka stolice svinja te iz zraka unutar i izvan svinjca.

Rezultati istraživanja Yuan *et al*. (2010.) pokazali su puno veće koncentracije *E. coli* u unutarnjem zraku od vanjskog ($p < 0,05$) što upućuje na to da se bioaerosoli kontinuirano formiraju iz svinja i njihovih fekalija kao izvora, akumuliraju i šire u okoliš. Isti su rezultati zabilježeni i na farmi svinja u Slavoniji uspoređujući razlike koncentracije aerobnih mezofilnih bakterija i plijesni u unutarnjem i vanjskom zraku.

Rezultati ERIC-PCR pokazali su 35,1% sličnosti između fekalnih uzoraka *E. coli* i onih unutar svinjca što ukazuje da je izvor *E. coli* u unutarnjem zraku fekalna materija svinja. Rezultati su također pokazali 90% sličnosti između većine vanjskih uzoraka *E. coli* u smjeru puhanja vjetra (10, 50, 100 i 200 m) i uzoraka uzetih unutar svinjca i iz fekalija svinja. Iz navedenog se može pretpostaviti da svinje mogu biti izvor bioaerosola za unutarnji zrak u svinjcima, te svinjci izvor bioaerosola za vanjski zrak. Za sprječavanje toga potrebno je poduzeti preventivne mjere poput adekvatne ventilacije i održavanja higijene u svinjcima (Duan *et al*. 2009.).

Ukoliko su u zraku prisutne patogene ili potencijalno patogene bakterije one mogu uzrokovati oboljenja kod radnika farme i samih životinja. Osim toga, neke bakterije koje nisu patogene mogu ispuštati nusprodukte u obliku toksina – manje toksičnih endotoksina i egzotoksina koji su puno više toksični, a u nekim slučajevima i fatalni (Roque *et al*. 2016.).

Bilić *et al*. (2000.) su u svom istraživanju analizirali bakteriološki sastav zraka farme svinja i vanjskog zraka na određenim udaljenostima. U svim su uzorcima (100%) unutar farme pronađene potencijalno patogene bakterijske vrste dok su samo u nekim uzorcima (33-66%) pronađene primarno patogene vrste.

Kim i Ko (2019.) u svome su istraživanju identificirali bakterijske vrste te su one najbrojnije bile *Micrococcus* spp., *Brevibacillus* spp. i G(+) *Bacillus* spp. Istraživanje Roque *et al*. (2018.) je pokazalo da produžena izloženost svinja u tovu visokim razinama endotoksina može poremetiti homeostazu imunološkog sustava te su došli do zaključka u kojem sugeriraju da endotoksini u aerosolima mogu stvoriti okolinu u kojoj se svinje ne mogu obraniti od infekcija uzrokovanih patogenima.

Zucker i Müller (2002.) proučavali su vezu između zrakom prenosivih endotoksina, prašine i bakterija u četiri svinjca. Dominantne G- bakterije u zraku bile su one iz porodice *Enterobacteriaceae* i to vrste *Escherichia coli* i *Enterobacter agglomerans*. Iako su otkrili korelaciju između koncentracije prašine i endotoksina u zraku te korelaciju između koncentracije G- bakterija i koncentracije endotoksina u zraku, one nisu bile jake. S obzirom na to predlažu da se koncentracija prašine ili zrakom prenosivih bakterija ne bi trebala koristiti za procjenu koncentracije edotoksina u zraku.

Osim bakterija, opasnost na farmama predstavljaju i plijesni koje svojim sekundarnim metabolitima – **mikotoksinima**, mogu uzrokovati bolesti ali i smrt kod ljudi i životinja. Neki od važnijih mikotoksina koji uzrokuju oboljenja ljudi i životinja su aflatoksini, citrinini, ergot alkaloidi, fumonizini, okratoksin A, patulini, trihoteceni i zearalenon (Bennett i Klich, 2003). Iako su Niculita-Hirzel *et al*. (2016.) u svome istraživanju promatrali izloženost radnika mikotoksinima u industriji žitarica, ta izloženost također može biti prisutna i na farmama svinja. U istraživanju je zaključeno da su mikotoksini plijesni roda *Fusarium* (pretežno vrste *F. graminearum* i *F. culmorum*) prenosivi aerosolima iz žitarica tijekom žetve, istovara ali i čišćenja korištenog prostora i opreme tijekom proizvodnje. S obzirom da mikotoksini plijesni roda *Fusarium* potječu iz pšenice koja se može koristiti u smjesama krmiva za svinje, oni se mogu prenijeti probavom i aerosolima na svinje, ali i aerosolima na radnike na farmi.

Dänicke i Diers (2013.) ispitivali su utjecaj ergot alkaloida na funkciju jetre kod prasadi i ustanovili da uzrokuju smanjeni unos krmiva te samim time i prirast tjelesne težine dok je utjecaj na jetru manje izražen. Ergot alkaloidi potječu od gljivica iz porodice *Clavicipitaceae* koje nastanjuju travnate vrste, uključujući i žitarice. Za svinje, najopasnija vrsta takve gljivice je *Claviceps purpurea* koja pretežno nastanjuje raž, pšenicu i pšenoraž (tritikal) koji se koriste u krmivu te mogu zaraziti svinje probavnim putem ali i preko aerosola koji se pojave tijekom rukovanja istim.

Chang *et al*. (2001.) su u svome istraživanju identificirali zrakom prenosive plijesni pronađene u svinjcu otvorenog tipa. To su bili sljedeći rodovi: *Penicillium, Aspergillus, Cladosporium, Alternaria, Curvularia, Stemphyllium* i *Trichoderma* koji uzrokuju alergije. *Aspergillus, Alternaria, Penicillium* i *Aureobasidium* povezuju se s hipersensitivnim pneumonitisom. *Penicillium, Aspergillus, Curvularia, Geotrichum, Drechslera, Stemphyllium* i *Candida* mogu uzrokovati alergijske bronhopulmonarne mikoze te *Aspergillus* i *Candida* koje mogu biti potencijalni ljudski patogeni.

Prema Karwowska (2005.), detektirane dominantne plijesni u svinjcima bili su rodovi *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Mucor* spp., *Rhizopus* spp., *Alternaria* spp., *Cladosporium* spp.

Prema standardu korištenom u ovom radu ("Diario da Republica n.° 235/2013, 1° Suplemento, Serie I de 2013-12-04".) definirana je referentna vrijednost za aerobne mezofilne bakterije te plijesni u zraku na farmi svinja u Slavoniji i njenoj neposrednoj blizini. Iako ukupan broj detektiranih bakterija i plijesni ukazuje na kontaminaciju zraka na istraživanoj farmi i dalje ostaje nepoznanica o kojim se točno vrstama bakterija i plijesni radi, te da li je zrak na farmi i izvan farme kontaminiran istim sojevima mikroorganizama. Zbog toga bi u budućnosti trebalo provesti daljnja istraživanja kojima će biti obuhvaćena i ova vrlo važna pitanja.

6. Zaključci

- Temperatura vanjskog zraka mjerena na farmi svinja u Slavoniji je bila konstantna (20,1 °C) i značajno niža ($p < 0,05$) od temperature zraka u farmi. Najviša temperatura izmjerena je u tovilištu 2 (25,3 °C), a najniža u tovilištu 1 (22,5 °C).
- Najviša relativna vlažnost zraka izmjerena je u odgajalištu (73,4 %), a najniža u grupnom čekalištu (65,2%). Relativna vlažnost vanjskog zraka je slična relativnoj vlažnosti u farmi ($p = 0,17$). Unutar farme temperatura vrlo malo varira za razliku od relativne vlažnost zraka.
- Ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija (AMB) u zraku prikupljenom na pet lokacija unutar farme prelazi referentnu vrijednost propisanu standardom ("Diario da Republica n.° 235/2013, 1° Suplemento, Serie I de 2013-12-04").
- Ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija (AMB) u zraku prikupljenom na četiri lokacije na različitoj udaljenosti od farme se smanjuje s povećanjem udaljenosti od farme.
- Ukupan broj plijesni u zraku prikupljenom unutar farme prelazi referentne vrijednosti propisane standardom ("Diario da Republica n.° 235/2013, 1° Suplemento, Serie I de 2013-12-04") na dvije lokacije (odgajalište i tovilište 1).
- Ukupan broj plijesni u zraku prikupljenom na četiri lokacije na različitoj udaljenosti od farme se smanjuje s povećanjem udaljenosti od farme.
- Broj AMB u unutarnjem zraku na farmi je značajno viši ($p < 0,05$) u odnosu na vanjski zrak. U slučaju plijesni, ne postoji značajna razlika ($p > 0,05$) u brojnosti u vanjskom i unutarnjem zraku.
- Povećana brojnost mikroorganizama može biti posljedica prekomjerne gustoće životinja na premalom prostoru, vlage zraka i temperature koje mogu biti optimalne za njihov rast i razvoj, neadekvatne ventilacije i nedovoljne higijene prostora. Zbog povećane brojnosti postoji opasnost od štetnog utjecaja na zdravlje životinja i radnika na farmi te na okolinu izvan same farme.
- Da bi se spriječio negativan utjecaj mikroorganizama, potrebno je pravovremeno provoditi preventivne higijenske mjere poput čišćenja cijelog prostora životinja i opreme te ugradnje i održavanja ventilacijskih sistema. Time se ne bi samo poboljšala dobrobit životinja i ljudi na farmi i u njenoj blizini, nego bi se smanjio i negativan utjecaj na okoliš.

7. Literatura

„SAS SUPER 100/180“, „DUO SAS SUPER 360“, „SAS ISOLATOR“ - Code n. 18198/19121, 24584, 43216/43217 – Instructions manual

Aarnink, A. J. A., Roelofs, P. F. M. M., Ellen, H., & Gunnink, H. (1999). Dust sources in animal houses. In *Proceedings of the International Symposium on Dust Control in Animal Production Facilities, 30 May-2 June, Aarhus (D)* (pp. 34-40)

Atwill, E., Partyka, M., Bond, R., Li, X., Xiao, C., Karle, B., & Kiger, L. (2012). *An introduction to waterborne pathogens in agricultural watersheds*.

Bennett, J. W., & Klich, M. (2003). Mycotoxins. Clinical microbiology reviews, 16(3), 497-516. doi: 10.1128/cmr.16.3.497-516.2003

Bertics, P. J., Gavala, M. L., & Denlinger, L. C. (2006). ENDOTOXINS. In G. J. Laurent & S. D. Shapiro (Eds.), *Encyclopedia of Respiratory Medicine* (pp. 80-85). Oxford: Academic Press.

Bilić, V., Habrun, B., Barač, I., & Humski, A. (2000). Distribution of airborne bacteria in swine housing facilities and their immediate environment. Arh Hig Rada Toksikol, 51(2), 199-205.

Cambra-López, M., Aarnink, A. J. A., Zhao, Y., Calvet, S., & Torres, A. G. (2010). Airborne particulate matter from livestock production systems: A review of an air pollution problem. *Environmental Pollution, 158*(1), 1-17. doi: https://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.07.011

Chang, C. W., Chung, H., Huang, C. F., & Su, H. J. (2001). Exposure of workers to airborne microorganisms in open-air swine houses. Appl Environ Microbiol, 67(1), 155-161. doi: 10.1128/aem.67.1.155-161.2001

Dänicke, S., & Diers, S. (2013). Effects of ergot alkaloids on liver function of piglets as evaluated by the (13)C-methacetin and (13)C-α-ketoisocaproic acid breath test. Toxins, 5(1), 139–161. https://doi.org/10.3390/toxins5010139

Diario da Republica n.° 235/2013, 1° Suplemento, Serie I de 2013-12-04

Duan, H., Chai, T., Liu, J., Zhang, X., Qi, C., Gao, J., . . . Schlenker, G. (2009). Source identification of airborne Escherichia coli of swine house surroundings using ERIC-PCR and REP-PCR. *Environmental research, 109*(5), 511-517. doi: 10.1016/j.envres.2009.02.014

EPA, 2004. *Air Quality Criteria for Particulate Matter*, vol. II of II. United States Environmental Protection Agency, Washington D.C., 1148 pp.

Fluke 975V AirMeter™ [online] https://dam-assets.fluke.com/s3fs-public/975_____mveng0000.pdf (pristupljeno 26. ožujka 2020.)

Gutzmirtl D., Kucjenić Ž. (2003). Smještaj svinja. Hrvatski Zavod za Poljoprivrednu Savjetodavnu Službu. Zagreb. [online] https://www.savjetodavna.hr/wp-content/uploads/publikacije/s_smjestaj.pdf (pristupljeno 22. ožujka 2020.)

Hermann, J. R., Brockmeier, S. L., Yoon, K.-J., & Zimmerman, J. J. (2008). Detection of respiratory pathogens in air samples from acutely infected pigs. *Canadian journal of veterinary research = Revue canadienne de recherche veterinaire, 72*(4), 367-370.

Karwowska, E. (2005). Microbiological air contamination in farming environment. Polish Journal of Environmental Studies, 14, 445-449.

Kim, K. Y., & Ko, H. J. (2019). Indoor distribution characteristics of airborne bacteria in pig buildings as influenced by season and housing type. Asian-Australasian journal of animal sciences, 32(5), 742-747. doi: 10.5713/ajas.18.0415

Kim, K., Ko, H., Kim, Y., & Kim, C. (2008). Assessment of Korean farmer's exposure level to dust in pig buildings. Annals of agricultural and environmental medicine : AAEM, 15, 51-58.

Kovaček I. (2018.). Biološki čimbenici na mjestima rada – javnozdravstveni pogled. Skup: „Legislativa s primjerima dobre prakse – rad s opasnim kemikalijama“. http://uznr.mrms.hr/edukacija/prezentacije/prezentacije-sa-strucnih-skupova/

LeJeune, J. T., Besser, T. E., Merrill, N. L., Rice, D. H., & Hancock, D. D. (2001). Livestock Drinking Water Microbiology and the Factors Influencing the Quality of Drinking Water Offered to Cattle. *Journal of Dairy Science, 84*(8), 1856-1862. doi: https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74626-7

Lu, J., Sanchez, S., Hofacre, C., Maurer, J. J., Harmon, B. G., & Lee, M. D. (2003). Evaluation of broiler litter with reference to the microbial composition as assessed by using 16S rRNA and functional gene markers. *Applied and Environmental Microbiology, 69*(2), 901-908. doi: 10.1128/aem.69.2.901-908.2003

Maciorowski, K. G., Herrera, P., Jones, F. T., Pillai, S. D., & Ricke, S. C. (2007). Effects on poultry and livestock of feed contamination with bacteria and fungi. *Animal Feed Science and Technology, 133*(1), 109-136. doi: https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2006.08.006

Miller, D., Josh, H., Radi, Z., & Mauel, M. (2004). An Escherichia Coli Epizootic in Captive Mallards (Anas platyrhynchos). *International Journal of Poultry Science, 3*. doi: 10.3923/ijps.2004.206.210

Ministarstvo zdravstva RH. Pravilnik o dobroj proizvođačkoj praksi. Narodne novine NN 71/1999. https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/1999_07_71_1306.html

Niculita-Hirzel, H., Hantier, G., Storti, F., Plateel, G., & Roger, T. (2016). Frequent Occupational Exposure to Fusarium Mycotoxins of Workers in the Swiss Grain Industry. Toxins, 8(12), 370. https://doi.org/10.3390/toxins8120370

Niculita-Hirzel, H., Hantier, G., Storti, F., Plateel, G., & Roger, T. (2016). Frequent Occupational Exposure to Fusarium Mycotoxins of Workers in the Swiss Grain Industry. Toxins, 8(12), 370. https://doi.org/10.3390/toxins8120370

Olsen, S. C., & Tatum, F. M. (2016). Swine brucellosis: current perspectives. Veterinary medicine (Auckland, N.Z.), 8, 1–12. https://doi.org/10.2147/VMRR.S91360

Pavić S., Smoljanović M., Mijaković I., Ćurin K., Prodan-Bedalov M. (2001). Načela utvrđivanja mikrobiološke kakvoće zraka. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology (arhiv@imi.hr); Vol.52 No.3*.

Pepper, I. L., & Gerba, C. P. (2015). Chapter 5 - Aeromicrobiology. In I. L. Pepper, C. P. Gerba & T. J. Gentry (Eds.), Environmental Microbiology (Third Edition) (pp. 89-110). San Diego: Academic Press.

Popescu, S., Borda, C., Diugan, E.A., & Oros, D. (2014). Microbial air contamination in indoor and outdoor environment of pig farms.

Ramírez-Castillo, F. Y., Loera-Muro, A., Jacques, M., Garneau, P., Avelar-González, F. J., Harel, J., & Guerrero-Barrera, A. L. (2015). Waterborne pathogens: detection methods

and challenges. *Pathogens (Basel, Switzerland), 4*(2), 307-334. doi: 10.3390/pathogens4020307

Roque, K., Lim, G. D., Jo, J. H., Shin, K. M., Song, E. S., Gautam, R., Kim, C. Y., Lee, K., Shin, S., Yoo, H. S., Heo, Y., & Kim, H. A. (2016). Epizootiological characteristics of viable bacteria and fungi in indoor air from porcine, chicken, or bovine husbandry confinement buildings. Journal of veterinary science, 17(4), 531–538. https://doi.org/10.4142/jvs.2016.17.4.531

Roque, K., Shin, K. M., Jo, J. H., Lim, G. D., Song, E. S., Shin, S. J., Gautam, R., Lee, J. H., Kim, Y. G., Cho, A. R., Kim, C. Y., Kim, H. J., Lee, M. S., Oh, H. G., Lee, B. C., Kim, J. H., Kim, K. H., Jeong, H. K., Kim, H. A., & Heo, Y. (2018). Association between endotoxin levels in dust from indoor swine housing environments and the immune responses of pigs. Journal of veterinary science, 19(3), 331–338. https://doi.org/10.4142/jvs.2018.19.3.331

RU-81-052. Radna uputa za uzorkovanje uzorkivačem zraka SAS Super 90 i transport uzoraka

SOP-368-052 za metodu „Mikrobiološko uzorkovanje zraka ISO 16000-18:2011“ i „Detekcija i brojanje mikroorganizama ISO16000-17:2008, HRN EN 13098:2008 (en 13090:2000)“

Stetzenbach, L. D. (2009). Airborne Infectious Microorganisms. In M. Schaechter (Ed.), *Encyclopedia of Microbiology (Third Edition)* (pp. 175-182). Oxford: Academic Press.

Tellier, R. (2009). Aerosol transmission of influenza A virus: a review of new studies. *Journal of the Royal Society, Interface, 6 Suppl 6*(Suppl 6), S783-S790. doi: 10.1098/rsif.2009.0302.focus

Torok, V. A., Hughes, R. J., Ophel-Keller, K., Ali, M., & Macalpine, R. (2009). Influence of different litter materials on cecal microbiota colonization in broiler chickens. *Poultry science, 88*(12), 2474–2481. https://doi.org/10.3382/ps.2008-00381

Uremović M., Uremović Z. (1997). Svinjogojstvo. Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Zagreb.

Yassin, M. F., & Almouqatea, S. (2010). Assessment of airborne bacteria and fungi in an indoor and outdoor environment. International Journal of Environmental Science & Technology, 7(3), 535-544. doi: 10.1007/BF03326162

Yuan, W., Chai, T. J., & Miao, Z. M. (2010). ERIC-PCR identification of the spread of airborne Escherichia coli in pig houses. Science of The Total Environment, 408(6), 1446-1450. doi: https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.12.019

Zakon o zaštiti na radu (NN 071/2014, 118/2014, 094/2018 i 096/2018)

Zhao, Y., Aarnink, A. J. A., Cambra-Lopez, M., & Fabri, T. (2013). Viral shedding and emission of airborne infectious bursal disease virus from a broiler room. *British Poultry Science, 54*(1), 87-95. doi: 10.1080/00071668.2012.762505

Zhao, Y., Aarnink, A. J. A., De Jong, M. C. M., & Groot Koerkamp, P. W. G. (2014). Airborne Microorganisms From Livestock Production Systems and Their Relation to Dust. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 44*(10), 1071-1128. doi: 10.1080/10643389.2012.746064

Zucker, B. A., & Müller, W. (2002). [Air microorganisms in animal housing--4. Airborne gram-negative bacteria and airborne endotoxin in pig houses]. Berl Munch Tierarztl Wochenschr, 115(1-2), 30-36.