2 Literaturübersicht

2.1 Anforderungen des Pferdes an das Stallklima

Als ursprüngliches Steppentier hat das Pferd einen großen Bedarf an frischer Luft. Man kann diesem Anspruch in der heutigen Zeit, in der die Haltung in Einzelboxen vorherrscht, nur durch gutes Stall- und Klimamanagement gerecht werden.

Die isolierte ganzjährige Stallhaltung ist mit systemischen Nachteilen für die Pferde verbunden und unterstützt vorrangig die Interessen der Pensionspferdehalter. Erkrankungen der Gliedmaßen durch Bewegungsmangel, sowie der Atemwege infolge hoher Staub- und Keimbelastungen resultieren aus der klassischen Pferdehaltung, wie sie heute weit verbreitet ist.

Das Stallklima gliedert sich in unterschiedliche Faktoren, die allein oder durch Zusammenwirken zum Tragen kommen. Diese setzen sich zusammen aus physikalischen, chemischen und biologischen Komponenten. Die physikalischen werden beschrieben durch Lufttemperatur, Luftfeuchtigkeit und Luftbewegung. Kohlendioxid, Ammoniak, Schwefelwasserstoff und weitere Schadgase gehören zu der Gruppe der chemischen Stallluftfaktoren. Die biologische Komponente der Stallluft wird u.a. gebildet aus Schimmelpilzen, Bakterien und Viren.

2.1.1 Physikalische Faktoren

2.1.1.1 Lufttemperatur

Pferde besitzen ein gutes Thermoregulationsvermögen. Sie sind in der Lage sowohl hohe, als auch tiefe Temperaturen gut zu vertragen. Auch Temperaturschwankungen gegenüber sind sie toleranter als andere Haus- und Nutztiere. Darüber hinaus wird hierdurch ihr Immunsystem gestärkt, wodurch sie weniger krankheitsanfällig sind. Durch eine gleichzeitige Steigerung des Hämoglobingehaltes erhöht sich auch die Leistungsfähigkeit des Tieres (ZEITLER-FEICHT 1994).

Laut der gültigen DIN 18 910 wird für Reit- und Rennpferde mit einer Masse von 100-600 kg ein Temperaturbereich zwischen 12-16 °C angegeben. Für Arbeitspferde bis 800 kg liegt dieser zwischen 10-14 °C. Als Planungs - und Berechnungsgrundlage werden jeweils die Mittelwerte beider Temperaturbereiche herangezogen (DIN 18910).

Bestrebungen hinsichtlich einer ganzjährigen Temperaturkonstanz im Temperaturbereich der „thermoneutralen Zone“ in Pferdeställen lehnt ZEITLER-FEICHT (1994) gänzlich ab.

Sie bemängelt eine unzureichende Frischluftzufuhr in den kalten Jahreszeiten aufgrund des Schließens von Türen und Fenstern und befürchtet zudem eine erhöhte Krankheitsanfälligkeit der Tiere.

2.1.1.2 Luftfeuchte

Die empfohlene optimale Luftfeuchtigkeit in Pferdeställen laut BMVEL (1995) liegt zwischen 60-80 %. In den Wintermonaten neigen viele Pferdebesitzer dazu, Fenster und Türen zum Schutz vor Kälte in den Stallungen zu schließen. Besonders in Turnierställen, wo das Fell der Pferde zu Sportzwecken geschoren wird, ist man darauf bedacht, die Klimabedingungen im Stall auf einem konstanten Niveau zu halten. Nach MARTEN (2004) kann die Luftfeuchtigkeit in Pferdeställen Werte von über 90 % annehmen. Nicht nur über die Verdunstung von Harn können solche hohen Werte entstehen. Allein über die Atmung und die Haut gibt das Pferd ca. 0,3 Liter Wasser in der Stunde ab. Innerhalb von 24 Stunden sind das über 7 Liter Wasser.

Die Folgen einer dauerhaft erhöhten Luftfeuchte im Stall sind die Bildung von Kondenswasser und damit verbundene Korrosionen an den Bauteilen. Insbesonders wenn neben der Luftfeuchte auch die Stalltemperatur außerhalb des Optimums liegt, sind die Tiere nicht in der Lage, ihre Wärme mittels Evaporation abzugeben. Darüber hinaus finden Bakterien, Schimmelpilze und Parasiten beste Voraussetzungen zur Vermehrung.

Dagegen führt eine zu geringe Luftfeuchte, infolge geringer Befeuchtung und dem damit verbundenen erhöhten Staubgehalt der Luft, zu einer dauerhaften Reizung der Atemwege. Reizhusten und eine verminderte Immunabwehr der Atemschleimhäute können die Folge sein (ZEITLER-FEICHT 1993).

2.1.1.3 Luftströmung

Zur Abfuhr von Schadstoffen aus der Stallluft muss ein Luftaustausch stattfinden. In neu gebauten Pferdeställen reicht hierzu oftmals eine Trauf-First Lüftung aus. In Altgebäuden, in denen meist nur das Stalltor einen Zugang für Frischluft bietet, ist die Möglichkeit eines Luftaustausches nur in geringem Ausmaß gegeben. ZEITLER-FEICHT (1994) fordert eine Mindestgeschwindigkeit von 0,2 m/sec in Pferdeställen. Im Sommer sollten Werte von 0,8 m/s erreichet werden. Mit einer höheren Luftrate wird zwar keine Stallraumkühlung erreicht, jedoch wird die Grenzschicht am Tierkörper vermindert und erleichtert damit die konvektive Wärmeabgabe (SIELER 1974). Eine großflächig auftretende Luftströmung aktiviert nach Aussagen von ZEITLER-FEICHT (1994) die Thermoregulation der Pferde.

Zugluft hingegen kann sich negativ auf die Gesundheit des Pferdes auswirken. In Ställen, in denen Kalthaltung praktiziert wird, tritt Zugluft aufgrund der fehlenden Differenz zwischen Stall- und Außentemperatur nicht auf.

In den meisten Pferdeställen erfolgt der Luftaustausch mit Hilfe der Schwerkraftlüftung. Diese funktioniert aufgrund eines Temperatur- und Dichteunterschiedes, der zwischen der Stall- und der Außenluft besteht. Strömt kalte Luft in den Stall, wird die wärmere Luft nach oben verdrängt und entweicht durch den First. Dieser Mechanismus tritt nur bei einer Temperaturdifferenz von > 5 K zwischen Außen- und Innenluft in Kraft und bei einem Höhenunterschied von der Lufteintritts- und Luftaustrittsöffnung. Unzureichend sind die Leistungen der Schwerkraftlüftung in den Sommermonaten (MARTEN 2004).

2.1.2 Chemische Faktoren

2.1.2.1 Kohlendioxid

In Stallungen gilt Kohlendioxid als Indikator für mindere Luftqualität. Außerhalb des Stalles kommt CO_2 in Konzentrationen von 0,03 Vol % vor, im Aufenthaltsbereich von Pferden sollten laut BMVEL (1995) Werte über 0,10 Vol % nicht überschritten werden. Größter Produzent dieses Gases sind die Tiere selbst durch Ausatmung von 3-4 Vol % CO_2 pro Atemzug und durch geringe Mengen von Zersetzungsprozessen in Harn und Kot. Gesundheitsbeeinträchtigende Konzentrationen kommen in Pferdeställen nicht vor. Erhöhte Konzentrationen sind aber ein deutlicher Hinweis auf eine schlechte Luftqualität und zu geringen Luftwechsel (ZEITLER-FEICHT 1993).

2.1.2.2 Ammoniak

Als Hauptschadgas in Tierställen gilt gegenwärtig Ammoniak: ein farbloses, stechend riechendes Gas, das leichter ist als Luft, eine gute Wasserlöslichkeit aufweist und in jeder Stallluft vorhanden ist, wenn auch in sehr unterschiedlichen Konzentrationen (MEHLHORN 1979). Harnstoff stellt die Hauptquelle der NH_3-Produktion im Stall dar. Anaerobe sowie auch aerobe harnstoff-abbauende (urease-aktive) Bakterien setzen eiweißhaltige, organische Verbindungen (Gülle, Jauche, Einstreu) um und führen dadurch zur Bildung von Ammoniak (MÜLLER und SCHLENKER 2003). Bereits geringe Konzentrationen wirken sich reizend auf die Schleimhäute der Atemwege und Konjunktiven aus (MEHLHORN 1979). Inhalative Belastungen von Ammoniak und die dadurch entstehenden Effekte auf die Atemwege wurden von JOHANNSEN et al. (1987)

an Ferkeln getestet. Ein Absinken des Gesamtstoffumsatzes und somit der tierischen Leistung sind die Folge. Schon kleine Verätzungen des Schleimhautepithels der Atemwege bieten pathogenen Keimen eine Eintrittspforte (MEHLHORN 1979). Als Grenzwert in Tierställen geben MÜLLER und SCHLENKER (2003) 20 ppm an. Bei Konzentrationen ab 30 ppm kommt es zu Schleimhautreizungen und respiratorischen Symptomen. Mit einer erhöhten Infektionsrate ist ab einem Ammoniakgehalt von 50 ppm zu rechnen. Zentralnervöse Störungen, Lungenödeme und Krämpfe entstehen ab 150 ppm. Der Exitus tritt bei Konzentrationen um 4 Vol % ein.

Für Pferdeställe empfiehlt ZEITLER-FEICHT (1994) 10 ppm nicht zu überschreiten und gibt 20 ppm als Grenzwert an. Das BMVEL (1995) fordert ebenfalls in den Leitlinien „Beurteilung von Pferdehaltungen unter Tierschutzgesichtspunkten“ die Konzentration unter 10 ppm zu halten.

2.1.3 Biologische Faktoren

Die Wirkung von Luftkeimen ist mit der Wirkung des Staubes eng verknüpft. Man vermutet neben einer allergisierenden Wirkung von Schimmelpilzen eine Beteiligung der Luftkeime an der so genannten Stallmüdigkeit. Unter diesem Begriff verbirgt sich die Beobachtung, dass im Laufe von 3-5 Jahren die Leistung der Tiere ohne ersichtlichen Grund absinkt (HILLIGER 1990). Zu den Bioaerosolen werden, neben den Schimmelpilzen, die Bakterien und die Viren gezählt, die unter dem Begriff „Gesamtkeimgehalt“ die allgemeine biologische Belastung der Stallluft beschreibt. Milben und Protozoen vervollständigen den Anteil der belebten Komponenten. Die Partikel haben einen biologischen Ursprung und eine biologische Aktivität (SEEDORF und HARTUNG 2002). Gleiches gilt für den unbelebten Anteil der Bioaerosole, der sich u.a. aus Pollen, Hautabschilferungen, Härchen, Futter- und Einstreupartikeln zusammensetzt.

2.1.3.1 Schimmelpilze

Nach Aussagen von HAAKE (1992) können bis zu 50 % der Gesamtkeime der Stallluft von Pferdeställen den Pilzen zugeordnet werden. In Stallarbeitsphasen treten Konzentrationen von 150 bis 180 KE/l auf.

Hohe Konzentrationen an Schimmelpilzsporen entstehen in Pferdeställen durch die Freisetzung aus pilzbelastetem, unsachgemäß gelagertem Heu und Stroh. Diese sind oft schon vor der Ernte mit Feldpilzen kontaminiert. Bei schlechten Ernte- und

Lagerbedingungen können sich die Pilzsporen massenhaft vermehren. In diesem Fall spricht man von Lagerpilzen (HENNIG 1997). Die in erntefrischen Futtermitteln nachgewiesenen Feldpilze gehören zu den Gattungen u.a. *Alternaria*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Aerobasidium*, *Ulocladium*, *Epicoccum*, *Acremonium*, *Stachybotris* und *Botrytis*. Sie haben teilweise phytopathologische Bedeutung oder leben als Saprophyten auf den Pflanzen. Einige von ihnen sind Mykotoxinbildner, besonders *Alternaria* und *Fusarium*. Von *Cladosporium* weiß man nur, dass das Myzel toxisch ist, ohne Genaueres über das Toxin zu wissen (LfL 2005). Typische, in Futtermitteln nachgewiesene Gattungen der Lagerpilze sind: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Scopulariopsis*, *Trichoderma*, *Paecilomyces*, *Wallemia*, *Mucor*, *Absidia*, *Rhizopus*, *Monascus* und Hefen. Einige Spezies der Gattungen *Aspergillus* und *Penicillium* sind zur Bildung von Mykotoxinen befähigt (LfL 2005). Feldpilze benötigen einen verhältnismäßig hohen Wassergehalt: An Getreide ist der Befall bereits im frühen Stadium der Körnerbildung festzustellen, wohingegen die Lagerpilze erst mit sinkendem Wassergehalt nach der Ernte verstärkt auftreten. Allerdings können Feldpilze auch bei einem geringen Feuchtegehalt jahrelang auf Erntegut überdauern (REISS 1998).

Um die Belastung des Atemtraktes mit Heustaub und die davon ausgehenden Gesundheitsgefahren zu verdeutlichen, befüllte CLARKE (1987b) ein Netz mit verschimmeltem Heu. Seine anschließenden lufthygienischen Erhebungen ergaben im Umkreis von einem Meter um das Heunetz Konzentrationen von bis zu 4×10^6 lungengängigen Pilzsporen je m^3. Die Umrechnung auf das Atemzugvolumen eines ruhenden Pferdes (4-5 Liter) ergibt 10 Millionen Sporen die pro Atemzug inhaliert werden.

Der Wassergehalt von Stroh und insbesondere Heu ist bei der Herstellung von Rund- und Quaderballen ausschlaggebend für die spätere Qualität. Neben dem Wassergehalt ist auch die Temperatur ein wichtiger Faktor für mikrobiologisches Wachstum auf pflanzlichen Materialien. CLARKE und MADELIN (1987c) untersuchten Heuchargen unterschiedlicher Restfeuchte auf ihren Pilzsporengehalt. Sie kamen zu dem Ergebnis, dass sich Heu, welches vor der Verdichtung einen Wassergehalt von 15-20 % aufweist, kaum erhitzt und demzufolge meist mit so genannten Feldkeimen besiedelt ist.

Bei einem Restfeuchtegehalt von 20-30 % entstehen im Heuballen Temperaturen von 35-45 °C, die ein Keimspektrum aufweisen, das vorwiegend aus thermotoleranten Pilzen und thermophilen Aktinomyceten besteht. Sehr hohe Konzentrationen wiesen Ballen auf, die mit einer Restfeuchte von 35-50 % verdichtet wurden und sich auf 50-60 °C erhitzten. Mikroskopische Untersuchungen dieser Heuchargen ergaben Pilzsporen mit einer Größe von 2-5 µm.

Heu besserer Qualität enthält zwar weniger Pilzsporen, der Gehalt an nichtsporenhaltigem Staub ist jedoch höher als bei schimmelndem Heu. Die Ursachen sehen GREGORY und LACEY (1963) in einem höheren Feuchtigkeitsgehalt solcher Ballen, sowie in einem verstärkten Myzelwachstum in verpilztem Heu, welches lose Pflanzenpartikel einbindet. Eine andere Meinung vertreten KAMPHUES et al. (1989). Sie geben an, dass der Staubgehalt des Materials ein guter Anhaltspunkt sei, um die Pilzbelastung einzuschätzen. Bei mykologischen Untersuchungen von Heu lagen die Pilzkonzentrationen in Proben mit hohem Staubgehalt um durchschnittlich zwei Zehnerpotenzen höher als in solchem mit geringem Staubgehalt.

Raufutter war auch, neben verschiedenen Einstreumaterialien und Futterproben, Gegenstand der Untersuchungen von VANDENPUT et al. (1997). Diese untersuchten mit Hilfe einer Versuchseinrichtung unter standardisierten Laborbedingungen Probenmaterial auf seine Staub- und Schimmelpilzfreisetzung. Makroskopisch hochwertiges Heu emittierte ein Vielfaches mehr an Staub und Pilzsporen, als die Vergleichsmaterialien Silage mit jeweils einer Trockensubstanz von 78 % und 50 % sowie Pellets aus Luzerne. Unter den getesteten Einstreumaterialien wies Leinstroh im Vergleich zu Hobelspänen und hochwertigem Stroh die geringste Konzentration auf. Entgegen den Erwartungen haben Hobelspäne die größte Menge an Staubpartikeln emittiert (31 500 Partikel/l Luft) und auch die Sporenfreisetzung lag, bezogen auf den Leitkeim *Aspergillus*, um ein Vielfaches höher als bei den beiden Vergleichsproben.

Pilzsporen dienen Heumilben als Nahrungsquelle. Folglich nimmt mit zunehmender Lagerungsdauer die Konzentration der Pilze im Heu ab, während die Belastung durch halbverdaute Sporen in Form von Milbenkot zunimmt. In monatelang gelagertem Heu sind entweder Heumilben, deren Exkremente oder ihr Exoskelett zu finden. Dies deutet immer auf eine schlechte Heuqualität hin und ist aufgrund seines weiterhin bestehenden allergischen Potentials für Tier und Mensch als gesundheitsgefährdend einzustufen (HOCKENJOS et al. 1981).

2.1.3.2 Bakterien

Nach Aussagen von HARTUNG (1998) setzt sich die Keimflora der Stallluft überwiegend aus Staphylokokken (etwa 60 %) und Streptokokken (30 %) zusammen, während der restliche Anteil aus Pilzen, Sporenbildnern und anderen Mikroorganismen, wie z. B. Enterobakterien gebildet wird. Die Überlebensfähigkeit von Enterobakterien in luftgetragenem Zustand ist nur gering. MÜLLER (1980) gibt seinen Anteil an der Gesamtkeimzahl im Höchstfall mit 5 % an, meist liegt er jedoch unter 1 %.

ZEITLER (1988) untersuchte im Winter 1986/87 in 15 Pferdeställen den Luftkeimgehalt sowohl quantitativ als auch qualitativ. Sie kam zu dem Ergebnis, dass die Luft mit durchschnittlich 46 KE/l Luft nur gering belastet war. Den größten Teil bildeten die Mikrokokken und Staphylokokken. Mit 17 % war der Anteil der Enterobakterien an den insgesamt 1590 differenzierten Bakterienstämmen auffallend hoch. Als wichtigster monokausaler bakterieller Erreger wird *Streptococcus equi* genannt, verantwortlich für das Krankheitsbild der Druse. Diese vorrangig Jungtiere betreffende, seuchenhafte Erkrankung des oberen Respirationstraktes äußert sich in einer Entzündung der Schleimhäute und einer Vereiterung der regionären Lymphknoten (NATTERMANN 1999).

Aufgrund einer Infektion mit *Rhodococcus equi* entstehen bei Fohlen eitrige Pneumonien, die durch Bildung von Lungenabszessen gekennzeichnet sind. Die Erreger können aus Einstreumaterialien isoliert werden und gelangen auf aerogenem Weg in die Lunge. Eine orale Aufnahme mit anschließender hämatogener oder lymphogener Ausbreitung ist ebenfalls möglich (HILLIDGE 1986; MAYR und ROLLE 1993). Als weitere, im Zusammenhang mit Erkrankungen der unteren Atemwege bei Pferden stehende, bakterielle Erreger nennt BURELL et al. (1996) *Streptococcus zooepidemicus*, *S. pneumoniae* und *Actinobacillus equuli*. Genauere Angaben konnten diesbezüglich HAJER und SASSE (1980) machen, die von 29 Patienten mit einer akuten Bronchitis folgende pathogenen Keime anzüchteten: *Streptococcus zooepidemicus, Bordetella bronchiseptica, Actinobacillus equuli* und *Salmonella.* Als bedingt pathogene Keime konnten *Pseudomonas aeruginosa* und *Escherichia coli* kultiviert werden, begleitet von weiteren, nicht klassifizierten apathogenen Keimen. Nach Aussagen von MAYR (1999) können weitere Streptokokken, Klebsiellen, Pasteurellen, Mykoplasmen, *Staphylococcus aureus* und *Diplococcus pneumoniae* am Komplex der infektiösen Atemwegserkrankungen beteiligt sein.

Endotoxine sind obligate Zellwandbestandteile von gram-negativen Bakterien, die in der Stallluft sowohl frei, als auch an Staub gebunden auftreten können. Sie bestehen aus einem hochmolekularen Komplex aus Lipoid, Protein und Polysaccharid (LPS). Ihre Freisetzung erfolgt erst nach Zerfall der Bakterien (PETZOLDT und KIRCHHOFF 1986). Die Wirkung der Endotoxine auf den Organismus ist mannigfaltig. Sie rufen Fieber, Leistungsdepressionen, Fruchtbarkeitsstörungen einschließlich Endometritiden, Mastitiden, Huferkrankungen, Inappetenz und gehäuftes Auftreten von Erkrankungen des Respirationstraktes hervor. Sie besiedeln Getreide, sind auf Getreideschrot zu finden, wie auch in Silagen und Biertreber. Ein sehr unspezifisches Krankheitsbild, eine Belastung des Leberstoffwechsels sowie eine immunsuppressive Wirkung vereint die Eigenschaften aller Toxine (MÜLLER und SCHLENKER 2003). Die Wirkung der Endotoxine nach

Inhalation ist bis heute nicht ganz klar. Fälle von allergischer Pneumonie nach Kontakt mit endotoxinhaltigem Getreidestaub bei Arbeitern von Getreidemühlen sind im humanmedizinischen Bereich bereits bekannt. In diesen Fällen werden die Endotoxine mit dem Vorhandensein des Bakteriums *Erwinia herbicola* in Zusammenhang gebracht, da dieser zur normalen Bakterienflora auf Getreidekörnern zählt (DUTKIEWICZ et al. 1985). Die Endotoxine binden sich an Staubpartikel aller Größen, so dass der gesamte obere und untere Atemtrakt erreicht werden kann (BERGMANN und MÜSKEN 1994). Das so genannte **o**rganic **d**ust **t**oxic **s**yndrome (ODTS) auch als „Dreschfieber“ bekannt, ist eine akut entzündliche Reaktion der Atemwege und der Alveolen auf organische Stäube. Die Erkrankung ist gekennzeichnet durch grippeähnliche Symptome, die zwei bis sechs Stunden nach der Staubexposition auftreten (Fieber, Frösteln, Muskelschmerz, Schwäche, Kopfschmerzen, Husten, Engegefühl in der Brust oder Kurzatmigkeit). Typische Auslösesituationen sind das Ausmisten von Tierställen und die Arbeit mit schimmligem Getreide (SCHENKER 1998). Vermutlich sind Endotoxine maßgeblich an der Entstehung des ODTS beteiligt.

PIRIE et al. (2001) konnte an Pferden nachweisen, dass eine Inhalation von LPS dosisabhängig eine Atemwegserkrankung mit einem deutlichen Anstieg der neutrophilen Granulozyten hervorruft.

Nationale Grenzwerte für Endotoxine wurden bisher weder für Tierställe, noch für den humanmedizinischen Bereich festgesetzt. International sind die Niederlande das einzige Land, welches mit 200 EU/m³ einen Grenzwert bestimmt hat.

BARTZ (1992) untersuchte auf Sedimentationsblechen in Pferdeställen gesammelten Staub auf seinen Endotoxingehalt. Die Sammelzeit betrug sechs Tage mit einer Messzeit von sechs Stunden täglich. Er ermittelte im Durchschnitt 687 mg Staub pro m² und einen Endotoxingehalt von 255 µg/g Staub.

2.1.3.3 Viren

An der Entstehung von Atemwegserkrankungen bei Pferden sind Viren als Erreger monokausaler respiratorischer Infektionskrankheiten maßgeblich beteiligt (MAYR 1999).

Atemwegserkrankungen basieren primär auf einer viralen Infektion, die dann so genannten opportunistischen Keimen eine Ansiedlung ermöglichen. Für die Pferdeinfluenza, auch Hoppegartener Husten genannt, sind Influenza-A-equi-1- und -2-Viren verantwortlich. Es handelt sich hierbei um eine akut verlaufende und hochkontagiöse, zyklische virale Allgemeinerkrankung mit bevorzugter Manifestation in den

Atemwegen. Leitsymptome dieser Erkrankung sind ein trockener und kräftiger Husten nach einem kurzen Fieberschub zusammen mit einem Katarrh der oberen Atemwege (MAYR 1999). Bei Sekundärinfektion mit Streptokokken spricht man von der „Brüsseler Krankheit“. Bei einer milden Verlaufsform ohne bakterielle Beteiligung und Ruhigstellung des betroffenen Tieres kann es innerhalb von zwei Wochen zu einer Spontanheilung kommen. Eine über Monate dauernde Rekonvaleszenz ist bei schweren Verlaufsformen, insbesondere bei Hochleistungstieren zu erwarten (WIESNER und RIBBECK 2000).

Ein weiterer monokausaler Erreger ist das equine Arteritisvirus (Pferdestaupe, Rotlaufseuche), das im Unterschied zum Influenza A-Virus, neben den respiratorischen Symptomen weitere Beschwerden verursachen kann (EICHHORN 1989). Zu den charakteristischen klinischen Symptomen zählen Augenveränderungen („pink eye“), Ödeme an Extremitäten, am Bauch und im Genitalbereich sowie Frühabort (MAYR 1999).

Eine Infektion mit dem Equinen Herpesvirus-4 führt zu einer Rhinopneumonitis, die in 20 % der Fälle überwiegend bei Saug- und Absetzfohlen sowie jungen Pferden eine fieberhafte Erkrankung der oberen Atemwege hervorruft. Ältere Pferde erkranken klinisch manifest meist nur bei einer Immunsuppression (MAYR 1999; WIESNER und RIBBECK 2000). Eine Beteiligung an Atemwegserkrankungen können auch dem Equinen Herpesvirus-1 zugesprochen werden. In über 90 % der Fälle sind sie aber Ursache eines Spätabortes bei Stuten (MAYR 1999).

2.2 Die Bedeutung von Staub in der Stallluft

2.2.1 Definition und Quellen von Staub

Stäube werden definiert als disperse Verteilungen fester Stoffe in Gasen, insbesondere in Luft, entstanden durch mechanische Prozesse. Sie gehören zusammen mit Rauch und Nebel zu den Aerosolen. Bei den Aerosolen handelt es sich um mehrphasige Systeme in Gasen, insbesondere Luft und darin dispers verteilte partikelförmige Feststoffe oder Flüssigkeiten (Deutsche Forschungsgemeinschaft/DFG 2003). Der Begriff Bioaerosol ist charakterisiert durch die Zusammensetzung von belebten und unbelebten Komponenten, welche einen biologischen Ursprung haben und eine biologische Aktivität entwickeln. Staub bildet den unbelebten Teil, während die Gruppe der Mikroorganismen, wie Bakterien, Pilze, Viren, Milben oder auch Protozoen, Bestandteil der belebten Fraktion sind (SEEDORF und HARTUNG 2002). Beide Komponenten treten in der Luft gemeinsam als Agglomerate auf, denn Staubpartikel haben eine Vehikelfunktion: Sie transportieren ca. 80 % der Mikroorganismen und bilden mit diesen so genannte Cluster (MÜLLER et al. 1977). Bezogen auf die stofflichen Eigenschaften, handelt es sich bei Staub der Stallluft um ein Gemisch organischer Partikel, freigesetzt aus Einstreu, Futter, eingetrocknetem Kot und Hautpartikeln (MEHLHORN 1979). Der meiste Staub entsteht demnach durch die Tiere selbst oder wird nach Aussagen von RAYMOND et al. (1994) durch Futter und Einstreu in den Stall eingebracht. Stallstaub unterscheidet sich von Industriestäuben in seinem prozentualen Verhältnis von organischen und anorganischen Bestandteilen. Stallstaub weist einen Anteil organischen Materials von ca. 90 % auf. Untersuchungen organischen Staubes hinsichtlich des Proteingehaltes ergaben im Schweinestall Werte von 24 %, im Pferdestall von 26 % und in der Hühnerhaltung von 50 % (HARTUNG 1983; AENGST 1984; ZEITLER 1988).

2.2.2 Physikalische Eigenschaften von Staub

Besondere Bedeutung für die Dispersion von Staub in der Stallluft haben deren physikalische Eigenschaften. Zu diesen gehören neben der Partikelform, der spezifischen Oberfläche, der elektrischen Ladung u.a.m., auch die Partikelgröße und die prozentualen Anteile einzelner Größenbereiche, anhand derer eine Klassifikation vorgenommen werden kann (MEHLHORN 1979). Die Größenbereiche reichen vom submikronen Bereich (< 1 µm) bis zu mehr als 100 µm. Aber auch ihr Formenreichtum ist sehr mannigfaltig. So weisen Partikel in der Luft eine sphärische Gestalt auf, oder aber sie sind faserartig

gestreckt oder gekrümmt, schuppenförmig oder auch polymorph. Des weiteren tragen Vorgänge der Agglomeration und Partikelseparation zu einem Polymorphismus bei. Die Bedeutung dieser beiden Parameter spiegelt sich in ihrer potentiellen Fähigkeit wider, Krankheiten auszulösen. Faserartige Partikel können, sofern sie inert sind, gesundheitsschädlicher sein als sphärisch geformte (HEBER 1995, zitiert nach SEEDORF und HARTUNG 2002).

Entscheidend für das Eindringen in den Atemtrakt ist der aerodynamische Durchmesser (d_{ae}) eines Teilchens (ZEITLER 1988). Als aerodynamischer Durchmesser eines Teilchens beliebiger Form und Dichte wird der Durchmesser einer Kugel mit der Dichte 1,0 g/cm³ angenommen, welche die gleiche Sinkgeschwindigkeit in ruhender oder laminar strömender Luft besitzt.
Dieser Zusammenhang ist gültig für Teilchen mit einem d_{ae} > 0,5 µm (DFG 2004). Der aerodynamische Durchmesser ist entscheidend für die Sedimentationsgeschwindigkeit von Partikeln. Die mittlere Verweilzeit von Partikeln und Keimen im Schwebezustand gibt HILLIGER (1990) mit 15-45 Minuten an. MÜLLER et al. (1977) ermittelten für Partikel mit einer Größe von 10 µm eine Verweildauer von 25 Minuten in der Luft, während dagegen Teilchen von 5 µm Größe die vierfache Zeit (100 Minuten) in luftgetragenem Zustand verblieben. Dem Partikeldurchmesser entsprechend unterteilte MEHLHORN (1979) den Gesamtstaub in Grobstaub, Mittel-, Fein- und Feinststaub und ordnete den jeweiligen Klassen bestimmte Sinkgeschwindigkeiten zu.

Tabelle 2.1: Einteilung des Staubes nach dem Teilchendurchmesser (MEHLHORN 1979)

Bezeichnung	Teilchendurchmesser (µm)	Sinkgeschwindigkeit ($cm \cdot s^{-1}$)
Grobstaub	500-50	300 - 15
Mittelstaub	50-10	15 - 0,6
Feinstaub	10-0,5	$0,6 - 2 \cdot 10^{-3}$
Feinststaub	0,5-0,1	$2 \cdot 10^{-4} - 2 \cdot 10^{-4}$

Je höher die Staubkonzentration im Stall ist, umso stärker unterliegt luftgetragener Staub Veränderungen. HILLIGER (1990) erklärt dazu, dass Staub und Keime sich in der Luft in ständiger turbulenter Bewegung im Sinne der BROWNschen Molekularbewegung befinden. Prallen sie auf eine zusätzlich durch Lüftungsvorrichtungen entstandene Luftbewegung, kann der dadurch entstandene Aufprall zur Agglomeration der Teilchen führen. Der Anteil größerer Partikel nimmt zu. Durch ihre Größenzunahme und eine damit verbundenen Abnahme der Schwebefähigkeit sorgen diese Partikel gemäß der STOCKschen Formel für eine erhöhte Sedimentationsrate.

Durch so genanntes Reentrainment kann bereits sedimentierter Staub wieder in den luftgetragenen Zustand überführt werden. Dies geschieht durch Einwirkung mechanischer Kräfte, wie zum Beispiel durch Reibung, Luftbewegung oder Austrocknung (MÜLLER, WIESER 1987). Die Konzentration von Staubpartikeln innerhalb eines Gebäudes wird bestimmt durch die Emissionsrate (R, Partikel/Stunde), das Luftvolumen des Gebäudes (V, m³) und die Verdünnungs- bzw. Eliminationsrate (q, pro Stunde). Dies wird durch nachfolgende Gleichung 1 beschrieben (modifiziert nach WATHES et al. 1983):

Gleichung 1: Wechselwirkung zwischen Emission und Elimination

$$C(t) = C_0 e^{-qt} + (\frac{R}{qv} + \frac{q_i C_i}{q} + \frac{q_s C_i}{q} + \frac{q_{biol.} C_i}{q})(1 - e^{-qt})$$

Dabei steht C(t) für die Ist-Konzentration zu einem bestimmten Zeitpunkt t (1/m³), C_0 für die Ausgangskonzentration zum Zeitpunkt 0 (1/m³), q bedeutet die Eliminationsrate über alle bisher genannten Möglichkeiten, wie Ventilation (q_v) und Sedimentation (q_s) und C_i steht für die Konzentration eingebrachter Staubpartikel in den Stall (1/m³).
In den meisten Fällen übersteigt die Eliminationsrate 10/Stunde und der Exponent (e^{-qt}) kann nach ca. 15 Minuten aufgrund von Sedimentationsprozessen und der Absterberate belebter Partikel vernachlässigt werden. Aus diesem Zusammenhang ergibt sich eine Vereinfachung oben genannter Gleichung, in der nur q_v berücksichtigt werden muss (Gleichung 2).

Gleichung 2:

$$C = \frac{1}{q}(\frac{R}{V} + C_i q_v)$$

Gleichung 2 kann zur Kalkulation von Gasen, Stäuben und Mikroorganismen angewendet werden. Ein Vorteil bei der Formulierung von Eliminationsraten ist die Unabhängigkeit der Werte von der Schadstoffkonzentration. Laufen mehrere Eliminationsprozesse zeitgleich ab, so ist die kombinierte Wirkung proportional der Summe eines einzelnen Prozesses (WATHES et al. 1983, zitiert nach BOURDILLON 1948).

Die möglichen Emissions- und Eliminationsmechanismen sind in Abbildung 2.1 anschaulich dargestellt.

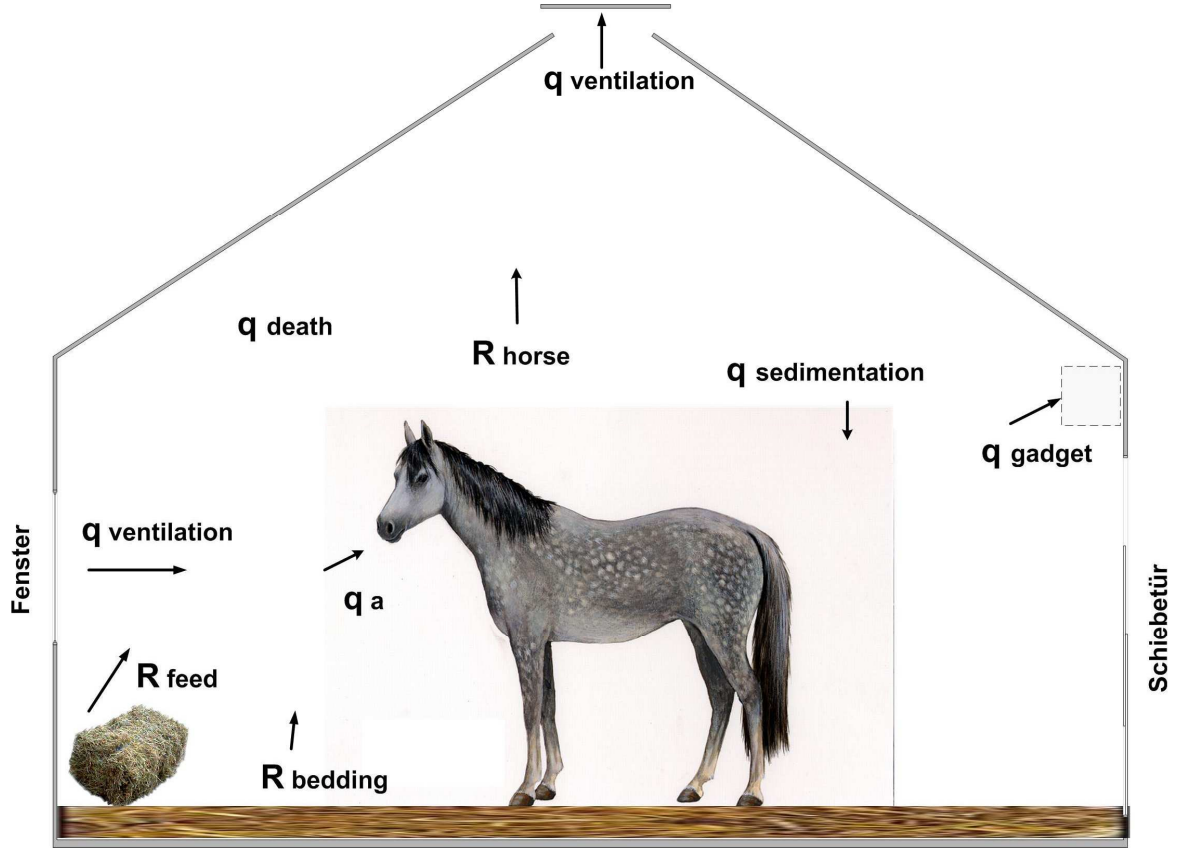

Abbildung 2.1: Emissions- und Eliminationsmechanismen von luftgetragenen Partikeln (modifiziert nach CLARKE 1986 und 1987)

Als „Haupteliminationsmechanismus“ gewährleistet die Lüftung (q_v) einen schnellen Abtransport der Schadstoffe aus dem Stall. Während es sich bei Futter und Einstreu um die Quelle emittierter Stäube handelt (R feed and bedding), werden virale und bakterielle Kontaminanten vom Tier selbst freigesetzt (R horse). Ammoniak reichert sich im Einstreumaterial an und kann, an Staub gebunden, ebenfalls in den luftgetragenen Zustand versetzt werden. Neben der Lüftung bestehen noch weitere Möglichkeiten zur Elimination von Schadstoffen in der Luft. Die Sedimentation (q_s) und Impaktion (q_i) führen entsprechend ihres aerodynamischen Durchmessers zu einer Deposition der Partikel. Für Actinomyceten und Schimmelpilzsporen, die mehrere Stunden benötigen, um zu sedimentieren, stellen diese (q_s und q_i) keinen signifikanten Eliminationsmechanismus dar. Auch das atmende Pferd (q_a) ist dies bezüglich von untergeordneter Bedeutung. Durch das Absterben von luftgetragenen pathogenen Mikroorganismen wird im Eliminationsprozess zwar die Infektiosität herabgesetzt, die allergisierende Wirkung bleibt aber weiterhin bestehen. In dem Modell beschreibt CLARKE Apparaturen (1986 und

1987), so genannte Gadgetrys (q_g), die von Luftfiltern bis hin zu Ionisatoren reichen. Letztere sorgen dafür, dass sich Luftionen an Staubteilchen anlagern und damit „biologisch“ inaktiv, also wirkungslos werden. CLARKE bewertet diese Vorrichtungen jedoch als ineffizient für große Stallungen und empfiehlt eine wirkungsvolle Lüftung.

2.2.3 Weg inhalierter Partikel im Atemtrakt

Die Lunge hat die wichtige Rolle eines Filters, welcher die Lungenalveolen davor bewahrt, dass die eingeatmeten Partikel in die tiefen Atemwege gelangen. Die Mehrzahl der Partikel wird während der Inhalation auf den Schleimhäuten des Atemtraktes abgeschieden. Entsprechend ihrer Größe, chemischen Eigenschaften (hydrophil oder hydrophob), Form (längliche/faserartige Partikel penetrieren tiefer die Lunge als sphärisch geformte mit demselben Durchmesser) und Dichte erreichen sie unterschiedliche anatomische Bereiche der Lunge (ART et al. 2002).

Daneben haben noch andere Faktoren Einfluss auf die Verteilung im Atemtrakt, wie z.B. individuelle Atemgewohnheiten. Hierzu zählen unterschiedliche Atemfrequenzen, Atemströme und Atemvolumina. Individuelle anatomische Unterschiede der Atemwege wie auch krankhafte Veränderungen können ebenso einen Einfluss auf die Ablagerung ausüben (DFG 2004).

Die Deposition kann sowohl bei der Ein- als auch bei der Ausatmung erfolgen. Hier spielt vor allem die Form des Atmens eine große Rolle. Schnelles und flaches Atmen führt zu einer Ablagerung in den oberen Luftwegen, während tiefes Atmen die Ablagerung in den Bronchiolen und Alveolen begünstigt (DEEGEN 1984).

Entsprechend ihrer Deposition im Atemtrakt werden Stäube verschiedenen anatomisch benannten Bereichen zugeordnet. Aerosole, die nach Einatmen im Bereich der Nase, des Mundes, des Rachens und des Kehlkopfes abgelagert werden, gehören zu dem Nasen-Rachen-Kehlkopf deponierten „extrathorakalen“ Anteil. Gelangen Partikel bis in den Bereich des mukoziliaren Reinigungsmechanismus des Thorax, spricht man in diesem Fall von dem im Tracheo-Bronchialbereich deponierten Anteil. Im Bereich der zilienfreien Bronchioli und der Ductus Alveolares findet keine mukoziliare Reinigung statt. Partikel, die hier deponiert werden, gehören dem Alveolarbereich deponierten Anteil an. Diese Partikel werden nach Übertritt in das Interstitium mit dem Lymphsystem abtransportiert. Einen weiteren Reinigungsmechanismus in diesem Kompartiment stellen die Alveolarmakrophagen dar, die die Partikel phagozytieren und entlang des tracheobronchial Abschnittes mit dem Sputum in den Verdauungstrakt transportieren. Derjenige Anteil des

Aerosols, der eingeatmet, aber nicht wieder ausgeatmet wird, ist der insgesamt deponierte Anteil. Dieser Anteil umfasst die Summe der in den Bereichen der Nase, des Rachens, des Kehlkopfes, des Tracheo- Bronchialbaumes und der zilienfreien tieferen Atemwege abgelagerten Partikel (DFG 2004).

Auch MEHLHORN (1979) nennt als wichtigste Prozesse bei den Eliminations- und Abwehrvorgängen der Lunge, die Filtration durch die Nase, den Mukoziliarstrom und die durch die Phagozyten im Alveolarbereich beseitigten Partikel sowie den hämatogenen und lymphogenen Abtransport.

Lediglich ein Teil der im Atembereich vorhandenen Partikel wird eingeatmet (eingeatmeter Teil). Entscheidend dabei ist die Ansauggeschwindigkeit im Bereich des Mundes bzw. der Nase sowie die Umströmungsbedingungen des Kopfes. Kleinere Partikel mit einem aerodynamischen Durchmesser < 5 µm werden fast vollständig eingeatmet, während mit zunehmender Größe der Partikel die Inhalierbarkeit abnimmt. Partikel mit einem aerodynamischen Durchmesser von > 15 µm verbleiben nahezu alle extrathorakal. Kleinere Feststoffpartikel, die bis in den Thorax gelangen, werden teilweise im Tracheobronchialbereich oder Alveolarbereich deponiert (DFG 2004).

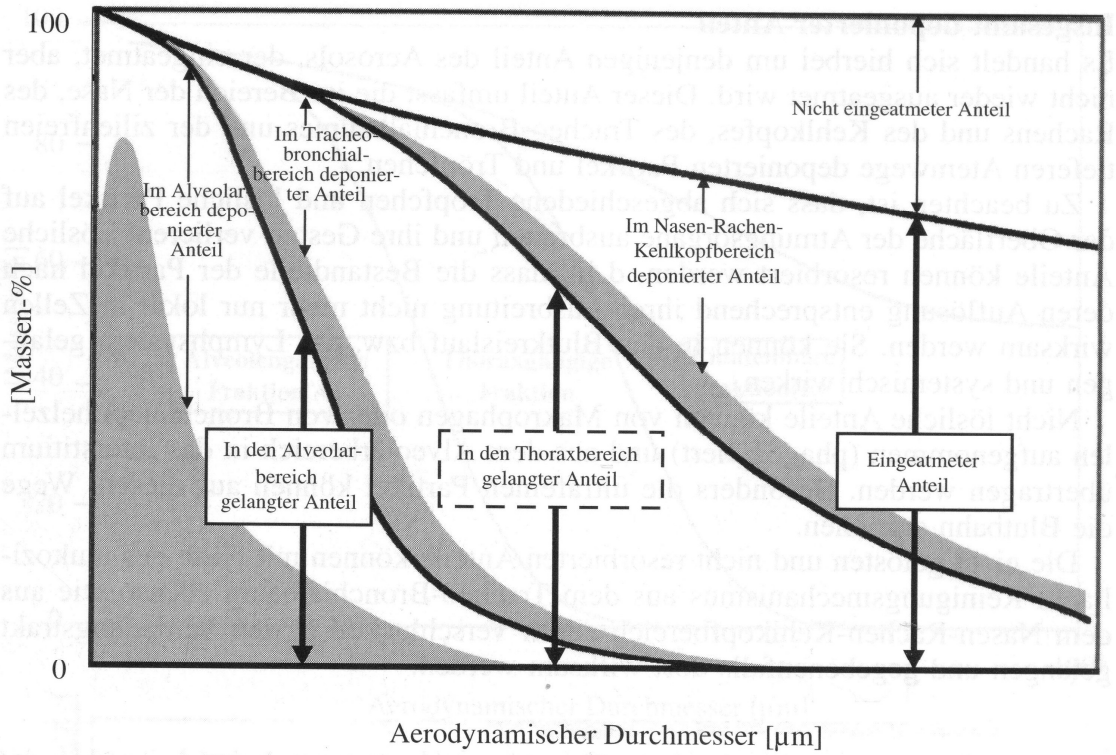

Abbildung 2.2: Schematische Darstellung der arbeitsmedizinisch-toxikologisch relevanten Anteile des Aerosols in den Atemorganen (DFG 2004)

Bei der Ablagerung von Partikeln im Atemtrakt greifen Mechanismen der Sedimentation (die Partikel sedimentieren mit einer Geschwindigkeit proportional zu ihrer Dichte und zu ihrem Durchmesser), der Impaktion (entsteht, wenn der Luftvolumenstrom seine Richtung und Geschwindigkeit ändert) und der Diffusion. Die Mehrzahl der großen Partikel mit einem Durchmesser > 5 µm werden durch Impaktion im oberen Bereich des Respirationstraktes ausgeschleudert (SEEDORF und HARTUNG 2003). Kleinere Partikel (0,5-5 µm) werden durch Sedimentation in den tieferen Lungenkompartimenten abgelagert. Ein Großteil der Partikel < 0,5 µm verlässt den Atemtrakt wieder über die Expiration, ohne mit dem Epithel des Respirationstraktes in Berührung zu gelangen. Die Diffusion sorgt in den terminalen Bronchiolen für ein Überführung der Partikel < 0,1 µm in das angrenzende Interstitium (ART et al. 2002).

Ergebnisse unveröffentlichter Untersuchungen zum Ablagerungs- und Eliminationsverhalten von inhalierten Partikeln bei Pferden lassen nach Aussagen von CLARKE (1987a) eine Übertragbarkeit des Modells nach Stauffer auch auf andere Organismen zu, in dem eine Skalierungstheorie für die Aerosoldeposition in den Atemwegen von Säugetieren aufgestellt wurde.

Der nicht deponierte Teil der Partikel wird wieder ausgeatmet. Nach DROMMER und KAUP (1984) werden 90 % der gesamt inhalierten Partikel in der Nase und den Nasenmuscheln abgefangen.

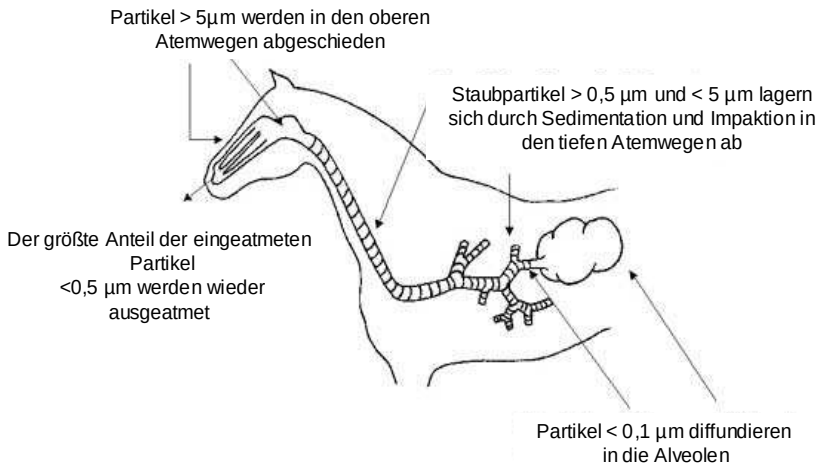

Abbildung 2.3: Deposition inhalierter Partikel im Atemtrakt des Pferdes (ART et al. 2002)

2.2.4 Wirkung von Staub

Das von Staubpartikeln ausgehende Gefahrenpotential ist von der Konzentration in der Atemluft, der Expositionsdauer und der Partikelgröße abhängig. Dieses potenziert sich durch chemische und biologische Schadwirkungen. Für die Gesundheit der Pferde sind vor allem die von Staubpartikeln transportierten Luftkeime von großer Bedeutung, welche infektiöse, toxische oder allergisierende Einflüsse auf die Tiergesundheit nehmen können (ZEITLER-FEICHT 1993).

Nach MEHLHORN (1979) hat Staub verschiedene Wirkungen. Die tierhygienische Bedeutung leitet sich ab aus

- der Belästigung der Tiere durch Ablagerung auf der Haut,
- der Belastung der Abwehrfunktion des Atemtraktes,
- der Trägerfunktion und aus der Funktion eines Nährmediums für mikrobielle Kontamination,
- der mechanischen und/oder toxischen Alteration des Gewebes oder einzelner Epithelzellen im Atemtrakt.

Die direkte Einwirkung erfolgt auf

- die äußere Haut und die zugänglichen Schleimhäute,
- das bronchopulmonale System,
- das gastrointestinale System.

Besonders die Wirkung von Staub auf den Atemtrakt ist von großer Bedeutung. Eine erhöhte Belastung der Atemwege mit Staubpartikeln kann zu einer eingeschränkten Reinigungsleistung der Atemwegsschleimhäute führen (DEEGEN 1984). Durch die dauerhafte mechanische Reizwirkung der Staubpartikel kommt es zur Überlastung der mukoziliären Clearence-Leistungen des Respirationstraktes. Der Begriff Clearence umfasst alle unspezifischen Abwehrvorgänge der Atemwege, wie Flimmerepithel, Becherzellen, submuköse Drüsen und pulmonale Alveolarmakrophagen. Bei einer Überlastung des nasalen, trachealen und bronchialen Flimmerepithels kann es zur Beeinträchtigung der Zilien bis hin zum Zilienverlust kommen. Becherzellen produzieren vermehrt Schleim und führen zu einer Konsistenzveränderung des Sekretes (ZEITLER 1988). Infolge dessen sind die Abwehrmechanismen überfordert, die Resistenz der Atemwege herabgesetzt. In solchen Situationen sind sogar fakultativ pathogene Keime in der Lage, Krankheitssymptome auszulösen und zu einem unspezifischen Husten-symptomkomplex beizutragen (MAYR 1987). Erleichtert wird der Übertritt von Bakterien in die Submukosa durch Schleimhautläsionen (ZEITLER 1988).

Tabelle 2.2: Mögliche Wirkung des Staub- und Keimgehaltes der Stallluft auf die Tiergesundheit (ZEITLER 1988)

Stallklimafaktor	Wirkung auf das Tier	Folge
Staub (Luftfeuchte, Ammoniak)	mechanische Reizwirkung	Überlastung der Clearence-Leistung; Läsionen der Atemschleimhaut
Staub/ Keime (Ammoniak, Luftfeuchte, Temperatur usw.)	unspezifische Reizwirkung	Belastung der Abwehrmechanismen; Verminderung der Krankheitsresistenz
Keime (Staub)	infektiöse Wirkung	Infektion mit pathogenen Krankheitserregern
Keime/ Staub	allergisierende Wirkung	Überempfindlichkeitsreaktionen (Typ I und II)
Keime (Staub)	toxische Wirkung	Intoxikation durch Endo- und Mykotoxine

2.2.5 Partikelfraktionierung

Es gibt verschiedene Möglichkeiten zur Quantifizierung von luftgetragenem Staub. Zur Differenzierung von Partikelgrößenklassen hat sich der Bezug auf die Eindringtiefe in den menschlichen Atemtrakt durchgesetzt. Die Definitionen sind größenabhängig. Die Qualität und die Wirkung von Bioaerosolen finden in dieser Begriffsbestimmung ebenso wenig Berücksichtigung wie die Partikelzusammensetzung. Die Bezeichnung der Größenfraktionen orientiert sich am oberen kritischen Partikeldurchmesser und umfasst kumulativ alle Partikel bis zu diesem oberen Durchmesser (DIN EN 481 1993).

	Der Masseanteil aller eingeatmeten Partikel,….
Einatembare (inhalable**) Fraktion**	*…der durch Mund und Nase eingeatmet wird.*
Thorakale (thoracic) **Fraktion**	*…der über den Kehlkopf hinaus vordringt.*
Alveolengängige (respirable) **Fraktion**	*…der bis in die nichtciliierten Luftwege gelangt.*

Durch Bildung der Differenz ergeben sich zwei weitere Größenfraktionen:

	Der Massenanteil der eingeatmeten Partikel,…
Extrathorakale Fraktion	*…der nicht über den Kehlkopf hinaus vordringt.*
Tracheobronchiale Fraktion	*…der über den Kehlkopf hinaus vordringt, aber nicht bis in die nichtciliierten Luftwege gelangt.*

International sowie in Regelwerken findet bei der Kennzeichnung von Aerosolen und Stäuben vermehrt der Begriff „Particulate Matter“ Verwendung (HINZ 2002). Die bei Umweltschutz-Außenluftmessungen erfassten Fraktionen PM_{10} und $PM_{2,5}$ sind nach ISO 7708 definiert. Dabei entspricht PM_{10} der „Thoraxgängigen Fraktion“ (Trennkurve mit 50 %igem Abscheidegrad bei 10 µm Durchmesser) während $PM_{2,5}$ durch eine Trennkurve mit 50 % Abscheidegrad bei 2,5 µm Durchmesser beschrieben wird (DFG 2004).

2.2.6 Staubkonzentration in Pferdeställen

Die Deutsche Forschungsgemeinschaft hat in der MAK- und BAT-Werte Liste einen allgemeinen Staubgrenzwert festgesetzt, der für die alveolengängige Fraktion (A) (bisher Feinstaub F) 1,5 mg/m^3 und für die einatembare Fraktion (E) (bisher Gesamtstaub G) 4,0 mg/m^3 beträgt. Bei Einhaltung dieses Grenzwertes ist laut DFG (2004) nicht mit einer Gesundheitsgefährdung zu rechnen, wenn es sich nicht um Staub handelt, der gentoxische, krebserzeugende, fibrogene, allergisierende oder sonstige toxische Wirkungen hat. Alveolengängiger (A)- und Einatembarer (E)-Staub sind die gesundheitlich relevanten Fraktionen, die mit Grenzwerten belegt sind (DFG 2004). Der MAK Wert (**m**aximale **A**rbeitsplatz-**K**onzentration) bezieht sich auf den arbeitenden Menschen mit einem Wochendurchschnitt von 40 Arbeitsstunden. Geht man in Deutschland von einer überwiegenden Einzelboxenhaltung aus, bei der Pferde mindestens 23 Stunden am Tag den klimatischen Bedingungen im Stall ausgesetzt sind, so kommt dem Staubgehalt im Stall eine besondere Bedeutung zu. In nachfolgender Tabelle sind von verschiedenen Autoren gemessene Staubwerte aufgelistet:

Tabelle 2.3: Staubkonzentrationen in Pferdeställen bei Verwendung von Stroh als Einstreu und Heu als Raufutter

BARTZ (1992)	1,65 mg/m³ Gesamtstaub 1,05 mg/m³ Grobstaub gemessen in der Box 2,72 mg/m³ Grobstaub gemessen am Kopf d. Pferdes 0,60 mg/m³ Feinstaub gemessen in der Box 1,39 mg/m³ Feinstaub gemessen am Kopf d. Pferdes
CRICHLOW et al. (1980)	0,41 mg/m³ Gesamstaub
HAAKE (1992)	Morgens:0,032-0,045 mg/m³ Feinstaub Abends: 0,077-0,11 mg/m³ Feinstaub
JORDAN-GOOSENS (1998)	Winter: 0,35 mg/m³ Feinstaub Sommer: 0,08 mg/m³ Feinstaub
NAVAROTTO et al. (1994)	1,95 mg/m³ Gesamtstaub 0,38 mg/m³ Feinstaub
WOODS et al. (1993)	Box: 2,55 mg/m³ Gesamtstaub 0,44 mg/m³ alveolengängiger Staub Einatembereich: 17,51 mg/m³ Gesamtstaub 9,28 mg/m³ alveolengängiger Staub
ZEITLER (1985)	0,64 mg/m³ Gesamtstaub

WOODS et al. (1993) untersuchten den Staubgehalt der Luft in zwei Pferdeställen unterschiedlichen Managements. Diese unterschieden sich durch die Einstreu- und Raufutterart, also einem konventionellen (System C) (bei Verwendung von Stroh und Heu) und einem „staubreduzierten“ (System R) Managementsystem, bei dem Sägespäne und pelletiertes Alleinfutter Verwendung fanden. Die Staubmessungen wurden mit Hilfe eines Andersen Kaskadenimpaktors (siehe Kapitel 3.2.1), der in der Pferdebox befestigt wurde und einem am Halfter des Versuchspferdes installierten „personal samplers“ (personenbezogener Marple Kaskadenimpaktor) vorgenommen. Letztere dient der Staubmessung im unmittelbaren Einatembereich des Pferdes. Es zeigten sich bei dem Gesamtstaub und dem alveolengängigen Staub deutliche Unterschiede hinsichtlich der Staubwerte, die in der Box bei den Pferden unterschiedlicher Systeme gemessen wurden (Stall C: 2,55 mg/m³ und 0,44 mg/m³, sowie Stall R: 0,70 mg/m³ und 0,20 mg/m³). Innerhalb des Systems C unterschieden sich die Staubgehalte bezüglich ihres Probenahmeortes. Im Einatembereich wurden Werte von 17,51 mg/m³ bzw. 9,28 mg/m³ gemessen, während in System R die Differenz nicht so deutlich ausfiel (0,52 mg/m³ und 0,30 mg/m³). Diese Untersuchungen verdeutlichen, welche Staubkonzentrationen

tatsächlich von einem Pferd inhaliert werden, während Messungen an einem beliebigen Punkt, z.B. in der Stallgasse, die tierspezifische Belastung nicht realistisch wiedergeben.

Schon BARTZ (1992) untersuchte ein Jahr vorher den Staubgehalt im Einatembereich des Pferdes mit Hilfe von personengebundenen Staubmessgeräten und unter verschiedenen Stallhaltungsbedingungen. Zur Messung des Grob- und Feinstaubes befestigte er zwei kleine Messköpfe auf jeweils der rechten und linken Seite des Halfters. Eine stationäre Messvorrichtung im Stall wurde zusätzlich installiert. Gegenstand seiner Untersuchungen waren vier Reitbetriebe. Im unmittelbaren Einatembereich des Pferdes konnte er Grobstaubkonzentrationen von 1,25 mg/m³ bis 2,72 mg/m³ Luft ermitteln. Verglichen mit den stationären Messgeräten lagen diese Werte um den Faktor 2,6 bis 3,5 niedriger. Beim Gesamtstaub waren die Unterschiede ebenfalls signifikant bis hochsignifikant. Die Konzentrationen gemessen am Halfter waren um den Faktor 1,9 und 2,7 höher als bei den stationären Messgeräten. Die Ergebnisse der Feinstaubmessungen wiesen keine bzw. nur eingeschränkte Unterschiede zwischen den beiden Probenahmeorten auf. Bei Fütterung von trockenem Heu und Stroh lag die Feinstaubkonzentration der tiernahen Messung um den Faktor 1,5 bis 2,3 über den Werten der stationären Messung. Bei Vorlage von in Wasser eingeweichtem Heu und Verwendung von Hobelspänen als Einstreu hingegen lag der tiernahe Wert mit 0,38 mg/m³ Luft um 11 % niedriger.

Bereits einige Jahre vorher hatte ZEITLER (1985) den Staubgehalt zweier Pferdeställe unterschiedlicher Betriebsführung bestimmt. Neben dem Gesamtstaub ermittelte sie die Korngrößenverteilung der luftgetragenen Staubpartikel. Sie unterteilte ihre Messtage in drei Aktivitätsperioden: Nacht, Vormittag mit Stallarbeit und Nachmittag mit Reitbetrieb. Wie zu erwarten, waren die höchsten Staubwerte in den morgendlichen Stunden zu verzeichnen, in denen Arbeiten wie Fütterung, Abwurf von Heu und Stroh, Entmistung, Einstreuen und anschließendes Kehren der Stallgasse verrichtet wurden. In dieser Periode wurden Werte von durchschnittlich 2,25 mg/m³ Gesamtstaub ermittelt, während in den Nachtstunden der Staubgehalt auf 0,39 mg/m³ sank. Die Nachmittagswerte ergaben im Durchschnitt eine Staubkonzentration von 1,50 mg/m³. Über den Tag verteilt dominierten die Grobstaubpartikel (>10 µm) und in den Nachtstunden überwog die lungengängige Fraktion (≤ 5 µm).

Die aktivitätsbedingten Konzentrationsunterschiede konnten von NAVAROTTO et al. (1994) ebenso bestätigt werden wie die durch die verschiedenen Probenahmeorte bedingten Unterschiede. Er fand bedeutend höhere Konzentrationen in der Pferdebox als in der Stallgasse, und ermittelte im Durchschnitt eine Feinstaubkonzentration von

0,38 mg/m³ Luft bzw. einen Gesamtstaubgehalt von 1,95 mg/m³.

Als orientierenden Richtwert für Feinstaub gibt ZEITLER-FEICHT (1994) 4 mg/m³ Luft an, wenn dieser keine allergisierende, toxische oder infektiöse Wirkung hat.

2.2.7 Einflüsse auf die Staubkonzentration in Pferdeställen

Der Staubgehalt der Luft unterliegt in Stallungen großen Schwankungen. Besonders im Pferdestall, wo viele Arbeiten manuell verrichtet werden, kann man hohe, aktivitätsbedingte Konzentrationsunterschiede verzeichnen. Wie im vorangehenden Kapitel beschrieben, nimmt der Prozess des Ausmistens, Einstreuens und Fütterns den größten Einfluss auf die Schwebstaubmenge der Luft (CRICHLOW et al. 1980; CLARKE 1987a; WOODS et al. 1993; ZEITLER 1985).
Die größte Quelle luftgetragenen Staubes stellt laut ZEITLER et al. (1987) das Heu dar. Bei Staubmessungen in einer offenen Box und Haltung auf Stroh und Spänen bzw. einstreuloser Aufstallung kam BARTZ (1992) zu dem Ergebnis, dass Heu hinsichtlich des Staubgehaltes der Stallluft einen größeren Einfluss hat als Einstreu. Dies konnte HAAKE (1992) nur zu Zeiten des Fütterns bestätigen. Während der übrigen Zeit war die Einstreu Quelle höherer Staubkonzentrationen der Stallluft.

Eine Konfektionierung von Futtermitteln (Pellets und Cobs) wie Getreide, Stroh und Heu kann eine Staubentwicklung bei Futtervorlage reduzieren. Je nach Futtercharge ist selbst bei gleichem Trockensubstanzgehalt eine z. T. sehr unterschiedliche Staubfreisetzung feststellbar. Staubige Raufutterqualitäten kann man am besten beim Aufschütteln von Teilen („Platten“) gepresster Ballen erkennen. In den feineren Anteilen von Heu (< 1,5 mm) sind erdige Verunreinigungen (an Wurzelmasse haftende Erdpartikel), sandige Bestandteile, vereinzelt Kotpartikel (Heu von Weideflächen) sowie feine Strukturen der Blattmasse und, abhängig von dem Erntezeitstadium, feine Samen von Gräsern und Kräutern zu erkennen. Des Weiteren findet man zu einem großen Anteil (> 80 %) Milben unterschiedlicher Arten, sowie Käfer und Insekten bzw. deren Produkte. Stroh hingegen enthält weniger Vorratsschädlinge. Der abgesiebte Feinanteil besteht überwiegend aus sandig-erdigen Verunreinigungen und feinster Spreu (KAMPHUES et al. 1989).

SCHATZMANN et al. (1974) untersuchten 25 lungenkranke Pferde auf Veränderungen des Allgemeinzustandes nach konsequenter Elimination von Heu und z. T. auch von Stroh. Er verzeichnete eine wesentliche Verbesserung. Die Veränderungen wurden anhand der Ruheatemfrequenz, der klinisch feststellbaren Symptome und der

Lungenfunktion überprüft. Die Elimination von allergenem Staub steht bei den Therapieansätzen chronischer Lungenleiden an erster Stelle und ist herkömmlichen Behandlungsmaßnahmen weit überlegen. Zum einen kann die Umstellung als Dauermaßnahme von dem Besitzer selbst durchgeführt werden. Sie ist mit wenigen Nebenwirkungen verbunden und zudem eine finanziell günstige Lösung.

Vielfach werden Heurationen vor dem Verfüttern eingeweicht, besonders bei Pferden mit respiratorischen Erkrankungen. Dadurch kann die Inhalation von Staubpartikeln um ein 30-faches reduziert werden (RAYMOND et al. 1997). In vielen Betrieben wird jedoch das Heu nur wenige Minuten mit einem Wasserschlauch befeuchtet. CLARKE und MADELIN (1987) weisen darauf hin, dass das komplette Einweichen entscheidender ist als die Dauer des Befeuchtens. Als Prophylaxemaßnahme gegen chronische Atemwegserkrankungen erscheint dieses Vorgehen zweckdienlich. Bei einem fortgeschrittenen Krankheitsbild reicht es jedoch nicht aus (DIXON 1995d). Eine Alternative zur Heufütterung stellt Silage dar, welche weniger inhalierbare Partikel enthält als trockenes Heu (SCHÜTZ und SASSE 1998). Bei Verfütterung von Grasanwelksilage mit einem Trockensubstanzgehalt von 50 % fanden VANDENPUT und LEKEUX (1996) im Vergleich zu Heu signifikant weniger Staub und Allergene in der Stallluft. Silagen mit einem höheren Feuchtegehalt zeigten weniger Staubentwicklung als solche mit einem höheren Trockensubstanzgehalt (VANDENPUT et al. 1997). HORSE HAGE® ist eine industriell gefertigte Silage, die nach Untersuchungen von SCHÜTZ (1999) im Vergleich zu Heu nur ein Fünftel der Grobstaub- und ein Zehntel der Feinstaubmenge emittiert.

Pferde verbringen i.d.R. den Großteil des Tages in ihrer Box und sind gerade deshalb auf staubfreie Einstreu angewiesen (CLARKE 1987a). Die Staubmenge ist abhängig von der Art der Einstreu und deren Qualität. Stroh ist das am weitesten verbreitete Einstreumaterial. Bei Untersuchungen von Rennställen in England stellten JONES et al. (1987) fest, dass 52 % der Pferde auf Stroh gehalten wurden, 34 % auf Spänen und die restlichen auf geschreddertem Papier. Die Vorteile von Stroh liegen nach Aussagen von MEYER (1992) in den geringen Anschaffungskosten, der guten Wärmedämmung und Flüssigkeitsaufnahme. Besonders bei minderwertiger Qualität kann sich Stroh hingegen nachteilig auf die Atemwege und den Verdauungsapparat auswirken. Die Staubkonzentration kann durch alternative Einstreu sowie pelletiertes Futter drastisch gesenkt werden (WOODS et al. 1993).

In einem Versuch von WEBSTER et al. (1987) wurden Stroh, Späne und Papier auf ihre Staubfreisetzung verglichen. Er untersuchte den Staubgehalt in den Boxen zehn verschiedener Ställe mit einem optischen Partikelzählgerät (Rion Particle Counter). Beim Einstreuen konnte die Arbeitsgruppe eine signifikant höhere Konzentration

lungengängiger Staubpartikel bei Stroh feststellen. In Ruheperioden dominierten Stroh und Späne die Staubkonzentration der Luft.

Stroh, Papier und Späne erweiterte HAAKE (1992) mit einer so genannten Gliedergummimatte. Diese wurde auf einer 25 cm starken Unterlage aus einem Gemisch von Sägespänen, -mehl und einem Trockendesinfektionsmittel aufgelegt. Hinsichtlich der Feinstaubkonzentration liegen die Mittelwerte der morgendlichen Messungen der Einstreuarten Stroh, Späne und Papier eng beieinander. Die Feinstaubkonzentration der Versuchsanordnung „Gliedermatte“ wies den höchsten Gehalt auf. Betrachtet man die Gesamtmittelwerte kann auch hier der Gliedermatte der höchste Wert zugeordnet werden, während die anderen Einstreuarten wiederum nur geringfügig voneinander abweichen.

Eine belgische Forschergruppe um KIRSCHVINK (2002) verwendete geschredderte Pappe als Einstreumaterial. Die Messungen wurden bei gleich bleibender Temperatur und Luftfeuchte unter Laborbedingungen vorgenommen. Das in eine Kammer eingebrachte Probenmaterial wurde über die Dauer von drei Minuten durch einen Luftstrom (200 l/min) bewegt, nachfolgend wurde der Staub- und Schimmelpilzgehalt der Kammerluft über einen Zeitraum von vier Minuten gemessen. Die Ergebnisse wurden mit Untersuchungen von VANDENPUT et al. (1997) verglichen, die bei den Einstreuarten Stroh, Späne und Leinstroh die gleiche Methode verwendeten. Der höchste Gehalt einatembaren Staubes wurde bei Spänen feststellen. Im Vergleich dazu wies die Konzentration von Stroh um den Faktor 3 und Leinstroh um den Faktor 4,5 geringere Werte auf.

Während mehrere Autoren den Einstreuprozess für die höchste Staubfreisetzung am Tag verantwortlich machen, stellt HAAKE (1992) bemerkenswerte Unterschiede zwischen den einzelnen Einstreusystemen fest. Je nach Einstreuart dauert es unterschiedlich lange, bis die Ausgangskonzentration wieder erreicht wird. Bei Stroh vergehen zwanzig Minuten, bei Spänen vierzehn Minuten und Papier erreicht das Ausgangsniveau nach zehn Minuten. Manipulationen an der Gliedergummimatte ziehen eine elfminütige Verzögerung nach sich. Hier spielen zum einen die Ausgangskontamination als auch die Menge neu eingestreuten Materials eine Rolle (siehe auch Kapitel 2.2.2).

Um eine direkte Staubminderung und Reduzierung des Keimgehaltes im Material zu erreichen, untersuchten HARTUNG et al. (1989) ein im Handel erhältliches Staubbindemittel (Revesto pur®), welches vor dem Verfüttern bzw. dem Einstreuen der Boxen mit Heu und Stroh aufgesprüht wurde. Die Untersuchungen liefen über zwei Wochen, wobei die erste Woche als Kontrolle diente und in der zweiten Staubbindemittel eingesetzt wurde. Der Staubgehalt wurde kontinuierlich gemessen, der Keimgehalt morgens um sieben Uhr. Eine Reduzierung der Staubkonzentration der Luft konnten HARTUNG et al.

mit 0,03 mg/m³ Luft in den Nachtstunden verzeichnen, verglichen mit 0,05 mg/m³ in der Kontrollwoche. Der Gesamtstaubgehalt über 24 Stunden stieg nach Aufsprühen des Staubbindemittels hingegen von 0,07 mg/m³ auf 0,12 mg/m³ in der Kontrollwoche. Den Luftkeimgehalt betreffend war tendenziell eine Abnahme zu erkennen. Die Forschungsgruppe kam zu dem Fazit, dass eine Verwendung des Staubbindemittels mit einem hohen Zeitaufwand verbunden ist und das Einsprühen nach Möglichkeit außerhalb der Stallungen vorgenommen werden sollte, um eine zeitweise Erhöhung der Stallluft mit Aerosolen zu vermeiden.

Die Lüftung stellt eine weitere Möglichkeit dar, positiv Einfluss auf den Staubgehalt der Luft zu nehmen. Nach WEBSTER et al. (1987) ist dies die wichtigste Eliminationsmöglichkeit für Fein- und Feinststäube, sollte aber keine Alleinmaßnahme darstellen. Nach Untersuchungen von WOODS et al. (1993) kann eine gute Ventilation zwar den Gesamtstaub im Stall verringern, die Effekte auf den direkten Einatmungsbereich sind jedoch minimal. Auch CLARKE (1993b) ist der Auffassung, dass die Luftqualität bei Verwendung von staubiger Einstreu und Futter nicht durch alleinige Ventilation kompensiert werden kann.

Zum Abtransport von luftgetragenen Stäuben und Keimen wird von SAINSBURY (1981) eine verstärkte Zwangslüftung gefordert. Im Vergleich zu Nutztieren hält er die Atemwege der Pferde für besonders empfindlich und empfiehlt mit höheren Luftraten zu arbeiten: 0,2 m³ Luft pro kg Körpergewicht und Stunde, das entspricht auf eine Großvieheinheit umgerechnet (500 kg Körpergewicht) ca. 100 m³ pro Stunde. Vorteilhafter sind jedoch Außenluftverhältnisse. Zur Ermittlung des Luftmassestroms für Winter und Sommer gibt die DIN 18910-1 (2004) Rechenwerte (entsprechend der Masse des Einzeltieres) für Pferde und Nutztiere an.

In vielen Betrieben werden Heu und Strohballen deckenlastig gelagert und über eine Abwurfluke in den Stalltrakt befördert. Generell ist eine Lagerung von Einstreu und Raufutter in Tiernähe als problematisch zu betrachten. THOMSON und McPHERSON (1983) fordern einen Mindestabstand von 46 m zwischen Lagerungsort und Stalltrakt, um eine lagerungsbedingte Staubemission bzw. eine Staubdiffusion durch die Stalldecke zu vermeiden.

Der Einfluss der Luftfeuchte auf den Staubgehalt der Luft ist von mehreren Autoren untersucht worden. Nach MEHLHORN (1979) ist eine verminderte Staubbildung bei erhöhter Luftfeuchte zu verzeichnen und auch das Phänomen des Staubreentrainment ist geringer ausgeprägt (HILLIGER 1990). Je nach stofflicher Qualität können Partikel hygroskopisch wirken, d.h. sie sind in der Lage Wasser zu binden, dabei wird das

Ausmaß der hygroskopischen Eigenschaften durch die relative Luftfeuchtigkeit und die Temperatur mitbestimmt (SEEDORF und HARTUNG 2002). Eine positive Korrelation zwischen dem prozentualen Anteil alveolengängigen Staubes und der relativen Feuchtigkeit ermittelten BUTERA et al. (1991) in Schweineställen. Eine Begründung fand er in einer feuchtebedingten Clusterbildung größerer Partikel. Diese werden durch Sedimentation dem Gesamtstaubgehalt der Luft entzogen, was einen relativen Anstieg der alveolengängigen Staubfraktionen verursacht.

2.3 Vorkommen und Bedeutung von Schimmelpilzsporen in der Stallluft

2.3.1 Allgemeine Charakteristik von Schimmelpilzen

Schimmelpilze sind weit verbreitete, unauffällige Bodenbewohner (MÜCKE und LEMMEN 2004). Mit den Bakterien haben sie gemeinsam, dass sie beide als Destruenten organisches Material zu anorganischen Verbindungen abbauen. Diese werden den Produzenten durch Zugabe zum Stoffkreislauf verfügbar gemacht (REISS 1998). In feuchter Umgebung können Schimmelpilze fast auf allen organischen Substanzen wachsen. Durch die Ausscheidung von Enzymen zersetzen sie Substrate und können aus einfachen Vorstufen komplizierte chemische Substanzen bilden (MÜCKE und LEMMEN 2004).

Der Begriff „Schimmelpilz“ bezieht sich auf den weißen bis kräftig gefärbten, pelzigen Belag, mit denen sie ihr Substrat überziehen. Es handelt sich demnach bei „Schimmel“ nicht um einen systematischen Begriff, er gilt vielmehr als Sammelbezeichnung für oberflächlich wachsende Pilzmycelien und Sporenträger (MÜCKE und LEMMEN 2004). Die Entwicklung der Schimmelpilze durchläuft zwei Phasen, die vegetative (Wachstumsphase) und die generative Phase (Vermehrungsphase). Die erst genannte Phase ist makroskopisch nicht erkennbar und zeichnet sich durch die Bildung von farblosen, fadenartigen Zellfäden, den Hyphen, aus. In der Gesamtheit werden diese Mycel genannt. In der generativen Phase werden Fortpflanzungszellen gebildet, die eine Bestimmung der Schimmelpilze erst möglich machen. Diese Vermehrungszellen werden als Sporen bezeichnet. Pilze können sich vegetativ (Anamorphe oder Nebenfruchtform) und sexuell (Teleomorph oder Hauptfruchtform) vermehren, wobei in beiden Fällen Dauerformen, so genannte Sporen, gebildet werden (REISS 1998; MÜCKE und LEMMEN 2004). Schimmelpilzsporen besitzen dicke Zellwände aus Chitin, die ihnen zu einer hohen Resistenz gegen Austrocknung verhelfen. Bei vielen Gattungen ist Melanin zum Schutz vor UV-Licht in die Zellwände eingelagert.

Ihre ausgeprägte Anspruchslosigkeit verhilft ihnen zu einer weiten Verbreitung: Ihr Wachstum vollzieht sich sowohl auf unterschiedlich zusammengesetzten Nährsubstraten als auch in einem weiten Temperaturbereich (REISS 1998). Letztere Eigenschaft wird auch als Mesophilie bezeichnet. Nach PANASENKO (1967) unterteilt man Schimmelpilze entsprechend ihres Temperaturoptimums in mesophile (Minimaltemperatur: 0 °C, Optimum: 25-35 °C und Maximaltemperatur: 30-40 °C), thermotolerante (Minimum: 0 °C, Optimum: 30-40 °C, Maximum: etwa 50 °C) und thermop hile Gattungen (Minimum: 20 °C, Optimum: 35-55 °C, Maximum: 55-60 °C).

Die Anspruchslosigkeit bezieht sich auf weitgesteckte Grenzen innerhalb ihrer Milieuabhängigkeit. So hängen Myzelwachstum, Sporenbildung und Sporenkeimung sehr stark und in unterschiedlichem Maße von dem frei verfügbaren Wasser des Substrates, der so genannten Wasseraktivität (a_W–Wert), ab. Dabei handelt es sich um die Wassermenge, die bei längerem Aufenthalt des Substrates mit der umgebenden relativen Luftfeuchte im Gleichgewicht steht (Gleichgewichtsfeuchte) (MÜCKE und LEMMEN 2004). Schimmelpilze liegen in ihren Ansprüchen an die Wasseraktivität mit einem a_W Wert um 0,80-0,85 zwischen den Bakterien und den Hefen. Letztere können noch bei einer Wasseraktivität von unter 0,6 gedeihen, während die Mehrzahl der Bakterien einen a_W-Wert von 0,95 benötigen (REISS 1998). Feuchteanspruch, a_W Wert und Temperaturanspruch geben Auskunft, unter welchen Bedingungen mit dem Auftreten von bestimmten Schimmelpilzen zu rechnen ist. Sie sind auch wichtige Hinweise für eine erfolgreiche Kultivierung im Labor (LGA BW 2001).

Die Verbreitung von Schimmelpilzen kann über einzelne Sporen, Sporenaggregate und Hyphenbruchstücke erfolgen, die frei, meistens jedoch an Staubpartikel gebunden, vorkommen (LGA BW 2001). Die Sporen einzelner Gattungen unterscheiden sich in ihrer Flugfähigkeit: *Penicillium*- und *Aspergillus*-Arten haben trockene und sehr flugfähige Sporen, die bereits bei leichter Luftbewegung verbreitet werden. Zu den Schimmelpilzen mit schlechten Flugeigenschaften zählen u. a. *Acremonium* und *Fusarium*, sowie *Stachybotris chartarum*, bei denen die Sporen entweder sehr groß oder in eine Schleimmatrix eingelagert sind (GABRIO 2002).

LEVETIN (1995) gibt die Sporengröße von Schimmelpilzen mit < 2 µm bis > 100 µm nur grob wieder. In Tabelle 2.4 ist die Sporengröße einiger ausgesuchter Schimmelpilzarten aufgelistet.

Für die Verweildauer in der Luft und die Sedimentationsgeschwindigkeit sind, wie in Kapitel 2.2.2 abgehandelt, nicht die Sporengröße von Bedeutung, sondern der aerodynamische Durchmesser.

Tabelle 2.4: Sporengröße ausgewählter Schimmelpilze (nach LGA BW 2001)

Spezies	Größe in µm	Spezies	Größe in µm
Absidia corymbifera	2,5 x 2,5-4,5	*Epicoccum nigrum*	Ø 5-25
Alternaria alternata	18-83 x 7-18	*Fusarium sp.*	34-80 x 5-7
Aspergillus flavus	Ø 3,6	*Mucor racemosus*	5,5-0 x 4-7
Aspergillus fumigatus	Ø 2,5-3	*Penicillium citrinum*	Ø 2,5-3
Aspergillus niger	Ø 3,5-5	*Penicillium chrysogenum*	3-4 x 2,8-3,8
Aspergillus ochraceus	Ø 2,5-3	*Penicillium glabrum*	Ø 3,0-3,5
Aspergillus terreus	Ø 1,5-2,5	*Rhizopus stolonifer*	7-15 x 6-8
Cladosporium herbarum	5,5-13 x 4-6	*Stachybotris atra*	7-12 x 4-6

Die etwa 120.000 weltweit bekannten Pilzarten werden in vier Gruppen eingeteilt

- Ständerpilze (Basidiomycota)
- Schlauchpilze (Ascomycota)
- Jochpilze (Zygomycota)
- Imperfekte Pilze (Deuteromycota oder Fungi imperfecti)

Einige Schimmelpilzgattungen sind in der Lage, sekundäre Stoffwechselprodukte zu bilden, so genannte Mykotoxine. Zu den bekanntesten Sekundärmetaboliten der Schimmelpilze zählt das Penicillin, das heute in der Therapie und Prophylaxe von Infektionskrankheiten bei Mensch und Tier eine wichtige Rolle spielt. Von den Antibiotika unterscheiden sich die Mykotoxine dadurch, dass sie nicht nur gegenüber Mikroorganismen in geringen Konzentrationen eine wachstumshemmende bzw. abtötende Wirkung entfalten. Auch bei höheren Organismen sind sie in der Lage, Krankheiten hervorzurufen. In vivo wirken sie hepato-, nephro-, neuro- und dermatotoxisch, schädigen die blutbildenden Zentren und verfügen über karzinogene, teratogene und östrogene Wirkung. Bei oraler Aufnahme können schon mehrere Milligramm pro kg Körpergewicht tödliche Folgen haben. Aflatoxin B_1 ist das bekannteste und giftigste aller Mykotoxine (ROLLE und MAYR 1993). Aber nicht nur die orale Aufnahme kann gesundheitsschädliche Folgen haben.

Sie spielen auch als aerogene Kontaminanten eine Rolle. Im Unterschied zu Schimmelpilzsporen und Hyphenbruchstücken ist jedoch die Bindung an einen Carrier, wie z. B. an

Staubpartikel, obligat (THIEMANN 1992; SEEDORF und HARTUNG 2002). Eine weitere Möglichkeit zur aerogenen Aufnahme in die tiefen Atemwege sind Milbenbestandteile. Wie bereits in Kapitel 2.1.3.1 beschrieben, ernähren sich Futtermilben von Schimmelpilzen und somit auch von mykotoxinhaltigen Myzelien (GAREIS und GÖBEL 1998).

Tabelle 2.5: Stellung wichtiger Schimmelpilze im System der Pilze (nach MÜCKE und LEMMEN 2004)

Abteilung (Klasse)	**Ordnung**	**Familie**	**Gattung**
Zygomycota (Zygomycetes)	Mucorales	Mucoraceae	*Absidia*
			Mucor
			Rhizopus
Ascomycota (Ascomycetes)	Sphaeriales	Sodariaceae	*Neurospora*
		Melanosporaceae	*Chaetomium*
		Hypocreaceae	*Nectria*
	Eurotiales	Eurotiaceae	*Byssochlamys*
			Emericella
			Eupenicillium
			Neosartoria
			Talaromyces
	Clavicipitales	Clavicipitaceae	*Claviceps*
Deuteromycota	Moniliales (Hyphomyceten)	Moniliaceae	*Aspergillus*
			Monilia
			Paecilomyces
			Penicillium
		Demetiaceae	*Alternaria*
			Aureobasidium
			Cladosporium
			Epicoccum
			Stachybotrys
		Tuberculariaceae	*Fusarium*

Tabelle 2.6: Sedimentationsgeschwindigkeit und aerodynamischer Durchmesser ausgewählter Schimmelpilzspezies und Aktinomyceten (modifiziert nach LACEY und DUTKIEWICZ 1976)

Art	Sedimentations-geschwindigkeit (cm/sec)	Aerodynamischer Durchmesser (µm)
Aspergillus fumigatus	0,029	3,11
Penicillium-Arten	0,031	3,21
Absidia-Arten	0,037	3,51
Aspergillus glaucus-Gruppe	0,048	3,51
Humicola lanuginosa	0,096	5,66
Thermoactinomyces vulgaris	0,001	0,58
Micropolyspora faeni	0,011	1,91
Saccharomyces viridis	0,01	1,83

2.3.1.1 Cladosporium

Mit *Alternaria*, *Acremonium*, *Aerobasidium* und weiteren Gattungen gehört *Cladosporium* zu den Schwärzepilzen. Ihren Namen verdanken diese dem Pigment Melanin, das in die Zellwand eingelagert ist und ihnen die dunkle Färbung verleiht (MÜCKE und LEMMEN 2004). Die Pigmentierung bietet wirksamen Schutz vor UV Strahlung und somit einen Überlebensvorteil gegenüber anderen Schimmelpilzen. *Cladosporien* sind auf der ganzen Welt die am weitesten verbreitete Schimmelpilzgattung (HARVEY 1967) und besiedeln vorwiegend abgestorbene Pflanzen und organische Materialien. Sie werden auch als „Schönwetter-Sporen“ bezeichnet, weil sie besonders in den Sommermonaten große Mengen an Sporen freisetzen.

Untersuchungen von MEHLAN (1995) über das intra- und extramurale Vorkommen von Schimmelpilzen über ein Jahr bestätigen mit einem prozentualen Anteil von 58,2 % in der Außenluft eine dominante Präsenz dieser Gattung. Ein saisonales Maximum zeichnete sich von Mai bis Oktober ab. Unterschiede in der städtischen und der ländlichen Außenluft ließen keine Unterschiede erkennen.

Die Kolonien von *Cladosporien* sind von oliv-brauner bis hin zu schwarz-brauner Farbe, die Unterseite ist dunkler gefärbt und ihre Oberfläche hat einen samtigen Charakter (REISS 1998; SAMSON und HOEKSTRA 2002).

2.3.1.2 Alternaria

Auch diese Gattung gehört zu den Schwärzepilzen, die in der Außenluft aufgrund der Melanineinlagerung UV Strahlen gegenüber resistent sind (REISS 1998). *Alternaria* ist als Materialzerstörer und Lebensmittelverderber bekannt, vor allem aber im Alltag als schwarze Faulstelle auf Obst und Gemüse allgegenwärtig. *Alternaria* ist phytopathogen, wirtsspezifisch und meistens auf Saatgut zu finden. Einige Spezies kommen in der Umwelt ubiquitär vor und viele sind im Erdboden zu finden. Die am weitesten verbreitete Spezies stellt *A. alternata* dar (DOMSCH et al. 1993).

Durch mehrfache Septierung besitzen diese Gattungen mauerartige Konidien, die eine ovoid oder keulenartige Form aufweisen. Ihre Kolonien sind von dunkler, schmutzig-grau-grüner Farbe, die sich auf der Kolonieunterseite ebenfalls als dunkel erweisen (ROLLE und MEYER 1993; MEINHOFF 1992).

2.3.1.3 Aspergillus

Aspergillus, auch Gießkannenschimmel genannt, ist einer der häufigsten und wichtigsten Schimmelpilze auf der Welt, mit Schwerpunkt in warmen und tropischen Zonen. Es gibt ihn in etwa 150 verschiedene Arten, die durch Produktion von Metaboliten in der Lage sind, die unterschiedlichsten Nischen zu bewohnen (MÜCKE und LEMMEN 2004; KLICH, M.A 2002).

Der größte ökonomische Vorteil von *Aspergillus* Arten ist die Entdeckung von enzym- und säureproduzierenden Spezies. Die zwei wichtigsten industriellen Produkte, die aus *Aspergillen* hergestellt werden, sind Amylase und Zitronensäure. Die so genannten „Kojipilze“ (*A. oryzae, A.sojae und A. awamori*) werden seit über tausend Jahren für asiatische Nahrungsmittel verwendet. Sie spielen demnach in der Lebensmittel-technologie eine bedeutende Rolle (HARA et al. 1992 zitiert nach KLICH 2002).

Den ökonomischen Vorteilen dieser Gattung stehen die negativen Aspekte gegenüber: Sie befallen landwirtschaftliche Produkte vor und nach der Ernte. Einige Spezies sind human- und tierpathogen, andere haben allergisches Potential. Sie produzieren eine Reihe von Mykotoxinen, wovon das Bekannteste Aflatoxin B_1 ist (DOMSCH et al. 1993; PITT und HOCKING1997; SAMSON et al. 2002)

Aspergillus Spezies sind unter warmen klimatischen Verhältnissen, in Kompost, welken Pflanzenmaterial und in Lagergetreide zu finden. Einige Spezies, besonders der Gattungen *Eurotium* (*A. glaucus* Gruppe) und *A. restrictus* Gruppe, sind osmophil. *A. fumigatus* gehört zu den thermotoleranten Spezies, während die anderen unter

höheren Temperaturverhältnissen wachsen (SMITH und PATEMAN 1977). Die Kolonien wachsen schnell, meist weiß, gelb bis hin zu gelb-braun, braun-schwarz, aber auch grüne Färbungen sind vertreten (SAMSON et al.2002).

Zu den wirtschaftlich bedeutenden Vertretern dieser Gruppe zählen *A. glaucus*: Diese Arten zeichnen sich durch eine besonders hohe Toleranz gegenüber Trockenheit aus (Xerophilie). Es werden daher besonders Lebensmittel mit geringem Wassergehalt befallen, wie z.B. Trockenfrüchte und Haferflocken. *Eurotium* stellt die Hauptfruchtform dieser Gattung dar und ist nach Aussagen von REISS (1998) bevorzugt in nass eingefahrenem Heu zu finden.

2.3.1.4 Penicillium

Die Spezies von *Aspergillus* und *Penicillium* sind ubiquitäre Saprophyten, deren Konidien problemlos in die Umgebung abgegeben werden. Während *Aspergillus* in eher wärmeren Gegenden anzutreffen ist, v.a. aber auf wärmeerzeugenden Substanzen, dominieren *Penicillien* Arten den Erdboden und wachsen den örtlichen Temperaturen angepasst. Bisher ist wenig bekannt über die Wechselwirkung von *Penicillium* Arten mit anderen bodenbesiedelnden Schimmelpilzen. *Penicillium* Arten werden oftmals in den tieferen Erdschichten gefunden, während andere Gattungen mehr die Oberfläche besiedeln (DOMSCH et al. 1993).

2.3.1.5 Wallemia

Wallemia sebi ist der einzige Vertreter dieser Gattung. Er kommt auf der ganzen Welt vor, meist in luftgetragenem Zustand. *Wallemia sebi* hat mit 0,69-0,997 einen relativ breiten a_w-Bereich, was seine Affinität als osmophiler Pilz zu Lebensmitteln mit hohem osmotischen Druck erklärt (REISS 1998; DOMSCH 1993). Diese Gattung ist bekannt als Auslöser ulzerativer Entzündungen bei Menschen und wurde bisher aus Lunge, Knochen und anderen Bereichen des menschlichen Körpers isoliert (DOMSCH 1993).

2.4 Auswirkungen des Stallklimas auf die Gesundheit der Pferde

2.4.1 Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) und Recurrant Airway Obstruction (RAO)

Nach Untersuchungen von SCHLICHTING (2001) sind über 30 % der Fälle, in denen eine Unbrauchbarkeit des Pferdes für den Reitsport eintritt, durch chronische Veränderungen der Atemorgane mit entsprechender Leistungsminderung begründet. PICK (1986) geht davon aus, dass etwa 80 % der Stallpferde symptomatische oder latent vorhandene Schäden der Atemwege aufweisen. An der Spitze steht dabei die chronisch obstruktive Bronchitis (COB), die im Englischen Sprachgebrauch COPD-**c**hronic **o**bstructive **p**ulmonary **d**isease genannt wird. Die Bezeichnung wurde aus der Humanmedizin übernommen und von SASSE (1971) als „Equine COPD“ in die Tiermedizin eingeführt. Er bezeichnete damit die Atemwegsinfektion und –obstruktion bei Pferden. Den meisten Pferdebesitzern ist diese Erkrankung als Dämpfigkeit geläufig, im Englischen wird sie als Heaves oder broken wind bezeichnet. Eine Arbeitsgruppe um ROBINSON (2001) hat im Rahmen des „International Workshop on Equine Chronic Airway Disease“ im Juni 2000 an der Michigan State University über die Ausweitung des Begriffs der COPD in den letzten Jahren diskutiert. Man zeigte sich besorgt über die weitläufige Verwendung dieses Terminus. Unter dem Gesichtspunkt, dass es sich bei der Dämpfigkeit der Pferde um eine reversible Verengung der Atemwege handelt, die auf einen Bronchospasmus zurückzuführen ist, ähnelt das Krankheitsgeschehen eher dem menschlichen Asthma. Die COPD beim Menschen ist hingegen eine progressiv verlaufende Erkrankung, die kaum reversibel ist und deren Ursache im Rauchen liegt. Man einigte sich am Ende des Workshops auf die Bezeichnung RAO-**r**ecurrent **a**irway **o**bstruction als Synonym für die Dämpfigkeit.

Grundlage der RAO ist eine multifaktorielle Erkrankung, die durch Zusammenwirken der einzelnen Faktoren zu einer Obstruktion der Bronchioli führt, das wohl deutlichste Merkmal dieser Erkrankung. Man unterscheidet infektiöse Agenzien (Bakterien, Viren und Lungenparasiten) von so genannten Umweltantigenen (Schimmelpilzsporen, Pollen, Milben, sowie Staub aus Heu und Stroh) und chemisch-physikalische Reize (Schadgase, Staubpartikel). Es ist bisher nicht bekannt, welche Bedeutung und Gewichtung den einzelnen Faktoren zuzuschreiben ist (HAMANN 1999). Die Basis der Erkrankung ist eine allergische Reaktion, meist auf Schimmelpilzsporen aus Heu und Stroh. Es reichen oftmals schon geringe Mengen aus, um bei einem an RAO erkrankten Pferd Symptome auszulösen.

Bereits COOK und ROSSDALE (1963) bestätigten, dass die Erkrankung mit der Domestikation der Pferde zusammenhängt, die bedingt durch ganzjährige Aufstallung dauerhaft den Allergenen aus Heu und Stroh ausgesetzt sind. Die Erkrankung betrifft Pferde mittleren Alters und ist vorwiegend in der nördlichen Hemisphären anzutreffen, dort wo die Pferde den Großteil ihres Lebens in Stallungen verbringen (ROBINSON 2001). In Ländern, in denen Pferde vorzugsweise ganzjährig im Freien gehalten werden, tritt diese Erkrankung viel seltener auf. Bei Pferden, die anfällig für die Entstehung einer Dämpfigkeit sind, kann durch die Stallhaltung bei Verwendung von Stroh als Einstreu und Verfütterung von Heu eine Verschlimmerung der Atemwegsobstruktion hervorgerufen werden (VANDENPUT et al. 1998). Bei einer Reduktion des Staubes der Stallluft kann sich hingegen eine Verbesserung einstellen, wie Untersuchungen von THOMSON und McPHERSON (1984) bestätigen. Nach Umstellung dämpfiger Pferde auf eine heu- und strohlose Haltung kam es nach einem Zeitraum von 4-14 Tagen zu einer deutlichen Verbesserung der Symptome bis hin zu einem symptomlosen Zustand. Einen weiteren Beweis, dass Schimmelpilzsporen eine wichtige Rolle im Krankheitsgeschehen spielen, lieferten McGORUM et al. (1993). Die Arbeitsgruppe untersuchte acht Kontrollpferde als Negativgruppe sowie acht an RAO erkrankte Pferde nach mehrfachen Inhalationen mit einem Gemisch aus Schimmelpilzen und thermophilen Aktinomyzeten auf ihre Reaktionen. Sie kamen zu dem Ergebnis, dass es sich bei der RAO um eine allergische Reaktion handelt, da die Kontrollgruppe keinerlei Anzeichen einer Atemwegserkrankung zeigte.

Die zwei wichtigsten pathogenetischen Faktoren der Bronchialobstruktion sind nach DEEGEN (1992) zum einen die Störung der mukoziliären Clearance, zum anderen die Hyperreagibilität der Atemwege. Mit einer Hyperreagibilität der Atemwege bezeichnet man eine erhöhte Reaktionsbereitschaft der Atemwege auf eingeatmete Fremdpartikel, die daraufhin mit einem übermäßigen Spasmus reagieren. Zu den Pathogenese-mechanismen einer Überempfindlichkeitsreaktion gehören somit ein Bronchospasmus, Bronchialschleimhautödem und eine endobronchiale Hypersekretion. Die tracheo-bronchiale Clearance ist überfordert und es kommt zu einer verringerten Zilienaktivität, bis hin zum Zilienverlust und einer Verfestigung des Bronchialschleimes.

Ein an RAO erkranktes Pferd ist an chronischem Husten, erweiterten Nüstern, einer erhöhten Atemfrequenz und einer abdominalen Atmung zu erkennen. Als Leitsymptom ist Husten zu beobachten, der nach Auffassung von McPHERSON und THOMSON (1983) nach drei Monaten als chronisch gilt. Erste Anzeichen einer RAO sind Leistungsabfall und gelegentlicher Husten, der vor allem zu Beginn des Reitens, beim Füttern oder bei sonstiger Staubexposition auftritt. Gelegentlich kann man Nasenausfluss beobachten. Bei

einer weit fortgeschrittenen RAO kommt es zu einem Gewichtsverlust infolge einer verminderten Nahrungsaufnahme (ROBINSON 2001). Durch Zuhilfenahme der Bauchmuskulatur bei der Expiration entsteht im Laufe der Zeit, parallel zum Rippenbogen, eine so genannte Dampfrinne (Dämpfigkeitsrinne) oder auch Flankenrinne. Diese Rinne entsteht durch eine Hypertrophie der äusseren schrägen Bauchmuskeln, die die Ausatmung zusätzlich unterstützen (WIESNER und RIBBEK 2000).

Bei RAO erkrankten Pferden kann es im Bereich der kleinen Bronchien zu spontanen Verschlüssen kommen, die einen Lufteinschluss in den distalen Bronchial- und Alveolarbereich nach sich ziehen. Grund hierfür ist eine verdickte Schleimansammlung in der Lunge, die die kleinen Bronchiolen verklebt. Dadurch entsteht die Wirkung einer Ventilstenose, die inspiratorische Luft ein-, aber bei der Expiration nicht wieder ausströmen lässt. Es entsteht ein endexpiratorischer Luftgehalt in der Lunge, welcher als „air-trapping“ bezeichnet wird (DEEGEN und MÜLLER 1983).

2.4.2 Luftsackmykose

Bei dem Luftsack (Diverticulum tubae auditivae) handelt es sich um eine Schleimhautausbuchtung der Ohrtrompete (Tuba auditiva), die eine Verbindung zwischen dem Mittelohr und dem Rachenraum darstellt und in einen linken und rechten Luftsack unterteilt wird.

In wärmeren Jahreszeiten kann bei aufgestallten Pferden besonders durch die Schimmelpilzgattungen *Aspergillus*, *Penicillium* und *Candida* eine Entzündung des Luftsackes auftreten. Der Verlauf dieser Erkrankung ist von diphteroid-nekrotisierendem Charakter (GRABNER 1987). Nach WEILER et al. (1991) tritt die Luftsackmykose, auch Aerosacculitis mycotica genannt, sporadisch auf und kann einen oder beide Luftsäcke betreffen. Die mykologische Erkrankung wurde im angloamerikanischen Raum öfter diagnostiziert als in deutschsprachigen Ländern.

RIVOLTA war 1868 einer der ersten, der über die Luftsackmykose berichtet hat. Dieser bezeichnete den Erreger der Erkrankung als Gutturomyces equi und ordnete ihn der Gattung *Aspergillus* zu. Andere Autoren sehen ebenfalls *Aspergillus* als Auslöser der Infektion an. LUDWIG et al. (2005) untersuchten im Zeitraum zwischen 1998-2002 21 Fälle von Luftsackmykosen. Die Biopsien ergaben in drei Fällen *Aspergillus fumigatus*, gefolgt von den Gattungen *A. versicolor* (zwei Fälle), *A. nidulans* und *A. niger* (jeweils in einem Fall). Bei sechs weiteren Pferden konnte er die Gattung *Aspergillus* keinem Vertreter zuordnen. Andere Schimmelpilze fand er in drei weiteren Biopsieproben vor.

Die Besiedlung des Luftsackes eines 14 Tage alten Saugfohlens mit *Candida* wurde nur von einem Autor beschrieben (GRABNER 1987). Dieser diagnostizierte von 1967-1987 im Einzugsgebiet der tierärztlichen Fakultät der Universität München sechs Fälle einer mykotischen Infektion des Luftsackes. Im fast gleichen Zeitrahmen (25 Jahre) konnte WEILER et al. (1991) lediglich drei Mal diese Diagnose stellen. Vergleicht man diese Angaben mit dem angloamerikanischen Raum, so ist das Auftreten in Deutschland eher selten. So berichtet COOK (1968), dass bei 193 untersuchten Patienten 32 (16,6 %) positiv getestet wurden. In Frankreich hat die Arbeitsgruppe um LUDWIG (2005) zwischen 1998 und 2002 an der National Veterinary School of Lyon 21 Pferde mit einer Luftsackmykose untersucht und bei 87 % ein positives Testergebnis erhalten.

Das häufigste und dominante Symptom ist der ein- oder beidseitige blutige Nasenausfluss, begleitet von neuronalen Ausfallerscheinungen, wie Palatum- und Pharynxparese, Larynxhemiplagie und Kopfschiefhaltung. Grund ist der nahe Verlauf wichtiger Arterien (A. carotis interna, A. carotis externa, sowie die A. maxillaris) und Nerven (N. glossopharyngeus, N. vagus, N. accessorius und N. hypoglossus), die durch Erosionen zu den genannten Symptomen führen.

Die Diagnose kann endoskopisch gestellt werden, wobei beide Luftsäcke zu untersuchen sind (GRABNER 1987 und COOK 1968 a). Die Schwierigkeit der Untersuchung zeigt sich durch eine mögliche mechanische Irritation vorgeschädigter Gefäße (CARON et al. 1987).

Nach GRABNER (1987) liegen die Ursachen der Luftsackmykose in einem Eintritt der Schimmelpilze durch die Tubenklappen, die sich bei jedem Schluckakt öffnen. Eine Besiedlung des Luftsackes scheint sowohl vom Schimmelpilzbefall des Futtermittels als auch von stallspezifischen Bedingungen abhängig zu sein.

2.4.3 Weitere durch Schimmelpilze verursachte Erkrankungen

Schimmelpilzsporen spielen nicht nur als Auslöser der RAO eine bedeutende Rolle in den Atemwegen. Neben den Luftsäcken können die Nasenhöhlen, die Nasennebenhöhlen und auch die Lunge direkt betroffen sein. Während die RAO durch eine Überempfindlichkeitsreaktion des Wirtstieres auf allergene Substanzen gekennzeichnet ist, handelt es sich bei der Lungenmykose um eine mykotische Infektion der Lunge, vornehmlich ausgelöst durch die Gattung *Aspergillus*, gelegentlich auch *Mucor* spp. und *Candida* spp.. Fast alle bisher in der Literatur beschriebenen Fälle einer Lungenmykose waren als Reaktion auf eine lokale oder systemische Immunsuppression zurückzuführen, sowie auf Erkrankungen anderer Organsysteme (KNOTTENBELT 2002). In diesem

Zusammenhang untersuchten SWEENY und HABECKER (1999) an der University of Pennsylvenia/USA in einem Zeitraum von 1974-1997 insgesamt 29 Fälle mit Verdacht auf Lungenaspergillose. Bei 25 Pferden konnten post mortem entzündungsbedingte Schleimhautveränderungen im Gastrointestinaltrakt festgestellt werden. Die Autoren schließen neben einer inhalativen Aufnahme einen Eintritt über Läsionen der Darmschleimhaut und eine daraus resultierende Systemmykose nicht aus.

Diese Vermutung konnten ROSENSTEIN und MULLANEY (1996) bestätigen, die an der Michigan State University/USA eine 6 Jahre alte Stute mit akuten Durchfall Erscheinungen und abdominalen Schmerzen untersuchten. Zu dem zunehmend schlechter werdenden Zustand kamen am 5. Tag respiratorische Symptome in Form von Husten und einer Tachypnoe hinzu. Post mortem Untersuchungen ergaben eine Besiedlung der intestinalen Lymphgefäße mit Pilzhyphen, die somit Überlegungen von SWEENY und HABECKER (1999) über einen Eintritt von Aspergillen durch die Darmschranke bekräftigen.

Nach wiederholter Kortikosteroid Gabe bei einem Kleinpferd konnten WEILER et al. (1994) eine ausgeprägte, invasive Lungenaspergillose unter Mitbeteiligung von Lymphknoten, Nieren und Gehirn beobachten. Leitkeime waren hier *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus* und *Aspergillus niger*.

Aufgrund schwieriger Therapiemaßnahmen und einer schlechten Prognose in Bezug auf eine Rekonvaleszens erkrankter Pferde fordert KNOTTENBELT (2002) besonders bei immunsupprimierten Tieren einen achtsamen Umgang mit Kontaminationsquellen, wie verschimmeltem Heu und Stroh, vor allem aber sollen an die Luftqualität in Pferdeställen hohe Anforderungen gestellt werden.

GREET (1981) beschreibt eine Besiedlung der Nasenhöhlen und Nasennebenhöhlen mit der Gattung *Aspergillus* als eine eher seltene Erscheinung. Bei einem einseitigen, übelriechenden Nasenausfluss sollte sie jedoch bei der Anamnese neben einer Paranasalen Sinusitis mit in Betracht gezogen werden. Entgegen der Behauptung von GREET (1981) ist nach Aussagen von KNOTTENBELT (2002) eine mykotische Infektion der Nasenhöhlen besonders in Europa und USA eine häufig auftretende Erkrankung. Frühe Infektionen verlaufen in der Regel symptomlos, bei fortgeschrittenem Verlauf können dem purulenten Nasenausfluss Blut beigemischt sein, in einigen Fällen sogar kleine Knochenstücke, die auf eine Knochennekrose der Nasenmuscheln zurückzuführen ist. Pilzinfektionen mit *Aspergillus* nehmen meist einen destruktiven und nur selten einen proliferativen Verlauf ein, während die Gattung *Coccidiodes* eher chronische fokale Läsionen verursacht, die lange Zeit unverändert die Schleimhäute besiedeln.

Aspergillus fumigatus spielt nicht nur bei der Besiedlung der Atemwege eine Rolle, auch uterine Infektionen konnten beobachtet werden. An der Cornell University/USA fand BLUE (1983) einen Zusammenhang zwischen einer Uterusinfektion und einer Pilzbesiedlung. In drei untersuchten Stuten konnte er zwei Mal *Aspergillus fumigatus* isolieren, in der dritten Stute *Candida albicans*. Mykotische Infektionen des Uterus kommen nur selten vor, werden von MAHAFFEY und ADAM (1964) jedoch mit Aborten in Verbindung gebracht. Sporadische Spätaborte und perinatales Sterben haben ihre Ursachen in einer mykotischen Infektion des Endometriums und des Chorions, was meist in einer Plazenta-veränderung resultiert.

Eine *Aspergillus fumigatus* Infektion als Abortursache konnten auch PLAGEMANN et al. (1992) bestätigen. Bei zwei Vollblutstuten unterschiedlicher Gestüte wurden nach Aborten im jeweils 8. und 10. Trächtigkeitsmonat die Eihäute histologisch untersucht und anschließend Ausstrichpräparate angefertig. Beide Untersuchungen ergaben das Vorhandensein von *Aspergillus fumigatus fresenius*.

2.5 Sammlung luftgetragener Staubpartikel und Schimmelpilzsporen

2.5.1 Messmethoden zur Erfassung luftgetragener Mikroorganismen

Die Anfänge der Luftkeimsammlung gehen bis in das Jahr 1861 zurück. In diesem Jahr wurde durch Pasteur die Filterung „urbaner Luft“ durch Filter aus Baumwolle und deren Überführung in eine Lösung beschrieben. Dies stellt den Beginn lufthygienischer Untersuchungen dar. Zur Sammlung luftgetragener Mikroorganismen wurde bisher eine große Anzahl von verschiedenen Geräten entwickelt und beschrieben (BURGE 1995; HIRST 1995; CROCK 1995 a,b). Im Wesentlichen lassen sich vier Sammelprinzipien unterscheiden: Sedimentation, Filtration, Impaktion und Präzipitation. Ihre biologische und physikalische Varianz unterscheiden sich erheblich. Die Vergleichbarkeit verschiedener Ergebnisse von unterschiedlichen Luftkeimmessungen ist daher nur eingeschränkt möglich, bzw. mit Vorsicht zu betrachten. Neben dem rein physikalischen Abscheidegrad (Verhältnis von eintretenden zu austretenden Partikeln = physikalische Sammeleffizienz) spielt die biologische Sammeleffizienz (Verhältnis luftgetragener vitaler Mikroorganismen zu kultivierbaren Mikroorganismen nach Sammlung) eine große Rolle. Bezüglich des Sammelstresses unterscheiden sich die Methoden erheblich. Dieser hat einen entscheidenden Einfluss auf die Überlebensfähigkeit und damit den kulturellen Nachweis luftgetragener Mikroorganismen.

Die zur Partikelabscheidung führenden Kräfte in einem Luftkeimsammler hängen dabei in unterschiedlicher Weise von Partikeleigenschaften wie Größe, Dichte, Form, elektrische Ladung und Oberflächenbeschaffenheit ab.

Bisher sind weltweit eine Vielzahl von Verfahren zur Erfassung von Mikroorganismen aus Bioaerosolen beschrieben. HOFMANN et al. (1999) stellten in einem Statuspapier der Deutschen Kommission „Reinhaltung der Luft“ insgesamt 13 verschiedene Keimsammelgeräte vor, welche auf verschiedenen Sammelverfahren beruhen. In Deutschland setzte sich aufgrund ihrer leichten Handhabung und dem vergleichsweise geringen gerätetechnischen Aufwand bisher die Filtration als dominierende Bestimmungsmethode für luftgetragene Mikroorganismen durch. In den Methodensammlungen (Sampling and Characterization of Bioaerosols; JENSEN und SCHAEFER 1998) der amerikanischen NIOSH (National Institute of Occupational Safety and Health) liegt der Schwerpunkt der Sammelmethoden bei der Impaktion. Hier steht insbesondere die Anwendung von Impingern (Impaktion in Flüssigkeiten) sowie mehrstufiger Kaskadenimpaktoren im Mittelpunkt. Vor allem das Impingement kombiniert eine hohe physikalische Sammeleffizienz mit einer nahezu optimalen biologischen Sammeleffizienz zum effektiven qualitativen Nachweis auch austrocknungsempfindlicher Keime und ermöglicht damit eine umfassende Darstellung möglicher Gefährdungspotentiale. In Deutschland, wo die Erfassung von Schimmelpilzen als Schlüsselkriterium für die Belastungsermittlung gesehen wird, sind diese Geräte noch nicht weit verbreitet und auch bisher noch nicht umfassend in den einschlägigen Richtlinien (TRBA 430 ANONYMUS 2001; BIA-9420 ANONYMUS 1996) aufgenommen worden.

Unabhängig von den Unterschieden in der regionalen Einsatzhäufigkeit bestimmter Messsysteme besteht das Problem darin, dass sich schon die Untersuchungen ein und desselben Objekts mit unterschiedlichen Sammelmethoden, aufgrund der unterschiedlichen Sammeleffizienz sowie bedingt durch Einflussgrößen wie Sammelstress oder kurzfristige Verschiebungen der Keimspektren, als sehr schwierig gestalten. Es kann gefolgert werden, dass dies in naher Zukunft so bleiben wird. Trotz vielfacher Standardisierungsbemühungen ist derzeit keine universelle Sammeltechnik bzw. keine universell anwendbare Kombination verschiedener Techniken verfügbar. Auch ist bisher keine Methodik bekannt, mit der es gelingt, alle Bestandteile eines Bioaerosols in gleich bleibender Qualität und Quantität zu erfassen.

Sedimentation

Bei der „trockenen Deposition“ handelt es sich um ein passives, auf der Schwerkraft beruhendes Sammelverfahren. Dieses Verfahren ist wenig aufwendig und erlaubt bei vergleichbaren Expositionszeiten aufgrund der Gesetzmäßigkeiten der Kinetik eine repräsentative relative Bewertung. Der Nachweis luftgetragener Mikroorganismen über das Aufstellen von offenen Agarplatten, die für eine definierte Zeit gegenüber der Umgebungsluft exponiert werden, ist eine seit langem bekannte Methode. Mikroorganismen bzw. keimtragende Partikel sedimentieren dann auf diesen Platten. Je nach Keimdichte wird eine Probenahmedauer von 30 s bis 10 min empfohlen. Nach anschließender Inkubation können die Keime als koloniebildende Einheiten (KE) ausgezählt werden. Neben der Kurzzeitmessung ist auch eine längere Probenahmedauer möglich. Allerdings ist auf eine Überbelegung der Platten zu achten. Bei der Keimzahlbestimmung wird das KOCHsche Absetzverfahren wegen seiner Einfachheit als Kurzzeitmethode häufiger verwendet. Da man eine Konzentrationsangabe jedoch nicht auf ein Luftvolumen beziehen kann, ist den volumenbezogenen Messverfahren der Vorzug zu geben (ADRIAN et al. 1988; HILLIGER et al. 1986; HARTUNG 1989). Ein weiterer Nachteil dieses Sammelverfahrens ist, dass kleine Partikel mit einem geringen aerodynamischen Durchmesser aufgrund von Reentrainment Prozessen nicht erfasst werden.

Filtration

Durch Ansaugen eines volumendefinierten Luftstroms durch Membranfilter werden die Partikel auf dem Filter abgeschieden. Als Membranfilter kommen u.a. Gelatine, Polycarbonat und Zelluloseester zum Einsatz (MÜCKE und LEMMEN 2004). Die Filtration ist aufgrund ihrer leichten Handhabbarkeit, der Möglichkeit einer direkten und indirekten Probenaufbereitung (entsprechend dem Filter), einer hohen physikalischen Sammel-effizienz und der Option einer isokinetischen Probenahme eine der gebräuchlichsten Methoden (HOFMANN et al. 1999). Als nachteilig ist die schnelle Austrocknung der Mikroorganismen, besonders der vegetativen Formen von Bakterien, zu betrachten. Durch eine deutliche Verkürzung der Probenahmedauer (maximal 10 min) und/oder Verwendung von Polycarbonatfiltern kann der Gefahr einer Dehydratation entgegengewirkt werden. Schimmelpilzsporen hingegen gelten als robuster und können dagegen sehr gut erfasst werden. Sowohl eine stationäre, als auch eine personengetragene Probenahme ist möglich (MÜCKE und LEMMEN 2004; SEEDORF 2005).

Impaktion

Die aus einem volumendefinierten Luftstrom angesaugten Bioaerosole werden direkt auf die Oberfläche einer festen Sammelphase, z.B. Agar, abgeschieden. Dies geschieht durch eine abrupte Richtungsänderung. Infolge dessen werden die luftgetragenen Partikel aufgrund ihrer Massenträgheit und in Abhängigkeit ihres aerodynamischen Durchmessers dem Luftstrom nicht folgen und prallen ihrer Trägheit folgend stattdessen auf die Sammeloberfläche, in der Regel auf einen Nährboden und werden auf diese abgeschieden. Unter allen in Anwendung befindlichen Luftkeimsammlern nehmen die Impaktoren den größten Anteil ein (HOFMANN et al. 1999; LACEY und VENETTE 1995). Bei hohen Luftkeimzahlen kann es schnell zu einer Überbelegung der Nährböden kommen. Die Folge sind nicht klar abgegrenzte Kolonien, die einer Auswertung nicht unterzogen werden können. Ein weiterer Nachteil ist, dass jeweils nur ein Nährmedium mit bestimmten Wachstumsbedingungen zum Einsatz kommt. Die Anzüchtung einer Vielzahl von Gattungen ist somit stark begrenzt. Eine Austrocknung der Keime bei Probenahmezeiten über 30 Minuten ist nicht auszuschließen (MÜCKE und LEMMEN 2004).

Eine Auftrennung entsprechend der Partikelgröße ist mit einem Kaskadenimpaktor möglich. Dies geschieht durch eine selektive Abscheidung in Abhängigkeit der Strömungsgeschwindigkeit und der Massenträgheit der Partikel beim Passieren der Düsen (ANDERSEN 1958). Zur Erfassung von luftgetragenen Bioaerosolen entwickelte ANDERSEN den gleichnamigen sechsstufigen Impaktor. Einige seiner bedeutendsten Vorteile sind die Partikelfraktionierung in sechs verschiedene Größenklassen gemäß dem Ablagerungsort im menschlichen Atemtrakt, ein großer Volumendurchfluss sowie eine einfache Handhabung der fertigen Plastikpetrischalen. Diese werden nach Probenahme in einem Brutschrank bebrütet.

Impingement

Hierbei werden ein volumendefinierter Luftstrom durch ein flüssiges Sammelmedium geleitet und die luftgetragenen Mikroorganismen darin abgeschieden. Im Unterschied zu so genannten Luftwäschern haben Impinger kleine Düsenöffnungen und eine hohe Ansauggeschwindigkeit. Nach der Probenahme muss die Flüssigkeit, meist unter Einschaltung von Verdünnungsreihen, auf ein festes Nährmedium gebracht werden. Die Gefahr einer Dehydrierung ist bei diesem Sammelverfahren nicht zu befürchten, allerdings ist eine mechanische Schädigung der Mikroorganismen beim Aufprall auf das Sammelmedium möglich. Niedrige Luftkeimkonzentrationen erfordern aufgrund einer

geringen Durchflussrate eine längere Probenahmezeit (MÜCKE und LEMMEN 2004; MÜLLER und SCHLENKER 2003).

Das bekannteste und neben den Impaktoren am häufigsten verwendete Luftkeimsammelgerät ist der All-Glas-Impinger-30 (AGI-30). Dieser wurde im Jahr 1964 auf einem internationalen Aerobiologenkongress in Berkley (USA) als Referenzsammelgerät vorgeschlagen (BRACHMANN 1964). Die über eine Düse angesaugte Luft gelangt in einem Winkel von 90° in ein Glasrohr mit Sammelflüssigkeit. Eine Verengung des Rohres am Ende führt zu einer Beschleunigung der Probenluft auf Ultraschallgeschwindigkeit und 30 mm über dem Boden des Impingergefäßes zur Abscheidung der Probenluft (SEEDORF 2005). Diesem Prozess liegt das Prinzip der Impaktion zugrunde. In der Luft enthaltene Partikel prallen infolge einer Richtungsänderung des Luftstromes auf die Oberfläche der Sammelflüssigkeit (SCHÜTZE 2001).

2.5.2 Messmethoden zur Erfassung von Staubpartikeln

Konzentrationsangaben von Staubpartikeln können sowohl massenspezifisch (mg/m³) als auch durch die Anzahl der Partikel (n) pro Volumeneinheit wiedergegeben werden (Partikel/m³) (SEEDORF und HARTUNG 2002). Zur Messung von luftgetragenen Staubpartikeln eignen sich, mit Ausnahme des Impingement, die in Kapitel 2.5.1 beschriebenen Verfahren gleichermaßen. Man unterscheidet die gravimetrischen von den optischen Verfahren.

Gravimetrische Verfahren

Die gravimetrische Probennahme ist das meist verwendete Messverfahren zur Erfassung partikelförmiger Stoffe (SCHMIDT-OTT und RISTOVSKI 2004). Eine Sammlung von Staub auf definierten Materialien erfordert zur Bestimmung der Partikelmassenkonzentration vor und nach der Probennahme eine Bilanzwägung auf Mikrowaagen bei konstanten klimatischen Verhältnissen. Eine Abgleichung der Filter über 24 Stunden, bei einer Temperatur von 15-30 °C und einer Luftfeuchtigkeit von 20-40 %, soll einen gleichbleibenden Feuchtigkeitsgehalt aller Filter gewährleisten (SCHMIDT-OTT und RISTOVSKI 2004). Die errechnete Massendifferenz ergibt die gesammelte Masse an Staub.

Bei dem Sedimentationsverfahren werden statt Filtern mit Aluminiumfolie ausgekleidete Sammelbleche eine definierte Zeit der Stallluft exponiert. Der einfachen und

kostengünstigen Probenahme und variablen Probenahmezeiten steht der fehlende Bezug zu einem Luftvolumen gegenüber (HILLIGER 1990).

Bei den volumenbezogenen Verfahren unterscheidet man die Filtration und die Impaktion. Das Prinzip bei der Staubmessung mittels Filtration besteht darin, dass ein definiertes Luftvolumen über eine Abscheidevorrichtung mit einer festgelegten Strömungsgeschwindigkeit gesaugt und der abgeschiedene Staub gewogen wird. Diese Methode ist am weitesten verbreitet.

Als Filtereinrichtung vor Filtrations- und Impaktormessgeräten kommen Glasfaserfilter oder Membranfilter zum Einsatz. Entsprechend der Porengröße der Filter kann der Fein- oder Grobstaub abgeschieden werden (MEHLHORN 1979).

Optische Messverfahren

Zur Erfassung der Partikelanzahlkonzentration eignen sich optische Messverfahren (OPC-optical particle counter), die nach dem Prinzip der Streulichtphotometrie arbeiten. Die Messgeräte ermitteln die Staubkonzentration über ein optisches Streulichtverfahren, welches mit einer gravimetrischen Bestimmung der Gesamtstaubkonzentration gekoppelt ist. Die Staubmessgeräte erfassen die Partikelkonzentration in Abhängigkeit der Partikelgröße.

Die eingesetzten Pumpen haben einen kalibrierten Luftdurchsatz. Die aktuelle Konzentration kann aus der Partikelanzahl und dem Volumen pro Zeit berechnet und aufgezeichnet werden.