

5 DISKUSSION

5.1 Kritische Betrachtung der angewandten Methoden

5.1.1 Messgeräte und Probenaufbereitung im Labor

Die durchgeführten Untersuchungen hatten zum Ziel, neben qualitativen und quantitativen Analysen zum Staub- und Schimmelpilzgehalt der Stallluft von Pferdeställen, die Beziehung beider Parameter zueinander zu ermitteln. Die qualitative Analyse umfasste eine genauere Betrachtung der Staub- und Keimzusammensetzung, insbesondere der Gattungen der Schimmelpilze. In Kapitel 2.5.1 und 2.5.2 wurden unterschiedliche Möglichkeiten zur Erfassung von luftgetragenen Staubpartikeln und Schimmelpilzsporen vorgestellt. Aufgrund personen- und tierbedingter Aktivitäten im Tagesverlauf und den damit verbundenen Konzentrationsänderungen des Partikelgehaltes der Stallluft sollten die Staubgehalte kontinuierlich als Partikelanzahlkonzentration erfasst werden. Diese Anforderungen erfüllt das Grimm Aerosolspektrometer, das zeitgleich eine Differenzierung der Partikel in 15 unterschiedliche Größenbereiche vornehmen kann. Die Vorteile dieses Gerätes liegen darüber hinaus in einer einfachen Handhabung und einer langen Akkulaufzeit.

Als kritisch zu betrachten ist die Tatsache, dass das Aerosolspektrometer auf Latexpartikel kalibriert wurde. Diese weisen eine sphärische Gestalt auf. Weichen die detektierten Partikel von dieser Form ab, kann es zu einer fehlerhaften geometrischen Zuordnung der Staubpartikel einzelner optischer Größenklassen kommen. Stäube aus der Landwirtschaft setzen sich aus einer Vielfalt von Formen zusammen. Am Beispiel von faserartigen Partikeln, die entweder in Ihrer Länge oder im Querschnitt vermessen werden, wird deutlich, dass beide Möglichkeiten einer Zuordnung nicht der Realität entsprechen würden (SCHMITT-PAUKSZTAT 2006). Um die Aussagesicherheit der Größenfraktionierung zu verbessern und die bestehende Messungengenauigkeit zu verringern, wäre eine Kalibration mit Stäuben aus der Landwirtschaft erforderlich (SCHNEIDER 2005).

Bei der Suche nach einem Luftkeimsammelgerät fiel die Entscheidung im Rahmen der Vorversuchsreihen auf den 8-stufigen Andersen Kaskadenimpaktor, welcher durch seine hohe Abscheideleistung, wie auch die Möglichkeit einer fraktionierten Keimsammlung überzeugte. Es handelt sich hierbei um ein Staubsammelgerät, das die Ablagerung von Staubpartikeln im menschlichen Atemtrakt bei Inspiration simuliert. Die einzelnen Impaktorstufen entsprechen jeweiligen Abschnitten der Atemwege.

Das eigentliche Keimsammelgerät nach Andersen mit 6 Impaktorstufen, welches jeweils mit einzelnen Nährbodenplatten bestückt wird, konnte seine Eignung in den Vorversuchsreihen nicht bestätigen. Hohe Keimbelastungen im Pferdestall gekoppelt mit einer hohen Durchflussrate des Andersen Sammlers sorgten selbst bei Probenahmezeiten unter einer halben Minute für eine Überbelegung der Platten (siehe Kapitel 4.1). Damit war die obere Nachweisgrenze des Andersen Sammlers erreicht. Idealerweise erfolgt die Partikelabscheidung dem Luftstrom folgend auf dem Agar immer unterhalb der entsprechenden Lochdüsen. Bei höheren Luftkeimkonzentrationen und längerer Sammelzeit erhöht sich die Wahrscheinlichkeit, dass zwei oder mehr Partikel an derselben Stelle abgeschieden werden. Aufgrund dieser Koinzidenz könnte der Messwert unterschätzt werden. ANDERSEN (1958) hat zur Korrektur dieser Messfehler eine Korrekturtabelle erstellt, anhand dessen die Ergebnisse einzelner Platten nach oben hin berichtigt werden müssen. In Fällen, in denen es aufgrund einer zu hohen Keimbelastung der Luft zu einer starken Überbelegung der Platten kommt, kann die Korrekturtabelle nicht mehr angewendet werden. In diesem Fall bezeichnet man die ermittelte Keimzahlmenge in $> n$. Eine quantitative Aussage bezüglich der Gesamtkeimzahl kann nicht getroffen werden, lediglich die Bewertung einer bevorzugten Abscheidung auf den entsprechenden Stufen (SUMMERBELL 2002; HOFMANN et al. 1999).

Die hohe Durchflussrate (28,3 l/min) und die Möglichkeit einer Größenstrukturanalyse des Andersen Sammlers waren für SCHÜTZE (2001) bedeutende Kriterien bei der Auswahl der Messgeräte. Die Autorin verglich in Voruntersuchungen verschiedene Luftkeimsammelgeräte miteinander und befand für die Messungen in verschiedenen Nutztierställen den Andersen Sammler trotz hoher Anschaffungskosten am besten geeignet. Darüber hinaus sind Messfehler durch so genannte Wandverluste allgemein bekannt und wurden auch schon von den Autoren KANG und FRANK (1989/3) diskutiert. Diese entstehen, wenn statt Glas-, Kunststoffpetrischalen verwendet werden. Strömt die Probenluft von einer Stufe auf die nächst kleinere, kommt es zu einer elektrostatischen Aufladung des Kunststoffmaterials und einer Adhäsion der Partikel an der Petrischalenwand. Nach Untersuchungen von ANDERSEN reduziert sich die Keimausbeute bei Verwendung von Petrischalen um etwa 20 % (HOFMANN et al. 1999). Der 6-stufige Andersen Luftkeimsammler wurde für die Anwendung von Glaspetrischalen konzipiert, wie sie im Lieferumfang enthalten sind. Diese besitzen eine definierte Größe und passen somit exakt auf die Stützen jeder Impaktorstufe. Die Kunststoffpetrischalen hingegen sind mit 85 mm im Durchmesser kleiner und haben aufgrund dessen einen geringgradigen Bewegungsspielraum auf den Stützen. Jegliche Abweichungen im Durchmesser und in der Wandhöhe haben eine Veränderung der Strömungskinetik und

damit eine Verfälschung des Ergebnisses zur Folge. Ein weiterer Aspekt hinsichtlich der Wandhöhe ist der Füllungsgrad der Petrischalen. Nach den Vorgaben des Herstellers ist auch hier eine Veränderung der Strömungskinetik zu erwarten, hält man sich nicht an die genauen Mengenangaben bei der Befüllung.

Die Verwendung von Einwegpetrischalen, sowie die eigene Herstellung von Nährböden findet angesichts des Probenumfangs in vielen Laboratorien standardmäßig Anwendung. Die hierbei möglichen Fehler können zumindest in Hinsicht auf den Befüllungsgrad umgangen werden. Für die vorliegenden Untersuchungen war der 6-stufige Andersen Luftkeimsammler in seiner Gesamtheit gesehen mit zu vielen methodischen Fehlern behaftet.

Der 6-stufige Andersen Sammler ist neben dem AGI 30 Impinger, das bisher weltweit am häufigsten verwendete Gerät zum Nachweis luftgetragener Mikroorganismen. Er wurde zusammen mit dem AGI 30 auf einem internationalen Aerobiologen-Symposium als Referenzsammler vorgeschlagen (BRACHMANN et al. 1964). In den Methodensammlungen (Sampling and Characterization of Bioaerosols; JENSEN und SCHAEFER 1998) der NIOSH (National Institute of Occupational Safety and Health) liegt der Schwerpunkt der Sammelmethode bei der Impaktion. Vor allem die Anwendung von Impingern (Impaktion von Flüssigkeit) sowie der mehrstufigen Kaskadenimpaktoren stehen hier im Mittelpunkt. Diese Geräte sind in Deutschland, wo die Ermittlung von Schimmelpilzen als Schlüsselkriterium für die Belastungsermittlung gesehen wird, noch nicht weit verbreitet und auch in die einschlägigen Richtlinien bisher nicht umfassend aufgenommen worden (TRBA 430 ANONYMUS 2001; BIA-9420 ANONYMUS 1996). Stattdessen wird in Deutschland aufgrund ihrer leichten Handhabung und dem vergleichsweise geringen technischen Aufwand der Filtration der Vorzug gegeben.

Der im Rahmen dieser Untersuchungen eingesetzte 8-stufige Andersen Staubsammler hat im direkten Vergleich zu dem 6-stufigen Luftkeimsammelgerät mehrere Vorteile. Der auf den Metallplatten gesammelte und anschließend in Lösung gebrachte Staub erlaubt eine Ausbringung der Verdünnungslösung einer Probe auf unterschiedliche Nährböden. Vergleichende Untersuchungen gewähren dadurch einen größeren Untersuchungsspielraum. Darüber hinaus können durch das Anlegen einer Verdünnungsreihe unterschiedlich stark beaufschlagte Metallplatten ausgewertet werden. Ein dreifaches Beimpfen von Parallelplatten soll Abweichungen aufgrund von Konzentrationsschwankungen bei der Ausbringung des Aliquots vermeiden. Demgegenüber steht ein hoher Arbeits- und Materialaufwand. Entsprechend den Vorgaben der VDI 4252 müssen gewonnene Staubproben auf drei aufeinander folgenden Verdünnungsstufen ausgebracht

werden. Durch die Beimpfung von Parallelplatten entstehen bei Verwendung einer Nährbodenart, Bebrütung der Proben bei 25 °C und 37 °C und Bearbeitung aller 8 Metallplatten eine Anzahl von 144 beimpften Platten pro Messtag. Ein hoher materieller und zeitlicher Aufwand, der jedoch in möglichen methodischen Fehlern bei der Bearbeitung der Proben begründet liegt.

Als nachteilig zu bewerten ist die große und schwere Pumpe, deren Betrieb einen für Tier und Mensch nicht zumutbaren Lärm verursacht. Daher wurden in beiden Versuchsställen die Pumpen nach außen verlagert. Wenig Flexibilität bietet das Gerät in Hinsicht auf den Messpunkt im Stall, da eine Stromversorgung notwendig ist.

Die Punktmessungen im Stall 2 zu ausgewählten Zeiten wurden mit dem PGP Gerät vorgenommen. Dieses Gerät zeichnet sich durch seine gute Handlichkeit, geringe Geräusentwicklung und durch seine niedrigeren Anschaffungskosten aus. Im Gegensatz zu dem Andersen Sammler lassen sich hier nur Gesamtstaub-, sowie Feinstaubpartikel erfassen. Den vielen Vorteilen der Filtration (siehe Kapitel 2.5.1) steht die biologische Sammeleffizienz gegenüber, die die Leistungsfähigkeit des Gesamtsystems bestimmt. Bereits auf dem Filter abgeschiedene Partikel unterliegen im Verlauf der weiteren Probenahme durch den fortgesetzten Luftstrom einer Austrocknung. Darüber hinaus kann es auch durch die mechanische Belastung beim Aufprall auf das Abscheidemedium zum Sammelstress kommen, der empfindliche Mikroorganismen irreversibel schädigen kann (HOFMANN et al. 1999). Bedingt durch längere Probenahmezeiten und hohe Konzentrationen von nicht biogenen Begleitaerosolen kann es zur Verstopfung der Filter kommen und damit zu einer Behinderung der Luftdurchlässigkeit. Die Folgen sind ein Druckabfall, den die Pumpe selber nicht ausgleichen kann und eine automatische Abschaltung des Gerätes. Solche Ereignisse wurden während des Einstreuprozesses in diesem Versuchsverlauf beobachtet und mussten regulativ behoben werden, so dass ein stetiger Luftdurchfluss der FSP Messköpfe von 2,5 l/min und der GSP Messköpfe von 3,5 l/min gewährleistet werden konnte. Während der Probenahmezeit war eine Kontrolle der Messungen daher durchgehend erforderlich.

Der Transport in das Labor wurde mit größter Sorgfalt durchgeführt, um die gesammelten Stäube jeder einzelnen Stufe nicht zu erschüttern. Die Laboruntersuchungen erfolgten in unmittelbarem Anschluss an die Messungen auf dem Gestüt. Eine dreiarmlige Greifpinzette wurde speziell für eine horizontale Verbringung der Metallplatten in ein Becherglas mit Verdünnungslösung angefertigt.

Als Nährböden wurden in den ersten Versuchsreihen parallel DG 18 und Malzextraktagar verwendet, um ein breites Schimmelpilzspektrum zu erfassen. Die beiden Nährmedien

unterscheiden sich durch ihren Feuchtegehalt und den Zusatz von bakterienhemmenden Substanzen in DG 18 (Chloramphenicol). Letzterer fördert das Wachstum von xerophilen bzw. osmotoleranten Pilzen. Nach den ersten Versuchsreihen stellte sich heraus, dass neben dem DG 18 Agar keine zusätzlichen Schimmelpilzgattungen bei einer Inkubationstemperatur von 37 °C auf dem Malzextraktagar gewachsen sind. Daher wurde eine weitere Kultivierung der Proben bei 37°C nur noch für DG 18 vorgenommen.

Die Interpretation der Ergebnisse auf Grundlage einer Luftkeimmessung gestaltet sich oftmals problematisch. Wie bereits erwähnt, unterliegt der Konzentrationsgehalt von Schimmelpilzsporen und Staubpartikeln der Luft aktivitätsbedingten Schwankungen. Diese Änderungen können innerhalb kürzester Zeit auftreten und werden von weiteren Faktoren, wie der relativen Luftfeuchte, Lufttemperatur, Luftströmung und dem Öffnungsgrad der Fenster und Türen im Stall, beeinflusst. Es gibt darüber hinaus laut SAMSON et al. (2002) so genannte biologische Differenzen, die dafür verantwortlich sind, dass die Sporen bestimmter Gattungen leichter in den luftgetragenen Zustand übergehen können als andere. Zu diesen zählen z. B. *Penicillium* und *Aspergillus*. Sporen anderer Gattungen wiederum werden in Fruchtkörpern gebildet und erst freigesetzt, wenn die befallene organische Substanz zerfällt oder pulverisiert. Beschränkt man sich bei Untersuchungen luftgetragener Pilzsporen allein auf Punktmessungen, sollte dies bei der Interpretation der Ergebnisse Berücksichtigung finden.

5.1.2 Staubfreisetzungswürfel

Die uneinheitlichen Angaben in der Literatur zum Konzentrationsgehalt luftgetragener Partikel in Pferdeställen sind hauptsächlich in den unterschiedlichen Messgegebenheiten begründet, und auch die Vielzahl der Einflussfaktoren spielt eine große Rolle bei der Gewinnung von Datenmaterial. Besonders WHEELER (2005) bemängelt das Fehlen eines einheitlichen Messsystems zur Bestimmung des Staubgehaltes der Luft unter Praxisbedingungen. Aber auch die teilweise nur ungenauen Angaben über die methodische Vorgehensweise bei verschiedenen Untersuchungen erschweren die Vergleichbarkeit der Daten. Überlegungen hinsichtlich der Standardisierbarkeit von Messmethoden brachten verschiedene Autoren dazu, sich mit Laborversuchen bestimmte Arbeitsvorgänge im Stall unter Ausschluss von externen Einflussmöglichkeiten zu rekonstruieren.

In der vorliegenden Arbeit wurde nach einem geschlossenen System gesucht, das aktivitätsbedingte Konzentrationsspitzen erzeugen konnte, ohne die äußeren

Gegebenheiten berücksichtigen zu müssen. Ein Windtunnel zur Untersuchung von Heuproben wurde von LACEY und DUTKIEWICZ (1976) entwickelt, die mit Hilfe eines Luftstroms das Material in Bewegung versetzt und die freiwerdenden Pilzsporen mit einem sechsstufigen Andersen Sammler gemessen haben. Ähnliche Versuche wurden auch von VANDENPUT et al. (1997) durchgeführt. Statt eines Windtunnels wurde eine Messkammer mit einer Höhe von 1 m und einem Durchmesser von 25 cm angefertigt, durch die ein konstanter Luftstrom von 200 l/min geschickt wurde. Das Einbringen der Materialprobe in die Kammer erfolgte unter äußerster Vorsicht, um Konzentrationsunterschiede bedingt durch die Handhabung so gering wie möglich zu halten. Mit Hilfe eines Vakuum-Reinigungsgerätes wurde nach jeder Messung die Luft in der Messkammer ausgewechselt.

Im Unterschied zu anderen Untersuchungen wurde bei der eigenen Versuchsanordnung vor jeder Messung die Hintergrundkonzentration bestimmt. Dazu wurde eine Leermessung vorgenommen und diese anschließend von der tatsächlich ermittelten Staubkonzentration des Probenmaterials subtrahiert. Auf diese Weise konnte bilanztechnisch von gleichbleibenden Voraussetzungen jeder Messreihe ausgegangen werden. In den vorliegenden Untersuchungen wurde besonders auf die physikalischen Eigenschaften von Staubpartikel eingegangen. Anfängliche Probleme durch Anhaftung der Partikel an den Innenwänden des Würfels nach Bewegung des Probenmaterials, konnten durch Auskleidung der Innenwände mit Aluminiumfolie umgangen werden. Eine elektrostatische Aufladung der Partikel wurde somit verhindert.

Die Drehgeschwindigkeit des Würfels konnte beliebig eingestellt werden und wurde aufgrund von eigenen Erfahrungswerten hinsichtlich des Einstreuvorganges auf 9 U/min. festgesetzt. Die erzeugten Bewegungen entsprechen somit in etwa dem manuellen Einstreuprozess bei bereits aufgelockerten Strohpattien eines Ballens, die durch gleichmäßiges Einbringen in der Box verteilt werden. Dieser Prozess ist individuell unterschiedlich und wird sowohl durch den Faktor Mensch, Einstreuart und -beschaffenheit, als auch durch stallklimatische Gegebenheiten und die davon ausgehende Stauffreisetzung beeinflusst. Die Freisetzung der Partikel in die Luft des Würfels kann während der Drehbewegung auf unterschiedliche Weise erfolgen. Das Heu wird durch die Drehung in Bewegung gesetzt. Die in dem Würfel befindliche Luft ist jedoch träge und folgt nur langsam der Bewegung des Würfels. Dadurch kommt es zu einer Reibung zwischen dem Probenmaterial und der Luft, welche mit der Zeit immer kleiner wird. Folglich kommt es zur Freisetzung von Partikeln aus dem Heu.

Trotz der Auskleidung des Würfelinernen mit Aluminiumfolie können bereits freigesetzte Partikel aufgrund von Adhäsionskräften an der Wand des Würfels haften, wenn diese

größer sind, als die Gewichtskraft des Partikels. Im weiteren Verlauf diffundiert und sedimentiert das Partikel. Durch „Resuspension“ kann es wieder in den Luftstrom aufgenommen werden, indem sich die Luft über das Partikel hinweg bewegt.

Eine Vergleichbarkeit mit Ergebnissen anderer Untersuchungen ist aufgrund der unterschiedlichen angewandten Methoden nicht möglich. Darüber hinaus war das Ziel dieser Arbeit, eine mögliche Abhängigkeit zwischen Staubpartikeln und Schimmelpilzsporen unter standardisierten Bedingungen zu überprüfen. Eine an dieses Ziel angepasste Messmethode konnte mit dem Staubfreisetzungswürfel gut umgesetzt werden.

5.2 Bewertung der Ergebnisse

Neben qualitativen und quantitativen Untersuchungen von Staubpartikeln und Schimmelpilzsporen in beiden Versuchsställen liegt der Schwerpunkt dieser Arbeit in der Ermittlung eines möglichen Zusammenhangs zwischen beiden Messparametern. Dies impliziert eine genaue Charakterisierung der Ist-Situation beider Versuchsställe. Neben den Messungen in den beiden Stallungen wurde unter Laborbedingungen der Vorgang der höchsten Staubfreisetzung manuell simuliert. Die ermittelten Werte der Langzeit- und Punktmessung sowie die der Laborversuche wurden anschließend einer Regressionsanalyse unterzogen.

5.2.1 Langzeitmessungen

5.2.1.1 Staubkonzentration

Bei der Betrachtung der Gesamtstaubkonzentrationen beider Ställe fällt auf, dass die Wertebereiche tagesabhängig starken Schwankungen unterliegen. Besonders im Stall 2 variieren die Tageswerte zwischen 60 und über 400 Millionen Partikel pro m³ Luft. Dagegen konnten im Stall 1 homogenere (60-100 Millionen Partikel/m³ Luft) Gesamtstaubkonzentrationen ermittelt werden. Die weite Streubreite der Tagesmittelwerte liegt in der hohen Variabilität der einzelnen Tagesaktivitäten begründet.

Die Aufzeichnungen der Staubpartikel im Konzentrationsverlauf in beiden Ställen zeigen aktivitätsbedingte Erhöhungen, die insbesondere durch menschliche Einflüsse hohe Werte erreichen. Den größten Einfluss auf eine zeitweilige Anhebung der Stallluftkonzentration in beiden Ställen hat der Umgang mit Einstreumaterialien und die Vorlage von Raufutter. Bei der Säuberung der Boxen am frühen Morgen werden in beiden

Versuchsställen Spitzenkonzentrationen erreicht, die im Tagesverlauf im Stall 2 nur sehr langsam wieder die morgendlichen Ausgangswerte erreichen. Der Faktor Tier muss bei der Beurteilung der Verlaufsmessungen besonders im Stall 2 Berücksichtigung finden, da Jungtiere ein ausgeprägtes Bewegungsbedürfnis haben. Hinzu kommt, dass die Möglichkeiten für einen Freigang während des Untersuchungszeitraumes witterungsbedingt nicht gegeben waren. Das Abklingverhalten ist daher in diesem Fall anders als im Stall 1. Dort sind Ereignisse wie das Entmisten, die Krafffutter-, sowie die Raufuttervorlage deutlicher als Peaks zu erkennen. Die Partikel werden immer wieder neu resuspendiert und in die Stallluft verbracht.

Die Sinkgeschwindigkeit eines Teilchens wird durch die Partikelmasse und –größe bestimmt und gemäß dem Gesetz nach Stokes berechnet (COX 1995). In Tabelle 2.1 sind diese für Partikel mit einem definierten Durchmesser aufgelistet. Feinstaubanteile in der Luft haben eine längere Sedimentationszeit. Durch die tierbedingte Aktivität werden diese beim Sedimentationsvorgang wieder in die Luft resuspendiert. Es ist davon auszugehen, dass während der Ruhephase, in denen keine menschlichen Arbeiten im Stall verrichtet wurden, kleine Bewegungen der Tiere ausreichen, um eine konstante Feinstaubkonzentration in der Luft aufrecht zu erhalten.

Der Feinstaubgehalt im Stall 2 unterliegt einem stärkeren Reentrainment, der in diesem Fall durch menschliche Aktivitäten über einen Zeitraum von ca. fünf Stunden auf ein hohes Niveau verbracht wird. Die Resuspension luftgetragener Partikel ist aufgrund der größeren Aktivität durch das Tier im Stall 2 höher als die Sedimentationsprozesse.

Bedingt durch die Bauweise dieses Stalles (siehe Abbildung 3.3), sind die kleinen Boxenfenster, das große Tor und die zwei kleine Türen, die als Zugang dienen, für eine ausreichende Lüftung während der arbeitsintensiven Zeiten nicht ausreichend. Während des Entmistungsvorgangs kommt es zu einer Kumulation der freigesetzten luftgetragenen Partikel im Stall. Bereits ZEITLER (1985) hatte in ihren Untersuchungen festgestellt, dass während der Stallarbeitszeiten die höchsten Staubkonzentrationen zu verzeichnen sind. Der Staubgehalt der Stallluft wurde in ihren Untersuchungen gravimetrisch bestimmt, was auch erklärt, warum die Grobstaubpartikel tagsüber und die Feinstaubpartikel zu Ruhezeiten in der Nacht dominierten. JAGGY (1996) konnte genauere Angaben über die Tätigkeit geben, welche die Stallarbeitsphase am meisten belasten. Es zeigte sich, dass der Einstreuprozess ein Vielfaches mehr zum Staubgehalt der Luft beiträgt, als der Fütterungsvorgang. Zu dem gleichen Ergebnis gelangten auch NAVAROTTO et al. (1994), und verglichen dabei die Staubkonzentrationen während der Zuteilung des Kraffutters mit den Werten während der Nachtruhe. In den eigenen Untersuchungen hat

die Zuteilung der Krafftuttermahlung keinen maßgeblichen Einfluss auf die Stallluft. Zwar sind auch bei diesem Vorgang Konzentrationsspitzen zu verzeichnen, diese liegen jedoch mit 150-200 Mio. Partikel/m³ Luft in beiden Ställen im Vergleich zu den Zeiten der Boxensäuberung bedeutend niedriger. Die Partikelsedimentation führt im Stall 1 innerhalb der darauffolgenden 20 Minuten dazu, dass die Luftkonzentration sogar unter den Ausgangswert fällt. Im Stall 2 wird der Fütterungsvorgang hingegen von den tierbedingten Aktivitäten überlagert. Die Staubkonzentration wird daran anschließend durch den Entmistungs- und Einstreuvorgang weiter aufrechterhalten.

Eine Größenstrukturanalyse des luftgetragenen Staubes konnte zeigen, wie groß der Anteil lungengängiger Partikel am Gesamtstaub ist. Besonders die kleinste Fraktion (0,30-0,40 µm) nimmt den größten Anteil der Gesamtstaubpartikel ein und ist somit in der Lage bis in die terminalen Atemwege vorzudringen. Der Abschnitt der respiratorischen Bronchiolen wird als wichtigste Region im Zusammenhang mit Atemwegserkrankungen gesehen. Das Verhältnis zwischen den Grob- und Feinstaubpartikeln unterliegt Veränderungen im Konzentrationsverlauf (Abbildungen 4.5 und 4.9). Abhängig von den Tagesaktivitäten verhält sich die Partikelanzahlkonzentration beider Fraktionen unterschiedlich. Während im Stall 1 die Grobstaubpartikel zu Zeiten hoher Aktivität um den Faktor 100 steigen, ist eine Anhebung der Feinstaubanteile um den Faktor 4-4,5 zu verzeichnen. Die Partikel mit einem kleinen aerodynamischen Durchmesser zeigen sich weniger beeinflusst von den Aktivitätsänderungen, als die Fraktion der größeren Teilchen. Bei Betrachtung jeder einzelnen Staubfraktion lässt sich zumindest im Stall 1 mit zunehmender Partikelgröße eine stärkere Konzentrationsänderung feststellen.

5.2.1.2 Schimmelpilzkonzentration

Die Gesamtschimmelpilzkonzentrationen beider Ställe unterscheiden sich nur geringgradig. Der Sporengehalt der Luft liegt im Stall 1 ($3,9 \times 10^5$ KE/m³) nur knapp unter dem von ZEITLER-FEICHT (1993) geforderten maximal tolerierbaren Luftkeimgehalt von 4×10^5 KE/m³ Luft, Stall 2 überschreitet mit $5,9 \times 10^5$ KE/m³ diesen Wert. Dieser Grenzwert gilt nicht für Keime infektiöser, toxischer oder allergisierender Natur. Der Luftkeimgehalt wird neben Schimmelpilzen auch aus Bakterien gebildet, welche in diesen Untersuchungen nicht erfasst worden sind. Es ist davon auszugehen, dass unter Einbeziehung der Bakterienflora der tatsächliche Luftkeimgehalt der Stallluft um ein Vielfaches höher liegen würde.

Die Verteilung der Schimmelpilze auf den einzelnen Stufen des Andersen Sammlers zeigt in beiden Ställen eine starke Präsenz auf den Stufen 4 und 5. Untersuchungen von YODER und VAN WICKLEN (1988) bestätigen die eigenen Untersuchungen. Auch sie verzeichneten eine Dominanz gesammelter luftgetragener lebender Keime in den Größenbereichen 3,3-4,7 µm und 2,1-3,3 µm. Im Stall 1 konnten die meisten Schimmelpilze auf Stufe 4 (3,3-4,7 µm) mit bis zu 7×10^5 KE/m³ Luft gefunden werden (Abb. 4.12), gefolgt von den Stufen 1, 5 und 2. Die Schimmelpilze im Stall 2 wurden in erster Linie auf der 5. Stufe mit ca. $2,3 \times 10^5$ KE/m³ abgeschieden. Das Konzentrationsgefälle geht hier über die vierte, erste und zweite Stufe. Vergleichende Untersuchungen in Nutztierställen (SCHÜTZE 2001) mit einem 6-stufigen Andersen Sammler konnten ein gehäuftes Auftreten der Schimmelpilze auf den Stufen 3-5 feststellen, was einem Größenbereich von 1-6 µm entspricht.

Die dominierende Schimmelpilzgattung im Stall 1 ist *Eurotium*, welche besonders am ersten Messtag stark in der Stallluft vertreten war. *Eurotium* Spezies sind die häufigsten Schimmelpilze der Außenluft. Sie bilden die sexuelle Form der *Aspergillen* und gehören der *Aspergillus glaucus* Gruppe an. Wie bereits in Kapitel 2.3.1.3 beschrieben, zeichnet diese Gattung eine hohe Affinität zur Trockenheit aus.

Vergleicht man die ermittelten Schimmelpilzgattungen mit denen anderer Untersuchungen, so fällt auf, dass *Eurotium* keine Erwähnung bei der Ergebnisdarstellung findet. Das liegt daran, dass zur Vereinfachung *Eurotium* unter dem Gattungsnamen *Aspergillus* geführt wurde. Aufgrund der starken Dominanz dieser Art in der Stallluft wurden die Ergebnisse in den eigenen Untersuchungen separat von der Gattung *Aspergillus* behandelt. Zum Vergleich mit anderen Untersuchungen sind in Tabelle 5.1 die Ergebnisse verschiedener Autoren zusammengefasst, die Schimmelpilze aus Materialproben und/oder der Luft aus Pferdeställen isoliert haben. Untersuchungen der Forschungsgruppe um NAVAROTTO et al. (1994) konnten nachweisen, dass in allen getesteten Materialien (Getreide, Heu, Stroh und Wasser) Vertreter der *Aspergillus glaucus* Gruppe anwesend waren. Keines der anderen Schimmelpilzspezies kam in allen vier Proben gleichermaßen vor.

Die Sporengröße der *Eurotien* reicht je nach Art von 3,5 bis 7,0 µm (SAMSON et al. 2002). Die Auswertung der Luftkeimsammlung ergab im Stall 1 ein gehäuftes Auftreten auf der Stufe 4. Im Stall 2 hingegen wurden die Konidiosporen auf den ersten drei Stufen abgeschieden. Da keine weitere Differenzierung der Gattungen vorgenommen wurde, lässt sich nur vermuten, dass es sich in beiden Stallungen aufgrund der Größenunterschiede der Konidiosporen um mindestens zwei unterschiedliche Arten handelt.

In beiden untersuchten Stallungen war *Cladosporium spp.* die zweithäufigste Gattung. Sie kommt in der Luft sehr zahlreich vor und ist bevorzugt auf verrottetem organischen Materialien, wie beispielsweise Laub, zu finden. *Cladosporium herbarum* ist der häufigste Vertreter der europäischen Luftsporenflora. Verglichen mit der Gattung *Alternaria* hat *Cladosporium* weniger allergenes Potenzial, produziert seine Sporen jedoch in weit größerer Anzahl (MÜCKE und LEMMEN 2004). Im Sommer können sie bis zu 90 % der luftgetragenen Schimmelpilze der Außenluft ausmachen (www.schimmel-schimmelpilze.de). Die Materialproben der untersuchten Stroh- und Heuballen weisen bis auf eine Ausnahme alle sehr hohe Konzentrationen der Gattung *Cladosporium* auf (siehe Kapitel 9). Vor allem die in der Scheune gelagerten Quaderballen, die im Stall 1 Anwendung fanden, wurden in hohem Maße von dieser Gattung besiedelt. Es ist daher zu vermuten, dass der hohe Gehalt von *Cladosporium* in der Stallluft vornehmlich durch den Umgang mit kontaminiertem Einstreumaterial verursacht wurde.

Je nach Art variieren *Cladosporien* stark in ihrer Sporengröße zwischen 3-7 x 2-4 µm (*C. cladosporioides*) bzw. 5,5-13 x 4-6 µm (*C. herbarum*) (Abb. 4.14 und 4.23). Gemäß der Konzentrationsverteilung waren in beiden Ställen auf den ersten beiden, sowie auf der vierten Stufe die meisten Sporen kultivierbar. Die cut-off Durchmesser der Lochdüsen der einzelnen Stufen des Andersen Sammlers sind in Tabelle 3.2 in Kapitel 3.1 aufgeführt. Somit sind vorwiegend die Konidiosporen von *Cladosporium* mit einem Durchmesser von > 11,0 (Stufe 1) und zwischen 7,0-11,0 µm (Stufe 2) abgeschieden worden.

Eine vermehrte Sporenabscheidung konnte auch auf der dritten Stufe (4,7-7,0 µm) beobachtet werden. Eine Erklärung, warum die Sporen die 3. Stufe in nur geringer Anzahl passieren konnten, lässt sich zum einen durch die artabhängigen Sporengröße erklären. Darüber hinaus können sie aber auch eine ungünstige aerodynamische Größe besitzen (SCHÜTZE 2001), kleineren Sporenaggregaten angehören oder größere Agglomerationen bilden. Im Zusammenhang mit Stäuben spricht man auch von der Koagulation von Partikeln (siehe Kapitel 2.2.2). Eine genaue Aussage darüber, ob es sich um an Trägerpartikel gelagerte oder um isoliert vorkommende Schimmelpilzsporen handelt, konnte hier nicht getroffen werden.

Wallemia war im Stall 2 mit $3,8 \times 10^5$ KE/m³ Luft die dominierende Gattung, im Stall 1 konnte es nach *Eurotium* und *Cladosporium* mit $3,7 \times 10^4$ KE/m³ um zwei Zehnerpotenzen weniger aus der Stallluft isoliert werden. In beiden Stallungen war die Abscheiderate auf den Stufen 4 (3,3-4,7 µm) und 5 (2,1-3,3 µm) am höchsten. *Wallemia sebi*, besitzt mit einer Größe von 1,5-2,5 µm recht kleine Konidiosporen. Daraus lässt sich schließen, dass die luftgetragenen Sporen der Stufe 5 im Gegensatz zu anderen Gattungen weniger auf

Trägerpartikel angewiesen sind. SCHÜTZE (2001) konnte bei Messungen in verschiedenen Nutztierställen *Wallemia* ebenfalls auf den bereits erwähnten Stufen in hohen Konzentrationen nachweisen. Zum Einsatz kam bei Ihren Luftkeimmessungen der 6-stufige Andersen Sammler, welcher auf den Stufen 4 und 5 kleinere cut-off Durchmesser aufweist.

Die Sporen von *Wallemia*, deren Durchmesser bis zu 4 µm groß sind, werden zu 50 % im Bereich der Alveolen abgelagert und gehören demnach der alveolengängigen Fraktion an (DIN EN 418). Die Sporen erreichen somit die nichtcilierten Luftwege.

Bei dem im Rahmen eigener Untersuchungen analysierten Materialproben weisen neben den Quaderballen, die in einer allseits geöffneten Scheune gelagert wurden, vor allem die Hochdruckballen Stroh und Heu hohe Konzentrationen von *Wallemia* auf. Eine Anreicherung der Stallluft mit luftgetragenen Sporen dieser Gattung ist mit großer Wahrscheinlichkeit auf den Einsatz hoch kontaminierten Einstreumaterials zurückzuführen.

Die gemessenen Sporenkonzentrationen der Gattung *Aspergillus* liegen in beiden Ställen auf Platz 4 in der Häufigkeit des Auftretens in der Stallluft und sind mit $2,5 \times 10^4$ KE/m³ Luft in Stall 1 und $3,2 \times 10^4$ KE/m³ in Stall 2 in einem ähnlichen Wertebereich. Betrachtet man die Verteilung der Sporen auf den unterschiedlichen Stufen, so lassen sich in keinem der beiden Ställe eindeutige Zuordnungen treffen. Lediglich auf Stufe 4 in Stall 2 ist eine vermehrte Ansammlung keimfähigen Materials zu finden. Wie bereits in Kapitel 2.3.1.3 beschrieben, ist die Artenvielfalt dieser Gattung sehr groß und damit auch die Größenvariabilität. Die Sporendurchmesser belaufen sich laut SAMSON et al. (2002) auf 2-9 µm. Es kann also davon ausgegangen werden, dass es entsprechend der jeweiligen Art zu einer unterschiedlichen aerodynamischen Größenverteilung auf den einzelnen Stufen kommt. Die Konidien von *Aspergillus fumigatus*, als die pathogenste Art innerhalb ihrer Gattung in Hinsicht auf Tier- und Menschenwelt, ist mit einem Durchmesser von 2-3 µm ebenfalls in der Lage, bis in die Alveolen vorzudringen. MÜCKE und LEMMEN (2004) bezeichnen *A. fumigatus* sogar als den Schimmelpilz mit der stärksten pathogenen Potenz. Die Bedeutung dieser Art ergibt sich aus der Fähigkeit, auch in niedrigen Konzentrationen bei nicht immunsupprimierten Lebewesen eine Aspergillose auszulösen. *Aspergillus fumigatus* ist in 90 % der Fälle an dieser Erkrankung beteiligt.

Es kann davon ausgegangen werden, dass die aerosolisierten *Aspergillus*sporen von außen in den Stall eingetragen wurden oder nachträglich in der Box entstanden sind. Die untersuchten Einstreuproben waren, bis auf die Strohballen aus dem Rennstall, frei von Sporen der Gattung *Aspergillus*. HENNIG (1997) untersuchte verschiedene

Einstreuproben in Pferdeställen und konnte als häufigsten Schimmelpilz *Aspergillus fumigatus* isolieren (mittlere Konzentration von $5,4 \times 10^5$ KE/g TS). Die Einstreu wurde nach einer definierten Liegezeit den Boxen entnommen. Auch weitere *Aspergillus*-Arten traten in Konzentrationen von über 10^5 KE/g TS in den Materialproben auf.

Frische Einstreumaterialien sind nach Aussagen von WEBSTER et al. (1987) nur geringgradig mit Sporen dieser Art befallen. Vielmehr stuft er verpilztes Heu als Quelle hoher Sporenkonzentrationen in der Luft von Stallungen ein.

Die Konzentration weiterer, im Rahmen dieser Untersuchungen ermittelter Gattungen lag jeweils im Bereich von 10^3 KE/m³ Luft und wird daher nachfolgend nur kurz abgehandelt. Eine Größenstrukturanalyse wurde aufgrund unzureichend gesammelter keimfähiger Sporen nicht vorgenommen. Zu diesen Gattungen gehört auch *Penicillium*, welches bei den untersuchten Hochdruckballen Heu in ähnlich großer Menge vorhanden war wie *Cladosporium*. Entgegen den Ergebnissen von SCHÜTZE (2001), bei deren Untersuchungen sich *Penicillium* unter den drei häufigsten Schimmelpilzgattungen befand, konnten dieses in den beiden Versuchsställen nur in geringen Konzentrationen in der Luft ermittelt werden (siehe Abbildungen 4.11 und 4.19). Charakteristisch für die Gattungen *Penicillium* und *Aspergillus* ist die große Anzahl produzierter Sporen, die leicht in den luftgetragenen Zustand übergehen können. Andererseits können bestimmte Schimmelpilze in der Luft nicht nachgewiesen werden, da sie erst bei Zerfall des Wirtsmaterials aus den so genannten Fruchtkörpern freigesetzt werden (SAMSON et al. 2002). Dazu gehört die Gattung *Fusarium* (MÜCKE und LEMMEN 2004). Trotz dieser biologischen Eigenschaften wurde *Fusarium* im Stall 2 in einer Konzentration von $1,4 \times 10^4$ KE/m³ und $3,5 \times 10^3$ KE/m³ im Stall 1 ermittelt. In den Untersuchungen von SCHÜTZE (2001) sind in keinem der untersuchten Nutztierställe Sporen dieser Gattung gefunden worden. NAVAROTTO et al. (1994) hingegen konnten auf ihren Sedimentationsplatten zu unterschiedlichen Jahreszeiten *Fusarium* nachweisen. Sie führen als Quelle Heu an, welches als einzige Futterprobe in ihren Untersuchungen positiv ausfiel. Es ist denkbar, dass es durch äußere Einwirkungen auf das Pflanzenmaterial, in diesem Fall durch Pferdehufe, zu einer Zerstörung der Fruchtkörper so genannter Sporodochien kommt und damit zu einer vermehrter Freisetzung der beinhalteten Sporen im Stall. Die Forschungsgruppe konnte neben den Sedimentationsplatten auch in den Heu- und Strohproben regelmäßig die Gattung *Alternaria* nachweisen. Eigene Strohproben waren ebenfalls mit dieser Gattung befallen. Betroffen war das Stroh von den Quaderballen, welche in großen Scheunen gelagert wurden. In den anderen Chargen konnte *Alternaria* nicht nachgewiesen werden. Aufgrund einer hohen Affinität zu Feuchtigkeit (MÜCKE und LEMMEN 2004) kann eine eventuelle Restfeuchte vor dem

Pressen der Ballen verbunden mit einer mangelhaften Nachrocknung zur Vermehrung von *Alternaria* führen.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass in beiden untersuchten Pferdeställen unterschiedliche Schimmelpilzgattungen die Luft dominierten. Die Abscheidung der Mehrzahl aerosolisierter Schimmelpilzsporen auf den Stufen 4 und 5 beweist eine Dominanz der Sporen $<5\ \mu\text{m}$ und damit deren Lungengängigkeit.

5.2.1.3 Zusammenhang zwischen luftgetragenen Staubpartikeln und Schimmelpilzsporen während der Langzeitmessungen

Die unterschiedlichen Methoden zur Konzentrationsbestimmung luftgetragenen Staubes sind im Vergleich mit dem Nachweis von Mikroorganismen mit weit aus weniger Aufwand verbunden. Dies gilt sowohl für die gravimetrische Bestimmung von Staub, als auch für Online Messgeräte (siehe Kapitel 2.5.2). Eine Einschätzung aerosolisierter Mikroorganismen vor Ort ist nicht möglich.

Durch die Anhaftung von Bakterien, Pilzen, Viren und Milben oder auch Protozoen an Staubpartikel kommt diesen die Funktion eines so genannten Vehikels oder „carriers“ zu (SEEDORF und HARTUNG 2002). Wie hoch der Anteil gebundener Schimmelpilzsporen an Staubpartikel ist und für welche Größenklassen dies gültig ist, konnte anhand eines statistischen Modells aufgezeigt werden.

Unabhängig von den Messverfahren erfordert die Ermittlung von Luftkeimen eine Probenaufbereitung oder zumindest eine Bebrütung von Nährböden über einige Tage. Eine Regressionsanalyse der Konzentration von Staubpartikeln und Schimmelpilzsporen sollen den Zusammenhang beider Parameter erörtern. Untersuchungen in diesem Bereich wurden bereits von MISSEL (1999) durchgeführt. Dieser hat ein Verfahren entwickelt, mit dem Keimkonzentrationen aus in 1-Minuten-Intervallen gemessenen Staubpartikelkonzentrationen errechnet und so kontinuierliche Keimkonzentrationsverläufe erstellt werden können. Mit Hilfe der linearen Regression wurde zunächst eine lineare Abhängigkeit der Keimkonzentrationen von den Staubpartikelkonzentrationen bestimmt. Er unterteilte den Gesamtstaub in einzelne Partikelfractionen, da Abhängigkeiten zwischen Konzentrationen von luftgetragenen Mikroorganismen und Gesamtstaubpartikeln nur schwer zu finden sind. MISSEL unterzog jede einzelne Partikelfraction einer linearen Regression. Zur Keimzahlbestimmung verwendete er das PGP Messgerät mit einer anschließenden indirekten Bearbeitung der Proben. Das von ihm entwickelte

Verfahren der „korrelierten Partikelzählung“ führte er in Entsorgungs- und Abfallbetrieben durch.

Bisher wurde diese Methode in keinem anderen Bereich angewendet. Anders als bei den Untersuchungen von MISSEL wurden in den eigenen Untersuchungen neben den Staubpartikeln auch die Schimmelpilze einer fraktionierten Bestimmung unterzogen. Für Stall 1 sind die Ergebnisse in Tabelle 4.1 und 4.2 dargestellt. Die höchsten Bestimmtheitsmaße ($R^2=0,75$) konnten für die Schimmelpilzsporen der Stufe 1 und die Staubfraktionen der Größe 3,0-4,0 μm und 4,0-5,0 μm ermittelt werden. Eine lineare Abhängigkeit war auch für Sporen der Stufe 6 und den Staubpartikel der zwei kleinsten Größenklassen zu verzeichnen (Bestimmtheitsmaße von $R^2=0,6$ und $R^2=0,8$). Dieser lineare Zusammenhang konnte jedoch nicht auf die Ergebnisse der Messungen in Stall 2 übertragen werden. Hier wurde als höchstes Bestimmtheitsmaß $R^2=0,7$ für die Schimmelpilzsporen der Stufe 7 und die Staubpartikel der Größe von 1,6-2,0 μm ermittelt. Nach Aussagen von MISSEL (1999) reichen Korrelationen mit Bestimmtheitsmaßen im Bereich um 0,7 aus, um Abschätzungen von Keimkonzentrationen aus kontinuierlich gemessenen Partikelanzahlkonzentrationen mit ausreichender Genauigkeit vorzunehmen. Weitere Korrelationen wurden mit gewonnenen Daten aus homogenen Keim- und Staubkonzentrationen im Stall und unter standardisierten Bedingungen im Labor durchgeführt.

Ein Gütemaß für die Regressionsfunktion ist der Standardfehler des Schätzers (siehe Kapitel 3.1.6). Dieser vergleicht die beobachteten Werte mit den Schätzwerten und gibt Auskunft darüber, ob die Regressionsgleichung für ein Prognosemodell anwendbar ist. Die Werte der Standardfehler sind für Stall 1 ebenfalls in den Tabellen 4.1 und 4.2 dargestellt. Als einzige Fraktionen mit der niedrigsten Standardabweichung konnten die Partikel der Größe 0,40-0,50 μm sowie der Schimmelpilze der Stufe 6 des Andersen Sammlers ermittelt werden (949,7). Mit einem sehr geringen Standardfehler des Schätzers waren auch die Staubpartikel der Größe 1,6-2,0 μm und die Schimmelpilze der 7. Stufe des Andersen Sammlers im Stall 2 (247,3) behaftet. In Hinsicht auf die hohen Partikelkonzentrationen und die tagesabhängigen Schwankungen in der Luft von Pferdeställen reichen Standardfehler im dreistelligen Bereich noch aus, um eine Prognose der Schimmelpilzkonzentration anhand von Staubkonzentrationsverläufen stellen zu können. Bei anderen Partikelfraktionen ist dies nicht möglich. Die Regressionsanalysen weiterer Größenbereiche beider Stallungen (Tabelle 4.3-4.5) konnten nur sehr hohe Standardfehler ermitteln. Je höher der Standardfehler, desto größer sind die Residuen (nicht erklärte Streuung).

5.2.2 Punktmessungen

Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe zeigen deutlich, welchen Anteil der Feinstaubgehalt an der Gesamtpartikelzahl einnimmt. Aufgrund der hohen Konzentration kleiner Partikel ($<5 \mu\text{m}$) ist kein bedeutender Unterschied zwischen der Gesamt- und der Feinstaubpartikelanzahlkonzentration zu erkennen. Während der Ruhephase der Tiere sind die Werte konstant, was aus den eng beieinander liegenden Datenpunkten hervorgeht.

Die ermittelten Schimmelpilzsporen (KE/m^3) liegen zahlenmäßig unter den Ergebnissen der Langzeitmessungen. Selbst zu aktivitätsreichen Zeiten liegt hier der durch Filtration ermittelte Gesamtkeimgehalt ($4 \times 10^4 \text{ KE}/\text{m}^3$) eine Zehnerpotenz unter den mit dem Andersen Sammler ermittelten Werten. Diese Abweichungen dürften in den unterschiedlichen Sammelmethode der Luftkeimerfassung begründet sein.

Der Sporengehalt der FSP Messköpfe lag mit $4,2 \times 10^3 \text{ KE}/\text{m}^3$ in einem relativ hohen Wertebereich. Der Hauptanteil der luftgetragenen Schimmelpilze erreicht somit die tiefen Atemwege. Es ist festzuhalten, dass Kurzzeitmessungen über einige Sekunden oder Minuten aufgrund von ständigen aktivitätsbedingten Änderungen des Konzentrationsverlaufes nur ungenau den tatsächlichen Gehalt luftgetragener Partikel wiedergeben. Trotz Einbeziehung der aktivitätsarmen Zeiten während der Langzeitmessungen liegen die ermittelten Sporenkonzentrationen der Luft, die mittels Impaktion gemessen wurden, um eine Zehnerpotenz höher. Dies ist, wie bereits erwähnt, in den unterschiedlichen Meßmethoden begründet.

Sedimentations- und Resuspensionsprozesse überschneiden sich, so dass jedes Aerosol eine Eigendynamik hat und im Bezug auf Zeit und Raum inhomogen ist. Daraus folgt, dass jede Messung eine Momentaufnahme darstellt. Nach Aussagen von BÖHM (1998) sind Langzeitmessungen für die Erfassung der meisten mikrobiologischen Parameter nicht möglich. In Tabelle 5.2 ist die Problematik bei der Erfassung luftgetragener Keime aufgelistet.

Die Untersuchung ein und desselben Objekts mit unterschiedlichen Sammelmethode kann sich aufgrund der unterschiedlichen Sammeleffizienz sowie bedingt durch Einflussgrößen wie Sammelstress oder kurzfristige Verschiebungen von Keimspektren als sehr schwierig gestalten (HEROLD 2003).

Zusammenhänge zwischen luftgetragenen Staubpartikeln und Mikroorganismen können nach Meinung von HOFMANN et al. (1999) an einzelnen Standorten unter der Voraussetzung einer möglichst homogenen Bioaerosol-Emission einzelner Quellen, bei gleichen Rahmenbedingungen, durchaus bestehen.

Diskussion

Eine homogene Staubpartikel- und Keimzusammensetzung der Luft war zu den ausgewählten Messzeiten zu erwarten. Die Regressionsanalyse der Staubpartikelanzahlkonzentration konnte ausschließlich für Gesamtstaub und große Schimmelpilzsporen einen schwachen Zusammenhang erkennen lassen (Bestimmtheitsmaß von $R^2=0,68$), zwischen Partikeln der Feinstaubfraktion und kleinen Schimmelpilzsporen konnte keine Korrelation festgestellt werden. Die Regressionsgleichung kann für eine Prognose der Feinstaubpartikel nur unter Vorbehalt angewendet werden (Abbildung 4.31). Zur Einordnung des Standardfehlers sind hier die ermittelten Werte ausschlaggebend. Bei einer Schwankung um drei Zehnerpotenzen sollte die Regressionsgleichung in diesem Fall nur zu einer groben Einschätzung luftgetragener Schimmelpilze herangezogen werden.

Tabelle 5.2: Übersicht über generelle Probleme bei der quantitativen Erfassung von Bioaerosolen (BÖHM 1998)

1.	Die Keimemission ist qualitativen und quantitativen Schwankungen unterworfen.
2.	Die Verteilung der Keime in der Luft ist nicht gleichmäßig (Keimwolke).
3.	Die Keime haben unterschiedliche lange Halbwertszeiten im luftgetragenen Zustand.
4.	Die Keimsammlung selbst beeinflusst die Keimverteilung in der Luft.
5.	Die Art des Sammelgerätes und die Probenahme beeinflussen das Ergebnis.
6.	Die kurze Sammeldauer ist nur bedingt repräsentativ für das aerobiologische Geschehen, beliebig viele Wiederholungen sind nicht möglich.
7.	Aus technischen und mikrobiologischen Gründen wird nur ein kleiner Bruchteil der emittierten Keime erfasst.

5.2.3 Messungen mit dem Staubfreisetzungswürfel

Mit dieser Methode wurde versucht, eine möglichst homogene Anzahl von luftgetragenen Staubpartikeln und Schimmelpilzsporen unter Laborbedingungen aus Materialproben freizusetzen. Als Untersuchungsgegenstand dienten „normale“ Heuproben, die nach einer sensorischen Prüfung als einwandfrei eingestuft werden konnten, sowie stark „kontaminierte“ Heuchargen, die durch Befeuchtung mit Wasser zu einer vermehrten Bildung von Schimmelpilzsporen gebracht wurden. Die beiden Materialproben unterschieden sich hinsichtlich ihrer Freisetzung von Gesamtstaub um den Faktor 2,4 und ihrer Freisetzung von Feinstaub um 1,2. Die stark kontaminierten Materialproben setzten nicht nur mehr Staubpartikel frei, als die Ausgangsproben, sie waren erwartungsgemäß stärker mit Pilzsporen befallen. Bei Betrachtung der Abbildungen 4.34 und 4.35 fällt auf, dass sich die beiden Größenklassen bezogen auf die kontaminierten Proben lediglich um eine Zehnerpotenz unterscheiden, die der Ausgangsproben um zwei Zehnerpotenzen. Das bedeutet, dass die Mehrheit der gesammelten Schimmelpilze von Gattungen gebildet wird, die einen Durchmesser von $< 5 \mu\text{m}$ aufweisen. Anhand dieser Größenstrukturanalyse wird deutlich, dass der größte Anteil der ermittelten Schimmelpilzsporen in der Lage ist, in die tiefen Lungenabschnitte vorzudringen.

Die statistische Beziehung zwischen Staubpartikelanzahlkonzentration und Schimmelpilzsporengehalt ergab nicht für alle Größenbereiche eindeutige Abhängigkeiten. Eine ausgeprägte positive Korrelation besteht vor allem zwischen der Gesamtstaubfraktion und den Pilzsporen desselben Größenbereichs ($R^2=0,9$). Letztere zeigt auch mit den Staubpartikeln der Größe $2-3 \mu\text{m}$ eine deutliche Abhängigkeit ($R^2=0,9$). Nach Angaben von MISSEL und HARTUNG (2005) erhält man bei Partikeln dieser Größenfraktion regelmäßig hohe Bestimmtheitsmaße. Starke positive Korrelationen weisen auch die nächst kleinere und größere Partikelfraktionen auf. Schwächer ausgeprägt ist der Zusammenhang zwischen den Pilzsporen der FSP Fraktion und den Staubpartikeln unterschiedlicher aerodynamischer Größe (siehe Tabelle 4.2). Der Standardfehler des Schätzers ist mit 10^7 bei allen Größenfraktionen sehr hoch. Somit können für diese Größenbereiche anhand der Regressionsgleichung keine Vorhersage der Konzentration luftgetragener Schimmelpilze getroffen werden.

5.3 Ausblick und Handlungsbedarf

Anhand der durchgeführten Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass eine Prognose der Schimmelpilzkonzentration in Pferdeställen auf Grundlage von Konzentrationsverlaufsmessungen luftgetragener Partikel nur eingeschränkt möglich ist. In beiden Ställen waren es ausschließlich die kleinen Staub- und Schimmelpilzfraktionen, die mit den niedrigsten Standardfehlern behaftet waren. Für eine Einschätzung dieser Größenbereiche sind die jeweiligen Regressionsmodelle anwendbar. Die Erfassung von relativ einheitlichen Partikelkonzentrationen während der Punktmessungen hat keinen maßgeblichen Einfluss auf die Schwankung um die Regressionsgerade. Zur Erstellung eines Prognosemodells sind Verlaufsmessungen der entsprechenden Größenbereiche unter Praxisbedingungen demnach ausreichend.

Die Erfassung der Partikelanzahlkonzentration im Zeitverlauf hat in diesen Untersuchungen gezeigt, dass zu Zeiten der Boxensäuberung, sowie während der Raufuttervorlage Spitzenwerte erreicht werden konnten. Obwohl die Pferde während der belastungsreichen Zeiten bei angemessenen Wetterbedingungen aus den Stallungen geführt wurden, sind Optimierungen des Stallklimas bezogen auf die Staubpartikel- und Schimmelpilzkonzentrationen möglich. Insbesondere unter Anbetracht der hohen Staubkonzentrationen in Stall 2 über den Tag verteilt, kann durch Verbesserungen der Stallluftqualität eine Reduzierung der Belastung für Mensch und Tier ermöglicht werden. Hauptziel ist somit eine Verminderung luftgetragener Partikel im Stall. Allgemein sind Vorgänge, die eine starke Staubentwicklung verursachen, auf ein Minimum zu reduzieren. Nachfolgend sind einige einfache haltungshygienische Empfehlungen formuliert:

1. Aufschütteln von Heu- und Strohpattien vor dem Einstreuen nach Möglichkeit außerhalb des Stallgebäudes;
2. Pferde während der Arbeitszeiten, sowie die darauf folgende Stunde nicht im Stall belassen;
3. Stallgasse vor dem Fegen mit Wasser befeuchten;
4. während der Arbeitsphasen: Öffnen aller Fenster und Türen;
5. Staubbindung durch Wässern von Heu;
6. nur qualitativ hochwertiges Heu und Stroh verwenden, ggf. Ersatzmöglichkeiten in Betracht ziehen (Grassilage, Heu-Cobs und alternative Einstreumaterialien);
7. keine Lagerung von Stroh und Raufutter in Tiernähe.