

### 3 MATERIAL UND METHODEN

#### 3.1 BESCHREIBUNG DER MESSBEDINGUNGEN

##### 3.1.1 STALLANLAGE

Die Stallanlage war ein 92,1 mal 36,4 Meter großer mit Stroh eingestreuter Entenmaststall mit jeweils 15000 Pekingenten. Die Deckenhöhe betrug im Durchschnitt 6,25 Meter.

Die Tiere wurden nach der dritten Lebenswoche (LW) in den Stall mit Abluftreinigungsanlage eingestallt und nach der siebten Lebenswoche geschlachtet.

Auf dem Gelände wurden während des Messzeitraumes bis zu neun Mastställe gleicher Bauweise mit Abluftreinigung betrieben.

Die Abluftreinigungsanlage war in die Lüftungsanlage integriert und wird im Folgenden beschrieben.

##### 3.1.2 ABLUFTREINIGUNGSANLAGE

Bei der untersuchten Abluftreinigungsanlage handelte es sich um einen zweistufigen Abluftwäscher, eine Kombination aus Biowäscher und Chemofilter.

Die gesamte Anlage war 20 Meter lang, 5 Meter breit und 3 Meter hoch. Die Stallluft wurde von zwölf Ventilatoren, die sich an der Außenwand des Stalles befanden und eine maximale Einzelleistung von ca. 21.000 m<sup>3</sup>/h hatten, durch den Wäscher gesogen (Abb. 2).

Der Biowäscher bestand aus zwei hintereinander geschalteten, 0,1 m dicken, wabenartig ausgeführten, gewachsenen Pappwänden. Diese Pappwände waren ursprünglich in



**Abbildung 2: Foto vom zweiten Cooling-Pad, Ventilatoren und Speicherbecken**

Südeuropa zur Luftkühlung benutzte Cooling-Pads (Lehnert, 2003). Wasser diente zur Berieselung der Cooling-Pads. Das Wasser wurde jeweils von einem Speicherbecken mit 15 m<sup>3</sup> Fassungsvermögen aufgefangen und rezirkuliert (Abb. 3). Verdunstetes Wasser wurde automatisch nachgefüllt. Während der Passage der Wände wurde die Luft annähernd mit Wasserdampf gesättigt. Staub wurde ausgewaschen und damit staubgebundene Gerüche und Ammoniak entfernt.

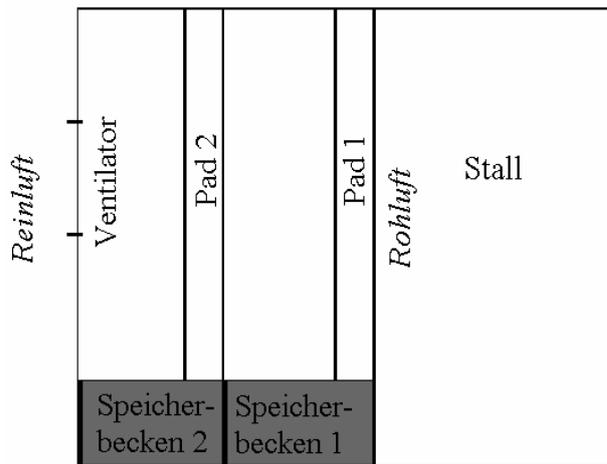


Abbildung 3: Schema der Abluftreinigungsanlage

Zur Chemofiltration erfolgte eine pH-Wert-Regulierung des Waschwassers. Der pH-Wert wurde mittels Salzsäure automatisch auf einen Wert zwischen fünf und sieben eingestellt. Hierdurch war eine kontinuierliche Abscheideleistung für Ammoniak gewährleistet. Nach Herstellerangaben können ähnliche Anlagen den Ammoniakgehalt der Abluft um bis zu 70% und den Staubgehalt um bis zu 98% verringern (anonym, 2003b).

Laut Betreiber betrug der **Frischwasserbedarf** der Anlage im Sommer zwei bis drei Kubikmeter pro Tag und im Winter weniger als einen Kubikmeter pro Tag.

Der **Säurebedarf** betrug im Sommer 120 bis 180 Liter pro Mastdurchgang und im Winter weniger als 30 Liter pro Mastdurchgang.

Durch den Betrieb der Anlage stieg der **Energiebedarf** der Ventilatoren nur unwesentlich (persönl. Mitteilung Brehme, 2003).

### 3.1.3 MESSORTE

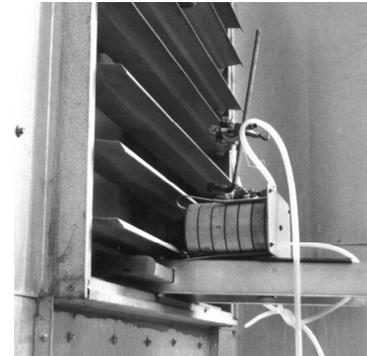


**Abbildung 5: AGI-30 und PGP-System, Rohluftseite**

Die Probenahmen auf Roh- und Reinluftseite erfolgten gleichzeitig.

Rohluftseitig wurden die Keimsammelgeräte in 1,5 m Höhe befestigt (Abb. 5).

Reinluftseitig wurden sie direkt vor einem der Ventilatoren angeordnet (Abb. 4).



**Abbildung 4: Andersen-Sammler und PGP-System, Reinluftseite**

Die Lufteinlassöffnungen der Sammelgeräte lagen parallel zum Luftstrom.

## 3.2 UNTERSUCHTE PARAMETER

Zur Beurteilung der Effektivität der Abluftreinigungsanlage wurden die in Tabelle 10 angegebenen Parameter mit den dort aufgeführten Methoden erhoben.

**Tabelle 10: in den Hauptuntersuchungen erhobene Parameter**

Parameter	Messgerät/ Material	Messdauer	Kultivierung/Weiterverarbeitung
Konzentration an einatembarem Staub [mg/m <sup>3</sup> ]	PGP	180 min	Trocknung 16 h bei 40°C in Trockengel, Wägung
luftgetragene aerobe Gesamtkoloniezahl [KE/m <sup>3</sup> ]	AS AGI-30	2 x 20 s 2 x 20 min	Standard I-Agar, 24 h 37°C
luftgetragene aerobe gramnegative Gesamtkoloniezahl [KE/m <sup>3</sup> ]	AS AGI-30	2 x 10 min 2 x 20 min	MacConcey III-Agar, 24 h bei 37°C und 24 h bei 22°C
Konzentration an einatembaren Endotoxinen [EU/m <sup>3</sup> ]	PGP AGI-30	180 min 2 x 20 min	2-stündiges Schütteln des getrockneten Filters in 50 ml pyrogenfreiem Wasser, LAL-Test (QCL-1000)
luftgetragene Schimmelpilzkoloniezahl [KE/m <sup>3</sup> ]	AS AGI-30	2 x 20 s 2 x 20 min	Dichloran-18% Glycerin (DG-18)-Agar, 48 h bei 30°C und 72 h bei 22°C

aerobe Gesamtkoloniezahl im Waschwasser [KE/ml]	Waschwasserprobe	2 x	Standard I-Agar, 24 h 37°C
aerobe gramnegative Gesamtkoloniezahl im Waschwasser [KE/ml]	Waschwasserprobe	2 x	MacConcey III-Agar, 24 h bei 37°C und 24 h bei 22°C
Endotoxinkonzentration im Waschwasser [EU/ml]	Waschwasserprobe	2 x	LAL-Test (QCL 1000)
Schimmelpilzkoloniezahl im Waschwasser [KE/ml]	Waschwasserprobe	2 x	DG-18-Agar, 48 h bei 30°C und 72 h bei 22°C
gramnegative Keimspezies in Luft und Waschwasser	s.o.	-	api-System
Schimmelpilzspezies in Luft und Waschwasser	s.o.	-	übliche mikrobiologische Methoden

AS: Andersen-Sammler

Weiterhin wurden einmalig eine Messung der einatembaren Staubfraktion mittels **Respicon** während einer künstlich erzeugten Spitzenbelastung und zwei **Außenluftmessungen** vorgenommen. Außerdem wurden potentielle **Endotoxinquellen** im Stall auf ihre Endotoxingehalte untersucht.

Die ausführliche Beschreibung der verwendeten Methoden und Geräte für die jeweils erhobenen Parameter erfolgt im nachstehenden Text.

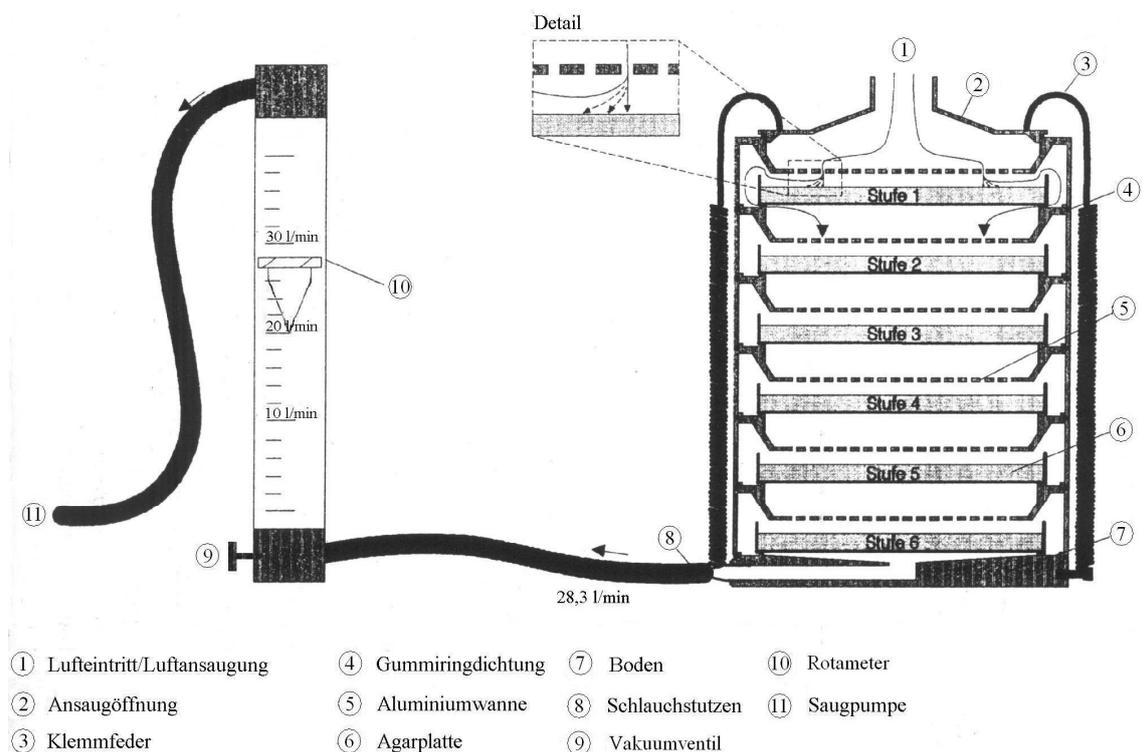
Der Anlagenbetreiber lieferte Daten von Lüftungsrate, Temperatur, Luftfeuchte und Ammoniakgehalt in Roh- und Reinluft, Temperatur und Luftfeuchte der Außenluft, Windrichtung, Windgeschwindigkeit und Niederschlagsmenge. Diese Werte wurden im Anhang dargestellt.

### 3.2.1 VERWENDETE LUFTKEIMSAMMELGERÄTE

#### 3.2.1.1 Andersen-Kaskaden-Impaktor (Andersen-Sammler)

Der Andersen-Kaskaden-Impaktor (Andersen, 1958) ermöglicht eine nach aerodynamischen Größenklassen getrennte Sammlung von keimtragenden Partikeln, wobei er die Abscheidung von luftgetragenen Partikeln im menschlichen Atemtrakt simuliert. Er besteht aus einer kegelförmigen Luftansaugöffnung, der sechs perforierte Aluminiumwannen mit jeweils 400 Löchern folgen. Jede Wanne bildet eine Stufe. Die Durchmesser der Löcher nehmen von der obersten bis zur untersten Stufe ab. Zwischen den Stufen befinden sich Gummiringe zur Abdichtung.

Die letzte Stufe ist auf einer rechteckigen Aluminiumplatte befestigt und besitzt einen Stutzen, an den der Schlauch angeschlossen wird, der zur Luftsaugpumpe führt. Die einzelnen Teile des Sammlers werden von drei Klemmfedern zusammengehalten, die seitlich an der untersten Stufe befestigt sind (Abb. 6). Die Detailabbildung zeigt den Impaktionsmechanismus.



**Abbildung 6: Schematische Darstellung des 6-stufigen Andersen-Kaskaden-Impaktors (nach Möritz, 1996)**

Zur Luftkeimsammlung werden die einzelnen Stufen mit Petrischalen bestückt, die für verschiedene Mikroorganismen jeweils speziellen Nährager enthalten. Am Rande jeder Aluminiumwanne befinden sich drei kleine Abstandhalter auf die die Petrischalen gestellt

werden. Dadurch wird der Luftfluss unter der Petrischale hindurch zur nächsten Stufe ermöglicht.

Durch die kleiner werdenden Löcher kommt es zu einer Erhöhung der Luftgeschwindigkeit von Stufe zu Stufe. Größere Partikel werden aufgrund ihrer größeren Trägheit auf den oberen Stufen abgeschieden, kleinere auf den tieferen. Andersen (1958) untersuchte die Größen der auf den einzelnen Stufen abgeschiedenen Teilchen mittels Carnaubawachspartikeln und kam zu folgendem Ergebnis (Tab. 11):

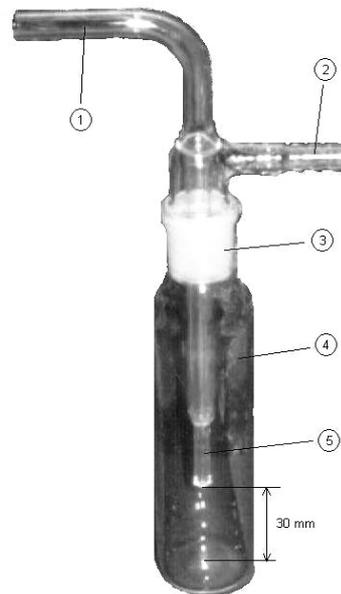
**Tabelle 11: Größenverteilung der Teilchen und Lochdurchmesser des Andersen-Sammlers**

<b>Stufe</b>	<b>Loch- durchmesser [mm]</b>	<b>Teilchen- durchmesser [<math>\mu\text{m}</math>]</b>
1	1,18	> 8,2
2	0,91	5,0 – 10,4
3	0,71	3,0 – 6,0
4	0,53	2,0 – 3,5
5	0,34	1,0 – 2,0
6	0,25	< 1,0

Die Stufen 1 und 2 spiegeln die Abscheideleistung der Nase, die Stufen 3 und 4 die von Luftröhre und Bronchialbaum und Stufen 5 und 6 die der Alveolen wider.

### 3.2.1.2 All Glas Impinger (AGI-30)

Brachman et al. (1964) entwickelten den All Glass Impinger (AGI-30), einen Impinger komplett aus Glas. Er besteht aus einer kolbenförmigen Flasche in deren Lumen ein Röhrchen für den Luftein- und Luftauslass hineinragt. Das Lufteinlassröhrchen endet 30 mm über dem Flaschenboden in einer Kapillare von 1 mm Durchmesser (Abb. 7).



- ① Einlassrohr
- ② Ansaugstutzen
- ③ geschliffener Glasstopfen
- ④ Flasche
- ⑤ Kapillare

**Abbildung 7: AGI-30**

Der AGI-30 wird heute allgemein als Standardimpinger verwendet.

Der Standardimpinger gilt nach Hartung (1979) als eines der leistungsfähigsten Geräte zur Keimzahlbestimmung in Stallluft.

### 3.2.1.3 Personengetragenes Gefahrstoff-Probenahmesystem (PGP-System)

Beim PGP-System (Firma Ströhlein Instruments, Deutschland) handelt es sich um ein Filtersystem, das im Berufsgenossenschaftlichen Institut für Arbeitsschutz entwickelt wurde. Es besteht aus einem Probenahmekopf und einer Pumpe, die durch einen Schlauch verbunden werden.

Der Probenahmekopf setzt sich aus einer Universalaufnahme, einem Filterträger, einem Gesamtstaubadapter GSP und einem Erfassungskegel zusammen (Abb. 8).

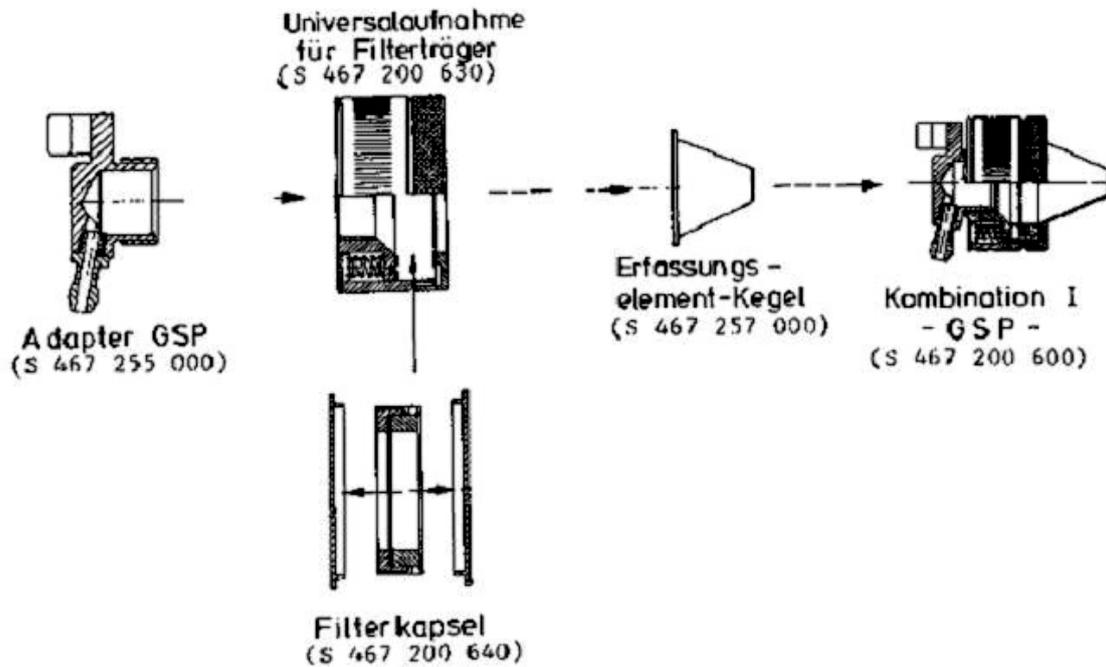


Abbildung 8: PGP-System (Ströhlein Instruments)

Das Gesamtstaubadapter GSP dient der Erfassung der einatembaren Staubfraktion. Der Volumenstrom der Pumpe für die Gesamtstaubmessung beträgt 3,5 l/min (anonym, 1990).

#### 3.2.1.4 Respicon (Sondermessung)

Für eine einmalige Sondermessung wurde das Staubsammel- und -messgerät Respicon TM der Firma Hund (Wetzlar, Deutschland) verwendet. Das Respicon ist ein virtueller Impaktor, der zur Arbeitsplatzüberwachung und zur Emissionsanalytik eingesetzt wird. Es handelt sich um eine Kombination aus gravimetrischem Staubsammler auf drei Filterstufen und drei optischen Messkammern. Durch die drei Stufen lassen sich einatembare (Stufe 1-3), thoraxgängige (Stufen 1 und 2) und alveolengängige (Stufe 1) Staubfraktion unterscheiden (anonym, 2004b).

### 3.2.2 PROBENAHEME

#### 3.2.2.1 Probenahme mittels Andersen-Sammlers

Der Andersen-Sammler wurde mit einem Luftdurchfluss von 28,3 Litern pro Minute betrieben. Um einen definierten Luftdurchfluss zu gewährleisten wurde zwischen Sammler und Pumpe ein Rotameter (Vakuumregler) geschaltet (Abb. 9). Zusätzlich schützte ein Glas mit Trockengel (nicht abgebildet) die Pumpe vor dem Eindringen von Feuchtigkeit.

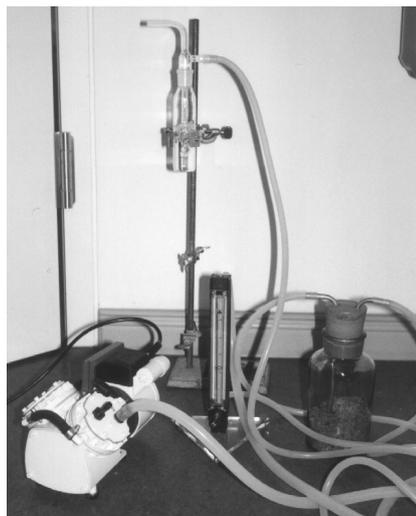


**Abbildung 9: Foto Pumpe, Rotameter, Andersen-Sammler**

Der Andersen-Sammler diente zur Ermittlung der luftgetragenen aeroben Gesamtkoloniezahl, der luftgetragenen aeroben gramnegativen Gesamtkoloniezahl und der luftgetragenen Schimmelpilzkoloniezahl. Probenahme und Bebrütung erfolgten wie in Tabelle 12 angegeben. Alle Proben wurden als Doppelproben erhoben. Nach der Probenahme wurden die Nährböden steril verpackt und innerhalb von drei Stunden gekühlt zum Labor transportiert.

### 3.2.2.2 Probenahme mittels AGI-30

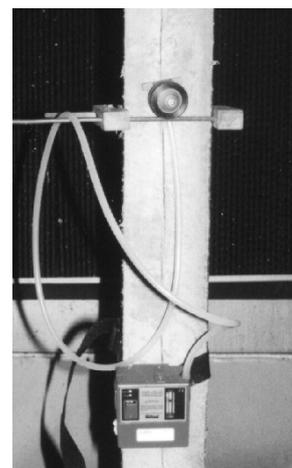
Die Impinger wurden jeweils mit 50 ml pyrogenfreiem Wasser befüllt und mit einem Luftdurchfluss von 12,5 Liter pro Minute betrieben. Wie beim Andersen-Sammler befanden sich zwischen Pumpe und Sammelgerät ein Vakuumregler und ein Glas mit Trockengel (Abb. 10). In Roh- und Reinluft wurden an jedem Messtag jeweils zwei Proben simultan genommen. Die Sammeldauer betrug für jede Probe zwanzig Minuten. Die Sammelflüssigkeit wurde bis zur Weiterverarbeitung (maximal zwölf Stunden) in pyrogenfreien Röhrchen (Firma Greiner, Deutschland) bei 4°C gelagert.



**Abbildung 10: Pumpe, AGI-30, Rotameter, Trockengel**

### 3.2.2.3 Probenahme mittels PGP-System

Die Probenahmeköpfe wurden mit vorbereiteten Filterträgern bestückt. Als Filter wurden isopore Polycarbonatkernspurmembranfilter mit einem Porendurchmesser von 8,0 µm und einem Außendurchmesser von 4,7 cm (Firma Millipore CatNo TETP 04700) benutzt, welche zuvor unbeaufschlagt gewogen und in die Filterträger eingespannt worden waren. Die Probenahmedauer betrug 180 Minuten bei einem Luftdurchfluss von 3,5 Litern pro Minute. Abbildung 11 zeigt Probenahmekopf und Pumpe auf der Rohluftseite.



**Abbildung 11: PGP-System (rohluftseitig)**

### 3.2.2.4 Waschwasserprobe

Zusätzlich zu den Luftkeimuntersuchungen wurde eine Waschwasserprobe aus dem Speicherbecken der Abluftreinigungsanlage untersucht. Das Waschwasser wurde hierfür nahe dem Überlauf des Speicherbeckens mit einem 50 ml fassenden pyrogenfreien Röhrchen (Firma Greiner, Deutschland) entnommen und bis zur Weiterverarbeitung (maximal zwölf Stunden) bei 4° C gelagert. Es wurden jeweils zwei Proben entnommen, die im Folgenden wie die Impingersammelflüssigkeiten untersucht wurden (s. 3.2.3.2 und 3.2.4.1).

### 3.2.3 PROBENBEARBEITUNG IM LABOR

#### 3.2.3.1 Bearbeitung der Proben aus dem Andersen-Sammler

Die exponierten Nährböden aus dem Andersen-Sammler wurden entsprechend den nachzuweisenden Keimgruppen kultiviert. Detailangaben sind in Tabelle 12 gegeben.

**Tabelle 12: Probenahme und Bebrütung der Proben aus dem Andersen-Sammler**

Parameter	Probenahmedauer	Nährboden	Bebrütung
luftgetragene aerobe Gesamtkoloniezahl	20 s	Standard I (Merck 1.07881)	24 h bei 37°C
luftgetragene aerobe gramnegative Gesamtkoloniezahl	10 min	MacConkey Agar No. 3 (MC3) (Oxoid CM 115)	24 h bei 37°C und 24 h bei 22°C
luftgetragene Schimmelpilz-koloniezahl	20 s	Dichloran-Glycerol (DG18) (Oxoid CM 729)	48 h bei 30°C und 72 h bei 22°C

Nach der Bebrütung wurden die Kolonien auf den Nährböden ausgezählt und mit Hilfe der Konversionstabelle nach Andersen (1958) korrigiert. Die Konversionstabelle berücksichtigt die mit der Partikelzahl steigende Wahrscheinlichkeit, dass ein keimtragendes Teilchen die Platte an einer bereits belegten Stelle trifft und somit mehrere keimtragende Partikel nur eine Kolonie bilden. Die Möglichkeit der Konvertierung ist durch die 400 Löcher pro Stufe auf 399 Kolonien pro Platte begrenzt, da es bei einer Belegung aller Plätze unter den Löchern nicht mehr möglich ist zu bestimmen wie viele koloniebildende Einheiten in diesem Falle eine Kolonie gebildet haben. In einem solchen Fall ist der Andersen-Sammler „überladen“ und die Messung nicht auswertbar.

Die Ergebnisse der einzelnen Stufen wurden addiert. Aus der Summe wurde unter Berücksichtigung von Luftdurchsatz und Sammeldauer die Gesamtkoloniezahl pro Kubikmeter Luft [KE/m<sup>3</sup>] errechnet. Zusätzlich wurde die prozentuale Verteilung der koloniebildenden Einheiten auf den einzelnen Stufen des Sammlers ermittelt.

### 3.2.3.2 Bearbeitung der Proben aus dem AGI-30

Die Sammelflüssigkeit aus den Impingern wurde suspendiert (VF2-Gerät) und dekadisch in physiologischer Kochsalzlösung verdünnt. Danach wurden im Doppelansatz jeweils 0,1 ml der Lösung auf Nährböden ausgespatelt. Als Nährböden wurden die in Tabelle 12 aufgeführten, mit den angegebenen Kultivierungszeiten benutzt.

Nach der Bebrütung wurde die Platten derjenigen Verdünnungsstufe ausgezählt auf denen zwischen 20 und 200 Kolonien gewachsen waren. Wie beim Andersen-Sammler wurden aus den Ergebnissen die Konzentration an luftgetragenen Keimen in KE/m<sup>3</sup> errechnet.

Außerdem wurde in der Sammelflüssigkeit die Endotoxinkonzentration bestimmt (3.2.4.1).

### 3.2.3.3 Bearbeitung der Proben aus dem PGP-System und Bestimmung der Staubkonzentration

Die beaufschlagten Filter wurden in Anwesenheit von Trockengel (Merck, Deutschland, Nr. 1.01925.1000) 16 Stunden bei 40° C im Wärmeschrank getrocknet.

Im Anschluss daran wurde der Filter steril entnommen und auf einer Waage mit der Wägegenauigkeit von 10<sup>-4</sup> Gramm gewogen. Aus der Differenz zwischen der Masse des beaufschlagten und des unbeaufschlagten Filters wurde unter Berücksichtigung von Luftdurchsatz und Sammeldauer die Staubmasse pro Kubikmeter Luft [mg/m<sup>3</sup>] bestimmt.

Anschließend wurden die Filter in 50 ml pyrogenfreiem Wasser zwei Stunden auf einem Horizontalschüttler (Laborgerätebau Edmund Bühler, Deutschland) gewaschen und die Endotoxinkonzentration des Eluats bestimmt (3.2.4.1).

### 3.2.4 BESTIMMUNG DER ENDOTOXIN-KONZENTRATIONEN (LAL-TEST)

Die Endotoxinkonzentrationen wurden mittels quantitativem, chromogenen LAL-Test (QCL-1000, BioWhittaker, USA) entsprechend den Angaben des Herstellers ermittelt. Hierfür wurden von allen Proben dekadische Verdünnungsreihen angelegt.

Das Auftreten von unspezifischen Hemmungen und Aktivierungen wurde durch das Mitführen von Spikes erfasst. Zusatz von Magnesimuchlorid (BioWhittaker, USA) bzw. Probenverdünnung wurden genutzt, um diese Probleme zu überwinden.

#### 3.2.4.1 Bestimmung der luftgetragenen Endotoxin-Konzentrationen und der Endotoxin-Konzentrationen im Waschwasser

Für die Bestimmung der luftgetragenen Endotoxin-Konzentrationen wurden die Impingerflüssigkeiten und die Eluate aus den PGP-Filterproben im LAL-Test untersucht.

Aus den Ergebnissen wurden unter Berücksichtigung von Luftdurchsatz und Sammeldauer die Konzentrationen von luftgetragenem Endotoxin pro m<sup>3</sup> Luft [EU/m<sup>3</sup>] ermittelt.

Zur Ermittlung der Endotoxin-Konzentration im Waschwasser wurden beide Waschwasserproben untersucht. Die Ergebnisse wurden auf einen Milliliter Waschwasser bezogen und ihr Mittelwert gebildet.

#### 3.2.4.2 Bestimmung der Endotoxin-Konzentrationen in potentiellen Quellen von luftgetragenen Endotoxinen

Die Bestimmung der Endotoxingehalte von Stroheinstreu, Kot, Futtermitteln, Stallstaub und Tränkwasser erfolgte nach den bei Zucker und Müller (2000a) beschriebenen Methoden. Stroheinstreu, Kot, Futtermittel und Stallstaub wurden hierzu jeweils bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und fein verrieben. Je 100 mg des so aufbereiteten Materials wurden in einen pyrogenfreien 100 ml Erlenmeierkolben eingewogen und dann in 50 ml pyrogenfreiem Wasser aufgenommen. Diese Flüssigkeit wurde anschließend für zehn Minuten mit einem Magnetrührer bei 250 rpm gerührt und danach 110 Minuten bei 22 rpm auf einem Horizontalschüttler geschüttelt. Die Endotoxinkonzentration in der so bearbeiteten Flüssigkeit wurde mittels LAL-Test bestimmt. Die Endotoxinkonzentration im Tränkwasser wurde direkt mit dem LAL-Test ermittelt.

## 3.2.5 NACHWEISGRENZEN BEI DEN UNTERSUCHUNGEN

## 3.2.5.1 Luftuntersuchungen

Durch die unterschiedlichen Sammelzeiten für einzelne Parameter (vgl. Tab. 10 und 12) kamen z.T. verschiedene Nachweisgrenzen beim gleichen Sammelgerät zustande. Die Nachweisgrenzen sind in Tabelle 13 aufgeführt.

Tabelle 13: Nachweisgrenzen bei den Luftuntersuchungen

Parameter	Andersen-Sammler		AGI-30 (Impinger)		PGP-System	
	untere	obere	untere	obere	untere	obere
Konzentration an einatembarem Staub [mg/m <sup>3</sup> ]	-	-	-	-	0,14	-
luftgetragene aerobe Gesamtkoloniezahl [KE/m <sup>3</sup> ]	106	1,2 x 10 <sup>6</sup>	1000	-	-	-
luftgetragene aerobe gramnegative Gesamtkoloniezahl [KE/m <sup>3</sup> ]	3,5	4,0 x 10 <sup>5</sup>	1000	-	-	-
Konzentration an einatembaren Endotoxinen [EU/m <sup>3</sup> ]	-	-	10	-	4	-
luftgetragene Schimmelpilzkoloniezahl [KE/m <sup>3</sup> ]	106	1,2 x 10 <sup>6</sup>	1000	-	-	-

## 3.2.5.2 Waschwasseruntersuchungen

Bei den Waschwasseruntersuchungen gab es keine oberen Nachweisgrenzen. Die unteren Nachweisgrenzen für die einzelnen Parameter sind in Tab. 14 aufgeführt.

Tabelle 14: untere Nachweisgrenzen bei den Waschwasseruntersuchungen

Parameter	untere Nachweisgrenze
aerobe Gesamtkoloniezahl im Waschwasser [KE/ml]	5
aerobe gramnegative Gesamtkoloniezahl im Waschwasser [KE/ml]	5
Endotoxinkonzentration im Waschwasser [EU/ml]	0,05
Schimmelpilzkoloniezahl im Waschwasser [KE/ml]	5

### 3.2.6 DIFFERENZIERUNG DER ISOLIERTEN KEIME

#### 3.2.6.1 Gramnegative

Die auf den MacConkey-3 Nährböden gewachsenen Kolonien wurden mittels KOH-Test auf ihre Gramzugehörigkeit getestet. Von den morphologisch gleichen gramnegativen Kolonien eines Sammelortes wurde jeweils eine Reinkultur auf 5%igem Hammelblutagar (SIFIN, TN 1165) angelegt und bei 37°C 24 Stunden und 22°C weitere 24 Stunden bebrütet. Von den Reinkulturen wurde ein Oxidasetest gemacht. Oxidase positive Keime wurden im api-20 NE-System (bioMérieux) und Oxidase negative Keime im api-20 E-System weiter differenziert. Die Verteilungen der Bakterienfamilien roh- und reinluftseitig wurden miteinander verglichen.

#### 3.2.6.2 Schimmelpilze

Von den isolierten Schimmelpilzen wurden die Gattungen anhand von phänotypischen Merkmalen (Koloniemorphologie, mikroskopisches Bild) bestimmt. Die auf Roh- und Reinluftseite gefundenen Schimmelpilzgattungen wurden miteinander verglichen.

### 3.2.7 WEITERE UNTERSUCHUNGEN

#### 3.2.7.1 Sondermessung mittels Respicons

Die Messgeräte wurden bei der Messung mit den Respicons (3.2.1.4) abweichend vom üblichen Probenahmeort auf der Reinluftseite direkt hinter dem Pad noch vor dem Ventilator (vgl. Abb. 3) positioniert. Dann wurde etwa 15 Minuten lang Einstreu im Stall aufgewirbelt und so eine künstliche Belastungsspitze erzeugt. Vor und nach der Belastungsspitze wurden die Respicons etwa fünf Minuten mit einem speziell angefertigten Aufsatz auf eine Nulllinie geeicht.

Ferner wurden in diesen 15 Minuten auch Luftproben mittels PGP-System und AGI-30 genommen und später im Labor weiterverarbeitet. Zusätzlich wurde das Waschwasser wie in Abschnitt (3.2.2.4) beschrieben untersucht.

#### 3.2.7.2 Außenluftmessungen

Die Außenluft wurde im Winter und im Sommer untersucht.

Die Probenahmen fanden luvseitig der Stallanlagen in etwa 250 Meter Entfernung von diesen statt. Die Probenahmezeiten betragen beim Andersen-Sammler für die luftgetragene aerobe Gesamtkoloniezahl und die luftgetragene Schimmelpilzkoloniezahl hier 2 mal 1 Minute. Die luftgetragene gramnegative Gesamtkoloniezahl wurde wie üblich 2 mal 10 Minuten beprobt.

Die AGI-30 Probenahme dauerte 60 Minuten. Die Staubkonzentration in der Außenluft wurde nicht bestimmt.

#### 3.2.7.3 Untersuchung von potentiellen Endotoxinquellen

Zusätzlich zu den Luft- und Wasseruntersuchungen wurden zweimal die **Endotoxingehalte** von Stroheinstreu, Kot, Futtermitteln, Stallstaub und Tränkwasser bestimmt, um so potentielle Quellen für luftgetragene Endotoxine näher zu charakterisieren. Die Bestimmung erfolgte nach den von Zucker und Müller (2000a) benutzten Methoden. Diese wurden in Abschnitt 3.2.4.2 näher beschrieben.