

ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΟΙΚΙΑΚΗΣ ΟΙΚΟΝΟΜΙΑΣ & ΟΙΚΟΛΟΓΙΑΣ
ΠΜΣ «ΒΙΩΣΙΜΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ» - ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ:
«ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ»

ΘΕΜΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ:

«Αξιοποίηση επεξεργασμένων λυμάτων και ιλύος
βιολογικών καθαρισμών: δυνατότητες και
περιβαλλοντικοί περιορισμοί, με έμφαση στα
микροβιολογικά χαρακτηριστικά της ιλύος»

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: Δρ. ΛΑΖΑΡΙΔΗ ΑΙΚ., ΕΠΙΚΟΥΡΗ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ
ΜΕΛΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ: Δρ. ΚΥΡΙΑΚΟΥ ΑΔ., ΕΠΙΚΟΥΡΗ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ
Δρ. ΑΜΠΕΛΙΩΤΗΣ Κ., ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

ΣΥΝΤΑΚΤΗΣ: ΚΑΝΑΚΑΡΗ ΝΕΚΤΑΡΙΑ
Α.Μ.: 26202

ΑΘΗΝΑ 2009

Περιεχόμενα

Ευρετήριο πινάκων.....	4
Ευρετήριο σχημάτων.....	5
Ευρετήριο χαρτών.....	6
Ευρετήριο εικόνων.....	6
Ευρετήριο διαγραμμάτων.....	6
Συντμήσεις.....	8
Πρόλογος.....	10
Περίληψη.....	12
Abstract.....	13
<u>Κεφάλαιο 1^ο</u> : Εισαγωγή.....	14
<u>Κεφάλαιο 2^ο</u> : Βιβλιογραφική ανασκόπηση.....	16
2.1 Το πρόβλημα των υγρών αποβλήτων.....	16
2.2 Μέθοδοι επεξεργασίας των υγρών αστικών αποβλήτων.....	17
2.3 Αρχές λειτουργίας μονάδων επεξεργασίας υγρών αστικών λυμάτων.....	20
2.4 Γενική περιγραφή μονάδων και επεξεργασίας καθαρισμού υγρών αποβλήτων.....	21
2.4.1 Στάδια επεξεργασίας βιολογικού καθαρισμού.....	23
<u>Κεφάλαιο 3^ο</u> : Μέθοδοι ολοκληρωμένης διαχείρισης ιλύος.....	27
3.1 Μέθοδοι ολοκληρωμένης διαχείρισης ιλύος.....	27
3.1.1 Γενικά.....	27
3.1.1.1 Διαδικασίες σταθεροποίησης της ιλύος.....	27
3.1.1.2 Διάθεση της ιλύος.....	28
3.1.2 Γεωργική αξιοποίηση.....	35
3.1.3 Υγειονομική ταφή.....	39
3.1.4 Καύση.....	42
3.1.5 Κομποστοποίηση.....	43
3.1.6 Χρήση στη δασοπονία και δασοκομία.....	44
3.1.7 Αποκατάσταση εδαφών.....	45
3.1.8 Αεριοποίηση (Gasification).....	46
3.1.9 Πυρόλυση (Pyrolysis).....	47
3.1.10 Υγρή οξείδωση (Wet oxidation).....	48
3.1.11 Χρήση για παραγωγή υδρογόνου (Hydrogen production from sewage sludge).....	48
3.1.12 Χρήση στην τσιμεντοβιομηχανία (Co-combustion of sewage sludge in cement manufacturing).....	49
3.1.13 Παραγωγή φωσφορικών λιπασμάτων.....	49
3.1.14 Παραγωγή βιοαερίου.....	49
3.1.15 Παραγωγή κεραμικών, οικοδομικών και άλλων υλικών.....	50
3.1.16 Παραγωγή καύσιμης ενέργειας.....	50
3.2 Μέθοδοι επεξεργασίας ιλύος.....	50
3.3 Νομοθετικό πλαίσιο.....	59
<u>Κεφάλαιο 4^ο</u> : Τύποι και χαρακτηριστικά ιλύος αστικών λυμάτων.....	62
4.1 Είδη και χαρακτηριστικά ιλύος.....	62
4.2 Ιλύς μονάδων επεξεργασίας αστικών λυμάτων και παράμετροι ποιότητας.....	66
4.2.1 Φυσικές και χημικές παράμετροι.....	66
4.2.2 Μικροβιολογικές παράμετροι.....	78

<u>Κεφάλαιο 5^ο</u> : Περιβαλλοντικοί κίνδυνοι από την ιλύ αστικών λυμάτων- Εδαφική εφαρμογή	93
5.1 Περιβαλλοντικοί κίνδυνοι από την ιλύ αστικών λυμάτων	93
5.2 Εδαφική εφαρμογή ιλύος.....	102
<u>Κεφάλαιο 6^ο</u> : Το πρόβλημα της διασποράς των αντιβιοτικών στον περιβάλλον	105
<u>Κεφάλαιο 7^ο</u> : Υλικά και μέθοδοι.....	121
7.1 Προέλευση δειγμάτων	123
7.2 Σύντομη περιγραφή διεργασιών επεξεργασίας ιλύος στις μονάδες δειγματοληψίας.....	125
7.3 Φυσικές και χημικές παράμετροι της ιλύος.....	125
7.3.1 Υγρασία	125
7.3.2 Πτητικά στερεά.....	125
7.3.3 Οξύτητα (pH).....	125
7.3.4 Ηλεκτρική αγωγιμότητα	125
7.4 Μικροβιολογικές παράμετροι της ιλύος.....	126
7.4.1 Εκτίμηση μικροβιακών πληθυσμών	126
7.4.1.1 Εκτίμηση πληθυσμού ολικής μεσόφιλης χλωρίδας.....	126
7.4.1.2 Εκτίμηση του πληθυσμού ολικών κολίμορφων και <i>Escherichia coli</i>	127
7.4.1.3 Εκτίμηση του πληθυσμού των περιττωματικών στρεπτόκοκκων	127
7.4.1.4 Εκτίμηση του πληθυσμού των μυκήτων και των ζυμών	127
7.4.1.5 Εκτίμηση του πληθυσμού των θειοαναγωγικών κλωστριδίων	128
7.4.2 Έλεγχος για την ύπαρξη παθογόνων μικροοργανισμών	128
7.4.2.1 <i>Salmonella</i> spp.....	128
7.4.2.2 <i>Listeria</i> spp.	136
7.4.2.3 Απομόνωση και ταυτοποίηση στελεχών <i>Enterococcus</i> spp.....	143
<u>Κεφάλαιο 8^ο</u> : Αποτελέσματα και Σχολιασμός	149
8.1 Μονάδες δειγματοληψίας	149
8.2 Φυσικές και Χημικές αναλύσεις των δειγμάτων ιλύος από ΕΕΛ ελληνικών πόλεων	150
8.2.1 Υγρασία	150
8.2.2 Πτητικά στερεά.....	151
8.2.3 Οξύτητα	151
8.2.4 Ηλεκτρική αγωγιμότητα	152
8.3 Μικροβιολογικές αναλύσεις δειγμάτων ιλύος από ΕΕΛ ελληνικών πόλεων.....	153
8.3.1 Εκτίμηση μικροβιακών πληθυσμών	153
8.3.1.1 Εκτίμηση πληθυσμού ολικής μεσόφιλης χλωρίδας.....	153
8.3.1.2 Εκτίμηση του πληθυσμού ολικών κολίμορφων και <i>Escherichia coli</i>	154
8.3.1.3 Εκτίμηση του πληθυσμού των περιττωματικών στρεπτόκοκκων	155
8.3.1.4 Εκτίμηση του πληθυσμού των μυκήτων και των ζυμών	156
8.3.1.5 Εκτίμηση του πληθυσμού των θειοαναγωγικών κλωστριδίων	157
8.4 Έλεγχος, απομόνωση και ταυτοποίηση για παθογόνους μικροοργανισμούς.....	158
8.4.1 <i>Salmonella</i> spp.....	158
8.4.2 <i>Listeria</i> spp.	163
8.5 Έλεγχος, απομόνωση και ταυτοποίηση μικροβιακών στελεχών.....	169
8.5.1 <i>Enterococcus</i> spp	169
<u>Κεφάλαιο 9^ο</u> : Συμπεράσματα, περιορισμοί, εισηγήσεις.....	198
9.1 Συμπεράσματα για τις φυσικές - χημικές παραμέτρους της ιλύος των δειγμάτων που εξετάστηκαν.....	198
9.2 Συμπεράσματα για τις μικροβιολογικές παραμέτρους της ιλύος των δειγμάτων που εξετάστηκαν.....	199

9.3 Συμπεράσματα για τους τρόπους επεξεργασίας και διάθεσης της ιλύος στις μονάδες δειγματοληψίας που εξετάστηκαν - Περιορισμοί.....	201
9.4 Εισηγήσεις	202
<u>Βιβλιογραφία</u>	204
<u>Παράρτημα</u>	217

Ευρετήριο πινάκων

Πίνακας 3.1. Συνολική παραγωγή ιλύος και προβλέψεις από το 2000 έως το 2005	28
Πίνακας 3.2. Κόστος επεξεργασίας και διάθεσης ιλύος [€/t DS]	29
Πίνακας 3.3. Διάθεση της ιλύος (% της μέσης ετήσιας παραγωγής) σε ευρωπαϊκές χώρες την τελευταία 10ετία	31
Πίνακας 3.4. Ποσότητες ιλύος [Ξ.Υ.], οι οποίες παράγονται ετησίως από τα Κ.Ε.Λ. στην Ελλάδα.....	34
Πίνακας 3.5. Ποσότητες ιλύος αστικών λυμάτων που χρησιμοποιήθηκαν στη γεωργία σε διάφορες ευρωπαϊκές χώρες	36
Πίνακας 3.6. Πιθανά σενάρια τιμών ορίων βαρέων μετάλλων για την ιλύ για το 2015 και το 2025.....	38
Πίνακας 3.7. Ρυθμός εφαρμογής ιλύος για ανάκτηση εδαφών	46
Πίνακας 3.8. Τα στάδια επεξεργασίας της ιλύος στις χώρες-μέλη της ΕΕ	51
Πίνακας 3.9. Αέριοι ρύποι από την καύση της ιλύος.....	57
Πίνακας 3.10. Αποδοτικότητα μεθόδων απολύμανσης της ιλύος.....	58
Πίνακας 3.11. Συνοπτική παρουσίαση των κυριότερων μεθόδων σταθεροποίησης ιλύος αστικών λυμάτων στην Ελλάδα	58
Πίνακας 3.12 Εθνικές Νομοθεσίες σε σχέση με την 86/278/EC.....	60
Πίνακας 4.1. Τυπικά χαρακτηριστικά ιλύος ανάλογα με τον βαθμό επεξεργασίας.....	64
Πίνακας 4.2. Μέσοι όροι για επί μέρους χαρακτηριστικά της ποιότητας ιλύος	65
Πίνακας 4.3. Μέγιστες συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων (mg/kg dry wt)	69
για γεωργική διάθεση της ιλύος	69
Πίνακας 4.4. Μέση συγκέντρωση βαρέων μετάλλων στην ιλύ [mg/kgDS]	69
(1998 – 2000)	69
Πίνακας 4.5. Ανώτατες τιμές βαρέων μετάλλων επιτρεπόμενες και προβλεπόμενες στο άμεσο μέλλον ανά mg/kg ΞΥ	71
Πίνακας 4.6. Ανώτατες τιμές βαρέων μετάλλων επιτρεπόμενες και προβλεπόμενες στο άμεσο μέλλον ανά g /εκτάριο/έτος.....	72
Πίνακας 4.7. Ανώτατες επιτρεπόμενες και προβλεπόμενες τιμές συγκέντρωσης βαρέων μετάλλων στην ιλύ που χρησιμοποιείται για γεωργικούς σκοπούς.....	72
Πίνακας 4.8. Παραδείγματα κοινών οργανικών ρύπων που έχουν ανιχνευθεί στην ιλύ	74
Πίνακας 4.9. Μέγιστες συγκεντρώσεις μικροοργανικών (mg/kg dry wt) για.....	75
γεωργική χρήση της ιλύος	75
Πίνακας 4.10. Προτεινόμενες ανώτατες επιτρεπόμενες τιμές συγκεντρώσεων οργανικών ρυπαντών στην ιλύ.....	77
Πίνακας 4.11. Παθογόνοι μικροοργανισμοί που έχουν ανιχνευθεί σε λύματα και στην ιλύ αστικών λυμάτων.....	79
Πίνακας 4.12. Συγκεντρώσεις μικροοργανισμών στην ανεπεξέργαστη ιλύ	90
Πίνακας 4.13. Ανώτατες επιτρεπόμενες τιμές συγκεντρώσεων παθογόνων στην ιλύ που προορίζεται για γεωργική χρησιμοποίηση	92

Πίνακας 4.14. Μέθοδοι απολύμανσης ιλύος για γεωργική χρησιμοποίηση	93
Πίνακας 5.1. Προδιαγραφές για χρήση ιλύος στη γεωργία, σύμφωνα με την Οδηγία 86/278/ΕΕ και την ελληνική νομοθεσία (ΚΥΑ 80568/4225/91).	95
Πίνακας 5.2. Οριακές ποσότητες βαρέων μετάλλων που μπορούν να εισάγονται κατά έτος στα καλλιεργήσιμα εδάφη (kg/ha.έτος).....	97
Πίνακας 5.3. Μέγιστες συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων (mg/kg dry wt)..... για γεωργική διάθεση της ιλύος	97
Πίνακας 5.4. Επεξεργασία ιλύος για διάθεση στη γεωργία (Σχέδιο Αναθεώρησης της 86/278/ΕΕ)	99
Πίνακας 6.1. Αντιβιοτικά και η δράση τους.....	105
Πίνακας 7.1. TSI και LIA χρωματισμοί αναφορικά με τη <i>Salmonella</i> spp.	133
Πίνακας 7.2. Βιοχημικές αντιδράσεις των ειδών του γένους <i>Listeria</i> spp.	141
Πίνακας 7.3. Ερμηνεία ζωνών παρεμπόδισης για τα στελέχη του γένους <i>Enterococcus</i> spp.	148
Πίνακας 7.4. Κατηγοριοποίηση αντιβιοτικών που χρησιμοποιήθηκαν	149
Πίνακας 8.1. Ταυτοποίηση του γένους <i>Salmonella</i> spp. με το σύστημα API 20E	159
Πίνακας 8.2. Συγκέντρωση του γένους <i>Salmonella</i> spp. στα δείγματα αφυδατωμένης ιλύος από ΕΕΛ ελληνικών πόλεων	161
Πίνακας 8.3. Ταυτοποιήσεις του γένους <i>Listeria</i> spp. με το σύστημα API Listeria	164
Πίνακας 8.4. Συγκέντρωση του γένους <i>Listeria</i> spp. που ανιχνεύτηκαν στα δείγματα αφυδατωμένης ιλύος από ΕΕΛ ελληνικών πόλεων.....	166
Πίνακας 8.5. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας για το σύνολο των 246 στελεχών εντερόκοκκων	170
Πίνακας 8.6. Αποτελέσματα ανθεκτικότητας στελεχών του γένους <i>Enterococcus</i> ανά κατηγορία αντιβιοτικών και ανά αντιβιοτικό	171

Ευρετήριο σχημάτων

Σχήμα 2.1. Εγκαταστάσεις βιολογικού καθαρισμού Καβάλας	23
Σχήμα 2.2. Κατανομή πληθυσμού και επεξεργασία λυμάτων στην Ευρώπη	26
Σχήμα 3.1. Διάθεση ιλύος στα χώρες-μέλη της ΕΕ για το έτος 2002	32
Σχήμα 3.2. Διάθεση ιλύος στις υποψήφιες χώρες για το έτος 2002.....	33
Σχήμα 3.3. Ποσότητα παραχθείσας ιλύος ανά κεφαλή	33
Σχήμα 3.4. Επιπτώσεις της διάθεσης ιλύος σε ΧΥΤΑ	40
Σχήμα 3.5. Στάδια επεξεργασίας υγρών αποβλήτων.....	51
Σχήμα 4.1 Αναπαράσταση της πορείας μιας οργανικής χημικής ουσίας στο περιβάλλον..	75
Σχήμα 4.2. Έκθεση της ιλύος σε θερμοκρασία για την επίτευξη ιλύος απαλλαγμένης από παθογόνους μικροοργανισμούς	90
Σχήμα 5.1. Επιπτώσεις κατά τη διάθεση της ιλύος στο έδαφος.....	104
Σχήμα 6.1. Συνολική χρήση αντιβιοτικών από μη νοσηλευόμενους ασθενείς σε 31 ευρωπαϊκά κράτη.....	106
Σχήμα 6.2. Συνολική χρήση αντιβιοτικών από μη νοσηλευόμενους ασθενείς σε 29 ευρωπαϊκά κράτη από το 1998-2005	106
Σχήμα 6.3. Εποχιακή διακύμανση χρήσης αντιβιοτικών σε μη νοσηλευόμενους σε 11 ευρωπαϊκές χώρες από το 1997-2003.....	107
Σχήμα 6.4. Μηχανισμοί ανθεκτικότητας αντιβιοτικών στα βακτήρια	108

Ευρετήριο χαρτών

Χάρτης 7. 1. Κατανομή δειγματοληψιών.....	123
---	-----

Ευρετήριο εικόνων

Εικόνα 3.1. Κομποστοποιημένη ιλύ σε κατάστημα με είδη κήπου.....	44
Εικόνα 4.1. Αναπαράσταση <i>Escherichia coli</i>	82
Εικόνα 4.2. Αναπαράσταση <i>Salmonella</i> spp.....	84
Εικόνα 4.3. Αναπαράσταση <i>Listeria monocytogenes</i>	86
Εικόνα 4.4. Αναπαράσταση <i>Clostridium perfringens</i>	87
Εικόνα 6.1. Τεστ διάχυσης δίσκων (Disc diffusion test).....	110
Εικόνα 7.1. Αποτελέσματα ταυτοποίησης για ένα τυχαίο δείγμα με τη βοήθεια του API 20E.....	135
Εικόνα 7.2. Αποτελέσματα ταυτοποίησης για ένα τυχαίο δείγμα με τη βοήθεια του API Listeria.....	143

Ευρετήριο διαγραμμάτων

Διάγραμμα 8.1. Διακύμανση της υγρασίας σε δείγματα ιλύος από ΕΕΛ ελληνικών πόλεων.....	150
Διάγραμμα 8.2. Διακύμανση των πτητικών στερεών σε δείγματα ιλύος από ΕΕΛ ελληνικών πόλεων.....	151
Διάγραμμα 8.3. Διακύμανση pH σε δείγματα ιλύος από ΕΕΛ ελληνικών πόλεων.....	152
Διάγραμμα 8.4. Διακύμανση της ηλεκτρικής αγωγιμότητας σε δείγματα ιλύος από ΕΕΛ ελληνικών πόλεων.....	153
Διάγραμμα 8.5. Διακύμανση της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας σε δείγματα ιλύος από ΕΕΛ ελληνικών πόλεων.....	153
Διάγραμμα 8.6. Διακύμανση ολικών κολίμορφων βακτηρίων σε δείγματα ιλύος από ΕΕΛ ελληνικών πόλεων.....	154
Διάγραμμα 8.7. Διακύμανση <i>E.coli</i> βακτηρίων σε δείγματα ιλύος από ΕΕΛ ελληνικών πόλεων.....	155
Διάγραμμα 8.8. Διακύμανση περιττωματικών στρεπτόκοκκων στα δείγματα ιλύος από ΕΕΛ ελληνικών πόλεων.....	156
Διάγραμμα 8.9. Διακύμανση μυκήτων στα δείγματα ιλύος από ΕΕΛ ελληνικών πόλεων.....	157
Διάγραμμα 8.10. Διακύμανση ζυμών στα δείγματα ιλύος από ΕΕΛ ελληνικών πόλεων.....	157
Διάγραμμα 8.11. Διακύμανση θειοαναγωγικών κλωστριδίων στα δείγματα ιλύος από ΕΕΛ ελληνικών πόλεων.....	158
Διάγραμμα 8.12. Επίπεδα πληθυσμών του γένους <i>Salmonella</i> spp. στα δείγματα ιλύος από ΕΕΛ ελληνικών πόλεων.....	163
Διάγραμμα 8.13. Επίπεδα πληθυσμών του γένους <i>Listeria</i> στα δείγματα ιλύος από ΕΕΛ ελληνικών πόλεων.....	168
Διάγραμμα 8.14. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας 246 στελεχών του γένους <i>Enterococcus</i> σε 12 αντιμικροβιακούς παράγοντες.....	171

Διάγραμμα 8.15. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας των εντερόκοκκων στα αντιβιοτικά για το δείγμα της Χαλκίδας	173
Διάγραμμα 8.16. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας των εντερόκοκκων στα αντιβιοτικά για το δείγμα της Καβάλας	174
Διάγραμμα 8.17. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας των εντερόκοκκων στα αντιβιοτικά για το δείγμα της Νάουσας	175
Διάγραμμα 8.18. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας των εντερόκοκκων στα αντιβιοτικά για το δείγμα της Καστοριάς	176
Διάγραμμα 8.19. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας των εντερόκοκκων στα αντιβιοτικά για το δείγμα της Κοζάνης	177
Διάγραμμα 8.20. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας των εντερόκοκκων στα αντιβιοτικά για το δείγμα της Κατερίνης	178
Διάγραμμα 8.21. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας των εντερόκοκκων στα αντιβιοτικά για το δείγμα του Καρπενησίου	179
Διάγραμμα 8.22. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας των εντερόκοκκων στα αντιβιοτικά για το δείγμα των Γρεβενών	180
Διάγραμμα 8.23. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας των εντερόκοκκων στα αντιβιοτικά για το δείγμα των Σερρών	181
Διάγραμμα 8.24. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας των εντερόκοκκων στα αντιβιοτικά για το δείγμα του Κιλκίς	182
Διάγραμμα 8.25. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας των εντερόκοκκων στα αντιβιοτικά για το δείγμα της Πρέβεζας	183
Διάγραμμα 8.26. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας των εντερόκοκκων στα αντιβιοτικά για το δείγμα της Νέας Φώκαιας Χαλκιδικής	184
Διάγραμμα 8.27. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας των εντερόκοκκων στα αντιβιοτικά για το δείγμα των Ιωαννίνων	185
Διάγραμμα 8.28. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας των εντερόκοκκων στα αντιβιοτικά για το δείγμα της Καλαμπάκας	186
Διάγραμμα 8.29. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας των εντερόκοκκων στα αντιβιοτικά για το δείγμα του Τυρνάβου	187
Διάγραμμα 8.30. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας των εντερόκοκκων στα αντιβιοτικά για το δείγμα της Καρδίτσας	188
Διάγραμμα 8.31. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας των εντερόκοκκων στα αντιβιοτικά για το δείγμα της Άρτας	189
Διάγραμμα 8.32. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας των εντερόκοκκων στα αντιβιοτικά για το δείγμα του Μεσολογγίου	190
Διάγραμμα 8.33. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας των εντερόκοκκων στα αντιβιοτικά για το δείγμα της Αλεξανδρούπολης	191
Διάγραμμα 8.34. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας των εντερόκοκκων στα αντιβιοτικά για το δείγμα της Ορεστιάδας	192
Διάγραμμα 8.35. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας των εντερόκοκκων στα αντιβιοτικά για το δείγμα του Διδυμοτείχου	193
Διάγραμμα 8.36. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας των εντερόκοκκων στα αντιβιοτικά για το δείγμα του Λαυρίου	194
Διάγραμμα 8.37. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας των εντερόκοκκων στα αντιβιοτικά για το δείγμα της Ηγουμενίτσας	195
Διάγραμμα 8.38. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας των εντερόκοκκων στα αντιβιοτικά για το δείγμα των Καμένων Βούρλων	196

Συντμήσεις

Σύντμηση	Αγγλικός όρος	Ελληνικός όρος
AM-10	Ampicillin 10 µg	Αμπικιλίνη 10 µg
B-10	Bacitracin 10 µg	Βακιτρακίνη 10 µg
CIP-5	Ciprofloxacin 5 µg	Σιπροφλοξασίνη 5 µg
CFU	Colony Forming Units	Βιώσιμη Αναπαραγωγική Μονάδα
E-15	Erythromycin 15 µg	Ερυθρομυκίνη 15 µg
F/M-300	Nitrofuradoin 300 µg	Νιτροφουραντοΐνη 300 µg
GM-120	Gentamycin 120 µg	Γενταμυκίνη 120 µg
MPN	Most Probable Number	Πλέον πιθανός αριθμός
MPR	Most Probable Range	Πλέον πιθανό εύρος
NCCLS	National Committee for Clinical Laboratory Standards	
NOR-10	Norfloxacin 10 µg	Νορφλοξακίνη 10 µg
OFX-5	Ofloxacin 5 µg	Οφλοξακίνη 5 µg
RA-5	Rifampicin 5 µg	ΡΙφαμπικίνη 5 µg
S-300	Streptomycin 300 µg	Στρεπτομυκίνη 300 µg
Te-30	Tetracycline 30 µg	Τετρακυκλίνη 30 µg
Va-30	Vancomycin 30 µg	Βανκομυκίνη 30 µg
UNEP	United Nations Environment Programme	
WHO	World Health Organization	Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας
EE		Ευρωπαϊκή Ένωση
ΕΕΛ		Εγκαταστάσεις Επεξεργασίας Λυμάτων
EK		Ευρωπαϊκή Κοινότητα
ΕΟΚ		Ευρωπαϊκή Οικονομική Κοινότητα
ΕΟΦ		Εθνικός Οργανισμός Φαρμάκων
ΚΕΛ		Κέντρα Επεξεργασίας Λυμάτων
ΚΥΑ		Κοινή Υπουργική Απόφαση
ΠΥΣ		Πράξη Υπουργικού Συμβουλίου
ΧΥΤΑ		Χώρος Υγειονομικής Ταφής Απορριμμάτων

Πρόλογος

Από αρχαιοτάτων χρόνων, γενιές αγροτών χρησιμοποιούσαν οργανικά απόβλητα από τα νοικοκυριά και την κτηνοτροφία ως λίπασμα για τα χωράφια τους. Στις σημερινές κοινωνίες, όλο και περισσότερα υγρά απόβλητα επεξεργάζονται με κύριο στόχο τη μείωση του ευτροφισμού και των ξενοβιοτικών ουσιών (xenobiotics) στο υδάτινο περιβάλλον. Κατ' επέκταση, προκύπτει το ερώτημα της διάθεσης της ιλύος που παράγεται από την επεξεργασία των υγρών αποβλήτων.

Η ιλύς συνιστά ένα πολύπλοκο μίγμα διαφόρων ουσιών ανόργανης ή οργανικής φύσης, παθογόνων και άλλων βιολογικών παραγόντων. Οι συγκεντρώσεις των παραγόντων αυτών μπορεί να επιφέρουν σημαντικές αρνητικές επιπτώσεις (ρύπανση – μόλυνση) στο έδαφος, στα φυτά, στην ποιότητα των υδροφορέων και στην υγεία ανθρώπων και ζώων. Η σύσταση της ιλύος διαφέρει επιπλέον και με βάση το είδος της επεξεργασίας στην οποία υποβάλλονται τα λύματα

Η διαχείριση της παραχθείσας ιλύος από την επεξεργασία των υγρών αποβλήτων, έχει αναμφίβολα πολλά οφέλη. Η επιλογή για τη γεωργική χρησιμοποίηση της ιλύος πρέπει να είναι πάντοτε αποτέλεσμα συνεκτίμησης των θετικών και των αρνητικών στοιχείων της. Η διάθεση της ιλύος στο έδαφος είναι μια μέθοδος ανακύκλωσης των συστατικών της ιλύος με γεωργική αξία και προάγει τις αρχές της αειφορίας και της βιώσιμης ανάπτυξης.

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε υπό την εποπτεία της Δρ. Λαζαρίδη Αικατερίνης, Επίκουρης Καθηγήτριας στο Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο Αθηνών, την οποία θα ήθελα να ευχαριστήσω για την ανάθεση της έρευνας αυτής, τη συμβολή της στο σχεδιασμό της μελέτης και την εμπιστοσύνη που έδειξε στο πρόσωπό μου. Επιπλέον, ευχαριστίες θα ήθελα να εκφράσω στην Δρ. Κυριακού Αδαμαντίνη, Επίκουρη Καθηγήτρια επίσης του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου Αθηνών, για το ενδιαφέρον και την καθοδήγησή της στο σχεδιασμό και την εκτέλεση του εργαστηριακού μέρους της έρευνας αυτής, που πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Βιολογίας, Βιοχημείας, Φυσιολογίας του Ανθρώπου και των Μικροοργανισμών του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου Αθηνών, καθώς και τις σημαντικότερες παρατηρήσεις κατά τη συγγραφή των κειμένων. Επίσης, θερμές ευχαριστίες θα ήθελα να εκφράσω στον Δρ. Αμπελιώτη Κωνσταντίνο, Επίκουρο καθηγητή του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου Αθηνών για την ψυχολογική του υποστήριξη σε όλη τη

διάρκεια της εκπόνησης αυτής της έρευνας καθώς και για τις εύστοχες παρατηρήσεις στη συγγραφή της εργασίας.

Ευχαριστώ ακόμα, τον υποψήφιο Διδάκτορα κ. Κατσαμπάνη Γεώργιο για την εκπαίδευση μου στο χώρο του μικροβιολογικού εργαστηρίου και επιπλέον για τις υποδείξεις, τις παρατηρήσεις και τις συζητήσεις πάνω στην εφαρμογή των μικροβιακών μεθόδων καλλιέργειας παθογόνων στελεχών. Η παρουσία του στην αρχή των πειραμάτων καθόρισαν και τη συνέχεια αυτών.

Επιπρόσθετα, θερμές ευχαριστίες στην κα Μήτσου Ευδοκία, υπεύθυνη της Γραμματείας του Εργαστηρίου για την συνεχή υποστήριξη και ενθάρρυνση που έδειχνε στο πρόσωπό μου σε όλη τη διάρκεια της διεξαγωγής της έρευνας.

Κλείνοντας, ευχαριστίες θα ήθελα να εκφράσω στους υπεύθυνους των Ε.Ε.Λ από τις οποίες έγιναν οι δειγματοληψίες ιλύος και χάρις αυτών πραγματοποιήθηκε και η παρούσα έρευνα.

Αθήνα, Σεπτέμβρης 2009

Περίληψη

Είναι γεγονός, ότι ο αυξανόμενος πληθυσμός οδηγεί στην αύξηση των αστικών λυμάτων σε μια κοινωνία. Τον τελευταίο καιρό όλο και περισσότερα αστικά λύματα υφίστανται επεξεργασία με κύριο στόχο την μείωση των ρυπαντικών ουσιών αλλά και των ξενοβιοτικών ενώσεων που απελευθερώνονται στο υδάτινο περιβάλλον. Η διαδικασία αυτή οδηγεί αναμφισβήτητα σε αύξηση της παραγωγής λυματολάσπης ή βιολογικής ιλύος.

Η γεωργική αξιοποίηση της ιλύος από τα επεξεργασμένα αστικά λύματα μπορεί να έχει πολλές ευεργετικές πτυχές και γενικά είναι σύμφωνη με τη βιώσιμη ανάπτυξη. Η εφαρμογή της ιλύος στη γεωργία συμβάλλει στην αύξηση της γεωργικής παραγωγής, στη διατήρηση της βιοποικιλότητας του εδάφους και τη μείωση χρήσης των χημικών λιπασμάτων. Ωστόσο ένα από τα μειονεκτήματα της γεωργικής χρήσης της ιλύος είναι η εισροή ρύπων και παθογόνων στο έδαφος με αποτέλεσμα τον κίνδυνο μόλυνσης των υδροφορέων και των καλλιεργειών όπου εφαρμόζεται η ιλύς.

Σκοπός της έρευνας αυτής είναι η μελέτη των περιβαλλοντικών εκείνων κινδύνων που προκύπτουν κατά την εδαφική εφαρμογή της βιολογικής ιλύος, εστιάζοντας ως προς τους χημικούς παράγοντες στο οργανικό φορτίο και στο pH και ως προς τους βιολογικούς παράγοντες στην παρουσία διαφόρων κατηγοριών μικροοργανισμών και ειδικότερα των μικροοργανισμών περιττωματικών δεικτών (*E.coli*, *Enterococcus* spp., *Clostridium perfringens*). Πιο ειδικά μελετήθηκε η παρουσία δύο σημαντικών παθογόνων του ανθρώπου (*Salmonella* spp., *Listeria* spp.) αλλά και η διασπορά της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά των στελεχών του γένους *Enterococcus* που ανιχνεύονται στη ιλύ. Στο πλαίσιο της παρούσας εργασίας συλλέχθηκαν 24 δείγματα αφυδατωμένης ιλύος από Εγκαταστάσεις Επεξεργασίας Λυμάτων της Ελλάδας. Πραγματοποιήθηκε ανάλυση των χημικών και μικροβιολογικών παραμέτρων των δειγμάτων ιλύος. Επιπλέον, απομονώθηκαν 246 στελέχη του γένους *Enterococcus* και διερευνήθηκε η ευαισθησία τους σε 12 αντιμικροβιακούς παράγοντες.

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν οδήγησαν στη διατύπωση προτάσεων σχετικά με την δυνατότητα γεωργικής αξιοποίησης της ιλύος, θέμα που απασχολεί έντονα και τη χώρα μας.

Abstract

It is common knowledge that the population growth leads to an increase of urban wastewater in modern societies. Lately, increasing volumes of wastewater are being processed following the primary goal of the reduction of pollutant substances and other xenobiotic compounds released into the aquatic environment. This process undoubtedly leads to increased production of sewage sludge.

The agricultural use of sludge from treated municipal wastewater has considerable beneficial potential and is generally consistent with sustainable development. The application of sewage sludge in agriculture contributes to increasing agricultural production, conserving soil biodiversity and reducing the use of chemical fertilizers. However, one of the drawbacks of the agricultural use of sludge is the influx of pollutants and pathogens to the soil, resulting to direct risk of aquifers and crops infection.

The purpose of this research was the study of those environmental hazards resulting from the territorial application of sewage sludge, focusing on chemical agents, on the organic load, on pH and on biological factors as the presence of different types of micro-organisms and particular micro-organisms of faecal indicators (*Escherichia coli*, *Enterococcus* spp., *Clostridium perfringens*). More specifically, the presence of two important human pathogens (*Salmonella* spp., *Listeria* spp.) was studied and also, the susceptibility of *Enterococcus* strains isolated from the sludge. In the present study, 24 samples of dewatered sludge were collected from Sewage Treatment Plants in Greece. Chemical and microbiological parameters of the sludge samples were examined. Furthermore, 246 *Enterococcus* spp. strains were isolated and investigated for their susceptibility against a broad range of antibiotics.

The results of this study facilitate the formulation of proposals on the potential agricultural use of sludge, a matter of great concern for Greece.

Κεφάλαιο 1^ο : Εισαγωγή

Η υπερκατανάλωση αγαθών και υπηρεσιών και ταυτόχρονα η ραγδαία αύξηση του παγκόσμιου πληθυσμού συνιστούν το σύγχρονο βιομηχανικό τρόπος ζωής. Την εικόνα αυτή την παρατηρούμε καθημερινά είτε στη χώρα που ζούμε με τον μεγάλο αριθμό των οικονομικών μεταναστών και την αύξηση των αγοραπωλησιών που πραγματοποιούμε, είτε σε εικόνες που φτάνουν στα μάτια μας από όλο τον κόσμο. Ένα κύριο μειονέκτημα του υπερπληθυσμού όμως, το οποίο αποτελεί το ξεκίνημα της παρούσας εργασίας, είναι η αύξηση των παραγόμενων αστικών λυμάτων και αποβλήτων.

Οι επιπτώσεις των λυμάτων και ιδιαίτερα αυτών που δεν έχουν υποστεί επεξεργασία χρήζουν ιδιαίτερης μελέτης και προσοχής λόγω των περιβαλλοντικών κινδύνων που αναμφισβήτητα υφίστανται. Η ανεξέλεγκτη διάθεσή τους είναι μόνιμη απειλή για το περιβάλλον, τους υδατικούς πόρους, το έδαφος και τη δημόσια υγεία.

Σύμφωνα με τα παραπάνω, καθίσταται αναγκαία η επεξεργασία των υγρών αποβλήτων. Είναι γεγονός, ότι τον τελευταίο καιρό όλο και περισσότερο τα αστικά λύματα επεξεργάζονται με κύριο στόχο την μείωση του οργανικού φορτίου και πληθώρας ρυπαντών στο υδάτινο περιβάλλον. Η διαδικασία αυτή οδηγεί σε αύξηση της παραγωγή λυματολάσπης ή βιολογικής ιλύος. Οι εκάστοτε πιθανοί κίνδυνοι από τη διάθεση της παραγόμενης ιλύος, προσδιορίζουν το είδος της επεξεργασίας, τις απαιτούμενες τεχνολογίες επεξεργασίας και το αντίστοιχο κόστος.

Η γεωργική χρήση της ιλύος από τα επεξεργασμένα αστικά λύματα έχει χωρίς αμφιβολία πολλές ευεργετικές πτυχές και γενικά είναι σύμφωνη με την βιώσιμη ανάπτυξη. Η εφαρμογή της ιλύος στη γεωργία συμβάλλει στην αύξηση της γεωργικής παραγωγής, στη διατήρηση της βιοποικιλότητας του εδάφους και τη μείωση χρήσης των χημικών λιπασμάτων. Ωστόσο ένα από τα μειονεκτήματα της γεωργικής χρήσης της ιλύος μπορεί να είναι η εισροή ρύπων και παθογόνων στο έδαφος με αποτέλεσμα τη μόλυνση των υδροφορέων και των καλλιεργειών όπου εφαρμόζεται η ιλύς.

Για να αποφευχθούν οι δυσμενείς περιβαλλοντικές συνέπειες η διάθεση της ιλύος πρέπει, επομένως, να ρυθμίζεται και να ελέγχεται. Η ιλύς είναι ένα πολύ σύνθετο προϊόν και η επεξεργασία της επιβάλλεται για λόγους προστασίας της δημόσιας υγείας, αποφυγής

περιβαλλοντικών επιπτώσεων και πρόληψης ζημιών στις γεωργικές καλλιέργειες κατ' επέκταση.

Σκοπός της παρούσας έρευνας ήταν η μελέτη των περιβαλλοντικών εκείνων κινδύνων που προκύπτουν κατά την εδαφική εφαρμογή της βιολογικής ιλύος, εστιάζοντας στη διασπορά της ανθεκτικότητας στους αντιμικροβιακούς παράγοντες των στελεχών του γένους *Enterococcus* που ανιχνεύονται στην ιλύ. Η ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά είναι ένα μείζον θέμα συζήτησης το οποίο αποκτά ιδιαίτερη σημασία για την παγκόσμια υγεία και χρήζει περαιτέρω επιστημονικής έρευνας.

Αναλυτικότερα, η έρευνα εστίασε στην καταγραφή των φυσικών, χημικών και μικροβιολογικών χαρακτηριστικών αφυδατωμένης ιλύος μίας δειγματοληψίας από 24 Ε.Ε.Λ του Ελλαδικού χώρου. Επιπρόσθετα, πραγματοποιήθηκε έλεγχος της ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά των στελεχών του γένους *Enterococcus* που απομονώθηκαν από τα δείγματα ιλύος. Οι μετρήσεις έγιναν στο Εργαστήριο Βιολογίας, Βιοχημείας, Φυσιολογίας του Ανθρώπου και των Μικροοργανισμών του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου Αθηνών.

Στο πρώτο μέρος της εργασίας πραγματοποιείται η βιβλιογραφική ανασκόπηση του προβλήματος των υγρών αστικών αποβλήτων. Εκ πρώτοις, επιχειρείται η μελέτη των μεθόδων επεξεργασίας των υγρών αποβλήτων καθώς και ο τρόπος λειτουργίας και τα στάδια επεξεργασίας ενός βιολογικού καθαρισμού. Στη συνέχεια, ακολουθεί η παρουσίαση των μεθόδων ολοκληρωμένης διαχείρισης της ιλύος και οι μέθοδοι επεξεργασίας της. Κατόπιν, αναλύονται τα είδη και τα χαρακτηριστικά της ιλύος και επισημαίνονται οι περιβαλλοντικοί κίνδυνοι από την εδαφική εφαρμογή της. Επιπλέον, μελετάται το πρόβλημα της διασποράς των αντιβιοτικών στο περιβάλλον εξαιτίας της ανθεκτικότητας που εμφανίζουν οι παθογόνοι μικροοργανισμοί. Στο δεύτερο μέρος της εργασίας, περιγράφονται τα υλικά και οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό των φυσικών, χημικών και μικροβιολογικών παραμέτρων που εξετάστηκαν καθώς και οι πειραματικές διαδικασίες που πραγματοποιήθηκαν. Κλείνοντας, η εργασία αυτή ολοκληρώνεται με την παρουσίαση και την ερμηνεία των αποτελεσμάτων και τη διατύπωση των συμπερασμάτων της παρούσας έρευνας.

Κεφάλαιο 2^ο : Βιβλιογραφική ανασκόπηση

2.1 Το πρόβλημα των υγρών αποβλήτων

Ο σύγχρονος βιομηχανικός τρόπος ζωής έχει οδηγήσει στην αύξηση των παραγόμενων λυμάτων και αποβλήτων με σοβαρές επιπτώσεις στο γεωπεριβάλλον. Ο όρος γεωπεριβάλλον αναφέρεται στο έδαφος και το νερό, η προστασία των οποίων περιλαμβάνει τα εξής:

- Έλεγχο κάθε μορφής ρύπανσης και μόλυνσης
- Προστασία της πανίδας, της χλωρίδας και των υδροτόπων
- Προστασία του ανθρωπογενούς περιβάλλοντος (πολιτιστικά μνημεία, αρχαιολογικοί χώροι).

Οι επιπτώσεις των αποβλήτων και των λυμάτων, ιδιαίτερα αυτών που δεν έχουν υποστεί επεξεργασία είναι σημαντικές στο περιβάλλον. Η ανεξέλεγκτη διάθεση των αποβλήτων είναι μόνιμη απειλή για το περιβάλλον, τους υδατικούς πόρους, το έδαφος και τη δημόσια υγεία. Επειδή τα λύματα είναι πλούσια σε οργανικά θρεπτικά συστατικά, όταν αποβάλλονται στους υδάτινους αποδέκτες (θάλασσα, λίμνες, ποτάμια) δημιουργούν μεγάλες απαιτήσεις σε οξυγόνο, προκειμένου να διασπαστούν αερόβια από βακτήρια και μύκητες. Οι υδάτινοι αποδέκτες των υγρών αποβλήτων μπορεί να είναι επιφανειακοί (θάλασσα, έλη, λίμνες, ποταμοχείμαρροι) ή υπόγειοι ¹.

Σύμφωνα με τα παραπάνω, καθίσταται αναγκαία η επεξεργασία των υγρών αποβλήτων. Η επαναχρησιμοποίηση υγρών αποβλήτων, ιδιαίτερα για άρδευση καλλιεργειών, εφαρμόζεται στην πράξη επί αιώνες και φαίνεται ότι έχει τις ρίζες της στους αρχαίους Ελληνικούς πολιτισμούς (Angelakis and Spyridakis, 1996 ; Angelakis et al., 2005). Πιο συγκεκριμένα, η προεπεξεργασία των λυμάτων επιβάλλεται για λόγους προστασίας της δημόσιας υγείας, αποφυγής περιβαλλοντικών επιπτώσεων και πρόληψης ζημιών στις καλλιέργειες (Asano, 1985).

Γενικότερα, για κάθε ωφέλιμη χρήση επεξεργασμένων υγρών αποβλήτων απαιτείται συγκεκριμένη ποιότητα νερού, ώστε να ελαχιστοποιηθούν οι πιθανοί κίνδυνοι για τη δημόσια υγεία και οι επιπτώσεις στο περιβάλλον. Οι εκάστοτε πιθανοί κίνδυνοι προσδιορίζουν το είδος της επεξεργασίας, τις απαιτούμενες τεχνολογίες επεξεργασίας και το αντίστοιχο κόστος. Επομένως, κάθε τύπος επαναχρησιμοποίησης απαιτεί ιδιαίτερα

¹Πηγή: www.geo.auth.gr

κριτήρια (Aertgeerts and Angelakis, 2003). Η κατάσταση διαφοροποιείται στην περίπτωση της επαναχρησιμοποίησης για άρδευση. Ο προβληματισμός εντοπίζεται στα κριτήρια ποιότητας που πρέπει να εφαρμόζονται, ιδίως όσον αφορά τους παθογόνους οργανισμούς. (Asano and Levine, 1996). Από τη μια πλευρά, οι βιομηχανικές χώρες προβάλλουν αυστηρές προδιαγραφές για την ποιότητα του νερού (συγκρίσιμες με αυτές του πόσιμου νερού), ενώ οι αναπτυσσόμενες που αντιμετωπίζουν σοβαρή έλλειψη νερού και έλλειψη πόρων, υπερασπίζονται τις ισχύουσες, λιγότερο αυστηρές, οδηγίες του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (WHO) (WHO, 1989).

2.2 Μέθοδοι επεξεργασίας των υγρών αστικών αποβλήτων

Ο αντικειμενικός σκοπός της επεξεργασίας των αστικών υγρών αποβλήτων είναι η ασφαλής διάθεση τους χωρίς κίνδυνο για την υγεία των ανθρώπων ή την πρόκληση ρύπανσης στο φυσικό περιβάλλον. Η επεξεργασία των αστικών λυμάτων, στο πλαίσιο της Οδηγίας 91/271/ΕΟΚ, η οποία συμπληρώθηκε από την Οδηγία 98/15/ΕΚ, βασικά αποσκοπεί στην αδρανοποίηση των επιβλαβών χαρακτηριστικών έτσι ώστε να αντιμετωπισθούν πιθανές αρνητικές συνέπειες, όταν διατεθούν στο περιβάλλον.

Η επεξεργασία αυτή επιτυγχάνεται με έναν συνδυασμό φυσικών, χημικών και βιολογικών διεργασιών που απομακρύνει τα ανόργανα και οργανικά στερεά, διασπά την απομένουσα οργανική ουσία σε απλά ανόργανα (θρεπτικά) άλατα και τέλος τους παθογόνους μικροοργανισμούς. Υπάρχουν δύο κατηγορίες επεξεργασίας υγρών αποβλήτων, οι οποίες είναι:

1. Συμβατικές μονάδες βιολογικού καθαρισμού (ενεργού ιλύος, βιολογικών φίλτρων κα)
2. Φυσικά συστήματα καθαρισμού (δεξαμενές σταθεροποίησης, τεχνητοί υγρότοποι, λεκάνες καθίζησης κα.)

Η κύρια διαφορά των παραπάνω είναι ότι στις συμβατικές μονάδες η επεξεργασία των υγρών αποβλήτων γίνεται σε ειδικές διατάξεις (αντιδραστήρες). Μάλιστα προσθήκη ενέργειας στους αντιδραστήρες επιτυγχάνει την μεγαλύτερη δράση μικροοργανισμών για την αποδόμηση του οργανικού φορτίου σε απλές ανόργανες ενώσεις. Συνήθως η επεξεργασία αυτή διαρκεί λίγες ώρες και η μείωση των παθογόνων γίνεται με χλωρίωση ή U.V. ακτινοβολία, ενώ οι αντίστοιχες εγκαταστάσεις καταλαμβάνουν μικρή σχετικά έκταση. Αντιθέτως, στα φυσικά συστήματα η επεξεργασία διαρκεί αρκετές ημέρες (>30

ημέρες) και γίνεται με την βοήθεια της ηλιακής ακτινοβολίας και την δράση μικροοργανισμών οι οποίοι διασπούν τις πολύπλοκες οργανικές ενώσεις των υγρών αποβλήτων σε απλά ανόργανα άλατα (EPA, 1983; Mara and Pearson ,1987).

Η επικρατούσα τεχνολογία επεξεργασίας αστικών υγρών αποβλήτων είναι αυτή της ενεργού ιλύος, βιολογικών φίλτρων κ.λπ. και εφαρμόζεται στις Συμβατικές Μονάδες Βιολογικού Καθαρισμού. Ο σχεδιασμός εγκαταστάσεων βιολογικού καθαρισμού είναι μια συνθετική εργασία που απαιτεί το συνδυασμό βιολογικών, τεχνολογικών και οικονομικών παραγόντων. Μια συνήθης εγκατάσταση επεξεργασίας αστικών λυμάτων αποτελείται από το μηχανικό καθαρισμό, το βιολογικό καθαρισμό και τον χημικό καθαρισμό. Οι πιο συνηθισμένες διαδικασίες καθαρισμού που χρησιμοποιούνται είναι:

- Εσχάρωση : για τα χοντρά υλικά
- Εξάμμωση : για τα βαριά υλικά (άμμος, χαλίκια)
- Απολίμανση : για τα επιπλέοντα υλικά (λίπη, λάδια)
- Καθίζηση : για την απομάκρυνση μέρους των αιωρούμενων λεπτών, στερεών. Συνήθως διακρίνεται σε απλή (Α/βαθμια), μετά από βιολογική επεξεργασία (Β/βαθμια) και με χημική υποστήριξη (κροκίδωση).
- Χημική κροκίδωση : για τα κολλοειδή υλικά (οργανικά και ανόργανα)
- Βιολογική επεξεργασία : για τα πολύ λεπτά ή διαλυμένα οργανικά υλικά.
- Χημική επεξεργασία : για τα διαλυμένα ανόργανα συστατικά (οξέα, άλατα)
- Απολύμανση : για τους παθογόνους παράγοντες.

Τα βιολογικά φίλτρα ή βιόφιλτρα είναι συστήματα όπου η βιομάζα συγκρατείται σε σταθερό υπόστρωμα, σχηματίζοντας ένα λεπτό φιλμ, που έρχεται σε επαφή με το απόβλητο. Καθώς το φιλμ, το οποίο αποτελείται κυρίως από βακτήρια, πρωτόζωα και μύκητες, αναπτύσσεται, αποκολλάται από το μέσο και αντικαθίσταται από νέα καλλιέργεια ενεργών μικροοργανισμών. Διακρίνονται τα ακόλουθα συστήματα:

1. Πάχυνση και διήθηση
2. Περιστρεφόμενα βιολογικά φίλτρα επαφής (RBC)
3. Αντιδραστήρες ρευστοστερεού στρώματος (κλίνης) (Σταμέλος, 2000).

Δυστυχώς, το σημαντικότερο πρόβλημα που συνήθως παρουσιάζουν οι Συμβατικές Μονάδες Βιολογικού Καθαρισμού είναι η λειτουργία τους. Αυτό σημαίνει ότι ένα

σημαντικό ποσοστό των μονάδων επεξεργασίας, κυρίως σε μικρές πόλεις και χωριά, αδυνατούν να λειτουργήσουν ικανοποιητικά. Οι λόγοι είναι συνήθως το υψηλό κόστος λειτουργίας και συντήρησης, το οποίο οι τοπικοί φορείς αδυνατούν να καλύψουν. Οι παραπάνω λόγοι έχουν οδηγήσει την επιστημονική κοινότητα που ασχολείται με θέματα επεξεργασίας αποβλήτων, να στραφεί σε μεθόδους που απαιτούν χαμηλό κόστος συντήρησης και λειτουργίας, ιδιαίτερα για πόλεις και κοινότητες μικρού μεγέθους. Η εναλλακτική τεχνολογία αφορά τα Φυσικά Συστήματα επεξεργασίας υγρών αποβλήτων όπως οι δεξαμενές σταθεροποίησης (stabilization ponds), οι τεχνητοί υγρότοποι και οι λεκάνες καθίζησης.

Ένα ολοκληρωμένο σύστημα δεξαμενών σταθεροποίησης, συνήθως αποτελείται από μία αναερόβια δεξαμενή, μία επαμφοτερίζουσα και δύο δεξαμενές αερόβιες/ωρίμανσης, όλες σε σειρά (Παπαδόπουλος κ.ά., 1998). Τα βασικά πλεονεκτήματα των δεξαμενών σταθεροποίησης είναι:

- η υψηλής ποιότητας εκροές
- η ελάχιστη παραγωγή λάσπης (κάθε 5 χρόνια η εκκένωση της δεξαμενής),
- η απουσία οσμών
- η απλότητα σχεδιασμού
- οι μικρές απαιτήσεις σε εξειδικευμένο προσωπικό
- η εξοικονόμηση χημικών ουσιών και ηλεκτρικής ενέργειας
- το χαμηλό κόστος συντήρησης και εργασιών
- αξιοπιστία για μεγάλα χρονικά διαστήματα
- φιλικότητα προς το περιβάλλον.

Εν αντιθέσει, το κυριότερο μειονέκτημα των συστημάτων αυτών, είναι η σχετικά μεγάλη έκταση που απαιτούν για την ικανοποιητική επεξεργασία των υγρών αποβλήτων (Αγγελάκης κ.ά, 1999).

Οι τεχνητοί υγρότοποι αποτελούν μια καινοτόμο μέθοδο με ιδιαίτερο ενδιαφέρον, τόσο ως μετά-επεξεργασία ιλύων από εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων όσο και στραγγισμάτων ΧΥΤΑ, ιδιαίτερα για τις θερμές μεσογειακές συνθήκες (ήπιοι χειμώνες, έλλειψη συνθηκών παγετού). Η μέθοδος αυτή στηρίζεται στην δυνατότητα διαφόρων

φυτών - κυρίως καλαμιών - να επεξεργάζονται απόβλητα. Βρίσκεται σε αρχικό στάδιο εφαρμογής.

Στις λεκάνες καθίζησης, ή λίμνες, ή τέλματα, ή δεξαμενές ο αερισμός διασπά τον μικροβιακό πληθυσμό και κατόπιν μεταβολίζει τα ρυπογόνα συστατικά που αναπτύσσονται σε αερόβιες συνθήκες. Στα συστήματα αυτά υπολογίζεται ότι ένας χρόνος παραμονής των αποβλήτων 10 έως 20 ημερών οδηγεί στην απομάκρυνση του 90% του αρχικού COD και αμμωνιακού αζώτου².

2.3 Αρχές λειτουργίας μονάδων επεξεργασίας υγρών αστικών λυμάτων

Σύμφωνα με πρόσφατα στοιχεία, σε ποσοστό 92% των εγκαταστάσεων επεξεργασίας λυμάτων, (Ε.Ε.Λ.) λειτουργούν σχάρες³, από τις οποίες το 67% βρίσκονται σε κλειστό χώρο. Εξαμμοτές⁴ έχει δηλωθεί ότι διαθέτει το 84% των εγκαταστάσεων. Ο τύπος των εξαμμοτών που χρησιμοποιείται συχνότερα είναι ο «αεριζόμενος» (78% των Ε.Ε.Λ.), και σπανιότερα ο εξαμμοτής «βαρύτητας» (15% των Ε.Ε.Λ.). Στις υπόλοιπες εγκαταστάσεις χρησιμοποιούνται άλλου τύπου εξαμμοτές.

Επίσης, στο 38% των εγκαταστάσεων λειτουργεί πρωτοβάθμια καθίζηση, στο 90% δευτεροβάθμια επεξεργασία και στο 51% τριτοβάθμια επεξεργασία. Η δευτεροβάθμια επεξεργασία γίνεται στο 93% των εγκαταστάσεων επεξεργασίας λυμάτων με ενεργό ιλύ, στο 4% με αεριζόμενες λίμνες, ενώ σε λίγες περιπτώσεις γίνεται με βιολογικά φίλτρα και βιοδίσκους. Απολύμανση των αποβλήτων στη δευτεροβάθμια επεξεργασία γίνεται στο 87% των εγκαταστάσεων και γίνεται κατά κύριο λόγο με υπερχλωριώδες νάτριο (84%). Πάχυνση ιλύος (συμπύκνωση) γίνεται στο 92% των βιολογικών καθαρισμών. Στο 59% εφαρμόζεται παχυντής βαρύτητας και στο υπόλοιπο 41% μηχανικός παχυντής. Επιπλέον, στο 44% των εγκαταστάσεων εφαρμόζεται αερόβια χώνευση ιλύος και στο 13% αναερόβια χώνευση ιλύος. Αφυδάτωση ιλύος εφαρμόζεται στο 86% των Ε.Ε.Λ. κυρίως με ταινιοφιλτράρες (71%). Όσον αφορά την τριτοβάθμια επεξεργασία, πραγματοποιείται στο 52% των εγκαταστάσεων με αφαίρεση αζώτου, στο 35% με αφαίρεση φωσφόρου και στο 14% με αφαίρεση στερεών.

² <http://natura.minenv.gr/>

³ Σειρά από μεταλλικές ράβδους στις οποίες συγκρατούνται τα ογκώδη στερεά

⁴ Ειδικά σχεδιασμένες δεξαμενές στις οποίες δημιουργούνται κατάλληλες συνθήκες ροής που προκαλούν την καθίζηση της άμμου σε αυτές) (Ντούλας, 2007)

Εν τέλει, η τελική διάθεση ιλύος στην Ελλάδα γίνεται κατά κύριο λόγο σε ΧΥΤΑ (90%), και δευτερευόντως αποθηκεύονται στις εγκαταστάσεις (15%) ή διατίθενται για γεωργική χρήση (5%) (ΕΛ.ΙΝ.Υ.Α.Ε.,2004).

2.4 Γενική περιγραφή μονάδων και επεξεργασίας καθαρισμού υγρών αποβλήτων

Οι εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων συνήθως αποτελούνται στην Ελλάδα από δύο γραμμές επεξεργασίας, την γραμμή επεξεργασίας λυμάτων και τη γραμμή επεξεργασίας ιλύος. Η κάθε μία αποτελείται από επιμέρους μονάδες που είναι οι παρακάτω:

1. Γραμμή επεξεργασίας λυμάτων

- Φρεάτιο εισόδου και διάταξης υπερχείλισης
- Μονάδα υποδοχής και προεπεξεργασίας βοθρολυμάτων
- Αγωγός παράκαμψης λυμάτων
- Αντλιοστάσιο εισόδου λυμάτων
- Εσχάρωση
- Εξάμμωση – απολίπανση
- Μεριστής παροχής
- Δεξαμενές πρωτοβάθμιας καθίζησης
- Δεξαμενές βιολογικής αποφωσφόρισης απονιτροποίησης και αερισμού
- Δεξαμενές δευτεροβάθμιας καθίζησης
- Αντλιοστάσιο ανακυκλοφορίας ιλύος και περίσσειας ιλύος
- Μονάδα απολύμανσης με χλωρίωση και αποχλωρίωση
- Μονάδα μεταερισμού

2. Γραμμή επεξεργασίας ιλύος

- Πάχυνση ιλύος με την αντίστοιχη μονάδα πολυηλεκτρολύτη και παρελκόμενα αντλιοστάσια ιλύος
- Αφυδάτωση ιλύος
- Αντλιοστάσιο ανακυκλοφορίας στραγγιδίων από την πάχυνση και την αφυδάτωση
- Κτίριο αφυδάτωσης και χώρος αφυδατωμένης ιλύος
- Κλίνες ξηράνσεως

3. Διοικητικό κτίριο

Στο διοικητικό κτίριο υπάρχουν :

- Κεντρική αίθουσα ελέγχου όπου με την χρήση του συστήματος αυτοματισμού λαμβάνονται, καταγράφονται και επεξεργάζονται συνεχείς πληροφορίες για τις παροχές, το pH, τη συγκέντρωση οξυγόνου και διάφορες άλλες λειτουργικές παραμέτρους των μονάδων επεξεργασίας.
- Χημικό εργαστήριο εξοπλισμένο με σύγχρονα αναλυτικά όργανα όπως pHμέτρα, συσκευή ελέγχου κροκιδώσεως, συσκευή αποστάξεως νερού, φασματοφωτόμετρο, φορητά pHμέτρα, φορητά οξυγονόμετρα, υδατόλουτρα, ψυγείο δειγμάτων, αυτόματο αναλυτή N και P, κλπ.
- Αίθουσα εκπαίδευσεως και διαλέξεων με βιβλιοθήκη και τον απαραίτητο εξοπλισμό.
- Γραφείο υπευθύνου και προσωπικού.
- Βοηθητικοί χώροι (αποθήκες, χώρους υγιεινής – αποδυτήρια, τραπεζαρία – κουζίνα κ.α).

4. Άλλα κτίρια

- Κτίριο φυσητήρων
- Κτίριο μετασχηματιστή ισχύος
- Ηλεκτρομηχανουργείο και αποθήκες

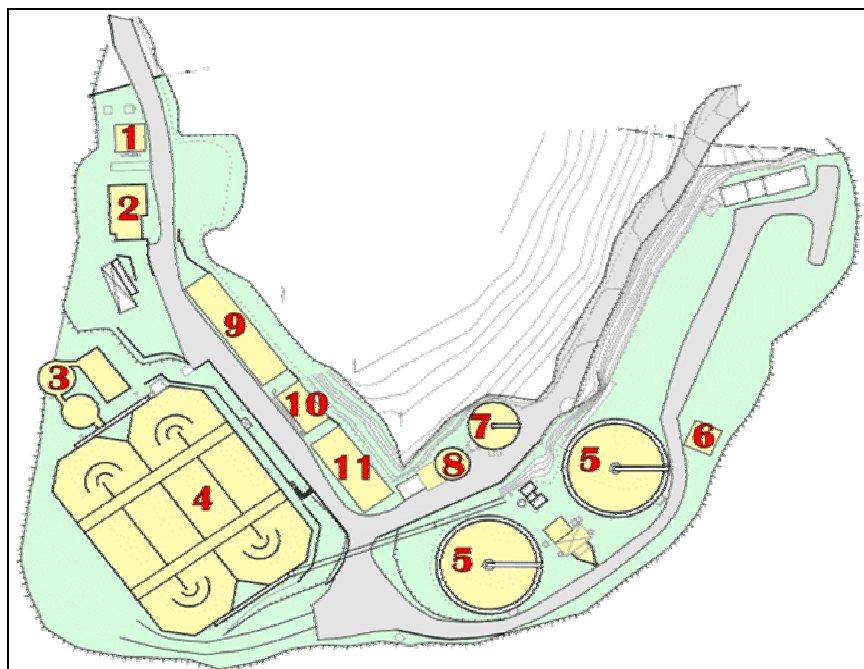
5. Άλλοι χώροι

Χώροι σταθμεύσεως, χώροι πρασίνου, καθώς και άλλοι χώροι για περαιτέρω επέκταση της μονάδος, εάν αυτό κριθεί απαραίτητο (Νικολαΐδης, 2008).

Αναλύοντας την υποδομή του βιολογικού καθαρισμού της Καβάλας (Σχήμα 2.1), παρατηρούνται τα εξής βασικά τμήματα της εγκατάστασης:

1. Είσοδος λυμάτων - Εσχάρωση
2. Αμμοσυλλέκτης - Λιποσυλλέκτης
3. Επιλογέας μικροοργανισμών
4. Δεξαμενές αερισμού
5. Δεξαμενές καθίζησης
6. Δεξαμενή αναρύθμισης - φόρτιση υποθαλάσσιου αγωγού
7. Παχυντής βαρύτητας
8. Δεξαμενή ομογενοποίησης λάσπης

9. Αφυδάτωση λάσπης
10. Υποσταθμός - Ηλεκτροπαραγωγό ζεύγος
11. Κτίριο διοίκησης – Εργαστήριο



Σχήμα 2.1. Εγκαταστάσεις βιολογικού καθαρισμού Καβάλας

Πηγή: <http://deyakav.gr>

2.4.1 Στάδια επεξεργασίας βιολογικού καθαρισμού

Για την επεξεργασία των αστικών λυμάτων, διακρίνονται τρία κύρια στάδια ανάλογα με το βαθμό επιβάρυνσής τους και τις απαιτήσεις των αποδεκτών που δέχονται τα επεξεργασμένα λύματα. Βέβαια, προηγούνται προκαταρκτικές εργασίες επεξεργασίας των λυμάτων προτού εισαχθούν στο πρώτο στάδιο επεξεργασίας. Συνοπτικά, τα βασικά στάδια επεξεργασίας των λυμάτων έχουν ως εξής:

1. Έργα εισόδου και προεπεξεργασία

Τα έργα εισόδου περιλαμβάνουν δεξαμενές, αντλιοστάσια τροφοδοσίας, μετρητικά συστήματα κλπ. Ο στόχος τους είναι κυρίως η εξισορρόπηση της παροχής των λυμάτων στα επόμενα στάδια επεξεργασίας. Τον ίδιο σκοπό επιτελούν και τα έργα προεπεξεργασίας των λυμάτων, που αναφέρονται στην απομάκρυνση του ρυπαντικού φορτίου. Τα έργα αυτά επιτυγχάνονται με σχάρες, όπου συγκρατούνται τα ογκώδη αντικείμενα και με αμμοσυλλέκτες, δεξαμενές δηλαδή που ευνοούν την καθίζηση και απομάκρυνση άμμου και άλλων ανόργανων συστατικών.

2. Πρωτοβάθμια επεξεργασία (μηχανικός καθαρισμός)

Το στάδιο αυτό αναφέρεται στη μηχανική κατεργασία των λυμάτων. Σκοπός της μηχανικής κατεργασίας είναι η μείωση των αιωρούμενων στερεών κατά 60% περίπου και του οργανικού φορτίου μέχρι ποσοστού 35% αυτού. Πραγματοποιείται σε δεξαμενές καθίζησης ορθογώνιου ή κυκλικού σχήματος, στις οποίες συλλέγονται τα αιωρούμενα σωματίδια των λυμάτων και απομακρύνεται σημαντικό μέρος του οργανικού φορτίου.

3. Δευτεροβάθμια επεξεργασία (βιολογικός καθαρισμός)

Το στάδιο αυτό αναφέρεται στην βιολογική επεξεργασία των λυμάτων και πραγματοποιείται σε δεξαμενές με δύο κατηγορίες μεθόδων: α) την ενεργός ιλύ ανάλογα εάν οι μικροοργανισμοί βρίσκονται σε κατάσταση αιώρησης μέσα στη μάζα των λυμάτων με τη διοχέτευση αέρα και β) τα βιολογικά φίλτρα ή χαλικοδιυλίστηρια ή βιολογικοί δίσκοι, αν είναι προσκολλημένοι σε ειδικές κατασκευές.

Σύμφωνα με τη μέθοδο της ενεργού ιλύος, τα προεξεργασμένα λύματα εισάγονται σε δεξαμενές. Στις δεξαμενές αυτές παρέχονται οι κατάλληλες συνθήκες στους μικροοργανισμούς, δηλαδή υπόστρωμα (οργανικά συστατικά των αποβλήτων) και οξυγόνο, για να αναπτυχθούν και να πολλαπλασιαστούν. Οι μικροοργανισμοί καταναλώνουν τα οργανικά συστατικά των λυμάτων και πολλαπλασιάζονται, ενώ συγχρόνως «καθαρίζουν» τα αστικά απόβλητα. Το οξυγόνο παρέχεται στους μικροοργανισμούς τεχνητά, με διατάξεις που καλούνται αεριστήρες, οπότε και οι δεξαμενές καλούνται δεξαμενές αερισμού. Το μίγμα των μικροοργανισμών και της τροφής αποτελούν την καλούμενη «ενεργό ιλύ» και η μέθοδος καλείται μέθοδος ενεργού ιλύος. Η ιλύς απομακρύνεται από τη μάζα των αποβλήτων, με το να αφεθούν τα απόβλητα να περάσουν σε δεξαμενές δευτεροβάθμιας καθίζησης (όμοιες με τις δεξαμενές πρωτοβάθμιας καθίζησης), όπου η ιλύς καθιζάνει και συλλέγεται στον πυθμένα των δεξαμενών αυτών. Η ιλύς αυτή αποτελεί τη λεγόμενη δευτεροβάθμια λάσπη, ενώ τα καθαρισμένα πλέον απόβλητα υπερχειλίζουν από την περιφέρεια των δεξαμενών. Μετά τη δευτεροβάθμια επεξεργασία, τα καθαρισμένα απόβλητα μπορούν να διατεθούν ακίνδυνα στον υδάτινο αποδέκτη, εφόσον ο αποδέκτης δεν είναι ιδιαίτερα ευαίσθητος. Τα καθαρισμένα απόβλητα υφίστανται μόνο τη διεργασία της απολύμανσης, συνήθως με

χλωρίωση, για την εξόντωση των παθογόνων μικροοργανισμών σε επιμήκεις δεξαμενές και διοχετεύονται στον αποδέκτη (Κουλουμπής κ.ά., 2007).

Η πρωτοβάθμια και η δευτεροβάθμια λάσπη από τις δεξαμενές καθίζησης υφίσταται:

- Συμπύκνωση, δηλαδή αύξηση του ποσοστού των στερεών που περιέχει
- Σταθεροποίηση, δηλαδή μείωση των παθογόνων μικροοργανισμών, των οσμών και της δυνατότητας της λάσπης ώστε να γίνει ασηπτική
- Αφυδάτωση-Ξήρανση

Η σταθεροποίηση της ιλύος γίνεται είτε αερόβια, με τον αερισμό της λάσπης σε δεξαμενές όμοιες με τις δεξαμενές αερισμού, είτε αναερόβια. Μια παραλλαγή της μεθόδου ενεργού ιλύος είναι ο παρατεταμένος αερισμός, ο οποίος εφαρμόζεται ευρύτατα στην Ελλάδα. Με τη μέθοδο αυτή, η αερόβια σταθεροποίηση της λάσπης γίνεται στις ίδιες τις δεξαμενές αερισμού, χωρίς να απαιτούνται χωριστές δεξαμενές αερόβιας σταθεροποίησης.

Η αναερόβια σταθεροποίηση γίνεται σε μεγάλες κλειστές δεξαμενές - χωνευτές – χωρίς οξυγόνο (αναερόβιες συνθήκες). Πραγματοποιείται με τη βοήθεια μικροοργανισμών που καταστρέφουν τα δύσσομα χαρακτηριστικά της λάσπης μετατρέποντάς τα σε ένα μίγμα διοξειδίου του άνθρακα και μεθανίου, το γνωστό βιοαέριο.

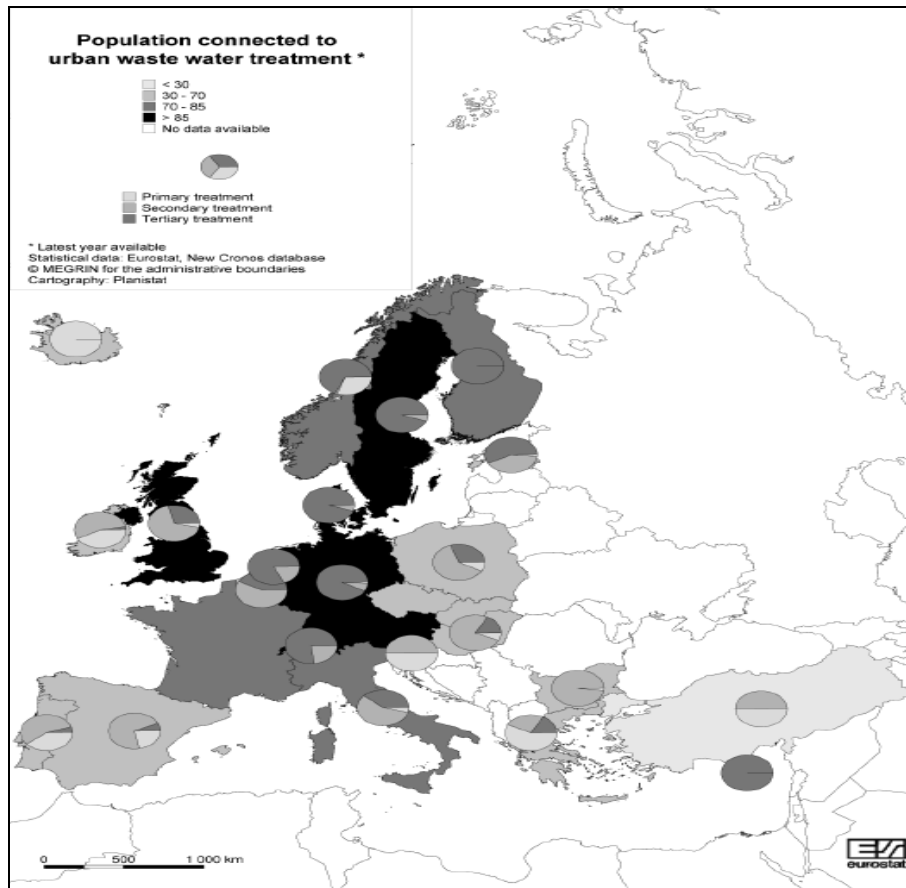
Η αφυδάτωση της λάσπης αποσκοπεί στην απομάκρυνση μεγάλου μέρους του νερού που περιέχει και γίνεται με μηχανήματα, τις ταινιοφιλτρόπρεσες ή με εξάτμιση απλώνοντας τη λάσπη σε ειδικές κλίνες, τις κλίνες ξήρανσης. Μετά την αφυδάτωση – ξήρανση της λάσπης, που δεν είναι πάντα απαραίτητη, η λάσπη διατίθεται σε χωματερή ή για λίπασμα (Ντούλας κ.ά, 2007).

Με το συνδυασμό πρωτοβάθμιας και δευτεροβάθμιας επεξεργασίας των λυμάτων προκαλείται συνήθως ελάττωση του ρυπαντικού φορτίου των λυμάτων μέχρι ποσοστού 80% - 90% .

4. Τριτοβάθμια επεξεργασία (χημικός καθαρισμός)

Στις περιπτώσεις που το υγρό κλάσμα που παραλαμβάνεται κατόπιν της δευτεροβάθμιας επεξεργασίας προορίζεται για επαναχρησιμοποίηση ή υπάρχει ιδιαίτερο πρόβλημα

ρύπανσης των υδροφορέων (ευτροφισμός⁵), μπορεί να ακολουθεί και ένα τριτοβάθμιο στάδιο επεξεργασίας. Σκοπός της τριτοβάθμιας επεξεργασίας είναι η απομάκρυνση ορισμένων ρύπων, η οποία δεν επιτυγχάνεται με τα προηγούμενα στάδια επεξεργασίας. Η επεξεργασία αυτή είναι πολυδάπανη και περιλαμβάνει πολλά περαιτέρω στάδια, όπως απολύμανση και ραφινάρισμα, απομάκρυνση θρεπτικών κλπ. (Κουλουμπής κ.ά., 2007). Γενικά, μια ευρωπαϊκή εικόνα για την επεξεργασία των λυμάτων δίνει το σχήμα 2.2 που ακολουθεί (Wieland, 2003).



Σχήμα 2.2. Κατανομή πληθυσμού και επεξεργασία λυμάτων στην Ευρώπη

Πηγή: Eurostat

⁵ Ευτροφισμός: Περιβαλλοντικό πρόβλημα που παρουσιάζεται σε λίμνες ή κλειστούς αβαθείς κόλπους κάτω από ορισμένες συνθήκες. Στην ουσία δημιουργείται υπέρμετρη αύξηση της συγκέντρωσης θρεπτικών στοιχείων, εξαιτίας του εμπλουτισμού των υδάτων με απορροές θρεπτικών στοιχείων (νιτρικά και φωσφορικά ιόντα από λιπάσματα και απορρυπαντικά). Τα ψάρια είναι οι πρώτοι οργανισμοί που πεθαίνουν ενώ ακολουθούν και τα βακτήρια δημιουργώντας ένα νεκρό οικοσύστημα. Αποτέλεσμα του ευτροφισμού είναι η πτώση της ποιότητας του νερού, η μεταβολή της χλωρίδας και πανίδας των νερών, η μείωση της αισθητικής αξίας του περιβάλλοντος καθώς και οι περιορισμένες δυνατότητες για αναψυχή(<http://el.wikipedia.org>)

Κεφάλαιο 3^ο : Μέθοδοι ολοκληρωμένης διαχείρισης ιλύος

«Μια εγκατάσταση επεξεργασίας λυμάτων, η οποία δεν διαθέτει αποτελεσματική επεξεργασία και διάθεση της ιλύος, θεωρείται άχρηστη»
Dr. Imholf

3.1 Μέθοδοι ολοκληρωμένης διαχείρισης ιλύος

3.1.1 Γενικά

Από αρχαιοτάτων χρόνων, γενιές αγροτών χρησιμοποιούσαν οργανικά απόβλητα από τα νοικοκυριά και την κτηνοτροφία ως λίπασμα για τα χωράφια τους. Στις σημερινές κοινωνίες, όλο και περισσότερα υγρά απόβλητα επεξεργάζονται με κύριο στόχο τη μείωση του ευτροφισμού και των ξενοβιοτικών ουσιών (xenobiotics) στο υδάτινο περιβάλλον. Η διαχείριση της παραχθείσας ιλύος από την επεξεργασία των υγρών αποβλήτων, έχει αναμφίβολα πολλά οφέλη (Jensen and Jepsen, 2005).

Η σύγχρονη Ευρωπαϊκή Θεματική Στρατηγική για τη διαχείριση όλων των αποβλήτων, και της ιλύος συμπεριλαμβανομένης, προβλέπει κυρίως μία οριζόντια, ολιστική αντιμετώπιση του προβλήματος. Η Στρατηγική στηρίζεται: α) στην αποφυγή της δημιουργίας αποβλήτων και β) στην πραγματοποίησης της ανακύκλωσης των αποβλήτων. Στόχος της πολιτικής των αποβλήτων της Ευρωπαϊκής Ένωσης έχει τεθεί η ιεραρχία τριών απαραίτητων δράσεων (3-step waste hierarchy), δηλαδή η μετάβαση σε μία κοινωνία της πρόληψης (prevention), της ανάκτησης (recovery) και της διάθεσης (disposal), και παράλληλα η απομάκρυνση από την υγειονομική ταφή. Σε γενικές γραμμές, τα απόβλητα στην Ευρωπαϊκή Ένωση πρέπει να περιορισθούν ποσοτικά με την εφαρμογή κατάλληλων μεθόδων, ενώ όσες ποσότητες προκύπτουν θα υφίστανται διαδικασίες ανακύκλωσης και αξιοποίησης (Κουλουμπής κ.ά., 2007).

3.1.1.1 Διαδικασίες σταθεροποίησης της ιλύος

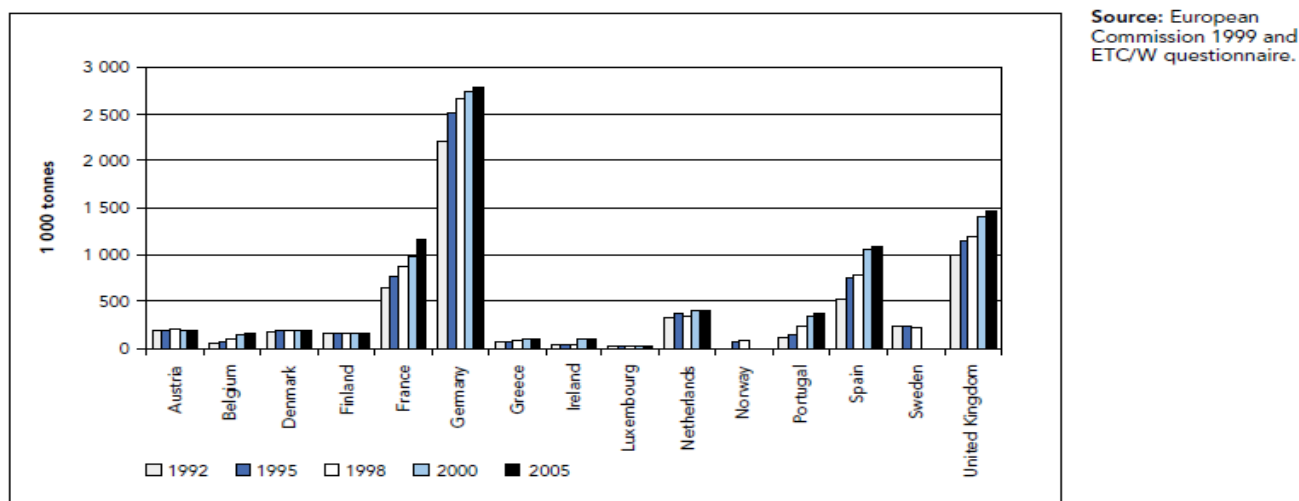
Όπως συμβαίνει γενικά με τα στερεά απόβλητα, η επεξεργασία της ιλύος μετά την παραγωγή της είναι απαραίτητη για την περαιτέρω χρήση της. Μάλιστα, βάσει του άρθρου 10, § 1 της ΚΥΑ 50910/2727/ 2003, κάθε μορφής ανεξέλεγκτη απόρριψη της ιλύος όπως οι χωματερές, απαγορεύεται αυστηρά, για λόγους προστασίας του περιβάλλοντος. Σε αυτό το πλαίσιο, με τη σταθεροποίηση της ιλύος αποσκοπείται, αφ' ενός ο περιορισμός της

μικροβιακής δράσης στη μάζα της ιλύος, αφ' ετέρου η ελάττωση της βιομάζας, έτσι ώστε να επιτυγχάνονται τα εξής αποτελέσματα:

- Ελάττωση του όγκου της ιλύος και της ενέργειάς της, μέσω της μείωσης της τιμής των απωλειών καύσης.
- Ελάττωση της παραγωγής αερίων και αποκατάσταση του επιθυμητού βαθμού καθαρότητας της ιλύος.
- Περιορισμός των δυσάρεστων οσμών.
- Βελτίωση της ικανότητας αφύγρανσης της ιλύος (Κουλουμπής κ.ά., 2007)

Ο πίνακας 3.1 δείχνει την παραγωγή ιλύος συνολικά και ανά κεφαλή σε χώρες-μέλη της ΕΕ κατά τη χρονική διάρκεια 1992-98 και περιλαμβάνει προβλέψεις για τα έτη 2000 και 2005.

Πίνακας 3.1. Συνολική παραγωγή ιλύος και προβλέψεις από το 2000 έως το 2005



Παρατηρείται ότι οι ποσότητες της ιλύος αυξάνονται σε όλες σχεδόν τις χώρες στη δεκαετία του '90 ως αποτέλεσμα της εφαρμογής της Οδηγίας για την επεξεργασία των υγρών αστικών αποβλήτων (91/271/EC). Σύμφωνα με την Οδηγία έγινε ευρέως γνωστή η δευτεροβάθμια επεξεργασία των υγρών αποβλήτων. Η αύξηση αυτή αναμένεται να συνεχιστεί τα επόμενα έτη (Jens et al., 2002).

3.1.1.2 Διάθεση της ιλύος

Μετά από την σε μεγαλύτερο ή μικρότερο βαθμό σταθεροποίηση της ιλύος, ακολουθεί η τελική της διάθεση. Η επιλογή του τρόπου διάθεσης των παραπροϊόντων επεξεργασίας είναι μία διαδικασία κατά την οποία θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη μεταξύ άλλων:

- Η διαθεσιμότητα των αποδεκτών (έδαφος, βιομηχανία κτλ.)
- Το ενδιαφέρον των χρηστών του τελικού προϊόντος
- Οι απαιτούμενες δαπάνες για την επεξεργασία και διάθεση της ιλύος

Ενδεικτικά παρουσιάζονται στον πίνακα 3.2, οι δαπάνες επεξεργασίας και διάθεσης της ιλύος. Παρατηρείται ότι οι τιμές έχουν μεγάλο εύρος διακύμανσης, γεγονός το οποίο είναι αποτέλεσμα των τοπικών συνθηκών (Κάρτσωνας, 2005).

Πίνακας 3.2. Κόστος επεξεργασίας και διάθεσης ιλύος [€/t DS]

Κομποστοποίηση	125 ÷ 300
Ξήρανση	150 ÷ 400
Καύση	225 ÷ 400
Επαναχρησιμοποίηση στο έδαφος	75 ÷ 200
Διάθεση σε ΧΥΤΑ	100 ÷ 300

Πηγή:European Environmental Agency, (1998)

Λαμβάνοντας υπόψη και τα παραπάνω, για την διαχείριση των παραπροϊόντων από τις εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι θα πρέπει πρώτιστα να αποφεύγεται η ανεξέλεγκτη διάθεσή τους σε χωματερές. Έπειτα, να λαμβάνονται όλα τα ενδεικνύμενα μέτρα για τον περιορισμό της ποσότητας των παραπροϊόντων επεξεργασίας, καθώς και να εξετάζονται μέθοδοι και τρόποι επαναχρησιμοποίησης των παραπροϊόντων. Τελικά, η διάθεση της ιλύος σε ΧΥΤΑ θα πρέπει να εξετάζεται μόνο σαν προσωρινή λύση. Τα κριτήρια με βάση τα οποία επιλέγεται ο τόπος διάθεσης της ιλύος συνοψίζονται παρακάτω:

- 1) **Περιβαλλοντικά** . Θα πρέπει να εξετάζονται όλες οι επιπτώσεις (θετικές και αρνητικές) για κάθε εξεταζόμενο εναλλακτικό τρόπο διάθεσης.
- 2) **Οικονομικά**. Για κάθε εξεταζόμενο εναλλακτικό τρόπο διαχείρισης των παραπροϊόντων επεξεργασίας πρέπει να προσδιορίζεται το κόστος επένδυσης, οι ετήσιες δαπάνες για την λειτουργία και συντήρηση, καθώς επίσης και τα τυχόν έσοδα από την επαναχρησιμοποίηση των παραπροϊόντων επεξεργασίας.

- 3) **Κοινωνικά.** Για τις προκρινθείσες εναλλακτικές λύσεις θα πρέπει να γίνεται ενημέρωση του κοινού και των φορέων, να παρουσιάζονται οι επιπτώσεις και τα μέτρα που λαμβάνονται, τα δικαιώματα και οι υποχρεώσεις των εμπλεκόμενων φορέων, ώστε να εξασφαλιστεί η κοινωνική αποδοχή (Ντούλας κ.ά., 2007).

Κατά τη διάρκεια των τελευταίων δεκαετιών πραγματοποιήθηκε μια σημαντική αλλαγή στους διαθέσιμους τρόπους διάθεσης της ιλύος. Πριν το 1998, η αστική ιλύ πρωταρχικά ριχνόταν στη θάλασσα (Odegaard et al., 2002). Σε πόλεις μάλιστα που γειτόνευαν με ανοικτές θάλασσες (ωκεανούς), η πιο συνηθισμένη μέθοδος τελικής διάθεσης της λάσπης ήταν η απευθείας άντληση και απόρριψή της σε όσο το δυνατό μεγαλύτερη απόσταση από την ακτή (Κάρτσωνας, 2005). Άλλη, εναλλακτική λύση ήταν η χρήση της ιλύος ως λίπασμα στη γεωργία ή η αποτέφρωσή της ή απλώς η απόθεση στο έδαφος. Σύμφωνα όμως με την Οδηγία 91/271/EC για την επεξεργασία των λυμάτων, μετά την 31η Δεκεμβρίου 1998 απαγορεύεται η διάθεση της ιλύος στα επιφανειακά νερά, εξαιτίας των περιβαλλοντικών προβλημάτων που δημιουργούσε στους υδάτινους αποδέκτες (Κάρτσωνας, 2005). Επιπλέον, η ευρωπαϊκή οδηγία φρενάρει την διάθεση της ιλύος στο έδαφος, αν και το 35-45% της ιλύος στην Ευρώπη εναποτίθεται ακόμα στο έδαφος. (Odegaard et al. 2002). Οι κυριότεροι τρόποι διάθεσης της ιλύος, παραμένουν ουσιαστικά οι ίδιοι τα τελευταία πενήντα χρόνια και είναι οι παρακάτω:

- Η γεωργική αξιοποίηση της ιλύος είναι η κύρια μέθοδος διάθεσης της ιλύος. Το 37% της παραγόμενης λάσπης στην Ευρώπη χρησιμοποιείται στην γεωργία
- Η καύση ή αποτέφρωση, είναι επίσης μία από τις αρκετά συνηθισμένες μεθόδους (τελικής) διάθεσης της λάσπης, που παράγει όμως σαν «παραπροϊόν» τέφρα, η οποία ενδεχομένως να είναι τοξική, επομένως θα πρέπει να διατεθεί σε κατάλληλη ειδική χωματερή και να μην απορριφθεί ανεξέλεγκτα στο περιβάλλον. Το 11% της παραχθείσας ιλύος στην Ευρώπη αποτεφρώνεται
- Η υγειονομική ταφή (XYTA), το 40% της ιλύος αποτίθεται στο έδαφος
- Άλλοι τρόποι διάθεσης, ενώ το 12% αξιοποιείται με άλλες μεθόδους όπως η χρήση στη δασοκομία, η αποκατάσταση των εδαφών, διάθεση σε τσιμεντοβιομηχανία (Odegaard et al., 2002; Κάρτσωνας, 2005).

Οι τελευταίες τάσεις στο πεδίο της διαχείρισης της ιλύος είναι η καύση (combustion), η υγρή οξείδωση (wet oxidation), η πυρόλυση (pyrolysis), η αεριοποίηση (gasification) και καύση μαζί με άλλα απόβλητα (co-combustion) (Odegaard et al., 2002). Είναι σημαντικό,

οι εναλλακτικοί τρόποι διάθεσης των παραπροϊόντων επεξεργασίας να εξετάζονται σε συνδυασμό με την απαιτούμενη κατά περίπτωση επεξεργασία των προϊόντων αυτών και στην αξιολόγηση θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη οι επιπτώσεις από την επεξεργασία, την μεταφορά και την διάθεση της ιλύος (Κάρτσωνας, 2005).

Στον πίνακα 3.3 παρουσιάζονται οι μέθοδοι διάθεσης της ιλύος (% της μέσης ετήσιας παραγωγής) από εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων σε ευρωπαϊκές χώρες την τελευταία 10ετία⁶.

Πίνακας 3.3. Διάθεση της ιλύος (% της μέσης ετήσιας παραγωγής) σε ευρωπαϊκές χώρες την τελευταία 10ετία

Χώρα	Έτος	Επιφανειακά Νερά	Χρησιμοποίηση	Χ.Υ.Τ.Α.	Καύση	Άλλη
Ελλάδα	1992		1,50	98,50		
	1995		1,50	98,50		
	2000		6,30	93,70		
Αυστρία	1992		33,70	31,00	35,30	
	1995		33,70	31,00	35,30	
	2000		34,70	29,60	33,70	2,00
Βέλγιο	1992		28,80	57,60		13,60
	1995		28,20	50,00		21,80
	2000		30,50	32,80	8,50	28,20
Γαλλία	1992		62,50	20,40	17,10	
	1995		64,00	14,90	21,10	
	2000		65,30	7,20	27,50	
Γερμανία	1992		46,10	38,30	12,40	3,20
	1995		45,80	34,10	16,40	3,70
	2000		48,80	22,20	26,70	2,30
Δανία	1992		62,90	14,30	22,80	
	1995		64,90	13,50	21,60	
	2000		62,50	12,50	25,00	
Ην. Βασίλειο	1992	28,30	47,30	13,00	9,00	2,40
	1995	23,10	56,00	9,80	9,50	1,60
	2000		69,80	7,60	22,20	1,30
Ιρλανδία	1992	37,90	10,80	43,20		8,10
	1995	37,50	17,50	35,00		10,00
	2000		65,00	35,00		
Ισπανία	1992	7,20	52,10	34,10	6,60	
	1995	7,20	51,90	34,20	6,70	
	2000	5,30	54,10	33,70	6,90	
Λουξεμβούργο	1992		55,60	44,40		
	1995		70,00	30,00		
	2000		69,20	7,70	23,10	
Ολλανδία	1992		41,40	54,60	3,70	0,30
	1995		26,00	52,40	15,30	6,30
	2000		27,40	17,00	49,90	5,70
Πορτογαλία	1992		30,20	59,50		10,30
	1995		29,20	59,90		10,20
	2000		29,90	60,10		10,00
Φινλανδία	1992		58,00	42,00		
	1995		54,50	45,50		
	2000		60,00	40,00		
ΣΥΝΟΛΟ	1992	6,10	47,70	32,70	11,40	2,10
	1995	5,20	48,60	29,60	13,90	2,70
	2000	0,70	53,00	22,10	21,90	2,30

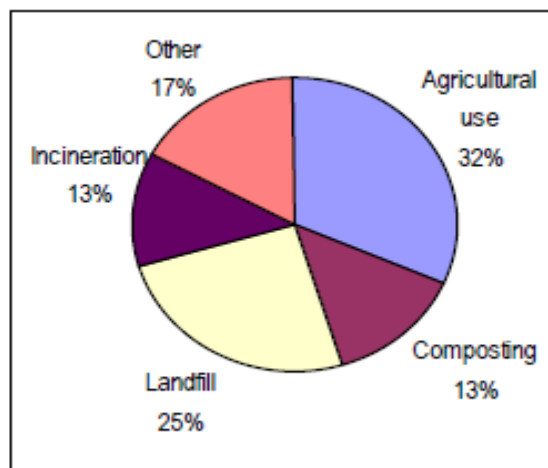
Πηγή: Κάρτσωνας, (2005)

⁶ Επιτροπή Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων: Εκθέσεις της Επιτροπής σχετικά με την εφαρμογή της Οδηγίας 91/271/ΕΕ

Όπως φαίνεται από τα στοιχεία του Πίνακα 3.3:

- Το ποσοστό της ιλύος που επαναχρησιμοποιείται στη γεωργία ή για αναδασώσεις συνεχώς αυξάνεται
- Περιορίζεται το ποσοστό της που καταλήγει σε ΧΥΤΑ
- Τα τελευταία χρόνια, ιδιαίτερα στις βόρειες χώρες της Κοινότητας, οι ποσότητες ιλύος, που οδηγούνται σε μονάδες καύσης της ιλύος διαρκώς αυξάνονται (European Commission, 2001; Κάρτσωνας κ.α, 2005).

Αναλυτικότερα, ο τρόπος διάθεσης της ιλύος ποικίλλει ανάμεσα στα Κράτη-μέλη της Ευρωπαϊκής Ένωσης και στις υποψήφιες για ένταξη χώρες (Σχήμα 3.1 και 3.2). Για τις υποψήφιες χώρες επικρατεί η απόθεση της ιλύος στο έδαφος (39%), ακολουθεί η γεωργική αξιοποίηση (38%) και η κομποστοποίηση(6%). Στα Κράτη-μέλη, κυρίως γίνεται γεωργική χρήση της ιλύος(32%), έπειτα η απόθεση στο έδαφος(25%), η κομποστοποίηση (13%)και η αποτέφρωση της ιλύος(13%) (Wieland, 2003).

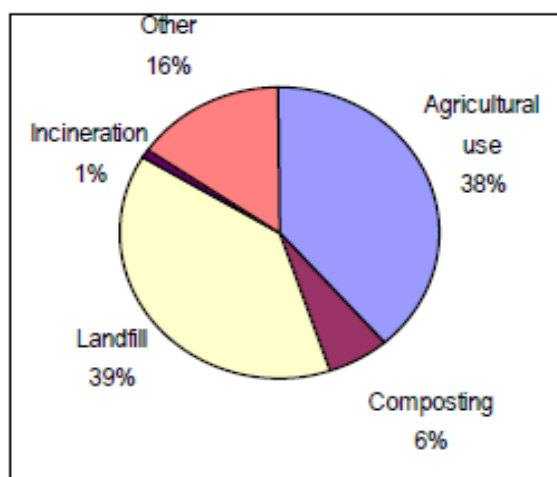


Σχήμα 3.1. Διάθεση ιλύος στα χώρες-μέλη της ΕΕ ⁷ για το έτος 2002

Πηγή: Wieland, (2003)

⁷ Member States: Belgium, Denmark, Germany, Greece, Spain, France, Ireland, Italy, Luxembourg, the Netherlands, Austria, Portugal, Finland, Sweden and the United Kingdom.

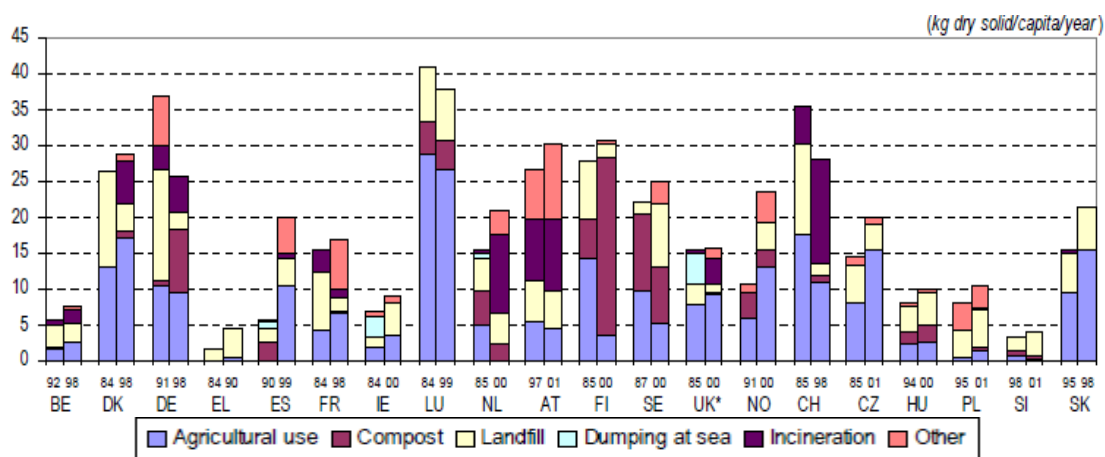
Candidate Countries: Bulgaria, Cyprus, the Czech Republic, Estonia, Hungary, Malta, Poland, Romania, the Slovak Republic, Slovenia, Latvia, Lithuania and Turkey.



Σχήμα 3.2. Διάθεση ιλύος στις υποψήφιες χώρες ⁸ για το έτος 2002

Πηγή: Wieland, (2003)

Μολονότι σε ευρωπαϊκό επίπεδο η επαναχρησιμοποίηση της ιλύος (γεωργική χρήση, κομποστοποίηση) υπολογίζεται ότι αγγίζει το 40-45% της συνολικής παραχθείσας ιλύος, η απόθεση της ιλύος στο έδαφος όπως και η αποτέφρωση σε κάποιες χώρες παραμένουν οι πιο ευρέως χρησιμοποιούμενες μεθόδους διάθεσης της ιλύος, παρά τα μειονεκτήματα αυτών των μεθόδων. Για τις περισσότερες χώρες, όπου υπάρχουν διαθέσιμα δεδομένα, η ποσότητα της ιλύος που παράγεται ανά κεφαλή έχει αυξηθεί τα τελευταία 10 χρόνια. Μόνο στη Γερμανία, το Λουξεμβούργο και την Ελβετία η παραχθείσα ιλύς έχει μειωθεί (Σχήμα 3.3) (Wieland, 2003).



Σχήμα 3.3. Ποσότητα παραχθείσας ιλύος ανά κεφαλή⁹

Πηγή: Wieland, (2003)

⁸ Υποψήφιες χώρες μόνο: CZ, HU, PL, SI and SK.

⁹ UK refers only to England and Wales

Η παραγωγή ιλύος στην Ελλάδα ανά κάτοικο ανέρχεται σε ποσότητα 19,8 g ξηρής ιλύος [Ξ.Υ.] ημερησίως¹⁰. Στο πίνακα 3.4 εκτίθενται οι ποσότητες ιλύος σε ξηρά ύλη, οι οποίες παράγονται ετησίως από τα ΚΕΛ στην Ελλάδα, σύμφωνα με τα επίσημα στοιχεία (Κουλουμπής κ.ά., 2007).

Πίνακας 3.4. Ποσότητες ιλύος [Ξ.Υ.], οι οποίες παράγονται ετησίως από τα Κ.Ε.Λ. στην Ελλάδα

Έτος	Παραγόμενη ιλύς από τις ελληνικές Ε.Ε.Α.Λ. συνολικώς (τόνοι ξηράς ουσίας)
1995	51.624
1997	58.993
1998	59.320
1999	60.135
2000	66.335
2001	58.362
2002	69.178
2003	79.757

Πηγή: Κουλουμπής και Τσαντήλας, (2007)

Στην Ελλάδα, η γεωργική αξιοποίηση της ιλύος υπολογίζεται στο 10% μόνο της συνολικής παραγόμενης ιλύος. Η πολιτική διαχείρισης της ιλύος βασίζεται κυρίως στην διάθεση μέσω υγειονομικής ταφής. Υπολογίζεται ότι περισσότερο από το 90% της επεξεργασμένης ιλύος καταλήγει στις χωματερές. Καθώς η ατμοσφαιρική ρύπανση είναι ήδη ένα σοβαρό πρόβλημα στην Ελλάδα, οι αρμόδιες αρχές δεν λαμβάνουν την αποτέφρωση της ιλύος ως μια καλή εναλλακτική λύση διάθεσης. Η χρήση στο έδαφος είναι μία ακόμα βιώσιμη εναλλακτική επιλογή την οποία επεξεργάζονται ώστε να την αναπτύξουν. Στην ελληνική όμως πραγματικότητα, μόνο μικρές ποσότητες της ιλύος (περίπου 10%) χρησιμοποιούνται στη γεωργία. Αυτό το γεγονός εξηγεί το λόγο που δεν γίνεται δημόσια συζήτηση για το θέμα αυτό και γιατί οι περισσότεροι αρμόδιοι δεν έχουν αναπτύξει μια επίσημη θέση για την ανάκτηση της ιλύος. Επίσης, η ιλύς δεν χρησιμοποιείται για την αποκατάσταση του εδάφους στην Ελλάδα (REI, 1999).

¹⁰ Συνήθως, η παραγόμενη ιλύς από μία συμβατική εγκατάσταση επεξεργασίας λυμάτων ανέρχεται σε 20 τόνους περίπου ΞΥ ετησίως ανά 1000 εξυπηρετούμενα άτομα ισοδύναμου πληθυσμού (Κουλουμπής κ.ά., 2007)

3.1.2 Γεωργική αξιοποίηση

...Θα πρέπει να γίνει κατανοητό ότι, για λόγους εξοικονόμησης φυσικών πόρων και προστασίας του περιβάλλοντος η ιλύς των αστικών λυμάτων, όπως κάθε υλικό, οργανικό ή ανόργανο, πρέπει να αξιοποιείται και όχι να απορρίπτεται...
(Κουλουμπής κ.ά., 2007)

Η γεωργική χρησιμοποίηση της ιλύος, αποτελεί την ευχερέστερη, οικονομικότερη και περισσότερο πρακτική μορφή περιβαλλοντικής διαχείρισης αυτής ως υλικού. Η ιλύς είναι πλούσια σε θρεπτικά συστατικά αλλά και οργανική ύλη. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα, οι σημαντικές ποσότητες θρεπτικών συστατικών (N, P) που περιέχει, να μπορούν να ανακυκλωθούν, μέσω της γεωργικής χρήσης της, με αποτέλεσμα η ιλύς να μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως υποκατάστατο των χημικών λιπασμάτων (Metcalf et al., 1991). Η γεωργική αξιοποίηση της ιλύος συνιστά το σημαντικότερο τρόπο διαχείρισης της ιλύος τόσο στην Ε.Ε. (μέσος όρος: 37,1 %), όσο και διεθνώς. Στη χώρα μας, βάσει τη διεθνούς βιβλιογραφίας, μόνο 10% της συνολικής παραγωγής της ιλύος αξιοποιείται στη γεωργία (Κουλουμπής κ.ά., 2007).

Για την αξιοποίηση της ιλύος έχει διατυπωθεί το εξής: «Η ιλύς μπορεί να χρησιμοποιηθεί στο έδαφος οποτεδήποτε είναι εφικτό και μόνο σύμφωνα, με τους κανονισμούς της Κοινότητας ή την εθνική νομοθεσία» (Anonymous, 2000; 3rd draft, 2000). Σύμφωνα με την Επιτροπή της ΕΕ, η γεωργική χρησιμοποίηση της ιλύος θεωρείται ως «η πλέον οικολογική επιλογή, με τη προϋπόθεση ότι δεν εγκυμονεί κινδύνους για το περιβάλλον, καθώς και για την υγεία των ζώων και των ανθρώπων». Αναφορικά με την έκταση της χρησιμοποίησης της ιλύος στην ευρωπαϊκή γεωργία, σε επτά κράτη-μέλη της ΕΕ (Γαλλία, Ισπανία, Δανία, Ιρλανδία, Ηνωμένο Βασίλειο, Ουγγαρία και περιφέρεια Βαλονίας στο Βέλγιο) αξιοποιείται η παραγόμενη ιλύς από αστικά λύματα στο γεωργικό τομέα σε ποσοστό τουλάχιστον 50%. Τρία άλλα κράτη (Φινλανδία, Σουηδία, Σλοβενία) αξιοποιούν γεωργικά την ιλύ σε ποσοστό μικρότερο του 17%, ενώ η Τσεχία, η Σλοβακία και η περιοχή Φλάνδρας στο Βέλγιο διοχετεύουν ελάχιστη ή μηδενική ποσότητα ιλύος στα γεωργικά τους εδάφη (Κουλουμπής κ.ά., 2007). Ο πίνακας 3.5 που ακολουθεί δείχνει τα ποσοστά της ιλύος που αξιοποιήθηκαν στη γεωργία σε χώρες της ΕΕ από το 1995 έως και το 2000.

Πίνακας 3.5. Ποσότητες ιλύος αστικών λυμάτων που χρησιμοποιήθηκαν στη γεωργία σε διάφορες ευρωπαϊκές χώρες¹¹

Α/Α	Κράτος	Ποσοστά [%] ιλύος που χρησιμοποιήθηκαν στη γεωργία εκφραζόμενες αναλογικά επί των ποσοτήτων ιλύος που παρήχθησαν συνολικά					
		1995	1996	1997	1998	1999	2000
1	Αυστρία	12			11	10	10
2	Βέλγιο [Περ. Βαλονίας]	75	81	89	82	53	59
	Βέλγιο [Περ. Φλάνδρας]	13	27	33	25	7	0
3	Γερμανία	42	42	41	38	38	37
4	Δανία	67	64	62	62	61	
5	Ισπανία			46	49	53	53
6	Γαλλία	66		66	65	65	
7	Φινλανδία	33	38	39	14	14	12
8	Ιταλία				27	23	28
9	Ιρλανδία			11	14	23	40
10	Λουξεμβούργο						
11	Πορτογαλία	30	30	30	34	18	16
12	Σουηδία	29	39		25	25	16
13	Ηνωμένο Βασίλειο	49	51	54	48	50	55

Πηγή: Europa

Προκειμένου η γεωργική χρησιμοποίηση της ιλύος των αστικών λυμάτων να καταστεί πραγματοποιήσιμη και αποτελεσματική, ενδείκνυται να τηρούνται ορισμένες βασικές προϋποθέσεις. Σύμφωνα με το άρθρο 6 της Οδηγίας 86/278/ΕΟΚ, καθορίζεται ότι η ιλύς πρέπει να επεξεργάζεται πριν αυτή χρησιμοποιηθεί στη γεωργία (Κουλουμπής κ.ά., 2007). Η επεξεργασία της ιλύος έχει ως αποτέλεσμα να αποφεύγεται η υπερβολική λίπανση στο έδαφος αλλά ταυτόχρονα προλαμβάνονται δυσμενείς περιβαλλοντικές επιπτώσεις, όπως η συσσώρευση των ρύπων (Jensen and Jepsen, 2005). Είναι πολύ σημαντικό ότι, σε ευρωπαϊκό επίπεδο και σύμφωνα με τα ίδια δεδομένα, «δεν έχουν αναφερθεί περιπτώσεις μόλυνσης ανθρώπων, ζώων ή καλλιιεργειών, οφειλόμενες στη χρησιμοποίηση ιλύος σε γεωργικές γαίες». Σε αυτό το πλαίσιο, η εδαφική εφαρμογή της ιλύος εκ μέρους της ΕΕ ενθαρρύνεται, εφ' όσον υπάρχει επαρκής και συντονισμένη επιστημονική παρακολούθηση και οργανωμένη νομική κάλυψη.

¹¹ Εκφραζόμενες ως εκατοστιαία [%] αναλογία επί των ποσοτήτων ιλύος που παρήχθησαν συνολικά, σύμφωνα με στοιχεία της Επιτροπής των ΕΚ.

Η γεωργική χρησιμοποίηση της ιλύος εξαρτάται βασικά από τη ποιοτική κατάσταση στην οποία αυτή βρίσκεται. Σε διεθνή κλίμακα αναφέρονται περιπτώσεις όπου η ιλύς των κέντρων επεξεργασίας λυμάτων (ΚΕΛ) εμφανίζεται να είναι πιστοποιημένη ως άριστης ποιότητας. Αυτό σημαίνει πρακτικώς ότι παρουσιάζει: α) σταθερή περιεκτικότητα σε θρεπτικά συστατικά, β) πολύ μικρή επιβάρυνση σε επιβλαβείς ουσίες (Pb, Cd, Cr, Ni, Hg, οργανικές αλογονωμένες ενώσεις 80-90 % σταθερά κάτω από τις οριακές τιμές που έχουν τεθεί) και γ) χαρακτηρίζεται από αμελητέα περιεκτικότητα σε εντερικά παθογόνα όπως η σαλμονέλα, περιττωματικούς δείκτες όπως περιττωματικά κολίμορφα βακτήρια και εντερόκοκκους (Κουλουμπής κ.ά., 2007). Τόσο από την ελληνική νομοθεσία (ΚΥΑ 50910/2727/2003), όσο και από τα ισχύοντα μέτρα σε άλλες ευρωπαϊκές χώρες, επιβάλλεται οπωσδήποτε η πλήρης επεξεργασία σταθεροποίησης της ιλύος. Δηλαδή, συνεπεξεργασία της ιλύος με άλλα μη επικίνδυνα βιοαποδομήσιμα απόβλητα, πριν από την εδαφική χρησιμοποίησή της. Η ιλύς που αξιοποιείται στη γεωργία, ως μερικό υποκατάστατο λιπασμάτων ή ως εδαφοβελτιωτικό υλικό, πρέπει να διατίθεται και να εφαρμόζεται σε πλήρως σταθεροποιημένη μορφή, απαλλαγμένη από παθογόνους μικροοργανισμούς και άλλους παράγοντες (βαρέα μέταλλα, επιβλαβείς οργανικές ενώσεις κ.α). Όμως, να τονισθεί ότι η γεωργική χρησιμοποίηση της ιλύος των αστικών λυμάτων είναι ασύμβατη με την καλλιέργεια βιολογικών προϊόντων. Με το Κανονισμό (υπ' αριθ. 2092/91) «Περί του βιολογικού τρόπου παραγωγής γεωργικών προϊόντων και των σχετικών ενδείξεων στα γεωργικά προϊόντα και στα είδη διατροφής» η ιλύς δεν μνημονεύεται στα υλικά που μπορούν να χρησιμοποιούνται για τη βιολογική παραγωγή.

Αναφορικά με τα βαρέα μέταλλα σε εθνικό επίπεδο, έχουν θεσπισθεί (βάσει της ΚΥΑ 80568/4225/ 22.3.1991) ανώτατα όρια περιεκτικότητας ιλύος και εδαφών. Στο άμεσο μέλλον πρόκειται να τεθούν, στο πλαίσιο των Αποφάσεων της ΕΕ, νέα όρια περιεκτικότητας ιλύος και εδαφών σε βαρέα μέταλλα, τα οποία προβλέπεται να είναι σε σημαντικό βαθμό αυστηρότερα εκείνων που ισχύουν σήμερα. Επί πλέον, ανάλογα όρια θα επιβληθούν και για τη περιεκτικότητα της ιλύος σε επιβλαβείς οργανικές ενώσεις και παθογόνα, καθιστώντας τη γεωργική χρησιμοποίηση της ιλύος ακόμη δυσχερέστερη. Σε διεθνή κλίμακα εκφράζεται ανησυχία αναφορικά με την ενδεχόμενη συνέργεια των επιδράσεων όλων των επιβλαβών παραγόντων (βαρέων μετάλλων, επιβλαβών οργανικών ενώσεων, παθογόνων) και την μακροχρόνια επίπτωση αυτών στην ανθρώπινη υγεία (sludge syndrome). Ο πίνακας 3.6 αποτυπώνει τα πιθανά σενάρια για τις τιμές των ορίων

για τα βαρέα μέταλλα για δύο χρονικούς ορίζοντες το 2015 και το 2025, όπως διατυπώθηκαν στις Βρυξέλλες το 2000 (Anonymous, 2000).

Πίνακας 3.6. Πιθανά σενάρια τιμών ορίων βαρέων μετάλλων για την ιλύ για το 2015 και το 2025

Στοιχεία	Βραχυχρόνιο σενάριο (2015)		Μακροχρόνιο σενάριο (2025)	
	Τιμές ορίων για τις συγκεντρώσεις των βαρέων μετάλλων στην ιλύ για εδαφική χρήση (mg/kg dm)	Τιμές ορίων για την ποσότητα των βαρέων μετάλλων που μπορεί να προστεθεί ετησίως στο έδαφος, με βάση τον μ.ο. 10 χρόνων (g/ha/y)	Τιμές ορίων για τις συγκεντρώσεις των βαρέων μετάλλων στην ιλύ για εδαφική χρήση (mg/kg dm)	Τιμές ορίων για την ποσότητα των βαρέων μετάλλων που μπορεί να προστεθεί ετησίως στο έδαφος, με βάση τον μ.ο. 10 χρόνων (g/ha/y)
Cd	5	15	2	6
Cr	800	2400	600	1800
Cu	800	2400	600	1800
Hg	5	15	2	6
Ni	200	600	100	300
Pb	500	1500	200	600
Zn	2000	6000	1500	4500

Πηγή: Κουλουμπής κ.ά., (2007)

Για όλες τις διαδικασίες γεωργικής χρησιμοποίησης της ιλύος των αστικών λυμάτων στην Ελλάδα, ενδείκνυται να ακολουθείται τόσο το ισχύον νομικό πλαίσιο και οι γενικές κατευθύνσεις της πολιτικής διαχείρισης των στερεών αποβλήτων (Εθνικός Σχεδιασμός), όσο και το Εθνικό Πρόγραμμα Μείωσης της Ρύπανσης Υδάτινων Αποδεκτών. Ο ορθολογικός σχεδιασμός της γεωργικής χρησιμοποίησης της ιλύος σύμφωνα με τις αρχές της αειφορίας και τα συμφέροντα της ελληνικής γεωργίας, απαιτεί την ανάπτυξη εθνικής ολιστικής στρατηγικής. Υπό ελληνικές συνθήκες, η γεωργική χρησιμοποίηση της ιλύος δεν αναμένεται να δημιουργήσει προβλήματα στο περιβάλλον, όταν ακολουθούνται ασφαλείς κανόνες στην παραγωγή και τη χρήση της. Απαραίτητη προϋπόθεση για την επιτυχία της γεωργικής αξιοποίησης της ιλύος αποτελούν οι συστηματικοί έλεγχοι από τις υπεύθυνες υπηρεσίες μέσω αξιόπιστων εργαστηρίων για όλες τις απαραίτητες παραμέτρους (κυρίως βαρέα μέταλλα, επιβλαβείς οργανικές ενώσεις, παθογόνα), καθώς επίσης και η εισαγωγή συστημάτων πιστοποίησης της υπ' όψη διαδικασίας (Κουλουμπής κ.ά., 2007). Επίσης, εκτιμώντας ότι το 2040 στην Ελλάδα το ποσοστό κάλυψης των καλλιεργειών από τη χρήση ιλύος, θα είναι της τάξης τουλάχιστον του 24,5%, γίνονται

μελέτες ώστε να είναι εφικτή η περαιτέρω επεξεργασία της αφυδατωμένης ιλύος, προκειμένου το τελικό προϊόν να είναι κατά το δυνατόν απαλλαγμένο από παθογόνους και δυσάρεστες οσμές.

3.1.3 Υγειονομική ταφή

Με την προϋπόθεση του ορθού σχεδιασμού του ΧΥΤΑ, όπως η στεγανότητα, η ανακυκλοφορία στραγγιδίων, ο βέλτιστος χειρισμός βιοαερίου κ.ά., η διάθεση ιλύος σε ΧΥΤΑ δεν βλάπτει την λειτουργία του. Αντιθέτως, είναι πολύ πιθανό η διάθεση της ιλύος να διευκολύνει τη λειτουργία του, αφού επιταχύνει τις βιολογικές διεργασίες σταθεροποίησής της και παρέχει την απαραίτητη υγρασία. Βέβαια, υπάρχει περιορισμός της διάθεσης της ιλύος σε ΧΥΤΑ, εξαιτίας της εφαρμογής της Οδηγίας σχετικά με την Υγειονομική ταφή αποβλήτων (Οδηγία 1999/31/EC), η οποία άλλωστε έχει ενσωματωθεί και στο εθνικό δίκαιο (Κάρτσωνας, 2005). Σύμφωνα με την Οδηγία αυτή, προβλέπεται ότι τα βιοαποικοδομήσιμα αστικά απόβλητα που προορίζονται για διάθεση σε ΧΥΤΑ θα πρέπει να μειωθούν, όπως παρακάτω:

1. Μέχρι την 16^η Ιουλίου 2010 στο 75% της συνολικής ποσότητας αυτών που είχαν παραχθεί το 1995
2. Μέχρι την 16^η Ιουλίου 2013 στο 50% της συνολικής ποσότητας αυτών που είχαν παραχθεί το 1995
3. Μέχρι την 16^η Ιουλίου 2020 στο 35% της συνολικής ποσότητας αυτών που είχαν παραχθεί το 1995.

Επίσης, σύμφωνα με το άρθρο 7, της ΚΥΑ 29407/3508/2002 για την υγειονομική ταφή των αποβλήτων, όλα τα απόβλητα και οπωσδήποτε η ιλύς που γίνονται αποδεκτά στους ΧΥΤΑ πρέπει να έχουν υποστεί προηγουμένως επεξεργασία (Κουλουμπής κ.ά., 2007). Έτσι, η λύση της Υγειονομικής Ταφής μπορεί να επιλέγεται μόνο όταν δεν υπάρχει άλλος εναλλακτικός τρόπος διάθεσης. Στις χώρες-μέλη ισχύουν περιορισμοί σχετικά με την διάθεση ιλύος σε ΧΥΤΑ. Ενδεικτικά αναφέρεται ότι:

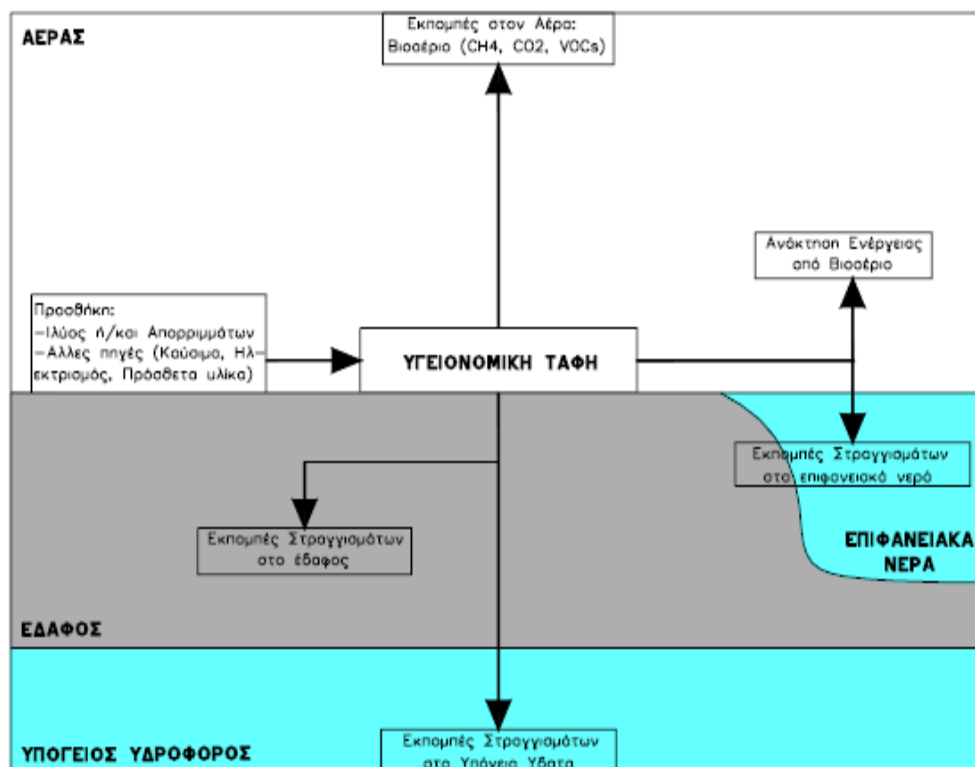
- ✓ Στη Γαλλία επιτρέπεται η διάθεση ιλύος σε ΧΥΤΑ, μόνο όταν η συγκέντρωση ιλύος είναι μεγαλύτερη από 30%
- ✓ Στην Ολλανδία επιτρέπεται η διάθεση ιλύος στους ΧΥΤΑ, μόνο εάν η περιεκτικότητα σε οργανική ύλη είναι μικρότερη του 10% της περιεκτικότητας σε ξηρά στερεά

- ✓ Στη Σουηδία δεν γίνεται αποδεκτή ιλύς σε ΧΥΤΑ μετά το 2005
- ✓ Στη Γερμανία επιτρέπεται η διάθεση ιλύος σε ΧΥΤΑ μόνο όταν ικανοποιούνται οριακές τιμές που αφορούν εδαφοτεχνικά χαρακτηριστικά της λάσπης, και εφόσον η οργανική ύλη είναι μικρότερη του 5%.

Στην Ελληνική Νομοθεσία δεν τίθενται περιορισμοί ως προς τα μηχανικά χαρακτηριστικά των αποβλήτων, που διατίθενται σε ΧΥΤΑ. Η διάθεση όμως αφυδατωμένης ιλύος σε ΧΥΤΑ, θέτει ερωτήματα σε ότι αφορά την εμφάνιση και χρονική εξέλιξη καθιζήσεων, την ευστάθεια των πρανών, καθώς και την λειτουργία των οχημάτων του ΧΥΤΑ (Κάρτσωνας, 2005). Υπάρχουν δύο τρόποι υγειονομικής ταφής της ιλύος:

- Η μονο-διάθεση (mono-deposit), όταν ο ΧΥΤΑ χρησιμοποιείται αποκλειστικά για την διάθεση ιλύος από την επεξεργασία λυμάτων και
- Η συν-διάθεση (mixed-deposit), όταν ο ΧΥΤΑ χρησιμοποιείται και για την διάθεση απορριμμάτων (Κάρτσωνας, 2005).

Τα οφέλη και οι επιπτώσεις κατά τη διάθεση ιλύος σε ΧΥΤΑ παρουσιάζονται στο σχήμα 3.4.



Σχήμα 3.4. Επιπτώσεις της διάθεσης ιλύος σε ΧΥΤΑ

Πηγή: European Environmental Agency, (1998)

Οι εκπομπές στον αέρα περιλαμβάνουν την απελευθέρωση βιοαερίου, όταν δεν πραγματοποιείται ανάκτηση του, και την παραγωγή σκόνης κατά την επικάλυψη των απορριμμάτων. Επιπλέον παρατηρούνται εκπομπές καυσαερίων από τις μηχανές των οχημάτων που χρησιμοποιούνται εντός του χώρου διάθεσης.

Τα στραγγίσματα που παράγονται σε έναν Χ.Υ.Τ.Α. διηθούνται στο έδαφος και η ποσότητα τους εξαρτάται από το στρώμα επικάλυψης που εφαρμόζεται και τις συνθήκες περιβάλλοντος (θερμοκρασία, υγρασίας κλπ.). Η σύσταση των στραγγισμάτων κυμαίνεται ανάλογα με τον χρόνο. Τα στραγγίσματα περιλαμβάνουν πλήθος συστατικών όπως ιόντα (Ca^{2+} , K^{+} , Na^{+} , NH_4^{+} , CO_3^{2-} , SO_4^{2-} , Cl^{-}), βαρέα μέταλλα, οργανικά συστατικά (χλωριωμένες οργανικές ενώσεις, φαινόλες, βενζόλιο, εντομοκτόνα) καθώς και μικροοργανισμούς. Οι εκπομπές περιορίζονται όταν τα στραγγίσματα συλλέγονται και επεξεργάζονται εντός του χώρου του Χ.Υ.Τ.Α., διαφορετικά μπορούν να διεισδύσουν μέσω του εδάφους προς τον υδροφόρο ορίζοντα ή απευθείας στα επιφανειακά νερά και να δημιουργήσουν σοβαρές επιπτώσεις στην δημόσια υγεία και στα οικοσυστήματα (Κάρτσωνας, 2005). Επιπλέον, η λειτουργία ενός Χ.Υ.Τ.Α. μπορεί να προκαλέσει και άλλες επιπτώσεις όπως:

- θόρυβο και σκόνη από την κίνηση των απορριμματοφόρων που προσεγγίζουν την μονάδα
- οσμές,
- προσέγκυση ζωοφίων, τρωκτικών και πουλιών,
- αλλαγή στις υφιστάμενες και προβλεπόμενες χρήσεις γης (χωροταξικές επιπτώσεις),
- διατάραξη της χλωρίδας και του φυσικού ανάγλυφου.

Το σύνολο της ελληνικής παραγωγής ιλύος, σύμφωνα με επίσημα στοιχεία, απορρίπτεται σε χωματερές - ΧΥΤΑ και ΧΑΔΑ συνήθως με αρνητικές επιπτώσεις στο περιβάλλον. Η κατάσταση αυτή, τόσο από περιβαλλοντική, όσο και από νομική και κοινωνική άποψη, είναι μη δόκιμη, δεδομένου ότι δεν συμβιβάζεται με τη διακηρυγμένη Εθνική Στρατηγική για τη μείωση των βιοαποδομήσιμων αποβλήτων στους ΧΥΤΑ (άρθρο 5 της Οδηγίας 1999/31/ΕΚ και άρθρο 4 της ΚΥΑ 29407/3508/2002). Τούτο έχει ως αποτέλεσμα να περιέρχεται η Χώρα μας συχνά σε μειονεκτική θέση έναντι άλλων κρατών της ΕΕ, στα οποία έχουν ληφθεί κατάλληλα μέτρα στο τομέα αυτό (Κουλουμπής κ.ά., 2007).

3.1.4 Καύση

Η θερμική επεξεργασία (καύση) συνιστά μία εναλλακτική μέθοδο της γεωργικής χρησιμοποίησης της ιλύος, η οποία κερδίζει συνεχώς έδαφος παγκοσμίως. Αποτελεί την πιο ελκυστική μέθοδο διάθεσης της ιλύος ιδιαίτερα στην Ευρώπη σύμφωνα με τους Jensen and Jepsen (2005). Σκοπός της καύσης της ιλύος αρχικά είναι η ελάττωση του όγκου της, η μετατροπή της δηλαδή σε υλικά μη επιβλαβή για την υγεία του ανθρώπου. Δευτερευόντως, η κατά το δυνατόν εκμετάλλευση της ευρισκόμενης στην ιλύ ενέργειας ως θέρμανση, ατμό, ηλεκτρικό ρεύμα ή καύσιμο υλικό.

Τα κύρια πλεονεκτήματα της καύσης της ιλύος είναι α) η δραστική μείωση όγκου και βάρους της αφυδατωμένης ιλύος, β) η καταστροφή ή σταθεροποίηση των τοξικών ουσιών, γ) η ανάκτηση ενέργειας από τη θερμότητα και δ) η ελαχιστοποίηση της οσμής (European Environmental Agency, 1998; Jensen and Jepsen, 2005). Σε προηγμένες βιομηχανικά χώρες της ΕΕ η καύση της ιλύος αποτελεί μία προτιμητέα λύση, ιδιαίτερα για τις περιπτώσεις επιβάρυνσης της ιλύος με βαρέα μέταλλα και επιβλαβείς οργανικές ουσίες, πέραν των αποδεκτών οριακών τιμών (Anonymus, 2006).

Από την άλλη πλευρά, για την καύση της ιλύος απαιτούνται α) υψηλές δαπάνες κατασκευής εγκαταστάσεων, β) μεγάλες λειτουργικές δαπάνες (καύσιμα), γ) υψηλές απαιτήσεις συντήρησης και δ) ενδεχόμενες αρνητικές επιδράσεις στο περιβάλλον να αντιμετωπιστούν (European Environmental Agency, 1998). Για τα ελληνικά μέχρι σήμερα δεδομένα η θερμική επεξεργασία της ιλύος, αποτελεί μη ρεαλιστικό ενδεχόμενο (Κουλουμπής κ.ά., 2007). Βέβαια, πρόσφατες τεχνολογικές βελτιώσεις, σε συνδυασμό με την αυστηρή Νομοθεσία (Οδηγία 2000/76/EC) δίνουν λύσεις για ασφαλή και αποτελεσματική λειτουργία των μονάδων καύσης, ωστόσο κάνουν τη μέθοδο αυτή ακόμη πιο δαπανηρή, τόσο στη κατασκευή όσο και στη λειτουργία (European Environmental Agency, 1998; Jensen and Jepsen, 2005).

Διακρίνονται οι παρακάτω κατηγορίες αποτέφρωσης της ιλύος:

- Καύση ιλύος σε ειδικές εγκαταστάσεις αποτέφρωσης
- Καύση της ιλύος μαζί με στερεά απόβλητα, κυρίως οικιακά απορρίμματα

- Καύση της ιλύος σε βιομηχανικές εγκαταστάσεις. Η ιλύς χρησιμοποιείται ως καύσιμο σε εγκαταστάσεις παραγωγής ενέργειας ή άλλων προϊόντων, όπως είναι οι μονάδες παραγωγής τσιμέντου.

Μια καινοτομία στην αποτέφρωση της ιλύος επεξεργάζεται η Ιαπωνία. Ονομάζεται τήξη σε υψικάμνο (melting furnace) και το νεωτεριστικό είναι ότι η τέφρα που απομένει από την ιλύ, θερμαίνεται σε υψηλή θερμοκρασία, τήκεται και σχηματίζει γυαλί. Βέβαια, η μέθοδος αυτή είναι πολύ πιο δαπανηρή από τη συμβατική καύση της ιλύος (Evans et al., 2004). Αναφορικά, το ποσοστό της ιλύος που αποτεφρώνεται στην Ιαπωνία κάθε χρόνο αγγίζει το 55% και στις ΗΠΑ το 25% αντίστοιχα. Επίσης, η ιλύς που αποτεφρώνεται στη Δανία είναι της τάξης του 24% της παραχθείσας ιλύος στη χώρα, ενώ στη Γαλλία φτάνει το 20%, στο Βέλγιο το 15% και στη Γερμανία το 14% (Lundin et al, 2004).

3.1.5 Κομποστοποίηση

Η κομποστοποίηση της ιλύος πραγματοποιούταν για αιώνες και όλοι οι κηπουροί γνωρίζουν την αξία του compost για τη βελτίωση της γονιμότητας του εδάφους (Evans et al., 2004). Η κομποστοποιημένη ιλύς θεωρείται ιδιαίτερα σημαντική για τη προστασία του περιβάλλοντος ως βελτιωτικό υλικό. Συνιστάται σε περιπτώσεις τεχνητής επανόρθωσης (remediation) διαφόρων εκτάσεων που έχουν ρυπανθεί, προκειμένου να πραγματοποιηθεί με τη πάροδο του χρόνου η αποκατάστασή τους και η επαναφορά αυτών στη φυσική κατάσταση (Κουλουμπής κ.ά., 2007).

Η ιλύς που απομένει από το βιολογικό καθαρισμό των λυμάτων των πόλεων περιέχει συνήθως από 5-10% ξερή ουσία (στερεά υλικά) με μεγάλη περιεκτικότητα σε άζωτο (γύρω στο 10%). Η ιλύς αυτή μετά τη σχετική αφυδάτωσή της μπορεί να προστεθεί στο οργανικό κλάσμα των στερεών απορριμμάτων, όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, αν φυσικά υπάρχει μονάδα λιπασματοποίησης, και να ζυμωθεί με αυτό, επιταχύνοντας τη ζύμωση και εμπλουτίζοντας το παραγόμενο compost. Σε περίπτωση που δεν υπάρχει μονάδα λιπασματοποίησης, η λάσπη μπορεί μετά την ξήρανσή της να ζυμωθεί με την ίδια διαδικασία του composting για παραγωγή compost (Bilitewski et al., 1994).



Εικόνα 3.1.
Κομποστοποιημένη
ιλύ σε κατάσταση
με είδη κήπου

Πηγή: Evans et al., 2004

Η προσπάθεια της κομποστοποίησης της ιλύος μπορεί να συνδυασθεί λειτουργικά με την αξιοποίηση αγροτικών υπολειμμάτων ή αγροβιομηχανικών αποβλήτων και του οργανικού κλάσματος των αστικών αποβλήτων (βιοαπορριμμάτων). Προϋπόθεση για το εγχείρημα αυτό είναι ο διαχωρισμός των απορριμμάτων στη πηγή, δηλαδή στα σπίτια των πολιτών (Κουλουμπής κ.ά., 2007). Οι μηχανισμοί της κομποστοποίησης πρέπει να είναι ευρέως γνωστοί, ώστε να είναι εφικτή οποιαδήποτε πρόβλεψη για πιθανά αποτελέσματα. Η μεγαλύτερη ανησυχία από τη διαδικασία αυτή είναι η απελευθέρωση αερίων και στερεών ρύπων στην ατμόσφαιρα (Fytali and Zabaniotou, 2008). Στις μεσογειακές χώρες και συγκεκριμένα στην Ιταλία, η ιλύ κομποστοποιείται από την επεξεργασία υγρών αποβλήτων. Το παραγόμενο compost εξάγεται στη Μεσόγειο αλλά και στη Βόρεια Ευρώπη ως οργανικό λίπασμα για δενδροκηπευτικές καλλιέργειες (Evans et al., 2004).

3.1.6 Χρήση στη δασοπονία και δασοκομία

Η χρήση της ιλύος από την επεξεργασία λυμάτων σε δασικές εκτάσεις είναι μία ακόμα εναλλακτική της επαναχρησιμοποίησης στη γεωργία. Ωστόσο υπάρχουν σημαντικές διαφορές, οι οποίες οφείλονται και στην ιδιαιτερότητα των ειδών που αναπτύσσονται σε κάθε περίπτωση.

Από οικονομική άποψη η μέθοδος αυτή είναι αρκετά δελεαστική στην περίπτωση μάλιστα που υπάρχουν διαθέσιμες εκτάσεις κοντά στην εγκατάσταση επεξεργασίας των λυμάτων. Επισημαίνεται πάντως ότι είναι σχετικά μικρές οι ποσότητες της ιλύος που μπορούν να εφαρμοστούν (μέσος ρυθμός εφαρμογής 3tnDS/ha.έτος).

Γενικά, οι εκπομπές στο έδαφος, τον αέρα και το νερό καθώς και οι λοιπές περιβαλλοντικές επιπτώσεις είναι παρόμοιες με αυτές που αφορούν την εφαρμογή της ιλύος στη γεωργία (Κάρτσωνας, 2005).

3.1.7 Αποκατάσταση εδαφών

Η υποβάθμιση του εδάφους αποτελεί σοβαρό πρόβλημα για την Ευρώπη. Προκαλείται ή επιδεινώνεται από ανθρώπινες δραστηριότητες όπως οι ακατάλληλες γεωργικές και δασοκομικές πρακτικές, οι βιομηχανικές δραστηριότητες, ο τουρισμός, η εξάπλωση των αστικών κέντρων και της βιομηχανίας, καθώς και ο χωροταξικός σχεδιασμός. Οι συνέπειές της είναι, μεταξύ άλλων, η μείωση της εδαφικής γονιμότητας, απώλειες άνθρακα και βιοποικιλότητας, ο περιορισμός της ικανότητας του εδάφους να συγκρατεί το νερό. Η υποβάθμιση των εδαφών επηρεάζει άμεσα την ποιότητα του νερού και του αέρα, τη βιοποικιλότητα και τις κλιματικές αλλαγές. Παράλληλα μπορεί να επηρεάσει την υγεία του πληθυσμού ή να απειλήσει την ασφάλεια των ειδών ανθρώπινης και ζωικής διατροφής¹².

Σε γενικές γραμμές, τα ελληνικά εδάφη είναι σε μεγάλη αναλογία πτωχά, άγονα και σκελετωμένα. Μεγάλες εκτάσεις της ελληνικής επικράτειας (τουλάχιστον 800.000 εκτάρια) καλύπτονται από όξινα εδάφη, ενώ το ένα τρίτο των ελληνικών εδαφών περίπου παρουσιάζουν έντονα προβλήματα διάβρωσης. Εξ' άλλου είναι γνωστό ότι η χώρα μας συμπεριλαμβάνεται μεταξύ των χωρών που πλήττονται κατ' εξοχήν από το φαινόμενο της ερημοποίησης, ως συνδυασμένου αποτελέσματος των γεωκλιματικών χαρακτηριστικών και της υπερεκμετάλλευσης των φυσικών της πόρων. Σύμφωνα με επίσημα στοιχεία της ΕΕ, εκτιμάται ότι το 70 % των ελληνικών εδαφών αντιμετωπίζει υψηλό ή μέτριο κίνδυνο ερημοποίησης (Κουλουμπής κ.ά., 2007)

Η διάθεση της ιλύος για την αποκατάσταση εδαφών συνιστά βασική προτεραιότητα της σύγχρονης κοινωνίας. Αποσκοπεί στην προστασία των εκτάσεων αυτών από την διάβρωση και στον εμπλουτισμό τους με θρεπτικά και οργανική ύλη. Όταν ο σκοπός της διάθεσης είναι η αύξηση της ποσότητας του εδάφους στην περιοχή, η ιλύς είτε μπορεί να εφαρμοσθεί απ' ευθείας πριν την μίξη με το υφιστάμενο έδαφος ή να γίνει μίξη με το χώμα πριν την εφαρμογή της. Η ποσότητα της ιλύος που συνήθως εφαρμόζεται στις περιπτώσεις αυτές είναι πολύ μεγαλύτερη από αυτήν στην περίπτωση της γεωργικής χρήσης

¹²Πηγή: <http://europa.eu.int/>

(Κάρτσωνας, 2005). Το WRC (1999) συνιστά για διάφορες περιπτώσεις ανάκτησης εδαφών τις παρακάτω ποσότητες ιλύος (Πίνακας 3.7).

Πίνακας 3.7. Ρυθμός εφαρμογής ιλύος για ανάκτηση εδαφών

Κατηγορία εδαφών	Στόχος εφαρμογής	Ρυθμός εφαρμογής	
		t/DS.ha (αφυδατωμένη ιλύς)	m ³ /ha (υγρή ιλύς)
Φυσικοί χώροι αναγνώσης	Βελτίωση θρεπτικών	50	100
Βελτίωση αγροτικών εδαφών	Βελτίωση θρεπτικών	100	--
Προσθήκη εδαφικής στρώσης	Προσθήκη οργανικών	100 – 500	--
Χώροι απόθεσης προϊόντων εξόρυξης	Έλεγχος οξύτητας εδάφους	> 500	--

Πηγή: WRC, (1999)

Ενδιαφέρουσα εναλλακτική λύση μπορεί να είναι σε μερικές περιπτώσεις η χρήση της ιλύος για αποκατάσταση λατομείων. Η ιλύς μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την αποκατάσταση των λατομείων ως υλικό πλήρωσης. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί σε διαδοχικές στρώσεις, εναλλασσόμενες με προϊόντα εκσκαφής ή μπάζα και στη διαμόρφωση επιφανειακής εδαφικής στρώσης (top soil) για την αποκατάσταση της βλάστησης στις περιοχές που αποκαθίστανται (Κάρτσωνας, 2005).

3.1.8 Αεριοποίηση (Gasification)

Η αεριοποίηση αποτελεί μια νέα τεχνολογία αξιοποίησης αποβλήτων ως καύσιμα υλικά. Θεωρητικά, όλα τα οργανικά απόβλητα με υγρασία της τάξης του 5-30% μπορούν να υποστούν αυτή την επεξεργασία. Όμως, δεν είναι όλα τόσο αποτελεσματικά σαν πρώτη ύλη. Συγκεκριμένα για την ιλύ, έρευνες έδειξαν ότι αποτελεί ένα επιθυμητό υλικό για την παραγωγή ηλεκτρικής ενέργειας. Η τεχνολογία της αεριοποίησης μπορεί να εφαρμοστεί ώστε η ιλύ να μετατρέπεται σε χρησιμοποιήσιμη ενέργεια και να μειώνεται με αυτό τον τρόπο το ενεργειακό πρόβλημα.

Η αεριοποίηση είναι η διαδικασία της θερμικής επεξεργασίας κατά τη διάρκεια της οποίας το ανθρακούχο περιεχόμενο της ιλύος μετατρέπεται σε καύσιμο αέριο και τέφρα. Αξίζει να σημειωθεί ότι ο βέλτιστος στόχος της αεριοποίησης της ιλύος είναι η παραγωγή καθαρού αερίου καυσίμου σε υψηλή απόδοση. Σε σύγκριση με την καύση, η αεριοποίηση

της ιλύος είναι μια χημικώς καθαρή αναγωγική διαδικασία. Εκτός αυτού προλαμβάνει προβλήματα που συμβαίνουν σε μια επεξεργασία, όπως η ανάγκη για συμπληρωματικό καύσιμο, οι εκπομπές οξειδίου του θείου και οξειδίων του αζώτου, τα βαρέα μέταλλα και η τέφρα και η πιθανή παραγωγή χλωριωμένων dibenzodioxins και διβενζοφουρανίων. Πάντως, όλο και περισσότερες μελέτες πραγματοποιούνται με αντικείμενο την αεριοποίηση της ιλύος (Fytali and Zabaniotou, 2008).

3.1.9 Πυρόλυση (Pyrolysis)

Η πυρόλυση είναι η επεξεργασία κατά την οποία οι οργανικές ουσίες αποσυντίθενται θερμικά σε αναερόβιες συνθήκες σε θερμοκρασίες που ποικίλουν από 300-900° C. Όσον αφορά την πυρόλυση της ιλύος, είναι μια επεξεργασία που πραγματοποιείται σε συνθήκες αδρανούς ατμόσφαιρας με αποτέλεσμα την απελευθέρωση της οργανικής ύλης ώστε να επαναχρησιμοποιηθεί. Η μέθοδος αυτή είναι λιγότερο ρυπογόνα από τις συμβατικές μεθόδους επεξεργασίας της ιλύος, όπως η καύση και η κομποστοποίηση. Οι αντιδράσεις που πραγματοποιούνται είναι θερμική πυρόλυση (thermal cracking) και συμπύκνωση (condensation). Εν συγκρίσει με την κομποστοποίηση, η οποία είναι εξώθερμη αντίδραση, η πυρόλυση είναι αρκετά ενδόθερμη.

Κατόπιν της θερμικής επεξεργασίας της ιλύος τρία είναι τα μέρη που σχηματίζονται:

1. Το αέριο μέρος. Αυτό το μη- συμπυκνώσιμο αέριο (NCG) περιέχει υδρογόνο, μεθάνιο, μονοξείδιο του άνθρακα, διοξείδιο του άνθρακα και άλλα αέρια σε μικρές συγκεντρώσεις
2. Το υγρό μέρος. Οι ατμοί αποτελούνται από πίσσα (tar) και/ή πετρέλαιο (oil), το οποίο περιέχει ουσίες, όπως το οξικό οξύ, ακετόνη και μεθανόλη.
3. Το στερεό μέρος. Αυτό είναι μίγμα από καθαρό άνθρακα με μικρές ποσότητες αδρανών υλικών.

Το αέριο που παράγεται από την πυρόλυση μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως καύσιμο, όπως και το στερεό μίγμα που παράγεται. Επίσης, το πετρέλαιο μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως υλικό σε χημικές βιομηχανίες αλλά και ως καύσιμο και αυτό. Σύμφωνα με τους Khiari et al. (2004), η μέθοδος της πυρόλυσης μπορεί επιμελώς να μελετηθεί χρησιμοποιώντας αναλύσεις όπως είναι η σταθμική θερμομέτρηση, η διαφορική θερμιδομετρία σάρωσης, και η φασματοσκοπία μάζας (TG, DSC, MS). Επιπλέον, οι Urban and Antal ήδη από το 1982 παρουσίασαν εμπειρικά δεδομένα για την κινητική της ιλύος στην πυρόλυση χρησιμοποιώντας την ανάλυση θερμικής μέτρησης (TGA). Οι νεότερες μελέτες εστιάζουν

στην ανάπτυξη ενός μοντέλου που μπορεί να προβλέπει την μείωση του βάρους της ιλύος σε ρευστοστερεή κατάσταση. Στο ίδιο πεδίο, οι Conesa et al. (1997) πρότειναν ένα κινητικό μοντέλο το οποίο περιγράφει την πυρόλυση της αναερόβια χωνευμένης και μη χωνευμένης ιλύος (Fytili and Zabaniotou, 2008).

Πρακτικά, τόσο η πυρόλυση όσο και η αεριοποίηση που αναφέρθηκε παραπάνω, είναι μέθοδοι επεξεργασίας που δεν εφαρμόζονται ενεργά στην αξιοποίηση της ιλύος, παρά το ενδιαφέρον που δείχνει η επιστημονική κοινότητα. Συνήθως χρησιμοποιούν άλλα υλικά σαν πρώτες ύλες. Η εμφανής αυτή ανικανότητα να εφαρμοστούν αυτές οι τεχνολογίες στην χρήση της ιλύος, πιθανόν να ξεπεραστούν από νέα εμπειρικά ευρήματα (Evans et al., 2004).

3.1.10 Υγρή οξείδωση (Wet oxidation)

Η υγρή οξείδωση της ιλύος περιλαμβάνεται στην κατηγορία της θερμικής επεξεργασίας της ιλύος για την περαιτέρω αξιοποίησή της. Πραγματοποιείται σε υδατική φάση σε θερμοκρασίες από 150-330° C χρησιμοποιώντας καθαρό ατμοσφαιρικό οξυγόνο. Κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας, το οργανικό κομμάτι της ιλύος υποβαθμίζεται θερμικά (thermally degraded), υδρολύεται, οξυγονώνεται και μετατρέπεται σε διοξείδιο του άνθρακα, νερό και άζωτο.

Οι διαθέσιμες βιβλιογραφικά πληροφορίες όσον αφορά τη μέθοδο της υγρής οξείδωσης της ιλύος, σχετίζονται με εγκαταστάσεις μεγάλης κλίμακας (Fytili and Zabaniotou, 2008).

3.1.11 Χρήση για παραγωγή υδρογόνου (Hydrogen production from sewage sludge)

Είναι γνωστό ότι το υδρογόνο που παράγεται σήμερα προέρχεται από τους ατμούς του φυσικού αερίου και για το εγγύς μέλλον αυτή η μέθοδος θα συνεχίσει να κυριαρχεί. Ερευνητές από το Ηνωμένο Βασίλειο και την Τουρκία ανακάλυψαν τη δυνατότητα παραγωγής υδρογόνου από βιολογική ιλύ, εφαρμόζοντας την μέθοδο της αεριοποίησης (gasification technique). Η υγρή ιλύ θεωρείται μια από τις πιο γνωστές πρώτες ύλες στην παρασκευή αερίου υδρογόνου διεθνώς. Στη βιβλιογραφία αναφέρεται ακόμα ότι υδρογόνο μπορεί να παραχθεί από θερμική αεριοποίηση βιομάζας από δασοκομικά παραπροϊόντα, άχυρο, αστικά στερεά απόβλητα και βιολογική ιλύ. Η διαδικασία παραγωγής υδρογόνου από την ιλύ μοιάζει με αυτή της παραγωγής από ορυκτά καύσιμα. Το μεικτό αέριο που τελικώς παράγεται μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί και ως καύσιμο για την παραγωγή

ηλεκτρικής ενέργειας. Συγκρίνοντας τη μέθοδο αυτή με τις συμβατικές μεθόδους παραγωγής ηλεκτρικής ενέργειας από απόβλητα, η ολοκληρωμένη αεριοποίηση της ιλύος είναι προτιμητέα. Η απόδοση της ηλεκτρικής ενέργειας με τη μέθοδο αυτή είναι πιθανόν να φτάσει το 30%. Η υγρή ιλύ μπορεί να θεωρηθεί μία από τις κύριες πρώτες ύλες στην παραγωγή υδρογόνου παγκοσμίως (Fytli and Zabaniotou,2008).

3.1.12 Χρήση στην τσιμεντοβιομηχανία (Co-combustion of sewage sludge in cement manufacturing)

Παραδοσιακά, τα καύσιμα που χρησιμοποιούνται σε μια τσιμεντοβιομηχανία είναι αέριο (gas), πετρέλαιο (oil) ή άνθρακας (carbon). Οι εναλλακτικές επιλογές καυσίμου μπορεί να είναι υλικά όπως, έλαια, πλαστικά, απόβλητα ελαστικά και βιολογική λάσπη. Για να αξιοποιηθεί η ιλύ ή οι άλλες πρώτες ύλες στην τσιμεντοβιομηχανία, πρέπει να είναι γνωστή η σύνθεσή της (Κουλουμπής κ.ά., 2007).

3.1.13 Παραγωγή φωσφορικών λιπασμάτων

Ιδιαίτερα εφαρμόσιμη και πολύ σημαντική δυνατότητα εκμετάλλευσης της ιλύος των αστικών λυμάτων, κατόπιν θερμικής επεξεργασίας, είναι η απόκτηση φωσφορικών λιπασμάτων μέσω της εκχύλισης αυτών από ιλύ αστικών λυμάτων. Η αξιοποίηση αυτή της ιλύος πρόκειται να εφαρμόζεται περισσότερο στο μέλλον, όταν η σχετική τεχνολογία θα έχει δεόντως βελτιωθεί (Κουλουμπής κ.ά., 2007).

3.1.14 Παραγωγή βιοαερίου

Μέσω διαδικασιών αναερόβιας χώνευσης της ιλύος μπορεί να παραχθεί, κατ' ευθείαν από την υδατική φάση, χωρίς δηλαδή καύση, υψηλής ποιότητας βιοαέριο. Τα πλεονεκτήματα είναι ιδιαιτέρως ενδιαφέροντα: υψηλή σταθερότητα της διαδικασίας, θετικό για το περιβάλλον ισοζύγιο CO₂, κίνηση τροχοφόρων ή ακόμη και για άλλες μελλοντικές ενεργειακές χρήσεις.

Ένα επιπρόσθετο πλεονέκτημα αυτής της προοπτικής, αποτελεί η ενδεχόμενη δυνατότητα της συνδυασμένης ζύμωσης της ιλύος με βιοαπορρίμματα. Μία τέτοια λύση θα παρουσίαζε αναμφισβήτητα θετικά αποτελέσματα διότι, θα προέκυπταν τα εξής:

- ❖ Επωφελής από ενεργειακή άποψη διαχείριση ιλύος, όσο και των βιοαπορριμμάτων
- ❖ Μετά τη ζύμωση της ιλύος και των βιοαπορριμμάτων, το μίγμα αυτό μπορεί να κομποστοποιηθεί και να χρησιμοποιηθεί είτε στη γεωργία (μη επιβαρημένη ιλύς), είτε για χρησιμοποίηση στους ΧΥΤΑ (επιβαρημένη ιλύς) (Κουλουμπής κ.ά., 2007).

3.1.15 Παραγωγή κεραμικών, οικοδομικών και άλλων υλικών

Η ιλύς, μπορεί, μετά από προηγούμενη θερμική επεξεργασία, να χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή εξειδικευμένων προσθετικών υλικών για οικοδομική χρήση, ασφαλικών υλικών τούβλων, τσιμέντου και κεραμικών ειδών (Kraus, 2004). Πλεονεκτήματα της παραγωγής των υλικών αυτών είναι η εξοικονόμηση πρώτων υλών καθώς επίσης και για άλλοι βιομηχανικοί λόγοι (π.χ. ηχομονωτικά υλικά). Μεταξύ των κυριοτέρων μειονεκτημάτων του τρόπου αυτού αξιοποίησης της ιλύος παραμένουν το υψηλό λειτουργικό κόστος της διαδικασίας, ο απαιτούμενος για τούτο χρόνος και η αναμενόμενη αέρια ρύπανση, λόγω της θερμικής επεξεργασίας της ιλύος.

3.1.16 Παραγωγή καύσιμης ενέργειας

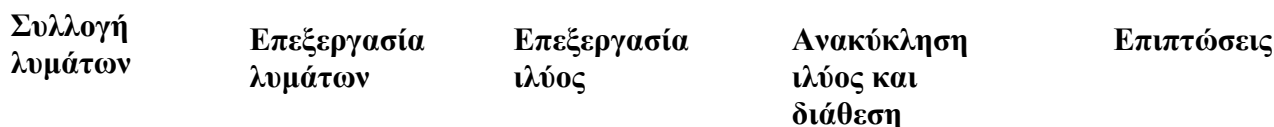
Λόγω της μεγάλης περιεκτικότητάς της ιλύος σε οργανική ουσία, μετά από διαδικασίες ξήρανσης, παρουσιάζει θερμική ικανότητα που μπορεί να συγκριθεί με αυτήν του κάρβουνου. Η ιλύς μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως καύσιμη ύλη, πάντοτε όμως με τη πιθανότητα της πρόκλησης φαινομένων αέριας ρύπανσης. Το γεγονός αυτό προϋποθέτει την ύπαρξη μεγάλων εγκαταστάσεων και την εξασφάλιση υψηλών πιστώσεων, που για τα ελληνικά δεδομένα οι προοπτικές αυτές είναι περιορισμένες (Κουλουμπής κ.ά., 2007).

3.2 Μέθοδοι επεξεργασίας ιλύος

Η παραγόμενη, από την επεξεργασία των υγρών αποβλήτων, ιλύ στη συνέχεια επεξεργάζεται. Η επεξεργασία της ιλύος πραγματοποιείται για πολλούς και σημαντικούς λόγους, οι κυριότεροι είναι οι παρακάτω :

1. Η μείωση της περιεκτικότητας σε νερό, ώστε να ελαττωθεί ο όγκος της ιλύος
2. Η μείωση, μέσω της αδρανοποίησης, των παθογόνων μικροοργανισμών, που μπορεί αυτή να περιέχει
3. Η μείωση της οσμής της ιλύος (European Commission, 2001 ; Evans et al., 2004).

Τα στάδια που οδηγούν από τη συλλογή των υγρών αστικών αποβλήτων στην επεξεργασία της ιλύος περιγράφονται στο σχήμα 3.7. Τελικός στόχος της επεξεργασίας είναι η τελική διάθεση της ιλύος προκειμένου οι διαδικασίες διαχείρισης του υλικού να μην εγκυμονούν κινδύνους για το περιβάλλον και για την υγεία των ανθρώπων και των ζώων (European Commission, 2001; Κουλουμπής, 2007).



Σχήμα 3.5. Στάδια επεξεργασίας υγρών αποβλήτων

Πηγή: Προσαρμογή από Evans, (2004)

Είναι απαραίτητο να τονισθεί ότι, κατόπιν της επεξεργασίας των υγρών αστικών λυμάτων και πριν η ιλύς οδηγηθεί στα στάδια της επεξεργασίας της, πραγματοποιείται η φάση ελέγχου της ιλύος. Σ' αυτή τη φάση κρίνεται αν η ποιότητα της ιλύος είναι κατάλληλη ώστε να προχωρήσει στο επόμενο στάδιο επεξεργασίας. Η προκαταρκτική αυτή φάση αποτελείται από δύο επιμέρους στάδια, τα οποία είναι:

1. Έλεγχος ποιότητας εισροών στο αποχετευτικό δίκτυο,
2. Συστήματα παρατεταμένου αερισμού στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων (Οδηγία 96/61/ΕΚ).

Εφόσον ολοκληρωθεί η προκαταρκτική φάση, η ιλύς προχωρά στη διαδικασία της επεξεργασίας. Μία σύντομη περιγραφή των μεθόδων επεξεργασίας της ιλύος που χρησιμοποιούνται στις χώρες μέλη της ΕΕ, παρουσιάζεται στον πίνακα 3.8 που ακολουθεί (European Commission, 2001)

Πίνακας 3.8 Τα στάδια επεξεργασίας της ιλύος στις χώρες-μέλη της ΕΕ

Διεργασία	Τρόπος επεξεργασίας	Στόχος
Προετοιμασία ιλύος (conditioning)	Χημική προετοιμασία	• Βελτίωση της δομής της ιλύος, για διευκόλυνση των διεργασιών που θα ακολουθήσουν
	Θερμική προετοιμασία	
	Πάχυνση με βαρύτητα	
	Μηχανική πάχυνση	

	Επίπλευση με αέρα	
Αφυδάτωση	Κλίνες ξήρανσης	• Μείωση περιεκτικότητας της ιλύος σε νερό
	Ταινιοφιλτρόπρεσα	
	Φυγοκέντριση	
	Φιλτρόπρεσα	
Σταθεροποίηση και/ή υγιεινοποίηση	Αναερόβια χώνευση	• Μείωση της παραγωγής οσμών • Μείωση των παθογόνων μικροοργανισμών
	Αερόβια χώνευση	
	Κομποστοποίηση	
	Επεξεργασία με ασβέστη	
	Θερμική ξήρανση	
	Παστερίωση	

Πηγή: European Commission, (2001)

Μια συνοπτική ανάλυση των διεργασιών επεξεργασίας της ιλύος, καθώς και οι αντίστοιχες μεθόδους που χρησιμοποιούνται, ακολουθούν παρακάτω.

➤ Προετοιμασία ιλύος (Conditioning)

Η χημική προετοιμασία (Chemical conditioning) είναι η επεξεργασία κατά την οποία προετοιμάζεται η ιλύς για την περαιτέρω καλύτερη και οικονομικότερη επεξεργασία σε κενά φίλτρα ή φυγοκέντρους. Στο στάδιο αυτό χρησιμοποιούνται χημικά υλικά όπως θειικό οξύ, θειικός σίδηρος και χλωριούχος σίδηρος μαζί με άσβεστο και άλλα υλικά. Το κόστος των χημικών είναι συνήθως καθοριστικός παράγοντας.

Για τη θερμική προετοιμασία (Thermal Conditioning) υπάρχουν δύο φάσεις. Στην πρώτη φάση, την υγρή οξείδωση, η ιλύς οξειδώνεται σε χαμηλές θερμοκρασίες (450-550°F) και κάνει τέφρα την ιλύ. Στην άλλη φάση, η θερμική επεξεργασία (heat treatment), προκαλεί μεγαλύτερη αφύγρανση στην ιλύ. Η θερμική επεξεργασία χρησιμοποιείται περισσότερο από ότι η υγρή οξείδωση¹³.

➤ Πάχυνση (Thickening)

Η πάχυνση της ιλύος είναι μια επεξεργασία που γίνεται με βαρύτητα (Gravity Thickening), με μηχανική πάχυνση (Gravity belt thickener) και επίπλευση με αέρα (Dissolved Air-Pressure Flotation).

¹³ <http://water.me.vccs.edu/courses/ENV149/thickening.htm>

Όσον αφορά την μέθοδο πάχυνση της ιλύος με βαρύτητα, περιλαμβάνει τη συγκέντρωση πραγματοποιείται σε ειδικά κατασκευασμένες, για το σκοπό αυτό, δεξαμενές. Ιλύς με στερεό περιεχόμενο 10% και περισσότερο μπορεί να επεξεργαστεί με αυτή τη μέθοδο. Αυτό σημαίνει ότι με αρχική ποσότητα ιλύος 2%, περίπου τα 4/5 του νερού που εμπεριέχεται σ' αυτή αφαιρούνται και ο στόχος αυτής της μεθόδου έχει επιτευχθεί.

Γενικά, η πάχυνση μέσω επίπλευσης γίνεται όλο και πιο γνωστή, ιδιαίτερα στη διαχείριση της ενεργούς ιλύος. Το πλεονέκτημα έναντι της μεθόδου πάχυνσης με βαρύτητα, είναι ότι η πάχυνση μέσω επίπλευσης δίνει υψηλότερες συγκεντρώσεις στερεών και χαμηλότερο αρχικό κόστος εξοπλισμού εγκαταστάσεων. Σχετικά με την πάχυνση της ιλύος με διαλυμένο αέρα (Dissolved Air-Pressure Flotation), ο σκοπός της μεθόδου αυτής είναι με τη βοήθεια φυσαλίδων αέρα τα αιωρούμενα στερεά της ιλύος να διαχωριστούν από το νερό με ανοδική πορεία. Αυτό στηρίζεται στην ικανότητα των στερεών σωματιδίων να έχουν ειδική βαρύτητα χαμηλότερη από τη βαρύτητα του νερού όταν εισάγονται οι φυσαλίδες του νερού.

Όπως και στην πάχυνση λόγω βαρύτητας, ο τύπος και η ποιότητα της ιλύος που επεξεργάζεται με τη μέθοδο της επίπλευσης, επηρεάζει την απόδοση της μονάδας επεξεργασίας. Η πάχυνση μέσω επίπλευσης εφαρμόζεται περισσότερο στην ενεργό ιλύ.

➤ Αφυδάτωση (Dewatering)

Για να αφυδατωθεί η ιλύς, δηλαδή να μειωθεί η υγρασία της από 95% σε 80% ή και λιγότερο, πραγματοποιείται μηχανική αφυδάτωση. Οι φάσεις της μεθόδου είναι οι παρακάτω:

1. Κλίνες ξήρανσης
2. Ταινιοφιλτρόπρεσα
3. Φυγοκέντρωση
4. Φιλτρόπρεσα

Η αφυδατωμένη ιλύς συνήθως περιέχει περίπου 20-35% στερεά ξηρά ουσία (80-65% υγρασία), αλλά το ποσοστό εξαρτάται από τον τύπο της ιλύος και τη μέθοδο της αφυδάτωσης που ακολουθείται. Κατόπιν της διαδικασίας, μοιάζει στερεή και μπορεί να στοιβαχθεί σε σωρό. Η αφυδάτωση είναι το κλειδί της προ-επεξεργασίας για τα επόμενα στάδια επεξεργασίας της ιλύος (Evans et al., 2004).

➤ Σταθεροποίηση και /ή υγιεινοποίηση (Stabilization and/or disinfection)

Η σταθεροποίηση της ιλύος αποτελείται από τα στάδια της αναερόβιας χώνευσης, της αερόβιας χώνευσης, της κομποστοποίησης, της επεξεργασίας με ασβέστη, της θερμικής ξήρανσης και της παστερίωσης.

➤ Βιολογική επεξεργασία ιλύος

Από τις πιο ευρέως εφαρμοσμένες μεθόδους επεξεργασίας της ιλύος είναι η αναερόβια χώνευση (anaerobic digestion). Τα πλεονεκτήματα της μεθόδου είναι ότι σταθεροποιεί την ιλύ, μειώνει την ποσότητα των παθογόνων μικροοργανισμών και παράγεται κατόπιν βιοαέριο. Η υγρή ενεργός ιλύ επεξεργάζεται σε θερμαινόμενες δεξαμενές από τις οποίες ο αέρας εξέρχεται. Βακτήρια που ζουν σε αναερόβιες συνθήκες τρέφονται από την οργανική ύλη και παράγεται με αυτό τον τρόπο βιοαέριο πλούσιο σε μεθάνιο. Η αναερόβια χώνευση της ιλύος είναι μια αμιγώς ανανεώσιμη πηγή παραγωγής καυσίμου. Η χωνευμένη ιλύς λόγω των θρεπτικών συστατικών που περιέχει είναι κατάλληλη για τα φυτά. Αποτελεί ένα λίπασμα που συνδυάζει άζωτο: φωσφόρο: θείο με οργανική ύλη. Επίσης, περιέχει τα ιχνοστοιχεία κάλλιο (K) και μαγνήσιο (Mg) σε σημαντικές ποσότητες. Η αναερόβια χώνευση της ιλύος με σκοπό τη θέρμανση και την ηλεκτροπαραγωγή έγινε γνωστή από τη δεκαετία του '30. Ακόμα, αποτελεί την περισσότερο εφαρμοσμένη μέθοδο επεξεργασίας της ιλύος. Η Δανία, η Γερμανία και η Ολλανδία παράγουν βιοαέριο από την αναερόβια χώνευση της ιλύος, ως μέρος της εθνικής τους ενεργειακής στρατηγικής.

Η αερόβια χώνευση της ιλύος (aerobic digestion) χρησιμοποιείται ως μέθοδος επεξεργασίας της ιλύος για πολλά χρόνια. Σκοπός της είναι η σταθεροποίηση της ενεργούς ιλύς και η παραγωγή βιοστερεών για περαιτέρω επεξεργασία και διάθεση. Συνήθως, οι εγκαταστάσεις χώνευσης (χωνευτές) έχουν σχεδιαστεί για διάρκεια χώνευσης της ιλύος 20-30 μέρες. Ο παρατεταμένος αυτός χρόνος χώνευσης μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα την επιδείνωση της αφυδάτωσης της ιλύος με συνέπεια το διπλασιασμό του όγκου της στη δεξαμενή ή την αύξηση της συγκέντρωσης των στερεών από 4-6% (Evans et al., 2004).

Μεταξύ των υπολοίπων αερόβιων βιολογικών μεθόδων σταθεροποίησης της ιλύος η κομποστοποίηση (λιπασματοποίηση) θεωρείται, ως η περισσότερο πρακτική και εύκολα

εφαρμόσιμη λύση. Η κομποστοποίηση έχει τις μικρότερες δυνατές απαιτήσεις σε εγκαταστάσεις και αποτελεί έναν περισσότερο ρεαλιστικό τρόπο σταθεροποίησης της ιλύος.

Η κομποστοποίηση της ιλύος αποσκοπεί κυρίως στη σταθεροποίηση, στην υγιεινοποίηση και στη μείωση του όγκου της. Για την ομαλή πορεία της κομποστοποίησης της αφυδατωμένης ιλύος (20-25 % ΞΥ) είναι απαραίτητη η πρόσμιξη λιγνοκυτταρινούχων υλικών, δηλαδή λεπτοτεμαχισμένα φυτικά απορρίμματα, άχυρα και άλλα φυτικά υπολείμματα. Τα υλικά αυτά προσδίδουν όγκο στο μίγμα της ιλύος και συντελούν καθοριστικά στη δημιουργία ικανοποιητικών συνθηκών αερισμού και συγκέντρωσης άνθρακος (C) και αζώτου (N). Μετά το πέρας της διαδικασίας της κομποστοποίησης, η ιλύς, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για πλήθος καλλιεργειών ή, σε ανάμιξη με άλλα υλικά, για τη παρασκευή υποστρωμάτων, προκειμένου αυτά να χρησιμοποιηθούν στην ανθοκομία, λαχανοκομία και κηπουρική (Κουλουμπής κ.ά., 2007).

➤ Χημική επεξεργασία

Η αλκαλική επεξεργασία (Lime treatment) είναι ένας επίσης αποτελεσματικός τρόπος σταθεροποίησης της ιλύος και απαλλαγής της από δυσοσμίες και από παθογόνους μικροοργανισμούς. Αποτελεί χημική μέθοδο επεξεργασίας της ιλύος με άσβεστο (CaO) σε αναλογία περίπου $10\text{-}20 \text{ kg/m}^3$. Με αυτό τον τρόπο δημιουργούνται συνθήκες εξώθερμης αντίδρασης, η οποία έχει ως αποτέλεσμα, αφ' ενός μεν την απότομη αύξηση του pH (11,5-12), οπότε αδρανοποιούνται οι μικροοργανισμοί, αφ' ετέρου δε την απότομη αύξηση της θερμοκρασίας (52°C περίπου), οπότε συμπληρώνεται η αδρανοποίηση των μικροοργανισμών και προκαλείται τεχνητή ξήρανση της ιλύος (Κουλουμπής κ.ά., 2007).

Με την μέθοδο αυτή επεξεργασίας της ιλύος, βελτιώνεται η ικανότητα της για διασπορά διότι αναβαθμίζεται η δομή της, η λιπασματική της ικανότητα και η δυνατότητα γεωργικής της αξιοποίησης. Η μέθοδος αυτή συνιστά ένα αρκετά καλό λειτουργικό υποκατάστατο της κομποστοποίησης, εφαρμόζεται σε αρκετή έκταση σε διεθνή κλίμακα και δίνει καλά αποτελέσματα (Logan, et al., 1995; Akrivos et al., 2000; Tsang et al., 2005). Θα πρέπει ωστόσο να σημειωθεί ότι πολλές φορές η αποτελεσματικότητα της μεθόδου δεν είναι

δεδομένη και η οικονομική πρακτικότητά της αμφισβητείται, λόγω των μεγάλων ποσοτήτων CaO που απαιτούνται για το σκοπό αυτό.

➤ Φυσική επεξεργασία

Η ξήρανση (Thermal drying) ουσιαστικά είναι η διαδικασία εξάτμισης από την αφυδατωμένη ιλύ. Η ιλύς μπορεί να ξεραθεί αρχικά με φυσικό τρόπο σε ανοιχτό χώρο. Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιούταν σε ευρεία κλίμακα στο παρελθόν και είναι ακόμα αποδεκτή αν οι συνθήκες ξήρανσης είναι προβλεπόμενες (Evans et al., 2004). Η διαδικασία ξήρανσης της ιλύος μειώνει την υγρασία και κάνει τη μεταφορά της λιγότερο δαπανηρή και την αποθήκευσή της πιο εύκολη. Επίσης, η ξήρανση αυξάνει την θερμική αξία της ιλύος και την απαλλάσσει από παθογόνους μικροοργανισμούς, δηλαδή τη σταθεροποιεί και βελτιώνει τη δομή της. Σύμφωνα με Γάλλους επιστήμονες, εάν η ιλύ πρόκειται να χρησιμοποιηθεί στη γεωργία προτείνεται η ποσοστό ξήρανσης στο 60% DS ή και περισσότερο.

Υπάρχει μεγάλη ποικιλία σε τεχνικές λύσεις ξήρανσης της ιλύος. Η θερμική ξήρανση δεν αποτελεί οικονομική επεξεργασία της ιλύος, κυρίως λόγω των ενεργειακών της απαιτήσεων. Για το λόγο αυτό μπορεί να χρησιμοποιηθεί είτε βιοαέριο είτε απόβλητα από αποτέφρωση ώστε να μειωθεί η ποσότητα των ορυκτών καυσίμων που δαπανούνται στη θερμική ξήρανση της ιλύος.

Η άμεση ξήρανση (direct drying) της ιλύος προϋποθέτει την άμεση επαφή της ιλύος με κάποιον παράγοντα θέρμανσης. Οι ξηραντές που χρησιμοποιούνται σ' αυτή τη διαδικασία δουλεύουν υπό υψηλές θερμοκρασίες. Το κύριο μειονέκτημα της άμεσης ξήρανσης είναι η σκόνη και οι μικροεκρήξεις της σκόνης που παράγεται κατά την επεξεργασία της ιλύος δημιουργώντας αρκετή ρύπανση. Από την άλλη πλευρά, η έμμεση ξήρανση (indirect drying) της ιλύος παρουσιάζει αρκετά πλεονεκτήματα. Όταν η ιλύς ξηραίνεται με έμμεσο τρόπο, τότε παράγεται λιγότερη σκόνη άρα και η ρύπανση της ατμόσφαιρας ελαττώνεται. Επίσης, μειώνεται η οσμή και η ανακυκλοφορία της ξηρής ιλύος δεν είναι απαραίτητη. Δυστυχώς όμως, οι ξηραντές που χρησιμοποιούνται στην έμμεση ξήρανση της ιλύος δεν

είναι τόσο οικονομικά αποτελεσματικοί από εκείνους που χρησιμοποιούνται στην άμεση ξήρανση (Flaga, 2005).

Στις παραπάνω μεθόδους σταθεροποίησης της ιλύος θα προστεθεί και η καύση (αποτέφρωση). Αποτελεί ταυτόχρονη τεχνική επεξεργασίας και διάθεσης για ιλύ επιβαρημένη με βαρέα μέταλλα. Απαιτεί ειδική εγκατάσταση και αυξημένο κόστος επένδυσης, παράγοντας περιοριστικός για τα ελληνικά δεδομένα. Στερεό απόβλητο αποτελεί η τέφρα, ιπτάμενη τέφρα ή άλλα υλικά της αέριας απορρύπανσης. Κατά την καύση της ιλύος παράγονται αέριοι ρύποι. Συνοπτικά αναφέρονται στον πίνακα 3.9.

Πίνακας 3.9. Αέριοι ρύποι από την καύση της ιλύος

Ρύπος	Εκπομπές / Παρατηρήσεις
Αιωρούμενα σωματίδια (PM),	Εξαρτώνται από τον τύπο του αποτεφρωτή. Αυξάνουν με την υγρασία και το ποσοστό των πτητικών στην ιλύ.
Μέταλλα και ενώσεις τους	Εξαρτώνται από την περιεκτικότητα στην ιλύ, την θερμοκρασία του θαλάμου καύσης και τις εκπομπές των PM. Καθώς τα περισσότερα μέταλλα (εκτός του πτητικού υδραργύρου) επικάθονται στα PM, η απομάκρυνση τους εξαρτάται από την καλή αποκονίωση.
Μονοξείδιο του άνθρακα (CO)	Σχηματίζεται στις περιπτώσεις που ο αέρας καύσης είναι χαμηλότερος του στοιχειομετρικά απαιτούμενου, ή όταν υπάρχει πολύ υψηλή περισσεια, με αποτέλεσμα την ταπείνωση της θερμοκρασίας καύσης.
NO _x , SO ₂	Εξαρτώνται από την εκάστοτε ποιότητα της ιλύος καθώς και από της εποχιακές της μεταβολές.
TOC (VOC)	Εξαρτάται Κυρίως από τον τύπο του αποτεφρωτήρα και τις θερμοκρασιακές συνθήκες της αποτέφρωσης.
HCl, HF, οργανοχλωριωμένες ενώσεις	Εξαρτώνται από την αρχική περιεκτικότητα στην ιλύ, τις συνθήκες καύσης και την αποτελεσματικότητα της αέριας αντιρρύπανσης.

Πηγή: U.S. EPA, July 1995

57

➤ Απολύμανση

Η αεροβική χώνευση της ενεργού ιλύος με χρόνο παραμονής στους χωνευτές 40 ημέρες και θερμοκρασία 20° C οδηγεί σε ικανοποιητικά επίπεδα ασφαλείας τον πληθυσμό των κολίμορφων εντεροβακτηρίων (coliforms) που είναι μικροοργανισμοί δείκτες και κατά συνέπεια και των παθογόνων μικροοργανισμών. Μείωση των παθογόνων δεικτών σε ποσοστό 70-99% πραγματοποιείται σε 10 μέρες στη θερμοκρασία των 20° C. Περισσότερη μικροβιακή δραστηριότητα παρατηρείται στα γεωργικά εδάφη. Μία πιθανή αιτία της καταστροφής των παθογόνων μικροοργανισμών είναι η υψηλή τάση ηλεκτρικού ρεύματος

που εφαρμόζεται στην επεξεργασία της χώνευσης (200-700 mill volt). Στην αεροβική χώνευση καταστρέφεται μέρος μόνο των σπορίων των παθογόνων μικροοργανισμών. Ο αριθμός των σπορίων που απομένουν είναι μερικές εκατοντάδες στο ένα κιλό και μπορούν να επιβιώσουν για μεγάλο χρονικό διάστημα. Τα σπόρια καταστρέφονται στη θερμική χώνευση της ιλύος στους 50° C για δύο ώρες ή στους 60°C για μερικά λεπτά ή στους 70°C για μερικά δευτερόλεπτα (Izrail, 2001). Συνοπτικά, οι εφαρμοζόμενες μέθοδοι απολύμανσης της ιλύος παρουσιάζονται στον πίνακα 3.10 (Κάρτσωνας, 2005).

Πίνακας 3.10. Αποδοτικότητα μεθόδων απολύμανσης της ιλύος

Μέθοδοι Σταθεροποίησης της ιλύος	Βέλτιστες Συνθήκες
Πολύ αποτελεσματικές μέθοδοι ως προς την απολύμανση	
Θερμική ξήρανση	> 80°C
Θερμοφιλική αναερόβια χώνευση	55°C (10 ημέρες)
Θερμοφιλική αερόβια χώνευση	55°C (10 ημέρες)
Κομποστοποίηση	50°C – 60°C (15– 30 ημέρες)
Παστερίωση	70 – 80°C (30 min)
Επεξεργασία με ασβέστη	pH 12 (10 ημέρες)
Λιγότερο ή λίγο αποτελεσματικές μέθοδοι ως προς την απολύμανση	
Μεσοφιλική αναερόβια χώνευση	35°C (20 ημέρες)
Ψυχοφιλική αναερόβια χώνευση	20°C (30 ημέρες)
Ψυχοφιλική αερόβια χώνευση	20°C (30 ημέρες)

Πηγή: Κάρτσωνας, (2005)

Οι κυριότερες μέθοδοι σταθεροποίησης της ιλύος διακρίνονται κυρίως σε βιολογικές, και χημικές, όπως αποτυπώνονται και στον πίνακα 3.11.

Πίνακας 3.11. Συνοπτική παρουσίαση των κυριότερων μεθόδων σταθεροποίησης ιλύος αστικών λυμάτων στην Ελλάδα

Μέθοδος σταθεροποίησης	Συνθήκες	Φάση	Ενεργειακοί όροι	Διαδικασίες	Περιοχή εφαρμογής
	Αερόβιες	Υγρή φάση	ΧΔΑ	Παρατεταμένος αερισμός	Σημαντική. Μικρά ΚΕΔ
			ΜΔΑ	Αερόβια θερμοφιλική σταθεροποίηση	Μικρή. Θετικές προοπτικές εξέλιξης

		Αφυγρανθείσα φάση	ΜΔΑ	Κομποστοποίηση σε βιοαντιδραστήρες	Μικρή. Μικρά έως μεσαία ΚΕΛ
	Αναερόβιες	Υγρή φάση	ΧΕΘ	Emscher Brunnen	Σημαντική. Μικρά ΚΕΛ
				Ανοικτές δεξαμενές ζύμωσης με αυτόνομη θέρμανση	Δεν εφαρμόζεται πλέον
			ΜΕΘ	Κλειστές δεξαμενές ζύμωσης με αυτόνομη θέρμανση	Μεγάλη. Σε μεσαία έως μεγάλα ΚΕΛ
Χημική	Αερόβιες	Υγρή φάση	ΜΕΕ	Υγρή οξείδωση	Πολύ μικρή
		Ξηρή φάση	Μ/Χ ΕΕ	Καύση / Αποτέφρωση	Πολυδάπανη μέθοδος
Χημική *	[Αερόβιες]	Αφυγρανθείσα φάση	ΠΞΥ	Σταθεροποίηση με ασβέστη	Μέθοδος με επιφυλάξεις

ΧΔΑ: Χωρίς δραστική αυτοθέρμανση

ΜΔΑ: Με δραστική αυτοθέρμανση

ΧΕΘ: Χωρίς εξωτερική θέρμανση

ΜΕΘ: Με εξωτερική θέρμανση

ΜΕΕ: Με εξωτερική ενέργεια

Μ/Χ ΕΕ: Με / χωρίς εξωτερική ενέργεια

ΠΞΥ: Πρόσθεση εξωτερικών υλικών

* Ισχυρή αύξηση του pH

Πηγή: Κουλουμπής κ.ά., (2007)

3.3 Νομοθετικό πλαίσιο

Γενικά, η υφιστάμενη νομοθεσία για την ιλύ, ευρωπαϊκή και ελληνική, εστιάζεται κυρίως στη χρήση ιλύος στη γεωργία. Άλλες χρήσεις ή τρόποι διάθεσης της ιλύος, προς το παρόν, εμπίπτουν σε πιο γενικές διατάξεις που σχετίζονται με την διαχείριση αποβλήτων. Παρακάτω αναφέρεται συνοπτικά η ευρωπαϊκή αρχικά νομοθεσία και κατόπιν ακολουθεί η εθνική νομοθεσία για την αξιοποίηση της ιλύος στη γεωργία.

Α) Επισκόπηση Ευρωπαϊκής Νομοθεσίας

Παρόλο που αρκετές Οδηγίες έχουν επίδραση στη διαχείριση ιλύος (όπως η 1999/31/EC περί υγειονομικής ταφής), αυτές που θεωρούνται σημαντικότερες είναι οι 86/278/EC και οι 91/271/EC. Η Οδηγία 86/278/EC καθορίζει οριακές τιμές συγκέντρωσης βαρέων μετάλλων στο έδαφος και στην ιλύ, καθώς επίσης και οριακές τιμές για τις ποσότητες βαρέων μετάλλων που μπορούν να εισάγονται στο έδαφος σε ετήσια βάση. Οι υπόλοιπες σημαντικές Οδηγίες του ευρωπαϊκού νομοθετικού πλαισίου που αναφέρονται, άμεσα ή έμμεσα στη χρησιμοποίηση της ιλύος των αστικών λυμάτων, μπορούν να συνοψισθούν περιληπτικά ως εξής:

- Οδηγία 86/278/ΕΟΚ
- Οδηγία 91/271/ΕΟΚ
- Οδηγία 1999/30/ΕΚ
- Οδηγία 1999/31/ΕΚ
- Οδηγία 2000/60/ΕΚ
- Οδηγία 2000/76/ΕΚ
- Απόφαση 2001/2455/ΕΚ¹⁴ (Κουλουμπής κ.ά., 2007).

Τα κράτη μέλη μπορούν να θεσπίζουν μέτρα αυστηρότερα από τα προβλεπόμενα στην Οδηγία 86/278/EC. Σύμφωνα με Έκθεση της ΕΕ (2001), οι εθνικές νομοθεσίες αρκετών μελών είναι πιο αυστηρές από τις απαιτήσεις της 86/278/EC (Πίνακας 3.12).

Πίνακας 3.12 Εθνικές Νομοθεσίες σε σχέση με την 86/278/EC

Εθνικές προδιαγραφές σε σύγκριση με αυτές της ΕΕ	
Πολύ πιο αυστηρές	Δανία, Φινλανδία, Σουηδία, Ολλανδία
Πιο αυστηρές	Αυστρία, Βέλγιο, Γαλλία, Γερμανία, Πολωνία
Παρόμοιες	Ελλάδα, Ιρλανδία, Ιταλία, Λουξεμβούργο, Πορτογαλία, Ισπανία, Μ. Βρετανία, Εσθονία, Λιθουανία

Πηγή: European Commission, 2002

Ήδη έχει συνταχθεί το 3ο Σχέδιο Αναθεώρησης της Οδηγίας 86/278/EC στο οποίο

¹⁴ Αναλυτικότερα οι Οδηγίες στο Παράρτημα 1.

προτείνονται:

- Αυστηρότερες οριακές τιμές όσον αφορά τα βαρέα μέταλλα
- Οριακές τιμές σχετικά με τους οργανικούς ρυπαντές
- Περιορισμοί όσον αφορά το μικροβιολογικό φορτίο της ιλύος

Β) Επισκόπηση Ελληνικής Νομοθεσίας

Με την ΚΥΑ 80568/4225/91 ενσωματώθηκε στην Ελληνική νομοθεσία η Οδηγία 86/278/EC, χωρίς τροποποιήσεις. Έχει γίνει μόνο προσθήκη ορίων για το χρώμιο, δηλαδή 500 mg/kg ξηράς ουσίας για το Cr(III) και 10 mg/kg ξηρού για το Cr(VI). Στη ΚΥΑ 114218/1997 καθορίζονται Τεχνικές Προδιαγραφές διαχείρισης της ιλύος από εγκαταστάσεις επεξεργασίας. Ειδικότερα προδιαγράφονται οι μέθοδοι επεξεργασίας της ιλύος (πάχυνση, χώνευση, αφυδάτωση, ξήρανση, καύση και κομποστοποίηση ιλύος). Όσον αφορά στη διάθεση της ιλύος από εγκαταστάσεις επεξεργασίας αστικών λυμάτων προδιαγράφεται μόνο η διάθεση της ιλύος στη γεωργία, παραπέμποντας πρακτικά στην ΚΥΑ 80568/4225/91.

Με την ΚΥΑ 50910/2727/2003 εντάσσεται στη ελληνική νομοθεσία ο Ευρωπαϊκός Κώδικας Αποβλήτων (ΕΚΑ), σύμφωνα με τον οποίο α) τα απόβλητα από τον καθαρισμό λυμάτων και β) η λάσπη σηπτικής δεξαμενής, εντάσσονται στο Κεφάλαιο 20 ως δημοτικά απόβλητα και γίνονται δεκτά σε ΧΥΤΑ. Με την ίδια ΚΥΑ καθορίζεται ο Εθνικός Σχεδιασμός Διαχείρισης των μη επικίνδυνων αποβλήτων στα οποία περιλαμβάνεται και η ιλύς από ΕΕΛ. Κύριος στόχος του Εθνικού Σχεδιασμού για την ιλύ από ΕΕΛ είναι η επίτευξη υψηλού ποσοστού αξιοποίησης με αντίστοιχη μείωση του ποσοστού τελικής διάθεσης. Οι δράσεις μέσω των οποίων μπορεί να γίνει η αξιοποίηση της ιλύος είναι:

- Απευθείας χρήση σε αγροτικές εφαρμογές, σύμφωνα με τους περιορισμούς της ΚΥΑ 80568/4225/91
- Επανένταξη στο φυσικό περιβάλλον τραυματισμένων και φυσικών ανάγλυφων, υπό την προϋπόθεση ότι η ιλύς θα είναι σταθεροποιημένη ή θα έχει υποστεί συν-επεξεργασία με άλλα μη επικίνδυνα βιοαποικοδομήσιμα απόβλητα, όπως το οργανικό κλάσμα των αστικών αποβλήτων.
- Ξήρανση της ιλύος και χρήση αυτής ως καυσίμου ύλης (Κάρτσωνας, 2005).

Υπό ελληνικές συνθήκες, ενώ ρυθμίζονται για τις περιπτώσεις της γεωργικής χρησιμοποίησης της ιλύος, βάσει των ΚΥΑ 50910/2727/2003 και ΚΥΑ 80568/4225/1991, διάφορα θέματα, δεν παρέχονται καθόλου πληροφορίες αναφορικά με το ερώτημα, σε ποιες καλλιέργειες επιτρέπεται να εφαρμόζεται η ιλύς, προκειμένου να καθίσταται δυνατή η αξιοποίησή της, χωρίς όμως να επιβαρύνεται το περιβάλλον και να τίθεται σε κίνδυνο η δημόσια υγεία.

Κατά τη διάρκεια αυτού του Προγράμματος Δράσης, προβλέπεται η επεξεργασία επτά θεματικών στρατηγικών, οι οποίες έχουν ως εξής:

- Πρόληψη της δημιουργίας και ανακύκλωση των αποβλήτων
- Διατήρηση του εδάφους
- Αειφόρος χρησιμοποίηση των πόρων
- Ατμοσφαιρική ρύπανση
- Προστασία του θαλάσσιου περιβάλλοντος
- Ορθολογική χρησιμοποίηση φυτοφαρμάκων
- Αστικό Περιβάλλον

Στη περίπτωση της ορθολογικής αξιοποίησης της ιλύος των αστικών λυμάτων στη γεωργία, βρίσκουν εφαρμογή, άμεση ή έμμεση, οι πρώτες 4 θεματικές στρατηγικές. (Κουλουμπής κ.ά., 2007). Επιπλέον, εντός του εβδόμου προγράμματος-πλαισίου για την έρευνα και την τεχνολογική ανάπτυξη (2007-2013) περιλαμβάνεται σκέλος, το οποίο επιτρέπει την υποστήριξη των ερευνητικών δράσεων για την προστασία και τις λειτουργίες του εδάφους¹⁵.

Κεφάλαιο 4^ο : Τύποι και χαρακτηριστικά ιλύος αστικών λυμάτων

4.1 Είδη και χαρακτηριστικά ιλύος

Είδη ιλύος

Ανάλογα με το στάδιο επεξεργασίας των λυμάτων διακρίνονται οι ακόλουθες κατηγορίες ιλύος:

¹⁵ Πηγή: <http://europa.eu.int>

1. Πρωτοβάθμια ιλύς. Παράγεται κατά την πρωτοβάθμια επεξεργασία των λυμάτων. Το στάδιο αυτό περιλαμβάνει την εσχάρωση, την αφαίρεση της άμμου ή των επιπλεόντων υλικών, την λιποσυλλογή και την πρωτοβάθμια καθίζηση. Στόχος είναι η απομάκρυνση των αιωρούμενων στερεών με καθίζηση σε ποσοστό 50–70%. Παράλληλα πραγματοποιείται και μείωση του οργανικού φορτίου κατά ποσοστό 25–40% (Werther and Ogada, 1999). Δυστυχώς, η πρωτοβάθμια επεξεργασία δεν εφαρμόζεται πολλές φορές και τα λύματα καταλήγουν μετά την προεπεξεργασία απευθείας στην δευτεροβάθμια επεξεργασία (Κουλουμπής κ.ά., 2007)
2. Βιολογική ιλύς. Παράγεται κατά την δευτεροβάθμια επεξεργασία. Στόχος του σταδίου αυτού είναι η βιολογικά απομάκρυνση της οργανικής ύλης των λυμάτων από μικροοργανισμούς και κατόπιν στο διαχωρισμό των βιολογικών στερεών από τα επεξεργασμένα λύματα. Ο βαθμός απομάκρυνσης των οργανικών στερεών μπορεί να φτάσει το 95%. Στο στάδιο αυτό πραγματοποιείται σχεδόν πλήρης απομάκρυνση των αιωρούμενων στερεών και του BOD και κατά περίπτωση μπορεί να γίνει και απομάκρυνση αζώτου και φωσφόρου (Ανδρεαδάκης κ.ά., 2001). Μετά τη δευτεροβάθμια επεξεργασία τα καθαρισμένα απόβλητα μπορεί να διατεθούν ακίνδυνα στον υδάτινο αποδέκτη εάν αυτός δεν έχει κριθεί ιδιαίτερα ευαίσθητος (Στάμου, 1995)
3. Μικτή ιλύς, η οποία αποτελεί ένα μίγμα πρωτοβάθμιας και βιολογικής ιλύος
4. Τριτοβάθμια ιλύς. Παράγεται κατά την τριτοβάθμια επεξεργασία των λυμάτων. Τριτοβάθμια επεξεργασία πραγματοποιείται σε μια Ε.Ε.Λ όταν τα επεξεργασμένα απόβλητα διοχετεύονται σε έναν αποδέκτη. Υπάρχει όμως ο κίνδυνος ευτροφισμού ή λειτουργικά προβλήματα στην Ε.Ε.Λ (ανύψωση ή διόγκωση της λάσπης) (Στάμου, 1995; Evans et al., 2004; EC, 2001). Η επεξεργασία αυτή είναι πολυδάπανη και περιλαμβάνει πολλά επί μέρους στάδια, όπως απολύμανση και ραφινάρισμα, απομάκρυνση αζώτου και φωσφόρου (Κουλουμπής κ.ά., 2007).

Η ιλύς που παράγεται από τις εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων (ΕΕΛ) υπόκειται σε πρόσθετη επεξεργασία, με στόχο α) τη μείωση της περιεκτικότητας νερού που περιέχει, β) τη σταθεροποίηση του τελικού προϊόντος και γ) την απομάκρυνση των παθογόνων μικροοργανισμών (Κάρτσωνας, 2005). Προκειμένου να αξιοποιηθεί η ιλύς σε οποιοδήποτε τομέα, είναι άκρως απαραίτητο να είναι γνωστή η σύστασή της.

Χαρακτηριστικά της ιλύος

Είναι γνωστό ότι τα ποιοτικά χαρακτηριστικά της ιλύος αποτελούν απαραίτητο στοιχείο για τον καθορισμό ενός σχεδίου διαχείρισης της ιλύος. Και αυτό γιατί, επηρεάζουν σημαντικά τις εναλλακτικές μεθόδους διάθεσης και επαναχρησιμοποίησης της ιλύος. Συγκεντρωτικά στοιχεία για την ποιότητα της ιλύος που παράγεται σε Ε.Ε.Λ. στην Ελλάδα αναφέρονται μόνο σε μια ερευνητική εργασία που εκπονήθηκε από το Εργαστήριο Υγειονομικής Τεχνολογίας (ΕΥΤ), του Ε.Μ.Π. και κάλυπτε 18 μεγάλες εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων στην Ελλάδα. Με βάση τα στοιχεία αυτά οι περισσότερες ΕΕΛ παράγουν ιλύ ικανοποιητικής ποιότητας με υψηλή λιπαντική αξία. Το μεγαλύτερο ποσοστό των ιλύων περιείχαν υψηλές συγκεντρώσεις αζώτου και φωσφόρου και παρόμοιες των τιμών αζώτου και φωσφόρου που αναφέρονται στη διεθνή βιβλιογραφία. Οι περισσότερες ΕΕΛ, με εξαίρεση το ΚΕΛ Ψυττάλειας, παράγουν ιλύ με ικανοποιητικά ποιοτικά χαρακτηριστικά που βρίσκονται εντός των ορίων που θέτουν οι ευρωπαϊκοί και αμερικανικοί κανονισμοί για διάθεση της ιλύος στη γεωργία. Θα πρέπει να τονισθεί όμως ότι αυτή η εικόνα είναι πιθανόν να αλλάξει αν εφαρμοσθούν τα όρια που εξετάζονται στην υπό διαμόρφωση νέα Οδηγία της Ε.Ε. (Αγγελάκης κ.ά., 2005).

Τα χημικά, φυσικά και βιολογικά χαρακτηριστικά της ιλύος εξαρτώνται από τρεις παράγοντες:

1. Το ρυπαντικό φορτίο των προς επεξεργασία λυμάτων,
2. Το είδος της επεξεργασίας των λυμάτων,
3. Την επεξεργασία της ιλύος (Evans et al., 2004)

Τα τυπικά χαρακτηριστικά της ιλύος παρουσιάζονται στον πίνακα 4.1. Επίσης, στον πίνακα 4.2 αναφέρονται οι μέσοι όροι για διάφορα επί μέρους χαρακτηριστικά της ποιότητας ιλύος από ΚΕΛ της χώρας (Κουλουμπής κ.ά., 2007).

Πίνακας 4.1. Τυπικά χαρακτηριστικά ιλύος ανάλογα με τον βαθμό επεξεργασίας

Κατηγορία ιλύος	A	B ₁	B ₂	C	D
Ξηρά Ουσία (DS) [kg/m ³]	12	9	7	10	30
Πτητική Ουσία (VS) [% DS]	65	67	77	72	50
pH	6	7	7	6,5	7
C [%VS]	51,5	52,5	53	51	49
H [%VS]	7	6	6,7	7,4	7,7
O [%VS]	35,5	33	33	33	35
N [%VS]	4,5	7,5	6,3	7,1	6,2
C/N	11,4	7,0	8,7	7,2	7,9
P [%DS]	2	2	2	2	2
Cl [%DS]	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8
K [%DS]	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Al [%DS]	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Ca [%DS]	10	10	10	10	10
Fe [%DS]	2	2	2	2	2
Mg [%DS]	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6
Λίπη [%DS]	18	8	10	14	10
Πρωτεΐνες [%DS]	24	36	34	30	18
Θερμική ισχύς [kWh/t DS]	4.200	4.100	4.800	4.600	3.000

Πηγή: Αγγελάκης κ.ά. (2005), Κάρτσωνας (2005)

A : πρωτοβάθμια ιλύς,

B₁ : βιολογική ιλύς (χαμηλή φόρτιση >0,20 kg BOD₅/kg MLSS,

B₂ : βιολογική ιλύς (υψηλή και μέση φόρτιση <0,20 kg BOD₅/kg MLSS),

C : μικτή ιλύς (πρωτοβάθμια και βιολογική),

D : χωνευμένη ιλύς

Πίνακας 4.2. Μέσοι όροι για επί μέρους χαρακτηριστικά της ποιότητας ιλύος

A/A	Παράμετρος	Andreadakis et al., 2002	Kouloumbis et al., 2000
1	Συνολικά στερεά %	23,21	
2	Πτητικά στερεά % ΞΥ	55,33	57,45
3	Άζωτο % ΞΥ	7,94	4,05
4	Φωσφόρος % ΞΥ	3,97	1,92

Πηγή: Κουλουμπής κ.ά., (2007)

4.2 Ιλύς μονάδων επεξεργασίας αστικών λυμάτων και παράμετροι ποιότητας

4.2.1 Φυσικές και χημικές παράμετροι

Γενικά, η ιλύς των λυμάτων περιέχει συστατικά με γεωργική αξία, όπως η οργανική ύλη, το άζωτο, ο φώσφορος, το κάλιο και σε μικρότερη κλίμακα το ασβέστιο, το θείο και το μαγνήσιο (Κάρτσωνας, 2005). Επιπρόσθετα, η περιεκτικότητα σε βαρέα μέταλλα, φυτοφάρμακα και υδρογονάνθρακες, πρέπει να προσδιορίζονται όταν η βιολογική ιλύ πρόκειται να αξιοποιηθεί στη γεωργία ή να αποτεφρωθεί. Επίσης, το ενεργειακό (θερμικό) περιεχόμενο της ιλύος χρήζει μελέτης όταν πραγματοποιούνται επεξεργασίες όπως η αεριοποίηση, η πυρόλυση, η κομποστοποίηση και η υγρή οξείδωση (Hall, 1995).

Φυσικά χαρακτηριστικά της ιλύος

Το pH και η υγρασία είναι σημαντικοί φυσικοί παράμετροι της ιλύος. Σύμφωνα με τον Metcalf (1991), ο έλεγχος του pH, της αλκαλικότητας και οργανικού περιεχομένου της ιλύος είναι μια σημαντική παράμετρος στη διαδικασία της αναερόβιας χώνευσης της ιλύος. Η υγρασία της ιλύος συγκεκριμένα, πρέπει να κυμαίνεται από 60% έως 70% . Επίσης, οι τιμές του pH να είναι μεταξύ 5 και 8 μονάδων. Αν η περιεκτικότητα της υγρασίας στην ιλύ είναι χαμηλή τότε υπάρχει ο κίνδυνος να παρεμποδιστεί η επεξεργασία της κομποστοποίησης (Zessner et al., 1999).

Η οργανική ύλη χρησιμοποιείται κυρίως ως εδαφοβελτιωτικό. Τα πλεονεκτήματα της εφαρμογής της στη γεωργία είναι η βελτίωση των φυσικών ιδιοτήτων του εδάφους εμπλουτίζεται με μεταλλικά στοιχεία και νερό (European Communities, 2001).

Χημικά συστατικά ιλύος

Η περιεκτικότητα του αζώτου (N) στην αστική αφυδατωμένη ιλύ κυμαίνεται από 1-3,5 % DM, ενώ ο φώσφορος (P) από 0,9 έως 5,2 DM (European Communities, 2001). Η σημασία της ιλύος ως λίπασμα, οφείλεται κυρίως στον φώσφορο και στο άζωτο που ως γνωστό αποτελούν τα δύο από τα τρία βασικά στοιχεία (μακροστοιχεία) θρέψης που λαμβάνει το φυτό από το έδαφος (Λαμπράκης κ.ά., 2002).

Αξίζει να τονισθεί ότι όση περισσότερη αμμωνία υπάρχει στην υγρή φάση της ιλύος, τόση περισσότερη θα μετατραπεί κατά τη διάρκεια της πάχυνσης και της αφυδάτωσης. Το άζωτο (N) της ιλύος που εφαρμόζεται στο έδαφος υπόκειται σε σειρά βιοχημικών και φυσικοχημικών διαδικασιών, οι οποίες συνολικά εκφράζονται με τον κύκλο του N, ο

οποίος επηρεάζονται ισχυρά από τη θερμοκρασία, την υγρασία, τον αερισμό και την οξύτητα του εδάφους. Η διαμορφούμενη σχέση C/N χαρακτηρίζει το βαθμό ανοργανοποίησης του N της ιλύος (Κουλουμπής κ.ά., 2007).

Ο φώσφορος χρησιμοποιείται στη γεωργία για τις ευεργετικές του ιδιότητες στην ανάπτυξη των φυτών. Ο φώσφορος στην ιλύ βρίσκεται σε μορφή ανόργανη (mineral form) και αντιπροσωπεύει από 30-98% του συνολικού φωσφόρου ανάλογα με τον τύπο της ιλύος. Έχει παρατηρηθεί επίσης ότι στην κομποστοποιημένη ιλύ το ποσοστό του φωσφόρου είναι μικρότερο από αυτό στην μη-κομποστοποιημένη ιλύ. Μάλιστα, σε αντίθεση με το άζωτο, η περιεκτικότητα του φωσφόρου δεν μειώνεται σημαντικά στην αποθήκευση της ιλύος (European Communities, 2001).

Λόγω των μεγάλων ποσοτήτων αζώτου και φωσφόρου που περιέχονται στην ιλύ, εάν δεν γίνει ορθή διαχείρισή της μπορεί να δημιουργηθούν σοβαρά προβλήματα στο περιβάλλον, μέσω των διαρροών αζώτου στην ατμόσφαιρα με την εξαέρωση της αμμωνίας και την απονιτροποίηση και τις απώλειες των νιτρικών και των φωσφορικών μέσω επιφανειακής απορροής (Κουλουμπής κ.ά., 2007).

Όπως προαναφέρθηκε στο κεφάλαιο 3, η αλκαλική μέθοδος επεξεργασίας της ιλύος χρησιμοποιείται για να σταθεροποιήσει την ιλύ. Για να φτάσει η επεξεργασία σε ένα ικανό επίπεδο σταθεροποίησης συνιστάται η προσθήκη περίπου 30 % οξειδίου του ασβεστίου (Lime) στην ξηρά ύλη. Η επεξεργασία αυτή δημιουργεί ένα προϊόν πλούσιο σε CaO, το οποίο μπορεί να είναι χρήσιμο σε ορισμένα εδάφη. Είναι όμως απαραίτητο πριν την πρόσθεση του οξειδίου του ασβεστίου να προηγηθεί ανάλυση της ιλύος. Μελέτες πεδίου έδειξαν ότι η προσθήκη στην επεξεργασία της ιλύος έχει θετικά αποτελέσματα στο pH, στη δομή και στην διαπερατότητα του εδάφους (European Communities, 2001).

Άλλα χημικά στοιχεία που συναντώνται στην ιλύ όπως, το κάλιο, το θείο, το μαγνήσιο, το νάτριο (potassium, sulphur, magnesium, sodium) και ιχνοστοιχεία όπως το βόριο, κοβάλτιο, σελήνιο, ιώδιο (boron, cobalt, selenium, iodine), θεωρούνται χρήσιμα για την ανάπτυξη των φυτών στη γεωργία (European Communities, 2001). Γενικά, η περιεκτικότητα της ιλύος σε κάλιο (K) είναι χαμηλή, ενώ οι ποσότητες θείου (S), ασβεστίου (Ca), μαγνησίου (Mg), ψευδαργύρου (Zn), χαλκού (Cu), σιδήρου (Fe), βορίου (B) και μαγγανίου (Mn), είναι σημαντικές (Κουλουμπής κ.ά., 2007). Η αποδοτικότητά τους

στο έδαφος εξαρτάται από την περιεκτικότητά τους στα εδάφη στα οποία προστίθεται η ιλύς. Η γεωργική τους αξία που σχετίζεται με τη διαθεσιμότητά τους στην ιλύ, δεν έχει ακόμα εκτενώς μελετηθεί (European Communities, 2001).

Βαρέα μέταλλα

Η ιλύς περιέχει συχνά σημαντικές ποσότητες βαρέων μετάλλων όπως κάδμιο, χρώμιο, ψευδάργυρο, χαλκό, υδράργυρο, νικέλιο και μόλυβδο που αποτελούν δυνητικές τοξικές ουσίες για τα φυτά και τους ζωντανούς οργανισμούς. Ανάλογα με την τοξικότητά τους τα βαρέα μέταλλα διακρίνονται σε δύο κατηγορίες:

1. Βαρέα μέταλλα, όπως ο χαλκός, ψευδάργυρος, νικέλιο και χρώμιο που είναι τοξικά για τα φυτά και μπορούν να προκαλέσουν σημαντική μείωση στην γεωργική παραγωγή και
2. Βαρέα μέταλλα, όπως ο μόλυβδος, κάδμιο και υδράργυρος που υπό κανονικές συνθήκες δεν αναχαιτίζουν την ανάπτυξη των φυτών αλλά μπορεί να προκαλέσουν σημαντικές οργανικές βλάβες στους ανθρώπους και τα ζώα που καταναλώνουν τα φυτά

Υπάρχουν τρεις κύριες πηγές βαρέων μετάλλων στην ιλύ των λυμάτων: α) τα αστικά λύματα, β) οι απορροές των δρόμων και γ) τα βιομηχανικά απόβλητα. Η διαθεσιμότητα των ανόργανων χημικών για κατανάλωσή τους από τα φυτά και συνεπώς και η κυκλοφορία τους στο έδαφος, καθώς και η ρύπανση των υπογείων υδάτων εξαρτάται από αντιδράσεις δημιουργίας συμπλοκών με οργανική ύλη, προσρόφησης και χημικής κατακρήμνισης. Οι αντιδράσεις χημικής κατακρήμνισης περιλαμβάνουν την δέσμευση των βαρέων μετάλλων σε αδιάλυτα θειούχα, φωσφορούχα ή ανθρακικά άλατα και σε οξείδια ή υδροξείδια με πολύ μικρή διαλυτότητα. Η βιοδιαθεσιμότητα των ιχνοστοιχείων εξαρτάται από τα χαρακτηριστικά του εδάφους και το pH. Τα περισσότερα μέταλλα είναι λιγότερο διαλυτά και συνεπώς λιγότερο διαθέσιμα στα φυτά σε ουδέτερο ή αλκαλικό pH (Ανδρεαδάκης, 2001).

Παρά την σημαντική διαθέσιμη γνώση σχετικά με την μεταφορά τοξικών ανόργανων ουσιών στην τροφική αλυσίδα τα στοιχεία δεν είναι επαρκή για την στήριξη ενός Κανονισμού διάθεσης ιλύων στο έδαφος με πειστικότητα. Χαρακτηριστικό της

διαπίστωσης αυτής είναι οι μεγάλες διαφορές μεταξύ των ορίων συγκεντρώσεων που συνιστούν ή επιβάλλουν οι Κανονισμοί της Ευρωπαϊκής Ένωσης (Κατευθυντήρια Οδηγία 86/278 της ΕΕ) των ΗΠΑ (EPA) για ιλύ άριστης ποιότητας (ποιότητα Α), της Γερμανίας, της Σουηδίας, της Ολλανδίας και της Δανίας. Τα όρια παρουσιάζονται στον πίνακα 4.3 που ακολουθεί.

**Πίνακας 4.3. Μέγιστες συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων (mg/kg dry wt)
για γεωργική διάθεση της ιλύος**

Στοιχείο	ΕΕ	Γερμανία	Σουηδία	Ολλανδία	Δανία	ΗΠΑ
Cd	20-40	5-10	4*	1,25	0,8	39
Cu	1000-1750	800	1200*	75	1000	1500
Ni	300-400	200	50	38	30	420
Pb	750-1200	1000	200*	225	120	300
Zn	2500-4000	2000	800	300	4,000	2800
Hg	16-25	6-10	5*	0,75	0,8	17
Cr	-	900	100	75	100	1200

Πηγή: National Research Council, (1996), Ανδρεαδάκης, (2001)

Οι μέσες συγκεντρώσεις των βαρέων μετάλλων στην ιλύ σε διάφορες χώρες της Ευρώπης, καθώς επίσης και οι οριακές τιμές που καθορίζονται με την Οδηγία 86/278/EC και την προβλεπόμενη αναθεώρησή της παρουσιάζονται στον πίνακα 4.4. Γενικά, σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων χωρίς μεγάλη συνιστώσα των βιομηχανικών αποβλήτων δεν αναμένονται υπερβάσεις των παραπάνω οριακών τιμών. Η βιομηχανία είναι η κύρια πηγή συνθετικών οργανικών ενώσεων στα λύματα και κατ' επέκταση στην ιλύ (Επιτροπή των Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων, 2003, Κάρτσωνας, 2005).

**Πίνακας 4.4. Μέση συγκέντρωση βαρέων μετάλλων στην ιλύ [mg/kgDS]
(1998 – 2000)**

Στοιχείο	Cd	Cr	Cu	Hg	Ni	Pb	Zn
Οδηγία 86/271	20 - 40		1.000 - 1.750	16 - 25	300 - 400	750 - 1.200	2.500 - 4.000
Αναθεώρηση της 86/271	10	1.000	1.000	10	300	750	2.500
Ελλάδα	0,80 - 4,10	21 - 123	117 - 580		31 - 160	83 - 450	618 - 3448
Αυστρία	0,65 - 6,4	34 - 240	114 - 244	0,6 - 1,3	19 - 54	32 - 78	539 - 961
Βέλγιο	1,7 - 3,8	76 - 94	186 - 359	1,2 - 1,9	30 - 49	121 - 204	953 - 1236
Δανία	1,35 - 1,4	24,6 - 25,2	220 - 242	0,9 - 1	20,2 - 20,5	47,2 - 49,8	650 - 686
Φινλανδία	0,9	44 - 52	145 - 273	0,5 - 0,7	21 - 28	11 - 23	286 - 473
Γαλλία	1,9	44	297	1,9	27	85	677
Γερμανία	1,3 - 1,4	41 - 49	289 - 302	0,9 - 1	27 - 28	60 - 63	820 - 835
Ιρλανδία	0,8 - 2,6	165	195 - 333	0,1 - 1	18 - 39	61 - 108	418 - 568
Ιταλία	2,5 - 2,9	72 - 104	247 - 293	1 - 1,4	37 - 54	87 - 95	741 - 798
Λουξεμβούργο	1,7 - 2	49 - 63	262 - 317	1,9 - 5	31 - 51	114 - 131	1632 - 1736
Ολλανδία	0,37	21	31	0,18	11	11	148
Πορτογαλία	0,54	18	32	0,17	9	18	139
Ισπανία	2,1 - 6,5	135 - 238	277 - 303	1,2 - 2,1	46 - 59	104 - 212	883 - 959
Σουηδία	0,4 - 2,9	20 - 99	32 - 454	0,18 - 4,6	9 - 39	14 - 98	131 - 1440
Μεγάλη Βρετανία	0,9 - 3,4	25 - 113	393 - 512	0,8 - 5,2	16 - 52	31 - 204	455 - 1670

Πηγή: Επιτροπή των Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων, (2003), Κάρτσωνας, (2005)

Η προοπτική της μείωσης των ανώτατων επιτρεπόμενων ορίων βαρέων μετάλλων που περιλαμβάνονται στην Οδηγία 86/278/EC στο άμεσο μέλλον, ενδιαφέρει ιδιαίτερα την ελληνική πραγματικότητα. Και τούτο γιατί η αναθεώρηση επιβάλλει να εφαρμοστούν σε σημαντικό βαθμό τα μέτρα που είναι απαραίτητα για την εξασφάλιση καλύτερης ποιότητας ιλύος. Στον πίνακα 4.5 παρουσιάζονται οι ανώτατες επιτρεπόμενες τιμές συγκέντρωσης βαρέων μετάλλων αλλά και οι προβλεπόμενες για το άμεσο μέλλον σε εδάφη με όξινη αντίδραση. Η μείωση των τιμών που προβλέπεται, οφείλεται στην αυξανόμενη κινητικότητα των βαρέων μετάλλων και την ταχύτερη απορρόφησή τους από τα φυτά, όσο μικρότερο είναι το pH του εδάφους. Ανάλογα φαινόμενα αύξησης της κινητικότητας των βαρέων μετάλλων αναμένεται να παρατηρηθούν και στις περιπτώσεις εδαφικής εφαρμογής ιλύος σε ελαφρά (αμμώδη) εδάφη (Κουλουμπής κ.ά, 2007).

Πίνακας 4.5. Ανώτατες τιμές βαρέων μετάλλων επιτρεπόμενες και προβλεπόμενες στο άμεσο μέλλον ανά mg/kg ΞΥ

A	B	Γ	Δ		
Βαρέα μέταλλα	Οδηγία 86/278/ΕΟΚ	ΚΥΑ 80568/4225/1991 και 114218/1997	Πρόταση ΕΕ 3rd Draft, 2000		
			mg/kg ΞΥ		
	pH:6-7	pH:6-7	5≤pH< 6	6≤pH< 7	pH≥7
Cd	1-3	1-3	0,5	1	1,5
Cu	50-140	50-140	20	50	100
Ni	30-75	30-75	15	50	70
Pb	50-300	50-300	70	70	100
Zn	150-300	150-300	60	150	200
Hg	1-1,5	1-1,5	0,1	0,5	1
Cr	-		30	60	100

Πηγή: Κουλουμπής κ.ά.,(2007)

Σε άμεση σύγκριση με τα ισχύοντα σε άλλα κράτη της ΕΕ, αρκεί να σημειωθεί ότι, σύμφωνα με τον ισχύοντα γερμανικό νόμο¹⁶ σε ιλύες με pH μεταξύ 5 και 6, ή σε αμμώδη εδάφη, οι ανώτατες οριακές τιμές συγκέντρωσης βαρέων μετάλλων αλλάζουν. Συγκεκριμένα, για τα στοιχεία Cd και Zn πρέπει να ελαττωθούν από τα 10 στα 5 mg/kg ΞΥ και από τα 2500 στα 2000 mg/kg ΞΥ αντίστοιχα (Πίνακας 4.7). Επίσης, σε εδάφη με την ίδια περιεκτικότητα σε άργιλο ή σε εδάφη με pH μεταξύ και 6, οι ανώτατες οριακές τιμές συγκέντρωσης βαρέων μετάλλων για τα στοιχεία Cd και Zn πρέπει να ελαττωθούν από το 1,5 στα 1,0 mg/kg ΞΥ και από τα 200 στα 150 mg/kg ΞΥ αντιστοίχως, δηλ. σε αυστηρότερα επίπεδα από τα ήδη αυστηρά ευρωπαϊκά όρια (Πίνακας 4.5). Επίσης, στον πίνακα 4.6 αναφέρονται οι ανώτατες επιτρεπόμενες και προβλεπόμενες για το άμεσο μέλλον τιμές συγκέντρωσης βαρέων μετάλλων, οι οποίες μπορούν να εισάγονται σε βάση

¹⁶ www.gesetze_im_internet.de/bundesrecht/abfkl_rv_1992/gesamt

10 ετών στα καλλιεργούμενα εδάφη, στους βοσκοτόπους και στις δασικές εκτάσεις. Οι τιμές παρατίθενται αναφορικά με την Οδηγία 86/278/ΕΟΚ, την ΚΥΑ 80568/4225/1991 και την 114218/1997, καθώς και την νέα πρόταση της ΕΕ (Anonymous, 2000; Κουλουμπής, κ.ά., 2007).

Πίνακας 4.6. Ανώτατες τιμές βαρέων μετάλλων επιτρεπόμενες και προβλεπόμενες στο άμεσο μέλλον ανά g /εκτάριο/έτος

A	B	Γ	Δ
Βαρέα μέταλλα	Οδηγία 86/278/ΕΟΚ	ΚΥΑ 80568/4225/1991 και 114218/1997	Πρόταση ΕΕ [3rd Draft, 2000]
	g/εκτάριο/έτος		
Cd	150	150	30
Cu	12000	12000	3000
Ni	3000	3000	900
Pb	15000	15000	2250
Zn	30000	30000	7500
Hg	100	100	30
Cr	-	500	3000

Πηγή: Κουλουμπής κ.ά., (2007)

Πίνακας 4.7. Ανώτατες επιτρεπόμενες και προβλεπόμενες τιμές συγκέντρωσης βαρέων μετάλλων στην ιλύ που χρησιμοποιείται για γεωργικούς σκοπούς

A	B	Γ	Δ
Βαρέα μέταλλα	Οδηγία 86/278/ΕΟΚ	ΚΥΑ 80568/4225/1991 και 114218/1997	Πρόταση ΕΕ [3rd Draft,2000]
	mg/kg ΞΥ		
Cd	20-40	20-40	10
Cu	1000-1750	1000-1750	1000

Ni	300-400	300-400	300
Pb	750-1200	750-1200	750
Zn	2500-4000	2500-4000	2500
Hg	16-25	16-25	10
Cr	-	Cr [III]: 500	1000
		Cr [IV]: 10	

Πηγή: Κουλουμπής κ.ά., (2007)

Αξιοσημείωτο είναι το εξής συμπέρασμα: όταν η ιλύς έχει όξινη αντίδραση ή όταν αυτή εφαρμόζεται σε εδάφη με όξινη αντίδραση ή σε ελαφρά εδάφη (με χαμηλή περιεκτικότητα σε αργιλικά ορυκτά), πρέπει να καταβάλλεται ιδιαίτερη προσοχή και να λαμβάνονται τα αντίστοιχα μέτρα. Τα μέτρα αυτά αφορούν την αποφυγή φαινομένων ρύπανσης των εδαφών και των υδροφορέων, μέσω της κίνησης του εδαφικού νερού. Μάλιστα, όταν τα εδάφη έχουν pH ίσο ή χαμηλότερο του 5, τότε απαγορεύεται εντελώς η εδαφική εφαρμογή ιλύος (Κουλουμπής κ.ά., 2007).

Οπωσδήποτε πρέπει να τονισθεί ότι τα βαρέα μέταλλα δεν καταστρέφονται στις Ε.Ε.Λ., αν και απομακρύνονται σε ποσοστό μέχρι και 90% από το υδατικό ρεύμα. Συγκεντρώνονται ως επί το πλείστον στην διαχωριζόμενη ιλύ. Τα βαρέα μέταλλα βρίσκονται στην ιλύ κυρίως σε μορφή αδιάλυτων θειούχων και ανθρακικών αλάτων ή συμπλόκων ιόντων, ή είναι ενσωματωμένα σε μικροοργανισμούς. Δευτερεύουσα πηγή βαρέων μετάλλων στο ρεύμα της ιλύος αποτελεί η χημική κατεργασία της με μεταλλικά άλατα ή πολυηλεκτρολύτες κατά την χημική βελτίωση - προετοιμασία της για μηχανική αφυδάτωση (Οδηγία 96/61/EK).

Οργανικοί ρύποι

Το πλήθος των οργανικών ρύπων με δυνητική τοξικότητα είναι πολύ μεγάλο αλλά λίγα είναι γνωστά από ποσοτική άποψη για τη συμπεριφορά τους και για τις σχέσεις δόσεων-συνεπειών. Οι ενώσεις αυτές είναι τοξικές και πολύ ανθεκτικές στην αποσύνθεση και για τούτο χαρακτηρίζονται από υψηλή οικοτοξικολογική σημασία. Από τους πιο συνήθεις οργανικούς ρυπαντές που συναντώνται στην ιλύ είναι οι πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες (PAH), πολυχλωριωμένα διφαινύλια (PCBs), χλωριωμένα και

οργανοφωσφορικά φυτοφάρμακα κλπ. Παραδείγματα κοινών οργανικών ρύπων που έχουν ανιχνευθεί στην ιλύ αστικών λυμάτων, στη διεθνή βιβλιογραφία, οι οποίοι χαρακτηρίζονται από υψηλή οικοτοξικολογική σημασία, αναφέρονται στον πίνακα 4.8 που ακολουθεί (Κουλουμπής κ.ά., 2007).

Πίνακας 4.8 Παραδείγματα κοινών οργανικών ρύπων που έχουν ανιχνευθεί στην ιλύ

Προσροφημένα οργανικά αλογόνα (AOX)
Ενώσεις θειικού αλκυλοβενζολίου (Linear alkyl benzene sulphonates – LAS)
Δι-εθυλ-εξυλ-φθαλίδια [Di(2-ethylhexyl)phthalate – DEHP]
Αλκυλφαινόλες (Οκτυλ- & Εννεϋλφαινόλες, κλπ.)
Παράγωγα των εννεϋλφαινολών (NPE, Nonyphenol – Nonyphenol-(με 1 ή 2 ομάδες αιθοξυλίων) ethoxylates
Πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες (PAH) ¹⁷ και αλειφατικοί υδρογονάνθρακες
Πολυχλωριωμένα διφαινύλια (PCB) ¹⁸
Πολυχλωριωμένες διβενζοδιοξίνες /διβενζοφουράνια (PCB)
Βουτυλ-υδροξυ-ανισόλη, διφαινόλες
Φθαλίδια, τενζίδια, musk compounds
Οργανικές ενώσεις κασσιτέρου
Φυτοπροστατευτικές ενώσεις, ορμόνες, αντιβιοτικά κλπ.

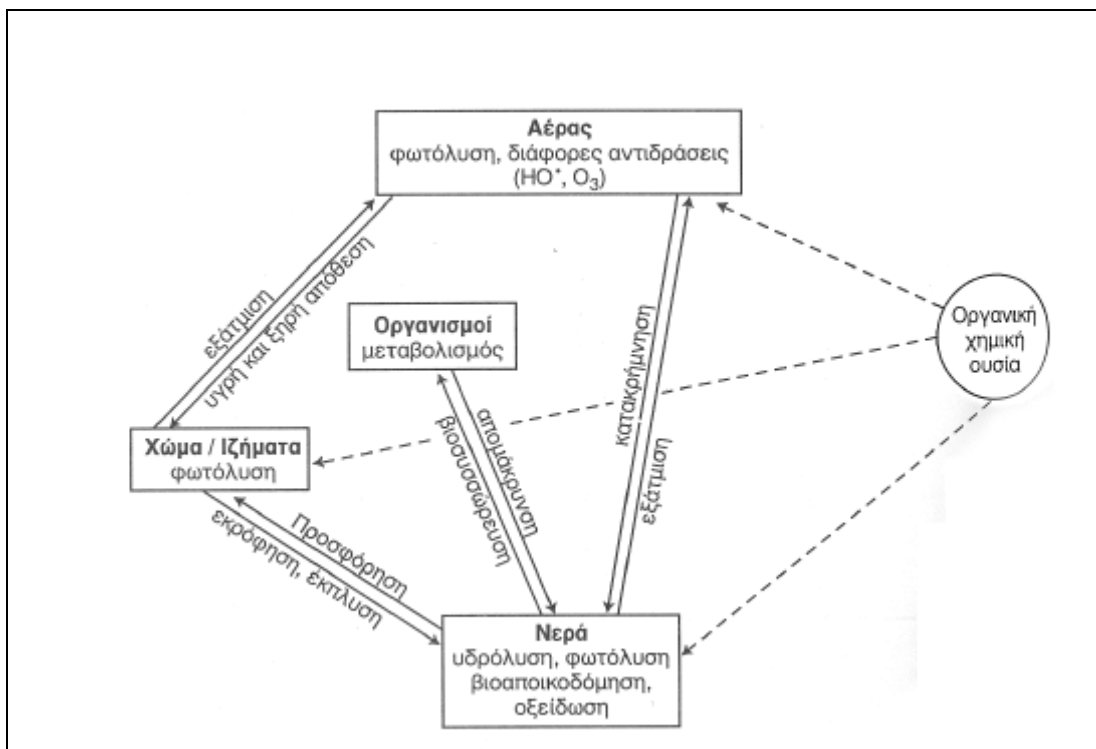
Πηγή: Κουλουμπής κ.ά., (2007)

Τα περισσότερα οργανικά χημικά που περιέχονται στην ιλύ είναι μη πολικά με ιδιαίτερα χαμηλή διαλυτότητα στο νερό. Λόγω των ισχυρών υδροφοβικών χαρακτηριστικών των μικροοργανικών τα περισσότερα απορροφούνται από το εδαφικό υλικό. Οι λιγότερο βιοδιασπώμενοι οργανικοί ρυπαντές όπως τα χλωριωμένα φυτοφάρμακα, PCBs και PAHs απορροφούνται πλήρως από τα χουμικά οξέα του εδάφους. Έτσι λοιπόν φαίνεται ότι δεν πραγματοποιείται σοβαρή απορρόφηση από τα χερσαία φυτά, με τη διαφορά ότι αμφίβολο παραμένει το θέμα των άλλων δρόμων κυκλοφορίας και τοξικής επίδρασης (Ανδρεαδάκης, 2001). Ανησυχία για τους εν λόγω ρυπαντές εκφράζει όμως ο Metcalf (1991) κυρίως από την άποψη της πρόσληψής τους από τα ζώα που βόσκουν σε περιοχές

¹⁷ Σύνολο των εξής πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων: ακεναφθένιο, φενανθρένιο, φλουορένιο, φλουρανθένιο, πυρένιο, βενζο(b+j+k)φθορανθένιο, βενζο(a)πυρένιο βενζο(ghi)περυλένιο, ινδενολ(1,2,3-c,d)πυρένιο

¹⁸ Σύνολο των πολυχλωριωμένων διφαινυλίων No. 28, 52, 101, 118, 138, 153, 180

εφαρμογής ιλύων, όπως είναι γαλακτοπαραγωγές αγελάδες. Σχηματική αναπαράσταση της πορείας μια οργανικής χημικής ουσίας περιγράφεται στο σχήμα 4.1.



Σχήμα 4.1 Αναπαράσταση της πορείας μιας οργανικής χημικής ουσίας στο περιβάλλον

Πηγή: Κουϊμτζής κ.ά., (1998)

Για τους παραπάνω λόγους δεν είναι περίεργο ότι η ΕΕ δεν έχει θέσει όρια συγκεντρώσεων των οργανικών ρυπαντών στην ιλύ. Αντίστοιχα η Υπηρεσία Προστασίας του Περιβάλλοντος των ΗΠΑ (US EPA) δεν συμπεριέλαβε κανένα οργανικό χημικό στους Κανονισμούς γεωργικής χρήσης της ιλύος. Μόνο ορισμένες χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης έχουν θεσπίσει στην εθνική τους νομοθεσία περιορισμούς στις τιμές των οργανικών ρυπαντών για γεωργική χρήση των ιλύων που όμως δεν συμφωνούν μεταξύ τους ως προς το είδος των χημικών και τα όρια των συγκεντρώσεων (Πίνακας 4.9) (Ανδρεαδάκης, 2001, Κάρτσωνας, 2005).

Πίνακας 4.9. Μέγιστες συγκεντρώσεις μικροοργανικών (mg/kg dry wt) για γεωργική χρήση της ιλύος

Στοιχείο	ΕΕ	Γερμανία	Σουηδία	Δανία
PCB's	-	0,2	0,4	
PAH's	-	-	3	6
Dioxins/ Furan	-	100 ng TE*		-
Toluene	-	-	5	
AOX	-	500		
LAS	-	-		2600
Nonylphenyl	-	-	100	50
DEHP	-	-		100
	-	-		

*TE=toxicity equivalent: ισοδύναμη τοξικότητα

Πηγή: Ανδρεαδάκης, (2001)

Όμως, μεταξύ των παραπάνω οργανικών ρύπων, τα πολυχλωριωμένα διφαινύλια (PCB), οι πολυχλωριωμένες διβενζοδιοξίνες και τα διβενζοφουράνια (PCDD/F) περιλαμβάνονται στον κατάλογο των 12 περισσότερο επικίνδυνων οργανικών ρύπων (persistent organic pollutants, POPs) της Σύμβασης της Στοκχόλμης (Stockholm Convention)¹⁹. Οι παραπάνω ρύποι (POPs) συνιστούν επιβλαβείς οργανικές ενώσεις. Οι ιδιότητές τους είναι ιδιαίτερες επικίνδυνες αφού παρουσιάζουν μεγάλη ανθεκτικότητα στην διάσπαση, διατηρούνται για μεγάλο χρονικό διάστημα στο περιβάλλον, και επιπλέον μπορούν να συσσωρευτούν στους λιπώδεις ιστούς ζώντων οργανισμών και να παρουσιάσουν πολύ μεγάλη τοξικότητα σε ανθρώπους και ζώα.

Επιπρόσθετα, ούτε στην Οδηγία 86/278/EC δεν καθορίζονται οριακές τιμές όσον αφορά τους οργανικούς ρυπαντές της ιλύος η οποία θα αξιοποιηθεί στην γεωργία. Στο Σχέδιο Αναθεώρησης της Οδηγίας 86/278/EC προβλέπονται σχετικές οριακές τιμές (Κάρτσωνας, 2005). Στον πίνακα 4.10 που ακολουθεί, αναφέρονται προτεινόμενες ανώτατες

¹⁹ Η Σύμβαση της Στοκχόλμης είναι μία διεθνής διακυβερνητική κίνηση, οργανωμένη από τον ΟΗΕ, η οποία στοχεύει στην αποφυγή δυσμενών επιπτώσεων από τη χρήση των επικίνδυνων οργανικών ρυπαντών [persistent organic pollutants, POPs]. Η Σύμβαση αυτή έγινε αποδεκτή από το Διεθνές Σώμα στις 22.05.2001, ετέθη όμως σε εφαρμογή στις 17.05.2004. Οι σχετικές δράσεις ευρίσκονται επί του παρόντος διεθνώς στα αρχικά στάδια εξέλιξης [<http://www.pops.int/>]

επιτρεπόμενες τιμές συγκεντρώσεων οργανικών ρυπαντών στην ιλύ που προορίζεται για γεωργική χρησιμοποίηση (3rd Draft, 2000; Anonymous,2000).

Πίνακας 4.10. Προτεινόμενες ανώτατες επιτρεπόμενες τιμές συγκεντρώσεων οργανικών ρυπαντών στην ιλύ

Οργανικοί ρυπαντές	Ανώτερη επιτρεπόμενη συγκέντρωση (mg/ kg ξηρού βάρους)
Προσροφημένα οργανικά αλογόνα (AOX)	500
Ενώσεις θεικού αλκυλοβενζολίου (Linear alkylbenzene sulphonates – LAS)	2.600
Δι-εθυλ-εξυλ-φθαλίδια [Di(2-ethylhexyl)phthalate – DEHP]	100
Εννεϋλφαινόλες και παράγωγα αυτών (NPE, Nonyphenol – Nonyphenol Ethoxylates (με 1 ή 2 ομάδες αιθοξυλίων)	50
Πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες (PAH)	6
Πολυχλωριωμένα διφαινύλια (PCB)	0.8
Διοξίνες	Ανώτερη επιτρεπόμενη συγκέντρωση (ng TE/kg dm)
Πολυχλωριωμένες διβενζοδιοξίνες / διβενζοφουράνια (PCDD/F)	100

Πηγή: Anonymous, 3rd Draft, (2000)

Οι παραπάνω οργανικοί ρύποι έχουν ανιχνευθεί σε διαφορετικές συγκεντρώσεις στην ιλύ πολλών πόλεων σε διεθνή κλίμακα (Κεντρική και Βόρεια Ευρώπη, Βόρεια Αμερική). Στη χώρα μας, η σχετική έρευνα δεν έχει ακόμη προχωρήσει σε ικανοποιητικό βαθμό. Οι περισσότεροι από αυτούς τους ρύπους συγκαταλέγονται στους λεγόμενους ενδοκρινικούς διαταράκτες (endocrine disrupters), οι οποίοι, μπορούν να διαταράξουν την ορμονική ισορροπία του ανθρώπινου οργανισμού²⁰ και να δημιουργήσουν σημαντικά προβλήματα.

²⁰ Αναφέρεται (ελβετική εφημερίδα SonntagsZeitung, 16.10.2005, <http://www.peditox.ch/news.htm>) ότι αναλύσεις στο αίμα ευρωπαίων -13 οικογένειες από 12 χώρες- έδειξαν συνολικά 63 χημικές ουσίες, μεταξύ των οποίων περιλαμβάνονται 18 τοξικές ενώσεις

Ο σχετικός προβληματισμός αφορά το ερώτημα εάν οι δεδομένες οργανικές ενώσεις βρίσκονται α) σε σημαντικές συγκεντρώσεις στην ιλύ, β) αν συνυπάρχουν οι κατάλληλες εδαφικές συνθήκες (υγρασία, αερισμός, οργανική ουσία, θρεπτικά, pH) και οι βιοχημικές δίοδοι εισόδου στον άνθρωπο, στα ζώα ή στα φυτά, και γ) εάν επηρεάζεται σημαντικά οικολογική ισορροπία του εδάφους. Ιδιαίτερη σημασία επίσης έχει ο συνδυασμός των επιδράσεων των οργανικών ρύπων με τους άλλους παράγοντες (βαρέα μέταλλα, παθογόνα). Σε αντίθεση με τα βαρέα μέταλλα, οι οργανικοί ρύποι υπόκεινται στο έδαφος σε πολύπλοκες διαδικασίες αποδόμησης. Με τη συνδυασμένη επίδραση των μικροοργανισμών, της πανίδας του εδάφους, και άλλων αβιοτικών παραγόντων, διάφορες οργανικές ενώσεις μετατρέπονται τελικά σε πτητικά, υδατοδιαλυτά και στερεά προϊόντα (Κουλουμπής κ.ά. 2007).

Συμπερασματικά, για τα ελληνικά δεδομένα, αν και στην ιλύ περιέχονται ποσότητες κυρίων και δευτερευόντων θρεπτικών συστατικών (N, P, K, Ca, Mg, Na, S), ιχνοστοιχείων (B, Co, Cu, Fe, Mn, Mo, Zn), αλλά και χουμικών ουσιών, η ιλύς δεν μπορεί να θεωρηθεί ως λίπασμα, αλλά ούτε και ως εδαφοβελτιωτικό²¹. Σύμφωνα με την ελληνική νομοθεσία (N.1565/1985, άρθρο 1, § 2 -ΦΕΚ 164/Α'/26.09.1985 και N. 2732/1999, άρθρο 6 -ΦΕΚ 154/Α'/30.07.1999), η ιλύς, όπως εξέρχεται από τα ΚΕΛ, δεν μπορεί να καταταχθεί άμεσα στα λιπάσματα, ή στα εδαφοβελτιωτικά, εφ' όσον δεν έχει υποστεί κατάλληλη επεξεργασία και δεν έχει εμπλουτισθεί με θρεπτικά συστατικά (Κουλουμπής κ.ά., 2007).

4.2.2 Μικροβιολογικές παράμετροι

Η παραχθείσα ιλύς μετά την επεξεργασία των υγρών λυμάτων, ποικίλει τόσο στην ποιότητα όσο και στην ποσότητα του οργανικού και ανόργανου περιεχομένου της. Διαφορά εντοπίζεται και στους τύπους και τους αριθμούς των παθογόνων μικροοργανισμών που περιέχονται σε αυτή. Η φύση των λυμάτων και ως εκ τούτου η ιλύς που παράγεται από αυτά, περιέχει εντερικά παθογόνα κυρίως ανθρώπινης προέλευσης. Οι παθογόνοι μικροοργανισμοί μπορούν να πολλαπλασιαστούν οπουδήποτε αρκεί να υπάρχουν οι κατάλληλες συνθήκες γι' αυτά. Τα περισσότερα παθογόνα αδρανοποιούνται

²¹ Βεβαίως, σύμφωνα με το Κανονισμό [ΕΚ] υπ' αριθ. 2003/2003 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου της 13^{ης}.10.2003 σχετικά με τα λιπάσματα, ως λίπασμα νοείται κάθε υλικό, του οποίου ο κύριος προορισμός είναι να παρέχει θρεπτικά στοιχεία στα φυτά

σε θερμοκρασίες πάνω από τους 70°C σε σύντομο χρονικό διάστημα ή σε χαμηλότερες θερμοκρασίες για μεγαλύτερο διάστημα. Εντούτοις, ορισμένα βακτήρια έχουν την ιδιότητα να παράγουν ενδοσπόρια, όπως τα κλωστρίδια, οπότε απαιτούνται υψηλότερες θερμοκρασίες προκειμένου να επιτευχθεί η καταστροφή τους (Carrington, 2001). Για τον πολλαπλασιασμό τους χρειάζονται επίσης τις θρεπτικές ουσίες. Επειδή λοιπόν ο φυσικός βίτοπος αυτών των οργανισμών είναι το έντερο, οι θρεπτικές ουσίες δεν λείπουν από τα λύματα και κατά επέκταση από την ιλύ που παράγεται από αυτά. Μάλιστα, για να αντιμετωπίσουν τις μη κατάλληλες συνθήκες πολλαπλασιασμού, μερικοί μικροοργανισμοί έχουν εξελίξει τις δομές τους (κύστες και σπόρια) προκειμένου να καταφέρουν να επιβιώσουν. Όπως υποστηρίζει και η Hayes (1997), τα ενδοσπόρια που σχηματίζουν κάποια βακτήρια μπορούν να καταστραφούν μόνο κατά τη διαδικασία της κομποστοποίησης.

Σε περίπτωση γεωργικής χρησιμοποίησης της ιλύος σε νωπή κατάσταση, χωρίς να προηγηθεί στάδιο υγιεινοποίησης μπορούν να προκληθούν, σοβαρά υγιεινολογικά προβλήματα σε ανθρώπους, ζώα και καλλιεργούμενα φυτά. Κι αυτό διότι κατά τη διάρκεια της βιολογικής επεξεργασίας των λυμάτων, συνήθως δεν επιτυγχάνεται πλήρης καταστροφή των παθογόνων μικροοργανισμών. Για το λόγο αυτό πρέπει να λαμβάνεται μέριμνα για την καθαρότητα της ιλύος που πρόκειται να χρησιμοποιηθεί στη γεωργία, προκειμένου η ιλύς να απαλλαχθεί πλήρως από τα παθογόνα (Anonymous, 2002). Στην ιλύ μπορεί να περιέχεται πλήθος παθογόνων μικροοργανισμών, όπως ιοί, ζύμες, μύκητες, παράσιτα (Πίνακας 4.11).

Πίνακας 4.11. Παθογόνοι μικροοργανισμοί που έχουν ανιχνευθεί σε λύματα και στην ιλύ αστικών λυμάτων

Βακτήρια	Ιοί
<i>Salmonella spp.</i>	<i>Enterovirus</i>
<i>Shigella spp.</i>	- <i>Poliovirus</i>
<i>Escherichia coli</i>	- <i>Coxsackievirus A & B</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	- <i>Echovirus</i>
<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Adenovirus</i>
<i>Clostridium perfringens</i> & <i>C. botulinum</i>	<i>Reovirus</i>

<i>Bacillus anthracis</i>	<i>Astrovirus</i>	
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Calicivirus</i>	
<i>Vibrio cholerae</i>	<i>Corona virus</i>	
<i>Staphylococcus</i>	<i>Adeno-associated virus</i>	
<i>Streptococcus</i>	<i>Parvovirus</i>	
Ζύμες	Μύκητες	
<i>Candida albicans, C. krusei, C. tropicalis</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>	
<i>Cryptococcus neoformans</i>	<i>Phialophora richardsii</i>	
<i>Trichosporon</i>	<i>Geotrichum candidum</i>	
Παράσιτα		
Protozoa	Cestodes	Nematodes
<i>Cryptosporidium parvum</i>	<i>Taenia saginata</i>	<i>Ascaris lumbricoides</i>
<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>Taenia solium</i>	<i>Ancylostoma duodenale</i>
<i>Giardia lamblia</i>	<i>Diphyllobothrium latum</i>	<i>Toxocara canis</i>
<i>Toxoplasma gondii</i>	<i>Echinococcus granulosus</i>	<i>Trichuris trichiura</i>

Πηγή: Κουλουμπής κ.ά., (2007)

Η επιλογή των μικροοργανισμών που θα επικρατήσουν σε ένα σύστημα ενεργού ιλύος βασίζεται σε τρία κριτήρια. Το πρώτο κριτήριο αφορά στην ικανότητα των μικροοργανισμών να σχηματίζουν βιοκροκίδες. Με τον τρόπο αυτό οι μικροοργανισμοί παραμένουν στο σύστημα μέσω της ανακυκλοφορούσας ιλύος. Το δεύτερο αφορά στην εμφάνιση μεγαλύτερου ρυθμού ανάπτυξης από τον ρυθμό απομάκρυνσης στερεών από τη μονάδα, ενώ το τρίτο στην προσαρμογή τους στις εκάστοτε περιβαλλοντικές συνθήκες (Jenkins et al., 1993).

Τα βακτήρια, αποτελούν μία από τις απλούστερες μορφές ζωής. Χρησιμοποιούν ουσίες διαλυμένες στο νερό για τροφή και είναι ικανά για αναπαραγωγή. Τα βακτήρια εκτελούν την βιοποδόμηση των οργανικών ενώσεων που περιέχονται στα υγρά απόβλητα και επομένως αποτελούν τον πιο σημαντικό παράγοντα στην βιολογική επεξεργασία των υγρών αποβλήτων. Τα μεμονωμένα κύτταρα των βακτηρίων έχουν μέγεθος κυμαινόμενο από 0.5 μέχρι 5 μm. Συναντώνται σε μορφές ράβδου (βάκιλλοι), σφαίρας (κόκκοι) και σπείρας (σπειρήλια). Μπορούν να απαντηθούν επίσης ως ζεύγη, πακέτα και άλυσσοι. Η αύξηση των βακτηρίων εξαρτάται: α) από την παρουσία σειράς χημικών στοιχείων, β) από τη βιοχημική ενέργεια, γ) από τη θερμοκρασία και δ) από το pH (Λέκκας, 2001). Τα κυριότερα είδη βακτηρίων που

παρατηρούνται στην ενεργό ιλύ είναι αερόβια, ετεροτροφικά, και ανήκουν στα γένη *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Arthrobacter*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Zooglea*. Χαρακτηρίζονται ως βακτήρια που παρουσιάζουν την τάση σχηματισμού βιοκροκίδων (floc-forming bacteria). Τα βακτήρια στην ενεργό ιλύ παρουσιάζονται επίσης ως ελεύθερα, διεσπαρμένα βακτήρια (free swimming bacteria) και ως νηματοειδή βακτήρια (filamentous bacteria) (Bitton, 1999). Το είδος των βακτηρίων που θα επικρατήσει εξαρτάται από τους εξής παράγοντες:

1. Τη φύση των αποβλήτων,
2. Το pH,
3. Τη θερμοκρασία,
4. Τη συγκέντρωση διαλυμένου οξυγόνου και θρεπτικών
5. Το φορτίο και
6. Την ηλικία της ιλύος.

Η ύπαρξη συνθηκών αφθονίας υποστρώματος ευνοεί την ανάπτυξη βακτηρίων με υψηλότερους ρυθμούς αύξησης (fast-growing bacteria), ενώ εμποδίζει την επικράτηση μικροοργανισμών ανώτερων τροφικών επιπέδων (πρωτόζωα, τροχόζωα) ή βακτηρίων με μικρότερους ρυθμούς αύξησης (slow-growing bacteria) (Gray, 1990).

Γενικά τα βακτήρια που συναντώνται στη λάσπη είναι Gram + , διότι σύμφωνα με τους Juang και Hwu (2003) τα Gram - βακτήρια είναι πιο ευαίσθητα σε ένα περιβάλλον με ασταθές οργανικό φορτίο και αιφνίδιες μεταβολές της θερμοκρασίας και του pH.

Πιο διεξοδικά, τα εντεροβακτήρια είναι οικογένεια βακτηρίων που ανήκουν στην ανθρώπινη μικροχλωρίδα και κυρίως στο έντερο. Ωστόσο, μεταξύ αυτών υπάρχουν παθογόνα στελέχη, τα οποία εάν αυξηθούν σημαντικά μπορεί να διαταράξουν την ομοιοστάση του οργανισμού (Jett et al., 1994).

Συγκεκριμένα, το *Escherichia coli* είναι φυσικός ένοικος του ανθρώπινου γαστρεντερικού σωλήνα. Απομονώθηκε για πρώτη φορά από κόπρανα παιδιού το 1881, από το Γερμανό καθηγητή Escherich. Είναι μέλος της οικογένειας των εντεροβακτηριοειδών, τα οποία είναι Gram – βακτήρια (Εικόνα 4.1). Θεωρείται ο σημαντικότερος δείκτης κοπρανώδους μόλυνσης. Μελέτη των Kyriacou et al., (2008) σε 20 δημοτικά σχολεία στο Ηράκλειο της Κρήτης, έδειξε ότι οι κοπρανώδεις δείκτες που ανιχνεύτηκαν στα χέρια των παιδιών και σε

διάφορες σχολικές επιφάνειες έχουν συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο για διαρροϊκές ασθένειες. Τα χέρια των παιδιών ήταν εξαιρετικά μολυσμένα (52,9%), ενώ τα αγόρια παρουσίασαν υψηλότερα επίπεδα μόλυνσης. Επίσης, το μορφωτικό επίπεδο των γονέων συνδέεται με τη μόλυνση των χεριών των παιδιών τους.

Το *Escherichia coli* ανέρχεται σε σημαντικούς πληθυσμούς (10^7 - 10^8 cfu/g υλικού του παχέος εντέρου) στην χλωρίδα του εντέρου του ανθρώπου. Στο περιβάλλον αποβάλλεται μέσω των κοπράνων σε πολύ μεγάλο αριθμό. Η απομόνωση του από δείγματα νερού, αποδεικνύει μόλυνση του νερού με περιττωματικές ουσίες. Θεωρείται, επίσης, το πιο μελετημένο βακτήριο (Μαϊπά, 2005). Ορισμένα στελέχη του *E. Coli*, ωστόσο, έχουν αναπτύξει την ικανότητα παθογένειας στο γαστρεντερικό, στο ουροποιητικό, ή το κεντρικό νευρικό σύστημα. Τα στελέχη *E. coli* που προκαλούν διάρροιες μπορούν να διαιρεθούν σε τουλάχιστον έξι διαφορετικές κατηγορίες με αντίστοιχα διαφορετικά συστήματα που προσβάλλουν. Στο σύνολό τους, οι εν λόγω οργανισμοί αποτελούν ίσως την πιο συνηθισμένη αιτία της παιδιατρικής διάρροιας παγκοσμίως. Στα κλινικά περιστατικά κατηγοριών *E. coli* που προκαλούν διάρροιες, συμπεριλαμβάνονται οι ταξιδιωτικές διάρροιες (enterotoxigenic *E. coli*), οι αιμορραγικές κολίτιδες, το αιμολυτικό-ουραιμικό σύνδρομο (εντεροαιμορραγική *E. coli*), η επίμονη διάρροια (enteroaggregative *E. coli*), και υδαρής διάρροια των βρεφών (entero-παθογόνος *E. coli*) (Nataro and Kaper, 1998).



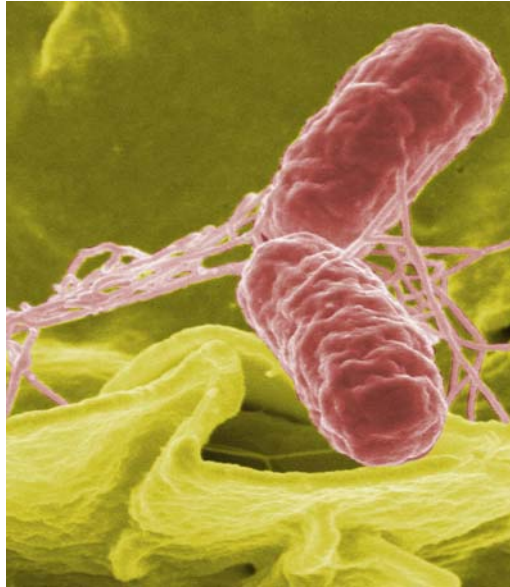
Εικόνα 4.1. Αναπαράσταση Escherichia coli

Πηγή: www.therealpotato.com

Το εντεροπαθογόνο είδος *Escherichia coli* (EPEC), σύμφωνα με ευρήματα των Hernandez et al., (2009) χωρίζεται σε δύο ομάδες, το τυπικό EPEC (tEPEC) και το άτυπο EPEC (aEPEC). Η μεγάλη ποικιλία των γενετικών ιδιοτήτων παθογένειας των στελεχών aEPEC από tEPEC καθιστά δύσκολη την ταυτοποίηση των παθογόνων στελεχών. Σε έρευνα των Estrada-Garcia et al., (2008), 76 παιδιά μέχρι 2 ετών παρακολούθηθηκαν για ένα χρόνο σε περιιαστικές περιοχές της Πόλης του Μεξικού για τον προσδιορισμό ασυμπτωματικών λοιμώξεων και οξείας διάρροιας που σχετίζονται με παθογενή είδη *E. coli* (deps). Οι λοιμώξεις από το άτυπο παθογενές είδος *E. coli* (aEPEC, atypical enteropathogenic DEPs *E. coli*) παρατηρήθηκαν όλο το χρόνο, αλλά πολλά περιστατικά εντοπίστηκαν από τον Απρίλιο έως τον Οκτώβριο με περίοδο αιχμής το χρονικό διάστημα από τον Μάιο έως τον Ιούνιο (περίοδος βροχών). Οι περισσότερες λοιμώξεις από το εντεροτοξινόνο *Escherichia coli* (ETEC) συνέβησαν κατά τη θερινή περίοδο (εποχή των βροχών), με τα περισσότερα περιστατικά τον Αύγουστο. Από όλα τα παθογόνα είδη *E. coli* μόνο τα aEPEC σχετίζονται με την οξεία διάρροια διαρκείας από 7 έως 12 ημέρες (Estrada-Garcia et al., 2008).

Το εντεροτοξινόνο (Enterotoxigenic) *Escherichia coli* αποτελεί μια, υπό μελέτη, αιτία της διάρροιας στις αναπτυσσόμενες χώρες όπου υπάρχει έλλειψη καθαρού νερού και κακή υγιεινή. Είναι η πιο συχνή αιτία της βακτηριακής διάρροιας σε παιδιά και ενήλικες που ζουν σε αυτές τις περιοχές, αλλά και η πιο κοινή αιτία στις ταξιδιωτικές διάρροιες. Η παθογένεια του ETEC είναι παρόμοια με εκείνη της χολέρας και περιλαμβάνει την παραγωγή εντεροτοξινών. Τα κλινικά συμπτώματα της λοίμωξης ETEC μπορεί να ξεκινούν από ήπια διάρροια και να εξελίσσονται σε μια σοβαρή χολέρα. Η αποτελεσματική αντιμετώπιση της διάρροιας ETEC είναι παρόμοια με τη θεραπεία για τη χολέρα, αλλά δεν χρησιμοποιούνται συνήθως αντιβιοτικά, με εξαίρεση την ταξιδιωτική διάρροια. Η συχνότητα και ο χαρακτηρισμός ETEC σε παγκόσμια κλίμακα είναι ανεπαρκής λόγω της έλλειψης απλών διαγνωστικών δοκιμών (Qadri et al., 2005).

Σε ότι αφορά την *Salmonella* spp., πρόκειται για ένα Gram – βακτήριο, το οποίο ανήκει επίσης στην οικογένεια των εντεροβακτηριοειδών το οποίο προκαλεί στον άνθρωπο γαστρεντερίτιδα, διάρροια, βακτηραιμία και εντερικούς πυρετούς (προκαλούνται από τη *Salmonella typhi* και την *Salmonella paratyphi*) (Εικόνα 4.2). Οι συνηθέστεροι τρόποι μετάδοσης της είναι η μολυσμένη τροφή και το νερό, ενώ ευθύνεται για το 70% των λοιμώξεων από τρόφιμα (Μόρτογλου κ.ά., 2002). Στον άνθρωπο προκαλεί λοίμωξη του ουροποιητικού καθώς και εντερολοιμώξεις (Λαμπράκης κ.ά., 2002).



Εικόνα 4.2. Αναπαράσταση *Salmonella* spp

Πηγή: homepage.usask.ca

Τα κλινικά συμπτώματα που προκαλούνται από μόλυνση σαλμονέλας σε ανθρώπους χωρίζονται σε αυτά που προκαλούνται από τη *Salmonella typhi* και τη *Salmonella paratyphi*, όπως ο τυφοειδής πυρετός και σε εκείνα που οφείλονται στη μη τυφοειδή σαλμονέλα (NTS), όπως οι διαρροϊκές ασθένειες (Gordon, 2008).

Οι ασθένειες που οφείλονται στις λοιμώξεις της *Salmonella* αυξάνονται σε παγκόσμιο επίπεδο. Αν και υπάρχει διαθεσιμότητα σε εμβόλια και αντιβιοτικές θεραπείες, εντούτοις η σαλμονέλωση με τη μορφή γαστρεντερίτιδας και εντερικού πυρετού εξακολουθεί να αποτελεί σημαντική αιτία νοσηρότητας και θνησιμότητας σε πολλές αναπτυσσόμενες χώρες, ειδικά σε μικρά παιδιά με ανοσοκαταστολή. Σε ορισμένες ενδημικές περιοχές της Νότιας και της Νοτιοανατολικής Ασίας, η εμφάνιση ανθεκτικών στις κινολόνες και πολυανθεκτικών στελεχών της σαλμονέλας συμβάλλουν στο μέγεθος του προβλήματος. Στις Ηνωμένες Πολιτείες και την Ευρώπη, ο ρυθμός ανάπτυξης της ανθεκτικότητας των στελεχών εμφανίζεται χαμηλός αλλά σταθερός και σχετίζεται με την κατανάλωση μολυσμένων πουλερικών, την εμφάνιση παθογόνων στη γεωργία και την εισαγωγή ακατάλληλων φυτικών προϊόντων. Μια καλύτερη κατανόηση της βακτηριακής ανθεκτικότητας για την βελτίωση του σχεδιασμού των εμβολίων θα δώσουν την ελπίδα για τον περιορισμό της εξάπλωσης των ανθεκτικών στελεχών της. Ακόμα, θα μειωθεί η νοσηρότητα του διεθνούς εύρους ασθενειών από παθογόνα *Salmonella* (Woc-Colburn and Bobak, 2009).

Η σαλμονέλα είναι μια κύρια αιτία τροφικής ασθένειας. Η εμφάνιση της αντιμικροβιακής ανθεκτικότητας στη σαλμονέλα συνδέεται με τη χρήση αντιβιοτικών σε ζώα που εκτρέφονται με σκοπό την διατροφή του ανθρώπου. Τα ανθεκτικά βακτήρια μπορούν να μεταδοθούν στον άνθρωπο μέσω των τροφίμων, ιδιαίτερα εκείνων ζωικής προέλευσης. Οι White et al.(2001) ταυτοποίησαν και χαρακτήρισαν τα στελέχη σαλμονέλας που απομονώθηκαν από κρέατα του λιανικού εμπορίου στην περιοχή της Ουάσιγκτον.

Η μελέτη των Miranda et al.,(2009) σε καταστήματα λιανικής πώλησης και σούπερ μάρκετ στο Hidalgo State (Μεξικό), αποκάλυψε ότι η σαλμονέλα ήταν επικρατέστερη σε τρόφιμα από καταστήματα λιανικής πώλησης σε σχέση με τα τρόφιμα από τα σούπερ μάρκετ. Επιπλέον, συγκριτική έρευνα των Appelbaum et al. (1982), σχετικά με τις μεθόδους API 20E, Minitek and EntericTek για την ταυτοποίηση εντεροβακτηρίων όπως η *Salmonella enteritidis*, το *Citrobacter* spp., το *Enterobacter* spp., και το *Proteus* spp. έδειξε ότι όλες οι παραπάνω μέθοδοι έχουν την ικανότητα της αναγνώρισης των περισσότερων κλινικά απομονωμένων εντεροβακτηρίων χωρίς συμπληρωματικές δοκιμές.

Από την άλλη πλευρά, η *salmonella* spp. και η *listeria* spp. συναντώνται τακτικά σε λάσπη από εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων (Ganzer et al., 2001, Garrec et al., 2003), γεγονός που επαληθεύεται και από την παρούσα ερευνητική εργασία. Σύμφωνα με τον Garrec (2003), η *listeria* επιβιώνει για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα συγκριτικά με τη σαλμονέλα και εγκυμονεί σοβαρούς κινδύνους για την ανθρώπινη υγεία σε περίπτωση που χρησιμοποιηθεί σαν εδαφοβελτιωτικό λάσπη μολυσμένη από αυτή. Πιο συγκεκριμένα η *listeria* μπορεί να επιβιώσει στο έδαφος για 295 ημέρες. Το βακτήριο αυτό έχει ανιχνευθεί σε λαχανικά όπως το μαρούλι, το λάχανο και η πατάτα, στα οποία είχε χρησιμοποιηθεί σαν λίπασμα ιλύς από εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων (Beuchat, 1996).

Το γένος *Listeria* spp., περιλαμβάνει δύο είδη παθογόνων *Listeria monocytogenes* και *Listeria ivanovii* και τα τέσσερα προφανώς μη παθογενή είδη τα *Listeria innocua*, *Listeria seeligeri*, *Listeria welshimeri*, και *Listeria grayi* (Schmid et al. 2005).

Η *Listeria monocytogenes* είναι ένας Gram + βάκιλος, ο οποίος δημιουργεί αποικίες στον γαστρεντερικό σωλήνα του ανθρώπου, στα ζώα, στα λαχανικά και στο έδαφος. Μεταφέρεται στον άνθρωπο μέσω του μολυσμένου νερού, κρέατος και γαλακτοκομικών προϊόντων (Εικόνα 4.3). Στον άνθρωπο προκαλεί λιστερίωση και μηνιγγίτιδα. Η *Listeria monocytogenes* είναι μια

ασυνήθιστη αυξανόμενη αιτία της βακτηριακής μηνιγγίτιδας. Σε νοσοκομειακή έρευνα δύο παιδιά, 18 μηνών και 7 χρονών αντίστοιχα, δεν ανταποκρίθηκαν στην εμπειρική αντιβιοτική θεραπεία που τους χορηγήθηκε. Υπόνοιες για την αιτία της βακτηριακής μηνιγγίτιδας έπρεπε εξ αρχής να υπάρχουν για την *Listeria monocytogenes*, ώστε να μην φτάσει το ένα από τα δύο παιδιά να παραλύσει (Dilber et al., 2009).



Εικόνα 4.3. Αναπαράσταση *Listeria monocytogenes*

Πηγή: Scanning EM showing Flagella, listeria.com

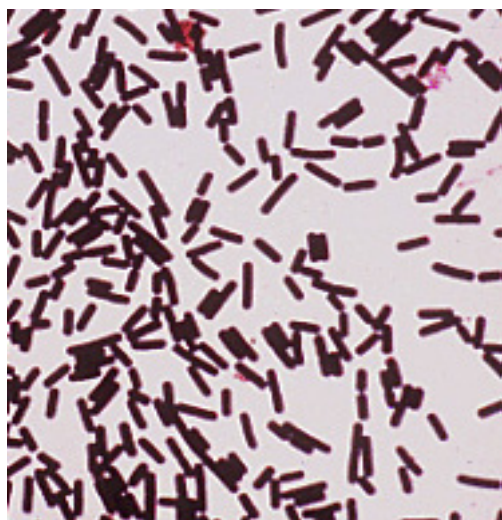
Η *Listeria innocua* είναι ευρέως διαδεδομένη στο περιβάλλον και στα τρόφιμα. Αποτελεί μη παθογόνο βακτηριακό είδος, όπως αναφέρθηκε του οποίου όμως οι μορφολογικές, βιοχημικές και μοριακές ιδιότητες, σύμφωνα με τους Liu et al., (2003) ομοιάζουν με αυτές του παθογόνου *Listeria monocytogenes*. Η παρουσία του *Listeria innocua* μπορεί να προκαλέσει σύγχυση ή δυσκολία στην ταυτοποίηση της *Listeria monocytogenes* ή άλλων ειδών *Listeria* spp. στο εργαστήριο. Το είδος αυτό δεν έχει συσχετιστεί με ανθρώπινη ασθένεια. Πάραυτα, σύμφωνα με τους Perrin et al., (2003) έχει καταγραφεί περιστατικό θανατηφόρας βακτηριαιμίας σε 62 χρονών ασθενή, που προκλήθηκε από *Listeria innocua* (Liu et al., 2003).

Βακτήρια που ανήκουν στο γένος *Listeria* και έχουν απομονωθεί σε ζωικά και φυτικά προϊόντα διατροφής συνδέονται άμεσα με λοιμώξεις σε ασθενείς με ανοσοκαταστολή, σε έγκυες γυναίκες και βρέφη. Το είδος *Listeria grayi* έχει αναφερθεί σπάνια ως ανθρώπινο παθογόνο, διότι εμφανίζει αντιβιοτικό προφίλ μεγάλης ευαισθησίας. Η έρευνα των Rapose et al., (2008) έδειξε ότι σε περιστατικό μεταμόσχευσης καρδιάς, ο ασθενής παρουσίασε βακτηριαιμία που οφειλόταν σε *Listeria grayi*. Ο οργανισμός έδειξε μειωμένη ευαισθησία

στην αμπικιλίνη και η βακτηριαίμια αντιμετωπίστηκε επιτυχώς με το συνδυασμό βανκομυκίνης και σιπροφλοξασίνης.

Το API *Listeria* αποτελεί ένα test 10 δοκιμών για 24 ωρών βιοχημική ταυτοποίηση της *Listeria* από απομονωμένα στελέχη της. Με αυτό οι Bille et al., (1992) μελέτησαν 646 στελέχη *Listeria* εκ των οποίων το 85% συμπεριλαμβανομένων και των άτυπων στελεχών, ταυτοποιήθηκαν κατά είδος χωρίς συμπληρωματική δοκιμή. Με το API διαφοροποιείται η *Listeria monocytogenes* από την *L. innocua*, με βάση την απουσία αρυλαμιδάσης (arylamidase) από την πρώτη. Στην έρευνα αυτή το 97,7% (252 από 258) των στελεχών της *Listeria monocytogenes* ταυτοποιήθηκαν σωστά και διαφοροποιήθηκαν από το 99,4% (175 από 176) των στελεχών της *Listeria innocua*, τα οποία επίσης αναγνωρίστηκαν. Με το σύστημα αυτό μειώνεται ο χρόνος που απαιτείται για την ταυτοποίηση του είδους αφού τα αποτελέσματα είναι διαθέσιμα εντός 18 έως 24 ωρών.

Επιπρόσθετα, το *Clostridium perfringens* είναι Gram + βάκιλος, υποχρεωτικά αναερόβιος, το οποίο έχει την ιδιότητα να σχηματίζει ενδοσπόριο όταν οι συνθήκες δεν είναι ευνοϊκές (Εικόνα 4.4). Το συναντάμε στο έδαφος αλλά και στη φυσική μικροχλωρίδα του εντέρου του ανθρώπου και των ζώων, για αυτό και χρησιμοποιείται ως περιττωματικός δείκτης. Παρόλα αυτά μπορεί να λειτουργήσει και ως παθογόνο προκαλώντας στον άνθρωπο εντερολοιμώξεις και γάγγραινα μετά από κατανάλωση μολυσμένων τροφών. Ωστόσο, για να προκύψουν συμπτώματα απαιτείται η κατανάλωση εκατομμυρίων βλαστικών κυττάρων του βακτηρίου ανά γραμμάριο τροφής.



Εικόνα 4.4. Αναπαράσταση *Clostridium perfringens*

Επίσης, οι ιοί είναι ανίκανοι να πολλαπλασιαστούν έξω από τα ζωντανά κύτταρα ενός οργανισμού, αλλά μπορούν να επιβιώσουν κάτω από δυσμενείς συνθήκες. Για παράδειγμα, ο ιός της Ηπατίτιδας Α ταυτοποιήθηκε σε εργάτες που χρησιμοποίησαν ιλύ στη γεωργία και όπως διαπιστώθηκε οφειλόταν στην κακή υγιεινή και στα ανεπαρκή μέτρα προστασίας που λήφθηκαν κατά την εφαρμογή της (Λαμπράκης κ.ά.,2002).

Τα παράσιτα από την άλλη πλευρά, έχουν την ιδιότητα να επιβιώνουν για μεγάλο χρονικό διάστημα. Κάποιοι σκώληκες όπως οι *Taenia* spp. και *Ascaris* spp, έχουν εξελίξει τα αυγά τους ώστε να επιτύχουν τη μεταφορά τους από τον ένα οργανισμό στον άλλο. Συγκεκριμένα, τα αυγά του γένους *Ascaris* spp, μπορούν να επιβιώσουν μέχρι και τρία χρόνια κατά την αποθήκευση της ιλύος (Deportes et al., 1995). Επίσης, παθογόνα πρωτόζωα όπως τα γένη *Cryptosporidium* και *Giardia* έχουν εξελίξει ένα μηχανισμό κύστεων για τον ίδιο σκοπό. Αυτές οι δομές είναι εξαιρετικά ανθεκτικές στις πιέσεις του περιβάλλοντος. Εντούτοις, αυτοί οι οργανισμοί δεν μπορούν να αναπαραχθούν έξω από έναν κατάλληλο οργανισμό και αυτό σημαίνει ότι οι συγκεντρώσεις τους στην ιλύ είναι σχετικά χαμηλές. Τα πρωτόζωα (protozoa), είναι μονοκύτταροι, ετεροτροφικοί, αερόβιοι μικροοργανισμοί, μεγέθους 5-500 μm και αποτελούν ένα σημαντικό ποσοστό της συνολικής βιομάζας σε ένα σύστημα ενεργού ιλύος. Ο πολλαπλασιασμός τους γίνεται με κυτταροδιαίρεση ή με σχηματισμό σπορίων (Λέκκας, 2001). Επηρεάζουν την απόδοση της διεργασίας της ιλύος καθώς δρουν ως θηρευτές ελεύθερων βακτηρίων και αιωρούμενου οργανικού υλικού. Παράλληλα εκκρίνουν πολυσακχαρίτες που ευνοούν το σχηματισμό των βιοκροκίδων (Curds, 1982).

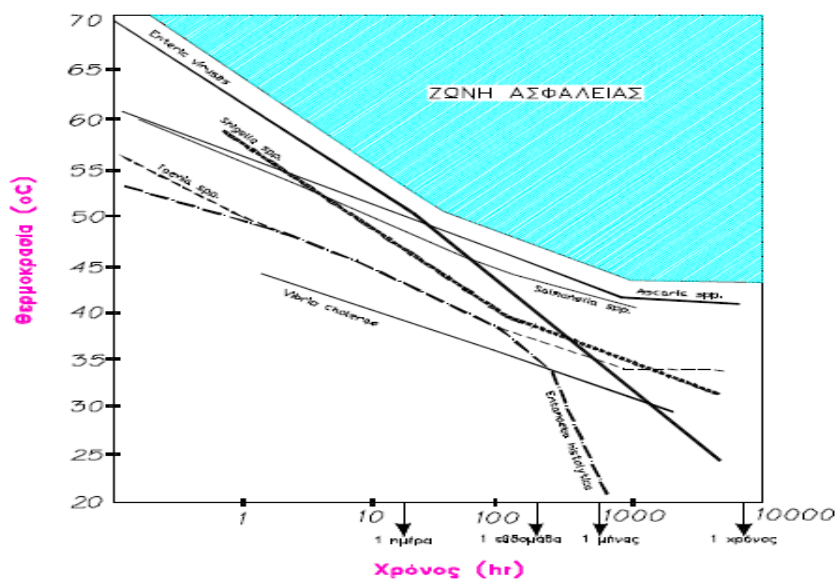
Οι κυριότερες κατηγορίες πρωτόζωων στην ενεργό ιλύ είναι: α) τα μαστιγοφόρα (flagellates), β) οι αμοιβάδες (amoebae) και γ) τα βλεφαριδοφόρα (ciliates), ελεύθερα ή προσκολλημένα. Η ύπαρξη ισόρροπης ανάπτυξης μεταξύ ελεύθερων και προσκολλημένων βλεφαριδοφόρων υποδεικνύει ικανοποιητική λειτουργία της διεργασίας. Αντίθετα, υπεραφθονία μαστιγοφόρων, αμοιβάδων, ελεύθερων βλεφαριδοφόρων ή υπεραφθονία προσκολλημένων βλεφαριδοφόρων υποδεικνύουν συνθήκες υψηλής και χαμηλής οργανικής φόρτισης, αντίστοιχα (Jenkins et al., 1993). Καθοριστικής σημασίας είναι επίσης ο ρόλος των πρωτόζωων, ως βίο-δείκτες (bio-indicators), σε περιπτώσεις παρουσίας τοξικών ουσιών στα εισερχόμενα λύματα. Η παρουσία τοξικών ουσιών επιβραδύνει αρχικά την κίνηση των βλεφάρων στα βλεφαριδοφόρα. Στη συνέχεια, η θέση τους στο οικοσύστημα της ενεργού ιλύος καταλαμβάνεται από μαστιγοφόρα

και μικρά ελεύθερα βλεφαριδοφόρα. Σε ακραίες περιπτώσεις επέρχεται θάνατος και λύση όλων των ειδών (Jenkins et al., 1993).

Αναμφισβήτητα, τα τροχόζωα (rotifers) και οι νηματώδεις (nematodes) είναι τα πιο σύνθετα από τα παράσιτα με μέγεθος 50-500 μm . Οι νηματώδεις εμφανίζουν χρόνους διπλασιασμού σημαντικά υψηλότερους από τις ηλικίες ιλύος συμβατικών μονάδων ενεργού ιλύος. Το γεγονός αυτό έχει ως συνέπεια ο ρόλος τους στη βακτηριακή θήρευση και στην αποδόμηση της ενεργού ιλύος να είναι μικρός. Σε αντίθεση, τα τροχόζωα ανιχνεύονται πολύ πιο συχνά σε μονάδες ενεργού ιλύος. Συμβάλλουν στη θραύση των μεγάλων βιοκροκίδων και στη βελτίωση της ποιότητας των επεξεργασμένων αποβλήτων μέσω θήρευσης των ελεύθερων βακτηριδίων και έκκρισης κολλοειδών ουσιών που συνεισφέρουν στη βιοκροκίδωση (Gray, 1990).

Με σαφήνεια, οι μύκητες (fungi), σπάνια εμφανίζονται ως κυρίαρχος οργανισμός σε μονάδες ενεργού ιλύος. Η κύρια μορφή με την οποία απαντώνται είναι η νηματώδης. Δεσμεύουν από το διάλυμα διαλυτές οργανικές ενώσεις όπως σάκχαρα, αμίνες, οξέα και ανόργανα συστατικά (Λέκκας, 2001). Ανταγωνίζονται τα βακτήρια σε τιμές pH μικρότερες του 6 και η παρουσία τους στη διεργασία της ενεργού ιλύος αποτελεί δείκτη τοξικής φόρτισης. Τα κυριότερα είδη μυκήτων, που απαντώνται σε συστήματα ενεργού ιλύος είναι τα *Geotrichium candidum* και *Trichosporon* spp. (Gray, 1990).

Παράμετροι που έχουν επιπτώσεις στη θανάτωση ή την αδρανοποίηση των προαναφερθέντων παθογόνων μικροοργανισμών είναι η θερμοκρασία, οι τοπικές ανταγωνιστικές συνθήκες καθώς και τα χαρακτηριστικά των ειδών ή των γενών τους. Όσον αφορά στη θερμότητα, όπως προαναφέρθηκε σε άλλο κεφάλαιο, οι παθογόνοι μικροοργανισμοί αδρανοποιούνται κατά τη διάρκεια της έκθεσής τους σε θερμόφιλες θερμοκρασίες (Σχήμα 4.2). Για να είναι αποτελεσματική και γρήγορη η διαδικασία αυτή πρέπει η θερμοκρασία να είναι μεγαλύτερη της βέλτιστης θερμοκρασίας ανάπτυξής τους. Η περίοδος έκθεσης σε θερμοκρασίες της θερμόφιλης περιοχής εξαρτάται από το ύψος της θερμοκρασίας και το είδος του οργανισμού (Carrington, 2001).



Σχήμα 4.2. Έκθεση της ιλύος σε θερμοκρασία για την επίτευξη ιλύος απαλλαγμένης από παθογόνους μικροοργανισμούς

Πηγή: Strauch, (1998)

Η ποσότητα και τα είδη παθογόνων μικροοργανισμών στην λάσπη που παράγεται από εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων μπορούν να ποικίλουν αρκετά ανάλογα με το χρόνο, την γεωγραφική περιοχή, τις τοπικές περιστάσεις και την υγεία του τοπικού πληθυσμού (Κάρτσωνας, 2005). Σύμφωνα με στοιχεία που δημοσίευσε ο Davis (1999), οι συγκεντρώσεις των μικροοργανισμών στην ανεπεξέργαστη ιλύ συνοψίζονται όπως φαίνεται στον πίνακα 4.12.

Πίνακας 4.12. Συγκεντρώσεις μικροοργανισμών στην ανεπεξέργαστη ιλύ

	Μικροοργανισμοί	Συγκέντρωση
Βακτήρια	Escherichia coli	10^6 g^{-1}
	Salmonella spp	$10^2\text{-}10^3 \text{ g}^{-1}$
Ιοί	Enterovirus	$10^2\text{-}10^4 \text{ g}^{-1}$
Πρωτόζωα	Giardia	$10^2\text{-}10^3 \text{ g}^{-1}$
Σκώληκες	Ascaris	$10^2\text{-}10^3 \text{ g}^{-1}$
	Toxacara	$10\text{-}10^2 \text{ g}^{-1}$
	Taenia	5 g^{-1}

Πηγή: Davis, (1999)

Τα παραπάνω στοιχεία επαληθεύουν την πρόταση του Strauch (1998), ότι μια εγκατάσταση που παράγει υγιεινοποιημένη λάσπη θα πρέπει να είναι σε θέση να καθιστά μείωση της τάξης του 10^4 στη συγκέντρωση της σαλμονέλας και να καθιστά τα αυγά των

σκωλήκων μη βιώσιμα. Όπως φαίνεται από τον παραπάνω πίνακα, η συγκέντρωση των εντεροϊών στην ανεπεξέργαστη λάσπη φτάνει το 10^4 g^{-1} ωστόσο μια μείωση εδώ της τάξης των 4 log10 δε θα επέφερε αξιόλογες μεταβολές στις συγκεντρώσεις τους. Πολλοί ερευνητές (Deportes et al., 1998; Hassen et al., 2001) έχουν προτείνει όρια για τους παρακάτω μικροβιακούς πληθυσμούς, προκειμένου να είναι ασφαλής η διάθεση της ιλύος που προέρχεται από την επεξεργασία αστικών λυμάτων, τα οποία διαμορφώθηκαν ως εξής

- $5 * 10^3$ περιττωματικοί στρεπτόκοκκοι ανά γραμμάριο ξηρής λάσπης
- $5 * 10^2$ κολίμορφα ανά γραμμάριο ξηρής λάσπης και
- απουσία σαλμονέλας ανά 100 γραμμάρια ξηρής λάσπης.

Ο Strauch (1998) επίσης υποστηρίζει ότι αμέσως μετά από την επεξεργασία της ιλύος δε πρέπει να ανιχνευθεί *Salmonella* spp., καθώς και ότι η συγκέντρωση των εντεροβακτηρίων (enterobacteriaceae) που περιέχονται σε ένα γραμμάριο επεξεργασμένης λάσπης δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 1000. Σύμφωνα με τους κανονισμούς για τη ιλύ που εκδίδονται από τον U.S. EPA “Class A” (1999), οι παθογόνοι μικροοργανισμοί πρέπει να είναι κάτω από τα όρια ανίχνευσης τα οποία ορίζονται ως εξής:

- *Salmonella* spp. Συγκέντρωση λιγότερη από 3MPN²² ανά 4 γραμμάρια λάσπης (ξηρό βάρος).
- Enteroviruses. Συγκέντρωση λιγότερη από 1 PFU²³ ανά 4 γραμμάρια λάσπης (ξηρό βάρος).
- Βιώσιμα αυγά σκωλήκων. Λιγότερο από 1 βιώσιμο αυγό ανά 4 γραμμάρια λάσπης (ξηρό βάρος)
- *E.coli*. Συγκέντρωση λιγότερη από 1000 ανά γραμμάριο λάσπης (ξηρό βάρος)

Προκειμένου να αξιολογηθεί η απόδοση των εγκαταστάσεων επεξεργασίας λυμάτων και να διασφαλιστεί η ποιότητα της λάσπης πρέπει να εφαρμόζονται έλεγχοι σχετικά με την παρουσία κάποιων μικροοργανισμών δεικτών. Οι οργανισμοί – δείκτες πρέπει να είναι οργανισμοί που βρίσκονται συνήθως στις λάσπες και έχουν παρόμοια ανθεκτικότητα στην επεξεργασία με αυτή των παθογόνων οργανισμών. Για το λόγο αυτό, ο Carrington (2001) προτείνει το *E.coli* ή τους εντερόκοκκους και το *Clostridium perfringens*. Σε ότι αφορά τη συγκέντρωσή τους το *E.coli* δεν πρέπει να υπερβαίνει το 1000 ανά γραμμάριο λάσπης

²² Most probable number - τρόπος εκτίμησης του αριθμού των βακτηρίων

²³ plaque forming units - τρόπος εκτίμησης του αριθμού των ιών

(ξηρό βάρος) και δοκιμαστικά συνιστάται τα σπόρια του *Clostridium perfringens* να μην υπερβαίνουν τα 3000 ανά γραμμάριο ξηρής λάσπης (Carrington, 2001).

Όπως στην περίπτωση των οργανικών ρυπαντών έτσι και με τους παθογόνους μικροοργανισμούς η Ευρωπαϊκή Οδηγία 86/278/ΕΟΚ δεν περιλαμβάνει πληροφορίες αναφορικά με ανώτατες τιμές συγκεντρώσεων παθογόνων που πρέπει να τηρούνται στις περιπτώσεις εδαφικής εφαρμογής της ιλύος. Προκειμένου όμως να εξασφαλισθούν προϋποθέσεις ελαχιστοποίησης των κινδύνων διάφορα ευρωπαϊκά κράτη έχουν θεσπίσει ανάλογα εθνικά όρια (πίνακας 4.13)(Κουλουμπής κ.ά., 2007).

Πίνακας 4.13. Ανώτατες επιτρεπόμενες τιμές συγκεντρώσεων παθογόνων στην ιλύ που προορίζεται για γεωργική χρησιμοποίηση

Κράτος	Salmonella	Άλλα παθογόνα
Γαλλία	8 MPN ²⁴ / 10 g ιλύος ΞΥ	Εντεροϊοί: 3 MPCN ²⁵ / 10g ιλύος ΞΥ Αυγά ελμίνθων: 3 / 10g ιλύος ΞΥ
Ιταλία	1000 MPN / g ιλύος ΞΥ	
Λουξεμβούργο		Εντεροβακτήρια: 100 / g ιλύος Αυγά σκωλήκων με μολυσματική πιθανότητα: όχι
Πολωνία	Η ιλύς δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί στη γεωργία εάν περιέχει Salmonella	Παράσιτα: 10 / kg ιλύος ΞΥ

Πηγή: Κουλουμπής κ.ά., (2007), European commission, (2001)

Οι τιμές του πίνακα 4.13, μπορούν να λαμβάνονται υπόψη από την ελληνική νομοθεσία, μέχρι να διευκρινισθεί οριστικά το θέμα μέσω της Αναθεωρημένης Οδηγίας της ΕΕ. Σε αυτό το πλαίσιο, αξίζει να αναφερθεί ότι η νομοθεσία της Πολωνίας απαγορεύει τη γεωργική χρησιμοποίηση της ιλύος εάν αυτή περιέχει σαλμονέλα και άλλα παθογόνα. Στη Δανία προβλέπεται μόνο η γεωργική χρησιμοποίηση ιλύος με βελτιωμένη επεξεργασία (enhanced (advanced) treated sludge), που δεν επιτρέπεται να περιέχει σαλμονέλα, ενώ η συγκέντρωση

²⁴ MPN: Most Probable Number: Πιο πιθανός [μέγιστος επιτρεπτός] αριθμός μικροοργανισμών

²⁵ MPCN: Most Probable Cytophatic Number: Πιο πιθανός [μέγιστος επιτρεπτός] αριθμός κυτοφατικών μικροοργανισμών

σε κοπρώδεις στρεπτόκοκκους (faecal streptococci) δεν πρέπει να υπερβαίνει τη τιμή των 100 ανά γραμμάριο (Κουλουμπής κ.ά., 2007). Συνοπτικά, οι εφαρμοζόμενες μέθοδοι απολύμανσης της ιλύος προκειμένου να απαλλαχθεί από τα παθογόνα παρουσιάζονται στον πίνακα 4.14 που ακολουθεί.

Πίνακας 4.14. Μέθοδοι απολύμανσης ιλύος για γεωργική χρησιμοποίηση

Μέθοδοι απολύμανσης της ιλύος	Βέλτιστες συνθήκες
Ιδιαίτερα αποτελεσματικές μέθοδοι ως προς την απολύμανση	
Θερμική ξήρανση	> 80° C
Θερμοφιλική αναερόβια χώνευση	55 ° C για τουλάχιστον 10 ημέρες
Θερμοφιλική αερόβια χώνευση	
Κομποστοποίηση	50-60 ° C για τουλάχιστον 15-30 ημέρες
Παστερίωση	70-80 ° C για τουλάχιστον 30 λεπτά
Επεξεργασία με ασβέστη	pH 12 για τουλάχιστον 10 ημέρες
Λιγότερο ή λίγο αποτελεσματικές μέθοδοι ως προς την απολύμανση	
Μεσοφιλική αναερόβια χώνευση	35 ° C για τουλάχιστον 20 ημέρες
Ψυχοφιλική αναερόβια χώνευση	20 ° C για τουλάχιστον 30 ημέρες
Ψυχοφιλική αερόβια χώνευση	

Πηγή: Κουλουμπής κ.ά., (2007)

Κεφάλαιο 5^ο : Περιβαλλοντικοί κίνδυνοι από την ιλύ αστικών λυμάτων-Εδαφική εφαρμογή

5.1 Περιβαλλοντικοί κίνδυνοι από την ιλύ αστικών λυμάτων

Η χημική σύσταση της ιλύος επηρεάζεται σημαντικά από τον τόπο προέλευσης των λυμάτων. Έτσι ανάλογα με την περιοχή αυτή, η ιλύς, μπορεί να είναι λιγότερο ή περισσότερο περιεκτική σε βαρέα μέταλλα, οργανικούς ρυπαντές και παθογόνους μικροοργανισμούς. Οι προβληματισμοί που προκύπτουν για την εκμετάλλευση της ιλύος εντοπίζονται κυρίως στα εξής:

1. Το επίπεδο της μόλυνσης από παθογόνους μικροοργανισμούς
2. Το επίπεδο των ισχυρών τοξικών στοιχείων και βαρέων μετάλλων
3. Η σταθερότητα του οργανικού κλάσματος της ιλύος (Λαμπράκης, 2002).

Η ιλύς συνιστά ένα πολύπλοκο μίγμα διαφόρων ουσιών ανόργανης ή οργανικής φύσης, παθογόνων και άλλων βιολογικών παραγόντων. Οι συγκεντρώσεις των παραγόντων αυτών μπορεί να επιφέρουν σημαντικές αρνητικές επιπτώσεις (ρύπανση – μόλυνση) στο έδαφος,

στα φυτά, στην ποιότητα των υδροφορέων και στην υγεία ανθρώπων και ζώων. Η σύσταση της ιλύος διαφέρει επιπλέον και την αποτελεσματικότητα της επεξεργασίας στην οποία υποβάλλονται τα λύματα (Κουλουμπής κ.ά, 2007).

Ιδιαίτερα για τις ελληνικές συνθήκες, οι πληροφορίες αναφορικά με τις συγκεντρώσεις των ουσιών αυτών στην ιλύ είναι πολύ περιορισμένες. Σε διεθνή κλίμακα έχουν διατυπωθεί σοβαρές επιφυλάξεις σχετικά με τη σκοπιμότητα της γεωργικής χρησιμοποίησης μη σταθεροποιημένων ιλύων, λόγω των κινδύνων που υφίσταται για την υγεία ανθρώπων και ζώων. Συγκεκριμένα στις ΗΠΑ, έχουν παρατηρηθεί επανειλημμένα συμπτώματα (φλεγμονές οφθαλμών και πνευμόνων, δερματικά εξανθήματα) ασθενειών σε άτομα που εργάζονταν σε περιοχές που γειτόνευαν με εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων ή ζούσαν κοντά σε εδάφη, στα οποία είχε εφαρμοσθεί ανεπαρκώς σταθεροποιημένη ιλύς. Οι ασθένειες αποδόθηκαν στη δράση της ιλύος (sludge syndrome)²⁶.

Η επιλογή για τη γεωργική χρησιμοποίηση της ιλύος πρέπει να είναι πάντοτε αποτέλεσμα συνεκτίμησης των θετικών και των αρνητικών στοιχείων της. Η διάθεση της ιλύος στο έδαφος είναι μια μέθοδος ανακύκλωσης των συστατικών της ιλύος με γεωργική αξία. Όλα τα είδη της ιλύος (υγρή, ημι-στερεή, στερεή και ξηραμένη ιλύς) μπορεί να εφαρμοστούν στο έδαφος. Ωστόσο, η χρήση κάθε είδους εμπεριέχει πρακτικούς περιορισμούς στην αποθήκευση, μεταφορά και στη μέθοδο εφαρμογής (Αγγελάκης, 2005). Για τη διάθεση της ιλύος στην γεωργία θα πρέπει να εξασφαλίζονται τα παρακάτω:

1. Περιορισμένη εισαγωγή βαρέων μετάλλων στην αγροτική γη,
2. Χαμηλή συγκέντρωση συνθετικών οργανικών ενώσεων στην ιλύ,
3. Ελάχιστη έως μηδενική έκθεση σε παθογόνους μικροοργανισμούς,
4. Προστασία των υπογείων και επιφανειακών υδάτων από την διασπορά της ιλύος στην επιφάνεια και
5. Μη δημιουργία ενοχλητικών συνθηκών (πχ. από δυσοσμίες)

Η χρησιμοποίηση ιλύος απαγορεύεται όταν η συγκέντρωση ενός ή περισσότερων βαρέων μετάλλων στο έδαφος υπερβαίνει τις οριακές τιμές του Παρατήματος ΙΑ της Οδηγίας (Πίνακας 5.1). Στην Ευρωπαϊκή Ένωση, οι χώρες-μέλη οφείλουν σε μία τέτοια

²⁶ <http://www.uga.edu/columns/021007/news7.html>

περίπτωση να λαμβάνουν κατάλληλα μέτρα ώστε να μη σημειώνεται υπέρβαση των εν λόγω οριακών τιμών εξαιτίας της χρησιμοποίησης ιλύος. Σύμφωνα με την ελληνική νομοθεσία (ΚΥΑ 80568/4225/1991, Άρθρο 5), η γεωργική χρήση της ιλύος απαγορεύεται στις παρακάτω περιπτώσεις:

1. Σε χορτολιβαδικές εκτάσεις που χρησιμοποιούνται ως βοσκότοποι ή σε καλλιέργειες ζωοτροφών πριν παρέλθει ορισμένη προθεσμία μεγαλύτερη από 3 εβδομάδες)
2. Σε καλλιέργειες οπωροκηπευτικών κατά την περίοδο της βλάστησης (εξαιρούνται οι καλλιέργειες οπωροφόρων δέντρων)
3. Σε εδάφη προοριζόμενα για καλλιέργειες οπωροκηπευτικών που βρίσκονται σε άμεση επαφή με το έδαφος και που συνήθως καταναλώνονται ωμά (δέκα μήνες πριν αρχίσει η συγκομιδή και κατά τη συγκομιδή) (Κάρτσωνας, 2005).

Κύριος στόχος του Εθνικού Σχεδιασμού για τις ιλύες από ΕΕΛ είναι η επίτευξη υψηλού ποσοστού αξιοποίησης με αντίστοιχη μείωση του ποσοστού τελικής διάθεσης. Οι δράσεις μέσω των οποίων μπορεί να γίνει η αξιοποίηση της ιλύος είναι:

1. Απευθείας χρήση σε αγροτικές εφαρμογές, σύμφωνα με τους περιορισμούς της ΚΥΑ 80568/4225/91
2. Επανεένταξη στο φυσικό περιβάλλον «τραυματισμένων» φυσικών ανάγλυφων, υπό την προϋπόθεση ότι η ιλύς θα είναι σταθεροποιημένη ή θα έχει υποστεί συνεπεξεργασία με άλλα μη επικίνδυνα βιοαποικοδομήσιμα απόβλητα, όπως το οργανικό κλάσμα των αστικών αποβλήτων.
3. Ξήρανση της ιλύος και χρήση αυτής ως καυσίμου ύλης.

Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 5.1) υπάρχουν οι προδιαγραφές που τίθενται για χρήση της ιλύος στη γεωργία, σύμφωνα με την Οδηγία 86/278/ΕΕ και σύμφωνα με την ελληνική νομοθεσία (ΚΥΑ 80568/4225/91).

Πίνακας 5.1. Προδιαγραφές για χρήση ιλύος στη γεωργία, σύμφωνα με την Οδηγία 86/278/ΕΕ και την ελληνική νομοθεσία (ΚΥΑ 80568/4225/91).

		Οδηγία 86/278/ΕΕ	ΚΥΑ 80568/4225/91
Βαρέα μέταλλα στην	Cd	20-40	20-40

Ιλύ (mg/kg DS) Παράρτημα IB		Cr	-	Cr(III): 500, Cr(IV): 10
		Cu	1000-1750	1000-1750
		Hg	16-25	16-25
		Ni	300-40	300-40
		Pb	750-1200	750-1200
		Zn	2500-4000	2500-4000
Βαρέα μέταλλα στο έδαφος (mg/kg DS) Παράρτημα IA		Cd	1-3	1-3
		Cr	-	-
		Cu	50-140	50-140
		Hg	1-1.5	1-1.5
		Ni	30-75	30-75
		Pb	50-300	50-300
Βαρέα μέταλλα που μπορούν να εισάγονται στα καλλιεργημένα εδάφη με βάση ένα μέσο όρο 10 ετών (kg/ha/έτος)		Zn	150-300	1150-300
		Cd	0,15	0.15
		Cu	12	12
		Ni	3	3
		Pb	15	15
		Zn	30	30
Επιφάνειες που απαγορεύεται η χρήση ιλύος		Hg	0.1	0.1
		Cr	-	-
		Σε χορτολιβαδικές εκτάσεις που χρησιμοποιούνται ως βοσκότοποι ή σε καλλιέργειες ζωοτροφών προτού παρέλθει ορισμένη προθεσμία και που δεν μπορεί να είναι μικρότερη από 3 εβδομάδες		
		Σε καλλιέργειες οπωροκηπευτικών κατά την περίοδο της βλάστησης (εξαιρούνται καλλιέργειες οπωρο-φόρων δέντρων).		
		Σε εδάφη προοριζόμενα για καλλιέργειες οπωροκηπευτικών που βρίσκονται σε άμεση επαφή με το έδαφος και που συνήθως καταναλώνονται ωμά, επί δέκα μήνες πριν αρχίσει η συγκομιδή και κατά τη συγκομιδή		
Συχνότητα δειγματοληψιών	Βαρέα μέταλλα στην ιλύ	6 μήνες		6 μήνες
	Οργανικές ενώσεις	-		-
	Έδαφος	Πριν την 1η εφαρμογή		Πριν την 1η εφαρμογή

Πηγή: Κουλουμπής κ.ά., (2007)

A) Βαρέα μέταλλα

Προκειμένου να δημιουργηθούν καλύτερες συνθήκες γεωργικής αξιοποίησης της ιλύος, αλλά και για να περιορισθούν οι ενδεχόμενοι κίνδυνοι για το περιβάλλον και την υγεία ανθρώπων και ζώων, έχει προταθεί στο πλαίσιο της αναθεώρησης της Οδηγίας

86/278/ΕΟΚ (Anonymous, 2000), η δραστική μείωση των ανώτατων τιμών συγκέντρωσης βαρέων μετάλλων για την ιλύ (Πίνακας 5.2).

Πίνακας 5.2. Οριακές ποσότητες βαρέων μετάλλων που μπορούν να εισάγονται κατά έτος στα καλλιεργήσιμα εδάφη [kg/ha.έτος]

Μέταλλο	ΚΥΑ 80568/4225/91	Αναθεώρηση Οδηγίας 86/278/ΕC
Cd	0,15	0,03
Cr	5	3
Cu	12	3
Ni	3	0,90
Pb	15	2
Hg	0,10	0,03
Zn	30	7,50

Πηγή: Κουλουμπής κ.ά., (2007)

Παραταύτα, μεγάλες διαφορές μεταξύ των ορίων συγκεντρώσεων των βαρέων μετάλλων στην ιλύ παρατηρούνται μεταξύ των Κανονισμών της Ευρωπαϊκής Ένωσης (Κατευθυντήρια Οδηγία 86/278 της ΕΕ), των ΗΠΑ (ΕΡΑ) για ιλύ αρίστης ποιότητας (ποιότητα Α), της Γερμανίας, της Σουηδίας, της Ολλανδίας και της Δανίας. Τα όρια παρουσιάζονται στον πίνακα 5. 3 που ακολουθεί.

Πίνακας 5.3. Μέγιστες συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων (mg/kg dry wt) για γεωργική διάθεση της ιλύος

Στοιχείο	ΕΕ	Γερμανία	Σουηδία	Ολλανδία	Δανία	ΗΠΑ
Cd	20-40	5-10	4*	1,25	0,8	39
Cu	1000-1750	800	1200*	75	1000	1500
Ni	300-400	200	50	38	30	420
Pb	750-1200	1000	200*	225	120	300
Zn	2500-4000	2000	800	300	4,000	2800
Hg	16-25	6-10	5*	0,75	0,8	17
Cr	-	900	100	75	100	1200

Πηγή: National Research Council, (1996), Ανδρεαδάκης (2001)

B) Οργανικοί ρύποι

Σε γενικές γραμμές, εδάφη που είναι ξηρά, όξινα και πτωχά σε θρεπτικά συστατικά και οργανική ουσία, όπως τα ελληνικά, χαρακτηρίζονται από ελαττωμένη μικροβιακή δραστηριότητα. Σε αυτά τα εδάφη η αποδόμηση διαφόρων οργανικών ρύπων παρουσιάζεται μειωμένη. Για το λόγο αυτό η ενδεχόμενη επιβάρυνση των ελληνικών ιλύων με επικίνδυνες οργανικές ενώσεις παρουσιάζει ιδιαίτερη σημασία. Στο άμεσο μέλλον ενδείκνυται να ενθαρρυνθεί η ερευνητική δραστηριότητα για το θέμα αυτό.

Η βασική παράμετρος που πρέπει να λαμβάνεται για την αποφυγή περιβαλλοντικών προβλημάτων από την εδαφική εφαρμογή της ιλύος είναι η λήψη των κατάλληλων μέτρων ώστε να μην απορρίπτονται στο αποχετευτικό σύστημα υλικά που μπορεί να περιέχουν οργανικούς ρύπους ή ξενοβιοτικές ενώσεις. Στο πλαίσιο της ΕΕ το θέμα των οργανικών ρύπων της ιλύος βρίσκεται σε στάδιο διαβουλεύσεων. Μέσω της αναθεώρησης της Οδηγίας 86/278/ΕΟΚ έχουν υιοθετηθεί προτάσεις για τις ανώτατες επιτρεπτές οριακές τιμές οργανικών ρύπων προκειμένου να επιτρέπεται η γεωργική χρησιμοποίηση της ιλύος (Κουλουμπής κ.ά., 2007).

Γ) Βιολογικοί παράγοντες (παθογόνοι μικροοργανισμοί)

Τα παθογόνα που εισάγονται μετά από την εφαρμογή της ιλύος στο έδαφος είναι παρόντα στην επιφάνεια του εδάφους, στα φυτά και σε μικρά βάθη του εδάφους. Η διείσδυση των παθογόνων στο έδαφος εξαρτάται από την σύστασή του (συγκεκριμένα την περιεκτικότητα του σε άργιλο) καθώς και την περιεκτικότητα του σε οργανική ύλη. Η διείσδυση των παθογόνων σε βαθύτερα στρώματα του εδάφους μπορεί επίσης να αυξηθεί σε περιπτώσεις που έχουμε την παρουσία ρωγμών, παρατεταμένη ξηρασία, ή απουσία βλάστησης. Η επιβίωση των παθογόνων στο έδαφος εξαρτάται από ένα μεγάλο αριθμό άμεσων ή έμμεσων παραγόντων (Gerba, 1983). Άμεσοι παράγοντες είναι οι κλιματικοί παράγοντες όπως η ηλιοφάνεια και η θερμοκρασία, το pH και τα χαρακτηριστικά του εδάφους (σύσταση, υγρασία κλπ), η ποσότητα της εφαρμοζόμενης λάσπης, τα περιεχόμενα παθογόνα στη λάσπη και ενδεχομένως η παρουσία ανταγωνιστικών οργανισμών. Η επιβίωση τους είναι μικρότερη το καλοκαίρι σε εδάφη με όξινο pH καθώς και σε εδάφη με λίγη οργανική ουσία.

Οι έμμεσοι παράγοντες σχετίζονται με τα βιολογικά χαρακτηριστικά των παθογόνων και ιδιαίτερα με τον τρόπο που μπορούν να επιβιώσουν. Οι πληθυσμοί των παθογόνων μειώνονται επίσης γρηγορότερα όταν η ιλύς απλωθεί στην επιφάνεια του εδάφους, από ότι να θαφτεί. Ανάλογα με τις συνθήκες και τους ιδίους τους παθογόνους μικροοργανισμούς, ο χρόνος επιβίωσης ποικίλει από λίγες μέρες μέχρι μερικά χρόνια ανάλογα με την περίπτωση (Deportes et. al., 1995).

Σύμφωνα με την ισχύουσα Νομοθεσία (ΚΥΑ 80568/4225/91 και Οδηγία 86/278/ΕΕ) δεν τίθενται ιδιαίτεροι περιορισμοί για την χρησιμοποίηση της ιλύος στην γεωργία ως προς το μικροβιακό της φορτίο. Όμως, στην Αναθεώρηση της Οδηγίας 86/278/ΕΕ τίθενται περιορισμοί ως προς το μικροβιακό φορτίο της ιλύος και ειδικότερα καθορίζονται δύο κατηγορίες υγιεινοποιημένης ιλύος, κατόπιν προηγμένης και συμβατικής επεξεργασίας (Πίνακας 5.4)(Κάρτσωνας, 2005).

**Πίνακας 5.4. Επεξεργασία ιλύος για διάθεση στη γεωργία
(Σχέδιο Αναθεώρησης της 86/278/ΕΕ)**

Γεωργική χρήση	Προηγμένη επεξεργασία	Συμβατική επεξεργασία
Βοσκοτόπια	✓	Βοσκή μετά από 6 βδομάδες
Ζωοτροφές	✓	Συγκομιδή μετά από 6 βδομάδες
Αρωταίες εκτάσεις	✓	Άμεση όργωση
Οπωρολαχανικά σε επαφή με το έδαφος	✓	Συγκομιδή μετά από 12 μήνες
Οπωρολαχανικά σε επαφή με το έδαφος που καταναλίσκονται ωμά	✓	Συγκομιδή μετά από 30 μήνες
Οπωροφόρα δένδρα, αμπελώνες, αναδάσωση	✓	Πρόσβαση κοινού μετά από 10 μήνες
Πάρκα και άλλοι χώροι προσπελάσιμοι από το κοινό	✓	ΟΧΙ
Δάση	ΟΧΙ	ΟΧΙ
Αποκατάσταση λατομείων κτλ.	✓	Πρόσβαση κοινού μετά από 10 μήνες

Πηγή: Κάρτσωνας, (2005)

Με τον όρο προηγμένη επεξεργασία θεωρείται ότι η ιλύς έχει υποστεί μία από τις παρακάτω επεξεργασίες:

- Θερμική ξήρανση, εφόσον η θερμοκρασία της ιλύος είναι μεγαλύτερη από 80⁰C και η περιεκτικότητα σε νερό είναι λιγότερη από 10%

- Θερμοφιλική αερόβια σταθεροποίηση στους 55°C για 20 ώρες σε αντιδραστήρες διακοπτόμενης λειτουργίας
- Θερμοφιλική αναερόβια σταθεροποίηση στους 53°C για 20 ώρες σε αντιδραστήρες διακοπτόμενης λειτουργίας
- Θερμική επεξεργασία της ιλύος για τουλάχιστον 30 min στους 70°C, και στη συνέχεια μεσοφιλική χώνευση στους 35°C, με χρόνο παραμονής τουλάχιστον 12 ημέρες.
- Χημική επεξεργασία με ασβέστη, ώστε να διατηρείται το pH>12 για περίοδο τριών μηνών
- Χημική επεξεργασία με ασβέστη, ώστε να διατηρείται το pH>12 για περίοδο δύο ωρών σε θερμοκρασία 55°C.

Με τον όρο συμβατική επεξεργασία θεωρείται ότι ιλύς έχει υποστεί μία από τις παρακάτω επεξεργασίες:

- Θερμοφιλική αερόβια σταθεροποίηση της ιλύος στους 55°C με ελάχιστο χρόνο παραμονής 20 ημέρες
- Θερμοφιλική αναερόβια σταθεροποίηση της ιλύος στους 53°C με ελάχιστο χρόνο παραμονής 20 ημέρες
- Μεσοφιλική αναερόβια σταθεροποίηση της ιλύος στους 35°C με ελάχιστο χρόνο παραμονής 15 ημέρες
- Παρατεταμένος αερισμός σε θερμοκρασία περιβάλλοντος σε αντιδραστήρες διακοπτόμενης λειτουργίας
- Χημική επεξεργασία με ασβέστη, ώστε να διατηρείται το pH>12 για 12 έως 24 ώρες
- Αποθήκευση της υγρής ιλύος σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για ικανό χρονικό διάστημα χωρίς ανάμιξη και απομάκρυνση κατά την διάρκεια αποθήκευσης (Κάρτσωνας, 2005).

Προκαταρκτικές αναλύσεις ιλύων από δεκατρία ΚΕΛ της χώρας, έδειξαν ότι σε δέκα περιπτώσεις ανιχνεύθηκε επιβάρυνση σε κολίμορφα βακτήρια (coliforms) και περιττωματικά κολίμορφα (faecal coliforms) ≥ 2400 ανά 100 ml, ενώ σε έντεκα περιπτώσεις διαπιστώθηκε παρουσία δέκα διαφόρων στελεχών *Salmonella*. Παράσιτα ανιχνεύθηκαν σε πέντε περιπτώσεις, τόσο του παθογόνου πρωτόζωου *Giardia lamblia*

(*Giardia intestinalis*), που προκαλεί διαρροϊκά φαινόμενα στον άνθρωπο και στα ζώα (giardiasi), όσον και του νηματώδους *Toxocara canis*, που προκαλεί σοβαρά συμπτώματα (ηπατικές διαταραχές) σε ανθρώπους (toxocariasis) (Κουλουμπής κ.ά., 2007).

Ιδιαίτερη σημασία πρέπει επίσης να δοθεί και στην ενδεχόμενη περιεκτικότητα της ιλύος σε γενετικώς τροποποιημένα υλικά. Η ύπαρξη τους στην ιλύ πρέπει να αντιμετωπισθεί ως ρυπαντικό φαινόμενο. Η παρουσία γενετικώς τροποποιημένων υπολειμμάτων στο έδαφος μπορεί να οδηγήσει στην μόλυνση άλλων καλλιεργειών ή οργανισμών (μικροχλωρίδα, εδαφοπανίδα) του εδάφους. Τα αποτελέσματα μιας πιθανής μεταφοράς γενετικού υλικού στο έδαφος, δεν έχουν ακόμη μελετηθεί επαρκώς. Σε ανάλογες περιπτώσεις ενδείκνυται η εργαστηριακή έρευνα σχετικά με την ύπαρξη γενετικώς τροποποιημένων οργανισμών ή υλικών στην ιλύ, με δύο τρόπους. Ο πρώτος είναι η μέθοδος των αντισωμάτων (Test ELISA), και ο δεύτερος είναι η αποδοτική μέθοδος της αλυσιδωτής αντίδρασης του DNA (PCR, Polymerase Chain Reaction. Σε κάθε περίπτωση απαραίτητος κρίνεται ο έλεγχος των λυμάτων τα οποία εισέρχονται στο δίκτυο αποχέτευσης, στο πλαίσιο του ισχύοντος νομικού πλαισίου διαχείρισης αστικών αποβλήτων (Κουλουμπής κ.ά., 2007).

Δ) Προστασία επιφανειακών και υπόγειων υδάτων

Η ελεγχόμενη χρήση της ιλύος στη γεωργία στην πραγματικότητα συμβάλλει στην προστασία των επιφανειακών νερών. Η οργανική ύλη που περιέχεται στην ιλύ ενισχύει τη δημιουργία δεσμών μεταξύ των κόκκων του εδάφους και βελτιώνει με τον τρόπο αυτό την δομή του. Όσο καλύτερη είναι η δομή τόσο μεγαλύτερη είναι η αντοχή του εδάφους σε διάβρωση. Επιπλέον, η προσθήκη ιλύος αυξάνει την ικανότητα του εδάφους να κατακρατεί το νερό. Όσον αφορά την προστασία των υπογείων υδάτων, η κύρια πηγή ρύπανσης τους από τη χρήση ιλύος στην γεωργική γη, είναι τα νιτρικά (Αγγελάκης, 2005).

Ε) Οχλήσεις - Δυσοσμίες

Η βασική ενόχληση που μπορεί να προκληθεί κατά την διαχείριση και διάθεση της ιλύος στη γεωργία αφορά τις δυσοσμίες. Αιτία των δυσοσμιών είναι η βιολογική δράση στη μάζα της ιλύος. Το πρόβλημα των οσμών είναι σημαντικό κατά την αποθήκευση της ιλύος για μεγάλο χρονικό διάστημα. Ωστόσο, επισημαίνεται ότι με την απαιτούμενη επεξεργασία για τη μείωση των παθογόνων μικροοργανισμών, αδρανοποιείται το μεγαλύτερο ποσοστό των οργανικών, με αποτέλεσμα στη περίπτωση προηγμένης επεξεργασίας να είναι σχεδόν απίθανο να εμφανιστεί ανάπτυξη δυσοσμιών. Στη

περίπτωση που η ιλύς, πριν την εφαρμογή της στο έδαφος έχει υποστεί συμβατική επεξεργασία, είναι πιθανό να προκληθούν δυσοσμίες (Αγγελάκης, 2005).

5.2 Εδαφική εφαρμογή ιλύος

Τρόπος εφαρμογής της ιλύος στο έδαφος

Οι ελληνικές ιλύες εξέρχονται από τα ΚΕΛ σε κατάσταση που δεν επιτρέπει την διασπορά τους στο έδαφος. Στις περισσότερες περιπτώσεις οι ιλύες παράγονται μετά από διαδικασίες αφύγρανσης και έχουν περιεκτικότητα σε ξηρά ύλη μεταξύ 25% και 30%. Εξ' αιτίας του μικρού βαθμού σταθεροποίησης, όταν η ιλύς ξεραθεί στην ατμόσφαιρα, σχηματίζονται μεγάλα συσσωματώματα, που δύσκολα είναι κατάλληλα για αγροτική αξιοποίηση. Για το λόγο αυτό ενδείκνυται η γεωργική αξιοποίηση της ιλύος εφόσον προηγηθεί κατάλληλη επεξεργασία, όπως κομποστοποίηση.

Σε γενικές γραμμές η ιλύς διασπείρεται στον αγρό με τη βοήθεια κοπροδιασπορέα, και στη συνέχεια ενσωματώνεται στο έδαφος με τη βοήθεια περιστροφικού σκαπτικού (φρέζας). Καλύτερη ενσωμάτωση στο έδαφος πραγματοποιείται όταν ακολουθεί καλλιεργητής και δισκοσβάρνα. Ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δίνεται για την προστασία του τεχνικού προσωπικού οι οποίοι έρχονται σε επαφή με την ιλύ, τόσο κατά τη διάρκεια της μεταφοράς της, όσο και κατά τη διάρκεια της διασποράς της στον αγρό. Πρέπει να λαμβάνονται όλα τα προφυλακτικά μέτρα (φόρμα, μπότες, γάντια), ενώ καλό είναι να γίνεται εμβολιασμός του προσωπικού για πιθανές μεταδοτικές ασθένειες, όπως πχ. για την Ηπατίτιδα Β. Προληπτικά, καλό είναι να μην εμπλέκονται άτομα με αυξημένη ευαισθησία σε αναπνευστικές ασθένειες, και αλλεργίες. Μετά την εδαφική εφαρμογή και την ενσωμάτωση της ιλύος στο έδαφος πρέπει να πλένονται καλά τα αγροτικά μηχανήματα. Ακόμα, απαραίτητη είναι και η τοποθέτηση πινακίδων με την ένδειξη «Προσοχή. Στο αγροτεμάχιο αυτό έχει γίνει εδαφική εφαρμογή ιλύος αστικών λυμάτων για γεωργικούς λόγους. Μην αγγίζετε», για ενημέρωση του αγροτικού πληθυσμού (Κουλουμπής κ.ά., 2007).

Δοσολογία και χρονικές συνθήκες εφαρμογής της ιλύος στο έδαφος

Ο υπολογισμός των ποσοτήτων ιλύος, προκειμένου να μην προκαλούνται δυσμενείς επιπτώσεις στο έδαφος εξαρτάται από τους παρακάτω παράγοντες:

1. Από τη σύνθεση της ιλύος,
2. Τη συγκέντρωση των θρεπτικών στοιχείων του εδάφους,
3. Τις ανάγκες της καλλιέργειας σε N και P
4. Τις συγκεντρώσεις των βαρέων μετάλλων και των οργανικών ρύπων που περιέχονται στην ιλύ.

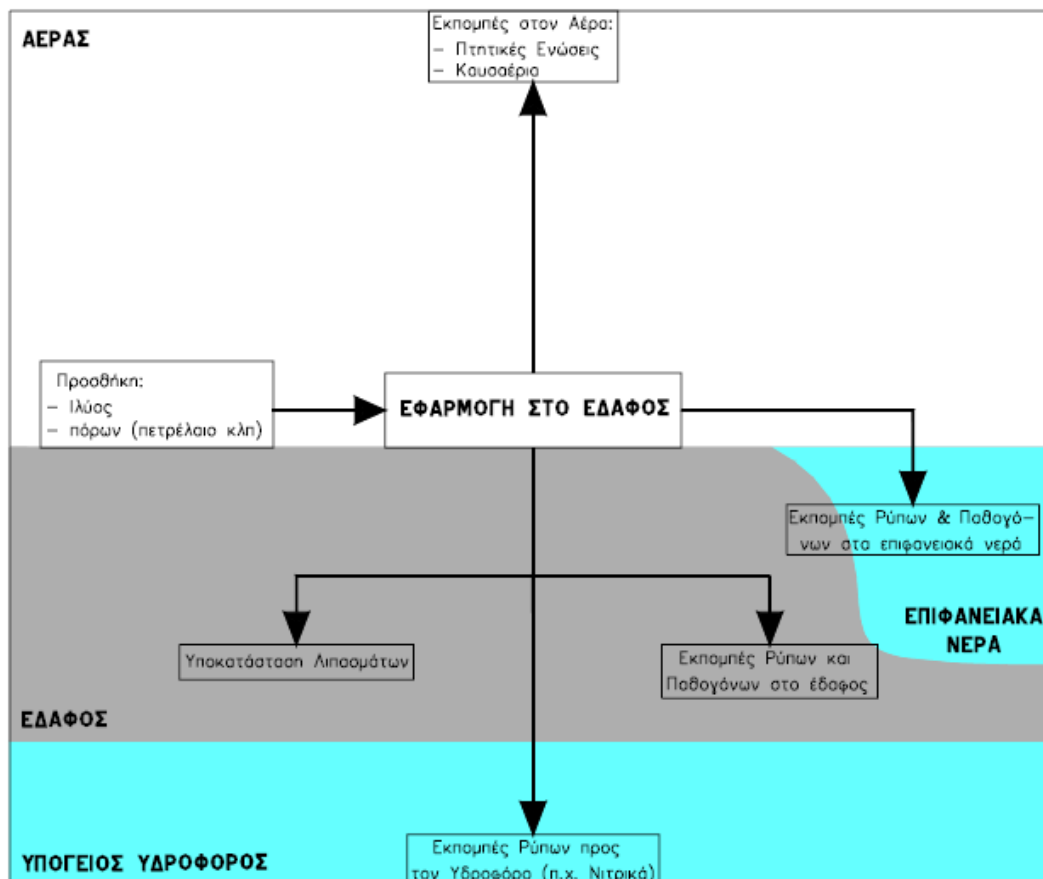
Η εφαρμογή ιλύος πρέπει να διακόπτεται όταν μία από τις ρυπαντικές παραμέτρους, υπερβεί τα ανώτερα επιτρεπτά όρια, τα οποία έχουν καθορισθεί κυρίως με τις εθνικές νομοθεσίες και κατόπιν με τις επιταγές της Αναθεώρησης της Οδηγίας 86/278/ΕΕ. Επιπλέον, η ιλύς προβλέπεται να μην εφαρμόζεται στην ίδια θέση κάθε χρόνο, αλλά να υπάρχει μία περιοδικότητα της εφαρμογής της ανά τακτά χρονικά διαστήματα. Πιο συγκεκριμένα:

- Για βελτίωση γεωργικών εδαφών χρειάζονται 100 τόνοι ξηράς ύλης αφυδατωμένης ιλύος ανά εκτάριο
- Για βελτίωση φυσικών χώρων αναψυχής χρειάζονται 50 τόνοι ξηράς ύλης αφυδατωμένης ιλύος ανά εκτάριο
- Για αποκατάσταση υποβαθμισμένων εκτάσεων (προσθήκη εδαφικής στρώσης): 100-500 τόνοι ξηράς ύλης αφυδατωμένης ιλύος ανά εκτάριο (Κουλουμπής κ.ά., 2007).

Η εφαρμογή της ιλύος στο έδαφος, τελικά, έχει ως αποτέλεσμα τη βελτίωση της απόδοσης του εδάφους και την αντικατάσταση των λιπασμάτων. Η ιλύς περιέχει συστατικά σημαντικά για την γεωργία όπως το άζωτο, το φώσφορο, το κάλλιο και το ασβέστιο. Κατά συνέπεια η εφαρμογή της ιλύος αντικαθιστά τα συμβατικά λιπάσματα.

Αρνητικές επιπτώσεις από την εδαφική εφαρμογή της ιλύος προκαλούνται από την εισροή ρυπαντών στο έδαφος, στον αέρα και στο νερό. Με την εφαρμογή της ιλύος στο έδαφος διατίθενται εκτός από τους ρυπαντές, και οι παθογόνοι μικροοργανισμοί που περιέχονται στην ιλύ. Οι ρυπαντές με την διήθηση, την απορροή, και την αεριοποίηση μπορούν να μεταφέρονται στον αέρα και το νερό και να εισάγονται στην τροφική αλυσίδα, ενώ τα παθογόνα ενδέχεται να δημιουργήσουν σοβαρά προβλήματα στην υγεία των ανθρώπων,

στα ζώα και τα φυτά. Εξάλλου δυσάρεστες συνέπειες μπορεί να προκύψουν από τις οσμές στην περίπτωση που η ιλύς δεν είναι καλά σταθεροποιημένη. Οι επιπτώσεις από την εφαρμογή της ιλύος στο έδαφος φαίνεται στο σχήμα 5.1 (Κάρτσωνας, 2005).



Σχήμα 5.1. Επιπτώσεις κατά τη διάθεση της ιλύος στο έδαφος

Πηγή: Κάρτσωνας, (2005)

Εν κατακλείδι, η Οδηγία της Ε.Ε. για την χρήση της ιλύος στην γεωργία, επιτρέπει μόνο κατάλληλα επεξεργασμένες λάσπες να εφαρμοστούν στη γεωργική γη. Επίσης, δεν επιτρέπει την βοσκή των ζώων για το ελάχιστο διάστημα των τριών εβδομάδων, έτσι ώστε τα επίπεδα οποιουδήποτε παθογόνου να έχουν μειωθεί σε σημαντικό βαθμό πριν τα ζώα εισαχθούν στο χωράφι που έγινε η εφαρμογή της ιλύος. Οι παραπάνω κανονισμοί εφαρμόζονται στην Αγγλία με βάση τον Κανονισμό «The sludge Regulation». Ωστόσο υπάρχει αναπόφευκτα πάντοτε το στοιχείο κινδύνου για μόλυνση του εδάφους (Λαμπράκης, 2002).

Κεφάλαιο 6^ο : Το πρόβλημα της διασποράς των αντιβιοτικών στον περιβάλλον

"Μόνο ένα ποσοστό 40% των Ευρωπαίων γνωρίζει ότι τα αντιβιοτικά είναι αναποτελεσματικά εναντίον των ιών"

(Ευρωπαϊκή Ημέρα κατά των Αντιβιοτικών)

Εν πρώτοις, ο όρος ‘αντιβιοτικό’ αναφερόταν σε κάθε μικροβιακό προϊόν, το οποίο αναστέλλει ή σκοτώνει συγκεκριμένους μικροοργανισμούς. Σήμερα, ο όρος χρησιμοποιείται με μια ευρύτερη έννοια, ώστε να συμπεριλάβει ημισυνθετικές ή συνθετικές ουσίες, που μπορούν να αναστέλλουν ή να σκοτώνουν συγκεκριμένα μικρόβια. Όπως γίνεται κατανοητό, κανένα αντιβιοτικό δεν είναι αποτελεσματικό κατά όλων των βακτηρίων. Κάποια είναι ενεργά ενάντια ενός ευρέως συνόλου οργανισμών, περιλαμβάνοντας Gram- και Gram+ βακτήρια, ενώ η δράση άλλων είναι πιο περιορισμένη. Δεν είναι λίγες οι φορές, όπου ένα φυσικό αντιβιοτικό (κάποιο, δηλαδή, που παράγεται από ένα μικρόβιο) τροποποιείται χημικά προς σχηματισμό ημισυνθετικού αντιβιοτικού με ένα σημαντικά διαφορετικό φάσμα δράσης (Singleton, 1999; ΕΟΦ, 1996). Με την παραγωγή ημισυνθετικών παραγωγών ο όρος αντιβιοτικό αντικαταστάθηκε με τον όρο αντιμικροβιακό, που περιλαμβάνει το σύνολο των φυσικών, ημισυνθετικών, ή και συνθετικών ουσιών που αναστέλλουν την αύξηση ή θανατώνουν συγκεκριμένους μικροοργανισμούς.

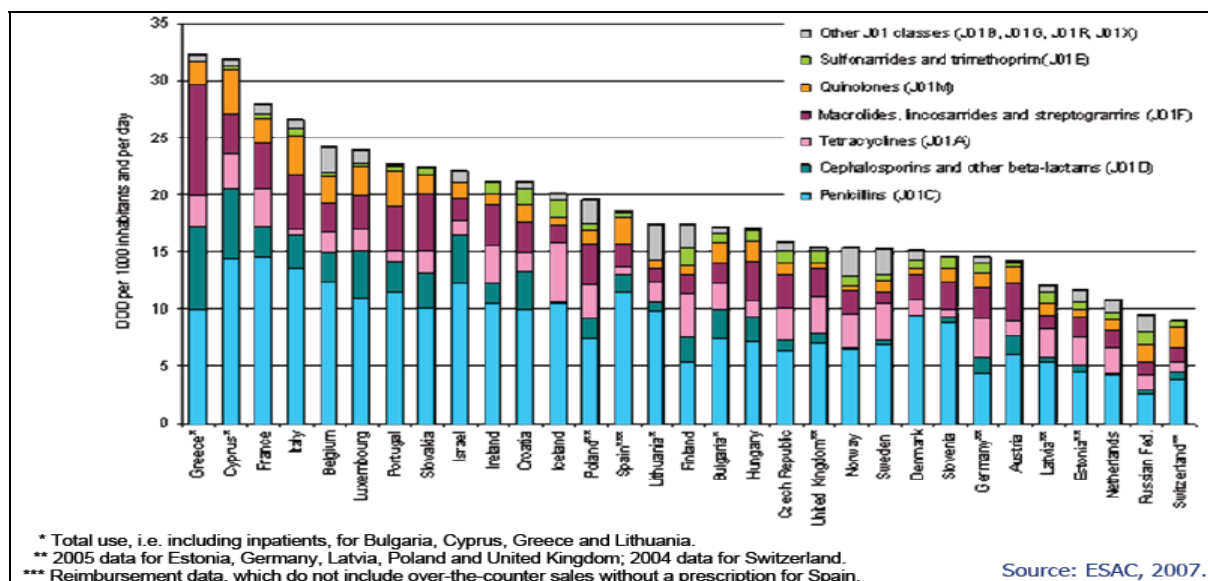
Σχετικά με τη δράση τους, τα αντιβιοτικά δρουν κατά ενός συγκεκριμένου σημείου του κυττάρου. Αναλυτικά, τα αντιβιοτικά και η δράση τους παρουσιάζονται στον πίνακα 6.1.

Πίνακας 6.1. Αντιβιοτικά και η δράση τους

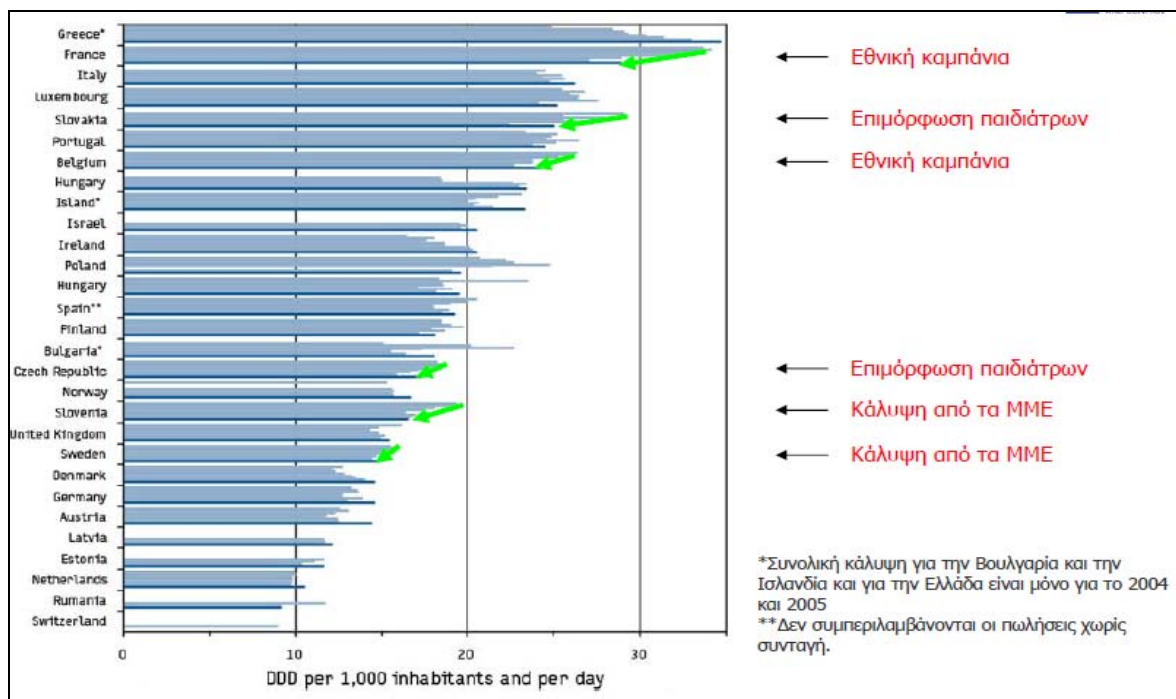
Αντιβιοτικά	Δράση
Αμπικιλίνη Βακιτρακίνη Βανκομυκίνη	Αναστολείς της σύνθεσης κυτταρικών τοιχωμάτων
Γενταμυκίνη Ερυθρομυκίνη Στρεπτομυκίνη Τετρακυκλίνη	Αναστολείς της σύνθεσης πρωτεϊνών
Νιτροφουραντοϊνη	Αναστολείς της σύνθεσης νουκλεϊκών

Πηγή: Προσαρμοσμογής από Forbes et al., 2002; Tsuda et al., 2002

Η αλόγιστη χρήση αντιμικροβιακών προϊόντων τα τελευταία 50 χρόνια έχει οδηγήσει σε κρίσιμη διαταραχή, με την εμφάνιση και τη διάδοση ενός μεγάλου αριθμού ανθεκτικών στα αντιβιοτικά μικροοργανισμών, παθογόνων και μη (Teuber, 1999). Η υπερβολική χορήγηση αντιβιοτικών στην ιατρική πρακτική συνιστά μια κύρια αιτία ανάπτυξης ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά σε επίπεδο ανθρώπινης εντερικής μικροχλωρίδας. Έντονη όμως ανησυχία εκδηλώνεται από το 1969 και για τη δυνατότητα μετάδοσης ανθεκτικών στα αντιβιοτικά στελεχών στον άνθρωπο, μέσω της τροφικής αλυσίδας (America Academy of Microbiology, 1999; Barton, 2000). Στο σχήμα 6.1 παρέχονται δεδομένα που αφορούν την κατανάλωση αντιβιοτικών σε διάφορες χώρες της Ε.Ε. για τα έτη 2004 έως και 2006. Επιπλέον, στο σχήμα 6.2 παρέχονται δεδομένα που αφορούν την χρήση αντιβιοτικών σε 29 χώρες-μέλη της Ε.Ε. για το χρονικό διάστημα από 1998 έως το 2005.



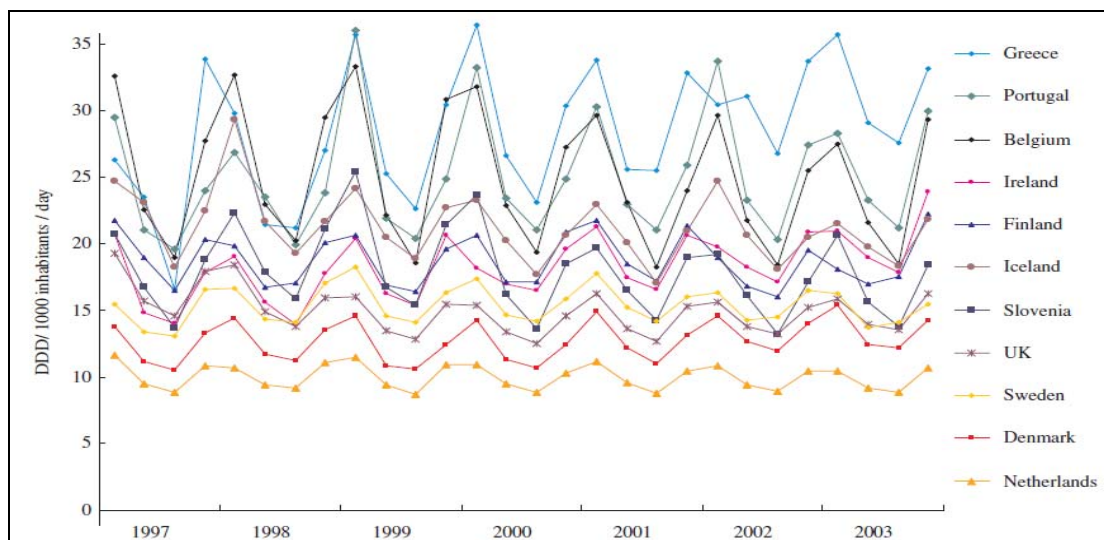
Σχήμα 6.1. Συνολική χρήση αντιβιοτικών από μη νοσηλευόμενους ασθενείς σε 31 ευρωπαϊκά κράτη



Σχήμα 6.2. Συνολική χρήση αντιβιοτικών από μη νοσηλευόμενους ασθενείς σε 29 ευρωπαϊκά κράτη από το 1998-2005

Πηγή: ESAC, (2007)

Στη συνέχεια, το σχήμα 6.3 παρουσιάζει την εποχιακή διακύμανση χρήσης αντιβιοτικών σε μη νοσηλευόμενους σε έντεκα ευρωπαϊκές χώρες από το 1997-2003, μεταξύ αυτών και η Ελλάδα.

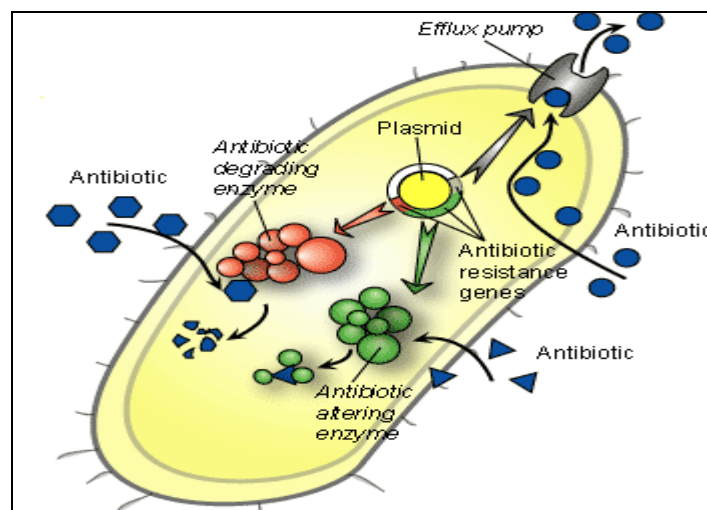


Σχήμα 6.3. Εποχιακή διακύμανση χρήσης αντιβιοτικών σε μη νοσηλευόμενους σε 11 ευρωπαϊκές χώρες από το 1997-2003

Πηγή: ESAC, (2006)

Πολλοί μικροοργανισμοί παρουσιάζουν ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά η οποία οφείλεται στη φυσιολογία τους ή τη βιοχημεία τους. Οι ευαίσθητοι μικροοργανισμοί, ωστόσο, μπορεί να γίνουν ανθεκτικοί μέσω μετάλλαξης ή ενσωμάτωσης κάποιας γενετικής πληροφορίας, η οποία και κωδικοποιεί αυτήν την ανθεκτικότητα. Η γνώση, όμως, που αφορά στην προέλευση της μικροβιακής ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά, την εξάπλωση των ανθεκτικών στελεχών και γονιδίων στη φύση, αλλά και τη σημασία όλων αυτών για τον άνθρωπο και τη φύση εξακολουθεί να είναι ελλιπής (Kümmerer, 2004).

Αναφορικά, με τα όσα γνωρίζουμε για τους μηχανισμούς ανάπτυξης της αντοχής των μικροβίων στα αντιβιοτικά, η τελευταία γνώση έχει ως αντικείμενο τη μεταβολή της δομής του DNA. Αυτή η διαφοροποίηση του γενετικού υλικού μπορεί να επιτευχθεί, είτε με αλλαγή της δομής του χρωμοσωματικού DNA, είτε με την απόκτηση εξωχρωμοσωματικού DNA, που είναι αποτέλεσμα ανταλλαγής γενετικού υλικού (Χαλαβελάκης κ.ά., 1994). Μάλιστα, η ραγδαία εξάπλωση των γονιδίων που προσδίδουν ανθεκτικότητα σε αντιμικροβιακούς παράγοντες πραγματοποιείται εντός ενός βακτηριακού πληθυσμού, αλλά και από το ένα οικοσύστημα στο άλλο, καθώς και μεταξύ ζώων και ανθρώπων. Επισημαίνεται πως δεν έχει επαρκώς επιβεβαιωθεί η μεταφορά ανθεκτικών γονιδίων από τα βακτήρια των ζώων σε ανθρώπινα παθογόνα. Πέραν των παραπάνω, παθογόνα από τα ζώα φτάνουν στον άνθρωπο και μέσω της τροφικής αλυσίδας (American Academy of Microbiology, 1999) (Σχήμα 6.4).



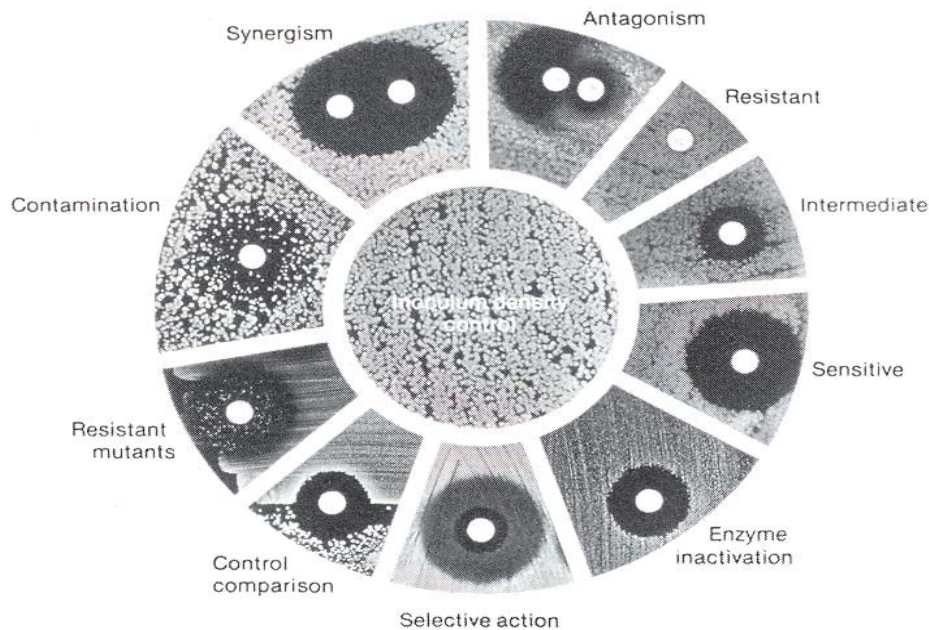
Πηγή: Todar, 2008

Σχήμα 6.4. Μηχανισμοί ανθεκτικότητας αντιβιοτικών στα βακτήρια

Όσον αφορά τους τόπους εύρεσης των αντιμικροβιακών παραγόντων, αυτοί εντοπίζονται στα μη επεξεργασμένα υγρά απόβλητα, σε περιοχές κοντά σε νοσοκομεία, σε φαρμακοβιομηχανίες, αλλά και φάρμες, στις οποίες χορηγούνται αντιβιοτικά στα ζώα. Τα εν λόγω υγρά απόβλητα, οδηγούνται στις Ε.Ε.Λ (επομένως και στην ιλύ), ή καταλήγουν σε χείμαρρους, λίμνες και τελικά, στον ωκεανό. Οι Hirsch et al. (1998), ανέλυσαν δείγματα νερού από εκροές Ε.Ε.Λ., από επιφανειακά νερά και υπόγεια νερά. Στις εκροές και στα επιφανειακά νερά, τα δείγματα έδειξαν συχνή εμφάνιση ερυθρομυκίνης, ροξιθρομυκίνης και σουλψαμιδοξαζόλης σε συγκεντρώσεις μέχρι 6μg/L. Οι τετρακυκλίνες και οι πενικιλίνες ανιχνεύτηκαν σε συγκεντρώσεις που δεν υπερέβαιναν τα 50 και 20ng/L, αντίστοιχα. Όσον αφορά τα υπόγεια νερά, από δειγματοληψίες σε αγροτικές περιοχές της Γερμανίας δεν ανιχνεύτηκε κανένα ίχνος αντιβιοτικού με εξαίρεση δυο περιοχές. Σε μια ποικιλία επομένως αλληλοσυνδεόμενων οικοσυστημάτων οι αντιμικροβιακές ουσίες έχουν ως αποτέλεσμα την πρόκληση της ανθεκτικότητας σε αυτά, τη μείωση της ευαισθησίας των μικροοργανισμών και τις δραστικές μεταβολές στην βιοποικιλότητα των επηρεασμένων οικοσυστημάτων (America Academy of Microbiology, 1999). Τα ανθεκτικά στελέχη στη συνέχεια (είτε από την χρήση ιλύος για γεωργική χρήση, ή μέσω του νερού) εποικίζουν τον εντερικό σωλήνα του ανθρώπου, όταν τους δοθεί η ευκαιρία να διέρθουν από αυτόν. Εκεί έχουν τη δυνατότητα να δρουν ως δότες γονιδίων αντοχής στους μικροοργανισμούς της χλωρίδας του εντέρου, οπότε η τελευταία να αποτελεί δεξαμενή γονιδίων αντοχής για τα παθογόνα βακτήρια (Amyes et al., 1992).

Προκειμένου να προσδιοριστεί η ευαισθησία ενός παθογόνου μικροοργανισμού σε διάφορα αντιβιοτικά πραγματοποιούνται μέθοδοι ελέγχου. Από τις πλέον συχνά χρησιμοποιούμενες είναι η μέθοδος επιφανειακής διάχυσης της αντιβιοτικής ουσίας, η οποία βρίσκεται σε εμποτισμένους χάρτινους δίσκους, γνωστής συγκέντρωσης. Σύμφωνα με αυτή, υγρή καλλιέργεια του παθογόνου που θέλουμε να μελετήσουμε, επιστρώνεται εντός τρυβλίου με το κατάλληλο θρεπτικό μέσο. Ποικίλοι χάρτινοι δίσκοι εμποτισμένοι με αντιβιοτικό τοποθετούνται στην επιφάνεια του θρεπτικού μέσου. Ακολουθεί επώαση, κατά την οποία τα αντιβιοτικά διαχέονται σε απόσταση από τους χάρτινους δίσκους τους. Έτσι, αν ο υπό μελέτη οργανισμός είναι ευαίσθητος σε ένα δεδομένο αντιβιοτικό, θα αναπτυχθεί μια ζώνη αναστολής της ανάπτυξής του τριγύρω από το δίσκο του αντιβιοτικού (Singleton, 1999).

Η παραπάνω μέθοδος δεν ενδείκνυται για βακτήρια με αργή ανάπτυξη (όπως, *Mycobacterium tuberculosis*), γιατί τα αντιβιοτικά θα διαχυθούν περισσότερο από ότι πρέπει προτού γίνει ορατή η βακτηριακή ανάπτυξη. Ο έλεγχος αυτός είναι κατάλληλος για τα βακτήρια εκείνα που δίνουν ορατή ανάπτυξη μετά από επώαση μιας νύχτας (Singleton, 1999). Οι αντιδράσεις που είναι πιθανό να παρατηρηθούν σε έναν τέτοιο έλεγχο καταγράφονται στην ακόλουθη εικόνα (6.1).



Εικόνα 6.1: Τεστ διάχυσης δίσκων (Disc diffusion test). Οι τύποι των ζωνών που μπορεί να αναπτυχθούν γύρω από τους δίσκους κατά τον έλεγχο της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά

Πηγή: Singleton, (1999)

Σύμφωνα με την εικόνα 6.1, μπορούμε να διακρίνουμε τις εξής εικονιζόμενες περιπτώσεις για την ανθεκτικότητα των παθογόνων (Singleton, 1999):

- Ανθεκτικό (*Resistant*): Δεν σχηματίζεται καμία ζώνη αναστολής, με τη βακτηριακή ανάπτυξη να είναι παντού στο τρυβλίο.
- Ενδιάμεσο (*Intermediate*): Παρατηρείται μια στενή ζώνη αναστολής της βακτηριακής ανάπτυξης τριγύρω από το δίσκο, ελεύθερη από αποικίες
- Ευαίσθητο (*Sensitive*): Παρατηρείται μια ευρεία ζώνη αναστολής της βακτηριακής ανάπτυξης τριγύρω από το δίσκο, ελεύθερη από αποικίες
- Ενζυμική αδρανοποίηση (*Enzyme inactivation*): Παρατηρείται μια στενή ζώνη αναστολής της βακτηριακής ανάπτυξης τριγύρω από το δίσκο, ελεύθερη από αποικίες.

Σε αντίθεση, όμως, από την περίπτωση ‘ενδιάμεσο’ η ζώνη, εδώ, είναι απόλυτα καθορισμένη, ενώ η βακτηριακή ανάπτυξη στο τρυβλίο είναι πιο έντονη, με σχετικά μεγάλες αποικίες.

- Εκλεκτική δράση (*Selective action*): Συμβαίνει, όταν υπάρχουν δύο διαφορετικά στελέχη, τα οποία και διαφέρουν στο βαθμό της ευαισθησίας τους σε ένα δεδομένο αντιβιοτικό. Κοντά στο δίσκο, η συγκέντρωση του αντιβιοτικού είναι υψηλή, ώστε να αναστέλλει την ανάπτυξη και των δύο στελεχών (ευρεία ζώνη αναστολής). Ασφαλώς, πιο μακριά από το δίσκο (χαμηλότερη συγκέντρωση αντιβιοτικού) η ανάπτυξη του ενός στελέχους θα αναστέλλεται, ενώ του άλλου όχι.
- Ανθεκτικά μεταλλαγμένα (*Resistant mutants*): Εδώ, ενυπάρχουν κάποια μεταλλαγμένα κύτταρα που δύνανται να σχηματίσουν αποικίες υπό συνθήκες που αναστέλλουν τα μη μεταλλαγμένα. Υπάρχουν, ωστόσο, κάποια μεταλλαγμένα κύτταρα, τα οποία αναπτύσσονται μόνο στην παρουσία ενός δεδομένου αντιβιοτικού. Αυτά θα σχηματίσουν αποικίες σε μια άλλοτε ελεύθερη αποικιών ζώνη αναστολής. Για παράδειγμα, τα ‘εξαρτώμενα από στρεπτομυκίνη’ μεταλλαγμένα περιέχουν μη λειτουργικά ριβοσώματα τα οποία στην παρουσία στρεπτομυκίνης εμφανίζονται να ‘παραμορφώνονται’ κατά τέτοιο τρόπο ώστε να γίνονται λειτουργικά. Παρόλα αυτά, σύμφωνα με τους Koneman et al. (1992), απαιτείται να γίνουν βιοχημικοί έλεγχοι προκειμένου να καθοριστεί αν το ανθεκτικό στέλεχος είναι μετάλλαξη του υπό μελέτη μικροοργανισμού ή αντιπροσωπεύει ένα δεύτερο είδος που έχει αναπτυχθεί στη μεικτή καλλιέργεια.
- Επιμόλυνση (*Contamination*): Ενυπάρχει μείγμα οργανισμών, τουλάχιστον ένα από τα οποία είναι ανθεκτικό στο αντιβιοτικό.

Είναι γεγονός ότι οι ασθένειες που οφείλονται στις λοιμώξεις της *Salmonella* αυξάνονται σε παγκόσμιο επίπεδο. Αν και υπάρχει διαθεσιμότητα σε εμβόλια και αντιβιοτικές θεραπείες, εντούτοις η σαλμονέλλωση με τη μορφή γαστρεντερίτιδας και εντερικού πυρετού εξακολουθεί να αποτελεί σημαντική αιτία νοσηρότητας και θνησιμότητας σε πολλές αναπτυσσόμενες χώρες, ειδικά σε μικρά παιδιά με ανοσοκαταστολή. Σε ορισμένες ενδημικές περιοχές της Νότιας και της Νοτιοανατολικής Ασίας, η εμφάνιση ανθεκτικών στις κινολόνες και πολυανθεκτικών στελεχών της σαλμονέλας συμβάλλουν στο μέγεθος του προβλήματος. Στις Ηνωμένες Πολιτείες και την Ευρώπη, ο ρυθμός ανάπτυξης της ανθεκτικότητας των στελεχών εμφανίζεται χαμηλός αλλά σταθερός και σχετίζεται με τη διατροφική πρόσληψη μολυσμένων πουλερικών, την εμφάνιση παθογόνων στη γεωργία

και την εισαγωγή ακατάλληλων φυτικών προϊόντων. Μια καλύτερη κατανόηση της βακτηριακής ανθεκτικότητας για την βελτίωση του σχεδιασμού των εμβολίων θα δώσουν την ελπίδα για τον περιορισμό της εξάπλωσης των ανθεκτικών στελεχών της. Ακόμα, θα μειωθεί η νοσηρότητα του διεθνούς εύρους ασθενειών από παθογόνα *Salmonella* (Woc-Colburn and Bobak, 2009).

Πιο συγκεκριμένα, για τη *Salmonella typhimurium*, η ανθεκτικότητα προς τις τετρακυκλίνες αυξήθηκε από μηδέν το 1948 σε επίπεδο 98% σε ορισμένες ομάδες πληθυσμού της *Salmonella typhimurium* DT104 το 1998. Η υψηλή συχνότητα των τροφογενών παθογόνων στο ωμό κρέας και το γάλα σε συνδυασμό με ένα υψηλό επίπεδο εφαρμογής αντιβιοτικών στη γεωργία αποκαλύπτει ένα πρόβλημα αντοχής στα αντιβιοτικά παγκόσμιων διαστάσεων (Teuber, 1999).

Σε έρευνα των Maraki et al., (2006), μελετήθηκε η εξέλιξη της αντιμικροβιακής ευαισθησίας στελεχών της εντερικής σαλμονέλας που απομονώθηκαν από ασθενείς με διάρροια στην Κρήτη, τη χρονική περίοδο 2000-2004. Από τα 401 στελέχη σαλμονέλας που απομονώθηκαν, η *Salmonella Enteritidis* ήταν η περισσότερο ανιχνεύσιμη (66.6%). Τα ποσοστά της ανθεκτικότητας στην αμικικιλίνη, γενταμικίνη, τετρακυκλίνη, ήταν 8.5, 7, 14.2, 2,7 %, αντίστοιχα. Πολυανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά εμφάνισε ο ορότυπος *Typhimurium*. Επίσης, η μειωμένη ευαισθησία στη σιπροφλοξασίνη ανιχνεύθηκε στο 2,7% των απομονωθέντων στελεχών.

Επιπλέον, η αύξηση της ανθεκτικότητας στην τυφοειδή (typhoidal salmonella) και τη μη τυφοειδή salmonella (nontyphoidal salmonella) αποτελεί μείζον πρόβλημα δημόσιας υγείας. Πρόσφατες μελέτες τεκμηριώνουν την εμφάνιση και το είδος της ανθεκτικότητας, με ιδιαίτερη αναφορά στις κινολόνες (quinolones) και κεφαλοσπορίνες (cephalosporins). Οι Parry and Threlfall (2008), βασισμένοι σε κοινωνικά και νοσοκομειακά δεδομένα σε χώρες της Ασίας και της Αφρικής, απέδειξαν ότι υφίσταται ευρέως κυμαινόμενος ρυθμός ανθεκτικότητας στην εντερική *Salmonella*, *Typhi* και *Paratyphi A*.. Στην μελέτη αυτή, η πολυανθεκτικότητα στελεχών μειώθηκε σε κάποιες περιοχές, αλλά η ανοδική τάση της μειωμένης ευαισθησίας της σιπροφλοξασίνης ιδιαίτερα στην Ινδική χερσόνησο παρατηρήθηκε ενδελεχώς. Παρόμοια μεταβλητότητα στην ανθεκτικότητα παρατηρήθηκε και στις μη τυφοειδείς σαλμονέλες. Δύο τυχαίες δοκιμές υπέδειξαν την gatifloxacin ως

πιθανή θεραπεία στον εντερικό πυρετό, που οφείλεται στην πολυανθεκτικότητα στελεχών με μειωμένη ευαισθησία στην σιπροφλοξασίνη.

Στη Νότια Αφρική, για τα έτη 2003-2007, σύμφωνα με τους Smith et al.(2009), καταγράφηκαν 510 περιστατικά με απομονώσεις της *Salmonella Typhi*, εκ των οποίων οι 27 ασθενείς ήταν ανθεκτικοί στο nalidixic acid με μειωμένη ευαισθησία στην σιπροφλοξασίνη.

Η μελέτη των Miranda et al.,(2009) σε καταστήματα λιανικής πώλησης και σούπερ μάρκετ στο Hidalgo State (Μεξικό), αποκάλυψε ότι η σαλμονέλα ήταν επικρατέστερη σε τρόφιμα από καταστήματα λιανικής πώλησης σε σχέση με τα τρόφιμα από τα σούπερ μάρκετ. Τα στελέχη της σαλμονέλας που ελέγχθηκαν παρουσίασαν χαμηλή ευαισθησία έναντι των αντιβιοτικών μεταξύ αυτών στην αμπικιλλίνη (66,7% των στελεχών), στην τετρακυκλίνη (61,3%), και ενώ χαμηλά επίπεδα ανθεκτικότητας εμφάνισαν στη γενταμικίνη (3,2%). Υψηλά επίπεδα πολυανθεκτικών στελεχών βρέθηκαν σε όλα τα τρόφιμα (πουλερικά, χοιρινό κρέας, βοδινό κρέας, τυρί, λουκάνικα) εκτός από τα ψάρια.

Όσον αφορά το γένος *Citrobacter* spp., σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε από τον Ιούνιο του 1994 μέχρι τον Ιανουάριο του 2006, 78 ασθενείς (70 ενήλικες) που μεταφέρθηκαν σε πανεπιστημιακό νοσοκομείο εντοπίστηκαν με *Citrobacter* spp. Το *Citrobacter freundii* ήταν πιο κοινό (71,8%), ακολουθούμενο από *C. koseri* (23,1%) και *C. braakii* (3,8%). Τα κλινικά συμπτώματα που εκδήλωσαν οι ασθενείς συνδέονταν κυρίως με λοιμώξεις του ουροποιητικού συστήματος (52,6% των περιπτώσεων, των οποίων οκτώ περιπτώσεις με ασυμπτωματική βακτηριουρία). Τα περισσότερα δραστικά αντιβιοτικά που χρησιμοποιήθηκαν ήταν η κολιστίνη (100%), η φωσφομυκίνη (100%), η ιμιπενέμη(97,4%), η γενταμικίνη (89,5%), η νιτροφουραντοΐνη (89,5%), η σιπροφλοξασίνη (80,6%), και η σεφεπιμίνη (73,7%). Η απομόνωση των ειδών του γένους *Citrobacter*, αν και μάλλον σπάνια, ήταν κλινικά σημαντική στη μεγάλη πλειονότητα των περιπτώσεων. Περαιτέρω προσοχή πρέπει να δοθεί σε αυτά τα παθογόνα (Samonis et al., 2008).

Σε έρευνα των Walsh et al., (2001), μελετήθηκαν 1001 απομονώσεις στελεχών *Listeria* spp.. Ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά δεν παρατηρήθηκε για τη *Listeria seeligeri* ή *Listeria welshimeri*. Βρέθηκε όμως μειωμένη ευαισθησία στις τετρακυκλίνες (6,7%), όπως επίσης

βρέθηκαν και πολυανθεκτικά στελέχη (1,8%). Επιπλέον, δεν παρατηρήθηκε ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία της λιστερίωσης από την *Listeria monocytogenes*. Όμως, η ανθεκτικότητα σε άλλα είδη του γένους *Listeria*, όπως της *L. innocua*, αυξάνει την πιθανότητα μελλοντικής ανθεκτικότητας και της *L. monocytogenes* (Walsh et al., 2001).

Αναφερόμενοι τώρα στα εντεροβακτήρια, οι Nagulapally et al., (2009) μελέτησαν την εμφάνιση της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά βακτηρίων σε λύματα τα οποία ελήφθησαν από μια δημοτική εγκατάσταση επεξεργασίας λυμάτων. Στα δείγματα που συλλέχθηκαν από τα εισρέοντα λύματα και από τα απολυμασμένα, προσδιορίστηκαν στελέχη εντεροβακτηρίων, *E. coli*, και εντερόκοκκοι. Τα βακτήρια αυτά βρέθηκε ότι παρουσίασαν ανθεκτικότητα στην σιπροφλοξασίνη, στη τριμεθοπρίμη-σουλφαμεθοξαζόλης, και στη βανκομυκίνη.

Ο στόχος της μελέτης των Alali et al., (2009) ήταν να εξετάσει τη σχέση μεταξύ των ανθεκτικών στα αντιβιοτικά (AR) συμβιούντων *Escherichia coli*, από ανθρώπινα λύματα (εργαζομένων και μη, σε χοιροστάσια) και δείγματα κοπράνων των χοίρων, καθώς και τη μηνιαία χρήση αντιβιοτικών ξεχωριστά για κάθε κατηγορία αντίστοιχα. Στο ανθρώπινο πληθυσμό, μεταξύ των εργαζομένων σε χοιροστάσια παρατηρήθηκε υψηλό επίπεδο ανθεκτικότητας των στελεχών του *Escherichia coli* στις τετρακυκλίνες. Η ανθεκτικότητα στη σιπροφλοξασίνη αυξήθηκαν σημαντικά στους μη-εργαζόμενους σε χοιροστάσια. Επίσης, χαμηλή ευαισθησία στις τετρακυκλίνες παρουσίασαν και τα απομονωμένα στελέχη των χοίρων.

Οι Donabedian et al., (2003), στη μελέτη τους υπέδειξαν την εξάπλωση ανθεκτικών εντερόκοκκων στη γενταμυκίνη στις ΗΠΑ και οι Wegener et al., (1999) στην Ευρώπη, στη βανκομυκίνη. Τα στελέχη αυτά και στις δύο περιπτώσεις μεταδόθηκαν από τα ζώα στον άνθρωπο, μέσω της τροφικής αλυσίδας. Στη βιοχημεία αναφέρεται ότι η αντοχή των μικροοργανισμών στα αντιβιοτικά μπορεί να εκφράζεται με ποικίλους τρόπους. Με αλλαγή του στόχου δράσεως των αντιβιοτικών, με παραγωγή ενζύμων που αντιδρούν τα αντιβιοτικά και τέλος με ελαττωμένη κυτταρική διαπερατότητα (Χαλαβελάκης κ.α, 1994) . Δεν πρέπει να παραληφθεί και η φυσιολογία των βακτηρίων, αλλά κυρίως, η ποσότητα και ποιότητα της έκθεσης στον όποιον αντιμικροβιακό παράγοντα (American Academy of Microbiology, 1999).

Μιλώντας για τους μικροοργανισμούς πιο ειδικά, οι εντερόκοκκοι παρουσιάζουν ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά (κεφαλοσπορίνες, μονοβακτάμες, αμινογλυκοσίδες), η οποία όμως δεν οφείλεται σε κάποιο πλασμίδιο, αλλά σε χρωμοσωμικό γονίδιο τους. Η πενικιλίνη, η αμπικιλίνη, η πιπερακιλλίνη και η βανκομυκίνη είναι κάποια από τα αντιβιοτικά που επιδεικνύουν ανασταλτική, αλλά όχι βακτηριοκτόνο δράση κατά του *E. faecalis* (Brooks et al., 1998; Williamson et al., 1985). Γενικά, πάντως, η ανθεκτικότητα των εντερόκοκκων έναντι της βανκομυκίνης είναι καίριας σημασίας αναφορικά με τις εντεροκοκκικές λοιμώξεις. Πρόκειται, όπως είναι γνωστό, για ένα ισχυρό αντιβιοτικό, που συνήθως αποτελεί έσχατη λύση. Συνεπώς, η αλόγιστη χρήση της στους νοσοκομειακούς ασθενείς, σε συνδυασμό με αυτήν της τρίτης γενιάς κεφαλοσπορινών και β-λακταμών, αποτελεί παράγοντα κινδύνου για την ανάπτυξη ανθεκτικών στη βανκομυκίνη εντερόκοκκων (Mayhall, 1996; Rice, 2001). Αναφορικά με το *E. faecium*, αυτό είναι λιγότερο ευάλωτο στα ι-λακταμικά αντιβιοτικά, συγκριτικά με το *E. faecalis* (Brooks et al., 1998; Williamson et al., 1985).

Οι εντερόκοκκοι έχουν τη φυσική ικανότητα να αποκτούν και να ενσωματώνουν εξωχρωμοσωματικά στοιχεία (πλασμίδια ή μεταθετά στοιχεία) τα οποία φέρουν γονίδια που τους δίνουν τη δυνατότητα να αναπτύσσουν αντοχή στους αντιμικροβιακούς παράγοντες (Καποτάς, 2003). Οι εν λόγω μικροοργανισμοί παρουσιάζουν ενδογενή αντοχή σε ένα αριθμό αντιβιοτικών, όπως τα β-λακταμικά (πενικιλίνες και κεφαλοσπορίνες). Επιπλέον, όμως, αποκτούν και επίκτητη αντοχή στις πενικιλίνες και αμινογλυκοσίδες. Μιλώντας για τη θεραπεία, τώρα, των οξείων εντεροκοκκικών λοιμώξεων - όπως, η ενδοκαρδίτιδα - είναι καίριος ο συνδυασμός ενός αντιβιοτικού με δράση κατά του κυτταρικού τοιχώματος (όπως, η πενικιλίνη ή βανκομυκίνη) σε συνδυασμό με μια αμινογλυκοσίδη (στρεπτομυκίνη ή γενταμυκίνη), καθώς έχει παρατηρηθεί πως κάποιοι εντερόκοκκοι είναι ευαίσθητοι στη συνεργατική αντιβιοτική τους δράση. Οι πιο επικίνδυνοι εντερόκοκκοι είναι οι ανθεκτικοί στη βανκομυκίνη. Κι αυτό, γιατί δεν αντιμετωπίζονται με το συνδυασμό βανκομυκίνης-αμινογλυκοσίδης. Τέτοια στελέχη είναι τα *E. faecium* και *E. faecalis* (Brooks et al., 1998).

Οι ανθεκτικοί στη βανκομυκίνη εντερόκοκκοι προέκυψαν ως νοσοκομειακά παθογόνα τα τελευταία 10 χρόνια, προκαλώντας επιδημιολογική διαμάχη. Στις ΗΠΑ, σε πολλά

νοσοκομεία οι ασθένειες από ανθεκτικούς εντερόκοκκους στην βανκομυκίνη όλο και αυξάνονται, ενώ η παρουσία τους στους υγιείς ανθρώπους είναι απύσχα. Στην Ευρώπη, όμοια περιστατικά συμβαίνουν σποραδικά, και συνήθως με λίγες σοβαρές λοιμώξεις. Όμως, ανθεκτικότητα εντοπίστηκε σε στελέχη απομονωμένα από υγιείς ανθρώπους και ζώα εκτροφής. Χρήση του αντιβιοτικού βανκομυκίνη έγινε εκτενέστερα στις ΗΠΑ, όπου παρατηρήθηκε αρχικά μειωμένη ευαισθησία στο αντιβιοτικό αμπικιλίνη. Στην Ευρώπη, η αβοπαρκίνη (είδος βανκομυκίνης, όπως το γλυκοπεπτίδιο) χρησιμοποιήθηκε ευρέως στο γεωργικό τομέα, εξηγώντας έτσι τη μειωμένη ευαισθησία στα ζώα εκτροφής. Αβοπαρκίνη δεν έχει χρησιμοποιηθεί στις ΗΠΑ, η οποία απουσιάζει σε υγιείς ανθρώπους. Ωστόσο, ορισμένα είδη των εντερόκοκκων και στις δύο ηπείρους φαίνεται να είναι ικανά να προκαλέσουν νοσοκομειακές εστίες παθογένειας (Bonten et al., 2001).

Η πλήρης ή η σχετική αντίσταση στις β-λακτάμες είναι ένα χαρακτηριστικό γνώρισμα του γένους *Enterococcus*. Συγκεκριμένα, το *E. faecalis* είναι από 10 έως 100 φορές λιγότερο ευαίσθητο στην πενικιλίνη από ότι οι περισσότεροι στρεπτόκοκκοι, ενώ το *E. faecium* είναι τουλάχιστον 4 έως 16 φορές λιγότερο ευαίσθητο από το *E. faecalis* (Murray, 1990). Ενώ οι περισσότερες απομονώσεις του *E. faecalis* εμποδίζονται από συγκεντρώσεις της πενικιλίνης ή αμπικιλίνης (1 έως 8 $\mu\text{g/mL}$) οι απομονώσεις του *E. faecium* απαιτούν συνήθως έναν μέσο όρο 16 έως 64 $\mu\text{g/mL}$ για να εμποδιστεί η αύξησή τους, αν και μερικές απομονώσεις είναι ακόμα ανθεκτικότερες (Murray, 1997). Αντίσταση εκ μέρους των εντερόκοκκων εμφανίζεται και έναντι των αμινογλυκοσιδών. Χαρακτηριστικά παραδείγματα της παραπάνω κατηγορίας αντιβιοτικών, η γενταμυκίνη και η στρεπτομυκίνη (Herman et al., 1991). Η Murray (1990) περιλαμβάνει στο ανθεκτικό περιβάλλον των εντερόκοκκων, την ερυθρομυκίνη, τη χλωραμφενικόλη, την τετρακυκλίνη, τις φλουοροκινολόνες (σιπροφλοξασίνη, οφλοξασίνη, νορφλοξακίνη) και τα υψηλά επίπεδα κλινταμυκίνης.

Νεότερη μελέτη των Butaye et al., (2001) για τη βακτηριακή ευαισθησία εντερόκοκκων έδειξε ότι σε 146 απομονώσεις στελεχών *Enterococcus faecium* και 166 *Enterococcus faecalis* από το 1998 έως το 1999 στο Βέλγιο, σε φάρμα ζώων, στελέχη του *E. faecalis* όπως και του *E. faecium*, εμφανίστηκαν ανθεκτικά στα αντιβιοτικά ναρασίνη (narasin) και βακιτρακίνη (bacitracin). Ανθεκτικότητα στην αμπικιλίνη βρέθηκε κυρίως στα στελέχη του *E. faecium* απομονωμένα από οικόσιτα ζώα, ενώ ήταν μηδενική για τα στελέχη του *E. faecalis*. Και ο *E. faecium* και ο *E. faecalis* εμφάνισαν ανθεκτικότητα στην τετρακυκλίνη

σε απομονώσεις στελεχών από φάρμα ζώων. Η ανθεκτικότητα στην γενταμικίνη παρατηρήθηκε σπάνια. Το στέλεχος *Enterococcus faecalis* προκαλεί βακτηριαιμία, η οποία ουσιαστικά παρατηρείται σε ενδονοσοκομειακές λοιμώξεις σε ασθενείς με σοβαρές νόσους. Η αμπικιλίνη εξακολουθεί να είναι η θεραπεία για βακτηριαιμία του *Enterococcus faecalis* (Fernández et al., 2004).

Αν και οι εντερόκοκκοι καταλαμβάνουν την τρίτη θέση μεταξύ των μικροοργανισμών που προκαλούν λοιμώδη ενδοκαρδίτιδα, μετά τον στρεπτόκοκκο και το *Staphylococcus aureus*, οι Javier et al., (2009) ασχολήθηκαν με 76 κλινικές περιπτώσεις εντερόκοκκου στον οποίο αποδίδεται η λοιμώδης ενδοκαρδίτιδα (enterococcal left-sided infectious endocarditis, LSIE) σε σύγκριση με μη εντερόκοκκους LSIE. Οι εντερόκοκκοι LSIE εμφανίζονται σε ασθενείς με σαφώς βεβαρημένα κλινικά χαρακτηριστικά, και προκαλούν βλάβες στα περιφερειακά αγγεία, δερματικές παθήσεις και ανοσολογικά περιστατικά. Το ποσοστό υποτροπής των εντερόκοκκων LSIE είναι υψηλότερο από ό,τι σε μη εντερόκοκκους LSIE. Η θεραπεία που δίνεται συνήθως είναι ο συνδυασμός αμπικιλίνης με κεφτριαξόνης ή συνδυασμός της πενικιλίνης ή βανκομυκίνης με αμινογλυκοσίδη. Μειωμένη ευαισθησία στη γενταμικίνη παραμένει ασυνήθιστη στους εντερόκοκκους LSIE.

Σύμφωνα με τους Barrett και Jones (1996), υπάρχει ανησυχία για την ανθεκτικότητα των εντερόκοκκων έναντι νέων αντιβιοτικών, όπως, η streptogramin και ο συνδυασμός quinupristin - dalbapristin των οποίων η δράση εξειδικεύεται έναντι πολυανθεκτικών Gram+ βακτηρίων. Ανθεκτικοί εντερόκοκκοι στη streptogramin έχουν εντοπιστεί σε ζώα που καταναλώνουν virginiamycin, ενώ ανθεκτικότητα στο συνδυασμό quinupristin – dalbapristin έχει εντοπιστεί σε υψηλή συχνότητα σε ένα μεγάλο αριθμό ανεκτικών και streptogramin στελεχών *Enterococcus faecium*, χωρίς προηγούμενη χρήση του συνδυασμού αντιβιοτικών (Thal and Zervos, 1999).

Αξίζει να σημειωθεί πως οι πολυανθεκτικοί εντερόκοκκοι απομονώνονται συνήθως από τον άνθρωπο, τα υγρά απόβλητα, τα υδάτινα ενδιαιτήματα, καθώς και ποικίλες ζωικές και αγροτικές πηγές. Αυτό δυστυχώς, υποδεικνύει την ικανότητά τους να εισέρχονται στην ανθρώπινη τροφική αλυσίδα (Cupáková and Lukášová, 2003). Οι Choi et al. (2003), διεξήγαγαν έρευνα στο Huntington Beach στην Καλιφόρνια για να διερευνήσουν την ανθεκτικότητα των εντεροκόκκων που εντοπίστηκαν σε δείγματα από αστικές απορροές, από το αποχετευτικό σύστημα, από περιττώματα πουλιών καθώς και θαλασσινού νερού.

Αναφορικά λοιπόν με το αποχετευτικό σύστημα απομονώθηκαν 504 εντερόκοκκοι. Σε συγκέντρωση 10 $\mu\text{g/mL}$ αμπικιλλίνης, το 44% των εντεροκόκκων παρουσίασε ανθεκτικότητα, ενώ σε συγκέντρωση 15 $\mu\text{g/mL}$ ερυθρομυκίνης, ανθεκτικό βρέθηκε το 45% των στελεχών. Το 26% των εντεροκόκκων από την ίδια πηγή ήταν ανθεκτικό σε 30 $\mu\text{g/mL}$ τετρακυκλίνης. Τέλος με τη χρήση στρεπτομυκίνης 80 $\mu\text{g/mL}$, οι εντερόκοκκοι ήταν ανθεκτικοί σε ποσοστό 45%.

Οι Vilanova et al. (2004), διερευνώντας την ανθεκτικότητα 2.522 εντεροκόκκων στη βανκομυκίνη (8 $\mu\text{g/mL}$) και στην ερυθρομυκίνη (8 $\mu\text{g/mL}$) σε δείγματα από πέντε Ε.Ε.Λ. στην Ισπανία προέβησαν στα εξής αποτελέσματα: Το 0.05% των εντεροκόκκων παρουσίασαν ανθεκτικότητα στη βανκομυκίνη, ενώ το 10% στην ερυθρομυκίνη. Για τον προσδιορισμό της ανθεκτικότητας, οι εντερόκοκκοι καλλιεργήθηκαν σε MEA (*m-Enterococcus agar*) τρυβλία που περιείχαν τα παραπάνω αντιβιοτικά.

Σε έρευνα των Tejedor Junco et al., (2001), πραγματοποιήθηκαν απομονώσεις 24 στελεχών εντεροκόκκων από παράκτια νερά καθώς και 22 στελεχών από Ε.Ε.Λ. στα Κανάρια νησιά. Η διαδικασία ανίχνευσης της ανθεκτικότητας ήταν σύμφωνη με τις οδηγίες της NCCLS. Τα απομονωμένα στελέχη εντεροκόκκων από τα υγρά απόβλητα ελέχθησαν ως προς την ανθεκτικότητά τους σε 12 αντιβιοτικά (τα 8 από αυτά ήταν ίδια με της παρούσας εργασίας) και τα αποτελέσματα ήταν τα εξής: το 22,7% των στελεχών εμφάνισαν ανθεκτικότητα έναντι της ερυθρομυκίνης, το 9,1 % έναντι της νορφλοξακίνης, το 4,5% έναντι της ριφαμικίνης και τις τετρακυκλίνης, ενώ κανένα στέλεχος δεν εμφανίστηκε ανθεκτικό στην αμπικιλλίνη, τη σιπροφλοξακίνη, τη νιτροφουραντοΐνη και τη βανκομυκίνη.

Πιο πρόσφατα, οι Zhang et al., (2009) συνέλλεξαν δείγματα από πέντε εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων σε τρεις διαφορετικές γεωγραφικά περιοχές: το Χονγκ Κονγκ (Shatin και Stanley), την Κίνα, τη Σανγκάη (Minhang) στην Κίνα, και η περιοχή όρμου στην Καλιφόρνια (Palo Alto and San Jose) των Ηνωμένων Πολιτειών. Απομονώθηκαν 109 στελέχη εντεροβακτηρίων (lactose-fermenting Enterobacteriaceae LFE) από την ενεργή ιλύ του της εγκατάστασης επεξεργασίας λυμάτων στο Shatin. Η ανθεκτικότητα των εντεροβακτηρίων έναντι στις τετρακυκλίνες αντιπροσώπευε το 32% του συνόλου των 109 στελεχών (Zhang et al., 2009).

Αξίζει να σημειωθεί ότι, το 50% περίπου της παγκόσμιας παραγωγής αντιβιοτικών χρησιμοποιείται στην αγροτική παραγωγή ώστε να αποτρέπονται ζωνοόσοι και να προάγεται η ανάπτυξη (βακιτρακίνη, τετρακυκλίνη) (Sorum and Abee-Lund, 2002). Αντιβιοτικά προστίθενται σε ζωοτροφές για τη θεραπεία και την πρόληψη των λοιμώξεων και την ανάπτυξη των ζώων και τη βελτίωση της παραγωγής (Barton, 2000). Ενδεικτικά, κατηγορίες αντιμικροβιακών παραγόντων που χρησιμοποιούνται στον άνθρωπο, αλλά και στα ζώα, αφορούν στις αμινογλυκοσίδες, τα γλυκοπεπτίδια, τις κινολόνες, αλλά και της τρίτης γενιάς κεφαλοσπορίνες. Τα τρόφιμα αποτελούν το κυριότερο μέσο εισόδου παθογόνων και μη βακτηρίων στον οργανισμό, ενώ το τελευταίο διάστημα δίνεται έμφαση στη μελέτη της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά και μη παθογόνων στελεχών (Sorum and Abee-Lund, 2002).

Ανησυχία έχει διατυπωθεί για τη δυνατότητα μεταφοράς της ανθεκτικότητας έναντι των αντιβιοτικών από τα ζώα στον άνθρωπο μέσω συμβιούσας βακτηριακής χλωρίδας, όπως το *Escherichia coli* και η *Salmonella* spp. Απομονώσεις στελεχών *E. coli* και *Salmonella* spp. από αγελάδες γαλακτοπαραγωγής στις γεωργικές εκμεταλλεύσεις σε 21 κράτη αξιολογήθηκαν για την ευαισθησία τους σε 16 αντιβιοτικά. Η ανθεκτικότητα των *E. coli* συγκρίθηκε με εκείνη της *Salmonella* spp. Τα αποτελέσματά της στο *E. coli* και στη *Salmonella* ήταν συγκρίσιμα με εξαίρεση τις τετρακυκλίνες, αντιβιοτικό στο οποίο η μειωμένη ευαισθησία του *E. coli* ήταν συχνότερη από εκείνη των στελεχών της *Salmonella* spp. (Lundin et al., 2008). Και οι Wagner et al., (2008) συμφωνούν ότι η χρήση αντιμικροβιακών παραγόντων στα ζώα εκτροφής οδηγεί στη ανθεκτικότητα τόσο των παθογόνων βακτηρίων, όσο και των συμβιώντων, όπως της *Salmonella* spp. και του *E. coli*.

Η εξάπλωση της ανθεκτικότητας σε παγκόσμιο επίπεδο επιτυγχάνεται μέσω εισαγωγής - εξαγωγής ζωντανών ζώων και προϊόντων ζωικών και φυτικών (Barton, 2000; Witte, 2000). Παράλληλα, η χρήση αντιβιοτικών σε νοσοκομειακό επίπεδο συμβάλλει στην εμφάνιση βακτηρίων με επίκτητη ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά, όπως στελέχη του γένους *Enterococcus*.

Η επιστημονική κοινότητα στις 28 Μαΐου 1999 δήλωσε ότι «σε ό,τι αφορά τη χρήση αντιμικροβιακών ουσιών ως αυξητικών παραγόντων, η χρήση παραγόντων από κατηγορίες που χρησιμοποιούνται ή μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην ιατρική ή την κτηνιατρική

(δηλαδή όπου υπάρχει κίνδυνος ανάπτυξης διασταυρούμενης αντοχής σε φάρμακα που χρησιμοποιούνται για την καταπολέμηση βακτηριακών λοιμώξεων) πρέπει να εξαλειφθεί σταδιακά το ταχύτερο δυνατό και, τέλος, να καταργηθεί». Η δεύτερη γνώμη της επιστημονικής συντονιστικής επιτροπής για την αντιμικροβιακή ανθεκτικότητα, η οποία διατυπώθηκε στις 10 και 11 Μαΐου 2001, επιβεβαίωσε την ανάγκη να υπάρξει επαρκής χρόνος για την αντικατάσταση αυτών των αντιμικροβιακών ουσιών από εναλλακτικά προϊόντα (Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 1831/2003).

Χρήση όμως αντιβιοτικών γίνεται και στη γεωργία, προκειμένου να αντιμετωπιστούν βακτηριακές ασθένειες των φυτών (America Academy of Microbiology, 1999). Παρά την αφθονία των αντιμικροβιακών που έχουμε πλέον στη διάθεσή μας, οι λοιμώξεις συνεχίζουν μέχρι και σήμερα να αποτελούν θανάσιμο κίνδυνο.

Ολοκληρώνοντας μπορεί να ειπωθεί ότι, η διάδοση ανθεκτικών βακτηρίων συνιστά ένα παγκόσμιο φαινόμενο, το οποίο απαιτεί για την αντιμετώπισή του, την εφαρμογή κοινής παγκόσμιας πολιτικής περιορισμού της χρήσης των αντιβιοτικών στη ζωική παραγωγή και την κλινική πρακτική (Barton, 2000). Επιπρόσθετα, στρατηγικές αειφορικής κτηνοτροφίας και εύρεσης αποδοτικότερων συνθηκών συντήρησης τροφίμων, μπορούν να συμβάλλουν στον περιορισμό του προβλήματος της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά.

Σε ορισμένους τομείς που διέπονται από την κοινοτική νομοθεσία για τα τρόφιμα, τις ζωοτροφές και την υγεία των ζώων, είναι αναγκαίο να καθοριστούν πρόσθετα κοινοτικά εργαστήρια αναφοράς σε τομείς όπου δεν υπάρχουν ακόμη και, ιδίως, μεταξύ των άλλων και για τη *Listeria monocytogenes*, το *Escherichia coli*, συμπεριλαμβανομένης της βεροτοξινογόνου *E. coli* (VTEC), τα παράσιτα (ιδίως τα παράσιτα *Trichinella*, εχινόκοκκος, *Anisakis*), τη μικροβιακή αντοχή, τις διοξίνες και τις παρόμοιες με τις διοξίνες PCB στα τρόφιμα και στις ζωοτροφές (Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 776/2006).

Τα ανθεκτικά βακτήρια, δυστυχώς, προκαλούν λοιμώξεις οι οποίες είναι πιο δύσκολο να αντιμετωπιστούν, απαιτώντας ακριβότερα και πιο τοξικά φάρμακα. Σε μερικές περιπτώσεις, μάλιστα, αναπτύχθηκαν ανθεκτικά βακτήρια προς όλα τα διαθέσιμα αντιμικροβιακά. Ασφαλώς, οι μικροοργανισμοί αυτοί, αν δεν περιοριστούν, είναι δυνατό να εξαπλωθούν μέσω νοσοκομείων και κοινωνιών, προκαλώντας επιδημίες που είναι δύσκολο να ελεγχθούν. Ενδεικτικά, αναφέρονται οι περιπτώσεις δυσεντερίας στην

Αφρική, χολέρας στη Νότια Αμερική και επιδημιών εντερόκοκκων στις ΗΠΑ (American Academy of Microbiology, 1999). Τα αποτελέσματα μελέτης των Ghosh et al., (2009) δείχνουν ότι η αναερόβια θερμοφιλική επεξεργασία της ιλύος είναι πιο αποτελεσματική στην μείωση των ποσοτήτων των γονιδίων που σχετίζονται με την εξάπλωση της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά εν συγκρίσει με την συμβατική (αερόβια) χώνευση. Πιθανόν και η αποκρυπτογράφηση του ανθρώπινου και του μικροβιακού γονιδιώματος που ολοκληρώνεται σήμερα να είναι το κλειδί για την επιτυχία στον αγώνα εναντίον της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά ²⁷. Καταλήγοντας, μια καλύτερη κατανόηση της βακτηριακής ανθεκτικότητας για την βελτίωση του σχεδιασμού των εμβολίων θα δώσουν την ελπίδα για τον περιορισμό της εξάπλωσης των ανθεκτικών στελεχών. Ακόμα, θα μειωθεί η νοσηρότητα του διεθνούς εύρους ασθενειών από παθογόνα, όπως η *Salmonella* spp. (Woc-Colburn and Bobak, 2009).

Κεφάλαιο 7^ο : Υλικά και μέθοδοι

7.1 Προέλευση δειγμάτων

Τα τελευταία χρόνια, στην Ελλάδα ως συνέπεια της εφαρμογής της Κοινοτικής Οδηγίας 91/271 κατασκευάστηκε και εξακολουθεί να κατασκευάζεται ένας σημαντικός αριθμός Εγκαταστάσεων Επεξεργασίας Λυμάτων (Ε.Ε.Λ) που ανέρχονται στις 290 και καλύπτουν το 75% του συνολικού πληθυσμού της χώρας.

Οι εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων που επιλέχθηκαν για δειγματοληψία στην παρούσα ερευνητική εργασία ήταν συνολικά είκοσι-τέσσερις (24). Συγκεκριμένα, δείγματα αφυδατωμένης ιλύος παρελήφθησαν από τις Ε.Ε.Λ της Χαλκίδας, της Καβάλας, της Καστοριάς, της Κοζάνης, της Κατερίνης, της Νάουσας, του Καρπενησίου, των Γρεβενών, των Σερρών, του Κιλκίς, της Πρέβεζας, της Νέας Φώκαιας Χαλκιδικής, των Ιωαννίνων, της Καλαμπάκας, του Τυρνάβου Λαρίσης, της Καρδίτσας, της Άρτας, του Μεσολογγίου, της Αλεξανδρούπολης, της Ορεστιάδας, του Διδυμοτείχου, του Λαυρίου, της Ηγουμενίτσας και των Καμμένων Βούρλων.

Η γεωγραφική κατανομή των μονάδων δειγματοληψίας φαίνεται στο χάρτη 7.1. επιλογή

²⁷ http://ec.europa.eu/research/leaflets/antibiotics/page_30_el.html

των παραπάνω μονάδων έγινε προκειμένου να καλυφθεί το μέγιστο δυνατό των βιολογικών καθαρισμών της Βορείου Ελλάδος, της Θεσσαλίας, της Στερεάς Ελλάδας και της Ηπείρου. Εξαιρείται η Πελοπόννησος, τα νησιά του Ιονίου και του Αιγαίου και η Κρήτη, διότι έχει πραγματοποιηθεί εκτενής έρευνα για τους εν λόγω βιολογικούς καθαρισμούς.

Αρχικά πραγματοποιήθηκε τηλεφωνική επαφή με τους υπευθύνους των εγκαταστάσεων επεξεργασίας λυμάτων ώστε να διερευνηθεί το ενδιαφέρον τους για τη συγκεκριμένη έρευνα. Ακολούθησε επιστολή, η οποία διαβεβαίωνε τα προλαλήσαντα για την αποστολή των δειγμάτων ιλύος από τους βιολογικούς σταθμούς και επιπλέον κατοχύρωνε την εμπιστευτικότητα και τήρηση της δεοντολογίας.

Τα δείγματα αφυδατωμένης ιλύος συλλέχθηκαν κατά το διάστημα από 12/3/2008 έως 11/2/2009 από τους υπευθύνους των βιολογικών καθαρισμών, συσκευάστηκαν σε καθαρά γυάλινα δοχεία και στάλθηκαν στο Εργαστήριο Βιολογίας, Βιοχημείας, Φυσιολογίας του Ανθρώπου και των Μικροοργανισμών του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου προς ανάλυση.



Χάρτης 7. 1. Κατανομή δειγματοληψιών

7.2 Σύντομη περιγραφή διεργασιών επεξεργασίας ιλύος στις μονάδες δειγματοληψίας

Στη χώρα μας έχει παρατηρηθεί τα τελευταία χρόνια, μια προσπάθεια περιορισμού της υδατικής ρύπανσης και εφαρμογής της Οδηγίας 271/91, με την κατασκευή εγκαταστάσεων επεξεργασίας λυμάτων οι οποίες ανέρχονται στις 290. Οι εγκαταστάσεις αυτές καλύπτουν ένα πληθυσμό απογραφής της τάξης του 75% του ισοδύναμου πληθυσμού της χώρας.

Τα κυριότερα συστήματα επεξεργασίας λυμάτων σύμφωνα με τον εξυπηρετούμενο πληθυσμό είναι οι συμβατικές μονάδες ενεργού ιλύος και τα συστήματα παρατεταμένου

αερισμού. Ως αποτέλεσμα της επεξεργασίας των λυμάτων παράγονται σημαντικές ποσότητες ιλύος, που για το έτος 2002 εκτιμώνται περί τους 76.000 τόνους ξηρής λάσπης/έτος, ενώ μετά την ολοκλήρωση της κατασκευής του συνόλου των απαιτούμενων εγκαταστάσεων επεξεργασίας λυμάτων στη χώρα θα παράγονται περί τους 165.000 τόνους ξηρής λάσπης / έτος. Περίπου στο 90% των εγκαταστάσεων, που εξυπηρετεί το 99% του πληθυσμού, η ιλύς που παράγεται είναι σταθεροποιημένη και αφυδατωμένη.

Η πιο συνηθισμένη μέθοδος επεξεργασίας ιλύος είναι η αερόβια σταθεροποίηση, κυρίως μέσω των συστημάτων παρατεταμένου αερισμού που αντιστοιχούν στο 80% των έργων επεξεργασίας. Σε όρους ισοδύναμου πληθυσμού, αυτός ο τύπος επεξεργασίας αντιστοιχεί σε ένα χαμηλό ποσοστό (33%), εξαιτίας του γεγονότος ότι οι μεγαλύτερες εγκαταστάσεις (Αθήνα, Θεσσαλονίκη) χρησιμοποιούν αναερόβια σταθεροποίηση και επιπρόσθετη παραγωγή ενέργειας από το παραγόμενο βιοαέριο. Η αφυδάτωση σε κλίνες ξήρανσης είναι συχνή στις μικρές εγκαταστάσεις (περίπου 40% των εγκαταστάσεων), αλλά τα προβλήματα που σχετίζονται με αυτές (απαιτήσεις γης, μυρωδιές, αυξημένη χειρωνακτική εργασία) τείνουν να τις περιορίσουν. Τα τελευταία 5 - 6 χρόνια, η μηχανική αφυδάτωση είναι η τυπική πρακτική ακόμα και σε σχετικά μικρές καινούργιες εγκαταστάσεις. Ανάμεσα στους τύπους της μηχανικής αφυδάτωσης, οι ταινιοφιλτρόπρεςες είναι η συνηθέστερη μέθοδος αφυδάτωσης αν και τα τελευταία χρόνια όλο και περισσότερες εγκαταστάσεις χρησιμοποιούν φυγοκεντρητές.

Στην Ελλάδα, η διάθεση σε χωματερές είναι η συχνότερα εφαρμοζόμενη μέθοδος διάθεσης της ιλύος. Σήμερα, περίπου το μεγαλύτερο μέρος της παραγόμενης ιλύος στην Ελλάδα καταλήγει σε χωματερές. Η επιλογή αυτή της διάθεσης της ιλύος, συνήθως μαζί με στερεά απόβλητα, είναι μια ελκυστική μέθοδος, εξαιτίας του χαμηλού κόστους. Παρόλα αυτά, σε πολλές περιπτώσεις η επιλογή του κατάλληλου Χ.Υ.Τ.Α., έχει αποδειχθεί πολύπλοκη και δύσκολη διαδικασία. Οι αντιδράσεις των τοπικών κοινωνιών, καθώς και τα μηχανικά χαρακτηριστικά της αφυδατωμένης ιλύος δυσκολεύουν την υιοθέτηση μίας τέτοιας λύσης. Επιπρόσθετα, η εκφρασμένη ισχυρή προτίμηση της Ε.Ε. στην επαναχρησιμοποίηση της ιλύος έναντι της διάθεσης σε χωματερές καθώς και η επιβαλλόμενη, από την Οδηγία 1999/31/Ε.Ε. «Περί υγειονομικής ταφής απορριμμάτων», σταδιακή μείωση του διατιθέμενου οργανικού φορτίου στερεών αποβλήτων σε Χ.Υ.Τ.Α., δημιουργούν επιτακτική ανάγκη υιοθέτησης εναλλακτικών τρόπων επαναχρησιμοποίησης

ή και διάθεσης της ιλύος (Andreadakis et al., 2002).

7.3 Φυσικές και χημικές παράμετροι της ιλύος.

7.3.1 Υγρασία

Η υγρασία προσδιορίστηκε από την απώλεια βάρους που σημειώθηκε σε τρία δείγματα (τρεις επαναλήψεις) των 10g από κάθε Ε.Ε.Λ μετά από ξήρανση στους 105° C για 24 ώρες (FCQAO, 1994). Για τη συγκριτική ανάλυση των μετρήσεων και την ορθότερη εκτίμηση των αποτελεσμάτων, έγινε αναγωγή των τιμών σε εκατοστιαία ποσοστά (%). Τα αποτελέσματα των αναλύσεων εκφράστηκαν με βάση το ξηρό βάρος της ιλύος.

7.3.2 Πτητικά στερεά

Ο προσδιορισμός των πτητικών στερεών έγινε όπως περιγράφεται στις προδιαγραφές ανάλυσης νερών και λυμάτων των Η.Π.Α (APHA, 1992) και πραγματοποιήθηκε με τον καθορισμό της υπολειπόμενης τέφρας. Η διαδικασία έχει ως εξής: καύση των ξηρών δειγμάτων που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό της υγρασίας σε αποτεφρωτικό κλίβανο στους 550 + -5°C για 4 ώρες. Στη συνέχεια τα υλικά που είχαν απομείνει ζυγίστηκαν και το βάρος τους αφαιρέθηκε από το αρχικό ξηρό βάρος.

7.3.3 Οξύτητα (pH)

Η οξύτητα των δειγμάτων ελέγχθηκε μέσω των τιμών του pH. Το pH προσδιορίστηκε με ηλεκτρονικό pH-μετρο (pH720, WTW), σε υδατικά διαλύματα ιλύος (10g δείγματος σε 100 ml απιονισμένου νερού), τα οποία αφού αναδεύτηκαν σε ανακινούμενο επωαστικό θάλαμο (στις 160rpm) για 2 ώρες, διηθήθηκαν υπό κενό (APHA, 1992, FCQAO, 1994).

7.3.4 Ηλεκτρική αγωγιμότητα

Η ηλεκτρική αγωγιμότητα εκτιμήθηκε με ψηφιακό αγωγιμόμετρο (LF330/SET, WTW) στα ίδια διαλύματα που χρησιμοποιήθηκαν κατά τη μέτρηση του pH (10g δείγματος σε 100 ml απιονισμένου νερού) (APHA, 1992, FCQAO, 1994).

7.4 Μικροβιολογικές παράμετροι της ιλύος

7.4.1 Εκτίμηση μικροβιακών πληθυσμών

Η εκτίμηση του πληθυσμού της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας, των μικροοργανισμών δεικτών (ολικά κολίμορφα, *E. coli*, περιττωματικοί στρεπτόκοκκοι και *Clostridium perfringens*), καθώς και του πληθυσμού των μυκήτων και των ζυμών έγινε με τη μέθοδο καταμέτρησης βιώσιμων Αναπαραγωγικών Μονάδων²⁸.

Η προετοιμασία των δειγμάτων που ακολουθήθηκε ήταν η παρακάτω. Προκειμένου να πραγματοποιηθούν οι προγραμματιζόμενες μικροβιολογικές αναλύσεις, δημιουργήθηκαν διαδοχικές δεκαδικές αραιώσεις κάθε δείγματος σε διάλυμα Ringer's ¼ (LABM) (1 δισκίο διαλύεται σε 500 ml απιονισμένου νερού και αποστειρώνεται στους 121°C για 15 λεπτά). Για την πρώτη αραιώση (10^{-1}), διαλύθηκαν 10 g από κάθε δείγμα ιλύος σε 90 ml υδατικού διαλύματος Ringer's ¼. Κάθε αιώρημα ανακινήθηκε για χρονικό διάστημα 2h, στις 160rpm. Στη συνέχεια εφαρμόστηκαν διαδοχικές δεκαδικές αραιώσεις από 10^{-2} έως 10^{-6} μεταφέροντας 1 ml από κάθε μια αραιώση σε φιαλίδια τύπου McCartney που περιείχαν 9 ml διαλύματος Ringer's ¼ υπό ασηπτικές συνθήκες.

Από τρεις διαδοχικές - καθορισμένες αραιώσεις κάθε δείγματος, λαμβάνονταν 0,1 ml σηπτικά και κατόπιν ακολουθούσε επίστρωση σε εκλεκτικό θρεπτικό υλικό για την ανάπτυξη και καταμέτρηση των μικροβίων. Το θρεπτικό υπόστρωμα, η θερμοκρασία και ο χρόνος επώασης διαφοροποιούνταν ανάλογα με τον υπό αναζήτηση μικροοργανισμό. Για κάθε αραιώση πραγματοποιούνταν τρεις επαναλήψεις.

Ακολουθεί αναλυτική περιγραφή της διαδικασίας εκτίμησης των μικροβιακών πληθυσμών.

7.4.1.1 Εκτίμηση πληθυσμού ολικής μεσόφιλης χλωρίδας

Ως θρεπτικό υπόστρωμα για την ανάπτυξη της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας χρησιμοποιήθηκε το Plate Count Agar (LABM) σε συγκέντρωση 20,5g/L απιονισμένου νερού, το οποίο πριν τον εμβολιασμό αποστειρώθηκε σε αυτόκαυστο (121° C για 15 λεπτά). Για την εκτίμηση της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας εμβολιάστηκαν αντίστοιχα

²⁸ Colony Forming Units: C.F.U./g DW

εννέα τρυβλία (τρεις αραιώσεις, τρεις επαναλήψεις) τα οποία επωάστηκαν στους 30°C για 48h. Οι αραιώσεις που χρησιμοποιήθηκαν ήταν από 10^{-4} έως 10^{-6} .

7.4.1.2 Εκτίμηση του πληθυσμού ολικών κολίμορφων και *Escherichia coli*

Για την ανάπτυξη των ολικών κολίμορφων (Total Coliforms) βακτηρίων και του *E. coli* καθώς και για την καταμέτρηση των βιώσιμων αναπαραγωγικών τους μονάδων, χρησιμοποιήθηκε ως θρεπτικό υπόστρωμα το Chromocult - Agar (Merck) σε συγκέντρωση 26,5g/L απιονισμένου νερού. Το υλικό αφού ομογενοποιήθηκε με θέρμανση σε φούρνο μικροκυμάτων, αφέθηκε να κρυώσει ως τους 45 - 50°C και εκχύθηκε ασηπτικά σε τρυβλία. Ακολούθησε εμβολιασμός με αραιώσεις από 10^{-2} έως 10^{-4} .

Τα τρυβλία επωάστηκαν στους 37°C για 24h και ακολούθησε καταμέτρηση των αποικιών που αναπτύχθηκαν. Ως ολικά κολίμορφα θεωρήθηκαν όλες οι αποικίες μπλε και ροζ χρώματος, ενώ ως *E. coli* μόνο οι μπλε αποικίες (Finney et al., 2003).

7.4.1.3 Εκτίμηση του πληθυσμού των περιττωματικών στρεπτόκοκκων

Το θρεπτικό υπόστρωμα που χρησιμοποιήθηκε για την ανάπτυξη και καταμέτρηση των περιττωματικών στρεπτόκοκκων ήταν το Membrane-filter enterococcus selective agar Slanetz & Barley Medium (LABM) σε συγκέντρωση 43,5g/L απιονισμένου νερού. Το υλικό αφού ομογενοποιήθηκε με θέρμανση σε φούρνο μικροκυμάτων, αφέθηκε να κρυώσει ως τους 45°C και εκχύθηκε ασηπτικά σε τρυβλία. Ακολούθησε εμβολιασμός με αραιώσεις από 10^{-1} έως 10^{-3} . Η καταμέτρηση των αποικιών πραγματοποιήθηκε μετά την επώαση των τρυβλίων στους 37°C για 48h. Αποικίες ενδεικτικές των εντερόκοκκων θεωρήθηκαν αυτές με κόκκινο ή ροζ χρώμα και λείο ή κυρτό σχήμα. Εντούτοις κάποιοι τύποι εντερόκοκκων μπορεί να δώσουν ιδιαίτερα ωχρές αποικίες.

7.4.1.4 Εκτίμηση του πληθυσμού των μυκήτων και των ζυμών

Ως θρεπτικό υπόστρωμα για την ανάπτυξη και την καταμέτρηση μυκήτων και ζυμών χρησιμοποιήθηκε το Sabouraud Dextrose Agar (Himedia) σε συγκέντρωση 65g/L απιονισμένου νερού, το οποίο αποστειρώθηκε σε αυτόκαυστο (121°C για 15 λεπτά). Μετά την αποστείρωση του υλικού και αφού η θερμοκρασία του έφθασε περίπου στους 45°C, προστέθηκε αντιβιοτικό διάλυμα στρεπτομυκίνης (1ml/L θρεπτικού διαλύματος). Για την παρασκευή του διαλύματος στρεπτομυκίνης διαλύθηκαν 0,3g Streptomycin Sulfate σε 10

ml αποστειρωμένου νερού. Η αποστείρωση του διαλύματος της στρεπτομυκίνης έγινε με διήθηση μέσω βακτηριολογικού ηθμού. Το διάλυμα διατηρείται για χρονικό διάστημα. 3 μηνών στους 4° C. Οι αραιώσεις που χρησιμοποιήθηκαν ήταν από 10^{-1} έως 10^{-3} , ενώ η καταμέτρηση των αποικιών έγινε μετά την επώαση στους 30° C για 48 ώρες.

7.4.1.5 Εκτίμηση του πληθυσμού των θειοαναγωγικών κλωστριδίων

Το εκλεκτικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε για την ανάπτυξη και καταμέτρηση των θειοαναγωγικών κλωστριδίων ήταν το Perfringens Agar Base (LABM) σε συγκέντρωση 46g/L απιονισμένου νερού, το οποίο αποστειρώθηκε σε αυτόκαυστο (121°C για 10 λεπτά). Μετά την αποστείρωση, το υλικό αφέθηκε να κρύνει (περίπου στους 45°C) και προτού εκχυθεί σε τρυβλία προστέθηκαν 2 φιαλίδια αντιβιοτικού Cycloserin/L. Ακολούθησε εμβολιασμός και επώαση υπό αναερόβιες συνθήκες στους 37°C για 24h. Καταμετρήθηκαν οι μαύρες αποικίες που αναπτύχθηκαν ως τυπικές μορφές, ενώ για τις άτυπες έγινε χρώση κατά Gram και μικροσκοπική παρατήρηση (τα κλωστρίδια εμφανίζονται θετικοί κατά Gram βάκιλλοι).

7.4.2 Έλεγχος για την ύπαρξη παθογόνων μικροοργανισμών

7.4.2.1 *Salmonella* spp.

Ο έλεγχος για την παρουσία του παθογόνου βακτηρίου *Salmonella* spp. στα δείγματα της αφυδατωμένης ιλύος έγινε με βάση τη μέθοδο 1682 (U.S. EPA, 1998). Στόχος της μεθόδου είναι να ευνοήσει τον επιλεκτικό πολλαπλασιασμό των βακτηρίων του γένους *Salmonella* παρεμποδίζοντας ταυτόχρονα την αύξηση της υπόλοιπης μικροχλωρίδας που συνυπάρχει στο ίδιο περιβάλλον. Η διαδικασία της ανίχνευσης του παθογόνου αυτού περιλαμβάνει τα στάδια, του προ-εμπλουτισμού, του εμπλουτισμού, της απομόνωσης των στελεχών που εμφανίζουν χαρακτηριστικά που ανήκουν στο συγκεκριμένο γένος και της ταυτοποίησης.

Προετοιμασία του δείγματος

Αρχικά διαλύθηκαν 50g λάσπης σε 500ml phosphate buffered water και ομογενοποιήθηκαν σε stomacher για 5 λεπτά, σε κανονική ταχύτητα. Για την παρασκευή 500ml phosphate buffered water προστέθηκαν 0,625ml από το stock phosphate buffer solution (διάλυση 34g KH_2PO_4 σε 500ml απιονισμένου νερού, ρύθμιση του pH στο 7,2 + -

0,5 και προσθήκη απιονισμένου νερού έως τελικό όγκο 1L), 2,5ml από το stock magnesium chloride solution (81,1g $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ /L απιονισμένου νερού) και 0,5ml Tween - 80 σε τελικό όγκο 500ml απιονισμένου νερού.

Προ-εμπλουτισμός

Το στάδιο αυτό είναι απαραίτητο ώστε όλα τα καταπονημένα κύτταρα να επανακτήσουν το δυναμικό τους για αύξηση. Έτσι μετά την ομογενοποίηση του δείγματος, ακολούθησε εμβολιασμός 5 σωλήνων που περιείχαν θρεπτικό υπόστρωμα buffered peptone water διπλής δύναμης (BPW2X) με 10ml αιωρήματος, 5 σωλήνων με buffered peptone water (BPW) με 1ml αιωρήματος και 5 σωλήνων με buffered peptone water (BPW) με 0,1ml αιωρήματος υπό ασηπτικές συνθήκες. Αφού ολοκληρώθηκε ο εμβολιασμός οι σωλήνες επωάσθηκαν στους 37°C για 24h (U.S. EPA, 1998).

Το buffered peptone water (BPW) χρησιμοποιήθηκε σε συγκέντρωση 25,5g /L απιονισμένου νερού. Στη συνέχεια το υλικό μοιράστηκε σε 10 δοκιμαστικούς σωλήνες (10ml/σωλήνα) και ακολούθησε αποστείρωση σε αυτόκαυστο (121°C για 15 λεπτά).

Το buffered peptone water διπλής δύναμης (BPW2X) παρασκευάστηκε με την προσθήκη διπλάσιας ποσότητας σκόνης στον ίδιο όγκο. Στη συνέχεια το υλικό μοιράστηκε σε 5 δοκιμαστικούς σωλήνες (10ml/σωλήνα) και ακολούθησε αποστείρωση σε αυτόκαυστο (121°C για 15 λεπτά), όπως και προηγούμενα.

Εμπλουτισμός

Στο στάδιο αυτό στόχος είναι η επιλεκτική αύξηση του αριθμού των βακτηρίων του γένους *Salmonella* παρεμποδίζοντας ταυτόχρονα την αύξηση του αριθμού των υπόλοιπων βακτηρίων που συνυπάρχουν στο ίδιο περιβάλλον. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιούνται υγρά εκλεκτικά υλικά τα οποία εμβολιάζονται με ορισμένο όγκο από το διάλυμα του προ-εμπλουτισμού. Το πιο σύννηθες υλικό που χρησιμοποιείται είναι το Rappaport-Vasiliadis (R-V) broth. Το R-V περιέχει πράσινο του μαλαχίτη και χλωριούχο μαγνήσιο σε συγκεντρώσεις που παρεμποδίζουν την αύξηση των μικροοργανισμών που κατοικούν στο έντερο, όχι όμως και των στελεχών *Salmonella*, εκτός κάποιων εξαιρέσεων όπως τα *S. typhi* και *S. paratyphi* (Κώτσου Μ., Τασιοπούλου Σ., Κυριακού Μ., 2007)

Το εκλεκτικό υλικό Rappaport-Vasiliadis (R-V) broth (Merck) χρησιμοποιήθηκε σε συγκέντρωση 41,8g /L απιονισμένου νερού. Στη συνέχεια το υλικό μοιράστηκε σε 15

δοκιμαστικούς σωλήνες (10ml/σωλήνα) και ακολούθησε αποστείρωση σε αυτόκαυστο(115°C για 15 λεπτά).

Επί της διαδικασίας, από κάθε σωλήνα με buffered peptone water διπλής δύναμης (BPW2X) και buffered peptone water (BPW) εμβολιάστηκαν με 0,1ml αντίστοιχοι σωλήνες με εκλεκτικό υλικό Rappaport-Vasiliadis (R-V) broth και επωάστηκαν στους 42°C για 48h.

Απομόνωση

Από κάθε θετικό σωλήνα με εκλεκτικό υλικό R-V, εμβολιάστηκαν με γραμμική διασπορά αντίστοιχα τρυβλία με εκλεκτικό υπόστρωμα Xylose Lysine Desoxycholate-XLD-Agar και επωάστηκαν στους 37°C για 24h. Το θρεπτικό υπόστρωμα XLD (LABM) χρησιμοποιήθηκε σε συγκέντρωση 41,8g / L απιονισμένου νερού, θερμάνθηκε μέχρι βρασμού σε φούρνο μικροκυμάτων αφού ψύχθηκε ως τους 47°C, εκχύθηκε στα τρυβλία υπό ασηπτικές συνθήκες.

Μετά την επώαση των 24h, τα τρυβλία εξετάστηκαν για την εμφάνιση τυπικών αποικιών του γένους *Salmonella* ή για την παρουσία άτυπων αποικιών. Οι τυπικές αποικίες του γένους *Salmonella* εμφανίζονται με μαύρο κέντρο και διάφανη περιφέρεια ή είναι εντελώς μαύρες και δεν αλλάζουν το χρώμα του υποστρώματος. Οι άτυπες αποικίες με τη σειρά τους εμφανίζονται διάφανες και δεν αλλάζουν το χρώμα του υποστρώματος, ή ελαφρώς αδιαφανείς πορτοκαλί χρώματος.

Από κάθε τρυβλίο που εμφανίστηκαν τυπικές ή άτυπες αποικίες μεταφέρθηκαν αποικίες σε καινούριο θρεπτικό υπόστρωμα XLD (γραμμική διασπορά) προκειμένου να γίνει καθαρισμός. Τα εμβολιασμένα τρυβλία επωάστηκαν στους 37°C για 24h. Σε ορισμένες περιπτώσεις χρειάστηκε και δεύτερος και τρίτος καθαρισμός προκειμένου να επιτευχθεί καθαρή καλλιέργεια ύποπτη για σαλμονέλα.

Στη συνέχεια καθαρές καλλιέργειες ύποπτες για σαλμονέλα μεταφέρθηκαν με γραμμική διασπορά σε θρεπτικό υπόστρωμα Lysine-Mannitol-Glycerol Agar (LMG) και επωάστηκαν στους 37°C για 24h. Ως προς την παρασκευή 1L θρεπτικού υποστρώματος Lysine-Mannitol-Glycerol Agar (LMG) χρειάστηκαν 3g proteose peptone, 5g yeast extract, 5g lysine, 5g mannitol, 5ml glycerol, 5g NaCl, 1g sodium desoxycholate, 4g

sodium thiosulfate, 1g ferric ammonium citrate, 0,1g phenol red, 15g agar No.2 και 1L απιονισμένο νερό. Το διάλυμα τέθηκε σε βρασμό για 2-3 λεπτά (δεν αποστειρώθηκε) και αφού ψύχθηκε τους 45-50 °C εκχύθηκε σε τρυβλία ασηπτικά. Μετά το πέρας 24h, τα τρυβλία με LMG εξετάσθηκαν για την ύπαρξη τυπικών ή άτυπων αποικιών του γένους *Salmonella*. Οι τυπικές αποικίες του γένους *Salmonella* εμφανίζονται με μαύρο κέντρο και περιβάλλονται από ροζ-πορτοκαλί ζώνη. Οι άτυπες αποικίες με τη σειρά τους εμφανίζονται ροζ ή άχρωμες με ροζ ζώνες.

Έχοντας ως τελικό στόχο την ανεύρεση ή όχι του εν λόγω παθογόνου πραγματοποιήθηκε χρώση Gram και μικροσκοπική παρατήρηση καθώς και έλεγχος για την παρουσία του ενζύμου οξειδάση σε μεμονωμένες αποικίες. Τα κύτταρα του γένους *Salmonella* είναι Gram- βάκιλλοι και αρνητικά ως προς την παρουσία της οξειδάσης. Ο έλεγχος της οξειδάσης ανιχνεύει ένα συγκεκριμένο τύπο αναπνευστικής αλυσίδας, αυτόν που περιέχει στο τέλος της το κυτόχρωμα c και τη συνδεδεμένη του οξειδάση. Τα βακτήρια που έχουν μια τέτοια αλυσίδα μπορούν να οξειδώσουν χημικά, όπως το αντιδραστήριο Konacs' oxidase. Σε αυτή την περίπτωση τα ηλεκτρόνια μεταφέρονται από το αντιδραστήριο αυτό στο κυτόχρωμα c και μέσω της οξειδάσης στο οξυγόνο, οπότε και το αντιδραστήριο αποκτά ένα έντονο μωβ χρώμα. Επί της διαδικασίας, σε ένα κομμάτι διηθητικό χαρτί μεταφέρθηκε μια ποσότητα κυττάρων κάνοντας επίχρισμα σε μια μικρή περιοχή και στη συνέχεια βρέχτηκε με μερικές σταγόνες αντιδραστηρίου το οποίο ανιχνεύει το ένζυμο cytochrome oxydase. Η θετική αντίδραση εκδηλώνεται αμέσως ή μέσα σε 10 δευτερόλεπτα με μαύρισμα των κυττάρων (Singleton, 1999). Γενικά αρνητική αντίδραση (δεν παρατηρείται αλλαγή στο χρώμα των κυττάρων) δίνεται από μέλη της οικογένειας Enterobacteriaceae, στην οποία ανήκει και η σαλμονέλλα, ενώ τα περισσότερα στελέχη των γενών *Pseudomonas* και *Neisseria* είναι θετικά.

Στις περιπτώσεις όπου οι παραπάνω προϋποθέσεις πληρούνταν, κατόπιν πραγματοποιούνταν δοκιμές επιβεβαίωσης του γένους, δηλαδή ανίχνευση της αποκαρβοξυλάσης της λυσίνης, παραγωγή υδροθείου, ζύμωση σακχάρων και παραγωγή οξέων, κατανάλωση της ουρίας.

Επί της διαδικασίας, πραγματοποιήθηκε εμβολιασμός από καθαρές καλλιέργειες από τρυβλία με XLD ή LMG σε σωλήνες με κεκλιμένο θρεπτικό υπόστρωμα Triple Sugar Iron Agar (TSI), σε κεκλιμένο θρεπτικό υπόστρωμα Lysine Iron Agar (LIA) με τη μέθοδο

streak and stub αλλά και σε σωλήνες με θρεπτικό ζωμό ουρίας για τη δοκιμή της ουρεάσης. Η μέθοδος streak and stub πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια βακτηριολογικής βελόνας, αφού πήραμε αρκετές αποικίες από την καλλιέργεια, βυθίσαμε τη βελόνα στο θρεπτικό υλικό έως 0,5-1,0cm από τη βάση του σωλήνα και στη συνέχεια κάναμε γραμμική διασπορά στην επιφάνεια του κεκλιμένου θρεπτικού υποστρώματος. Οι εμβολιασμένοι σωλήνες επωάστηκαν στους 37°C για 24h. Οι καλλιέργειες που δίνουν τις χαρακτηριστικές αντιδράσεις αυτών των επιβεβαιωτικών θρεπτικών υλικών επισημαίνεται πως θεωρούνται ύποπτες για *Salmonella* (Standing Committee of Analysts, 2002).

Επιβεβαιωτικές δοκιμές και ταυτοποίηση

Τα στελέχη του γένους *Salmonella* spp. ελέγχθησαν ως προς τις παρακάτω επιβεβαιωτικές δοκιμές (Πίνακας 7.1).

1. Δοκιμή Triple Sugar Iron Agar (TSI)

Το TSI είναι ένα θρεπτικό υπόστρωμα με το οποίο μπορεί να ελεγχθεί το στέλεχος που εξετάζεται ως προς τη ζύμωση της λακτόζης, της γλυκόζης και της σουκρόζης και την παραγωγή υδρόθειου. Τα βακτήρια που ζυμώνουν τα σάκχαρα παράγουν οξέα, τα οποία αλλάζουν το χρώμα του υποστρώματος. Μεγαλύτερα ποσά οξέων παράγονται στη βάση παρά στην κορυφή του σωλήνα. Η παραγωγή αερίου ανιχνεύεται από την ύπαρξη φυσαλίδων ή ραγισμάτων στο υλικό. Τα στελέχη του γένους *Salmonella* δίνουν στον πυθμένα κίτρινο χρώμα λόγω της παραγωγής οξέος και / ή μαύρο χρώμα λόγω της παραγωγής υδρόθειου. Πολλές φορές το μαύρο χρώμα είναι τόσο έντονο ώστε το κίτρινο δε διακρίνεται. Στην επιφάνεια του κεκλιμένου άγαρ τα στελέχη *Salmonella* δίνουν είτε πιο έντονο κόκκινο λόγω της αύξησης του pH, είτε το χρώμα δεν αλλάζει.

Για την παρασκευή του θρεπτικού υλικού χρησιμοποιήθηκε το TSI (LABM) σε συγκέντρωση 65g/L απιονισμένου νερού. Το μίγμα θερμάνθηκε για να ομογενοποιηθεί και μοιράστηκε σε δοκιμαστικούς σωλήνες (12ml/σωλήνα). Ακολούθησε αποστείρωση στους 121°C για 15 λεπτά και μετά αφέθηκε να πήξει σε κεκλιμένο επίπεδο.

2. Δοκιμή Lysine Iron Agar (LIA)

Τα στελέχη του γένους *Salmonella* παρουσιάζονται θετικά σε αυτή την αντίδραση, δίνοντας τόσο στον πυθμένα όσο και στην επιφάνεια του κεκλιμένου άγαρ χρώμα μωβ-βιολετί. Κάποια μάλιστα στελέχη που παράγουν H₂S δίνουν στον πυθμένα και μαύρο

χρώμα. Πολλές φορές το μαύρο χρώμα είναι τόσο έντονο ώστε το μωβ δε διακρίνεται (Πίνακας 7.1).

Για την παρασκευή του θρεπτικού υλικού χρησιμοποιήθηκε το LIA(LABM) σε συγκέντρωση 31,5g/L απιονισμένου νερού. Το μίγμα θερμάνθηκε για να ομογενοποιηθεί και μοιράστηκε σε δοκιμαστικούς σωλήνες (12ml/σωλήνα). Ακολούθησε αποστείρωση στους 121 °C για 15 λεπτά και μετά αφέθηκε να πήξει σε κεκλιμένο επίπεδο.

Πίνακας 7.1.TSI και LIA χρωματισμοί αναφορικά με τη *Salmonella*

TSI χρωματισμοί	LIA χρωματισμοί	Πιθανή ταυτοποίηση
R/Y* ή R/Y H ₂ S+	P/P ή P/NC H ₂ S+	<i>Salmonella</i> spp.
R/Y H ₂ S+	P/P ή P/NC	<i>Salmonella</i> spp. (σπάνια)
R/Y*	P/P ή P/NC H ₂ S+	<i>Salmonella</i> spp. (σπάνια)
R/Y	P/P ή P/NC H ₂ S+	<i>Salmonella typhi</i> (σπάνια)
R/Y*	P/P ή P/NC	<i>Salmonella</i> spp. (σπάνια)
R/Y*	P/Y H ₂ S+	<i>Salmonella paratyphi</i> A (συνήθως, H ₂ S-)
R/Y*	P/Y ή Y/Y	<i>Salmonella paratyphi</i> A
R/Y	P/P ή P/NC	<i>Salmonella typhi</i> (σπάνια)
Y/Y* H ₂ S+	P/P ή P/NC H ₂ S+	<i>Salmonella</i> spp. (σπάνια)

Πηγή: Προσαρμοσμένος από Forbes et al., 2002

R: red; Y:yellow; Y*: yellow/gas production; P: purple; NC: no change; H₂S+: hydrogen sulphate production
Σημειώσεις:

Η παραγωγή υδρόθειου συνοδεύεται με μαύρο χρωματισμό, ο οποίος δύναται ενίοτε να καλύψει τα υπόλοιπα χρώματα.

Πριν την κάθετο, αναφέρεται ο χρωματισμός στην επιφάνεια του κεκλιμένου άγαρ, ενώ μετά έχουμε το χρωματισμό της βάσης αυτού.

3. Δοκιμή ουρεάσης

Η ουρεάση είναι ένα ένζυμο που υδρολύει την ουρία προς διοξείδιο του άνθρακα και αμμωνία. Τα εντεροβακτήρια που τη διαθέτουν, ανιχνεύονται με την καλλιέργειά τους σε κατάλληλο θρεπτικό μέσο. Αυτό είναι ένα θρεπτικό μέσο που περιέχει γλυκόζη, πεπτόνη, ουρία και το δείκτη pH phenol red (σε pH 6,8 κίτρινος, ενώ σε pH 8,4 κόκκινος). Κατά την ανάπτυξή τους σε αυτό το θρεπτικό μέσο τα στελέχη που διαθέτουν το ένζυμο ουρεάση θα απελευθερώσουν αμμωνία, η οποία και θα αυξήσει το pH, με το δείκτη να γίνεται κόκκινος (Singleton, 1999). Τα στελέχη του γένους *Salmonella* είναι αρνητικά στην ουρεάση και θα εμφανίσουν κίτρινο χρώμα μετά την επώαση.

Για την παρασκευή του θρεπτικού μέσου (θρεπτικός ζωμός ουρίας) χρησιμοποιήθηκε το Urea Broth Base (LABM), 0.9g/95ml απιονισμένου νερού. Ακολούθησε αποστείρωση του υλικού στους 121°C για 15 λεπτά και ψύξης του στους 47°C. Τέλος προστέθηκαν 5ml ουρίας και το υλικό μοιράστηκε σε αποστειρωμένους δοκιμαστικούς σωλήνες (4ml/σωλήνα).

Ταυτοποίηση - Σύστημα API 20E

Το σύστημα API 20E αποτελεί μια μικρογραφία των συμβατικών βιοχημικών δοκιμών που χρησιμοποιούνται για την ταυτοποίηση των μελών της οικογένειας Enterobacteriaceae και κάποιων ακόμα gram⁻ βακτηρίων. Το σύστημα χρησιμοποιεί μια πλαστική ταινία με 20 χωριστά θέσεις και δίνει τη δυνατότητα πραγματοποίησης 20 διαφορετικών βιοχημικών δοκιμών. Κάθε θέση αποτελείται από ένα σωληνάριο και ένα κυπέλλιο. Στα σωληνάρια υπάρχουν αφυδατωμένα υποστρώματα για τις βιοχημικές δοκιμές.

Αναφορικά με τους ελέγχους ταυτοποίησης είναι απαραίτητο να προετοιμαστούν βακτηριακά αιωρήματα που να προσεγγίζουν κάποιο πρότυπο συγκέντρωσης. Στην προκειμένη περίπτωση χρησιμοποιήθηκε αιώρημα κυττάρων από φρέσκια καλλιέργεια (48 ωρών) του υπό εξέταση στελέχους (τρυβλία με θρεπτικό υλικό Luria Agar ή Plate Count) σε αποστειρωμένο φυσιολογικό ορό (0,85% NaCl, 5ml/σωλήνα, αποστείρωση στους 121°C για 15 λεπτά) σε συγκέντρωση τέτοια, που με γυμνό μάτι να ταυτίζεται με τη θολερότητα ενός προεπιλεγμένου προτύπου (McFarland 0,5). Στη συνέχεια εμβολιάστηκαν με αυτό το αιώρημα τα σωληνάρια της ταινίας. Τα σωληνάρια με τις δοκιμές CIT, VP, GEL απαιτούν αερόβιες συνθήκες και γι αυτό πληρώθηκε με το αιώρημα και το σωληνάριο και το κυπέλλιο. Τα σωληνάρια των οποίων το όνομα είναι υπογραμμισμένο ADH, LDC, ODC, H₂S και URE θα πρέπει να επωαστούν κάτω από

Μετά την επώαση 18-24h και αφού είχαν πραγματοποιηθεί οι αντιδράσεις, προστέθηκαν σε κάποια σωληνάρια ορισμένα αντιδραστήρια (σύμφωνα πάντα με τον κατασκευαστή) και καταγράφηκαν τα αποτελέσματα. Οι αντιδράσεις διαβάστηκαν σύμφωνα με τον πίνακα ανάγνωσης και η ταυτοποίηση έγινε χρησιμοποιώντας το λογισμικό ταυτοποίησης που παρέχεται από την εταιρεία. Πιο συγκεκριμένα ως προς την ταυτοποίηση, αυτή προκύπτει από ένα αριθμητικό προφίλ. Τα σωληνάρια ομαδοποιούνται σε ομάδες των τριών και σε κάθε σωληνάριο αντιστοιχεί κάποια βαθμολογία 1, 2 ή 4 (σημειώνεται ότι βαθμολογούνται μόνο τα σωληνάρια που έδωσαν θετική αντίδραση). Προστίθεται η βαθμολογία των σωληναρίων ανά τρία και το αποτέλεσμα αναγράφεται στο κάτω μέρος της αντίστοιχης ομάδας. Ο τελικός επταψήφιος αριθμός που θα προκύψει με τον τρόπο αυτό θα χρησιμοποιηθεί για τη αναζήτηση του είδους του μικροοργανισμού στον αναλυτικό κατάλογο που παρέχει ο κατασκευαστής. Ας σημειωθεί ότι η αντίδραση της οξειδάσης αποτελεί την 21 εξέταση, της οποίας το αποτέλεσμα έχει προκύψει σε προηγούμενο στάδιο.


 REF : B-10w1 20.08/05/07
 Origin / Source / Herkunft /
 Origen / Origen / Προέλευση /
 Ursprung / Oprindelse / Pochodzenie : KOZANH

07223 0
 CE

BIOMÉRIEUX

1 2 4 1 2 4 1 2 4 1 2 4 1 2 4 1 2 4 1 2 4 1 2 4
 ONPG ADH LDC ODC LIT H₂S URE TDA IND LVP LGEL GLU MAN INO SOR RHA SAC MEL AMY ARA OX
 6 F O 4 7 5 2

1 2 4 1 2 4 1 2 4 1 2 4 1 2 4 1 2 4 1 2 4 1 2 4
 NO₂ N₂ MOB McC OF-O OF-F

Autres tests / Other tests / Andere Tests /
 Otras pruebas / Altri test / Outros testes /
 Άλλες εξετάσεις / Andra tester /
 Andre tests / Inne testy :

Ident. / Ταυτοποίηση : Salmonella spp. 99.9 0.31 good
 Identification

Όσες αποικίες ταυτοποιήθηκαν ότι ανήκουν στο γένος *Salmonella* αντιστοιχούσαν σε θετικούς αρχικούς σωλήνες και υπολογίστηκε έτσι ο πλέον πιθανός αριθμός από τους

πίνακες (U.S. EPA, 1998). Οι πληθυσμοί της σαλμονέλας καταμετρούνται με τη μέθοδο του πλέον πιθανού αριθμού που παρουσιάζεται στη μέθοδο 1682 (U.S. EPA, 1998), ο οποίος όμως αναφέρεται σε σωλήνες με εμβόλια 0,1 0,01 και 0,001g ξηρού βάρους. Για το λόγο αυτό χρειάζεται να γίνουν αναγωγές για εμβόλια 1, 0,1 και 0,01g μικτού βάρους (δηλαδή X 0,1), ενώ στη συνέχεια ανάγουμε τον πλέον πιθανό αριθμό σε ξηρό βάρος. Σε περίπτωση όμως που δεν μπορεί να βρεθεί από τον πίνακα, τότε ο υπολογισμός του πλέον πιθανού αριθμού γίνεται με τη βοήθεια του παρακάτω τύπου ο οποίος επίσης αναφέρεται σε σωλήνες με εμβόλια 0,1 0,01 και 0.001g ξηρού βάρους (U.S. EPA, 1998). Για το λόγο αυτό χρειάζεται να γίνουν αναγωγές για εμβόλια 1, 0,1 και 0.01g μικτού βάρους (δηλαδή X 0,1), ενώ στη συνέχεια ανάγουμε τον πλέον πιθανό αριθμό σε ξηρό βάρος.

Τύπος:

$$\text{MPN} / 100\text{ml} = \frac{\text{αριθμός των θετικών σωλήνων} \times 100}{(\text{ml δείγματος των αρνητικών σωλήνων} \times \text{ml δείγματος όλων των σωλήνων})^{0.5}}$$

7.4.2.2 *Listeria* spp.

Η διαδικασία ανίχνευσης της παρουσίας του παθογόνου *Listeria* spp. στα διάφορα δείγματα υλός, περιλαμβάνει τα στάδια του εμπλουτισμού και της απομόνωσης (ISO/Committee Draft 11290, Garrec et al., 2003).

Εμπλουτισμός

Ο εμπλουτισμός του δείγματος έγινε με τη βοήθεια του θρεπτικού υποστρώματος Fraser Broth (LABM). Σε κωνική φιάλη με 90 ml Fraser Broth τοποθετήθηκαν 10g δείγματος και ακολούθησε ομογενοποίηση του σε ανακινούμενο επωαστικό θάλαμο στις 160rpm για 2h. Για την παρασκευή του θρεπτικού υλικού χρησιμοποιήθηκε το Fraser Broth (LABM) σε συγκέντρωση 55g /L απιονισμένου νερού. Το υλικό αποστειρώθηκε σε αυτόκαυστο (115°C για 15 λεπτά), ψύχθηκε στους 47°C και στη συνέχεια ενισχύθηκε με δύο φιαλίδια αντιβιοτικού X165 (Fraser Supplement) για να εμποδιστεί η ανάπτυξη άλλων βακτηριακών πληθυσμών. Τέλος το υλικό μοιράστηκε σε αποστειρωμένη κωνική φιάλη και δοκιμαστικούς σωλήνες επίσης αποστειρωμένους (συνολικά δέκα δοκιμαστικοί σωλήνες).

Επί της διαδικασίας, από το αιώρημα του δείγματος έγιναν διαδοχικές αραιώσεις κατά τις οποίες, 10ml τοποθετήθηκαν σε άδειο αποστειρωμένο δοκιμαστικό σωλήνα (συνολικά πέντε επαναλήψεις), 1 ml του αιωρήματος τοποθετήθηκε σε δοκιμαστικό σωλήνα που περιείχε 9 ml Fraser Broth (πέντε επαναλήψεις) και 0,1 ml σε δοκιμαστικό σωλήνα που περιείχε επίσης 9 ml Fraser Broth (πέντε επαναλήψεις). Ακολούθησε επώαση των σωλήνων στους 37°C για 48h.

Απομόνωση

Μετά την επώαση, από κάθε θετικό σωλήνα έγινε γραμμική διασπορά σε τρυβλίο Petri με θρεπτικό υπόστρωμα Palcam και ακολούθησε επώαση στους 37°C για 24h. (Garrec et al., 2003). Κατόπιν, μετά την επώαση των 24h, τα τρυβλία εξετάστηκαν για την εμφάνιση αποικιών του γένους *Listeria*. Οι τυπικές αποικίες των στελεχών του γένους *Listeria* εμφανίζονται με γκριζοπράσινο χρώμα και σχηματίζουν μια μαύρη περιφερειακή ζώνη. Από κάθε τρυβλίο που εμφανίστηκαν τυπικές αποικίες μεταφέρθηκαν αποικίες σε καινούριο θρεπτικό υπόστρωμα Palcam (γραμμική διασπορά) προκειμένου να γίνει καθαρισμός. Τα εμβολιασμένα τρυβλία επώαστηκαν στους 37°C για 24h. Σε ορισμένες περιπτώσεις χρειάστηκε και δεύτερος και τρίτος καθαρισμός προκειμένου να επιτευχθεί καθαρή καλλιέργεια. Στη συνέχεια καθαρές καλλιέργειες ύποπτες για *Listeria* μεταφέρθηκαν με γραμμική διασπορά σε θρεπτικό υπόστρωμα *Listeria* Isolation Medium και επώαστηκαν στους 37°C για 24h.

Για την παρασκευή του θρεπτικού υλικού χρησιμοποιήθηκε το υλικό Palcam (LABM) σε συγκέντρωση 71g/L απιονισμένου νερού. Το υλικό αποστειρώθηκε σε αυτόκαυστο (115°C Για 15 λεπτά), ψύχθηκε στους 47°C και στη συνέχεια προστέθηκαν ασηπτικά δύο φιαλίδια αντιβιοτικού P.A.C για να εμποδιστεί η ανάπτυξη άλλων βακτηρίων. Τέλος το υλικό εκχύθηκε σε τρυβλία. Για την παρασκευή του θρεπτικού υλικού *Listeria* Isolation Medium (LABM) χρησιμοποιήθηκε 57,5g υλικού *Listeria* Isolation Medium σε 1l απιονισμένου νερού. Το υλικό αποστειρώθηκε σε αυτόκαυστο (115°C για 15 λεπτά), ψύχθηκε στους 47°C και στη συνέχεια προστέθηκαν ασηπτικά δύο φιαλίδια αντιβιοτικού X123 για να εμποδιστεί η ανάπτυξη άλλων βακτηρίων. Τέλος το υλικό εκχύθηκε σε τρυβλία.

Επιβεβαιωτικές δοκιμές και ταυτοποίηση

Τα στελέχη του γένους *Listeria* ελέχθησαν (Garrec et al., 2003) ως προς τις παρακάτω

επιβεβαιωτικές δοκιμές (Πίνακας 7.2) .

1. Αντίδραση της καταλάσης

Η δοκιμή της παραγωγής καταλάσης αποτελεί ένα χρήσιμο εργαλείο για τον διαχωρισμό ορισμένων ομάδων μικροοργανισμών. Η καταλάση είναι το ένζυμο που παράγουν οι περισσότεροι αερόβιοι οργανισμοί για να προστατεύονται από το τοξικό υπεροξείδιο του υδρογόνου. Η καταλάση μετατρέπει το υπεροξείδιο του υδρογόνου σε νερό και οξυγόνο.

Επί της διαδικασίας με τη βοήθεια μικροβιολογικού κρίκου μεταφέρθηκε μια αποικία σε αντικειμενοφόρο πλάκα και πάνω της τοποθετήθηκαν 1-2 σταγόνες διαλύματος υπεροξειδίου του υδρογόνου 3%. Η δοκιμή είναι θετική όταν παρατηρηθεί αφρισμός κατά την προσθήκη του υπεροξειδίου του υδρογόνου, λόγω απελευθέρωσης του οξυγόνου. Τα κύτταρα του γένους *Listeria* δίνουν θετική αντίδραση γιατί διαθέτουν το ένζυμο της καταλάσης.

2. Δοκιμή του ινδολίου

Η σημασία αυτής της δοκιμής στηρίζεται στο γεγονός ότι μερικά βακτήρια που παράγουν το ένζυμο τρυπτοφάνη, διασπούν την τρυπτοφάνη σε ινδόλιο, το οποίο ανιχνεύεται πολύ εύκολα. Έτσι αν σε καλλιέργεια όπου έχει παραχθεί ινδόλιο, προστεθεί το αντιδραστήριο Kovacs (Ρ-διμεθυλαμινοβενζαλεϋδη), διαχωρίζεται από την υδατική φάση μια στοιβάδα με ροζ-κόκκινο χρώμα. Η δοκιμή αυτή πρέπει να πραγματοποιηθεί μέσα σε 48h, γιατί σε παρατεταμένη επώαση μπορεί το ινδόλιο να διασπαστεί παραπέρα.

Επί της διαδικασίας με τη βοήθεια μικροβιολογικού κρίκου πάρθηκαν αποικίες του οργανισμού από καθαρές καλλιέργειες και εμβολιάστηκαν δοκιμαστικοί σωλήνες με θρεπτικό υπόστρωμα Peptone Water (25,5/L απιονισμένου νερού, μοίρασμα σε σωλήνες (5ml/σωλήνα), αποστείρωση στους 121°C για 15 λεπτά). Οι σωλήνες επωάστηκαν στους 37°C για 24h. Μετά την επώαση προστέθηκε το αντιδραστήριο Kovacs' σε ποσότητα ικανή ώστε να σχηματισθεί μια στοιβάδα 0,5cm στο πάνω μέρος της καλλιέργειας. Κάθε σωλήνας αναταράχτηκε ήπια και στη συνέχεια αφέθηκε να ηρεμήσει. Αν η στοιβάδα έχει ροζ-κόκκινο χρώμα η αντίδραση είναι θετική. Η *Listeria* είναι αρνητική σε αυτή την αντίδραση, δηλαδή δεν παράγει ινδόλιο.

3. Κατανάλωση κιτρικών ως πηγή άνθρακα

Η δοκιμή αυτή προσδιορίζει την ικανότητα ενός μικροοργανισμού να χρησιμοποιεί το

κιτρικό ως μοναδική πηγή άνθρακα και ενέργειας, γεγονός που βοηθάει στη διάκριση ορισμένων Gram αρνητικών βακίλλων. Το θρεπτικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε γι' αυτό το σκοπό ήταν το Simmons' Citrate Agar στο οποίο η μοναδική πηγή άνθρακα είναι το κιτρικό οξύ και επίσης περιέχει τον δείκτη κυανού της βρωμοθυμόλης.

Για την παρασκευή του θρεπτικού υλικού χρησιμοποιήθηκε το Simmons' Citrate Agar (Merck) σε συγκέντρωση 22,5g/L απιονισμένου νερού. Το μίγμα θερμάνθηκε για να ομογενοποιηθεί και μοιράστηκε σε δοκιμαστικούς σωλήνες (6ml/σωλήνα). Ακολούθησε αποστείρωση στους 121°C για 15 λεπτά και μετά αφέθηκε να πήξει σε κεκλιμένο επίπεδο.

Με τη βοήθεια μικροβιολογικού κρίκου λήφθηκαν αποικία του μικροοργανισμού από καθαρή καλλιέργεια και εμβολιάστηκε με γραμμική διασπορά δοκιμαστικός σωλήνα που περιείχε κεκλιμένο Simmons' Citrate Agar. Η καλλιέργεια επώασθηκε στους 37°C για 48h.

Η δοκιμή χαρακτηρίζεται θετική αν μετά την επώαση παρατηρηθεί ανάπτυξη του μικροοργανισμού και μεταβολή του χρώματος του υλικού από πράσινο σε κυανό λόγω αύξησης του pH (η αύξηση του pH μεταβάλλει το χρώμα του δείκτη). Τα στελέχη του γένους *Listeria* είναι αρνητικά σε αυτή τη δοκιμή, δηλαδή δε χρησιμοποιούν τα κιτρικά ως πηγή άνθρακα.

4. Δοκιμές Voges-Proskauer (Δοκιμή VP) και ερυθρού του μεθυλίου (Methyl Red)

Η δοκιμή Voges-Proskauer καθώς και αυτή του ερυθρού του μεθυλίου γίνονται στην ίδια καλλιέργεια, σε θρεπτικό υλικό που περιέχει γλυκόζη, πεπτόνη και ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών. Συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκαν 7 g Peptone Water, 5 g Glucose και 5 g K_2HPO_4 / L απιονισμένου νερού. Ακολούθησε καλή ανάδευση του υλικού και ρύθμιση του pH στο 6,9. Το υλικό μοιράστηκε σε δοκιμαστικούς σωλήνες (5ml/σωλήνα) και αποστειρώθηκε στους 121°C για 15 λεπτά. Στη συνέχεια οι σωλήνες εμβολιάστηκαν με τα ύποπτα για λιστέρια στελέχη και επώαστηκαν στους 37°C για 48h. Μετά την επώαση η καλλιέργεια χωρίστηκε σε δύο μέρη, μία για κάθε δοκιμή.

Με τις δύο αυτές δοκιμές ελέγχεται η βιοχημική οδός ζύμωσης της γλυκόζης που ακολουθεί το υπό εξέταση στέλεχος (ζύμωση των μικτών οξέων ή βουτανεδιολική ζύμωση). Όταν ακολουθείται η πορεία ζύμωσης των μικτών οξέων τότε σχηματίζονται μυρμηγκικό, γαλακτικό και ηλεκτρικό οξύ που οδηγούν σε πτώση του pH του θρεπτικού υλικού κάτω από 4,4 (ανίχνευση μέσω της δοκιμής του ερυθρού του μεθυλίου). Όταν ακολουθείται η βουτανεδιολική ζύμωση παράγεται μικρή ποσότητα οξέως και κυρίως

βουτανεδιόλη και αιθανόλη. Η δοκιμή Voges-Proskauer ελέγχει αν ακολουθείται αυτή η πορεία ζύμωσης μέσω της ανίχνευσης μιας πρόδρομης ουσίας της βουτανεδιόλης, της ακετοίνης.

- Δοκιμή Voges-Proskauer

Μετά την επώαση της καλλιέργειας, παρελήφθη 1ml από αυτή σε δοκιμαστικό σωλήνα. Προστέθηκαν 0,5ml αντιδραστηρίου Barrit's A (3g α -naphthol σε 50ml 95% ethyl alcohol) και 0.5 ml αντιδραστηρίου Barrit's B (διάλυμα KOH 40%). Ο σωλήνας αφού αναταράχθηκε, αφέθηκε σε ηρεμία για 5-30 λεπτά. Η δοκιμή χαρακτηρίζεται θετική αν το διάλυμα εμφανίσει κόκκινο ως ροζ χρωματισμό (σχηματισμός ακετοίνης). Μερικές φορές επειδή η εμφάνιση του χρώματος καθυστερεί συνιστάται οι σωλήνες να μη χαρακτηρίζονται αρνητικοί αν δεν περάσουν 4h μετά την προσθήκη του KOH (Κώτσου, Τασιοπούλου, Κυριακού, 2007). Η λιστέρια είναι θετική σε αυτή τη δοκιμή.

- Δοκιμή ερυθρού του μεθυλίου

Στο υπόλοιπο της καλλιέργειας (4ml) προστέθηκαν μερικές σταγόνες αλκοολικού διαλύματος 0,04% ερυθρού του μεθυλίου. Αν ακολουθείται η πορεία ζύμωσης μικτών οξέων, ο δείκτης δίνει κόκκινο χρώμα (λόγω του χαμηλού pH) (Κώτσου, Τασιοπούλου, Κυριακού, 2007). Σε περίπτωση ροζ ή πολύ ανοικτού κόκκινου χρώματος, η δοκιμή χαρακτηρίζεται αμφίβολη. Η λιστέρια παρουσιάζει θετική αντίδραση και σε αυτή τη δοκιμή.

5. Ανάπτυξη σε θρεπτικό υπόστρωμα Triple Sugar Iron Agar (TSI)

Όπως αναφέρθη και σε άλλο σημείο το TSI είναι ένα θρεπτικό υπόστρωμα με το οποίο μπορεί να ελεγχθεί το στέλεχος που εξετάζεται ως προς τη ζύμωση της λακτόζης, της γλυκόζης και της σουκρόζης και την παραγωγή υδρόθειου. Τα βακτήρια που ζυμώνουν τα σάκχαρα παράγουν οξέα, τα οποία αλλάζουν το χρώμα του υποστρώματος.

Επί της διαδικασίας, σε κεκλιμένο θρεπτικό υπόστρωμα Triple Sugar Iron Agar (TSI) πραγματοποιήθηκε εμβολιασμός με τη μέθοδο streak and stab (με τη βοήθεια βακτηριολογικής βελόνας παίρνουμε αρκετές αποικίες από την καλλιέργεια, τη βυθίζουμε στο θρεπτικό υλικό έως 0.5 – 1.0cm από τη βάση του σωλήνα και στη συνέχεια γραμμική διασπορά στην επιφάνεια). Οι εμβολιασμένοι σωλήνες επωάζονται στους 37°C για 24h. Τα στελέχη του γένους *Listeria* ζυμώνουν τα σάκχαρα και επομένως έχουμε παραγωγή οξέος τόσο στη βάση, όσο και στην επιφάνεια του υλικού (εμφάνιση κίτρινου χρώματος).

6. Δοκιμή ουρεάσης

Η ουρεάση όπως ελέγχθη και νωρίτερα είναι ένα ένζυμο που υδρολύει την ουρία προς διοξείδιο του άνθρακα και αμμωνία. Κατά την ανάπτυξή τους σε θρεπτικό μέσο που περιέχει ουρία τα ουρεάση + στελέχη θα απελευθερώσουν αμμωνία, η οποία και θα αυξήσει το pH, με το δείκτη να γίνεται κόκκινος (Singleton, 1999).

Επί της διαδικασίας, με τη βοήθεια μικροβιολογικού κρίκου πάρθηκαν πιθανές αποικίες του μικροοργανισμού και εμβολιάστηκε δοκιμαστικός σωλήνας που περιείχε 4ml Urea Broth Base (η παρασκευή του θρεπτικού μέσου αναφέρθη νωρίτερα). Ο σωλήνας επώασθη στους 37°C για 24h. Τα στελέχη του γένους *Listeria* είναι αρνητικά στην ουρεάση και θα εμφανίσουν κίτρινο χρώμα μετά την επώαση.

Πίνακας 7.2. Βιοχημικές αντιδράσεις των ειδών του γένους *listeria*.

Species	L. mono- cytogenes	L. innocua	L. ivanovii	L. seeligeri	L. wells- himeri	L. Denitri- ficans	L. grayi	L. murrayi
Beta hemolysis	+	-	+	+	-	-	-	-
Catalase	+	+	+	+	+	+	+	+
Nitrate reduction	-	-	-	-	-	+	-	+
Urea hydrolysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Methyl red	+	+	+	+	+	+	+	+
Voges-Proskauer	+	+	+	+	+	-	+	+
TSIA	A/A ^a	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A
SIM motility	+	+	+	+	+	+	+	+
Dextrose	+	+	+	+	+	+	+	+
Esculin	+	+	+	+	+	+	+	+
Maltose	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannitol	-	-	-	-	-	-	+	+

Rhamnose	+	V ^b	-	-	V	-	-	V
Xylose	-	-	+	+	+	+	-	-

Πηγή: Lovett, (1988)

a Acid slant / acid butt, b Variable

Τα στελέχη που έδωσαν τις τυπικές αντιδράσεις του γένους *Listeria* στις παραπάνω επιβεβαιωτικές δοκιμές ταυτοποιήθηκαν με τη βοήθεια του συστήματος API *Listeria* (Biomérieux).

Ταυτοποίηση - Σύστημα API *Listeria* (Biomérieux)

Το σύστημα χρησιμοποιεί μια πλαστική ταινία με 10 μικροσωλήνες που περιέχουν αφυδατωμένα υποστρώματα τα οποία καθιστούν δυνατή την εκτέλεση ενζυμικών εξετάσεων ή ζυμώσεων σακχάρων.

Αναφορικά με τους ελέγχους ταυτοποίησης είναι απαραίτητο να προετοιμαστούν βακτηριακά αιωρήματα που να προσεγγίζουν κάποιο πρότυπο συγκέντρωσης. Στην προκειμένη περίπτωση χρησιμοποιήθηκαν κύτταρα από την υπό μελέτη καλλιέργεια (τρυβλία με θρεπτικό υλικό Columbia Agar Base σε συγκέντρωση 41 g/L απιονισμένου νερού, αποστείρωση στους 121°C για 15 λεπτά και προσθήκη ασηπτικά 5-7% απινωδογονωμένου αίματος) σε αποστειρωμένο νερό (2ml), σε συγκέντρωση τέτοια, που με γυμνό μάτι να ταυτίζεται με τη θολερότητα ενός προεπιλεγμένου προτύπου (Mc Farland 1). Στη συνέχεια εμβολιάστηκαν με αυτό το αιώρημα τα σωληνάκια της ταινίας σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή.

Κατά τη διάρκεια της επώασης (18-24h), ο μεταβολισμός προκαλεί χρωματικές μεταβολές που είτε είναι αυτόματες ή αποκαλύπτονται με την προσθήκη των αντιδραστηρίων. Για το σκοπό αυτό προστέθηκε μια σταγόνα αντιδραστηρίου ZYM B. (Fast Blue BB 0,12g, μεθανόλη 40ml, διμεθυσουλφοξείδιο 60ml) στην εξέταση DIM (ενζυμικό υπόστρωμα) και καταγράφηκαν τα αποτελέσματα. Οι αντιδράσεις διαβάστηκαν σύμφωνα με τον πίνακα ανάγνωσης και η ταυτοποίηση έγινε χρησιμοποιώντας το λογισμικό ταυτοποίησης που παρέχεται από την εταιρεία.

		REF.: ΚΑΣΤΟΡΙΑ Α-1μ 2008/05/07 Origine / Source / Herkunft / Origen / Origen / Προέλευση / Ursprung / Oprindelse / Pochodzenie: ΚΑΣΤΟΡΙΑ	
12131 A - + + 1 2 4 [DIM] ESC α MAN 6	+ - + 1 2 4 DARL XYL RHA 5	+ - - 1 2 4 MDG RIB G1P 1	- 1 TAG β HEM 0
Autres tests / Other tests / Andere Tests / Otras pruebas / Altri test / Outros testes / Άλλες εξετάσεις / Andra tester / Andre tests / Inne testy :		Ident. / Ταυτοποίηση : Listeria monocytogenes % id 98,6 T. 100 T. 45/51 good identification	

Εικόνα 7.2.Αποτελέσματα ταυτοποίησης για ένα τυχαίο δείγμα με τη βοήθεια του API Listeria

Όσες αποικίες ταυτοποιήθηκαν ως στελέχη *Listeria* αντιστοιχούσαν σε θετικούς αρχικούς σωλήνες και με τον τρόπο αυτό υπολογίσθηκε ο πλέον πιθανός αριθμός, όπως παρουσιάζεται στη μέθοδο 1682 (U.S. EPA, 1998). Επειδή όμως αναφέρεται σε σωλήνες με εμβόλια 0,1 0,01 και 0,001g ξηρού βάρους, χρειάζεται να γίνουν αναγωγές για εμβόλια 1, 0,1 και 0,01g μικτού βάρους (δηλαδή X 0,1), ενώ στη συνέχεια ανάγουμε τον πλέον πιθανό αριθμό σε ξηρό βάρος. Σε περίπτωση όμως που δεν μπορεί να βρεθεί από τον πίνακα, τότε ο υπολογισμός του πλέον πιθανού αριθμού γίνεται με τη βοήθεια του παρακάτω τύπου ο οποίος επίσης αναφέρεται σε σωλήνες με εμβόλια 0,1 0,01 και 0,001g ξηρού βάρους. Για το λόγο αυτό χρειάζεται να γίνουν αναγωγές για εμβόλια 1, 0,1 και 0,01g μικτού βάρους (δηλαδή X 0,1), ενώ στη συνέχεια ανάγουμε τον πλέον πιθανό αριθμό σε ξηρό βάρος (U.S. EPA, 1998).

Τύπος:

αριθμός των θετικών σωλήνων X 100

$$\text{MPN} / 100\text{ml} = \text{-----}$$

(ml δείγματος των αρνητικών σωλήνων X ml δείγματος όλων των σωλήνων)^{0.5}

7.4.2.3 Απομόνωση και ταυτοποίηση στελεχών *Enterococcus* spp

Η απομόνωση των στελεχών του γένους *Enterococcus* πραγματοποιήθηκε στο εκλεκτικό θρεπτικό υπόστρωμα Slanetz and Bartley και στο οποίο έγινε και η καταμέτρηση (Konrad et al., 2003). Από κάθε δείγμα απομονώνονταν 10-12 αποικίες που παρουσίαζαν τον

τυπικό φαινότυπο των εντερόκοκκων στο εκλεκτικό αυτό υπόστρωμα. Κάθε μία από αυτές τις αποικίες ως διαφορετικό στέλεχος πια, μεταφερόταν σε χωριστό τρυβλίο με γραμμική διασπορά. Τα στελέχη αυτά αφού ταυτοποιήθηκαν σε επίπεδο γένους με τις δοκιμές που περιγράφονται στη συνέχεια, μεταφέρθηκαν σε καλλιέργειες stock στην κατάψυξη στους -80°C. Για τις stock καλλιέργειες μεταφέρεται ποσότητα υγρής καλλιέργειας του κάθε στελέχους (300μL) σε φιαλίδιο erpendorf με αποστειρωμένη γλυκερόλη (900μL). Η γλυκερόλη λειτουργεί κρύο-προστατευτικά για τα κύτταρα στις πολύ χαμηλές θερμοκρασίες. Προκειμένου να ταυτοποιηθούν τα στελέχη ως *Enterococcus*, έγιναν οι παρακάτω επιβεβαιωτικές δοκιμές:

1. Δοκιμή καταλάσης

Η δοκιμή αυτή πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια μικροβιολογικού κρίκου με τον οποίο μεταφέρθηκε μια αποικία σε αντικειμενοφόρο πλάκα. Στη συνέχεια, επάνω στην αποικία τοποθετήθηκε μια σταγόνα διαλύματος υπεροξειδίου του υδρογόνου 3%. Εάν κατά την προσθήκη του εν λόγω διαλύματος παρατηρηθεί αφρισμός, τότε η αντίδραση είναι θετική (Κώτσου κ.ά., 2003). Τα κύτταρα του γένους *Enterococcus* δίνουν αρνητικές αντιδράσεις διότι δε διαθέτουν το ένζυμο της καταλάσης.

2. Χρώση Gram

Για την παρατήρηση αλλά και για τη συστηματική κατάταξη των βακτηρίων χρησιμοποιείται κυρίως η χρώση κατά Gram. Η κατά Gram χρώση αποτελείται από δύο στάδια. Κατά το πρώτο στάδιο το παρασκεύασμα βάφεται με κρυσταλλικό ιώδες, σταθεροποιείται με Lugol, μετά εκπλύνεται με αλκοόλη και ακολουθεί το δεύτερο στάδιο όπου το παρασκεύασμα βάφεται με σαφρανίνη. Ορισμένα είδη βακτηρίων συγκρατούν στο κυτταρικό τους τοίχωμα το κρυσταλλικό ιώδες, οπότε εμφανίζονται ιώδη. Αυτά είναι τα Gram θετικά βακτήρια. Αντίθετα το κυτταρικό τοίχωμα άλλων ειδών δεν μπορεί να συγκρατήσει το κρυσταλλικό ιώδες, το οποίο εκπλύνεται με την αλκοόλη και το κύτταρο τότε συγκρατεί τη σαφρανίνη. Αυτά τα βακτήρια φαίνονται κόκκινα στο μικροσκόπιο και είναι τα κατά Gram αρνητικά βακτήρια. Τα στελέχη του γένους *Enterococcus* δίνουν θετικές αντιδράσεις στη δοκιμή αυτή και βάφουν τα κύτταρά τους μπλε-μωβ χρώμα (Gram+ κόκκοι) (Μαυρίδου και Παπαπετροπούλου, 1995).

3. Ανάπτυξη των στελεχών στους 10° C

Δοκιμαστικοί σωλήνες οι οποίοι περιείχαν 5 ml θρεπτικό υλικό Brain Heart Infusion Broth

(LABM) εμβολιάστηκαν με μια αποικία από καθαρή καλλιέργεια και επωάστηκαν στους 10° C για 7-10 ημέρες. Η ανάπτυξη των στελεχών του μικροοργανισμού κρίνεται από το θόλωμα των σωλήνων (Konrad et al., 2003). Το θρεπτικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε για την ανάπτυξη των στελεχών παρασκευάστηκε διαλύοντας 37 g σκόνης σε 1L απιονισμένο νερό. Αφού αναδεύτηκε καλά μοιράστηκε το μίγμα σε δοκιμαστικούς σωλήνες (5 ml) και αποστειρώθηκε στους 121°C για 15 λεπτά.

4. Ανάπτυξη των στελεχών στους 45⁰C

Δοκιμαστικοί σωλήνες οι οποίοι περιείχαν 5 ml θρεπτικό υλικό Brain Heart Infusion Broth εμβολιάστηκαν με μια αποικία από καθαρή καλλιέργεια και επωάστηκαν στους 45⁰C για 48 ώρες. Η ανάπτυξη των στελεχών του μικροοργανισμού κρίνεται από το θόλωμα των σωλήνων.

5. Ανθεκτικότητα στο χλωριούχο νάτριο

Δοκιμαστικοί σωλήνες οι οποίοι περιείχαν 5 ml θρεπτικό υλικό Brain Heart Infusion Broth ενισχυμένο με 6,5% NaCl, εμβολιάστηκαν με μια αποικία από καθαρή καλλιέργεια και επωάστηκαν στους 37⁰ C για 48 ώρες. Η δοκιμή χαρακτηρίζεται ως θετική για τα στελέχη του γένους *Enterococcus* εάν οι σωλήνες παρουσιάσουν θόλωμα (Konrad et al., 2003).

6. Ανάπτυξη των στελεχών σε Bile Esculin Agar

Δοκιμαστικοί σωλήνες οι οποίοι περιείχαν 6 ml θρεπτικό υλικό Bile Esculin Agar εμβολιάστηκαν με μια αποικία από καθαρή καλλιέργεια και επωάστηκαν στους 37⁰ C για 48 ώρες. Η δοκιμή χαρακτηρίζεται ως θετική για τα στελέχη του γένους *Enterococcus* εάν μετά την επώαση παρατηρηθεί μαύρισμα του υλικού. Με τη δοκιμή αυτή διαχωρίζονται οι στρεπτόκοκκοι που ανήκουν στο Group D και οι οποίοι υδρολύουν το Bile Esculin Agar. Για την παρασκευή του θρεπτικού υλικού προστέθηκαν 64,5 g Bile Esculin Agar (Himedia) σε 1 L απιονισμένο νερό. Στη συνέχεια το υλικό ομογενοποιήθηκε με θέρμανση και αφού μοιράστηκε σε δοκιμαστικούς σωλήνες αποστειρώθηκε στους 121⁰ C για 15 λεπτά.

7. Ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά

Τα στελέχη του γένους *Enterococcus* τα οποία ταυτοποιήθηκαν ως προς το γένος, ελέγχθηκαν ως προς την ευαισθησία τους σε 12 διαφορετικά αντιβιοτικά, με τη μέθοδο της διάχυσης των αντιβιοτικών σε στερεό υπόστρωμα και δημιουργίας παρεμποδιστικών

ζωνών ανάπτυξης στα βακτηριακά κύτταρα. Τα αντιβιοτικά βρίσκονται υπό μορφή εμποτισμένων χάρτινων δισκίων σε συγκεκριμένη συγκέντρωση. Η μέθοδος που εφαρμόστηκε ακολουθεί τις προδιαγραφές που έχει θέσει η National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 2003a; NCCLS, 2003b) και η κατασκευαστική εταιρία (BD).

Αρχικά εμβολιάστηκαν με γραμμική διασπορά τρυβλία με θρεπτικό υπόστρωμα M17 agar (LABM) από καλλιέργειες που φυλάσσονταν στους -80°C . Τα τρυβλία επώστηκαν στους 37°C για 48 ώρες. Για την παρασκευή του θρεπτικού υλικού M17 agar διαλύθηκαν 57,2g σκόνης σε 1 L απιονισμένο νερό, το υλικό αποστειρώθηκε (15°C για 20 λεπτά) και μοιράστηκε στα τρυβλία Petri ασηπτικά.

Στη συνέχεια τα εξεταζόμενα στελέχη ανακαλλιιεργήθηκαν με γραμμική διασπορά σε τρυβλία με θρεπτικό υπόστρωμα Muller Hinton Agar, επώστηκαν στους 37°C για 24 ώρες και τέλος επιβεβαιώθηκε η καθαρότητα των καλλιεργειών με χρώση Gram και μικροσκοπική παρατήρηση πριν τη δοκιμασία της ευαισθησίας. Για την παρασκευή του θρεπτικού υλικού προστέθηκαν 38g Muller Hinton Agar (Conda) σε 1L απιονισμένο νερό. Ακολούθησε ομογενοποίηση του αιωρήματος με θέρμανση μέχρι βρασμού και αποστείρωση στους 121°C για 15 λεπτά. Τέλος μοιράστηκε το υλικό σε τρυβλία Petri.

Με τη βοήθεια ενός βακτηριολογικού κρίκου λήφθηκαν μερικές πανομοιότυπες αποικίες από τις καθαρές καλλιέργειες και παρασκευάστηκε αιώρημα κυττάρων σε 4 ml φυσιολογικού ορού (0,85% NaCl) έτσι ώστε η θολρότητα να αντιστοιχεί με το σημείο 1 της κλίμακας McFarland. Στη συνέχεια, με τη βοήθεια του στειλεού, το βακτηριακό εναιώρημα επιστρώθηκε στην επιφάνεια του Mueller-Hinton άγαρ, εντός τρυβλίου Petri (150 mm με διάμετρο βάσης 145 mm), το οποίο και περιέχει 65 mL (ώστε να επιτευχθούν τα απαραίτητα από τη μέθοδο 4 mm πάχος θρεπτικού) υλικού. Η επίστρωση πραγματοποιείται τρεις φορές για κάθε τρυβλίο, περιστρέφοντάς το κατά 60° μετά από κάθε επίστρωση, έτσι, ώστε να επιτευχθεί ομοιόμορφη κατανομή των βακτηριακών κυττάρων. Η διαδικασία ολοκληρώθηκε μετά από μια κυκλική κίνηση του στυλεού στην περιφέρεια του υλικού. Τέλος, για κάθε στέλεχος πραγματοποιήθηκαν τρεις επαναλήψεις, δηλαδή επιστρώθηκαν τρία τρυβλία.

Κάθε τρυβλίο, παρέμεινε για μικρό διάστημα ανοιχτό, προκειμένου να απορροφηθεί η υπερκείμενη υγρασία και κατόπιν, τοποθετήθηκαν οι δίσκοι των αντιβιοτικών σε προσημειωμένες θέσεις επάνω στο άγαρ, προκειμένου να έχουμε τη μέγιστη δυνατή απόσταση μεταξύ τους. Οι δίσκοι δεν πρέπει σε καμία περίπτωση να μετακινούνται μετά την τοποθέτησή τους. Και αυτό διότι η διάχυση του αντιβιοτικού, από το δίσκο στο άγαρ, ξεκινά αμέσως. Κατόπιν μεταφέρθηκαν τα τρυβλία στον επωαστικό θάλαμο εντός 15 λεπτών μετά την τοποθέτηση των δίσκων. Επώαστηκαν υπό αερόβιες συνθήκες στους 37 °C, για 24 ώρες και τελικά, μετρήθηκε η διάμετρος της σχηματισθείσας ζώνης παρεμπόδισης γύρω από κάθε δίσκο αντιβιοτικού, με ακρίβεια χιλιοστού. Σύμφωνα με την Lalitha (2005), η εν λόγω μέτρηση πρέπει να γίνεται ως εξής:

- Το τρυβλίο Petri κρατείται σε μικρή απόσταση από μια μαύρη επιφάνεια, η οποία στοχεύεται με φως
- Το περιθώριο της ζώνης θα πρέπει να καθορίζεται από την περιοχή που δε δείχνει καμιά ανάπτυξη αποικιών (με γυμνό μάτι). Έτσι, η αχνή ανάπτυξη αποικιών, που μπορούν να γίνουν ορατές με χρήση μεγεθυντικού φακού στα όρια της ζώνης αναστολής, αγνοείται. Εντούτοις, αν αναπτυχθούν αποικίες στο μέσο της καθαρής ζώνης αναστολής, αυτές θα πρέπει να ανακαλλιεργηθούν, ταυτοποιηθούν και ελεγχθούν.

Η διάμετρος του δίσκου (6 mm) συμπεριλαμβάνεται στη μέτρηση. Οι ομάδες των αντιβιοτικών που μελετήθηκαν ως προς τον τρόπο δράσης τους στα μικροβιακά κύτταρα και οι περιεκτικότητες των δισκίων ήταν οι εξής:

- Αναστολείς της σύνθεσης κυτταρικών τοιχωμάτων (Ampicillin 10 μg, Vancomycin 30μg, Bacitracin 10μg),
- Αναστολείς της σύνθεσης πρωτεϊνών (Tetracycline 30 μg, Erythromycin 15μg, Streptomycin 300 μg, Gentamycin 12 μg),
- Αναστολείς της σύνθεσης νουκλεϊκών οξέων (Ciprofloxacin 5 μg, Rifampin 5 μg, Ofloxacin 5 μg, Norfloxacin 10 g, Nitrofurantoin 300 μg).

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων συγκρίθηκαν με τους ερμηνευτικούς πίνακες από την Εθνική Επιτροπή των ΗΠΑ για τα Κλινικοεργαστηριακά Πρότυπα (NCCLS). Ανάλογα με το εύρος της ζώνης αυτής, τα στελέχη κατατάχθηκαν είτε ως ευαίσθητα (Sensitive), είτε ως ενδιάμεσης ευαισθησίας (Intermediate) ή τέλος, ως ανθεκτικά (Resistant). Τα πρότυπα όρια των ζωνών παρεμπόδισης παρουσιάζονται παρακάτω (Πίνακας 7.3).

Πίνακας 7.3.Ερμηνεία ζωνών παρεμπόδισης για τα στελέχη του γένους *Enterococcus* spp.

Αντιμικροβιακός παράγοντας	Κωδικός	Ισχύς δισκίου	Ερμηνευτικά πρότυπα διαμέτρου ζώνης παρεμπόδισης (mm)		
			Ανθεκτικό στέλεχος	Ενδιάμεσης ανθεκτικότητας στέλεχος	Ευαίσθητο στέλεχος
			(R)	(I)	(S)
Ampicillin	AM-10	10 µg	≤ 16	-	≥ 17
Bacitracin	B-10	10 U	≤ 8	9-12	≥ 13
Ciprofloxacin	CIP-5	5 µg	≤ 15	16-20	≥ 21
Erythromycin	E-15	15 µg	≤ 13	14-22	≥ 23
Gentamycin	GM-120	120 µg	6	7-9	≥ 10
Nitrofurantoin	F/M-300	300 µg	≤ 14	15-16	≥ 17
Norfloxacin	NOR-10	10 µg	≤ 12	13-16	≥ 17
Ofloxacin	OFX-5	5 µg	≤ 12	13-15	≥ 16
Rifampicin	RA-5	5 µg	≤ 16	17-19	≥ 20
Streptomycin	S-300	300 µg	6	7-9	≥ 10
Tetracycline	Te-30	30 µg	≤ 14	15-18	≥ 19
Vancomycin	Va-30	30 µg	≤ 14	15-16	≥ 17

Πηγή: Προσαρμοσμένος πίνακας από NCCLS, 2003b

U: units, R: resistant, I: intermediate, S: sensitive

Στον πίνακα, που ακολουθεί γίνεται η κατηγοριοποίηση των αντιμικροβιακών που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα.

Πίνακας 7.4.Κατηγοριοποίηση αντιβιοτικών που χρησιμοποιήθηκαν

Κατηγορία αντιμικροβιακών	Αντιβιοτικά
Αμινογλυκοσίδες	Γενταμυκίνη Στρεπτομυκίνη
β-λακτάμες	Αμπικιλίνη
Φλουοροκινολόνες	Σιπροφλοξασίνη Οφλοξασίνη Νορφλοξακίνη
Γλυκοπεπτίδια	Βανκομυκίνη
Μακρολίδια	Ερυθρομυκίνη
Τετρακυκλίνες	Τετρακυκλίνη
-	Βακιτρακίνη
-	ΡΙφαμικίνη
-	Νιτροφουραντοΐνη

Πηγή: Προσαρμοσμένος πίνακας από Forbes et al., (2002); Koneman et al., (1992)

Κεφάλαιο 8^ο : Αποτελέσματα και Σχολιασμός

8.1 Μονάδες δειγματοληψίας

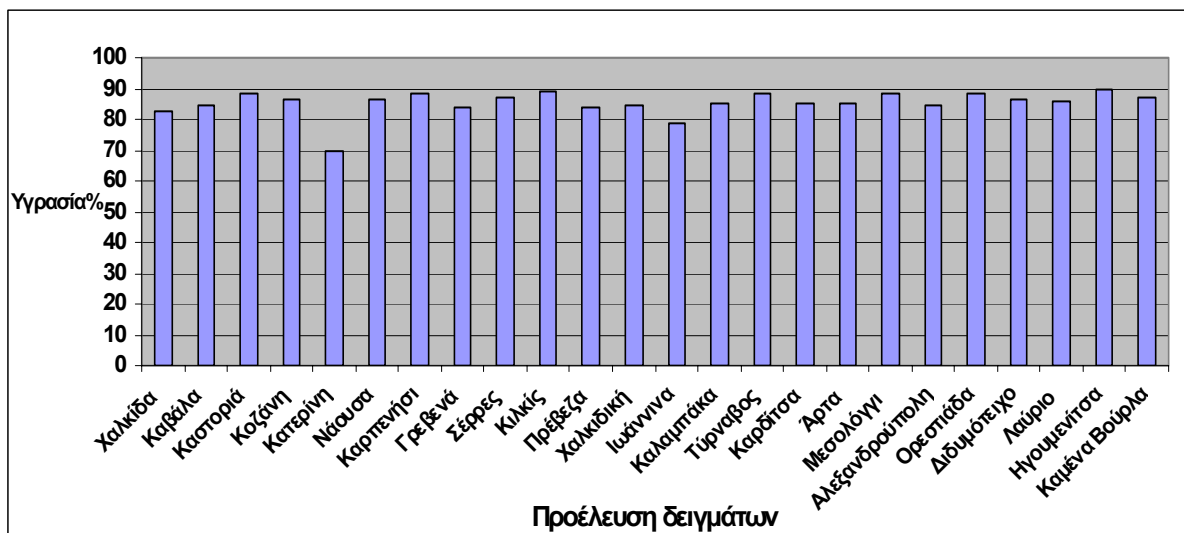
Στο πλαίσιο της συγκεκριμένης ερευνητικής εργασίας, 24 δείγματα αφυδατωμένης ιλύος από 24 διαφορετικές Ε.Ε.Λ παρελήφθησαν ώστε να πραγματοποιηθούν αναλύσεις φυσικοχημικών και μικροβιολογικών παραμέτρων. Πιο αναλυτικά, δείγματα ιλύος παρελήφθησαν από τις Ε.Ε.Λ της Χαλκίδας, της Καβάλας, της Καστοριάς, της Κοζάνης, της Κατερίνης, της Νάουσας, του Καρπενησίου, των Γρεβενών, των Σερρών, του Κιλκίς, της Πρέβεζας, της Νέας Φώκαιας (Χαλκιδική), των Ιωαννίνων, της Καλαμπάκας, του Τυρνάβου Λαρίσης, της Καρδίτσας, της Άρτας, του Μεσολογγίου, της Αλεξανδρούπολης, της Ορεστιάδας, του Διδυμοτείχου, του Λαυρίου, της Ηγουμενίτσας και των Καμένων Βούρλων. Στοιχεία των εγκαταστάσεων των παραπάνω βιολογικών σταθμών που ήταν εφικτό να συλλεχθούν παρατίθενται στο παράρτημα 2.

8.2 Φυσικές και Χημικές αναλύσεις των δειγμάτων ιλύος από ΕΕΛ ελληνικών πόλεων

8.2.1 Υγρασία

Η υγρασία αποτελεί σημαντικό χαρακτηριστικό της ποιότητας της αφυδατωμένης ιλύος, διότι σχετίζεται με την αξιοποίηση και διάθεση της ιλύος. Χωρίς την παρουσία υψηλού ποσοστού υγρασίας (40-65%) δεν είναι εφικτή η διαδικασία της κομποστοποίησης, εφόσον η υγρασία ευνοεί την δραστηριότητα των μικροβιακών πληθυσμών και αυτό έχει ως αποτέλεσμα η κομποστοποίηση να μεγιστοποιείται. Τα βέλτιστα επίπεδα υγρασίας υπολογίζεται ότι αγγίζουν το 50-70%. Πάνω από το ποσοστό αυτό, δημιουργούνται αναερόβιες μη επιθυμητές συνθήκες (Richard et al., 2002). Αν το ποσοστό της υγρασίας είναι κάτω από 20-30%, τότε ελαχιστοποιούνται οι πιθανότητες να επανέλθει η ιλύς στα επιθυμητά όρια ακόμα και αν προστεθεί νερό (Μανιός, 2001).

Στο διάγραμμα 8.1 παρουσιάζονται τα εκατοστιαία ποσοστά υγρασίας που μετρήθηκαν στα δείγματα ιλύος στο μικροβιολογικό εργαστήριο προκειμένου να υποβληθούν σε περαιτέρω αναλύσεις. Σημειώνεται ότι, η υγρασία της ιλύος κυμάνθηκε από 69,8 (Κατερίνη) έως 90% (Ηγουμενίτσα) με μέσο όρο 85,3%. Το υψηλό ποσοστό υγρασίας που παρατηρήθηκε στα δείγματα δεν είναι το επιθυμητό, διότι δημιουργούνται αναερόβιες μη επιθυμητές συνθήκες (Richard et al., 2002).

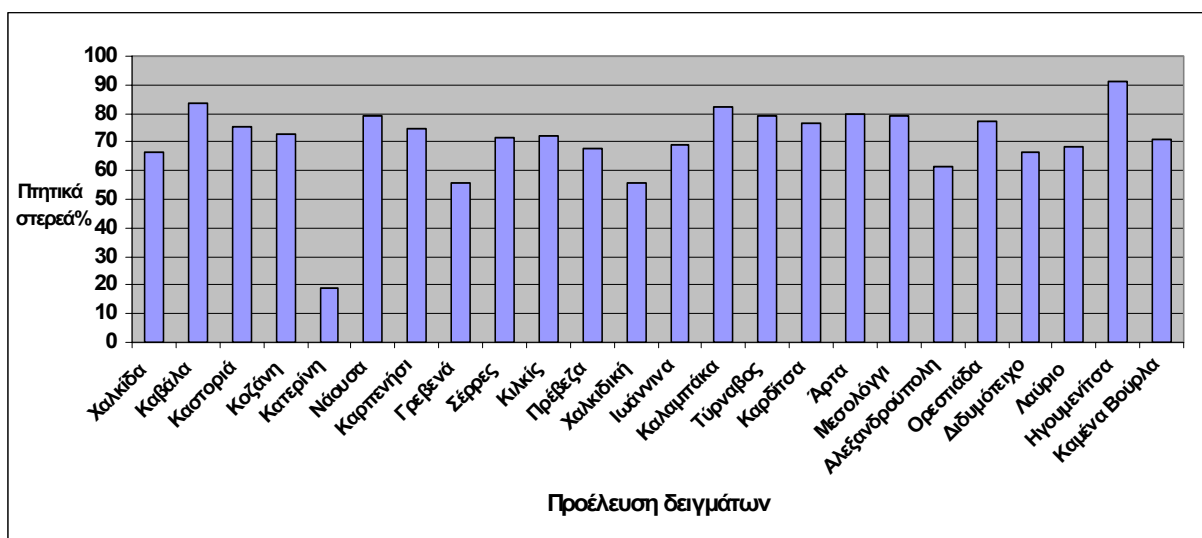


Διάγραμμα 8.1. Διακύμανση της υγρασίας σε δείγματα ιλύος από ΕΕΛ ελληνικών πόλεων

8.2.2 Πτητικά στερεά

Κατόπιν της καύσης των δειγμάτων στους 550° C, η τέφρα που απομένει αντιπροσωπεύει την περιεκτικότητα (προσεγγιστικά) σε μέταλλα και οργανική ύλη που εμπεριέχονται στην ιλύ. Η οργανική ύλη προσδιορίζεται από την αφαίρεση της επί τις εκατό τέφρας από το 100 (Schaub-Szabo and Leonard, 1999). Όση περισσότερη οργανική ύλη και θρεπτικά συστατικά περιέχονται στην ιλύ, τόσο περισσότερο προτείνεται η κομποστοποίηση ως η οικονομικότερη λύση στη διάθεση της ιλύος.

Τα πτητικά στερεά των δειγμάτων κατά μέσο όρο αγγίζουν το 70,63%. Τα μικρότερα ποσοστά οργανικής ύλης περιλαμβάνονταν στην Κατερίνη(18,8%), στη Νέα Φώκεια Χαλκιδικής(55,7%) και στα Γρεβενά(56%). Αντιθέτως, τα υψηλότερα ποσοστά παρατηρήθηκαν στην Ηγουμενίτσα(91%), στην Καβάλα(83,5%) και στην Καλαμπάκα(82,3%) (Διάγραμμα 8.2).

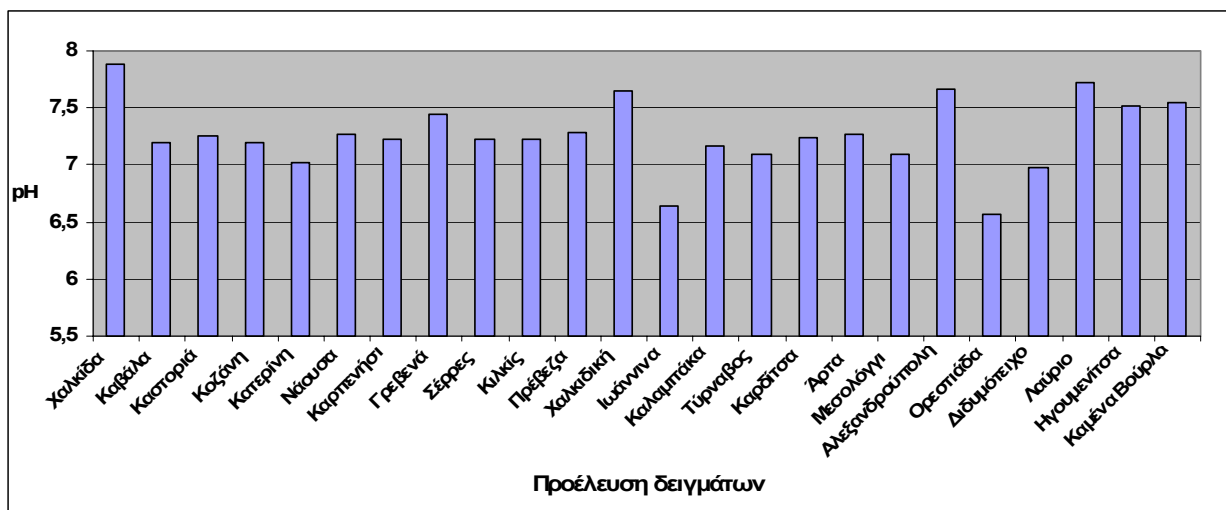


Διάγραμμα 8.2. Διακύμανση των πτητικών στερεών σε δείγματα ιλύος από ΕΕΛ ελληνικών πόλεων

8.2.3 Οξύτητα

Μια εξίσου σημαντική παράμετρος που επηρεάζει τη συγκέντρωση και το ρυθμό μείωσης των μικροοργανισμών στην ιλύ, είναι και το pH. Αν το pH της ιλύος ρυθμιστεί στο 11, ο ρυθμός μείωσης της συγκέντρωσης των ολικών κολίμορφων φτάνει στο 80% και ο ρυθμός μείωσης της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας το 57%. Αν όμως μειωθεί στο 5, ο ρυθμός των κολίμορφων φτάνει το 46% και της μεσόφιλης χλωρίδας το 14%. Στην περίπτωση που το pH φτάσει το 3, τότε ο ρυθμός μείωσης των ολικών κολίμορφων δεν υπερβαίνει το 41%

και της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας το 37%. Όσο το pH πλησιάζει το 7, παρατηρούνται και οι μέγιστες συγκεντρώσεις των παραπάνω μικροοργανισμών (Jean et al.,1999).



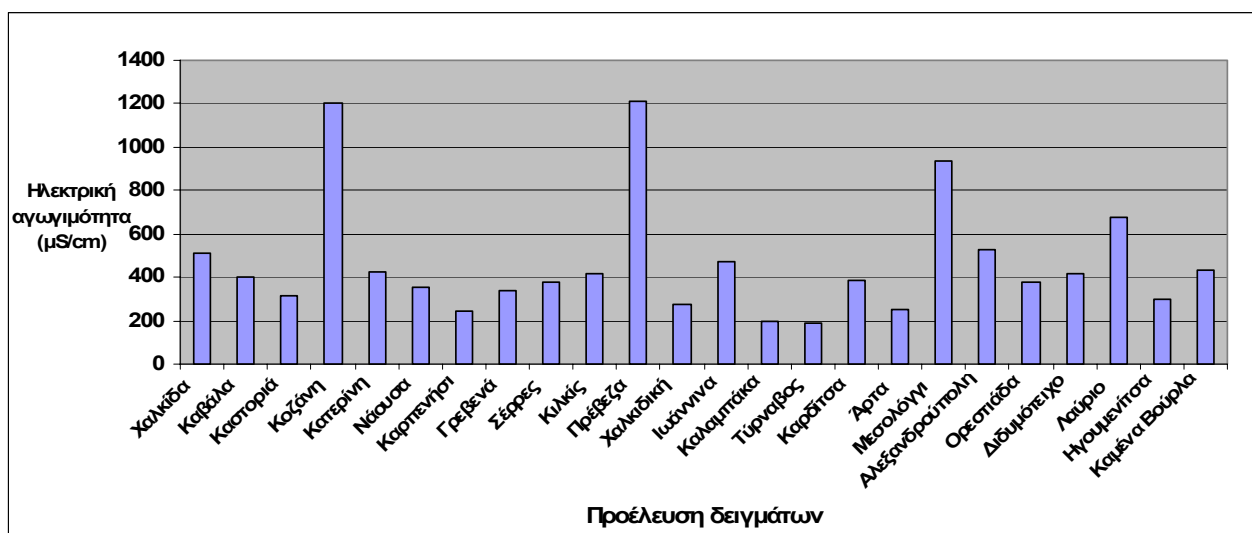
Διάγραμμα 8.3. Διακύμανση pH σε δείγματα ιλύος από ΕΕΛ ελληνικών πόλεων

Στο παραπάνω διάγραμμα 8.3, παρουσιάζονται οι τιμές pH στα δείγματα ιλύος από καθεμιά Ε.Ε.Λ. Το pH της ιλύος κυμαίνεται από 6,57 (Ορεστιάδα) έως 7,88 (Χαλκίδα) με μέσο όρο 7,27. Οι τιμές αυτές βρίσκονται μέσα στα επιθυμητά όρια (pH: 6-9) για μελλοντική ίσως κομποστοποίηση των ιλύων των αντίστοιχων Ε.Ε.Λ. (Μανιός, 2001).

8.2.4 Ηλεκτρική αγωγιμότητα

Οι τιμές της ηλεκτρικής αγωγιμότητας των δειγμάτων ιλύος που αναλύθηκαν παρουσιάζει μεγάλο εύρος. Πιο συγκεκριμένα, οι τιμές κυμαίνονται από 188 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (Τύρναβος Λαρίσης) και φτάνουν μέχρι 1213 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (Πρέβεζα). Το εύρος αυτό αποτελεί δείκτη της αλατότητας της ιλύος (Διάγραμμα 8.4). Η εθνική νομοθεσία της χώρας μας ορίζει ως ανώτατο όριο ηλεκτρικής αγωγιμότητας στην ιλύ τα 4 $\mu\text{S}/\text{cm}$, οπότε κανένα από τα δείγματα δεν αποκλίνει από αυτό. Επιπλέον, σύμφωνα με τους Μανιός και Μανιαδάκης (2001), η ηλεκτρική αγωγιμότητα της ιλύος δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 2000 $\mu\text{S}/\text{cm}$, διότι προβλέπονται πιθανά προβλήματα στην αρχή της διαδικασίας της κομποστοποίησης της ιλύος.

Τις υψηλότερες τιμές ηλεκτρικής αγωγιμότητας παρουσιάζουν η Πρέβεζα (1213 $\mu\text{S}/\text{cm}$) και η Κοζάνη (1201 $\mu\text{S}/\text{cm}$) και αυτό είναι πιθανόν να οφείλεται στην υψηλή συγκέντρωση της ιλύος. Από την άλλη πλευρά, τις χαμηλότερες τιμές εμφανίζουν ο Τύρναβος Λαρίσης (188 $\mu\text{S}/\text{cm}$) και η Καλαμπάκα (197 $\mu\text{S}/\text{cm}$).



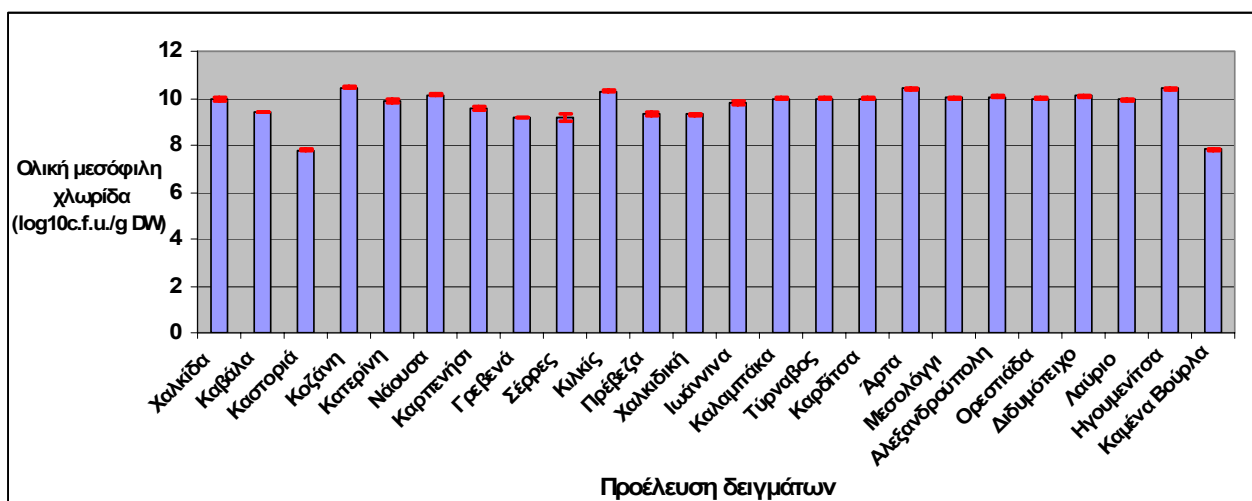
Διάγραμμα 8.4. Διακύμανση της ηλεκτρικής αγωγιμότητας σε δείγματα ιλύος από ΕΕΛ ελληνικών πόλεων

8.3 Μικροβιολογικές αναλύσεις δειγμάτων ιλύος από ΕΕΛ ελληνικών πόλεων

8.3.1 Εκτίμηση μικροβιακών πληθυσμών

8.3.1.1 Εκτίμηση πληθυσμού ολικής μεσόφιλης χλωρίδας

Η συγκέντρωση των ολικών αερόβιων βακτηρίων παρουσιάζεται στο διάγραμμα 8.5. Οι μεγαλύτεροι πληθυσμοί αυτών των βακτηρίων βρέθηκαν στα δείγματα ιλύος από την Κοζάνη, την Άρτα, το Κιλκίς και τη Νάουσα με πληθυσμούς $2,80 \times 10^{10}$ κύτταρα/g DW, $2,66 \times 10^{10}$ κύτταρα/g DW, $2,04 \times 10^{10}$ κύτταρα/g DW, και $1,39 \times 10^{10}$ κύτταρα/g DW αντίστοιχα.

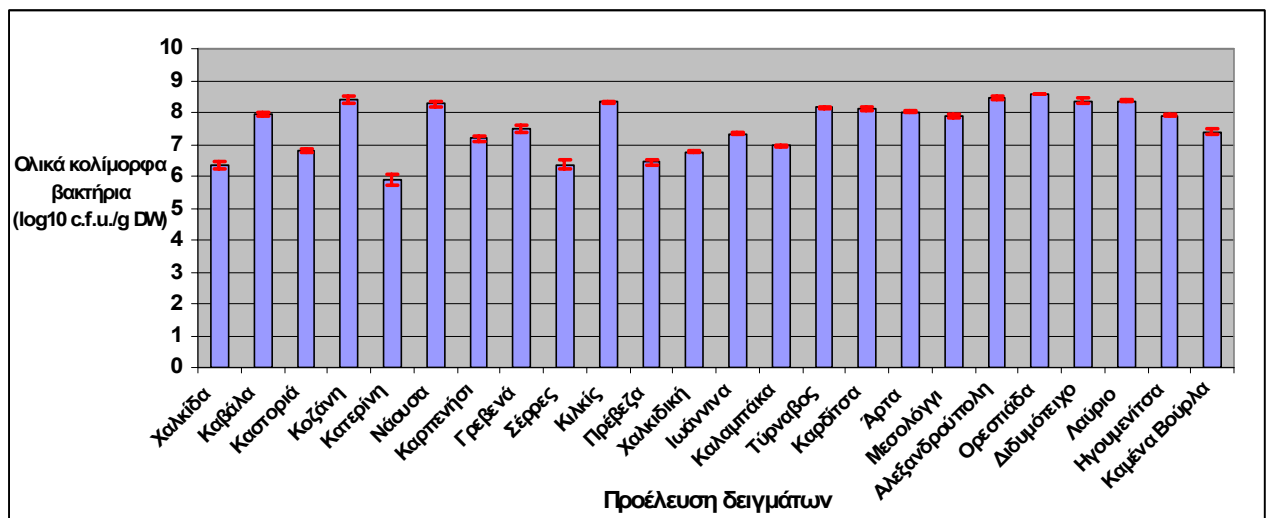


Διάγραμμα 8.5. Διακύμανση της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας σε δείγματα ιλύος από ΕΕΛ ελληνικών πόλεων

Οι τιμές των ολικών αερόβιων βακτηρίων αφυδατωμένης ιλύος (1^{ης} μέρας) που προορίζεται για την παραγωγή compost, σύμφωνα με τους Deportes et al. (1995) κυμαίνονται από $1,5 \times 10^6$ έως $5,6 \times 10^7$ κύτταρα/g DW. Επίσης, οι Selinovskaya et al. (2001), μέτρησαν σε δείγματα ιλύος πληθυσμούς των ολικών αερόβιων βακτηρίων της τάξεως των $1,2 \times 10^7$ κύτταρα/g DW. Παρατηρώντας το παραπάνω διάγραμμα, διαπιστώνουμε ότι μόνο οι Ε.Ε.Λ της Καστοριάς και των Καμένων Βούρλων εμφανίζουν πληθυσμούς ανάλογους με αυτούς που μέτρησαν στην έρευνα τους οι Deportes et al. (1995).

8.3.1.2 Εκτίμηση του πληθυσμού ολικών κολλίμορφων και *Escherichia coli*

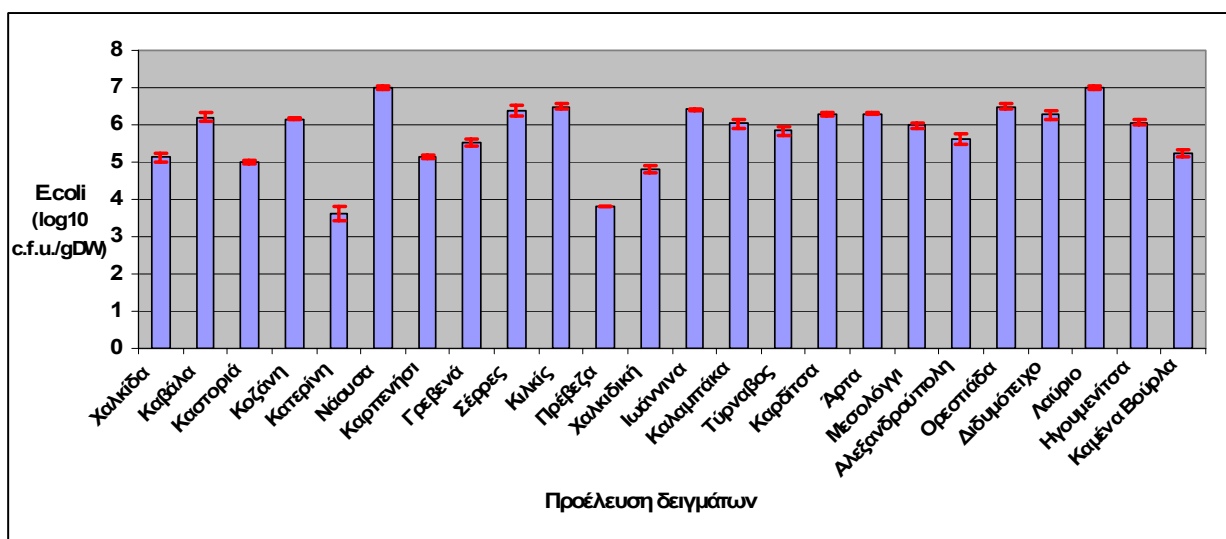
Η καταμέτρηση των ολικών κολλίμορφων δίνει σημαντικές πληροφορίες για την κατάσταση των δειγμάτων της ιλύος. Όμως, δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως περιττωματικοί δείκτες γιατί πολλά από αυτά μπορεί να υπάρχουν στο έδαφος και το νερό. Οι πληθυσμοί των βακτηρίων αυτών που μετρήθηκαν κυμαίνονται από $8,25 \times 10^5$ (Ε.Ε.Λ. Κατερίνης) μέχρι $3,70 \times 10^8$ (Ε.Ε.Λ. Ορεστιάδας) (Διάγραμμα 8.6).



Διάγραμμα 8.6. Διακύμανση ολικών κολλίμορφων βακτηρίων σε δείγματα ιλύος από ΕΕΛ ελληνικών πόλεων

Σύμφωνα με τους Hassen et al. (2001) και Deportes et al. (1995), οι πληθυσμοί των κολλίμορφων βακτηρίων αφυδατωμένης ιλύος (1^{ης} μέρας) που προορίζεται για compost δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 5×10^2 κύτταρα/g DW, ώστε η διάθεση της ιλύος να είναι ασφαλής. Από το διάγραμμα 6, παρατηρείται ότι κανένα από τα δείγματα ιλύος που αναλύθηκαν δεν βρίσκεται εντός των ορίων που έχουν προταθεί από τους παραπάνω ερευνητές.

Επιπρόσθετα, οι συγκεντρώσεις του *E.coli* που αποτελεί περιττωματικό δείκτη, κυμαίνονται στα δείγματα που αναλύθηκαν μεταξύ $4,42 \times 10^3$ (Ε.Ε.Λ. Κατερίνης) μέχρι $1,04 \times 10^7$ (Ε.Ε.Λ. Λαυρίου) (Διάγραμμα 8.7). Σε έρευνα της Μάλλιου (2006) μετρήθηκαν οι πληθυσμοί του *E.coli* στις Ε.Ε.Λ. Αλεξανδρούπολης και Καρδίτσας. Στην παρούσα έρευνα η συγκέντρωση του *E.coli* παρουσίασε μείωση στην ιλύ από την Ε.Ε.Λ Αλεξανδρούπολης και αύξηση σε αυτή της Καρδίτσας.



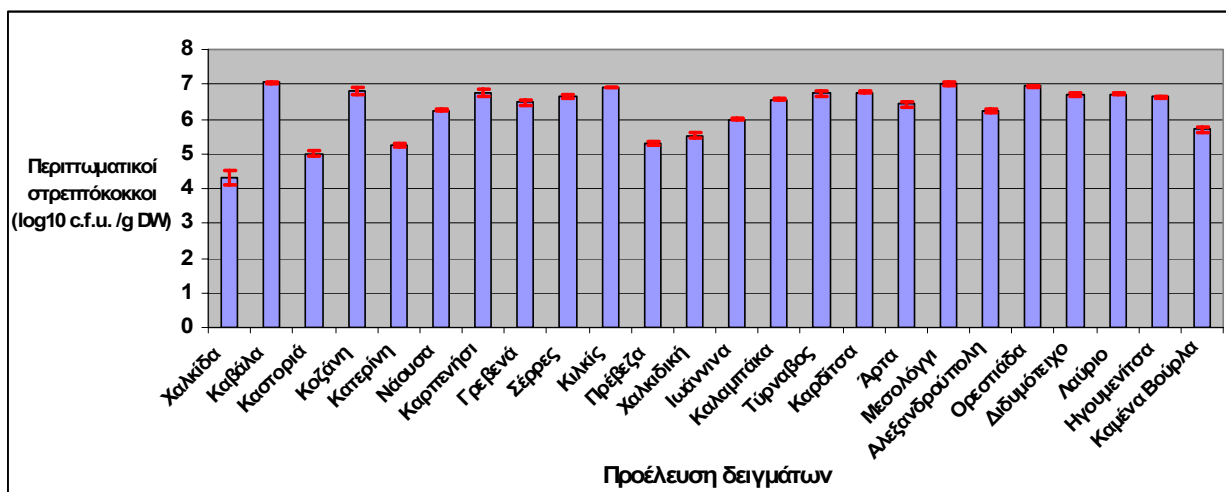
Διάγραμμα 8.7. Διακύμανση *E.coli* βακτηρίων σε δείγματα ιλύος από ΕΕΛ ελληνικών πόλεων

Προκειμένου η διάθεση της ιλύος να είναι ασφαλής για το περιβάλλον και τον άνθρωπο, ο Carrington(2001) θέτει ως όριο για τη συγκέντρωση του *E.coli* στην ιλύ, τα 1000 κύτταρα/g DW. Η διαπίστωση αυτή επιβεβαιώνεται και από τους κανονισμούς για την ιλύ από την U.S.EPA Class A(1999). Σύμφωνα με τα μέτρα της Γαλλίας (Norme NF U 44-095), η συγκέντρωση του *E.coli* στην ιλύ πρέπει να είναι κάτω από 10^4 κύτταρα/g DW. Στην προκειμένη περίπτωση μόνο τα δείγματα από τις Ε.Ε.Λ. της Κατερίνης, της Πρέβεζας και της Νέας Φώκαιας Χαλκιδικής βρίσκονται ενός των ορίων που έχουν προταθεί.

8.3.1.3 Εκτίμηση του πληθυσμού των περιττωματικών στρεπτόκοκκων

Οι συγκεντρώσεις των περιττωματικών στρεπτόκοκκων από τα δείγματα της ιλύος, όπως φαίνονται και στο διάγραμμα 8, κυμαίνονται από $2,23 \times 10^4$ κύτταρα/g DW (Ε.Ε.Λ. Χαλκίδα) έως $1,14 \times 10^7$ κύτταρα/g DW (Ε.Ε.Λ. Καβάλα)(Διάγραμμα 8.8). Σε έρευνα της Μάλλιου (2006) μετρήθηκαν οι συγκεντρώσεις των περιττωματικών στρεπτόκοκκων στις Ε.Ε.Λ της Αλεξανδρούπολης και της Καρδίτσας. Στην παρούσα έρευνα, η συγκέντρωση

των περιττωματικών στρεπτόκοκκων παρουσίασε αύξηση στην ιλύ από την Ε.Ε.Λ της Αλεξανδρούπολης αλλά και από την Ε.Ε.Λ της Καρδίτσας.



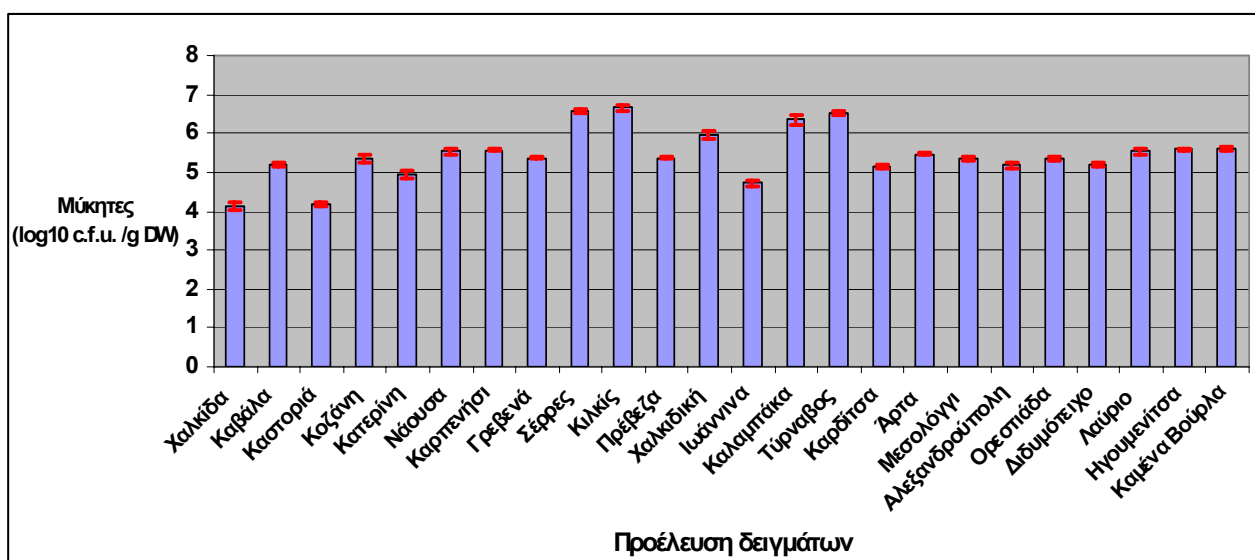
Διάγραμμα 8.8. Διακύμανση περιττωματικών στρεπτόκοκκων στα δείγματα ιλύος από ΕΕΛ ελληνικών πόλεων

Σύμφωνα με τους Hassen et al.(2001) και τους Deportes et al. (1995), οι πληθυσμοί των περιττωματικών στρεπτόκοκκων αφυδατωμένης ιλύος (1^ης μέρας) που προορίζεται για compost δεν πρέπει να υπερβαίνουν τα 5×10^3 κύτταρα/g DW. Επίσης, σύμφωνα με τα γαλλικά μέτρα (Norme NF U 44-095), το όριο των τιμών των εν λόγω μικροοργανισμών πρέπει να είναι κάτω από 10^5 κύτταρα/g DW. Στην προκειμένη περίπτωση μόνο τα δείγματα της Χαλκίδας, της Κατερίνης, της Πρέβεζας, της Νέας Φώκαιας Χαλκιδικής, των Ιωαννίνων και των Καμένων Βούρλων βρίσκονται μεταξύ 10^4 και 10^5 κύτταρα/g DW.

8.3.1.4 Εκτίμηση του πληθυσμού των μυκήτων και των ζυμών

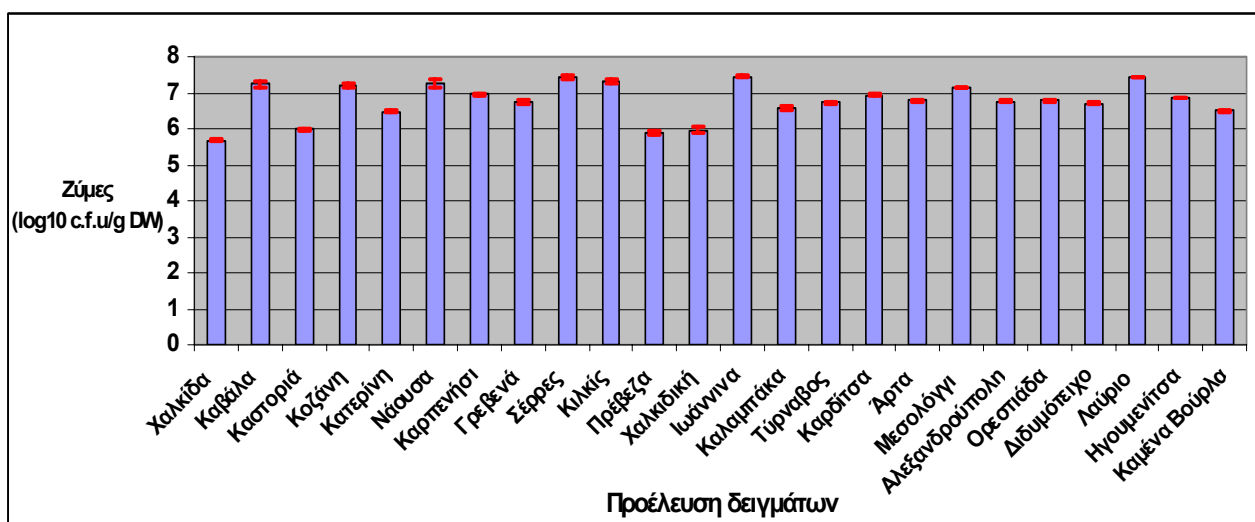
Οι μύκητες εμπλέκονται ενεργά στην αποδόμηση της κυτταρίνης, της ημικυτταρίνης και της λιγνίνης που βρίσκονται στην οργανική ύλη, αφήνοντας κατόπιν τα βακτήρια να συνεχίσουν τη διαδικασία της αποσύνθεσης (Goyal et al., 2005). Επίσης, μύκητες αναπτύσσονται και σε οργανικά υπολείμματα με χαμηλή υγρασία, όξινο pH και άζωτο χαμηλής περιεκτικότητας.

Η μεγαλύτερη τιμή πληθυσμού μυκήτων βρέθηκε στο δείγμα από την Ε.Ε.Λ του Κιλκίς με $4,48 \times 10^6$ κύτταρα/g DW, ενώ ο μικρότερος πληθυσμός ανιχνεύθηκε στο δείγμα από την Ε.Ε.Λ της Χαλκίδας με $1,37 \times 10^4$ κύτταρα/g DW (Διάγραμμα 8.9).



Διάγραμμα 8.9. Διακύμανση μυκήτων στα δείγματα ιλύος από ΕΕΛ ελληνικών πόλεων

Η συγκέντρωση των πληθυσμών των ζυμών (Διάγραμμα 8.10), κυμαίνονται από $4,74 \times 10^5$ κύτταρα/g DW έως $2,81 \times 10^7$ κύτταρα/g DW, με τη χαμηλότερη συγκέντρωση στην Ε.Ε.Λ της Χαλκίδας και την υψηλότερη στην Ε.Ε.Λ των Σερρών.



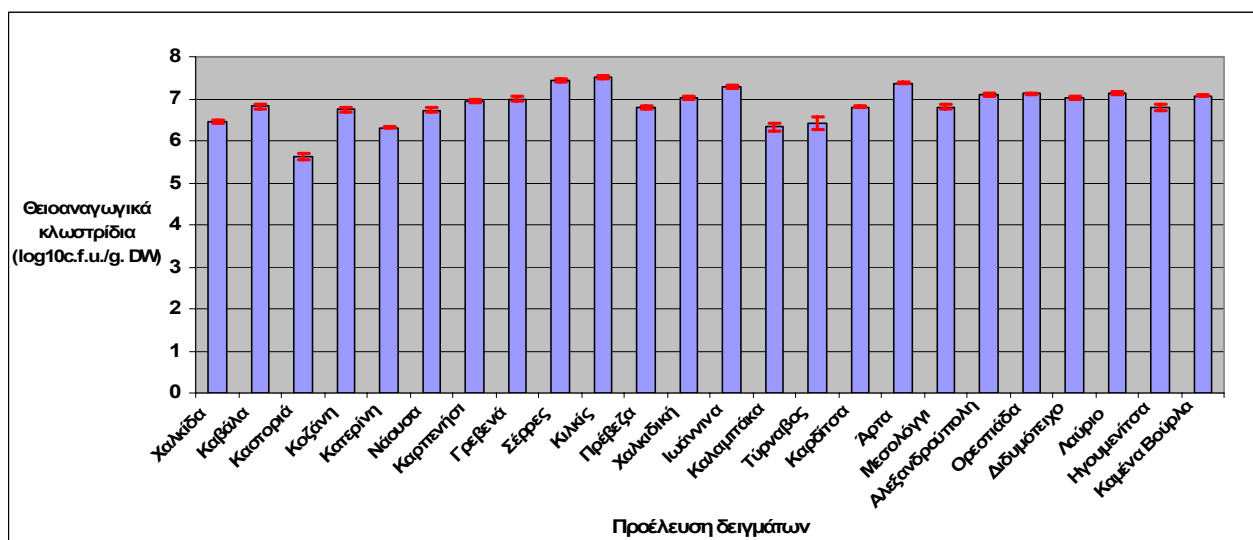
Διάγραμμα 8.10. Διακύμανση ζυμών στα δείγματα ιλύος από ΕΕΛ ελληνικών πόλεων

8.3.1.5 Εκτίμηση του πληθυσμού των θειοαναγωγικών κλωστριδίων

Τα θειοαναγωγικά κλωστρίδια είναι βακτήρια αναερόβια και συναντώνται στο έδαφος και τα βοθρολύματα. Αποτελούν ευκαιριακά παθογόνα για τον άνθρωπο και τα ζώα. Ένας χαρακτηριστικός τύπος θειοαναγωγικών κλωστριδίων που αποτελεί και περιττωματικό δείκτη είναι το *Clostridium perfringens* (Singeton, 1999). Η ανθεκτικότητα του *Clostridium perfringens* οφείλεται στο γεγονός ότι σχηματίζει ενδοσπόρια και για το λόγο

αυτό χρησιμοποιείται ως μικροοργανισμός-δείκτης. Συνίσταται τα σπόρια του *Clostridium perfringens* να μην υπερβαίνουν τα 3×10^3 κύτταρα/ g DW (Carrington, 2001).

Η συγκέντρωση των πληθυσμών των θειοαναγωγικών κλωστριδίων στα δείγματα ιλύος που συλλέχθηκαν στην παρούσα έρευνα κυμαίνονται από $4,22 \times 10^5$ κύτταρα/g DW έως $3,33 \times 10^7$ κύτταρα/ g DW (Διάγραμμα 8.11). Η υψηλότερη συγκέντρωση συναντάται στην Ε.Ε.Λ του Κιλκίς και η χαμηλότερη στην Ε.Ε.Λ της Καστοριάς. Σε αντίστοιχη ερευνητική εργασία της Μάλλιου (2006) μετρήθηκαν οι πληθυσμοί των θειοαναγωγικών κλωστριδίων στις Ε.Ε.Λ. Αλεξανδρούπολης και Καρδίτσας. Στην παρούσα έρευνα η συγκέντρωση των θειοαναγωγικών κλωστριδίων παρουσίασε μείωση στην ιλύ από την Ε.Ε.Λ Αλεξανδρούπολης και αύξηση σε αυτή της Καρδίτσας.



Διάγραμμα 8.11. Διακύμανση θειοαναγωγικών κλωστριδίων στα δείγματα ιλύος από ΕΕΛ ελληνικών πόλεων

Όπως τα μέτρα για τη διάθεση της αφυδατωμένης ιλύος, η οποία θα επεξεργαστεί για να παραχθεί compost, ορίζουν στη Γαλλία, οι τιμές της συγκέντρωσης του *Clostridium perfringens* πρέπει να είναι κάτω από 10^3 κύτταρα/g DW. Παρατηρώντας το διάγραμμα 8.11, διαπιστώνεται ότι κανένα από τα δείγματα δεν ανταποκρίνονται στα γαλλικά μέτρα.

8.4 Έλεγχος, απομόνωση και ταυτοποίηση για παθογόνους μικροοργανισμούς

8.4.1 *Salmonella* spp.

Ο έλεγχος για την εύρεση του παθογόνου βακτηρίου *Salmonella* spp., έγινε με βάση τη μέθοδο 1682 (U.S. EPA, 1998). Το βακτήριο *Salmonella* spp. θεωρείται σημαντικότερος παράγοντας για τη δημόσια υγεία, ενώ η ύπαρξή του στην ιλύ περιορίζει τη χρήση της για γεωργική αξιοποίηση. Από τα 24 δείγματα ιλύος που αναλύθηκαν σε πέντε από αυτά δεν

ανιχνεύθηκε το συγκεκριμένο βακτήριο, ενώ επιπρόσθετα βρέθηκαν πληθυσμοί των επικινδυνών για τη δημόσια υγεία βακτηρίων *Proteus mirabilis*²⁹ και *Citrobacter youngae*³⁰. Τα δείγματα που δεν εντοπίστηκε το βακτήριο *Salmonella* spp προέρχονταν από τις Ε.Ε.Λ Κατερίνης, Καρπενησίου, Γρεβενών, Νέας Φώκαιας Χαλκιδικής και Αλεξανδρούπολης.

Τα στελέχη των υπολοίπων δειγμάτων που έδωσαν τυπικές αποικίες του βακτηρίου *Salmonella* spp., αφού πραγματοποιήθηκαν σε αυτά επιβεβαιωτικές δοκιμές, κατόπιν ταυτοποιήθηκαν με το σύστημα API 20E(Biomerieux). Τα αποτελέσματα της ταυτοποίησης αναρτώνται στον πίνακα 8.1.

Πίνακας 8.1. Ταυτοποίηση του γένους *Salmonella* spp. με το σύστημα API 20E

²⁹ Το *Proteus mirabilis* είναι παθογόνο που συνήθως προκαλεί ουρολοιμώξεις (Li and Mobley, 2002). Σε άτομα με λειτουργικές ανωμαλίες ή με μακράς διάρκειας χρήσεις καθετήρα αποτελεί κοινή αιτία των λοιμώξεων του ουροποιητικού συστήματος (UTI), (Burall et al., 2004). Η υδρόλυση της ουρεάσης με μεσολάβηση ουρίας είναι υπεύθυνη για τη λοίμωξη του οργανισμού από το *Proteus mirabilis* και την ικανότητα να προκαλέσει νεφρολιθίαση. Η παθολογία που προκαλείται από το *Proteus mirabilis* δικαιολογεί την ανάπτυξη ενός εμβολίου. Οι Li and Mobley (2002), προώθησαν τις μελέτες του εμβολίου και διαπίστωσαν ότι βρίσκονται μπροστά σε ένα ελπιδοφόρο υπονήφιο εμβόλιο για το *Proteus mirabilis* και κατ' επέκταση στην πρόληψη της νεφρολιθίασης. Επιπρόσθετα, και οι Rocha et al., (2007), επισήμαναν στη μελέτη τους την ανάγκη ανάπτυξης ενός εμβολίου έναντι της σοβαρής παθολογίας που προκαλείται από το *Proteus mirabilis* στον ουροποιητικό σωλήνα. Το 2009, οι Raffi et al., εξέτασαν το ρόλο της Tamm-Horsfall πρωτεΐνης ως παράγοντα άμυνας κατά της κυστίτιδας και της πυελονεφρίτιδας που προκαλούνται από το *Proteus mirabilis*. Βρέθηκε λοιπόν, ότι όντως η πρωτεΐνη αυτή ενεργεί ως αμυντικός παράγοντας έναντι στο *Proteus mirabilis* δίνοντας έτσι αισιόδοξα μηνύματα για την αντιμετώπισή του.

³⁰ Το γένος *Citrobacter* είναι ένα σημαντικό ευκαιριακό παθογόνο. Σε έρευνα των Manganello et al., (2001) συλλέχθηκαν 122 κλινικά στελέχη, που χαρακτηρίζονταν ως *Citrobacter* spp. από τον Μάιο του 1994 και τον Αύγουστο του 1997 από εσωτερικούς και εξωτερικούς ασθενείς του Νοσοκομείου de Clinicas της Αργεντινής. Τα 6 από τα 111 στελέχη ταυτοποιήθηκαν ως *Citrobacter youngae*. Σε αντίστοιχη μελέτη, που πραγματοποιήθηκε από τον Ιούνιο του 1994 μέχρι τον Ιανουάριο του 2006, σε 78 ασθενείς (70 ενήλικες) που μεταφέρθηκαν σε πανεπιστημιακό νοσοκομείο ανιχνεύθηκε το *Citrobacter* spp. Η *Citrobacter freundii* ήταν πιο κοινή (71,8%), ακολουθούμενη από *Citrobacter koseri* (23,1%) και *Citrobacter braakii* (3,8%). Τα κλινικά συμπτώματα που εκδήλωσαν οι ασθενείς συνδέονταν κυρίως με λοιμώξεις του ουροποιητικού συστήματος (52,6% των περιπτώσεων, των οποίων οκτώ περιπτώσεις με ασυμπτωματική βακτηριουρία). Περαιτέρω προσοχή πρέπει να δοθεί σε αυτά τα παθογόνα του γένους *Citrobacter* (Samonis et al., 2008).

Προέλευση δειγμάτων	Ταξινόμηση	% i.d.	T	Ταυτοποίηση
Χαλκίδα	<i>Salmonella spp.</i>	99.8	0.20	Αποδεκτό προφίλ
Καβάλα	<i>Salmonella spp.</i>	99.9	0.31	Καλή ταυτοποίηση
Καστοριά	<i>Salmonella spp.</i>	89.4	0.34	Αποδεκτή ταυτοποίηση γένους
	<i>Salmonella arizonal</i>	10.5	0.08	
Κοζάνη	<i>Salmonella spp.</i>	89.4	0.34	Αποδεκτή ταυτοποίηση γένους
	<i>Salmonella arizonal</i>	10.5	0.08	
Νάουσα	<i>Salmonella spp.</i>	89.4	0.34	Αποδεκτή ταυτοποίηση γένους
	<i>Salmonella arizonal</i>	10.5	0.08	
Σέρρες	<i>Salmonella spp.</i>	99.9	0.31	Καλή ταυτοποίηση
Κιλκίς	<i>Salmonella spp.</i>	93.0	0.29	Αποδεκτή ταυτοποίηση γένους
	<i>Salmonella arizonal</i>	68.0	0.00	
Πρέβεζα	<i>Citrobacter youngae</i>	98.6	0.14	Αποδεκτή ταυτοποίηση
Ιωάννινα	<i>Citrobacter youngae</i>	99.8	0.34	Καλή ταυτοποίηση
Καλαμπάκα	<i>Proteus mirabilis</i>	99.9	0.26	Καλή ταυτοποίηση
Τύρναβος	<i>Proteus mirabilis</i>	99.9	0.92	Εξαιρετική ταυτοποίηση
Λαρίσης	<i>Proteus mirabilis</i>	99.9	0.26	Καλή ταυτοποίηση
Καρδίτσα	<i>Proteus mirabilis</i>	99.9	0.60	Πολύ καλή ταυτοποίηση
Άρτα	<i>Proteus mirabilis</i>	99.9	0.26	Καλή ταυτοποίηση
Μεσολόγγι	<i>Proteus mirabilis</i>	99.9	0.26	Καλή ταυτοποίηση Μη αποδεκτό προφίλ
	<i>Salmonella spp</i>			
Ορεστιάδα	<i>Salmonella spp.</i>	99.8	0.65	Πολύ καλή ταυτοποίηση
Διδυμότειχο	<i>Salmonella spp.</i>			Μη αποδεκτό προφίλ
Λαύριο	<i>Proteus mirabilis</i>	99.9	0.26	Καλή ταυτοποίηση
Ηγουμενίτσα	<i>Proteus mirabilis</i>	99.9	0.26	Καλή ταυτοποίηση
Καμένα Βούρλα	<i>Proteus mirabilis</i>	99.9	0.26	Καλή ταυτοποίηση

Σύμφωνα με τον πίνακα 8.1, διαπιστώνεται ότι :

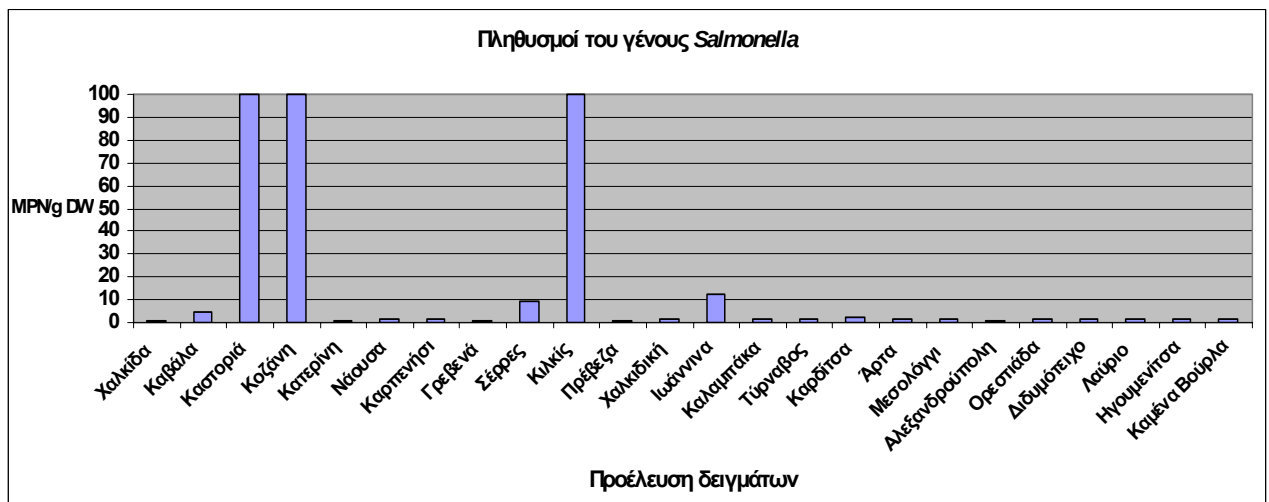
1. Τρυβλία που εμφάνισαν τυπικές αποικίες του γένους *Salmonella* spp. αποδείχθηκαν θετικά ως προς την ύπαρξη του βακτηρίου με καλή και αποδεκτή ταυτοποίηση
2. Τρυβλία ενός δείγματος (Μεσολόγγι) που εμφάνισαν τυπικές αποικίες του γένους *Salmonella* αποδείχθηκαν ότι δεν είχαν αποδεκτό προφίλ του βακτηρίου *Salmonella* spp.
3. Τρυβλία οχτώ δειγμάτων (Καλαμπάκα, Τύρναβος Λαρίσης, Καρδίτσα, Άρτα, Μεσολόγγι, Λαύριο, Ηγουμενίτσα, Καμένα Βούρλα) που εμφάνισαν τυπικές αποικίες του γένους *Salmonella* αποδείχθηκαν θετικά ως προς την ύπαρξη του βακτηρίου *Proteus mirabilis* με καλή ταυτοποίηση
4. Τρυβλία δύο δειγμάτων (Ιωάννινα, Πρέβεζα) που εμφάνισαν τυπικές αποικίες του γένους *Salmonella* αποδείχθηκαν θετικά ως προς την ύπαρξη του βακτηρίου *Citrobacter youngae* με καλή και αποδεκτή ταυτοποίηση.

Η συγκέντρωση του βακτηρίου *Salmonella* spp. στα δείγματα που αναλύθηκαν παρουσιάζεται στον πίνακα 8.2.

Πίνακας 8.2. Συγκέντρωση του γένους *Salmonella* spp. στα δείγματα αφυδατωμένης ιλύος από ΕΕΛ ελληνικών πόλεων

Προέλευση δειγμάτων	MPN/g DW	95% Confidence Lower	95% Confidence Upper
Χαλκίδα	1.03	0.05	3.94
Καβάλα	4.39	1.16	9.68
Καστοριά	1415.93	353.98	4070.80
Κοζάνη	318.52	111.11	814.81
Κατερίνη	<0.60	-	2.25
Νάουσα	1.35	0.07	5.19
Καρπενήσι	<1.54	-	5.81
Γρεβενά	<1.11	-	4.19
Σέρρες	9.09	3.10	19.69
Κιλκίς	318.18	90.90	1000.00
Πρέβεζα	1.09	0.05	4.15
Νέα Φώκεια Χαλκιδικής	<1.18	-	4.47
Ιωάννινα	12.09	4.55	32.55
Καλαμπάκα	<1.23	-	4.65
Τύρναβος Λαρίσης	<1.52	-	5.76
Καρδίτσα	2.66	0.46	8.00
Άρτα	<1.19	-	4.5
Μεσολόγγι	1.52	0.07	5.76
Αλεξανδρούπολη	<1.15	-	4.33
Ορεστιάδα	1.74	0.09	8.69
Διδυμότειχο	1.45	0.07	7.29
Λαύριο	<1.27	-	4.82
Ηγουμενίτσα	<1.8	-	6.8
Καμένα Βούρλα	<1.38	-	5.23

Οι πληθυσμοί του γένους *Salmonella* spp. στα δείγματα ιλύος που εξετάστηκαν κυμαίνονται από <0,60 κύτταρα/g DW έως 1415,93 κύτταρα/g DW. Ο υψηλότερος πληθυσμός παρατηρήθηκε στο δείγμα που προέρχεται από την Ε.Ε.Λ της Καστοριάς, ενώ ο χαμηλότερος από την Ε.Ε.Λ της Κατερίνης. Επιπλέον, υπήρξαν και δέκα δείγματα ιλύος (Κατερίνη, Καρπενήσι, Γρεβενά, Νέα Φώκεια Χαλκιδικής, Καλαμπάκα, Τύρναβος, Άρτα, Αλεξανδρούπολη, Λαύριο, Καμένα Βούρλα) που δεν ήταν εφικτό να προσδιοριστεί ο κατώτερος πιθανός αριθμός (%) του πληθυσμού του βακτηρίου *Salmonella* (Διάγραμμα 8.12).



Διάγραμμα 8.12. Επίπεδα πληθυσμών του γένους *Salmonella* spp. στα δείγματα ιλύος από ΕΕΛ ελληνικών πόλεων³¹

8.4.2 *Listeria* spp.

Ο έλεγχος για την εύρεση του παθογόνου βακτηρίου *Listeria*³² έγινε επίσης με βάση τη μέθοδο 1682 (U.S. EPA, 1998). Το βακτήριο *Listeria*, όπως και το βακτήριο *Salmonella* spp αποτελεί καθοριστικό παράγοντα για τη δημόσια υγεία, ενώ η ύπαρξή του στην ιλύ περιορίζει τη χρήση της για γεωργική αξιοποίηση. Από τα δείγματα ιλύος που παρελήφθησαν από τις Ε.Ε.Λ μόνο πέντε από αυτά δεν αποδείχθηκαν θετικά στην ύπαρξη στελεχών του γένους *Listeria* spp.. Τα δείγματα που δεν εντοπίστηκε το βακτήριο *Listeria*

³¹ Ο MPN/g DW του βακτηρίου *Salmonella* από το δείγμα της Καστοριάς είναι 1415.93, από το δείγμα της Κοζάνης 318.52 και από το δείγμα του Κιλκίς 318.18

³² Το γένος *Listeria* spp., περιλαμβάνει δύο είδη παθογόνων *Listeria monocytogenes* και *Listeria ivanovii* και τα τέσσερα προφανώς μη παθογενή είδη τα *Listeria innocua*, *Listeria seeligeri*, *Listeria welshimeri*, και *Listeria grayi* (Schmid et al. 2005).

προέρχονταν από τις Ε.Ε.Λ Χαλκίδας, Καστοριάς, Νέας Φώκαιας Χαλκιδικής, Ιωαννίνων και Αλεξανδρούπολης.

Τα στελέχη των υπολοίπων δειγμάτων που έδωσαν τυπικές αποικίες του βακτηρίου *Listeria* αφού πραγματοποιήθηκαν σε αυτά επιβεβαιωτικές δοκιμές, κατόπιν ταυτοποιήθηκαν με το σύστημα API *Listeria*. Τα αποτελέσματα της ταυτοποίησης αναρτώνται στον πίνακα 8.3.

Πίνακας 8.3. Ταυτοποιήσεις του γένους *Listeria* spp. με το σύστημα API *Listeria*

Προέλευση δειγμάτων	Ταξινόμηση	% i.d.	T	Ταυτοποίηση
Καβάλα	<i>Listeria innocua</i>	99.6	1.00	Πολύ καλή ταυτοποίηση
Κοζάνη	<i>Listeria innocua</i>	99.6	1.00	Πολύ καλή ταυτοποίηση
Κατερίνη	<i>Listeria ivauovii</i>	99.7	0.13	Αποδεκτή ταυτοποίηση
Νάουσα	<i>Listeria innocua</i>	99.6	1.00	Πολύ καλή ταυτοποίηση
	<i>Listeria monocytogenes</i>	98.6	1.00	Καλή ταυτοποίηση
Καρπενήσι	<i>Listeria innocua</i>	99.6	1.00	Πολύ καλή ταυτοποίηση
Γρεβενά	<i>Listeria monocytogenes</i>	98.6	1.00	Καλή ταυτοποίηση
Σέρρες	<i>Listeria monocytogenes</i>	98.6	1.00	Καλή ταυτοποίηση
Κιλκίς	<i>Listeria grayi</i>			Μη αποδεκτό προφίλ
Πρέβεζα	<i>Listeria grayi</i>	99.9	0.50	Αμφίβολο προφίλ
	<i>Listeria welshimeri</i>	99.9	0.08	Αμφίβολο προφίλ
Καλαμπάκα	<i>Listeria innocua</i>	99.6	1.00	Πολύ καλή ταυτοποίηση
Τύρναβος	<i>Listeria innocua</i>	98.7	0.93	Καλή ταυτοποίηση
Λαρίσης				
Καρδίτσα	<i>Listeria innocua</i>	99.6	1.00	Πολύ καλή ταυτοποίηση
Άρτα	<i>Listeria welshimeri</i>	99.9	0.08	Αμφίβολο προφίλ
Μεσολόγγι	<i>Listeria innocua</i>	99.6	1.00	Πολύ καλή ταυτοποίηση
Ορεστιάδα	<i>Listeria innocua</i>	99.6	1.00	Πολύ καλή ταυτοποίηση
Διδυμότειχο	<i>Listeria innocua</i>	99.6	1.00	Πολύ καλή ταυτοποίηση
Λαύριο	<i>Listeria innocua</i>	99.6	1.00	Πολύ καλή ταυτοποίηση
Ηγουμενίτσα	<i>Listeria innocua</i>	99.6	1.00	Πολύ καλή ταυτοποίηση
Καμένα Βούρλα	<i>Listeria monocytogenes</i>	98.6	1.00	Καλή ταυτοποίηση

Από τον παραπάνω πίνακα διαπιστώνεται ότι τα τυριά που εμφάνισαν τυπικές αποικίες του γένους *Listeria* spp. αποδείχθηκαν θετικά ως προς την ύπαρξη του βακτηρίου με πολύ καλή, καλή και αποδεκτή ταυτοποίηση. Παρατηρήθηκαν όμως δύο δείγματα (Πρέβεζα, Άρτα) με αμφίβολο προφίλ του βακτηρίου και ένα δείγμα (Κιλκίς) με μη αποδεκτό προφίλ. Πρέπει ακόμα να τονιστεί ότι ανιχνεύτηκε σε τέσσερα δείγματα (Νάουσα, Γρεβενά, Σέρρες, Καμένα Βούρλα) το κατεξοχήν παθογόνο στέλεχος *Listeria*

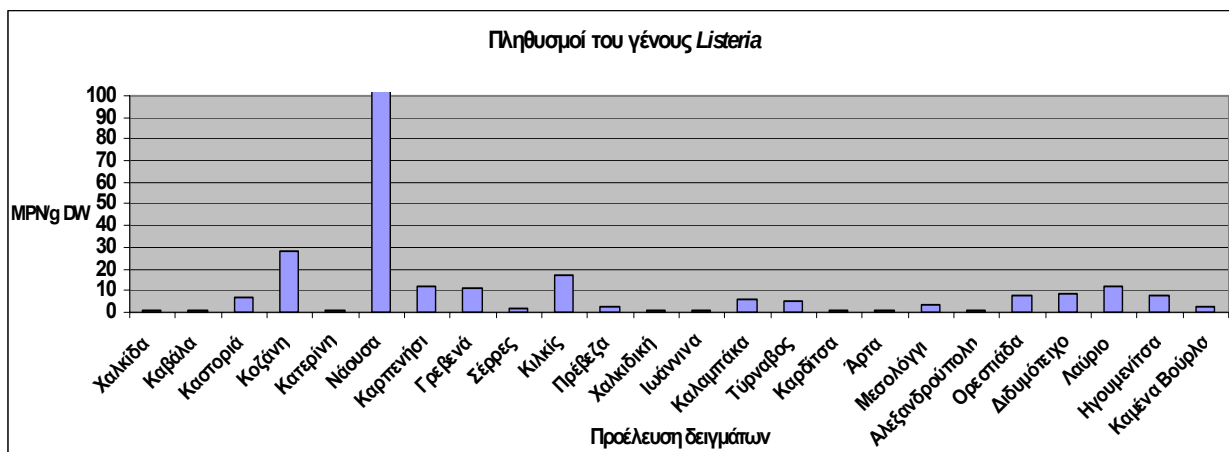
monocytogenes με καλή ταυτοποίηση. Στον πίνακα 8.4 που ακολουθεί παρουσιάζεται ο πλέον πιθανός αριθμός του γένους *Listeria* spp. στα δείγματα ιλύος που εξετάστηκαν.

Πίνακας 8.4. Συγκέντρωση του γένους *Listeria* spp. που ανιχνεύτηκαν στα δείγματα αφυδατωμένης ιλύος από ΕΕΛ ελληνικών πόλεων

Προέλευση δειγμάτων	MPN/gDW	95% Confidence Lower	95% Confidence Upper
Χαλκίδα	<1.03	-	3.89
Καβάλα	1.16	0.06	4.39
Καστοριά	7.26	3.01	19.47
Κοζάνη	28.44	ΔΠ ³³	ΔΠ
Κατερίνη	0.66	0.03	3.31
Νάουσα	323.30	112.78	827.07
Καρπενήσι	11.97	5.04	30.77
Γρεβενά	~11.49	ΔΠ	ΔΠ
Σέρρες	1.36	0.07	5.15
Κιλκίς	~17.20	ΔΠ	ΔΠ
Πρέβεζα	2.74	0.48	9.15
Νέα Φώκαια Χαλκιδικής	<1.18	-	4.47
Ιωάννινα	<0.84	-	3.16
Καλαμπάκα	~6.36	ΔΠ	ΔΠ
Τύρναβος	5.17	1.53	12.71
Καρδίτσα	1.2	0.06	4.6
Άρτα	1.19	0.06	4.5
Μεσολόγγι	3.39	0.59	10.17
Αλεξανδρούπολη	<1.15	-	4.33
Ορεστιάδα	~8.07	ΔΠ	ΔΠ
Διδυμότειχο	8.76	2.99	18.98
Λαύριο	~11.87	ΔΠ	ΔΠ
Ηγουμενίτσα	8.1	3.4	22.00
Καμένα Βούρλα	2.85	0.54	7.69

³³ ΔΠ: Δεν προσδιορίζεται

Οι πληθυσμοί του γένους *Listeria* spp. στα δείγματα ιλύος που εξετάστηκαν κυμαίνονται από 0,66 κύτταρα/g DW μέχρι 323,3 κύτταρα/g DW. Ο υψηλότερος πληθυσμός παρατηρήθηκε στο δείγμα που προέρχεται από την Ε.Ε.Λ της Νάουσας, ενώ ο χαμηλότερος από την Ε.Ε.Λ της Κατερίνης. Επιπλέον, υπήρξαν και έξι δείγματα ιλύος (Κοζάνη, Γρεβενά, Κιλκίς, Καλαμπάκα, Ορεστιάδα, Λαύριο) που δεν ήταν εφικτό να προσδιοριστεί ο ανώτερος και ο κατώτερος πιθανός αριθμός (%) του πληθυσμού του βακτηρίου *Listeria* (Διάγραμμα 8.13).



Διάγραμμα 8.13. Επίπεδα πληθυσμών του γένους *Listeria* στα δείγματα ιλύος από ΕΕΛ ελληνικών πόλεων³⁴

Στη διεθνή βιβλιογραφία, διατίθενται μελέτες (Garrec et al., 2003; Ganzer et al., 2001) στις οποίες έχουν απομονωθεί στελέχη *Listeria* spp. από ιλύ Ε.Ε.Λ και ιδιαίτερα *Listeria monocytogenes* σε ποσοστό μάλιστα 95%. Τα στελέχη του γένους *Listeria* spp. έχουν χρόνο ζωής που εξαρτάται από την υγρασία της ιλύος. Για το λόγο αυτό στην αφυδατωμένη ιλύ ο πληθυσμός της *Listeria* είναι μικρότερος, ενώ παρατηρείται περαιτέρω μείωση κατόπιν έκθεσης της ιλύος στον ήλιο (Garrec et al., 2003). Κλείνοντας, να σημειωθεί ότι σύμφωνα με τα μέτρα για τη διάθεση της ιλύος για την παραγωγή compost στη Γαλλία (Norme NF U 44-095), επιβάλλεται να είναι απαλλαγμένη από το βακτήριο *Listeria monocytogenes*.

³⁴ Ο MPN/g DW του βακτηρίου *Listeria* από το δείγμα της Νάουσας είναι 323.30

8.5 Έλεγχος, απομόνωση και ταυτοποίηση μικροβιακών στελεχών

8.5.1 *Enterococcus* spp

Στην παρούσα έρευνα, απομονώθηκαν 246 απομονώσεις στελεχών του γένους *Enterococcus*, τα οποία και ταυτοποιήθηκαν βάσει των φαινοτυπικών χαρακτηριστικών τους, την αντίδραση καταλάσης, αλλά και των δοκιμασιών ανάπτυξής τους. Οι απομονώσεις προέκυψαν κατόπιν μικροβιολογικής επεξεργασίας των 24 δειγμάτων αφυδατωμένης ιλύος από τις επιλεγμένες Ε.Ε.Λ. στη Βόρεια Ελλάδα, τη Θεσσαλία, την Ήπειρο και τη Στερεά Ελλάδα. Συγκεκριμένα εξετάστηκαν 12 απομονώσεις στελεχών του γένους *Enterococcus* από κάθε ένα από τα τρία δείγματα (Χαλκίδα, Καβάλα, Νάουσα) και 10 απομονώσεις από κάθε δείγμα από τα υπόλοιπα δείγματα αφυδατωμένης ιλύος.

Τα στελέχη του γένους *Enterococcus* χαρακτηρίστηκαν ως ευαίσθητα (Sensitive/S) , ενδιάμεσης ευαισθησίας(Intermediate/I) και ανθεκτικά(Resistant/R) με βάση τα όρια ζωνών παρεμπόδισης που αναφέρονται από την NCCLS. Τα αναλυτικά δεδομένα του ελέγχου της ανθεκτικότητας των στελεχών του γένους *Enterococcus* παρατίθενται στο παράρτημα 3. Αξίζει να σημειωθεί ότι η συγκέντρωση του αντιβιοτικού ενάντια στο οποίο εξετάζεται η ανθεκτικότητα/ευαισθησία ενός εντερόκοκκου είναι καθοριστική για το αποτέλεσμα της δοκιμασίας, καθώς μια αύξηση της συγκέντρωσης αυτής δύναται να βελτιώσει την ισχύ του αντιβιοτικού. Ένας εντερόκοκκος, λοιπόν, είναι ανθεκτικός ή ευαίσθητος σε μια συγκεκριμένη συγκέντρωση καθορισμένου αντιβιοτικού και υπό συγκεκριμένες συνθήκες (Choi et al., 2003). Έτσι, αναφέροντας παρακάτω ότι οι εντερόκοκκοι είναι ανθεκτικοί σε ένα αντιβιοτικό, εννοείται ότι αυτό συμβαίνει για μια συγκεκριμένη και προκαθορισμένη συγκέντρωση αυτού.

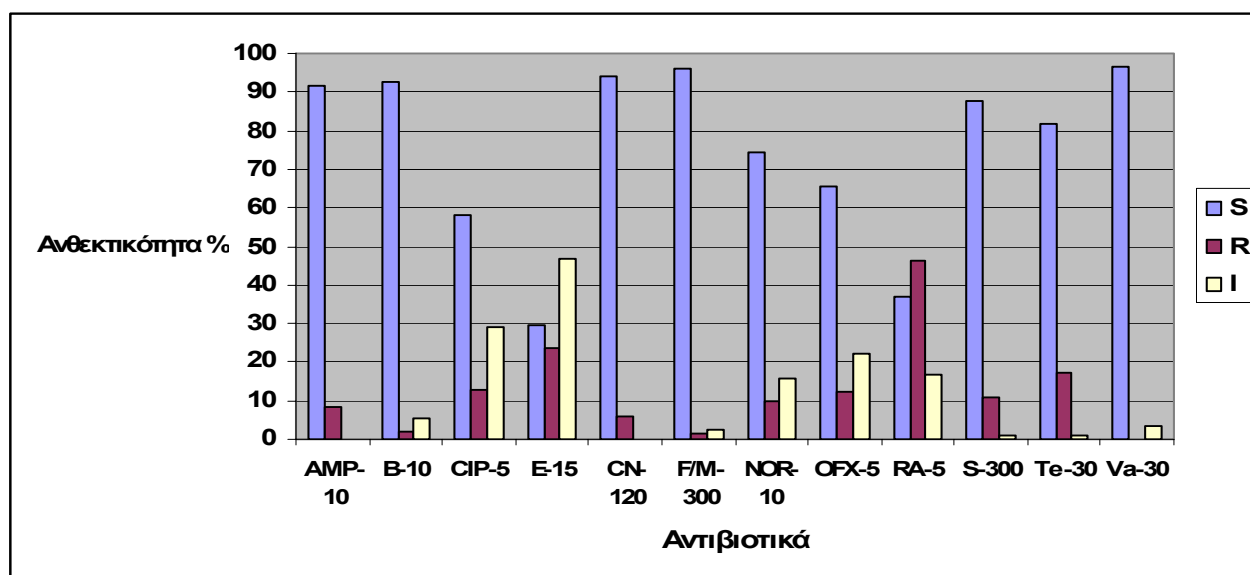
Τα αποτελέσματα του ελέγχου ευαισθησίας (%) στους 12 αντιμικροβιακούς παράγοντες που χρησιμοποιήθηκαν για τις 246 απομονώσεις εντερόκοκκων συνοψίζονται στον πίνακα 8.5.

Πίνακας 8.5. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας για το σύνολο των 246 στελεχών εντερόκοκκων

Αντιβιοτικά	Επίπεδα ανθεκτικότητας (%)		
	S	R	I
AMP-10	91,9	8,1	0,0
B-10	92,7	2,0	5,3
CIP-5	58,1	13,0	28,9
E-15	29,7	23,6	46,7
CN-120	94,3	5,7	0,0
F/M-300	95,9	1,6	2,4
NOR-10	74,4	9,8	15,9
OFX-5	65,4	12,2	22,4
RA-5	37,0	46,3	16,7
S-300	87,8	11,0	1,2
Te-30	81,7	17,5	0,8
Va-30	96,7	0,0	3,3

Στο σύνολο των εξεταζόμενων εντερόκοκκων από τα δείγματα των Ε.Ε.Λ. που επιλέχθηκαν, 20 στελέχη ήταν ανθεκτικά στο αντιβιοτικό Ampicillin(AMP-10), 5 στο αντιβιοτικό Bacitracin(B-10), 32 στο Ciprofloxacin(CIP-5), 58 στο Erythromycin(E-15), 14 στο Gentamycin(CN-120), 4 στο Nitrofurantoin(F/M-300), 24 στο Norfloxacin(NOR-10), 30 στο Ofloxacin(OFX-5), 114 στο Rifampicin(RA-5), 27 στο Streptomycin(S-300), 43 στο Tetracycline(Te-30), και κανένα στο αντιβιοτικό Vancomycin(Va-30) (Διάγραμμα 8.14)

Επίσης, 42 από τα 246 στελέχη εντερόκοκκων χαρακτηρίζονται ως πολυανθεκτικά διότι παρουσίασαν ανθεκτικότητα σε πάνω από 3 διαφορετικούς αντιμικροβιακούς παράγοντες. Αναμενόμενο λοιπόν είναι το γεγονός ότι τα στελέχη των εντερόκοκκων που παρουσιάζουν πολυανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά χρήζουν και τη μεγαλύτερη προσοχή της έρευνας αυτής.



Διάγραμμα 8.14. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας 246 στελεχών του γένους *Enterococcus* σε 12 αντιμικροβιακούς παράγοντες

Τα αποτελέσματα του ελέγχου ανθεκτικότητας των επιλεγμένων στελεχών του γένους *Enterococcus* ανά κατηγορία αντιβιοτικών και ανά αντιβιοτικό που χρησιμοποιήθηκαν παρουσιάζονται στον πίνακα 8.6. Παρατηρείται, σημαντικός αριθμός ανθεκτικών στελεχών στις φλουοροκινολόνες και τις τετρακυκλίνες. Η ανθεκτικότητα των στελεχών έναντι στην ερυθρομυκίνη και την τετρακυκλίνη είναι αξιοσημείωτη, και επιπλέον επιβεβαιώνεται στην βιβλιογραφία η αύξηση της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά αυτά (Murray, 1990). Ανησυχία προκαλεί επίσης, ο μεγάλος αριθμός ανθεκτικών στελεχών στη ριφαμπικίνη, γεγονός που δεν συμβαδίζει βιβλιογραφικά. Εν τέλει, και οι λοιπές κατηγορίες αντιβιοτικών εμφανίζουν ανθεκτικά στελέχη εντερόκοκκων, με μοναδική εξαίρεση τη βανκομυκίνη.

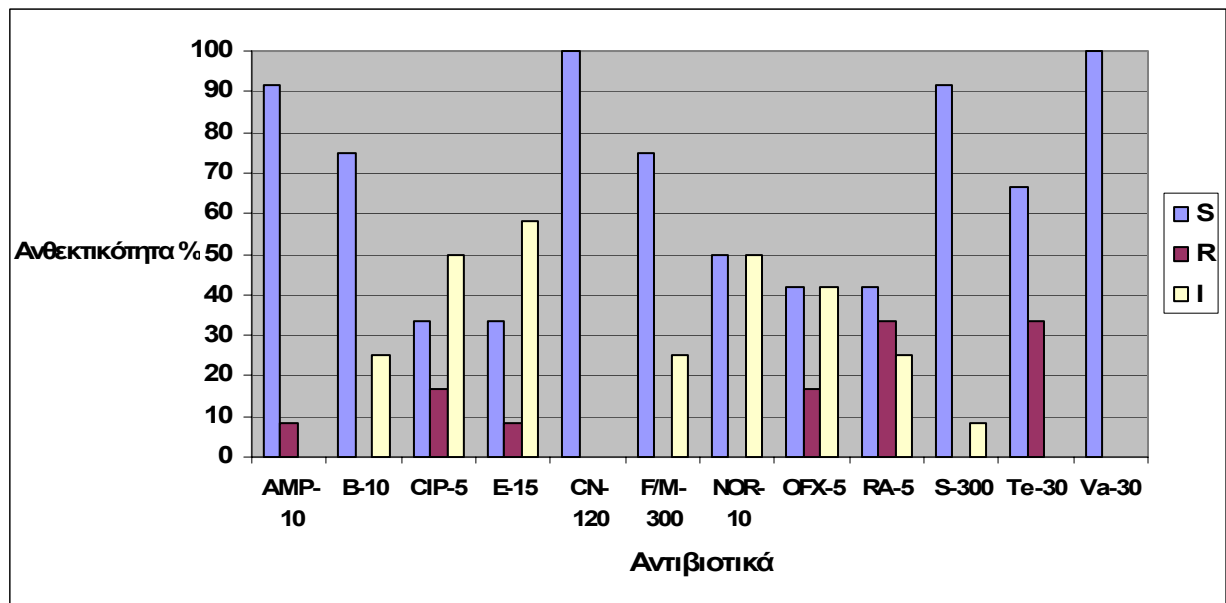
Πίνακας 8.6. Αποτελέσματα ανθεκτικότητας στελεχών του γένους *Enterococcus* ανά κατηγορία αντιβιοτικών και ανά αντιβιοτικό

Κατηγορίες αντιβιοτικών	Αντιβιοτικά	Ανθεκτικά στελέχη
<i>Αμινογλυκοσίδες</i>	Γενταμυκίνη (CN-120)	14
	Στρεπτομυκίνη (S-300)	27
<i>β-λακτάμες</i>	Αμπικιλλίνη (AMP-10)	20
<i>Φλουοροκινολόνες</i>	Σιπροφλοξασίνη (CIP-5)	32
	Οφλοξασίνη (OFX-5)	30
	Νορφλοξακίνη (NOR-10)	24
<i>Γλυκοπεπτίδια</i>	Βανκομυκίνη (Va-30)	0
<i>Μακρολίδια</i>	Ερυθρομυκίνη (E-15)	58
<i>Τετρακυκλίνες</i>	Τετρακυκλίνη(Te-30)	43
	Βακιτρακίνη (B-10)	5
	ΡΙφαμπικίνη (RA-5)	114
	Νιτροφουραντοΐνη (F/M-300)	4

Συνεχίζοντας, ακολουθούν τα αποτελέσματα ελέγχου ανθεκτικότητας στους 12 αντιμικροβιακούς παράγοντες των απομονωμένων στελεχών του γένους *Enterococcus* στα δείγματα ιλύος από κάθε μια Ε.Ε.Λ ξεχωριστά. Οι πίνακες με τα αναλυτικά αποτελέσματα ελέγχου ανθεκτικότητας (ποσοστά εμφάνισης ανθεκτικότητας ανά εξεταζόμενο δείγμα) αναρτώνται στο παράρτημα 4.

➤ Αποτελέσματα ελέγχου ανθεκτικότητας στα 12 αντιβιοτικά των 12 απομονώσεων εντερόκοκκων από την Ε.Ε.Λ Χαλκίδας

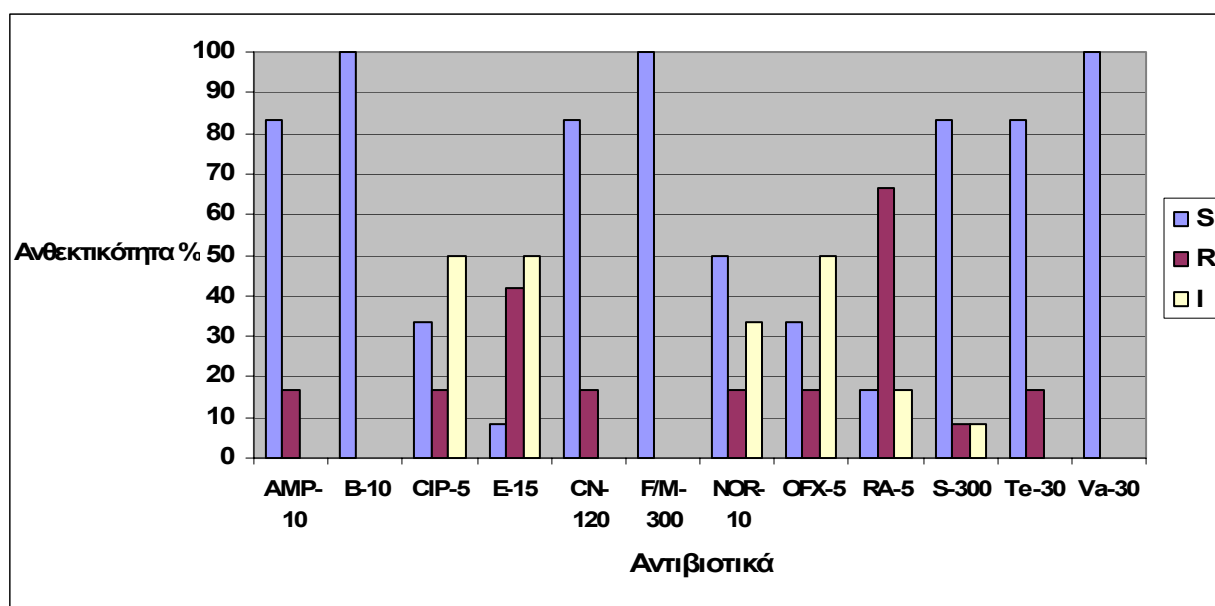
Από το σύνολο των εξεταζόμενων απομονώσεων της δειγματοληψίας παρατηρήθηκε ότι, 1 στέλεχος ήταν ανθεκτικό στην αμπικιλλίνη(AMP-10), 2 στη σιπροφλοξασίνη(CIP-5), 1 στην ερυθρομυκίνη(E-15), 2 στην οφλοξασίνη(OFX-5), 4 στη ριφαμπικίνη(RA-5), 4 στην τετρακυκλίνη(Te-30), και κανένα στέλεχος στους υπόλοιπους αντιμικροβιακούς παράγοντες (Διάγραμμα 8.15). Τέλος, 2 στελέχη του δείγματος της Χαλκίδας χαρακτηρίζονται πολυανθεκτικά.



Διάγραμμα 8.15. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας των εντερόκοκκων στα αντιβιοτικά για το δείγμα της Χαλκίδας

- Αποτελέσματα ελέγχου ανθεκτικότητας στα 12 αντιβιοτικά των 12 απομονώσεων εντερόκοκκων από την Ε.Ε.Α Καβάλας

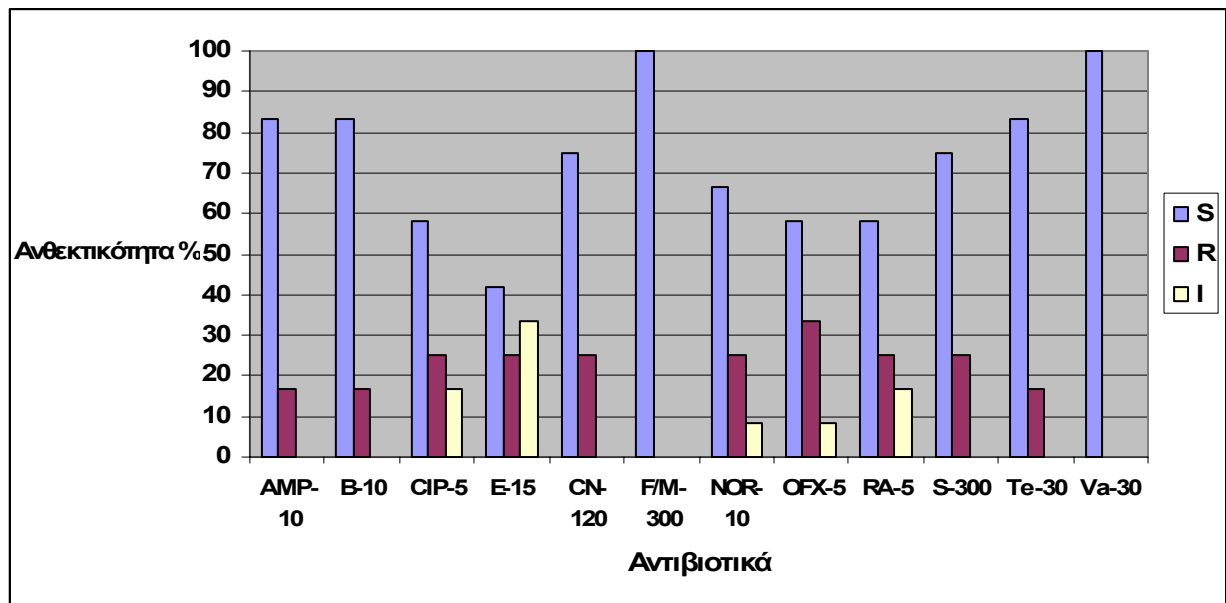
Από το σύνολο των εξεταζόμενων απομονώσεων της δειγματοληψίας παρατηρήθηκε ότι, 2 στελέχη ήταν ανθεκτικά στην αμπικιλίνη(AMP-10), 2 στην σιπροφλοξασίνη(CIP-5), 5 στην ερυθρομυκίνη(E-15), 2 στην γενταμυκίνη(CN-120), 2 στην νορφλοξακίνη(NOR-10), 2 στην οφλοξασίνη(OFX-5), 8 στην ριφαμικίνη(RA-5), 1 στην στρεπτομυκίνη(S-300), 2 στην τετρακυκλίνη(Te-30), και κανένα στέλεχος στους υπόλοιπους αντιμικροβιακούς παράγοντες (Διάγραμμα 8.16). Τέλος, 3 στελέχη του δείγματος της Καβάλας χαρακτηρίζονται πολυανθεκτικά.



Διάγραμμα 8.16. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας των εντερόκοκκων στα αντιβιοτικά για το δείγμα της Καβάλας

- Αποτελέσματα ελέγχου ανθεκτικότητας στα 12 αντιβιοτικά των 12 απομονώσεων εντερόκοκκων από την Ε.Ε.Α Νάουσας

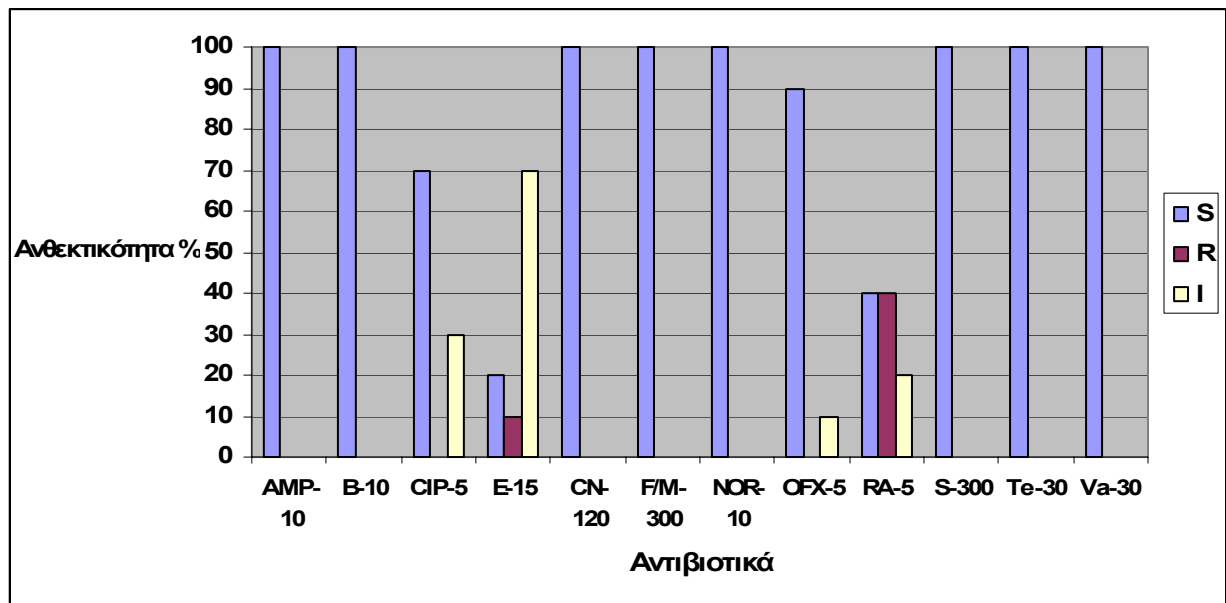
Από το σύνολο των εξεταζόμενων απομονώσεων της δειγματοληψίας παρατηρήθηκε ότι, 2 στελέχη ήταν ανθεκτικά στην αμπικιλίνη(AMP-10), 2 στην βακιτρακίνη(B-10), 3 στην σιπροφλοξασίνη(CIP-5), 3 στην ερυθρομυκίνη(E-15), 3 στην γενταμυκίνη(CN-120), 3 στην νορφλοξακίνη(NOR-10), 4 στην οφλοξασίνη(OFX-5), 3 στην ριφαμπικίνη(RA-5), 3 στην στρεπτομυκίνη(S-300), 2 στην τετρακυκλίνη(Te-30), και κανένα στέλεχος στους υπόλοιπους αντιμικροβιακούς παράγοντες (Διάγραμμα 8.17). Τέλος, 4 στελέχη του δείγματος της Νάουσας χαρακτηρίζονται πολυανθεκτικά.



Διάγραμμα 8.17. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας των εντερόκοκκων στα αντιβιοτικά για το δείγμα της Νάουσας

- Αποτελέσματα ελέγχου ανθεκτικότητας στα 12 αντιβιοτικά των 10 απομονώσεων εντερόκοκκων από την Ε.Ε.Α Καστοριάς

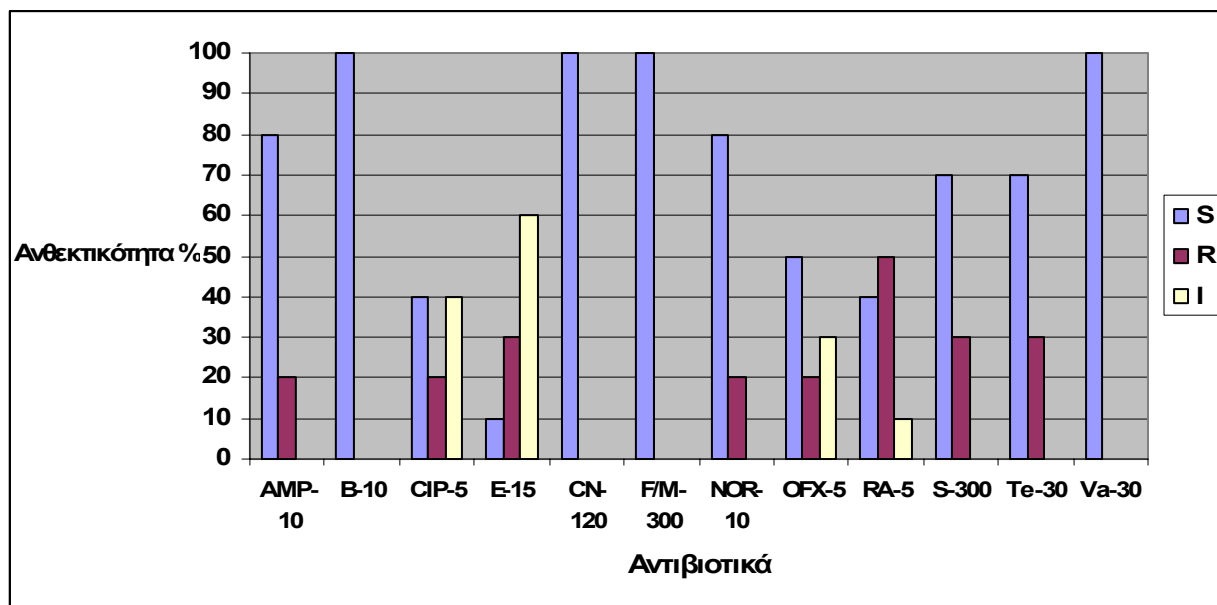
Από το σύνολο των εξεταζόμενων απομονώσεων της δειγματοληψίας παρατηρήθηκε ότι, 1 στέλεχος ήταν ανθεκτικό στην ερυθρομυκίνη(E-15), 4 στελέχη στη ριφαμικίνη(RA-5), και κανένα στέλεχος στους υπόλοιπους αντιμικροβιακούς παράγοντες (Διάγραμμα 8.18). Τέλος, δεν βρέθηκαν στελέχη του δείγματος της Καστοριάς που να χαρακτηρίζεται πολυανθεκτικό.



Διάγραμμα 8.18. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας των εντερόκοκκων στα αντιβιοτικά για το δείγμα της Καστοριάς

- Αποτελέσματα ελέγχου ανθεκτικότητας στα 12 αντιβιοτικά των 10 απομονώσεων εντερόκοκκων από την Ε.Ε.Α Κοζάνης

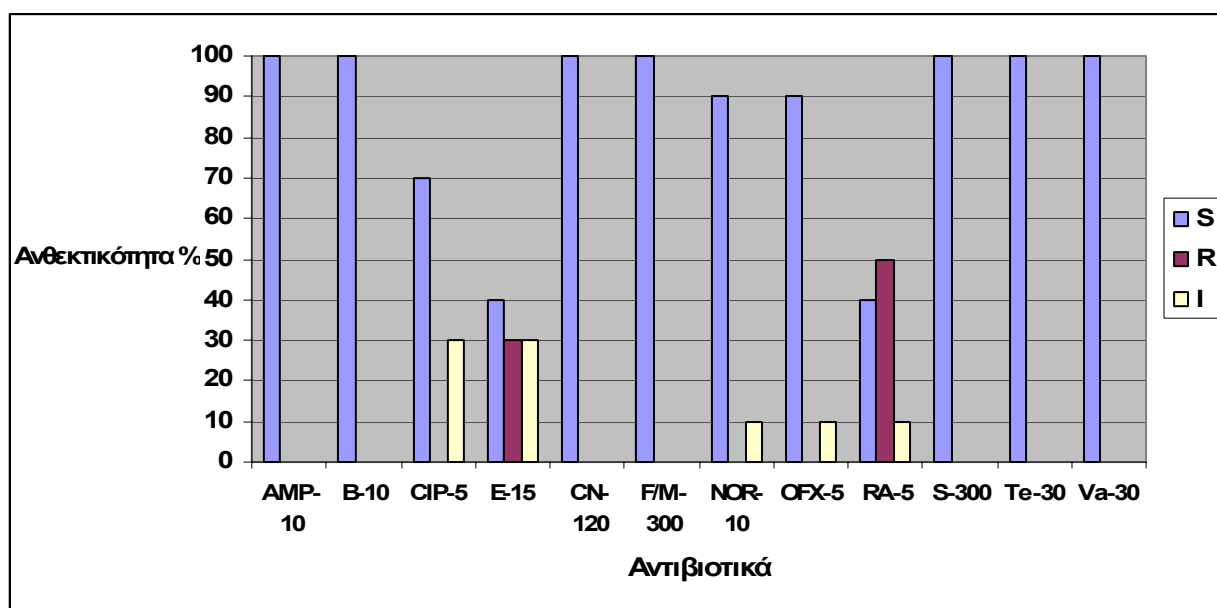
Από το σύνολο των εξεταζόμενων απομονώσεων της δειγματοληψίας παρατηρήθηκε ότι, 2 στελέχη ήταν ανθεκτικά στην αμπικιλίνη(AMP-10), 2 στην σιπροφλοξασίνη(CIP-5), 3 στην ερυθρομυκίνη(E-15), 2 στην νορφλοξακίνη(NOR-10), 2 στην οφλοξασίνη(OFX-5), 5 στην ριφαμικίνη(RA-5), 3 στην στρεπτομυκίνη(S-300), 3 στην τετρακυκλίνη(Te-30), και κανένα στέλεχος στους υπόλοιπους αντιμικροβιακούς παράγοντες (Διάγραμμα 8.19). Τέλος, 4 στελέχη του δείγματος της Κοζάνης χαρακτηρίζονται πολυανθεκτικά.



Διάγραμμα 8.19. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας των εντερόκοκκων στα αντιβιοτικά για το δείγμα της Κοζάνης

- Αποτελέσματα ελέγχου ανθεκτικότητας στα 12 αντιβιοτικά των 10 απομονώσεων εντερόκοκκων από την Ε.Ε.Λ Κατερίνης

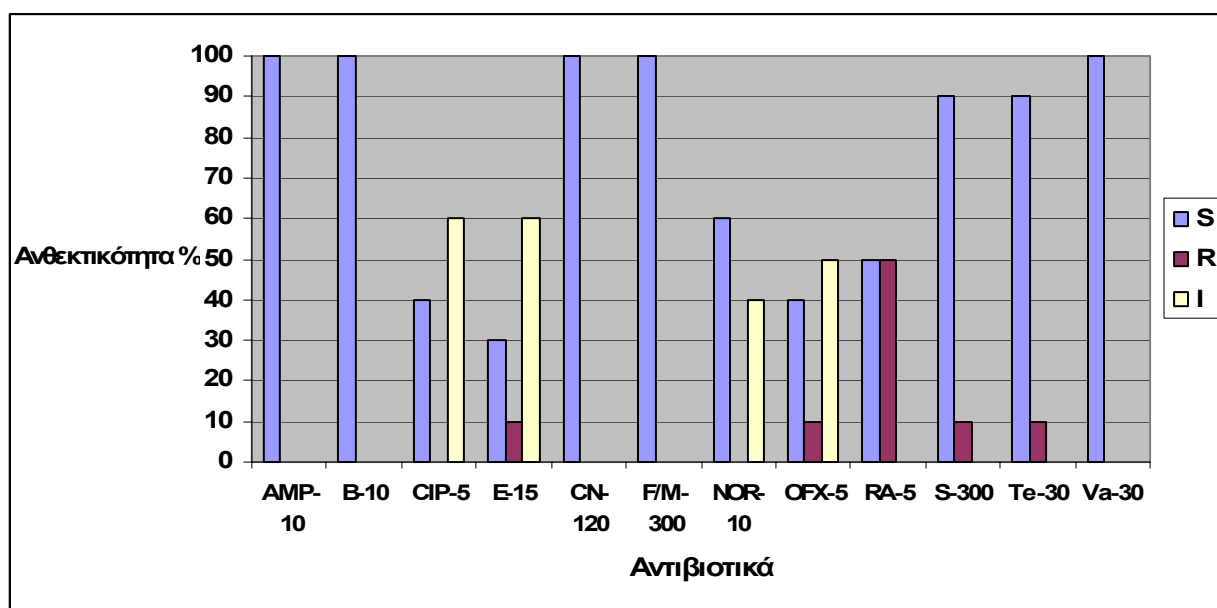
Από το σύνολο των εξεταζόμενων απομονώσεων της δειγματοληψίας παρατηρήθηκε ότι, 3 στελέχη ήταν ανθεκτικά στην ερυθρομυκίνη(E-15), 5 στην ριφαμπικίνη(RA-5), και κανένα στέλεχος στους υπόλοιπους αντιμικροβιακούς παράγοντες (Διάγραμμα 8.20). Τέλος, κανένα στέλεχος του δείγματος της Κατερίνης δεν χαρακτηρίζεται πολυανθεκτικό.



Διάγραμμα 8.20. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας των εντερόκοκκων στα αντιβιοτικά για το δείγμα της Κατερίνης

- Αποτελέσματα ελέγχου ανθεκτικότητας στα 12 αντιβιοτικά των 10 απομονώσεων εντερόκοκκων από την Ε.Ε.Λ Καρπενησίου

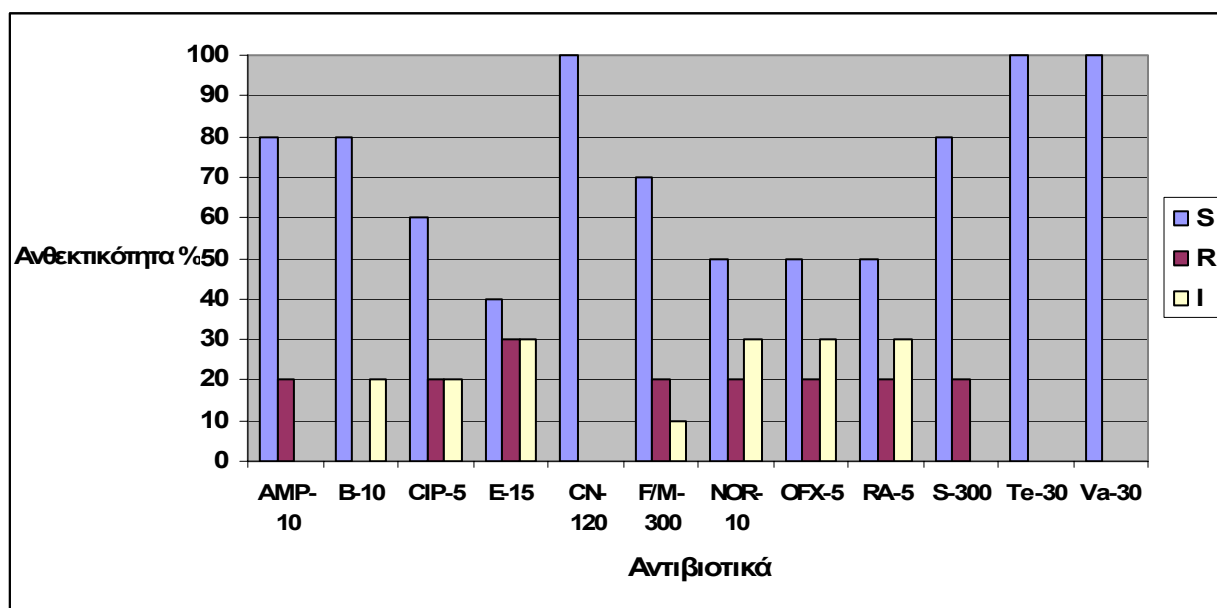
Από το σύνολο των εξεταζόμενων απομονώσεων της δειγματοληψίας παρατηρήθηκε ότι, 1 στέλεχος ήταν ανθεκτικό στην ερυθρομυκίνη(E-15), 1 στην οφλοξασίνη(OFX-5), 5 στην ριφαμπικίνη(RA-5), 1 στην στρεπτομυκίνη(S-300), 1 στην τετρακυκλίνη(Te-30), και κανένα στέλεχος στους υπόλοιπους αντιμικροβιακούς παράγοντες (Διάγραμμα 8.21). Τέλος, 1 στέλεχος του δείγματος του Καρπενησίου χαρακτηρίζεται πολυανθεκτικό.



Διάγραμμα 8.21. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας των εντερόκοκκων στα αντιβιοτικά για το δείγμα του Καρπενησίου

- Αποτελέσματα ελέγχου ανθεκτικότητας στα 12 αντιβιοτικά των 10 απομονώσεων εντερόκοκκων από την Ε.Ε.Λ Γρεβενών

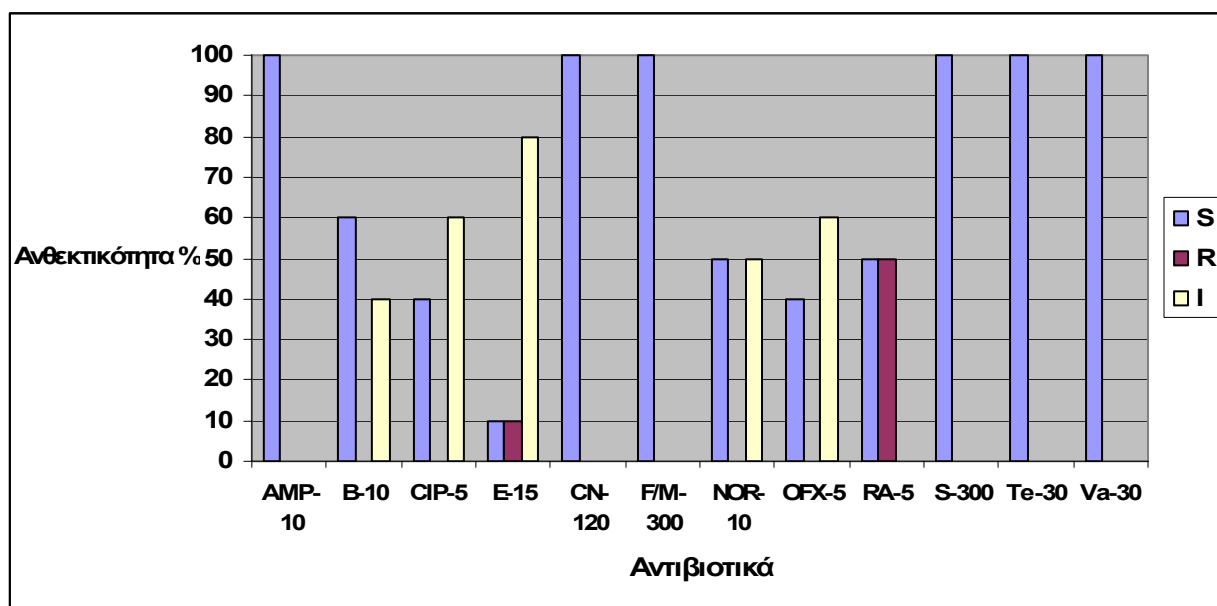
Από το σύνολο των εξεταζόμενων απομονώσεων της δειγματοληψίας παρατηρήθηκε ότι, 2 στελέχη ήταν ανθεκτικά στην αμπικιλίνη(AMP-10), 2 στην σιπροφλοξασίνη(CIP-5), 3 στην ερυθρομυκίνη(E-15), 2 στην νιτροφουραντοΐνη(F/M-300), 2 στην νορφλοξακίνη(NOR-10), 2 στην οφλοξασίνη(OFX-5), 2 στην ριφαμπικίνη(RA-5), 2 στην στρεπτομυκίνη(S-300), και κανένα στέλεχος στους υπόλοιπους αντιμικροβιακούς παράγοντες (Διάγραμμα 8.22). Τέλος, 2 στελέχη του δείγματος των Γρεβενών χαρακτηρίζονται πολυανθεκτικά.



Διάγραμμα 8.22. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας των εντερόκοκκων στα αντιβιοτικά για το δείγμα των Γρεβενών

- Αποτελέσματα ελέγχου ανθεκτικότητας στα 12 αντιβιοτικά των 10 απομονώσεων εντερόκοκκων από την Ε.Ε.Α Σερρών

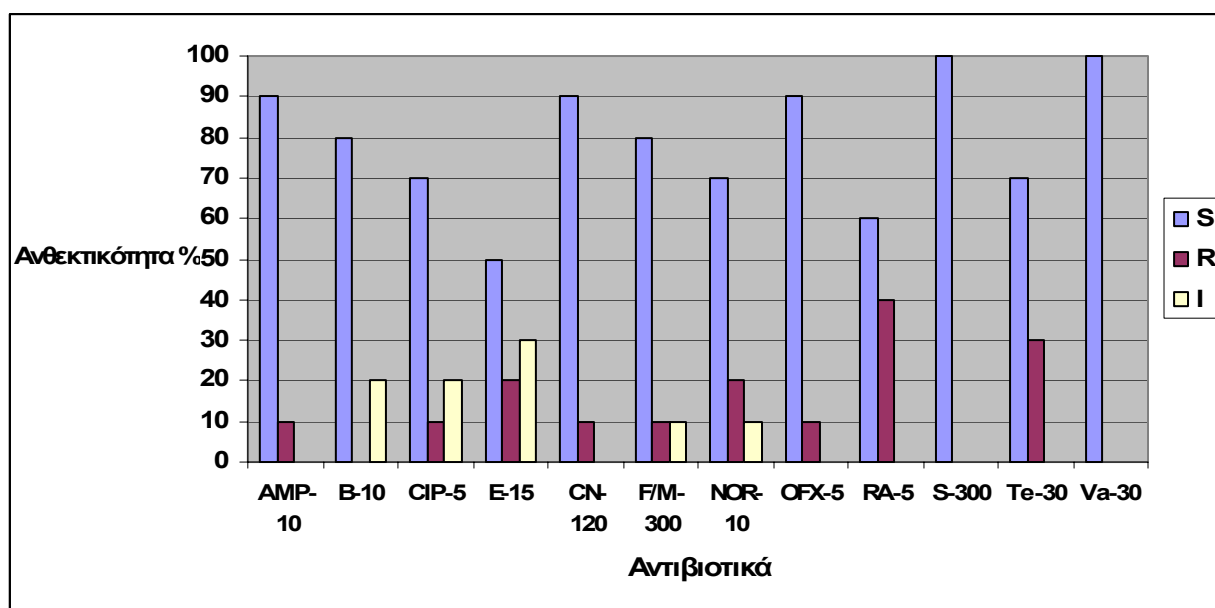
Από το σύνολο των εξεταζόμενων απομονώσεων της δειγματοληψίας παρατηρήθηκε ότι, 1 στέλεχος ήταν ανθεκτικό στην ερυθρομυκίνη(E-15), 5 στην ριφαμικίνη(RA-5), και κανένα στέλεχος στους υπόλοιπους αντιμικροβιακούς παράγοντες (Διάγραμμα 8.23). Τέλος, κανένα στέλεχος του δείγματος των Σερρών δεν χαρακτηρίζεται πολυανθεκτικό.



Διάγραμμα 8.23. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας των εντερόκοκκων στα αντιβιοτικά για το δείγμα των Σερρών

- Αποτελέσματα ελέγχου ανθεκτικότητας στα 12 αντιβιοτικά των 10 απομονώσεων εντερόκοκκων από την Ε.Ε.Α Κιλκίς

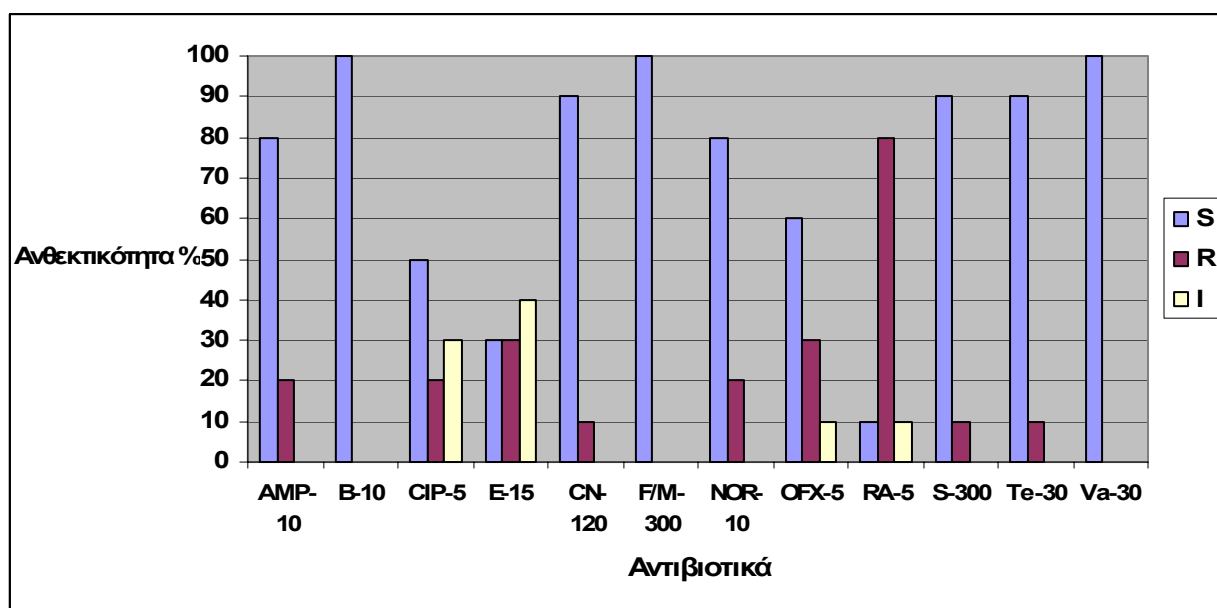
Από το σύνολο των εξεταζόμενων απομονώσεων της δειγματοληψίας παρατηρήθηκε ότι, 1 στέλεχος ήταν ανθεκτικό στην αμπικιλίνη(AMP-10), 1 στη σιπροφλοξασίνη(CIP-5), 2 στην ερυθρομυκίνη(E-15), 1 στην γενταμυκίνη(CN-120), 1 στην νιτροφουραντοΐνη(F/M-300), 2 στην νορφλοξακίνη(NOR-10), 1 στην οφλοξασίνη(OFX-5), 4 στην ριφαμπικίνη(RA-5), 3 στην τετρακυκλίνη(Te-30), και κανένα στέλεχος στους υπόλοιπους αντιμικροβιακούς παράγοντες (Διάγραμμα 8.24). Τέλος, 1 στέλεχος του δείγματος του Κιλκίς χαρακτηρίζεται πολυανθεκτικό.



Διάγραμμα 8.24. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας των εντερόκοκκων στα αντιβιοτικά για το δείγμα του Κιλκίς

- Αποτελέσματα ελέγχου ανθεκτικότητας στα 12 αντιβιοτικά των 10 απομονώσεων εντερόκοκκων από την Ε.Ε.Λ Πρέβεζας

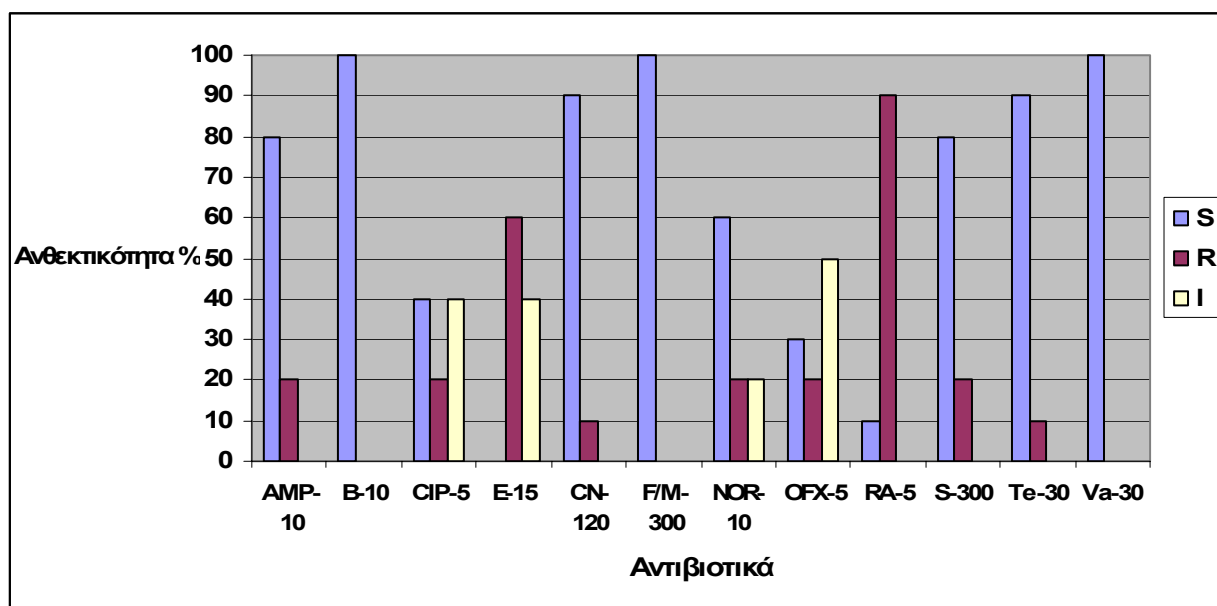
Από το σύνολο των εξεταζόμενων απομονώσεων της δειγματοληψίας παρατηρήθηκε ότι, 2 στελέχη ήταν ανθεκτικά στην αμπικιλίνη(AMP-10), 2 στην σιπροφλοξασίνη(CIP-5), 3 στην ερυθρομυκίνη(E-15), 1 στην γενταμυκίνη(CN-120), 2 στην νορφλοξακίνη(NOR-10), 3 στην οφλοξασίνη(OFX-5), 8 στην ριφαμπικίνη(RA-5), 1 στην στρεπτομυκίνη(S-300), 1 στην τετρακυκλίνη(Te-30), και κανένα στέλεχος στους υπόλοιπους αντιμικροβιακούς παράγοντες (Διάγραμμα 8.25). Τέλος, 2 στελέχη του δείγματος της Πρέβεζας χαρακτηρίζονται πολυανθεκτικά.



Διάγραμμα 8.25. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας των εντερόκοκκων στα αντιβιοτικά για το δείγμα της Πρέβεζας

- Αποτελέσματα ελέγχου ανθεκτικότητας στα 12 αντιβιοτικά των 10 απομονώσεων εντερόκοκκων από την Ε.Ε.Α Νέας Φώκαιας Χαλκιδικής

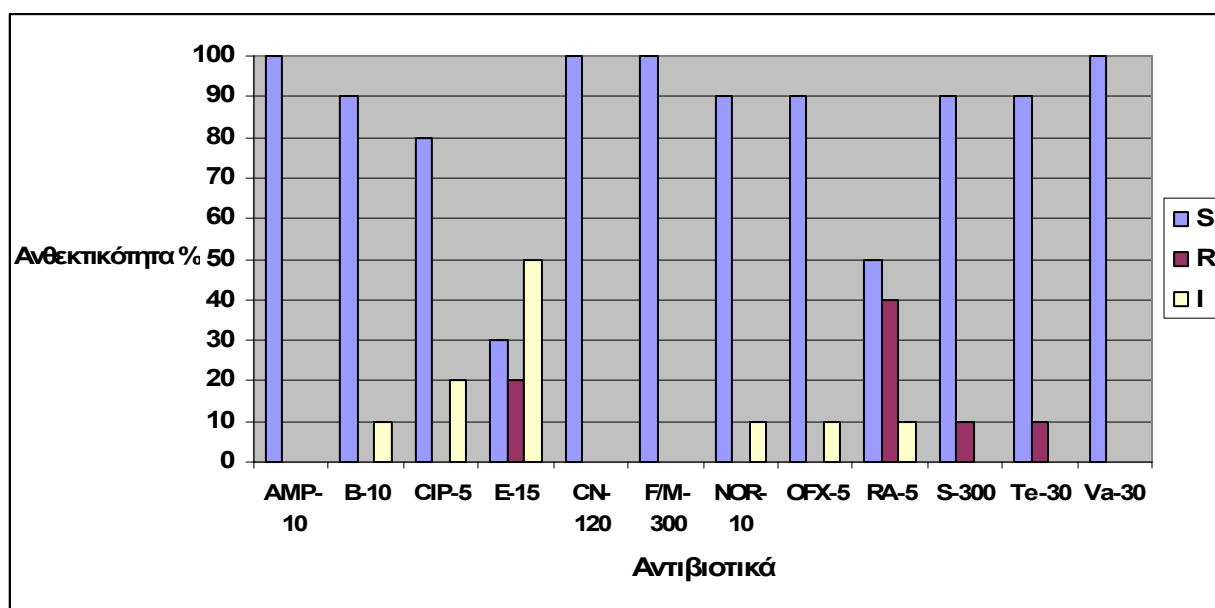
Από το σύνολο των εξεταζόμενων απομονώσεων της δειγματοληψίας παρατηρήθηκε ότι, 2 στελέχη ήταν ανθεκτικά στην αμπικιλίνη(AMP-10), 2 στην σιπροφλοξασίνη(CIP-5), 6 στην ερυθρομυκίνη(E-15), 1 στην γενταμυκίνη(CN-120), 2 στην νορφλοξακίνη(NOR-10), 2 στην οφλοξασίνη(OFX-5), 9 στην ριφαμικίνη(RA-5), 2 στην στρεπτομυκίνη(S-300), 1 στην τετρακυκλίνη(Te-30), και κανένα στέλεχος στους υπόλοιπους αντιμικροβιακούς παράγοντες (Διάγραμμα 8.26). Τέλος, 2 στελέχη του δείγματος της Νέας Φώκαιας χαρακτηρίζονται πολυανθεκτικά.



Διάγραμμα 8.26. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας των εντερόκοκκων στα αντιβιοτικά για το δείγμα της Νέας Φώκαιας Χαλκιδικής

- Αποτελέσματα ελέγχου ανθεκτικότητας στα 12 αντιβιοτικά των 10 απομονώσεων εντερόκοκκων από την Ε.Ε.Α Ιωαννίνων

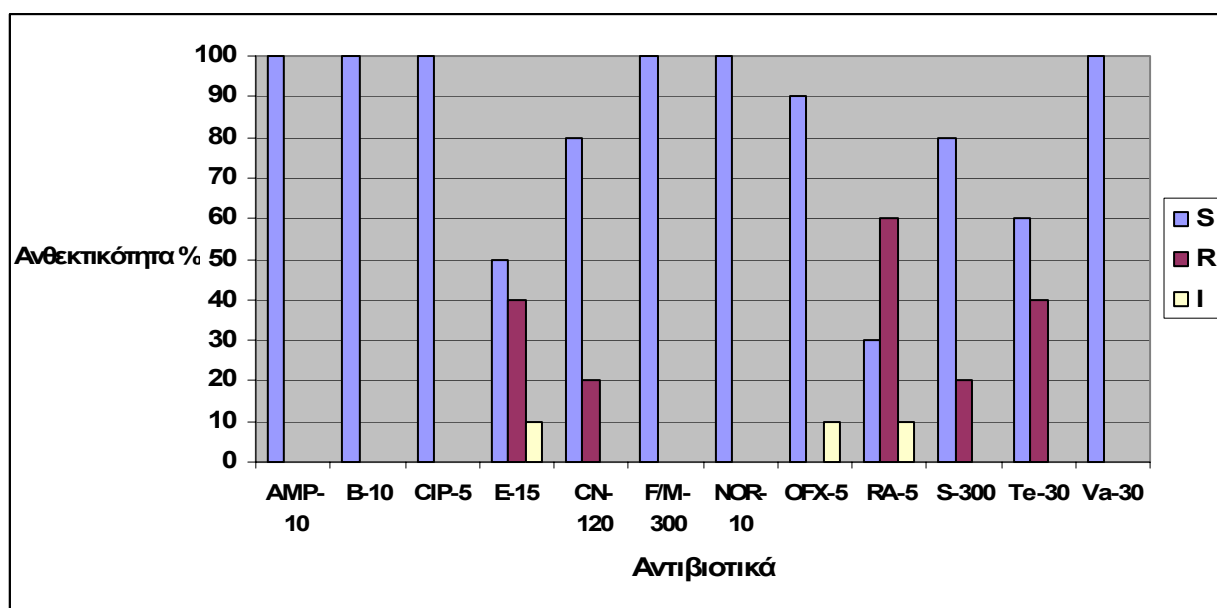
Από το σύνολο των εξεταζόμενων απομονώσεων της δειγματοληψίας παρατηρήθηκε ότι, 2 στελέχη ήταν ανθεκτικά στην ερυθρομυκίνη(E-15), 4 στην ριφαμπικίνη(RA-5), 1 στην στρεπτομυκίνη(S-300), 1 στην τετρακυκλίνη(Te-30), και κανένα στέλεχος στους υπόλοιπους αντιμικροβιακούς παράγοντες (Διάγραμμα 8.27). Τέλος, κανένα στέλεχος του δείγματος των Ιωαννίνων δεν χαρακτηρίζεται πολυανθεκτικό.



Διάγραμμα 8.27. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας των εντερόκοκκων στα αντιβιοτικά για το δείγμα των Ιωαννίνων

- Αποτελέσματα ελέγχου ανθεκτικότητας στα 12 αντιβιοτικά των 10 απομονώσεων εντερόκοκκων από την Ε.Ε.Λ Καλαμπάκας

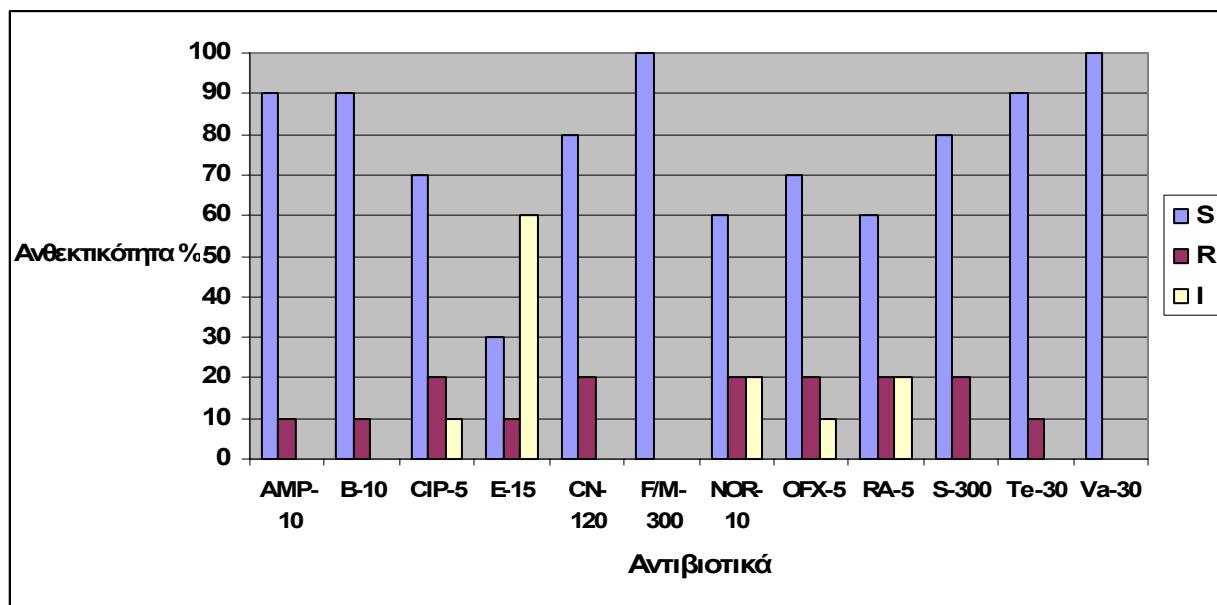
Από το σύνολο των εξεταζόμενων απομονώσεων της δειγματοληψίας παρατηρήθηκε ότι, 4 στελέχη ήταν ανθεκτικά στην ερυθρομυκίνη(E-15), 2 στην γενταμυκίνη(CN-120), 6 στην ριφαμικίνη(RA-5), 2 στην στρεπτομυκίνη(S-300), 4 στην τετρακυκλίνη(Te-30), και κανένα στέλεχος στους υπόλοιπους αντιμικροβιακούς παράγοντες (Διάγραμμα 8.28). Τέλος, 4 στελέχη του δείγματος της Καλαμπάκας χαρακτηρίζονται πολυανθεκτικά.



Διάγραμμα 8.28. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας των εντερόκοκκων στα αντιβιοτικά για το δείγμα της Καλαμπάκας

- Αποτελέσματα ελέγχου ανθεκτικότητας στα 12 αντιβιοτικά των 10 απομονώσεων εντερόκοκκων από την Ε.Ε.Λ Τυρνάβου Λαρίσης

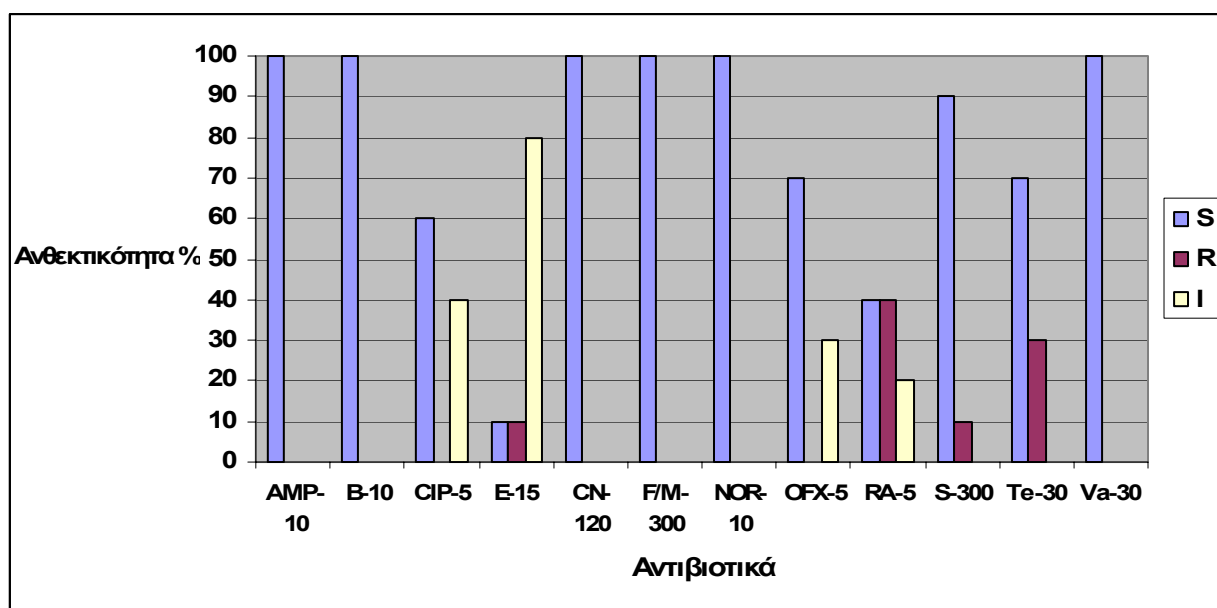
Από το σύνολο των εξεταζόμενων απομονώσεων της δειγματοληψίας παρατηρήθηκε ότι, 1 στέλεχος ήταν ανθεκτικό στην αμπικιλίνη(AMP-10), 1 στην βακιτρακίνη(B-10), 2 στην σιπροφλοξασίνη(CIP-5), 1 στην ερυθρομυκίνη(E-15), 2 στην γενταμυκίνη(CN-120), 2 στην νορφλοξακίνη(NOR-10), 2 στην οφλοξασίνη(OFX-5), 2 στην ριφαμυκίνη(RA-5), 2 στην στρεπτομυκίνη(S-300), 1 στην τετρακυκλίνη(Te-30), και κανένα στέλεχος στους υπόλοιπους αντιμικροβιακούς παράγοντες (Διάγραμμα 8.29). Τέλος, 3 στελέχη του δείγματος του Τυρνάβου χαρακτηρίζονται πολυανθεκτικά



Διάγραμμα 8.29. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας των εντερόκοκκων στα αντιβιοτικά για το δείγμα του Τυρνάβου

- Αποτελέσματα ελέγχου ανθεκτικότητας στα 12 αντιβιοτικά των 10 απομονώσεων εντερόκοκκων από την Ε.Ε.Λ Καρδίτσας

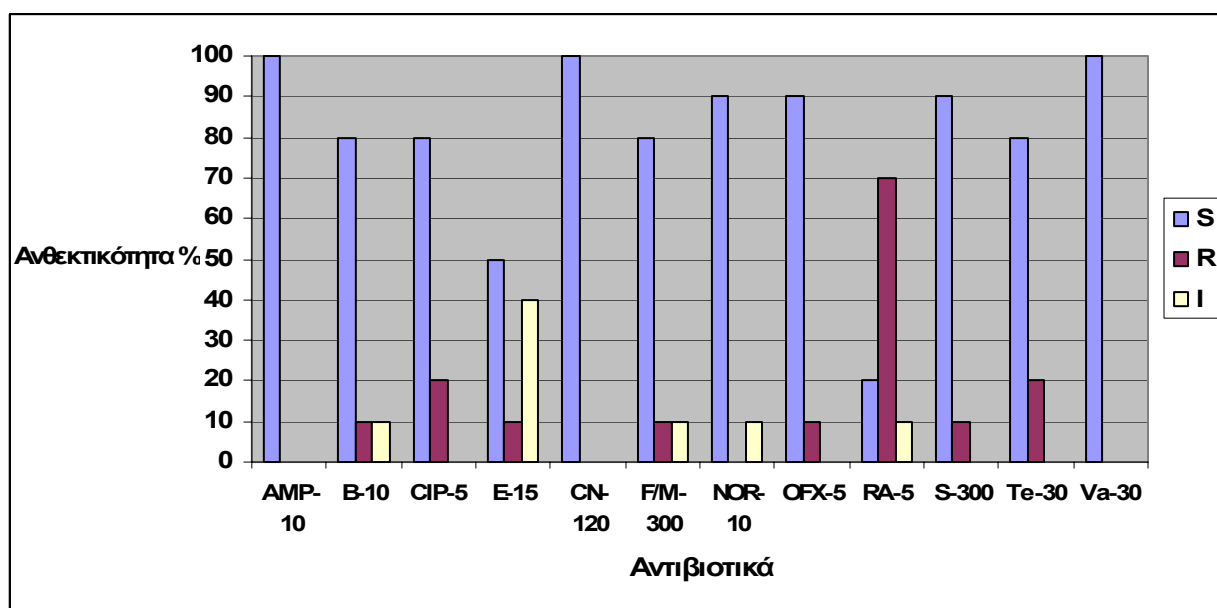
Από το σύνολο των εξεταζόμενων απομονώσεων της δειγματοληψίας παρατηρήθηκε ότι, 1 στέλεχος ήταν ανθεκτικό στην ερυθρομυκίνη(E-15), 4 στην ριφαμπικίνη(RA-5), 1 στην στρεπτομυκίνη(S-300), 3 στην τετρακυκλίνη(Te-30), και κανένα στέλεχος στους υπόλοιπους αντιμικροβιακούς παράγοντες (Διάγραμμα 8.30). Τέλος, 1 στέλεχος του δείγματος της Καρδίτσας χαρακτηρίζεται πολυανθεκτικό.



Διάγραμμα 8.30. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας των εντερόκοκκων στα αντιβιοτικά για το δείγμα της Καρδίτσας

- Αποτελέσματα ελέγχου ανθεκτικότητας στα 12 αντιβιοτικά των 10 απομονώσεων εντερόκοκκων από την Ε.Ε.Λ Άρτας

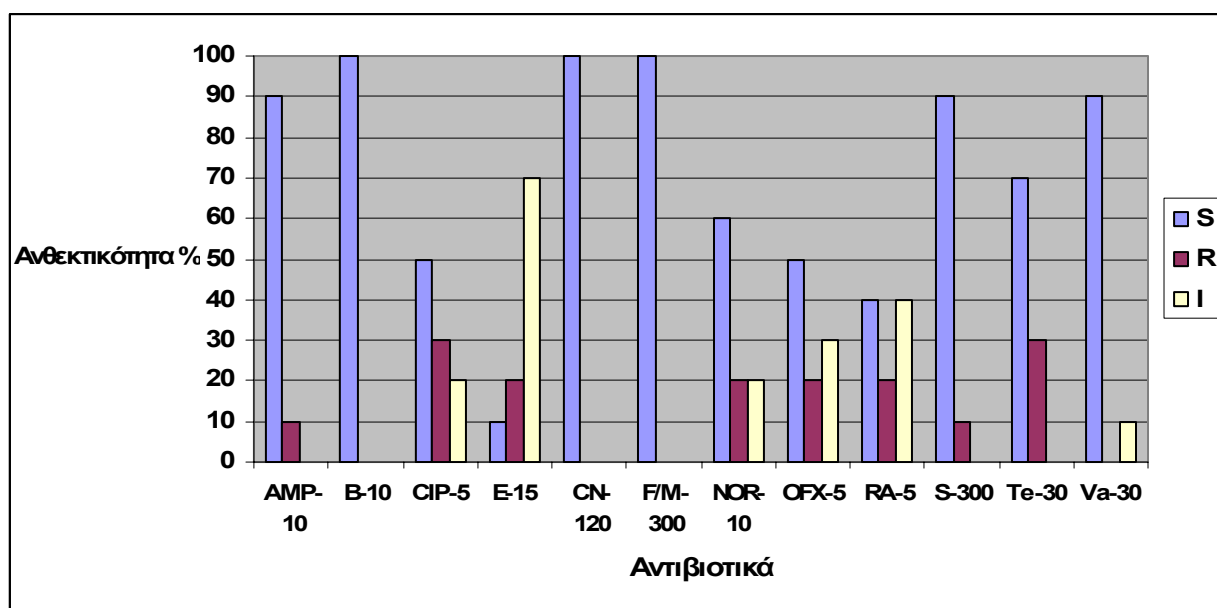
Από το σύνολο των εξεταζόμενων απομονώσεων της δειγματοληψίας παρατηρήθηκε ότι, 1 στέλεχος ήταν ανθεκτικό στη βακιτρακίνη(B-10), 2 στη σιπροφλοξασίνη(CIP-5), 1 στην ερυθρομυκίνη(E-15), 1 στην νιτροφουραντοΐνη(F/M-300), 1 στην οφλοξασίνη(OFX-5), 7 στην ριφαμπικίνη(RA-5), 1 στην στρεπτομυκίνη(S-300), 2 και τετρακυκλίνη(Te-30), και κανένα στέλεχος στους υπόλοιπους αντιμικροβιακούς παράγοντες (Διάγραμμα 8.31). Τέλος, 2 στελέχη του δείγματος της Άρτας χαρακτηρίζονται πολυανθεκτικά.



Διάγραμμα 8.31. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας των εντερόκοκκων στα αντιβιοτικά για το δείγμα της Άρτας

- Αποτελέσματα ελέγχου ανθεκτικότητας στα 12 αντιβιοτικά των 10 απομονώσεων εντερόκοκκων από την Ε.Ε.Λ Μεσολογγίου

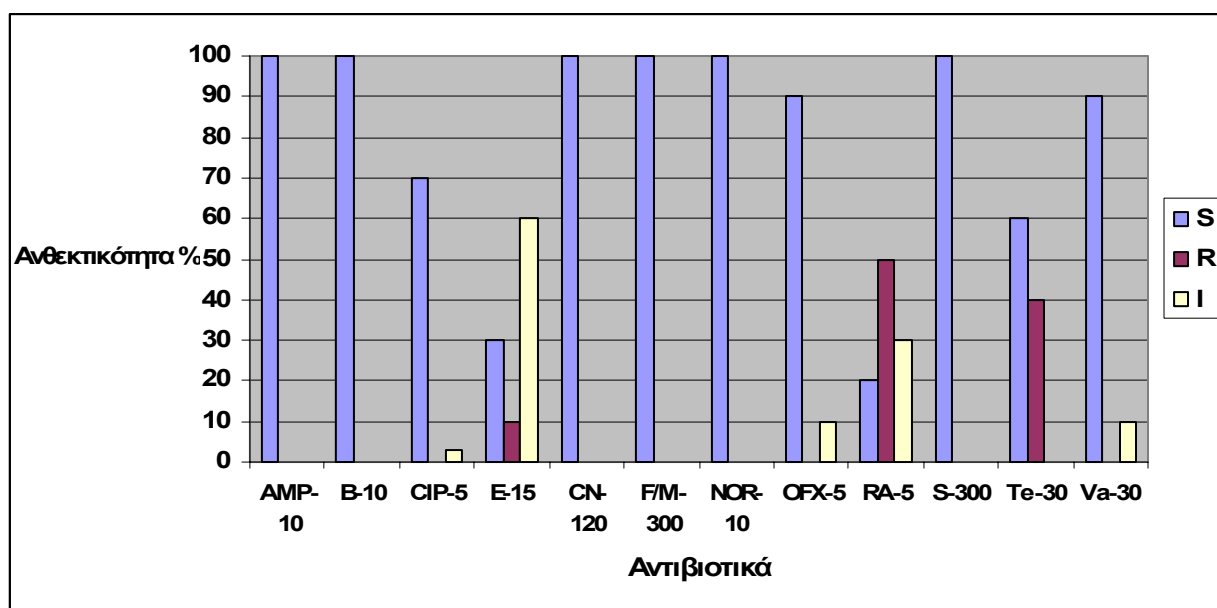
Από το σύνολο των εξεταζόμενων απομονώσεων της δειγματοληψίας παρατηρήθηκε ότι, 1 στέλεχος ήταν ανθεκτικό στην αμπικιλίνη(AMP-10), 3 στην σιπροφλοξασίνη(CIP-5), 2 στην ερυθρομυκίνη(E-15), 2 στην νορφλοξακίνη(NOR-10), 2 στην οφλοξασίνη(OFX-5), 2 στην ριφαμικίνη(RA-5), 1 στην στρεπτομυκίνη(S-300), 3 στην τετρακυκλίνη(Te-30), και κανένα στέλεχος στους υπόλοιπους αντιμικροβιακούς παράγοντες (Διάγραμμα 8.32). Τέλος, 2 στελέχη του δείγματος του Μεσολογγίου χαρακτηρίζονται πολυανθεκτικά.



Διάγραμμα 8.32. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας των εντερόκοκκων στα αντιβιοτικά για το δείγμα του Μεσολογγίου

- Αποτελέσματα ελέγχου ανθεκτικότητας στα 12 αντιβιοτικά των 10 απομονώσεων εντερόκοκκων από την Ε.Ε.Λ Αλεξανδρούπολης

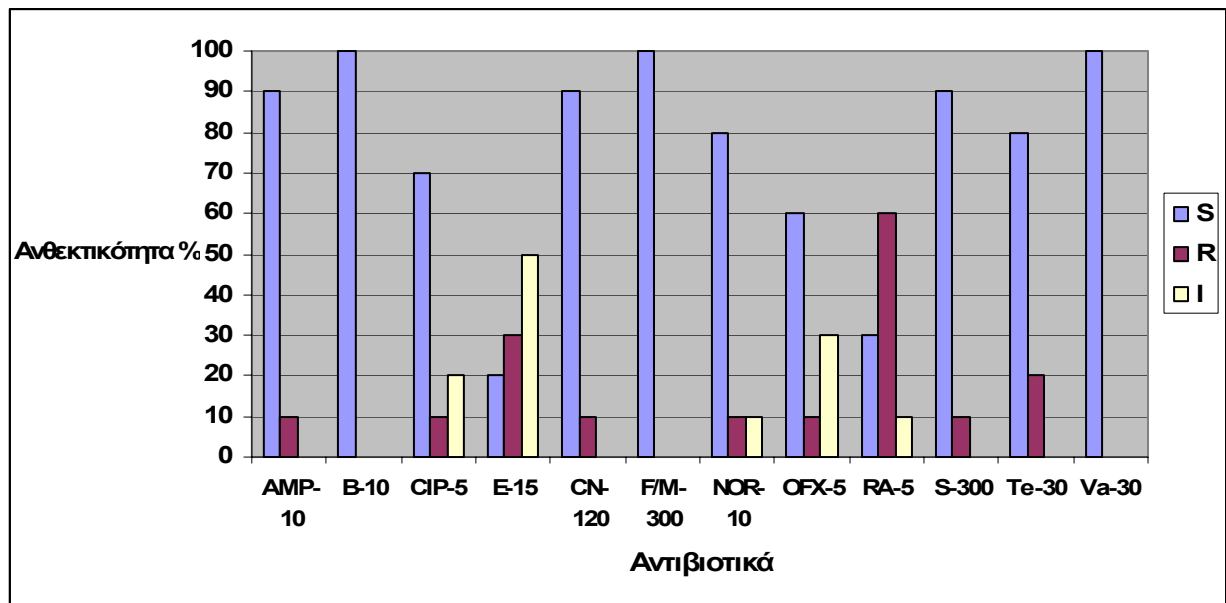
Από το σύνολο των εξεταζόμενων απομονώσεων της δειγματοληψίας παρατηρήθηκε ότι, 1 στέλεχος ήταν ανθεκτικό στην ερυθρομυκίνη(E-15), 5 στην ριφαμπικίνη(RA-5), 4 στην τετρακυκλίνη(Te-30), και κανένα στέλεχος στους υπόλοιπους αντιμικροβιακούς παράγοντες (Διάγραμμα 8.33). Τέλος, κανένα στέλεχος του δείγματος της Αλεξανδρούπολης δεν χαρακτηρίζεται πολυανθεκτικό.



Διάγραμμα 8.33. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας των εντερόκοκκων στα αντιβιοτικά για το δείγμα της Αλεξανδρούπολης

- Αποτελέσματα ελέγχου ανθεκτικότητας στα 12 αντιβιοτικά των 10 απομονώσεων εντερόκοκκων από την Ε.Ε.Λ Ορεστιάδας

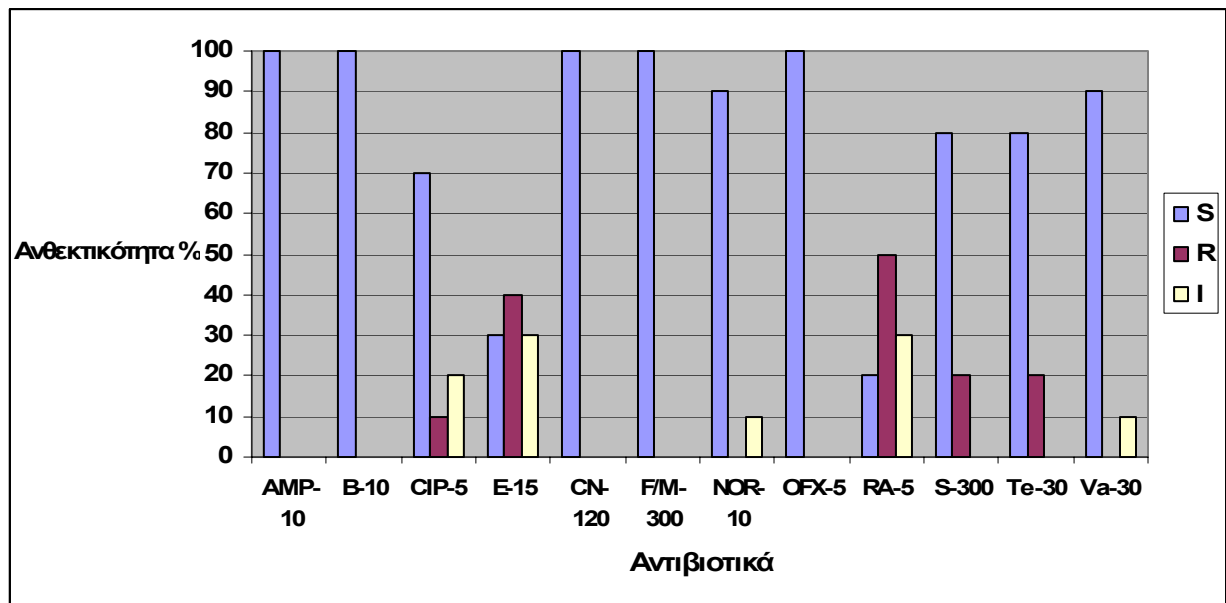
Από το σύνολο των εξεταζόμενων απομονώσεων της δειγματοληψίας παρατηρήθηκε ότι, 1 στέλεχος ήταν ανθεκτικό στην αμπικιλίνη(AMP-10), 1 στην σιπροφλοξασίνη(CIP-5), 3 στην ερυθρομυκίνη(E-15), 1 στην γενταμυκίνη(CN-120), 1 στην νορφλοξακίνη(NOR-10), 1 στην οφλοξασίνη(OFX-5), 6 στην ριφαμικίνη(RA-5), 1 στην στρεπτομυκίνη(S-300), 2 στην τετρακυκλίνη(Te-30), και κανένα στέλεχος στους υπόλοιπους αντιμικροβιακούς παράγοντες (Διάγραμμα 8.34). Τέλος, 1 στέλεχος του δείγματος της Ορεστιάδας χαρακτηρίζεται πολυανθεκτικό.



Διάγραμμα 8.34. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας των εντερόκοκκων στα αντιβιοτικά για το δείγμα της Ορεστιάδας

- Αποτελέσματα ελέγχου ανθεκτικότητας στα 12 αντιβιοτικά των 10 απομονώσεων εντερόκοκκων από την Ε.Ε.Λ Διδυμοτείχου

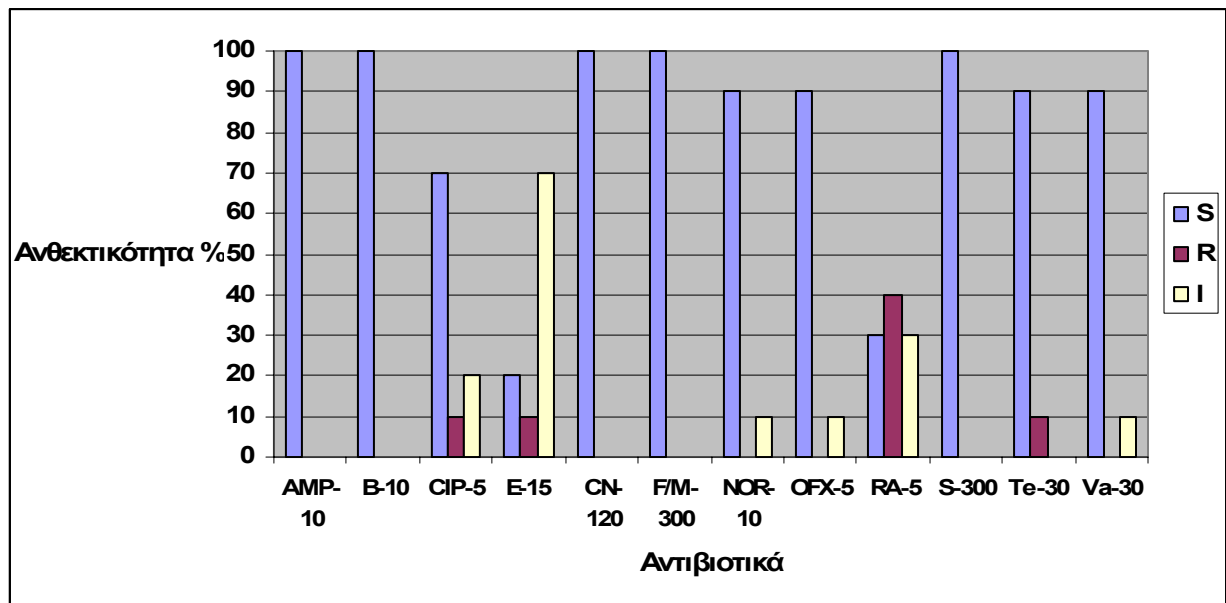
Από το σύνολο των εξεταζόμενων απομονώσεων της δειγματοληψίας παρατηρήθηκε ότι, 1 στέλεχος ήταν ανθεκτικό στη σιπροφλοξασίνη(CIP-5), 4 στην ερυθρομυκίνη(E-15), 5 στην ριφαμπικίνη(RA-5), 2 στην στρεπτομυκίνη(S-300), 2 στην τετρακυκλίνη(Te-30), και κανένα στέλεχος στους υπόλοιπους αντιμικροβιακούς παράγοντες (Διάγραμμα 8.35). Τέλος, 2 στελέχη του δείγματος του Διδυμοτείχου χαρακτηρίζονται πολυανθεκτικά.



Διάγραμμα 8.35. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας των εντερόκοκκων στα αντιβιοτικά για το δείγμα του Διδυμοτείχου

- Αποτελέσματα ελέγχου ανθεκτικότητας στα 12 αντιβιοτικά των 10 απομονώσεων εντερόκοκκων από την Ε.Ε.Λ Λαυρίου

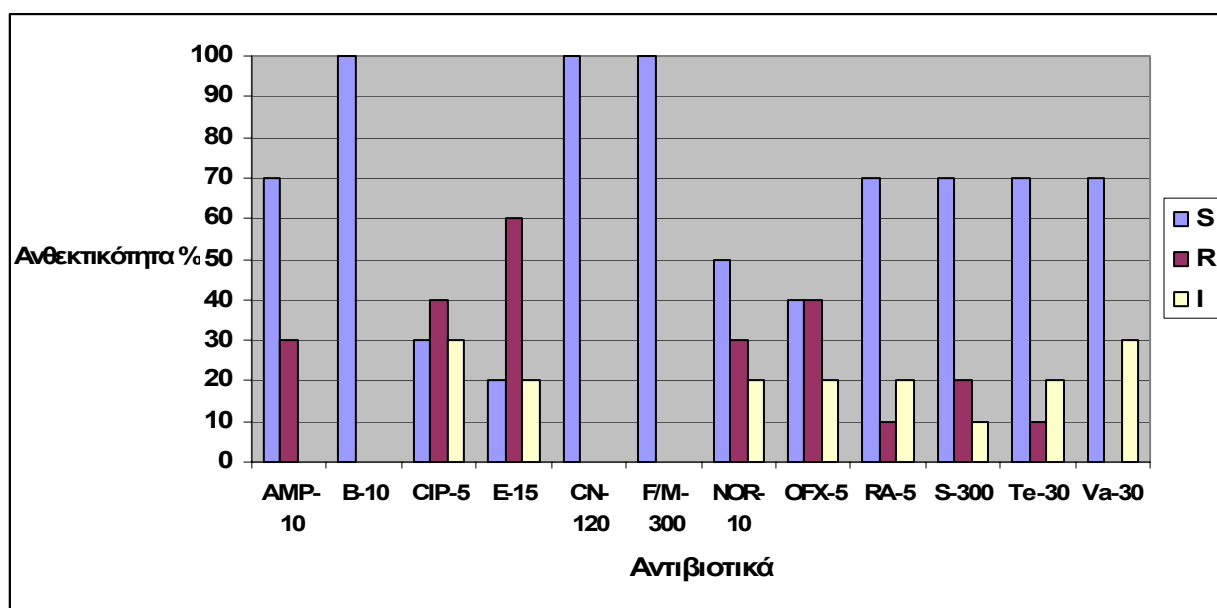
Από το σύνολο των εξεταζόμενων απομονώσεων της δειγματοληψίας παρατηρήθηκε ότι, 1 στέλεχος ήταν ανθεκτικό στη σιπροφλοξασίνη(CIP-5), 1 στην ερυθρομυκίνη(E-15), 4 στη ριφαμπικίνη(RA-5), 1 στην τετρακυκλίνη(Te-30) και κανένα στέλεχος στους υπόλοιπους αντιμικροβιακούς παράγοντες (Διάγραμμα 8.36). Τέλος, κανένα στέλεχος του δείγματος του Λαυρίου δεν χαρακτηρίζεται πολυανθεκτικό.



Διάγραμμα 8.36. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας των εντερόκοκκων στα αντιβιοτικά για το δείγμα του Λαυρίου

- Αποτελέσματα ελέγχου ανθεκτικότητας στα 12 αντιβιοτικά των 10 απομονώσεων εντερόκοκκων από την Ε.Ε.Λ Ηγουμενίτσας

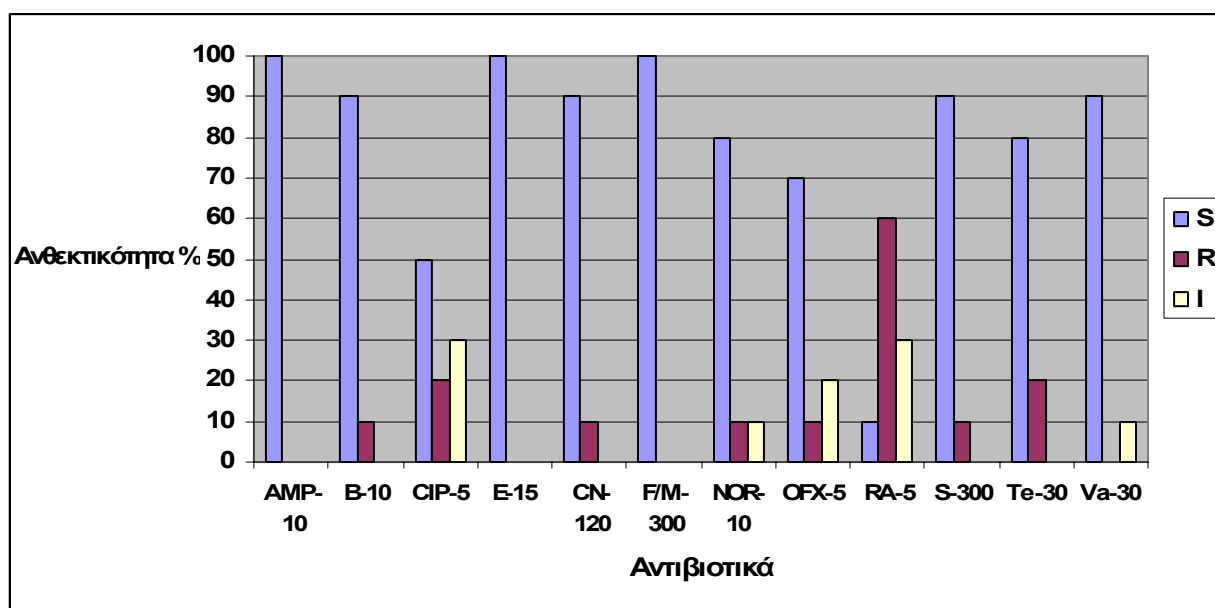
Από το σύνολο των εξεταζόμενων απομονώσεων της δειγματοληψίας παρατηρήθηκε ότι, 3 στελέχη ήταν ανθεκτικά αμπικιλίνη(AMP-10), 4 στην σιπροφλοξασίνη(CIP-5), 6 στην ερυθρομυκίνη(E-15), 3 στην νορφλοξακίνη(NOR-10), 4 στην οφλοξασίνη(OFX-5), 1 στην ριφαμικίνη(RA-5), 2 στην στρεπτομυκίνη(S-300), 1 στην τετρακυκλίνη(Te-30), και κανένα στέλεχος στους υπόλοιπους αντιμικροβιακούς παράγοντες (Διάγραμμα 8.37). Τέλος, 5 στελέχη του δείγματος της Ηγουμενίτσας χαρακτηρίζονται πολυανθεκτικά.



Διάγραμμα 8.37. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας των εντερόκοκκων στα αντιβιοτικά για το δείγμα της Ηγουμενίτσας

- Αποτελέσματα ελέγχου ανθεκτικότητας στα 12 αντιβιοτικά των 10 απομονώσεων εντερόκοκκων από την Ε.Ε.Α Καμένων Βούρλων

Από το σύνολο των εξεταζόμενων απομονώσεων της δειγματοληψίας παρατηρήθηκε ότι, 1 στέλεχος ήταν ανθεκτικό στη βακιτρακίνη(B-10), 2 στη σιπροφλοξασίνη(CIP-5), 1 στη γενταμικίνη(CN-120), 1 στη νορφλοξακίνη(NOR-10), 1 στην οφλοξασίνη(OFX-5), 6 στη ριφαμπικίνη(RA-5), 1 στη στρεπτομυκίνη(S-300), 2 στη τετρακυκλίνη(Te-30), και κανένα στέλεχος στους υπόλοιπους αντιμικροβιακούς παράγοντες (Διάγραμμα 8.38). Τέλος, 1 στέλεχος του δείγματος των Καμένων Βούρλων χαρακτηρίζεται πολυανθεκτικό.



Διάγραμμα 8.38. Αποτελέσματα ελέγχου ευαισθησίας των εντεροκόκκων στα αντιβιοτικά για το δείγμα των Καμένων Βούρλων

Επιχειρώντας μια σιωπηλή σύγκριση αποτελεσμάτων της παρούσας έρευνας με την έρευνα των Tejedor et al. (2001), διαπιστώνεται ότι αυτή είναι εφικτή διότι χρησιμοποιήθηκε η ίδια μέθοδος ανίχνευσης. Οι Tejedor et al. (2001), μελέτησαν την ανθεκτικότητα 22 στελεχών εντεροκόκκων από Ε.Ε.Λ. στα Κανάρια νησιά, αλλά η διαφοροποίηση στα αποτελέσματα είναι εμφανής. Πιο αναλυτικά, οι μετρήσεις της παρούσας έρευνας έδειξαν πολύ πιο αυξημένη ανθεκτικότητα στη ριφαμικίνη (RA-5) (46,3% έναντι 4,5% των Ισπανών). Μικρότερη αύξηση των ανθεκτικών στελεχών εμφανίζεται στην τετρακυκλίνη (Te-30) (17,5 % έναντι 4,5% των Ισπανών), στην ερυθρομυκίνη (E-15) (23,6% έναντι 22,7% των Ισπανών) και την νορφλοξακίνη (NOR-10) (9,8% έναντι 9,1 των Ισπανών). Από μηδενική ανθεκτικότητα των Ισπανών στην αμικιλίνη (AMP-10), στην σιπροφλοξασίνη (CIP-5), και την νιτροφουραντοΐνη (F/M-300), στην παρούσα έρευνα ανιχνεύτηκε ανθεκτικότητα της τάξεως του 8,1%, 13%, 1,6% αντίστοιχα. Στην μη ανίχνευση της ανθεκτικότητας της βανκομυκίνης (Va-30) τα αποτελέσματα των Ισπανών ταυτίζονται με τα αντίστοιχα της έρευνας αυτής.

Από την άλλη και σύμφωνα με την έρευνα των Choi et al. (2003), τα στελέχη των εντεροκόκκων που απομονώθηκαν από το αποχετευτικό σύστημα παρουσιάζουν υψηλή ανθεκτικότητα. Δεν δύναται όμως να συγκριθούν με τα αποτελέσματα της παρούσας

έρευνας, διότι οι άνωθεν ερευνητές ακολούθησαν διαφορετικές μεθόδους και διαφορετικές συγκεντρώσεις στα πειράματά τους.

Το ίδιο ισχύει και με την έρευνα των Vilanova et al. (2003), οι οποίοι μελέτησαν την ανθεκτικότητα των εντεροκόκκων από 5 Ε.Ε.Λ. στην Ισπανία. Χρησιμοποίησαν εξίσου διαφορετικές μεθόδους και διαφορετικές συγκεντρώσεις αντιβιοτικών, όπως επίσης και στην έρευνα των Blanch et al. (2003), όπου μελετήθηκε η ανθεκτικότητα των εντεροκόκκων από μη επεξεργασμένα, επεξεργασμένα καθώς και νοσοκομειακά απόβλητα από 3 χώρες (Σουηδία, Ισπανία και Αγγλία) στην ερυθρομυκίνη και τη βανκομυκίνη.

Κλείνοντας, η σύγκριση των αποτελεσμάτων της έρευνας με αυτά του Rocktaschel (2005), που προέρχονται από δείγματα αφυδατωμένης ιλύος από Ε.Ε.Λ του Ελλαδικού χώρου έδειξαν τα ακόλουθα συμπεράσματα. Σε σύνολο 101 απομονωμένων στελεχών εντεροκόκκων, το 1 % εμφανίστηκε ανθεκτικό στην αμικικιλίνη(AMP-10), το 2% στη βανκομυκίνη(Va-30), το 14% στη βακιτρακίνη(B-10), το 10% στην τετρακυκλίνη(Te-300), το 31% στην ερυθρομυκίνη(E-15), το 37% στη σιπροφλοξασίνη(CIP-5), το 61 % στη ριφαμικίνη(RA-5), το 46% στην οφλοξακίνη(OFX-5), το 16% στη νορφλοξακίνη(NOR-10), το 33% στη νιτροφουραντοΐνη(F/M-300), ενώ κανένα στέλεχος δε βρέθηκε ανθεκτικό στη στρεπτομυκίνη(S-300) και τη γενταμυκίνη(CN-120). Συγκρίνοντας τα παραπάνω με τα αντίστοιχα της παρούσας μελέτης προέκυψαν αρκετές διαφοροποιήσεις. Στην έρευνα αυτή, η ανθεκτικότητα παρουσιάζεται αναπτυγμένη στην αμικικιλίνη(AMP-10), και την τετρακυκλίνη(Te-30), ενώ η ανύπαρκτη ανθεκτικότητα στην στρεπτομυκίνη(S-300) και την γενταμυκίνη(CN-120) εδώ γίνεται 11% και 5,7%. Επιπρόσθετα, τα στελέχη των εντερόκοκκων εμφάνισαν χαμηλότερη ανθεκτικότητα στην νιτροφουραντοΐνη(F/M-300), την οφλοξακίνη(OFX-5), τη σιπροφλοξασίνη(CIP-5), τη βακιτρακίνη(B-10), την ερυθρομυκίνη(E-15), την ριφαμικίνη(RA-5) και την νορφλοξακίνη(NOR-10), ενώ δεν ανιχνεύτηκε στέλεχος ανθεκτικό στη βανκομυκίνη(Va-30).

Συνοψίζοντας, και με βάση τα δεδομένα που υποστηρίζουν την έρευνα αυτή, προκαλεί έντονο προβληματισμό η αυξανόμενη παρουσία ανθεκτικών στελεχών του γένους *Enterococcus* στα δείγματα ιλύος από Ε.Ε.Λ. της χώρας, καθώς και η αύξηση των πολυανθεκτικών στελεχών εντερόκοκκων (τα 42 από τα 246 στελέχη).

Κεφάλαιο 9^ο : Συμπεράσματα, περιορισμοί, εισηγήσεις

Σκοπός της έρευνας αυτής ήταν η μελέτη των περιβαλλοντικών κινδύνων από την εφαρμογή της ιλύος στο έδαφος, δίνοντας έμφαση στη διασπορά των αντιβιοτικών στο περιβάλλον και την ανθεκτικότητα που εμφανίζουν σ' αυτά τα στελέχη του γένους *Enterococcus* που ανιχνεύονται στην ιλύ.

Αναλυτικότερα, η έρευνα εστίασε στην καταγραφή των φυσικών, χημικών και μικροβιολογικών χαρακτηριστικών ενός δείγματος αφυδατωμένης ιλύος, το οποίο παρελήφθη από 24 διαφορετικές Ε.Ε.Λ εθνικής εμβέλειας, για μια χρονική στιγμή. Επιπλέον, πραγματοποιήθηκε έλεγχος ως προς την ευαισθησία στα αντιβιοτικά στελεχών του γένους *Enterococcus*, τα οποία απομονώθηκαν από το εκάστοτε δείγμα της ιλύος.

Η πιο συνηθισμένη μέθοδος επεξεργασίας της ιλύος είναι η αερόβια σταθεροποίηση, κυρίως μέσω των συστημάτων παρατεταμένου αερισμού. Όσον αφορά την αφυδάτωση της παραγόμενης ιλύος, στην πλειοψηφία των Ε.Ε.Λ από τις οποίες ελήφθησαν δείγματα, χρησιμοποιείται η μηχανική αφυδάτωση, κυρίως με ταινιοφιλτρόπρεσσες. Η αξιοποίηση της ιλύος συνίσταται κυρίως στη διάθεσή της σε χωματερές, σε ποσοστό 70%, ενώ σε Χ.Υ.Τ.Α σε ποσοστό 20%.

Βασική προτεραιότητα της πολιτικής διαχείρισης των αποβλήτων της Ευρωπαϊκής Ένωσης τίθεται η επαναχρησιμοποίηση τους. Η λύση που προτείνεται για τη διάθεση της ιλύος, η οποία είναι ταυτόχρονα και περιβαλλοντικά αποδεκτή, είναι η χρήση της ως εδαφοβελτιωτικό. Η ενδεχόμενη όμως περιεκτικότητα της ιλύος σε επιβλαβείς για το περιβάλλον και τον άνθρωπο, ουσίες προκαλεί έντονο προβληματισμό και επιφυλάξεις σχετικά με τους δυνατούς τρόπους επαναχρησιμοποίησης της παραγόμενης βιολογικής ιλύος από τις εγκαταστάσεις των βιολογικών καθαρισμών.

9.1 Συμπεράσματα για τις φυσικές - χημικές παραμέτρους της ιλύος των δειγμάτων που εξετάστηκαν

Τα φυσικά - χημικά χαρακτηριστικά των δειγμάτων της αφυδατωμένης ιλύος που μετρήθηκαν ήταν η υγρασία, τα πτητικά στερεά, το pH, η ηλεκτρική αγωγιμότητα. Η υγρασία των δειγμάτων κυμάνθηκε από 69,8% έως 90% με μέσο όρο 85,3%. Το υψηλό

ποσοστό υγρασίας που παρατηρήθηκε στα δείγματα δεν είναι το επιθυμητό, διότι δημιουργούνται αναερόβιες μη επιθυμητές συνθήκες στη διαδικασία κομποστοποίησης της ιλύος, οπότε και επιβάλλεται να ρυθμιστεί. Τα ποσοστά των πτητικών στερεών ήταν κατά μέσο όρο 70,63%. Οι τιμές του pH κυμάνθηκαν μεταξύ 6,57 και 7,88 με μέσο όρο 7.27. Οι τιμές αυτές βρίσκονται μέσα στα επιθυμητά όρια (pH: 6-9) για μελλοντική χρήση της ιλύος των Ε.Ε.Λ. Σχετικά με την ηλεκτρική αγωγιμότητα, αυτή παρουσίασε εύρος διακύμανσης φτάνοντας από 188 $\mu\text{S}/\text{cm}$ μέχρι 1213 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Κρίνεται όμως ικανοποιητική για να αρχίσει η διαδικασία της κομποστοποίησης.

9.2 Συμπεράσματα για τις μικροβιολογικές παραμέτρους της ιλύος των δειγμάτων που εξετάστηκαν

Τα μικροβιολογικά χαρακτηριστικά των δειγμάτων αφυδατωμένης ιλύος που μετρήθηκαν ήταν η συγκέντρωση των πληθυσμών της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας, των ολικών κολίμορφων βακτηρίων, των *E. coli*, των περιττωματικών στρεπτόκοκκων, των μυκήτων και των ζυμών, των θειοαναγωγικών κλωστριδίων, της *Salmonella* spp και της *Listeria* spp.

Με την καταμέτρηση των ολικών μεσόφιλων μικροοργανισμών, των μυκήτων και των ζυμών έχουμε μια εκτίμηση του μικροβιακού φορτίου που περιέχεται στα δείγματα της ιλύος και βρίσκεται σε συνάρτηση με την υγρασία, το οργανικό φορτίο αλλά και τις άλλες φυσικοχημικές παραμέτρους της ιλύος. Αναλυτικότερα, οι πληθυσμοί των ολικών μεσόφιλων μικροοργανισμών που μετρήθηκαν στα δείγματα ξεπερνούν τα όρια που έχουν προτείνει οι Deportes et al. (1998) για την ιλύ (1^ης μέρας) που πρόκειται να επεξεργαστεί ώστε να παραχθεί compost. Εξαίρεση αποτελούν τα δείγματα της Καστοριάς και των Καμένων Βούρλων. Η μεγαλύτερη τιμή πληθυσμού μυκήτων ήταν $4,48 \times 10^6$ κύτταρα/g DW (Κιλκίς), ενώ η μικρότερη που ανιχνεύθηκε άγγιξε το $1,37 \times 10^4$ κύτταρα/g DW (Χαλκίδα). Η συγκέντρωση των πληθυσμών των ζυμών κυμάνθηκαν από $4,74 \times 10^5$ κύτταρα/g DW (Χαλκίδα) έως $2,81 \times 10^7$ κύτταρα/g DW (Σέρρες).

Ο πληθυσμός των ολικών κολίμορφων βακτηρίων, των *E. coli*, των περιττωματικών στρεπτόκοκκων και των θειοαναγωγικών κλωστριδίων, δείχνει την κατάσταση του κάθε δείγματος ιλύος ως προς τους κοπρανώδεις δείκτες. Η συγκέντρωση των πληθυσμών αυτών έχει ιδιαίτερη σημασία γιατί αποδεικνύεται η κατάσταση της υγιεινοποίησης της

ιλύος. Συγκεκριμένα οι πληθυσμοί των ολικών κολίμορφων βακτηρίων που μετρήθηκαν κυμάνθηκαν από $8,25 \times 10^5$ (Κατερίνη) έως $3,70 \times 10^8$ (Ορεστιάδα) και του *E. coli* κυμάνθηκαν μεταξύ $4,42 \times 10^3$ (Κατερίνη) μέχρι $1,04 \times 10^7$ (Λαύριο). Κανένα δείγμα δεν βρίσκεται εντός των ορίων που έχουν προτείνει ο Carrington (2001) και το U.S. EPA (1998). Για τους πληθυσμούς των ολικών κολίμορφων βακτηρίων στην ιλύ, ενώ το δείγμα της Κατερίνης, της Πρέβεζας και της Νέας Φώκαιας Χαλκιδικής βρίσκονται ενός των ορίων που έχουν προταθεί από τα μέτρα της Γαλλίας (Norme NF U 44-095) για τον πληθυσμό του *E. coli*.

Οι συγκεντρώσεις των εντεροκόκκων κυμάνθηκαν μεταξύ $2,23 \times 10^4$ κύτταρα/g DW (Χαλκίδα) έως $1,14 \times 10^7$ κύτταρα/g DW (Καβάλα) και κανένα δείγμα από αυτά που εξετάστηκαν δεν βρίσκεται εντός των ορίων που έχουν προτείνει οι Deportes et al (1998) καθώς και οι Hassen et al. (2001). Τέλος, οι πληθυσμοί των θεοαναγωγικών κλωστριδίων που μετρήθηκαν κυμάνθηκαν μεταξύ $4,22 \times 10^5$ κύτταρα/g DW (Καστοριά) έως $3,33 \times 10^7$ κύτταρα/g DW (Κιλκίς).

Επιπρόσθετα, πραγματοποιήθηκε η καταμέτρηση δύο παθογόνων και επικίνδυνων για τη δημόσια υγεία, βακτηρίων, της *Salmonella* spp και της *Listeria* spp, τα οποία μεταδίδονται μέσω της τροφικής αλυσίδας. Το συμπέρασμα αυτό των ερευνών που έχουν διενεργηθεί παγκοσμίως, περιορίζει τη δυνατότητα χρήσης της ιλύος στη γεωργία χωρίς την περαιτέρω επεξεργασία της. Στα εξεταζόμενα δείγματα ανιχνεύτηκαν τυπικές αποικίες του γένους *Salmonella*, αλλά επίσης εντοπίστηκε το εξίσου παθογόνο βακτήριο *Proteus mirabilis* και το *Citrobacter youngae*. Μόνο στο δείγμα του Μεσολογγίου δεν ανιχνεύτηκε *Salmonella* spp ή κάποιο από τα άλλα παθογόνα.

Όσον αφορά την ανίχνευση της *Listeria*, σε όλα τα δείγματα εντοπίστηκε το βακτήριο, εκτός από τα δείγμα από την Πρέβεζα, την Άρτα και το Κιλκίς. Πρέπει επίσης να τονιστεί ότι ανιχνεύτηκε σε τέσσερα δείγματα (Νάουσα, Γρεβενά, Σέρρες, Καμένα Βούρλα) το κατεχοχήν παθογόνο στέλεχος *Listeria monocytogenes*.

Ο έλεγχος ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά πραγματοποιήθηκε συνολικά σε 246 απομονώσεις στελεχών του γένους *Enterococcus*, οι οποίες προέκυψαν ύστερα από

μικροβιολογική επεξεργασία των 24 δειγμάτων αφυδατωμένης ιλύος από τις Ε.Ε.Λ. Στο σύνολο λοιπόν των εξεταζόμενων εντεροκόκκων, 20 στελέχη ήταν ανθεκτικά στο αντιβιοτικό Ampicillin(AMP-10), 5 στο αντιβιοτικό Bacitracin(B-10), 32 στο Ciprofloxacin(CIP-5), 58 στο Erythromycin(E-15), 14 στο Gentamycin(CN-120), 4 στο Nitrofurantoin(F/M-300), 24 στο Norfloxacin(NOR-10), 30 στο Ofloxacin(OFX-5), 114 στο Rifampicin(RA-5), 27 στο Streptomycin(S-300), 43 στο Tetracycline(Te-30), και κανένα στο αντιβιοτικό Vancomycin(Va-30). Επιπλέον 42 στελέχη χαρακτηρίστηκαν πολυανθεκτικά. Η αυξανόμενη ανθεκτικότητα των παθογόνων μικροοργανισμών στα αντιβιοτικά αποτελεί ένα σοβαρό πολυδιάστατο πρόβλημα το οποίο συνεπάγεται ένα ευρύ φάσμα κοινωνικοοικονομικών και πολιτικών συνεπειών σε όλο τον κόσμο. Η διασπορά των ανθεκτικών μικροοργανισμών στους αντιμικροβιακούς παράγοντες στο περιβάλλον δεν έχει ερευνηθεί επαρκώς και για το λόγο αυτό χρήζει περαιτέρω επιστημονικής έρευνας.

9.3 Συμπεράσματα για τους τρόπους επεξεργασίας και διάθεσης της ιλύος στις μονάδες δειγματοληψίας που εξετάστηκαν - Περιορισμοί

Για τη γεωργική χρήση της ιλύος κρίσιμη παράμετρος είναι η περιεκτικότητά της σε βαρέα μέταλλα. Τα βαρέα μέταλλα δεν καταστρέφονται στις Ε.Ε.Λ, αντίθετα συγκεντρώνονται ως επί το πλείστον στη διαχωριζόμενη ιλύ. Στην παρούσα έρευνα δεν μετρήθηκαν οι συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων στα διάφορα δείγματα ιλύος. Η παράμετρος αυτή θεωρείται άκρως απαραίτητη ώστε να υπάρχει μια ολοκληρωμένη εικόνα των ποιοτικών χαρακτηριστικών της ιλύος. Απαραίτητη κρίνεται επίσης και η επαναλαμβανόμενη δειγματοληψία από τις Ε.Ε.Λ ώστε να συγκρίνονται και να αξιολογούνται τα δεδομένα που συλλέγονται. Με μια δειγματοληψία ανά Ε.Ε.Λ δεν καθίσταται εφικτή η παρατήρηση της ποιότητας της παραγόμενης ιλύος από τον εκάστοτε βιολογικό καθαρισμό. Κρίσιμο εξίσου είναι και το ερώτημα της μεταφοράς φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών μέσω της γεωργικής χρησιμοποίησης της ιλύος.

Ολοκληρώνοντας την παρούσα έρευνα πρέπει να τονισθεί ότι, δεν πρέπει να επιτρέπεται η αξιοποίηση της παραγόμενης βιολογικής ιλύος από τους βιολογικούς καθαρισμούς απευθείας στη γεωργία ή η διάθεσή της με οποιονδήποτε άλλον τρόπο, όπως αναλύθηκε στα προηγούμενα κεφάλαια. Η ανεξέλεγκτη αξιοποίηση της ιλύος, οδηγεί σε αύξηση της συγκέντρωση στο έδαφος επιβλαβών ουσιών ανόργανων ή οργανικών, καθώς και

παθογόνων μικροοργανισμών. Επαγωγικά, δημιουργούνται προβλήματα ρύπανσης και μόλυνσης των εδαφών και των υδροφορέων με άμεσο και ορατό κίνδυνο την παθογένεια ανθρώπων, ζώων και φυτών.

9.4 Εισηγήσεις

Η χρήση της ιλύος καθαρισμού λυμάτων ως υποκατάστατο της συμβατικής ενέργειας σημαίνει μείωση της πιθανότητας καρκίνου συνολικά κατά 4,56% σε ένα εκατομμύριο ανθρώπων. Τα αποτελέσματα μελέτης των Nadal et al., (2008) δείχνουν, ότι η χρήση της ιλύος από εγκαταστάσεις λυμάτων ως δευτερογενές καύσιμο είναι σημαντική για τη μείωση των εκπομπών των αερίων του θερμοκηπίου. Επιπλέον, πρόσθετοι κίνδυνοι για την υγεία των πληθυσμών δεν παρατηρείται. Η ανάλυση κόστους-οφέλους φαίνεται να είναι το κατάλληλο εργαλείο ώστε να εκτιμηθούν οι περιβαλλοντικές ζημιές και τα οφέλη που συνδέονται με αυτές τις βιομηχανικές διεργασίες. Ως εκ τούτου, αυτό θα πρέπει να γίνει μια γενικευμένη πρακτική, κυρίως για τους περισσότερους τομείς που επηρεάζονται όπως οι βιομηχανίες ενέργειας. Αξίζει να σημειωθεί ότι το 2005, η μερική υποκατάσταση (20%) των ορυκτών καυσίμων από λυματολάσπη δοκιμάστηκε σε ένα ισπανικό εργοστάσιο τσιμέντου. Η μελέτη των Schuhmacher et al.,(2009) επισήμανε ότι δεν υπήρξαν επιπτώσεις στο περιβάλλον και τον τοπικό πληθυσμό ως συνέπεια της χρήσης ιλύος καθαρισμού λυμάτων ως δευτερογενές καύσιμο.

Κατά κύριο λόγο, οι λοιμώξεις ήταν η κύρια αιτία ασθενειών στην ανθρώπινη ιστορία. Με την εισαγωγή των αντιβιοτικών, υπήρχε η πεποίθηση ότι το πρόβλημα αυτό θα εξαφανιζόταν. Ωστόσο, τα βακτήρια έχουν τη δυνατότητα να εξελιχθούν για να γίνουν ανθεκτικά στα αντιβιοτικά. Σήμερα, ένα «καλό» παθογόνο είναι λοιμογόνο, επιδημικό, και ανθεκτικό στα αντιβιοτικά (Martínez and Baquero, 2002).

Βακτήρια ανθεκτικά στα αντιβιοτικά έχουν εντοπιστεί στο περιβάλλον, όπως σε λύματα, επιφανειακά ύδατα, υπόγεια ύδατα, ιζήματα και έδαφος. Αντιβιοτικά απελευθερώνονται στο περιβάλλον, μετά τη χρήση τους στην ιατρική και την κτηνιατρική. Ιδιαίτερα σημαντική είναι η ποσότητα των αντιβιοτικών που χρησιμοποιούνται ως αυξητικοί παράγοντες στην κτηνοτροφία, την ιχθυοκαλλιέργεια και σε άλλους τομείς. Υπάρχει μεγάλη ανησυχία σύμφωνα με τον Kümmerer (2004), για την αυξανόμενη ανθεκτικότητα των παθογόνων βακτηρίων στο περιβάλλον, και τις οικοτοξικές επιπτώσεις τους.

Την ανάγκη για τη μείωση των ανθεκτικών βακτηρίων στους αντιμικροβιακούς παράγοντες επισήμαναν από το 1997 οι Bonhoeffer et al.. Μάλιστα, διατύπωσαν την άποψη του σχεδιασμού στρατηγικών για να καθυστερήσει ή να αναστραφεί η τάση προς την ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά. Το πρόβλημα της αντιμικροβιακής ανθεκτικότητας στην ιατρική, κατά τον Teuber (1999) δεν θα λυθεί εάν συνεχιστεί να υπάρχει μια σταθερή εισροή των γονιδίων αντοχής στη μικροχλωρίδα του ανθρώπου μέσω της τροφικής αλυσίδας. Και οι Lundin et al., (2008) συμφωνούν στην εκπόνηση περαιτέρω μελετών ώστε να ερευνηθούν καλύτερα οι παράγοντες που επηρεάζουν τη συχνότητα της αντιμικροβιακής ανθεκτικότητας συγκεκριμένα στα συμβιούντα *E. coli* και *Salmonella* spp. σε γαλακτομικές μονάδες. Ιδιαίτερα, η αυξημένη χρήση των βακτηριοστατικών, αντί βακτηριοκτόνων συστημάτων συντήρησης των τροφίμων, μπορούν να συμβάλλουν στην ανάπτυξη και τη διάδοση των ανθεκτικών στελεχών στα αντιβιοτικά (ABR) τροφογενών παθογόνων όπως *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium* and *Staphylococcus aureus* (Mohan et al., 2006).

Όσον αφορά τον περιορισμό της εξάπλωσης των ανθεκτικών στελεχών της *Salmonella* spp., οι White et al., (2001) προτείνουν τα εθνικά συστήματα επιτήρησης για τη μικροβιακή αντοχή για το βακτήριο αυτό, να επεκταθούν ώστε να συμπεριλάβουν και τα κρέατα λιανικού εμπορίου. Ανάγκη για επιτροπές υγείας σε πολλές χώρες, τονίζει ο Barton, (2000) για τον καλύτερο έλεγχο των αδειών για τη χρήση των αντιβιοτικών, καθώς και για τη συνετή χρήση τους από τους κτηνιάτρους και τους γεωργούς. Η μειωμένη ευαισθησία στα αντιβιοτικά των στελεχών της εντερικής σαλμονέλας, που παρατηρήθηκε σε μελέτη των Μαράκη και συν. (2006), επαναλαμβάνει την ανάγκη περαιτέρω έρευνας του συγκεκριμένου παθογόνου. Επιπλέον, περαιτέρω προσοχή πρέπει να δοθεί στα παθογόνα του γένους *Citrobacter* (Samonis et al., 2008).

Λαμβάνοντας υπόψη τη διάδοση των ανθεκτικών στα αντιβιοτικά βακτηρίων και γονιδίων ανθεκτικότητας, η εμφάνιση της μειωμένης ευαισθησίας των εντερόκοκκων στην βανκομυκίνη τονίζει τη μη ύπαρξη των συνόρων μεταξύ των νοσοκομείων, των ανθρώπων και των ζώων, μεταξύ των χωρών, και κατά πάσα πιθανότητα μεταξύ των ηπείρων (Bonten et al., 2001).

Η μελέτη των Nagulapally et al., (2009) στα εισρέοντα λύματα πρωτοβάθμιας επεξεργασίας λυμάτων, αποκάλυψε την ύπαρξη εντεροβακτηρίων, *E. coli*, και εντερόκοκκων με μειωμένη ευαισθησία στα αντιβιοτικά όχι όμως και στα απολυμασμένα λύματα. Από τα είδη που ταυτοποιήθηκαν στους εντερόκοκκους, το είδος *E. faecalis* εμφάνισε την μεγαλύτερη ανθεκτικότητα έναντι των αντιβιοτικών. Επίσης, σε έρευνα των Butaye et al, (2001) για την ανθεκτικότητα κατά των αντιβιοτικών που χρησιμοποιούνται αποκλειστικά για την ταχύτερη ανάπτυξη των ζώων, βρέθηκε ότι τα στελέχη *E. faecium* ήταν πιο διαδεδομένα από ό, τι τα στελέχη *E. faecalis*. Η ταυτοποίηση των απομονώσεων πραγματοποιήθηκε κυρίως σε στελέχη από ζώα εκμετάλλευσης για την παραγωγή τροφίμων σε σχέση με τα στελέχη από τα κατοικίδια ζώα.

Μέτρα προληπτικά για το εντεροτοξικό *Escherichia coli*, όπως και για άλλες εντερικές λοιμώξεις, αποτελεί η βελτίωση της υγιεινής και η ανάπτυξη αποτελεσματικών εμβολίων σύμφωνα με τους Qadri et al., (2005). Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι η αύξηση της μικροβιακής ανθεκτικότητας των στελεχών θα δυσκολέψει τη θεραπεία της ταξιδιωτικής διάρροιας. Προσπάθειες, οπότε, πρέπει να γίνουν προκειμένου να κατανοηθεί σε παγκόσμια κλίμακα η σημασία του εντεροτοξικού *Escherichia coli* (ETEC) (Qadri et al., 2005). Γενικά, τα παθογόνα στελέχη του *E. coli* (Deps) είναι η αιτία των εντερικών λοιμώξεων και της οξείας διάρροιας στα παιδιά του Μεξικού (Estrada-Garcia et al., 2008). Η μεγάλη ποικιλία των γενετικών ιδιοτήτων παθογένειας των στελεχών του τυπικού (tEPEC) και άτυπου (aEPEC) παθογόνου *E. coli* καθιστά δύσκολη την ταυτοποίηση των παθογόνων στελεχών (Hernandes et al., (2009).

Κλείνοντας, συμπεράνουμε το γεγονός ότι η μείωση της ευαισθησίας στα αντιβιοτικά είναι ένα κλινικό και κοινωνικοοικονομικό πρόβλημα που υφίσταται και θα συνεχίσει να υπάρχει (H. Normark and S. Normark, 2002). Ανάλυση των χαρακτηριστικών των βακτηριακών πληθυσμών που εμφανίζουν μειωμένη ευαισθησία στους αντιμικροβιακούς παράγοντες είναι ανάγκη να πραγματοποιηθεί ώστε να προβλεφθούν οι μελλοντικές μολυσματικές ασθένειες (Martínez and Baquero, 2002). Η ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά θεωρείται πλέον ως ένα οικολογικό πρόβλημα. Ο πιθανός αντίκτυπος των ανθεκτικών βακτηρίων στο περιβάλλον δεν είναι ακόμη γνωστός. Περαιτέρω έρευνα για τα θέματα αυτά είναι άκρως απαραίτητη (Kümmerer, 2004).

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

α. Ξενόγλωσση βιβλιογραφία

- Aertgeerts, R. and Angelakis, A. N. (Eds.). (2003). *State of the Art Report: Health Risks in Aquifer Recharge Using Reclaimed Water*. WHO, Water, Sanitation and Health Protection and the Human, Environment WHO, Genova and WHO Regional Office for Europe, Copenhagen, Denmark, pp. x, 212.
- Akrivos, J. et al., (2000). Agricultural Utilization of Lime Treated Sewage Sludge. *Water Science and Technology*, Vol. 42(9): 203-210.
- Alali W.Q. , Scott H. M., Christian K. L. , Fajt V. R., Harvey R. B. , Lawhorn D.B., (2009). Relationship between level of antibiotic use and resistance among *Escherichia coli* isolates from integrated multi-site cohorts of humans and swine, *Preventive Veterinary Medicine*, Jun 5
- American Academy of Microbiology, (1999). Antimicrobial Resistance-An ecological perspective, *ASM Press*, Washington D.C.
- Amyes, S.G., Tait, S., Thomson, C.J., Nandivada, L.S., Jesudason, M.V., Mukundan, U.D. and Young, H.K., (1992). The incidence of antibiotic resistance in aerobic faecal flora in South India, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, Vol. 29(4): 415-425
- Andreadakis, A.D. et al., (2002). Sludge Utilization in Agriculture: possibilities and prospects in Greece, *Water Science & Technology*, Vol. 46(10): 231-238
- Angelakis, A. N. and Spyridakis, S.V. (1996). *The status of water resources in Minoan times - A preliminary study*. In: *Diachronic Climatic Impacts on Water Resources with Emphasis on Mediterranean Region* (A. Angelakis, A. Issar, Eds.). Springer-Verlag, Heidelberg, Germany, pp. 161-191
- Angelakis, A.N., Koutsoyiannis, D., and Tchobanoglous, G. (2005). Wastewater Technologies in the Ancient Greece. *Water Res.*, 39(1): 210-220
- Anonymous, (2000). Working Document on Sludge, 3rd Draft, Brussels, 27 April 2000 *ENV.E.3/LM*, 19 pp
- Anonymous, (2002). Biosolids Applied to Land; Advancing Standards and Practices, National Academy of Sciences, National Research Council, Committee on Toxicants and Pathogens in Biosolids Applied to Land, *The National Academies Press*, Washington D.C.
- Anonymus, (2006). Baden-Württemberg setzt Ausstieg aus Klärschlammdüngung fort, Anteil der Verbrennung mittlerweile rund 70 Prozent, EUWID, *Wasser und Abwasser*, Vol. 43:13-14 [24.10.2006]
- APHA, (1992). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, (18th ed.), APHA, AWWA, WPCF, Washington, D.C.
- Appelbaum P C, Arthur R R, Parker M E, Shugar G L, Kuster L C von, Charache P., (1982). Comparison of three methods for identification of Enterobacteriaceae, *Eur J Clin Microbiol*. Apr ; Vol. 1 (2):76-81
- Asano, T. (Ed)., (1985). *Artificial Recharge of Groundwater*. Butterworth Publishers, Boston, MA.
- Asano, T. and Levine, A.D. (1996). Wastewater reclamation, recycling and reuse: Past, present, and future, *Water Science Technolog.*, Vol. 33(10-11): 1-16

- Barrett, M.D., Jones, R.N. (1996). In vitro activity of Quinupristin/dalfopristin (RP59500) against a large collection of infrequently isolated or tested species, *Diagn Microbiol Infect Dis*, Vol. 25,147-149
- Barton M. D., (2000). Antibiotic use in animal feed and its impact on human health, *Nutrition Research Review*, Vol.13 (2):279-99
- Beuchat L., (1996). *Listeria monocytogenes*: incidence on vegetables, *Food Control*, Vol. 7, Is. 415, pp 223-228
- Bilitewski B., Hardtle G., Marek K., Weissbach A., Boeddicker H., (1994). *Waste management*, Springer
- Bille J., Catime B., Bannerman E., Jacquet C., Yersin M.N., Caniaux I., Monget D., Rocourt J., (1992). API *Listeria*, a new and promising one-day system to identify *Listeria* isolates , *Applied Environmental Microbiology*, Vol. 58:1857-60
- Bitton G., (1999). *Wastewater microbiology*, Wiley-Liss, p.35-60, 171-232, 387-426, New York, USA
- Blanch, A.R., Caplin, J.L, Iversen, A., Kuhn, I., Manero, A., Taylor, H.D. Vilanova, X., (2003). Comparison of enterococcal populations related to urban and hospital wastewater in various climatic and geographic European regions, *Journal of Applied Microbiology*, Vol. 94, 994-1002
- Bonhoeffer S., Lipsitch M, Levin B.R., (1997). Evaluating treatment protocols to prevent antibiotic resistance, *Proceedings of the National Academy of Sciences U S A* ,Oct 28;94 (22):12106-11
- Bonten M.J., Willems R., Weinstein R.A., (2001). Vancomycin-resistant enterococci: why are they here, and where do they come from?, *Lancet Infectious Diseases*, Vol. 1 (5):314-25
- Brooks,G.F., Butel, J.S. and Morse, S.A., (1998). *Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology*, 21st ed., A Simon & Schuster Company
- Burall L. S , Harro J. M , Li X. , C Virginia Locketell, Stephanie D Himpsl, J Richard Hebel, David E Johnson, Harry L T Mobley, (2004). *Proteus mirabilis* genes that contribute to pathogenesis of urinary tract infection: identification of 25 signature-tagged mutants attenuated at least 100-fold, *Infection and Immunity*, May;Vol., 72 (5):2922-38
- Butaye P, Devriese L.A., Haesebrouck F., (2001). Differences in antibiotic resistance patterns of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* strains isolated from farm and pet animals, *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, Vol.: 45 (5):1374-8
- Carrington E.G., (2001). Evaluation of sludge treatments for pathogen reduction – final report, *Study Contract No B4-3040/2001/322179/MAR/A2 for the European Commission*, Directorate-General Environment, Report No.: CO 5026/1
- Choi, S., Chu, W., Brown, J., Becker, S.J., Harwood, V.J. and Jiang, S.C., (2003). Application of enterococci antibiotic resistance patterns for contamination source identification at Huntington Beach, California, *Marine Pollution Bulletin*, Vol. 46: 748-755
- Commission of European Communities. *Council Directive 86/278/EEC* of 4 July 1986 on the protection of the environment, and in particular of the soil, when sewage sludge is used in agriculture
- Commission of European Communities. *Council Directive 91/156/EEC* of March 1991 amending Directive 75/442/EEC on waste

- Commission of European Communities. *Council Directive 91/271/EEC* of 21 March 1991 concerning urban waste-water treatment (amended by the 98/15/EC of 27 February 1998).
- Commission of European Communities. *Council Directive 99/31/EC* of 26 April 1999 on the landfill of Waste-water treatment
- Conesa J.A. , Marcilla A., Prats D., Rodriguez-Pastor M., (1997). Kinetic Study of the Pyrolysis of Sewage Sludge , *Waste Management & Research*, Vol. 15, No. 3, 293-305
- Cupáková, Š. , Lukášová, J., (2003). Agricultural and municipal waste water as a source of antibiotic-resistant enterococci, *Acta Vet. Brno*, Vol. 72:123-129
- Curds C.R., (1982). The ecology and role of protozoa in aerobic sewage treatment processes, *Ann. Rev. Microbiol.*, Vol. 36, 27-46
- Davis, R.D., Carrington, E.G., Gendebien, A., Aitken., M.N., Fenlon , D., and Svoboda, I., (1999). A user's guide to research on application of organic wastes to land, *Report SR 4624/3*, WRC, Medmenham
- Deportes I., Benoit Evejod J., Zmirou D., (1995). Hazard to man and environment posed by the use of urban waste compost: a review, *The science of the Total Environment*, Vol. 172, pp 197-222
- Deportes I., Benoit-Guyod J.-L. , Zmirou D., Bouvier M.-C., (1998). Microbial disinfection capacity of municipal solid waste (MSW) composting, *Journal of Applied Microbiology*, Vol. 85, 238–246
- Dilber E, Aksoy A, Cakir M, Bahat E, Kamaşak T, Dilber B., (2009). *Listeria monocytogenes* meningitis in two immunocompetent children, *Ann Trop Paediatr.*, Sep ; Vol. 29 (3):225-9
- Donabedian, S.M., Thal, L.A., Hershberger, E., Perri, M.B., Chow, J.W., Barlett, P., Jones, R., Joyce, K., Rossiter, S., Gay, K., Johnson, J., Macckinson, C., Debess, E., Madden, J., Angulo, F. and Zervos, M.J.(2003). Molecular characterisation of gentamycin-resistant enterococci in the United States; evidence of spread from animals to humans through food, *Journal of Clinical Microbiology*, Vol. 41, 1109-1113
- EPA, (1983). Design Manual. Municipal Wastewater Stabilization Ponds, *US Environmental Protection Agency*, EPA-625/1-83-015, Cincinnati OH 45268
- Estrada-Garcia Teresa, Catalina Lopez-Saucedo, Rocio Thompson-Bonilla, Maricela Abonce, Daniel Lopez-Hernandez, Jose Ignacio Santos, Jorge L Rosado, Herbert L Dupont, Kurt Z Long, (2008). Diarrheagenic *Escherichia coli* Pathotypes association with Infection and Diarrhea among Mexican Children: Atypical Enteropathogenic *E. coli* is Associated with Acute Diarrhea, *J Clin Microbiol.* Nov 19
- European Communities, (2001). Disposal and recycling routes for sewage sludge, *Part 2 – Regulatory report*, ISBN 92-894-1799-4
- European Commission, (2001). Disposal and recycling routes for sewage sludge, *Part 3 –Scientific and technical sub-component report*, ISBN 92-894-1800-1
- European Commission, (2002). Disposal and recycling routes for sewage sludge, *Part 4 –Economic report*, ISBN 92-894-1801-X, DG Environment, B/2
- European Commission, (2002). Disposal and Recycling Routes for Sewage Sludge, *Synthesis report*, DG Environment, B/2

- European Environmental Agency, (1998). *Sludge treatment and disposal*, Τελευταία ενημέρωση από το www.europa.eu/index_el.htm στις 10 Σεπτεμβρίου 2009
- Evans, T. et al., (2004). *Layman's Guide to Use of Sludge in Agriculture*, Commission of the European Communities, Ashted, England, p.36
- FCQAO, (Federal Compost Quality Assurance Organisation)(1994). *Methods book for the Analysis of Compost, in addition with the Results of the Parallel Interlaboratory Test 1993*, Kompost- Information, Ne 230, Budesgutegemeinschaft Kompost e. V., English translation by W. Bidlingmaier, Germany: University of Essen
- Ferech Matus, Coenen Samuel, Malhotra-Kumar Surbhi, Dvorakova Katerina, Hendrickx Erik, Suetens Carl, Goossenson Herman, (2006). European Surveillance of Antimicrobial Consumption (ESAC): outpatient antibiotic use in Europe, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, Vol.58, 401–40
- Fernández Fernández F J, J de la Fuente Aguado, M Rubianes González, S Pérez Fernández, M Alvarez Fernández, A Nodar Germiñas, B Sopeña Pérez-Argüelles, C Martínez Vázquez, (2004). Enterococcus faecalis bacteremia, *Rev Clin Esp.* ,May ;Vol. 204 (5):244-50
- Finney M., Smullen, J., Foster, H.A., Brokx, S. and Storey, D.M. (2003). Evaluation of Chromocult coliform agar for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae from faecal samples from healthy subjects, *Journal of Microbiological Methods*, Vol. 54, 353-358
- Flaga A., (2005). *Sludge drying*, Institute of Heat Engineering and Air Protection, Cracow University of Technology, ul. Warszawska 24, 31-155 Kraków, Poland
- Forbes , B.A., Salm, D.F. and Weissfeld, A.S. (2002), Bailey & Scott's Lalitha, M.K. (2005). Manual on antimicrobial susceptibility testing, *Indian Association of Medical Microbiologists*,
- Fytili D., Zabaniotou A. (2008). Utilization of sewage sludge in EU application of old and new methods—A review, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Vol. 12 116–140
- Ganzer C., Gaspard P., Galvez L., Huyard A., Dumouthier N., Schwartzbrod J., (2001). Monitoring of bacterial and parasitological contamination during various treatment of sludge, *Water Research*, Vol. 35, Is 16, pp 3763-3770
- Garrec N., Picard-Bonnauad F., Pourcher A.M., (2003). Occurrence of *Listeria* sp and *Listeria monocytogenes* in sewage sludge used for land application: effect of dewatering, limiting and storage in tank on survival of *Listeria* species, *FEMS-Immunology and Medical Microbiology*, Vol. 135, pp 275-283
- Gerba, C.P. (1983). *Pathogens, in Utilisation of municipal wastewater and sludge on land*, (Ed) A.L. Page et al, University of California, Riverside, CA 92521
- Ghosh S., Ramsden S., Lapara T. , (2009). The role of anaerobic digestion in controlling the release of tetracycline resistance genes and class 1 integrons from municipal wastewater treatment plants, *Applied Microbiology and Biotechnology*, Jul 14
- Gordon Melita A , (2008). Salmonella infections in immunocompromised adults, *Journal of Infection*

- Goyal, S., Dhull, S.K., Kapoor, K.K., (2005). Chemical and biological changes during composting of different organic wastes and assessment of compost maturity, *Bioresource Technology*, Vol. 96, 1584-1591
- Gray N.F. (1990). Activated sludge: Theory and Practise, *Oxford University Press*, New York, USA
- Hall J.E. (1995). Sewage sludge production, treatment and disposal in the European Union, *J CIWEM*, Vol. 9:335-42
- Hassen A., Belguith K., Jedidi A., Cherif A., Cherif M., Boudabous A., (2001). Microbial characterization during composting of municipal solid waste, *Bioresource Technology*, Vol. 80, pp 217-225
- Hayes B., (1997). Potential for parasitic disease transmission with land application of sewage plant effluents and sludges, *Water Research*, Vol. 11, Is 7, pp 583-595
- Herman, D.J. and Gerding, D.N., (1991). Screening and treatment of infections caused by resistant enterococci, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 35:215-219
- Hernandez Rodrigo T, Elias Waldir P, Vieira Mônica A M, Gomes Tânia A T, (2009). An overview of atypical enteropathogenic *Escherichia coli*, *FEMS Microbiology Letters*. May 27
- Hirsch, R., Ternew, T.A., Haberer, K., Mehlich, A., Ballwanz, F., and Kratz, K-L (1998). Determination of antibiotics in different water compartments via liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry, *Journal of Chromatography*, Vol. 1, p. 815
- Izrail S. Turovskiy, D. Sc., (2009). Technological Improvements for the Aerobic Digestion of Sludge, *Water Engineering & Management*, Volume: 148 No:8
- Javier Martínez-Marcos F., José Manuel Lomas-Cabezas, Carmen Hidalgo-Tenorio, Javier de la Torre-Lima, Antonio Plata-Ciézar, José María Reguera-Iglesias, Josefa Ruiz-Morales, Manuel Márquez-Solero, Juan Gálvez-Acebal, Aristides de Alarcón-González, (2009). Enterococcal endocarditis: A multicenter study of 76 cases, *Enferm Infecc Microbiol Clin*. May 22
- Jean, D.S., Chang Bea-Ven, Lia, G.S., Tsou, G.W., Lee, D.J., (1999). *Reduction of microbial density level in sewage sludge through pH adjustment and ultrasonic treatment*, Taiwan
- Jenkins D., Richard G.M. and Daigger T.G. (1993). Manual on the Causes and control of Activated Sludge Bulking and Foaming, 2nd ed., *Lewis Publishers Inc*, pp. 3-82, Chelsea, Michigan, USA
- Jens B., Jacob J., Jacobsen H., (2002). *European Topic Centre on Waste 2002, Review of selected waste streams: Sewage sludge, construction and demolition waste, waste oils, waste from coal-fired power plants and biodegradable municipal waste*, European Environment Agency©EEA, Copenhagen
- Jensen J., Jepsen S.E., (2005). The production, use and quality of sewage sludge in Denmark, *Waste Management*, Vol. 25, 239-247
- Jett B D, Huycke M M, Gilmore M.S., (1994). Virulence of enterococci, *Clinically Microbiology Reviews*, Oct ;7 (4):462-78
- Juang D.F. and Hwu C.S., (2003). Agar plated bacteria found in the activated sludge of lab-scale SBR and CFSTR systems, *Bioresource Technology*, pp 1-5

- Kääntee U., Zevenhoven R., Backman R., Hupa M., (2004). Cement manufacturing using alternative fuels and the advantages of process modelling, *Fuel Process Technol*; Vol. 85:293–301
- Khiari B., Marias F. Zagrouba, Vaxelaire J, (2004). Analytical study of the pyrolysis process in a wastewater treatment pilot station, *ScienceDirect*, Volume 167
- Koneman, E.W., Allen, S.D., Janda, W.M., Schreckenberger, P.C. and Winn Jr, W.C. (1992). *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 4th ed., J.B. Lippicott Company
- Konrad , J.D., Mayer, H.K., Kneifel, W. (2003). Methods used for the isolation, enumeration, *International Journal of Food Microbiology*, Vol. 88, 147-164
- Kouloumbis , P., et al., (2000). Environmental problems from disposal of sewage sludge in Greece, *Int. J. Environm. Health Res.*, Vol. 10(1):77-83
- Kraus, J., (2004). Möglichkeiten der stofflichen Verwertung von Klärschlämmen in der Bauindustrie, *Müll und Abfall*, pp: 333-340
- Kümmerer, K., (2004). Resistance in the environment, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, Vol. 54: 311-320
- Kyriacou A., Drakopoulou S, Georgaki I, Fountoulakis M, Mitsou E, Lasaridi K E, Manios Y, Manios T, (2008). Screening for faecal contamination in primary schools in Crete, Greece, *Child:Care, Health and Development*, 2008 Nov 12
- Lalitha, M.K. (2005). ‘Manual on antimicrobial susceptibility testing’, Indian Association of Medical Microbiologists
- Li X., Mobley H. L T, (2002). Vaccines for *Proteus mirabilis* in urinary tract infection, *International Journal of Antimicrobial Agents*, Jun ;Vol 19 (6):461-5
- Liu Dongyou, Ainsworth A Jerald, Austin Frank W, Lawrence Mark L, (2003). Identification of *Listeria innocua* by PCR targeting a putative transcriptional regulator gene, *FEMS Microbiology Letters*, Jun; Vol. 223 (2):205-10
- Logan,T.J., Harrison, B.J., (1995). Physical characteristics of alkaline stabilized sewage sludge [N-viro soil] and their effects on soil physical properties., *J. Environ. Quality*, Vol. 24(1): 153-164
- Lovett, J., (1988). Isolation and enumeration of *Listeria monocytogenes*, *Food Technology*, Vol. 42(4), 172-175
- Low D.E., Keller N., Barth A., Jones R.N. (2001). Clinical prevalence, antimicrobial susceptibility, and geographic resistance patterns of enterococci: Results from SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997-1999. *Clin. Infect. Dis.* 32 (Suppl. 2): 5:133-145
- Lundin M, Olofsson M, Pettersson G, Zetterlund H., (2004). Environmental and economic assessment of sewage sludge handling options, *Resource Conservat. Recycl.*, Vol. 41:255–78
- Lundin Jessica I , David A Dargatz, Bruce A Wagner, Jason E Lombard, Ashley E Hill, Scott R Ladely, Paula J Fedorka-Cray, (2008). Antimicrobial drug resistance of fecal *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. isolates from United States dairy cows, *Foodborne Pathogens and Disease*, ; Vol. 5 (1):7-19
- Manganello S., Tayara A, B Perazzi, L Neira, A Famiglietti, L Pugliese, P Santini, C Vay, (2001). Characterization and distribution of *Citrobacter* species in a university hospital, *Enferm Infecc Microbiol Clin.*, Jan ;Vol. 19 (1):11-4
- Mara D.D., H.W. Pearson, (1987). *Waste Stabilization Ponds. Design Manual for Mediterranean WHO*, Regional Office for Europe, Copenhagen

- Maraki S , Samonis G., Mantadakis E., Nioti E., Tselentis Y., (2006). Serotype distribution and antimicrobial resistance of Salmonella enterica from patients with gastroenteritis in Crete, Greece, *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, Feb 24
- Martínez J., Baquero F., (2002). Interactions among strategies associated with bacterial infection: pathogenicity, epidemicity, and antibiotic resistance, *Clinical Microbiology Reviews*, Oct ;Vol. 15 (4):647-79
- Mayhall, C.G., (1996). Prevention and control of vancomycin resistance in gram-positive coccal microorganisms: fire prevention and fire fighting, *Infect. Control Hosp. Epidemiol.*, Vol.17: 353-355
- Mc Mohan M Ann S, Xu Jiru, Moore John E, Ian S Blair, David A McDowell, (2006). Environmental Stress and Antibiotic Resistance in Food Related Pathogens, *Applied Environmental Microbiology*, Volume 1
- Metcalf, E., (1991). Wastewater engineering - treatment, disposal and reuse, 3rd ed., *USA McGraw Hill*, New York
- Miranda J M , Mondragón A C, Martinez B, Guarddon M, Rodriguez J A, (2009). Prevalence and antimicrobial resistance patterns of Salmonella from different raw foods in Mexico, *Journal of food protection* May; Vol. 72 (5):966-71
- Mohan M Ann S Mc, Xu Jiru, Moore John E, Blair Ian S, McDowell David A, (2006). Environmental Stress and Antibiotic Resistance in Food Related Pathogens, *Applied Environmental Microbiology*, Volume 1
- Monnet Dominique L., Scientific Advice Unit,(2008). *Ευρωπαϊκή Ημέρα κατά των Αντιβιοτικών*, MB 13 Helsinki, 17-18 June
- Murray, B.E., (1990). The life and times of the enterococcus, *Clinical Microbiology Reviews*, Vol. 3:45-65
- Murray, B.E., (1997). Vancomycin-resistant enterococci, *The American Journal of Medicine*, Vol. 102(3):284-293
- Nadal M., . Schuhmacher M, Domingo J., (2008). Cost-benefit analysis of using sewage sludge as alternative fuel in a cement plant: a case study, *Environmental science and pollution research international*, Nov 12
- Nagulapally Sujatha R , Aqeel Ahmad, Adam Henry, George L Marchin, Ludek Zurek, Alok Bhandari, (2009). Occurrence of ciprofloxacin-, trimethoprim-sulfamethoxazole-, and vancomycin-resistant bacteria in a municipal wastewater treatment plant, *Water Environmental Research*, Jan ; Vol. 81 (1):82-90
- Nataro J.P., Kaper J.B., (1998). Diarrheagenic Escherichia coli, *Clinical Microbiology Reviews*, Jan ;Vol. 11 (1):142-201
- National Research Council, (1996). Use of reclaimed water and sewage sludge in food crop production, *Natl. Academy Press*, Washington, DC
- NCCLS, (2003a). *Approved standard M2-A8. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests*, 8th ed., NCCLS, Wayne, Pa
- NCCLS, (2003b). *M100-S13(M2) Disk Diffusion Supplemental Tables*, NCCLS, Wayne, Pa
- Normark B. H., Normark S., (2002). Evolution and spread of antibiotic resistance, *Internal Medicine*, Aug ; Vol.252 (2):91-106
- Odegaard H., Paulsrud B., Karlsson I., (2002). Wastewater sludge as a resource: sludge disposal strategies and corresponding treatment technologies aimed at sustainable handing of wastewater sludge. *Water Sci Technol*, Vol. 46(10):295–303
- Parry Christopher M., Threlfall E., (2008). Antimicrobial resistance in typhoidal and nontyphoidal salmonellae, *Current Opinion in Infectious Diseases*, Vol. 21, Issue 5, p.:531-8

- Perrin Monique , Bemer Michel , Delamare Catherine , (2003). Fatal case of *Listeria innocua* bacteremia, *Journal of clinical Microbiology*, Nov; Vol. 41 (11):5308-9
- Qadri Firdausi, Svennerholm A.M., Faruque A. S. G, Sack R. B., (2005). Enterotoxigenic *Escherichia coli* in developing countries: epidemiology, microbiology, clinical features, treatment, and prevention, *Clinical Microbiology Reviews*, Jul ;Vol. 18:465-83
- Raffi H.S., Bates Jr J. M , Laszik Z. , Kumar S., (2009). Tamm-Horsfall Protein Protects Against Urinary Tract Infection by *Proteus Mirabilis*, *Journal of Urology*. Mar 18
- Rapose A, Lick S.D, Ismail N., (2008). *Listeria grayi* bacteremia in a heart transplant recipient., *Transplant Infectious Disease*
- REI, (1999). Examen de la situation de la filière de recyclage agricole des boues d'épuration urbaines en Europe et dans divers autres pays du monde, *ADEME*
- Rice, L.B., (2001). Emergence of vancomycin-resistant enterococci, *Emerging Infectious Diseases*, Vol. 61: 374-376
- Richard, T.L., Hamelers H.V. M., Veeken A., Silva T., (2002). Moisture relationships in composting processes, *Compost Science and Utilization*, Vol. 10(4), 286-302
- Rocha S. P. D. , Pelayo J. S., Elias W. P., (2007). Fimbriae of uropathogenic *Proteus mirabilis*, *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, Jul 19;:2007
- Rocktaschel, T. (2005). *Biogeography of Antibiotics Resistance of Streptococci isolated from Sewage Sludge in Greece*, Student Research Project between Harokopio University and The Bauhaus University of Weimar
- Samonis G , D Karageorgopoulos, D Kofteridis, D Matthaïou, V Sidiropoulou, S Maraki, M Falagas, (2008). *Citrobacter* infections in a general hospital: characteristics and outcomes, *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*
- Schmid Michael W , Eva Y W Ng, Lampidis Robert, Emmerth Melanie, Walcher Marion, Kreft Jürgen, Goebel Werner, Wagner Michael, Schleifer Karl-Heinz, (2005). Evolutionary history of the genus *Listeria* and its virulence genes. *Systematic and Applied Microbiology*, Jan ; Vol. 28 (1):1-18
- Selivanovskaya, S., Latypova, V.Z., Kiyamova, S.N., Alimova, F.K. (2001). Use of microbial parameters to assess treatment methods of municipal sewage sludge applied to gray forest soil of Tatarstan, *Agriculture Ecosystems and Environment*, Vol. 86, 145-153
- Singleton, P., (1999). *Bacteria in Biology, Biotechnology and Medicine*, 5th ed., John Wiley&Sons Ltd., London
- Schmid M.W., Eva Y W Ng, Lampidis Robert, Emmerth Melanie, Marion Walcher, Jürgen Kreft, Werner Goebel, Michael Wagner, Karl-Heinz Schleifer,(2005). Evolutionary history of the genus *Listeria* and its virulence genes, *Systematic and Applied Microbiology*, Jan ;Vol. 28 (1):1-18
- Smith A.M, Govender N, Keddy K. H, (2009). Quinolone-resistant *Salmonella Typhi* in South Africa, 2003-2007, *Epidemiology and Infection*, Jun; Vol. 1-5
- Sorum, H., L' Abee-Lund, T.M., (2002). Antibiotic resistance in food-related bacteria-a result of interfering with the global web of bacterial genetics, *International Journal of Food Microbiology*, Vol. 78, 43-56
- Schaub-Szabo, S.M., Leonard, J.J., (1999), Characterizing the bulk density, *Compost Science and Utilization*, Vol. 7(4), pp 15-24

- Standing Committee of Analysts, (2002). The Microbiology of Drinking Water-Part 9-Methods for the isolation and enumeration of Salmonella and Shigella by selective enrichment, membrane filtration and multiple tube most probable number techniques, Methods for the Examination of Waters and Associated Materials, in the series, *Environment Agency*
- Strauch, D., (1998). Pathogenic micro-organisms in sludge; Anaerobic digestion and disinfection methods to make sludge usable as a fertiliser, *European water Management*, Vol. 1 (2)12-26
- Schuhmacher M., Nadal M. , Domingo J. , (2009). Environmental monitoring of PCDD/Fs and metals in the vicinity of a cement plant after using sewage sludge as a secondary fuel, *Chemosphere*. 2009 Jan 16
- Tejedor Junco, M.T., Gonzalez Mrtin, M., Pita Toledo, M-L., Lupiola Gomez, P. and Martin Barrasa, J.L. (2001). Identification and antibiotic resistance of faecal enterococci isolated from water samplpes, *International Journal Hygiene Environmental Health*, Vol. 203, 363-368
- Teuber M, (1999). Spread of antibiotic resistance with food-borne pathogens, *Cellular and Molecular Life Sciences*, Nov 30; Vol. 56 (9-10):755-63
- Thal, L.A., Zervos, M.J. (1999). Occurrence and epidemiology of resistance to virginiamycin and streptogramins, *J. Antimicrobial Chemother*, Vol. 43, 171-176
- Todar Kenneth, Ph.D., (2008). Bacterial Resistance to Antibiotics, *Todar's online textbook of bacteriology*, Τελευταία ενημέρωση 7 Σεπτεμβρίου 2009
- Tsang, R.K., Smith, J.E., (2005). Challenges in Sludge Stabilization: Regulatory Compliance in the Design and Operation of Facilities, *J. Envir. Engrg.*, Vol. 131(6): 834-837.
- Tsuda, H., Yamashita, Y., Shibata, Y., Nakano, Y. and Koga, T., (2002). Genes Involved in Bacitracin Resistance in Streptococcus mutans, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 46(12):3756-3764
- Urban, D.L., Antal, M.J., (1982). Study of the kinetics of sewage sludge pyrolysis using DSC and TGA, *Fuel*; Volume: 61:9, United Kingdom
- U.S. EPA, (1995). Solid Wate Disposal – Emission Factors, Section 2.2., Sewage Sludge Incineration, July 1998
- U.S. EPA, (1998). Method 1682: Salmonella spp. in Biosolids by enrichment, Selection and Biochemical Characterization, August 1998
- U.S. EPA, (1999). Environmental regulations and technology, Control of pathogens and vector attraction in sewage sludge; *Report EPA/625/R-92/013*, US EPA, Washington DC
- Vilanova, X., Mareno, A., Cerdà-Cuéllar, M. and Blanch, A.R., (2004). The composition and persistence of faecal coliforms and enterococci populations in sewage treatment plants, *Journal of Applied Microbiology*, Vol. 96: 279-288
- Wagner Bruce A, Barbara E Straw, Paula J Fedorka-Cray, David A Dargatz, (2008). Effect of antimicrobial dosage regime on Salmonella and Escherichia coli isolated from feeder swine, *Applied Environmental Microbiology*, Jan
- Walsh D, Duffy G, Sheridan J J, Blair I S, McDowell D A , (2001). Antibiotic resistance among Listeria, including Listeria monocytogenes, in retail foods. *Journal of Applied Microbiology*, Apr ; Vol. 90 (4):517-22
- Wegener, H.C., Aarestrup, F.M., Jensen, L.B., Hammerum, A.M. and Bager, F., (1999). Use of antimicrobial growth promoters in food animals and Enterococcus faecium resistance to therapeutic antimicrobial drugs in Europe, *Emerging Infectious Diseases*, Vol. 5:329-335

- Werther J., Ogada, T., (1999). Sewage sludge combustion, *Progress in Energy and Combustion Science*, Vol. 25, pp. 55-116
- White D G, Zhao S, Sudler R, Ayers S, Friedman S, Chen S, McDermott P F, McDermott S, Wagner D D, Meng J , (2001). The isolation of antibiotic-resistant salmonella from retail ground meats, *The New England Journal of Medicine*, Volume 18, p. 345, Volume 16, p. 1147-54
- Wieland U., (2003). Water use and waste water treatment in the EU and in Candidate Countries, Statistics in focus, *Environment and energy*, Theme 8-13
- Williamson, R. et al., (1985). One or two low affinity penicillin-binding proteins may be responsible for the range of susceptibility of *Enterococcus faecium* to benzylpenicillin, *Journal of Genetic Microbiology*, Vol. 131: 1933-1940
- Witte, W., (2000). Selective pressure by antibiotic use in livestock, *International Journal Antimicrob. Agents*, Vol. 16, S19-S24
- Woc-Colburn Laila, Bobak David A, (2009). The expanding spectrum of disease due to salmonella: an international perspective, *Curr Infect Dis Rep.* Mar ; Vol. 11 (2):120-4
- WHO (1989). Health Guidelines for the Use of Wastewater in Agriculture and Aquaculture. *Report of a WHO Scientific Group WHO Technical Report Series 778*, WHO, Geneva, Switzerland
- WRC, (1999): Manual of good practice for the use of sewage sludge in land reclamation
- Zhang T. , Ming Zhang, Xuxiang Zhang, Herbert Hanping Fang, (2009). Tetracycline resistance genes and tetracycline resistant lactose-fermenting Enterobacteriaceae in activated sludge of sewage treatment plants, *Environmental Science and Technology*, May; Vol. 43 (10):3455-60
- Zessner M., Nowak O., (1999). Considerations on the quality of sewage sludge for agricultural use, *Specialized Conference on disposal and utilisation of sewage sludge: Treatment methods and application modalities*, October 13-15, Athens

β. Ελληνική βιβλιογραφία

- Αγγελάκης Α., Τσαγκαράκης Κ., Δεσποτάκης Β., Παπαδογιαννάκης Ν., (1999). *Καταγραφή και χαρτογράφηση έργων επεξεργασίας αστικών υγρών αποβλήτων*, Τεχνική έκθεση, ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε/Ινστιτούτο Ηρακλείου, Υ.ΠΕ.ΧΩ.ΔΕ
- Αγγελάκης Α., Διαβάτης Η., Ευμορφοπούλου Α., Κάρτσωνας Ν., Μαμαής Δ., Μποσδογιάννη Α., Στάμου Α., Βούρβαχη Ν., (2005). «Εναλλακτικοί τρόποι διαχείρισης των παραπροϊόντων από εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων», ΤΕΕ, Αθήνα
- Ανδρεαδάκης, Α. (2001). «Διαχείριση στερεών αποβλήτων και ιλύος. Αγροτική αξιοποίηση ιλύος». Τετραήμερο Σεμινάριο Κατάρτισης, Διαχείριση οργανικών αποβλήτων και υπολειμμάτων, 25-30 Μαΐου 2001, Αθήνα
- Ανδρεαδάκης, Α., Κατσίρη, Α., Μαμαής, Δ., (2001). *Επεξεργασία και Διάθεση αποβλήτων: Τεχνολογία Αντιμετώπισης Περιβαλλοντικών Επιπτώσεων*, Τόμος Α, Πάτρα, ΕΑΠ

- Απόφαση 2001/2455/EK. «Σχετικά με τη θέσπιση του καταλόγου ουσιών προτεραιότητας στο τομέα της πολιτικής των υδάτων και τροποποίησης της Οδηγίας 2000/60/EK»
- Βαβίζος Γ., (1995). *Βιολογικός καθαρισμός*, γ' έκδοση ΕΛΚΕΠΑ, Αθήνα
- ΕΛ.ΙΝ.Υ.Α.Ε., (2004). Μελέτη στα πλαίσια του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Ανταγωνιστικότητα»: *Εκτίμηση και πρόληψη των επαγγελματικών κινδύνων στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων-Βιολογικών καθαρισμών*, Υπουργείο Ανάπτυξης
- Επιτροπή των Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων, (2003). *Έκθεση της Επιτροπής σχετικά με την εφαρμογή της Οδηγίας 86/278/ΕΕ*.
- Ευρωπαϊκή Ένωση (2009), <http://europa.eu.int>, Εύρεση στις 1 Αυγούστου 2009
- ΕΟΦ, (1996). *Εθνικό Συνταγολόγιο*, Εκδόσεις ΕΟΦ, Αθήνα
- Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 1831/2003. «Σχετικά με τις πρόσθετες ύλες που χρησιμοποιούνται στη διατροφή των ζώων»
- Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 776/2006. «Σχετικά με την τροποποίηση του παραρτήματος VII του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 882/2004 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου όσον αφορά τα κοινοτικά εργαστήρια αναφοράς»
- Καποτάς, Ν.Μ., (2003). *Παθογόνα Μικρόβια και Λοιμώξεις*, Αθήνα
- Κάρτσωνας, Ν. (2005). Εναλλακτικοί Τρόποι Διαχείρισης των Παραπροϊόντων από Μικρές Εγκαταστάσεις Επεξεργασίας Λυμάτων, *Συνοπτικό Πόρισμα Ομάδας Εργασίας, Διαχείριση Υγρών Αποβλήτων με Αποκεντρωμένα Συστήματα Επεξεργασίας*, 14-15.10.2005, ΤΕΕ
- Κουλουμπής, Π., Τσαντήλας, Χ., Γκαντίδης, Ν., (2007). *Εγχειρίδιο Ορθής Γεωργικής Πρακτικής για την Ενδεδειγμένη Αξιοποίηση της Ιλύος των Αστικών Λυμάτων*, Αθήνα: Εκδόσεις Υπουργείου Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων, ISBN 978-960-00-2015-1
- Κουιμτζής Θ., Φυτιανός Κ., Σαμαρά - Κωνσταντίνου Κ., (2004). *Έλεγχος ρύπανσης περιβάλλοντος*, University Studio Press, ISBN: 9789601213507, Θεσσαλονίκη
- ΚΥΑ 80568/4225/22.03.1991. «Μέθοδοι, όροι και περιορισμοί για τη χρησιμοποίηση στη γεωργία της ιλύος που προέρχεται από επεξεργασία οικιακών και αστικών λυμάτων, ΦΕΚ 641/Β'/07.08.1991»
- ΚΥΑ 114218/31.10.1997. «Κατάρτιση πλαισίου προδιαγραφών και γενικών προγραμμάτων διαχείρισης στερεών αποβλήτων, ΦΕΚ 1016/Β'/ 17.11.1997»
- ΚΥΑ 29407/3508/10.12.2002. «Μέτρα και όροι για την υγειονομική ταφή των αποβλήτων, ΦΕΚ 1572/Β'/16.12.2002»
- ΚΥΑ 50910/2727/16.12.2003. «Μέτρα και Όροι για τη Διαχείριση Στερεών Αποβλήτων, Εθνικός και Περιφερειακός Σχεδιασμός Διαχείρισης, ΦΕΚ1909/ Β'/22.12.2003, συμμόρφωση με την Οδηγία 91/156/ΕΟΚ»
- Κυριακού Μ., (2002). *Σημειώσεις εφαρμοσμένης μικροβιολογίας*, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο Αθηνών
- Κώτσου, Μ., Τασιοπούλου, Σ., Κυριακού, Μ., (2003). *Εργαστηριακές ασκήσεις εφαρμοσμένης μικροβιολογίας*, Αθήνα: Εργαστήριο Μικροβιολογίας Χαροκοπείου Πανεπιστημίου Αθηνών
- Λαμπράκης Μ., Μαρκάκης Α., Σπανάκης Ν., (2002). Επεξεργασία ιλύς του βιολογικού καθαρισμού με ανάμειξη με κλαδοκάθαρα του δήμου Ηρακλείου για

την παραγωγή οργανικού λιπάσματος – κόμποστ, *Πτυχιακή εργασία*, Ηράκλειο Κρήτης

- Λέκκας Δ.Θ. (2001). *Διαχείριση Υγρών Αποβλήτων*, Κόσμος ΠΕΜΕΡ ΕΠΕ, Αθήνα
- Μαϊπά Β., (2005). «*Επίδραση φυτοφαρμάκων στην επιβίωση δεικτών μόλυνσης υδάτων*», Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιατρική Σχολή, Τομέας Κοινωνικής Ιατρικής και Ψυχικής Υγείας, Εργαστήριο Υγιεινής και επιδημιολογίας
- Μάλλιου Μ., (2006), *Ποιοτικά χαρακτηριστικά ιλύος από εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων του Ελλαδικού χώρου*, Πτυχιακή εργασία, Αθήνα Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο Αθηνών
- Μανιός, Β. Ι., Μανιαδάκης, Κ.Μ.(2001). Προδιαγραφές ποιότητας κομπόστ, *Ολοκληρωμένη διαχείριση οργανικών αποβλήτων και υπολειμμάτων, Διημερίδα Κομπόστ- Νετ*, Αθήνα, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο Αθηνών
- Μανιός, Θ., (2001). Βασικές αρχές κομποστοποίησης – θεμελιώδεις παράμετροι και διεργασίες, *Διαχείριση Οργανικών Αποβλήτων και Υπολειμμάτων, Τετραήμερο σεμινάριο κατάρτισης*, Αθήνα, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο Αθηνών
- Μαυρίδου, Α., Παπαετροπούλου, Μ., (1995). *Μικροβιολογία του Υδάτινου Περιβάλλοντος, Βασικές Αρχές*, Εκδόσεις Τραυλός-Κωσταράκη, Αθήνα
- Μόρτογλου Τ., Μόρτογλου Κ., (2002). *Διατροφή από το σήμερα για το αύριο*, Τόμος II, Εκδόσεις Γιαλλέλη, Αθήνα
- Νικολαΐδης Σ., (2008). Σύστημα βιολογικού καθαρισμού αστικών λυμάτων (ενεργού ιλύος), *Πτυχιακή εργασία*, ΑΤΕΙ Δυτικής Μακεδονίας, Σχολή Τεχνολογικών Εφαρμογών, Τμήμα μηχανολογίας
- Ντούλας Σ., Τόγιας Ν., Χρυσανθόπουλος Π., Τρικαλίτη Α., Σκούλλος Μ., (2007). *Βιολογικός καθαρισμός, Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών: ΔιΧηNET*, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Δευτεροβάθμια Εκπαίδευση
- Οδηγία 86/278/ΕΟΚ. «Σχετικά με τη προστασία του περιβάλλοντος και ιδίως του εδάφους κατά τη χρησιμοποίηση της ιλύος καθαρισμού λυμάτων στη γεωργία»
- Οδηγία 91/271/ΕΟΚ. «Σχετικά για την επεξεργασία των αστικών λυμάτων»
Οδηγία 96/61/ΕΚ. «Σχετικά με την ολοκληρωμένη πρόληψη και τον έλεγχο της ρύπανσης»
- Οδηγία 98/15/ΕΟΚ. «Σχετικά με την τροποποίηση της Οδηγίας 91/271/ΕΟΚ»
- Οδηγία 1999/30/ΕΚ. «Σχετικά με τις οριακές τιμές διοξειδίου του θείου, διοξειδίου του αζώτου και οξειδίων του αζώτου, σωματιδίων και μολύβδου στον αέρα του περιβάλλοντος»
- Οδηγία 1999/31/ΕΚ. «Σχετικά με την υγειονομική ταφή των αποβλήτων»
- Οδηγία 2000/60/ΕΚ. «Σχετικά με τη θέσπιση πλαισίου κοινοτικής δράσης στο τομέα της πολιτικής των υδάτων»
- Οδηγία 2000/76/ΕΚ. «Σχετικά με την με την αποτέφρωση των στερεών αποβλήτων»
- Παπαδόπουλος Α., Παπαδόπουλος Φ., Παρισσόπουλος Γ., Ζδράγκας Α., Αναγνωστόπουλος Κ., Μεταξά Ε., Πατέρας Δ., Κωτσόπουλος Σ., Μπούντλα Α., (1998). Αποτελέσματα από την λειτουργία των δεξαμενών σταθεροποίησης στην

περιοχή του Γαλλικού ποταμού Ν.Θεσ/νίκης, *Πρακτικά Ημερίδας: Ανάκτηση Αστικών Υγρών Αποβλήτων με χρήση Φυσικών Συστημάτων και επαναχρησιμοποίησή τους για Άρδευση και Ανάπλαση Υγροτόπων*, Θεσ/νικη

- Σταμέλος Κ., (2000). Εξέταση των τεχνολογιών πρόληψης και περιορισμού της ρύπανσης δραστηριοτήτων του κλάδου διαχείρισης αποβλήτων, *Υποβολή προτάσεων για εφαρμογή των βέλτιστων διαθέσιμων τεχνικών*, Οδηγία 96/61/EC, Παράρτημα Ι, εδάφιο 5
- Στάμου, Α., (1995). *Βιολογικός καθαρισμός αστικών αποβλήτων*, Εκδόσεις Παπασωτηρίου, Αθήνα
- ΥΠΕΧΩΔΕ (2009), <http://natura.minenv.gr/>, Εύρεση στις 26 Αυγούστου 2009
- Χαλαβελάκης, Γ.Ε., Λεγάκης, Ν.Ι., Περόγαμβρος, Τ.Η., (1994). *Αντιβιοτικά & Συνήθεις Λοιμώξεις*, 2^η έκδοση, Εκδόσεις Χ. Χαλεβελάκη
- Χριστοφάκη Μ., (2006). Διερεύνηση της καταλληλότητας των φυτικών ειδών *nicotiana glauca* και *alyssum baldaccii* για βιοεξυγίανση πρυπασμένων εδαφών με βαρέα μέταλλα, *Πτυχιακή εργασία*, Τ.Ε.Ι. Κρήτης, Σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1

Οδηγίες:

- Οδηγία 86/278/ΕΟΚ του Συμβουλίου της 12ης.06.1986 σχετικά με τη προστασία του περιβάλλοντος και ιδίως του εδάφους κατά τη χρησιμοποίηση της ιλύος καθαρισμού λυμάτων στη γεωργία. Η Οδηγία αυτή συνιστά το σημαντικότερο νομικό μόρφωμα για το υπ' όψη αντικείμενο, η οποία, πρόκειται στο άμεσο μέλλον να αναμορφωθεί
- Οδηγία 91/271/ΕΟΚ του Συμβουλίου της 21ης.05.1991 για την επεξεργασία των αστικών λυμάτων, βάσει της οποίας καθορίζεται, μεταξύ των άλλων, ότι η ιλύς πρέπει να επαναχρησιμοποιείται, όταν τούτο κρίνεται σκόπιμο και να λαμβάνονται τα κατάλληλα μέτρα για την ελαχιστοποίηση των τυχόν επιζήμιων επιδράσεων στο περιβάλλον. Η Οδηγία αυτή συνιστά το σημαντικότερο νομικό μόρφωμα για το θέμα της επεξεργασίας των αστικών λυμάτων, η οποία έχει επίσης υποστεί αρκετές συμπληρώσεις
- Οδηγία 96/61/ΕΚ του Συμβουλίου της 24^{ης}.09.1996 για την ολοκληρωμένη πρόληψη και τον έλεγχο της ρύπανσης (Οδηγία ΟΠΕΡ, IPPC Directive) με την εισαγωγή κριτηρίων που αναφέρονται σε βέλτιστες διαθέσιμες πρακτικές (κριτήρια BAT, best available techniques) ενεργειακής απόδοσης
- Οδηγία 98/15/ΕΚ της Επιτροπής της 27^{ης}.02.1998 για τη τροποποίηση της Οδηγίας 91/271/ΕΟΚ.
- Οδηγία 1999/30/ΕΚ του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου της 22ης.04.1999 σχετικά με τις οριακές τιμές διοξειδίου του θείου, διοξειδίου του αζώτου και οξειδίων του αζώτου, σωματιδίων και μολύβδου στον αέρα του περιβάλλοντος.
- Οδηγία 1999/31/ΕΚ του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου της 26ης.04.1999 για την υγειονομική ταφή των αποβλήτων. Πρόκειται για το βασικό νομικό μόρφωμα που ρυθμίζει τα σχετικά θέματα.
- Οδηγία 2000/60/ΕΚ του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου της 23ης.10.2000 για τη θέσπιση πλαισίου κοινοτικής δράσης στο τομέα της πολιτικής των υδάτων. Πρόκειται για το βασικό νομικό μόρφωμα που ρυθμίζει τα σχετικά θέματα.

- Οδηγία 2000/76/EK του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου αναφορικά με την αποτέφρωση των στερεών αποβλήτων, στο πλαίσιο της οποίας προβλέπονται, όχι μόνον οι γενικής σημασίας ειδικευμένες εγκαταστάσεις αποτέφρωσης, αλλά και οι εγκαταστάσεις συνδυασμένης αποτέφρωσης, σκοπός των οποίων είναι η παραγωγή ενέργειας και υλικών προϊόντων.
- Απόφαση 2001/2455/EK του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου της 23ης.11.2001 για τη θέσπιση του καταλόγου ουσιών προτεραιότητας στο τομέα της πολιτικής των υδάτων και τροποποίησης της Οδηγίας 2000/60/EK,
- Ανακοίνωση της Επιτροπής της το Συμβούλιο, το Ευρωπαϊκό Κοινοβούλιο και την Οικονομική και Κοινωνική Επιτροπή υπ' αριθ. COM (2001) 593 τελικό της 24ης.10. 2001 με θέμα τη Στρατηγική της Κοινότητας για της διοξίνες, τα φουράνια και τα πολυχλωριωμένα διφαινύλια (Κουλουμπής κ.ά., 2007)

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 2

Βιολογικός καθαρισμός Χαλκίδας

Ο βιολογικός καθαρισμός της Χαλκίδας επεξεργάζεται περίπου 12.000 κυβικά λυμάτων την ημέρα. Από αυτά επεξεργάζονται τα 1.000 κυβικά/μέρα, ενώ υπάρχει η δυνατότητα να φτάσει στα 4.000 κυβικά. Μετά το φρεάτιο εισόδου στον βιολογικό καθαρισμό υπάρχει αμμοσυλέκτης και λιποσυλέκτης. Κατόπιν, πραγματοποιείται πρωτοβάθμια καθίζηση, απομακρύνεται δηλαδή η άμμος καθώς και τα λίπη που προέρχονται από τα απορρίμματα της πόλης. Οι συνθήκες κάτω από τις οποίες γίνονται οι διαδικασίες της χώνευσης είναι αερόβιες. Στις δεξαμενές χλωρίωσης που ακολουθούν, σκοτώνονται οι παθογόνοι μικροοργανισμοί και το νερό καταλήγει όταν βγαίνει έξω να είναι καθαρό.

Βιολογικός καθαρισμός Αλεξανδρούπολης

Η μονάδα επεξεργασίας λυμάτων της Αλεξανδρούπολης δέχεται τα αστικά λύματα της πόλης καθώς και τα βοθρολύματα. Ιλύς παράγεται από την πρωτοβάθμια και δευτεροβάθμια καθίζηση των λυμάτων, η οποία καταλήγει στον παχυντή με στόχο την μείωση του όγκου της. Ακολουθεί αναερόβια χώνευση με ταυτόχρονη ανάδευση της λάσπης. Κατά το στάδιο αυτό παράγεται βιοαέριο, το οποίο αξιοποιείτε για την θέρμανση της λάσπης αλλά και για την κάλυψη των ενεργειακών αναγκών της ίδιας της

εγκατάστασης. Η σταθεροποίηση της λάσπης επιτυγχάνεται με προσθήκη πολύ – ηλεκτρολύτη και κατόπιν γίνεται μηχανική αφυδάτωση με ταινιοφιλτροπρέσες. Η διάθεση της αφυδατωμένης ιλύος γίνεται στο Χ.Υ.Τ.Α της περιοχής.

Βιολογικός καθαρισμός Καρδίτσας

Η μονάδα επεξεργασίας λυμάτων της Καρδίτσας περιλαμβάνει δευτεροβάθμιο καθαρισμό. Η λάσπη που αποβάλλεται από τις δεξαμενές αερισμού, οδηγείτε σε παχυντές βαρύτητας για πάχυνση. Τελικά μετά από αφυδάτωση σε κλίνες ξήρανσης καταλήγει σε χωματερή.

Βιολογικός καθαρισμός Καβάλας

Η εγκατάσταση που βρίσκεται σε λειτουργία από το 1990 προβλέπει την επεξεργασία αστικών λυμάτων 80.000 κατοίκων. Η επεξεργασία των λυμάτων γίνεται με την μέθοδο του παρατεταμένου αερισμού.

Βιολογικός καθαρισμός Κατερίνης

Ο βιολογικός καθαρισμός της Κατερίνης επεξεργάζεται ημερησίως πάνω από 28.000 κ.μ. λύματος ενώ η ονομαστική παροχή της μονάδας είναι 16.000 κ.μ. λύματος. Η ποιότητα των εξερχόμενων λυμάτων είναι ικανοποιητική και καλύπτει πλήρως τις τεθείσες από τους περιβαλλοντικούς όρους ανώτατες τιμές

Βιολογικός καθαρισμός Σερρών

Η δυναμικότητα της μονάδας είναι για 88.000 κατοίκους, με δυνατότητα επέκτασης στους 105.000, ενώ ο χρόνος εκτέλεσης του έργου έγινε σε 23 μήνες.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 3

	ΧΑΛΚΙΔΑ											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
AMP-10	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
B-10	S	S	S	I	I	I	S	S	S	S	S	S
CIP-5	I	S	S	I	R	R	I	I	I	S	S	I
E-15	I	I	S	I	R	I	S	I	I	S	I	S
CN-120	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
F/M-300	S	S	S	I	I	I	S	S	S	S	S	S
NOR-10	I	S	S	I	I	I	I	S	I	S	S	S
OFX-5	S	S	S	I	R	R	I	I	I	S	S	I
RA-5	R	I	I	R	R	R	S	I	S	S	S	S
S-300	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S
Te-30	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S
Va-30	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

	ΚΑΒΑΛΑ											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
AMP-10	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S
B-10	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
CIP-5	S	I	S	S	R	R	I	S	I	I	I	I
E-15	I	I	R	I	R	R	R	S	I	I	I	R
CN-120	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S
F/M-300	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
NOR-10	I	S	S	S	R	R	I	S	S	S	I	I
OFX-5	I	I	S	S	R	R	I	S	I	S	I	I
RA-5	R	R	R	I	R	R	R	S	I	S	R	R
S-300	S	S	S	S	R	I	S	S	S	S	S	S
Te-30	S	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S
Va-30	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

	ΝΑΟΥΣΑ											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
AMP-10	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R	S
B-10	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S
CIP-5	S	I	S	R	S	S	R	S	I	S	R	S
E-15	S	I	S	R	I	I	R	S	I	S	R	S
CN-120	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	R	S
F/M-300	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
NOR-10	S	S	S	R	S	S	R	S	I	S	R	S
OFX-5	I	R	S	R	S	S	R	S	S	S	R	S
RA-5	S	S	S	S	R	S	I	S	R	S	I	R
S-300	S	S	S	R	S	R	R	S	S	S	S	S
Te-30	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S
Va-30	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

	ΚΑΣΤΟΡΙΑ									
AMP-10	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
B-10	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
CIP-5	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
AMP-10	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
E-15	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
CN-120	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
PM-300	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
NOR-10	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
OPX-5	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
RA-30	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Va-30	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Te-30	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Va-30	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

	ΚΑΡΠΕΝΗΣΙ ΚΟΖΑΝΗ									
AMP-10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
AMP-10	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
CIP-5	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
AMP-10	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
CN-120	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
PM-300	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
NOR-10	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
OPX-5	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
RA-30	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Va-30	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Te-30	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Va-30	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

	ΓΡΕΒΕΝΑ ΚΑΤΕΡΙΝΗ									
AMP-10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
AMP-10	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

BN-120	R	S	\$	S	S	S	\$	S	S	S
EM-300	R	S	\$	S	S	\$	S	Ø	\$	Ø
NOR-10	R	S	R	\$	S	S	\$	Ø	\$	Ø
ORX-20	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
R/M-300	R	S	\$	S	R	R	S	Ø	R	Ø
NOR-10	S	S	\$	\$	S	S	S	Ø	\$	Ø
DF-105	S	S	R	\$	R	S	R	Ø	\$	Ø
RA-30	S	S	S	\$	S	\$	\$	Ø	S	Ø
S-300	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R
Te-30	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Va-30	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

					ΠΡΕΒΕΖΑ					
AMP-10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
B-10	R				R					
CIP-5										
E-15	R				R					
FCN-120	R				R			R		
EM-300	R									
NOR-10										
ORX-20	R				R					
RA-30	R				R					
S-300	R				R					
Te-30	R									
Va-30										

					ΚΙΛΚΙΣ					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
AMP-10	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
B-10	S	S	S	S	I	S	S	S	S	I
CIP-5	R	S	I	S	S	S	I	S	S	S
E-15	R	I	S	S	I	I	S	S	R	S

	ΝΕΑ ΦΩΚΑΙΑ ΧΑΛΚΙΔΙΚΗΣ									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
AMP-10	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S
B-10	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
CIP-5	I	I	S	S	S	I	S	R	R	I
E-15	R	I	R	R	I	I	I	R	R	R
CN-120	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
F/M-300	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
NOR-10	S	I	S	S	S	I	S	R	R	S
OFX-5	I	I	S	S	I	I	S	R	R	I
RA-5	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R
S-300	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S
Te-30	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
Va-30	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

	ΙΩΑΝΝΙΝΑ									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
AMP-10	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
B-10	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S
CIP-5	I	S	S	S	S	I	S	S	S	S
E-15	I	S	S	I	R	I	R	I	I	S
CN-120	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
F/M-300	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
NOR-10	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S
OFX-5	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S
RA-5	R	S	S	I	R	R	S	S	R	S
S-300	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
Te-30	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
Va-30	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

ΚΑΛΑΜΠΑΚΑ

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
AMP-10	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
B-10	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
CIP-5	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
E-15	S	S	S	S	I	S	R	R	R	R
CN-120	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R
F/M-300	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
NOR-10	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
OFX-5	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S
RA-5	R	S	S	R	R	S	R	I	R	R
S-300	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S
Te-30	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R
Va-30	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

ΤΥΡΝΑΒΟΣ

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
AMP-10	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
B-10	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S
CIP-5	S	S	R	S	S	S	R	S	S	I
E-15	I	I	R	I	S	I	S	I	I	S
CN-120	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S
F/M-300	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
NOR-10	S	I	R	S	S	S	R	S	S	I
OFX-5	S	S	R	S	S	S	R	S	S	I
RA-5	R	I	R	R	I	S	R	R	S	R
S-300	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S
Te-30	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S
Va-30	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

ΚΑΡΔΙΤΣΑ

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
AMP-10	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
B-10	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

CIP-5	S	S	I	I	S	S	S	S	I	I
E-15	I	I	I	I	I	I	S	R	I	I
CN-120	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
F/M-300	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
NOR-10	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
OFX-5	S	S	I	S	I	S	S	S	I	S
RA-5	S	R	S	S	R	R	I	S	I	R
S-300	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
Te-30	R	S	S	R	S	S	S	R	S	S
Va-30	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

APTA

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
AMP-10	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
B-10	S	S	S	S	S	I	S	S	S	R
CIP-5	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S
E-15	S	S	I	S	R	S	I	I	I	S
CN-120	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
F/M-300	S	S	S	S	R	S	S	I	S	S
NOR-10	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S
OFX-5	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S
RA-5	S	R	I	R	R	R	R	R	S	R
S-300	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S
Te-30	S	S	S	S	R	S	S	S	S	R
Va-30	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

ΜΕΣΟΛΟΓΓΙ

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
AMP-10	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
B-10	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
CIP-5	I	S	S	R	S	I	R	R	S	S
E-15	S	I	R	I	I	I	I	I	I	R
CN-120	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

F/M-300	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
NOR-10	S	S	S	R	S	I	I	R	S	S
OFX-5	I	S	S	R	S	I	R	I	S	S
RA-5	S	I	R	R	I	S	S	S	I	I
S-300	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
Te-30	S	R	S	S	R	S	R	S	S	S
Va-30	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S

	ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΥΠΟΛΗ									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
AMP-10	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
B-10	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
CIP-5	S	S	I	I	S	S	I	S	S	S
E-15	R	S	I	I	I	I	I	S	I	S
CN-120	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
F/M-300	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
NOR-10	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
OFX-5	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S
RA-5	R	S	R	R	R	I	R	I	I	S
S-300	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Te-30	S	S	S	R	R	R	S	S	R	S
Va-30	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S

	ΟΡΕΣΤΙΑΔΑ									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
AMP-10	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
B-10	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
CIP-5	S	S	I	S	S	S	R	S	S	I
E-15	R	R	I	I	I	S	R	S	I	I
CN-120	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
F/M-300	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
NOR-10	S	S	I	S	S	S	R	S	S	S
OFX-5	S	S	I	S	I	S	R	S	S	I
RA-5	R	R	R	R	R	S	R	S	S	I
S-300	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
Te-30	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S
Va-30	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

	ΔΙΔΥΜΟΤΕΙΧΟ									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
AMP-10	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
B-10	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
CIP-5	S	S	S	I	S	R	I	S	S	S
E-15	R	S	S	I	R	R	I	S	R	I
CN-120	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S
F/M-300	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
NOR-10	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S
OFX-5	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
RA-5	I	R	R	I	R	R	R	S	S	I
S-300	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S
Te-30	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S
Va-30	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S

	ΛΑΥΡΙΟ									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

AMP-10	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
B-10	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
CIP-5	S	S	S	R	S	S	I	I	S	S
E-15	R	I	S	I	I	I	I	I	I	S
CN-120	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
F/M-300	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
NOR-10	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S
OFX-5	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S
RA-5	I	S	S	R	R	R	I	R	I	S
S-300	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Te-30	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
Va-30	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S

ΗΓΟΥΜΕΝΙΤΣΑ

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
AMP-10	S	S	S	S	S	S	R	R	R	S
B-10	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
CIP-5	S	S	I	R	S	I	R	R	R	I
E-15	R	R	S	I	S	R	R	R	R	I
CN-120	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
F/M-300	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
NOR-10	S	S	I	I	S	S	R	R	R	S
OFX-5	S	S	I	R	S	S	R	R	R	I
RA-5	R	R	R	R	I	S	R	R	R	I
S-300	S	S	S	S	S	R	I	S	R	S
Te-30	S	S	S	S	I	R	S	S	S	R
Va-30	S	S	S	S	S	S	I	I	I	S

	KAMENA BOYPAA									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
AMP-10	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
B-10	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R
CIP-5	S	R	I	S	S	I	S	I	S	R
E-15	I	I	I	I	I	R	I	I	I	R
CN-120	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R
F/M-300	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
NOR-10	S	I	S	S	S	S	S	S	S	R
OFX-5	S	I	I	S	S	S	S	S	S	R
RA-5	R	R	R	S	R	R	I	I	R	I
S-300	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R
Te-30	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S
Va-30	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 4

Πίνακας 1. Αποτελέσματα εμφάνισης ανθεκτικότητας αντιβιοτικών για το δείγμα της Χαλκίδας

	S (%)	R (%)	I (%)
AMP-10	92	8	0
B-10	75	0	25
CIP-5	33	17	50
E-15	33	8	58
CN-120	100	0	0
F/M-300	75	0	25
NOR-10	50	0	50
OFX-5	42	17	42
RA-5	42	33	25
S-300	92	0	8
Te-30	67	33	0
Va-30	100	0	0

Πίνακας 2. Αποτελέσματα εμφάνισης ανθεκτικότητας αντιβιοτικών για το δείγμα της Καβάλας

	S (%)	R (%)	I (%)
AMP-10	83	17	0
B-10	100	0	0
CIP-5	33	17	50
E-15	8	42	50
CN-120	83	17	0
F/M-300	100	0	0
NOR-10	50	17	33
OFX-5	33	17	50
RA-5	17	67	17
S-300	83	8	8
Te-30	83	17	0
Va-30	100	0	0

Πίνακας 3. Αποτελέσματα εμφάνισης ανθεκτικότητας αντιβιοτικών για το δείγμα της Νάουσας

	S (%)	R (%)	I (%)
AMP-10	83	17	0
B-10	83	17	0
CIP-5	58	25	17
E-15	42	25	33
CN-120	75	25	0
F/M-300	100	0	0
NOR-10	67	25	8
OFX-5	58	33	8
RA-5	58	25	17
S-300	75	25	0
Te-30	83	17	0
Va-30	100	0	0

Πίνακας 4. Αποτελέσματα εμφάνισης ανθεκτικότητας αντιβιοτικών για το δείγμα της Καστοριάς

	S (%)	R (%)	I (%)
AMP-10	100	0	0
B-10	100	0	0
CIP-5	70	0	30
E-15	20	10	70
CN-120	100	0	0
F/M-300	100	0	0
NOR-10	100	0	0
OFX-5	90	0	10
RA-5	40	40	20
S-300	100	0	0
Te-30	100	0	0
Va-30	100	0	0

Πίνακας 5. Αποτελέσματα εμφάνισης ανθεκτικότητας αντιβιοτικών για το δείγμα της Κοζάνης

	S (%)	R (%)	I (%)
AMP-10	80	20	0
B-10	100	0	0
CIP-5	40	20	40
E-15	10	30	60
CN-120	100	0	0
F/M-300	100	0	0
NOR-10	80	20	0
OFX-5	50	20	30
RA-5	40	50	10
S-300	70	30	0
Te-30	70	30	0
Va-30	100	0	0

Πίνακας 6. Αποτελέσματα εμφάνισης ανθεκτικότητας αντιβιοτικών για το δείγμα της Κατερίνης

	S (%)	R (%)	I (%)
AMP-10	100	0	0
B-10	100	0	0
CIP-5	70	0	30
E-15	40	30	30
CN-120	100	0	0
F/M-300	100	0	0
NOR-10	90	0	10
OFX-5	90	0	10
RA-5	40	50	10
S-300	100	0	0
Te-30	100	0	0
Va-30	100	0	0

Πίνακας 7. Αποτελέσματα εμφάνισης ανθεκτικότητας αντιβιοτικών για το δείγμα του Καρπενησίου

	S (%)	R (%)	I (%)
AMP-10	100	0	0
B-10	100	0	0
CIP-5	40	0	60
E-15	30	10	60
CN-120	100	0	0
F/M-300	100	0	0
NOR-10	60	0	40
OFX-5	40	10	50
RA-5	50	50	0
S-300	90	10	0
Te-30	90	10	0
Va-30	100	0	0

Πίνακας 8. Αποτελέσματα εμφάνισης ανθεκτικότητας αντιβιοτικών για το δείγμα των Γρεβενών

	S (%)	R (%)	I (%)
AMP-10	80	20	0
B-10	80	0	20
CIP-5	60	20	20
E-15	40	30	30
CN-120	100	0	0
F/M-300	70	20	10
NOR-10	50	20	30
OFX-5	50	20	30
RA-5	50	20	30
S-300	80	20	0
Te-30	100	0	0
Va-30	100	0	0

Πίνακας 9. Αποτελέσματα εμφάνισης ανθεκτικότητας αντιβιοτικών για το δείγμα των Σερρών

	S (%)	R (%)	I (%)
AMP-10	100	0	0
B-10	60	0	40
CIP-5	40	0	60
E-15	10	10	80
CN-120	100	0	0
F/M-300	100	0	0
NOR-10	50	0	50
OFX-5	40	0	60
RA-5	50	50	0
S-300	100	0	0
Te-30	100	0	0
Va-30	100	0	0

Πίνακας 10. Αποτελέσματα εμφάνισης ανθεκτικότητας αντιβιοτικών για το δείγμα του Κιλκίς

	S (%)	R (%)	I (%)
AMP-10	90	10	0
B-10	80	0	20
CIP-5	70	10	20
E-15	50	20	30
CN-120	90	10	0
F/M-300	80	10	10
NOR-10	70	20	10
OFX-5	90	10	0
RA-5	60	40	0
S-300	100	0	0
Te-30	70	30	0
Va-30	100	0	0

Πίνακας 11. Αποτελέσματα εμφάνισης ανθεκτικότητας αντιβιοτικών για το δείγμα της Πρέβεζας

	S (%)	R (%)	I (%)
AMP-10	80	20	0
B-10	100	0	0
CIP-5	50	20	30
E-15	30	30	40
CN-120	90	10	0
F/M-300	100	0	0
NOR-10	80	20	0
OFX-5	60	30	10
RA-5	10	80	10
S-300	90	10	0
Te-30	90	10	0
Va-30	100	0	0

Πίνακας 12. Αποτελέσματα εμφάνισης ανθεκτικότητας αντιβιοτικών για το δείγμα της Νέας Φώκαιας Χαλκιδικής

	S (%)	R (%)	I (%)
AMP-10	80	20	0
B-10	100	0	0
CIP-5	40	20	40
E-15	0	60	40
CN-120	90	10	0
F/M-300	100	0	0
NOR-10	60	20	20
OFX-5	30	20	50
RA-5	10	90	0
S-300	80	20	0
Te-30	90	10	0
Va-30	100	0	0

Πίνακας 13. Αποτελέσματα εμφάνισης ανθεκτικότητας αντιβιοτικών για το δείγμα των Ιωαννίνων

	S (%)	R (%)	I (%)
AMP-10	100	0	0
B-10	90	0	10
CIP-5	80	0	20
E-15	30	20	50
CN-120	100	0	0
F/M-300	100	0	0
NOR-10	90	0	10
OFX-5	90	0	10
RA-5	50	40	10
S-300	90	10	0
Te-30	90	10	0
Va-30	100	0	0

Πίνακας 14. Αποτελέσματα εμφάνισης ανθεκτικότητας αντιβιοτικών για το δείγμα της Καλαμπάκας

	S (%)	R (%)	I (%)
AMP-10	100	0	0
B-10	100	0	0
CIP-5	100	0	0
E-15	50	40	10
CN-120	80	20	0
F/M-300	100	0	0
NOR-10	100	0	0
OFX-5	90	0	10
RA-5	30	60	10
S-300	80	20	0
Te-30	60	40	0
Va-30	100	0	0

Πίνακας 15. Αποτελέσματα εμφάνισης ανθεκτικότητας αντιβιοτικών για το δείγμα του Τυρνάβου Λαρίσης

	S (%)	R (%)	I (%)
AMP-10	90	10	0
B-10	90	10	0
CIP-5	70	20	10
E-15	30	10	60
CN-120	80	20	0
F/M-300	100	0	0
NOR-10	60	20	20
OFX-5	70	20	10
RA-5	60	20	20
S-300	80	20	0
Te-30	90	10	0
Va-30	100	0	0

Πίνακας 16. Αποτελέσματα εμφάνισης ανθεκτικότητας αντιβιοτικών για το δείγμα της Καρδίτσας

	S (%)	R (%)	I (%)
AMP-10	100	0	0
B-10	100	0	0
CIP-5	60	0	40
E-15	10	10	80
CN-120	100	0	0
F/M-300	100	0	0
NOR-10	100	0	0
OFX-5	70	0	30
RA-5	40	40	20
S-300	90	10	0
Te-30	70	30	0
Va-30	100	0	0

Πίνακας 17. Αποτελέσματα εμφάνισης ανθεκτικότητας αντιβιοτικών για το δείγμα της Άρτας

	S (%)	R (%)	I (%)
AMP-10	100	0	0
B-10	80	10	10
CIP-5	80	20	0
E-15	50	10	40
CN-120	100	0	0
F/M-300	80	10	10
NOR-10	90	0	10
OFX-5	90	10	0
RA-5	20	70	10
S-300	90	10	0
Te-30	80	20	0
Va-30	100	0	0

Πίνακας 18. Αποτελέσματα εμφάνισης ανθεκτικότητας αντιβιοτικών για το δείγμα του Μεσολογγίου

	S (%)	R (%)	I (%)
AMP-10	90	10	0
B-10	100	0	0
CIP-5	50	30	20
E-15	10	20	70
CN-120	100	0	0
F/M-300	100	0	0
NOR-10	60	20	20
OFX-5	50	20	30
RA-5	40	20	40
S-300	90	10	0
Te-30	70	30	0
Va-30	90	0	10

Πίνακας 19. Αποτελέσματα εμφάνισης ανθεκτικότητας αντιβιοτικών για το δείγμα της Αλεξανδρούπολης

	S (%)	R (%)	I (%)
AMP-10	100	0	0
B-10	100	0	0
CIP-5	70	0	3
E-15	30	10	60
CN-120	100	0	0
F/M-300	100	0	0
NOR-10	100	0	0
OFX-5	90	0	10
RA-5	20	50	30
S-300	100	0	0
Te-30	60	40	0
Va-30	90	0	10

Πίνακας 20. Αποτελέσματα εμφάνισης ανθεκτικότητας αντιβιοτικών για το δείγμα της Ορεστιάδας

	S (%)	R (%)	I (%)
AMP-10	90	10	0
B-10	100	0	0
CIP-5	70	10	20
E-15	20	30	50
CN-120	90	10	0
F/M-300	100	0	0
NOR-10	80	10	10
OFX-5	60	10	30
RA-5	30	60	10
S-300	90	10	0
Te-30	80	20	0
Va-30	100	0	0

Πίνακας 21. Αποτελέσματα εμφάνισης ανθεκτικότητας αντιβιοτικών για το δείγμα του Διδυμοτείχου

	S (%)	R (%)	I (%)
AMP-10	100	0	0
B-10	100	0	0
CIP-5	70	10	20
E-15	30	40	30
CN-120	100	0	0
F/M-300	100	0	0
NOR-10	90	0	10
OFX-5	100	0	0
RA-5	20	50	30
S-300	80	20	0
Te-30	80	20	0
Va-30	90	0	10

Πίνακας 22. Αποτελέσματα εμφάνισης ανθεκτικότητας αντιβιοτικών για το δείγμα του Λαυρίου

	S	R	I
AMP-10	100	0	0
B-10	100	0	0
CIP-5	70	10	20
E-15	20	10	70
CN-120	100	0	0
F/M-300	100	0	0
NOR-10	90	0	10
OFX-5	90	0	10
RA-5	30	40	30
S-300	100	0	0
Te-30	90	10	0
Va-30	90	0	10

Πίνακας 23. Αποτελέσματα εμφάνισης ανθεκτικότητας αντιβιοτικών για το δείγμα του Ηγουμενίτσας

	S	R	I
AMP-10	70	30	0
B-10	100	0	0
CIP-5	30	40	30
E-15	20	60	20
CN-120	100	0	0
F/M-300	100	0	0
NOR-10	50	30	20
OFX-5	40	40	20
RA-5	70	10	20
S-300	70	20	10
Te-30	70	10	20
Va-30	70	0	30

Πίνακας 24. Αποτελέσματα εμφάνισης ανθεκτικότητας αντιβιοτικών για το δείγμα του Καμένων Βούρλων

	S	R	I
AMP-10	100	0	0
B-10	90	10	0
CIP-5	50	20	30
E-15	100	0	0
CN-120	90	10	0
F/M-300	100	0	0
NOR-10	80	10	10
OFX-5	70	10	20
RA-5	10	60	30
S-300	90	10	0
Te-30	80	20	0
Va-30	90	0	10

