

2 LITERATUR

2.1 ABLUFTREINIGUNG

2.1.1 ABLUFTREINIGUNGSVERFAHREN

Die Abluftreinigungsverfahren lassen sich nach Schirz (1974) gliedern in:

- Trockenabscheidung
- chemische Umsetzung
- Oxidation
- Absorption (Nasswäsche)
- Kondensation
- Trockene Absorption
- Adsorption
- Biologische Verfahren
- Kombinationen

2.1.1.1 Trockenabscheider

Zu den Trockenabscheidern gehört die Gruppe der **Massekraftabscheider**, diese nutzen Schwerkraft, Trägheit oder Zentripetalkraft zur Trennung von Partikeln und Trägergas. Es sind Schwerkraft-, Trägheitskraft- und Fliehkraftabscheider.

Die **Filter** bilden die zweite Gruppe der Trockenabscheider. Hierbei wird das zu reinigende Gas durch poröse Schichten geleitet (Berding, 2001). Verschiedenste Stoffe z.B. Vlies, Zellstoff, Sand, Kies, Metallspäne kommen in vielfältigen Formen zum Einsatz (Schlauchfilter, Taschenfilter, Flächenfilter, Schichtfilter, Umlauffilter).

Eine Sonderform eines Filters stellt der Elektrofilter dar. Hierbei wird zwischen einer Sprühelektrode und einer Niederschlagsfläche eine Spannung angelegt. Die Partikel werden aufgeladen und auf der Niederschlagsfläche abgeschieden.

2.1.1.2 Chemische Umsetzung

Die chemische Umsetzung dient hauptsächlich zur Unterdrückung bzw. –veränderung von Gerüchen aus der Landwirtschaft. Dabei gibt es die Möglichkeit der Maskierung von Gerüchen durch Versprühen anderer Geruchsstoffe, z.B. Vanillin oder ätherischen Ölen, des Einsatzes von Chemikalien mit bakterizider Wirkung zur Unterdrückung der Geruchsentstehung und ein biochemisches Mittel bestehend aus Pilzkulturen, die eine Wirkung auf Geruchsstoffe in der Luft haben sollen (Schirz et al., 1971).

2.1.1.3 Oxidation

Eine Oxidation der Abluft kann über Temperatur- (Thermisches Verbrennen, Abfackeln) oder Druckerhöhung (Nassluftoxidation) erreicht werden (Wächter, 1973), außerdem auf chemischem Wege durch Katalysatoren (Katalytisches Verbrennen) oder durch eine Bestrahlung der Luft. Zur Bestrahlung gehören UV-Bestrahlung (Summer, 1970), Ozonisierung und Ionisation (Haertl, 1970).

2.1.1.4 Absorption (Nasswäsche)

Die Abluftreinigung erfolgt durch Übertritt luftfremder Stoffe in Wasser (physikalische Absorption) oder Chemikalien (Chemosorption) (Wächter, 1973). Außerdem kann eine biologische Umsetzung erfolgen (Biowäscher). Schirz (1974) führt als Beispiele für die Nasswäsche Sprühwäscher, Waschturm, Wirbler, Rotationswäscher, Strahlwäscher und Venturi-Wäscher auf. Bei der Chemosorption findet nach dem Übergang von Fremdstoffen ins Wasser eine chemische Reaktion statt, durch welche Schadstoffe abgebaut werden.

2.1.1.5 Kondensation

Bei der Kondensation schlagen sich Dampf-Luft-Gemische an künstlich gekühlten Flächen nieder. Diese Methode findet bei der Rückgewinnung von Lösungsmitteln Verwendung (Schirz, 1974).

2.1.1.6 Trockene Absorption

Die trockene Absorption kommt bei der Entschwefelung von Rauchgasen zum Einsatz. Trockene Chemikalien werden in den Abgasstrom eingesprüht. Eine Umsetzung findet statt ohne dass Temperatur- oder Zustandsänderungen notwendig sind (Schirz, 1974).

2.1.1.7 Adsorption

Ein Stoff wird an der Oberfläche eines anderen angelagert (adsorbiert). Aktivkohle eignet sich z.B. für die Rückgewinnung von Stoffen in Wasserdampf (Vauck und Müller, 1966). Ein weiteres Beispiel für die Adsorption sind Zeolithe. Es handelt sich um eine Gruppe von Mineralien, die hauptsächlich aus Silizium, Aluminium und Sauerstoff bestehen. Zeolithe besitzen die Fähigkeit Ionen auszutauschen und können dadurch z.B. organische Bestandteile aus Wasser herausfiltern (Anonym, 2004).

2.1.1.8 Biologische Verfahren

Die biologische Abluftreinigung basiert auf der Tätigkeit von Mikroorganismen, die in der Lage sind, organische und auch einige anorganische gasförmige Verbindungen biochemisch zu oxidieren und in nicht schädliche bzw. geruchlich nicht mehr wahrnehmbare zu überführen (Bardtke, 1990).

Vier Verfahrensvarianten sind bekannt (Sabo, 1990; Mannebeck 1994):

- Biofilter
- Biomembranverfahren
- Biotropfkörper und
- Biowäscher.

Beim **Biofilterverfahren** strömt die schadstoffhaltige Abluft durch biologisch aktives Material, wird dort sorbiert und anschließend mikrobiell umgesetzt.

Das **Biomembranverfahren** verwendet eine Siliconkautschuk-Membran, um die Schadstoffe aus der Gasphase in die Flüssigkeit zu überführen und macht sie dort den Mikroorganismen zugänglich. Hierdurch können auch schwer wasserlösliche oder leicht flüchtige Schadstoffe mit Mikroorganismen in Kontakt gebracht werden. (Sabo, 1990).

Der **Biotropfkörper** stellt nach Mannebeck (1994) eine Mischform zwischen Biofilter und Biowäscher dar. Die Mikroorganismen sind auf dem Tropfkörper als Trägermedium lokalisiert.

Beim **Biowäscher** handelt es sich um die Kombination zweier in der Luftreinigung und der Abwassertechnik bekannter Verfahren, nämlich die Absorption von Abluftinhaltsstoffen in Wäschern und den biologischen Abbau dieser Stoffe in Belebungsanlagen (Kohler, 1990).

Im Biowäscher dominieren Bakterien, die in der Waschflüssigkeit gute Lebensbedingungen finden. Im Laufe des Betriebes erfolgt eine weitgehende Anpassung der Flora an die Wachstumssubstrate. Auf den Flächen im Wäscher entwickelt sich ein Biofilm, der teilweise oder ganz (Tropfkörperwäscher) zur Abluftreinigung beiträgt (Bardtke, 1990).

2.1.1.9 Kombinationen

Die meisten der vorstehenden Abluftreinigungsverfahren können miteinander kombiniert werden. Dadurch sind Staub-, Gas- und Geruchsabscheidung zu erreichen.

2.1.2 BEURTEILUNG DES EFFEKTES VON ABLUFTREINIGUNGSANLAGEN

Mannebeck (1994), Lais (1996) und Siemers (1996) nutzen die Begriffe Wirkungsgrad und Abscheideleistung in Bezug auf Staub, Geruch und Ammonik synonym.

Siemers (1996) definiert den Wirkungsgrad (η) von Abluftreinigungsanlagen als:

$$\eta = \frac{c_{roh} - c_{rein}}{c_{roh}}$$

Gleichung 1: Wirkungsgrad von Abluftreinigungsanlagen

η : Wirkungsgrad

c_{roh} : Konzentration in der Rohluft

c_{rein} : Konzentration in der Reinluft

Seedorf und Hartung (1999) rechnen nach der gleichen Formel, nutzen jedoch den Begriff „Rückhalteeffizienz“. Zusätzlich versehen sie die Rückhalteeffizienz mit einem negativen Vorzeichen, wenn es durch die Abluftreinigungsanlage zu einer Reduktion kommt und ein positives, wenn durch den Betrieb der Abluftreinigungsanlage vermehrt Stoffe emittiert werden.

Ursprünglich stammt der Begriff Wirkungsgrad aus der Thermodynamik und ist das entscheidende Kriterium für die Güte von Wärmekraftmaschinen (Schreiner, 1977).

Nach DIN ist er als das in Prozent ausgedrückte Verhältnis von Wärmeleistung zur Wärmebelastung definiert und nimmt einen Wert zwischen 0 und 100% an (Freeman, 2003).

In der Literatur finden sich verschiedene prozentuale Angaben zum Effekt unterschiedlicher biologischer Abluftreinigungsanlagen, häufig ohne Angabe der Berechnungsart und der Stichprobenmenge. Tabelle 1 zeigt eine Übersicht von in der Literatur gefundenen Daten. Zumeist geben Werte unter 100% eine Verminderung und Werte über 100% eine Vermehrung der Ausgangskonzentrationen an. Im Gegensatz zu Seedorf und Hartung (1999) wählten einige Autoren ein negatives Vorzeichen zur Angabe einer Konzentrationserhöhung und ein positives Vorzeichen bei einer Verminderung der Konzentrationen.

Alle untersuchten Anlagen reduzierten Staub (22 bis 96%) und Geruch (5,5 bis >99%). Bei den Parametern Mikroorganismen (-889 bis 99,9%), Endotoxinen (0,1 bis 98%), Pilzen (-757 bis 50%) und Ammoniak (-43 bis 80%) kam es sowohl zu Reduktionen, als auch zu Vermehrungen der Ausgangskonzentrationen. Die zusätzlichen Kosten betragen bis zu 25 DM pro Mastschwein bzw. 1,19 DM pro Großvieheinheit und Tag.

Tabelle 1: Abscheideleistungen verschiedener biologischer Abluftreinigungsanlagen

Anlagentyp	Einsatzort	Abscheideleistung				Endotoxine	Pilze	Ammoniak	Geruch	Kosten	Literatur
		Staub	Mikroorganismen								
Biofilter	Schweinehaltung		12,7 bis 99,9%			-409% (Erhöhung)	-43,1 bis 35,5%	> 70% (max. 83%)		Martens et al., 2001	
Nassabscheider	Schweinehaltung	50-70%					50-70%			van den Weghe, 2000	
Biofilter		80%					60-75%				
Biowäscher-Biofilter-Kombination	Kompostieranlage		keine Änderung (thermophile); Zunahme von gramnegativen			20-50% Rückhaltung (thermophile)				Herold et al., 2001	
Biofilter A	Schweinehaltung	79,1% (Partikel)	10,7% (Mesophile)	74,1%		-71,4% (thermo-tolerante)				Seedorf, Hartung, 1999	
Biofilter B		95,8%	38,9 % (mesophile Actinomycetes)	62,0%		+/- 0% (mesophile)					
Biowäscher		22,0%	70,6% (Mesophile)								
			-889,0% (mesophile Actinomycetes)								
			91,4%	-280,5%							
			52,7% (mesophile Actinomycetes)								
Biofilter	Schweinehaltung	66-96% (Partikel und Gesamtkoloniezahl)		meist 82-88%, Spannweite 0,1-98%		n.n. bis 757%				Seedorf, Hartung, 2002	
Biofilter	Hähnchenmast	66-96 % (Partikel und Gesamtkoloniezahl)		n.n. bis 119%		n.n. bis 224%					

Literatur

Biowäscher	Schweinehaltung	75-90% (Partikel und Gesamtkoloniezahl)	n.n. bis 12171%	n.n. bis 141%					
Nassabscheider-Biofilter-Kombination Biotropkörper	Hiähnchenmast				im Mittel 44%	bei 716 GE/m ³ , ca. 60%	1,19 DM/(GV*d), Energiekosten	Kiuntke, Roß	
	Schweine- mast				im Mittel 57,7%	bei 548 GE/m ³ , 58%	0,09 DM/(GV*d) Energiekosten		
	Schweine- mast				im Mittel 53,4%	bei 611 GE/m ³ , 34,6%	(Pilotprojekt)		
2-stufiger Abluftwäscher	Schweine- mast								
Biofilter	Schweine- haltung					bis 100000 GE/m ³ >99%; bis 10000 GE/m ³ , ca. 95%; bis 1000 GE/m ³ , ca. 80%; <500 GE/m ³ , 50-80%	10-25 DM pro Mastschwein	Holste, Mannebeck, 1997	
Biowäscher (3 Typen, I-III)					I. 26% II. 36% III. 22%	I. 61% II. 89% III. 85%	I. 17,73 DM je Mast- schwein II. 25,57 DM je Mast- schwein III. 13,59 DM je Mast- schwein	Lais, Büscher, Jungbluth, 1996	

Literatur

Nassabscheider-Biofilter-Kombination	Schweinehaltung	> 80%					34% (80-20%)	310 GE/m ³ , 5,5%; >400 GE/m ³ , >40%	7,47 – 8,74 DM pro Mastschwein	Siemers, 1996
Biofilter	Schweinehaltung						zwischen 10 und 70%	100 GE/m ³ , 80%	9,24 – 17,35 DM pro Mastschwein	Mannebeck, 1994

GV = Großvieheinheiten

GE = Geruchseinheiten

DM = Deutsche Mark (1 DM entspricht ca. 0,511 Euro)

n.n.: nicht nachweisbar

negatives Vorzeichen: Erhöhung der Ausgangskonzentration

2.2 EMISSIONEN AUS DER TIERHALTUNG

2.2.1 BEGRIFFSBESTIMMUNGEN

Emissionen im Sinne des Bundesimmissionsschutzgesetz (§3 Abs. 3) sind die von einer Anlage ausgehenden Luftverunreinigungen, Geräusche, Erschütterungen, Licht, Wärme, Strahlen und ähnlichen Erscheinungen. **Luftverunreinigungen** (BImSchG §3 Abs. 4) sind Veränderungen der natürlichen Zusammensetzung der Luft, insbesondere durch Rauch, Ruß, Staub, Gase, Aerosole, Dämpfe oder Geruchsstoffe.

Stäube sind disperse Verteilungen fester Stoffe in Gasen, insbesondere Luft, entstanden durch mechanische Prozesse oder durch Aufwirbelung (DFG, 2003).

Aerosole sind nahezu stabile Suspensionen fester oder flüssiger Stoffe in einem Gas, meist in Luft (Angerstein, 1981).

Da die Emission aus Tierstallungen über die Abluft erfolgt, ist es zwingend notwendig, die Stallluft und die in ihr enthaltenen Stoffe zu betrachten (Müller, 2002).

Die **Stallluft** stellt ein Aerosol dar, dessen korpuskulärer Anteil aus organischen und anorganischen Stäuben mit meist an ihnen haftenden Keimen (Bakterien, Pilze, Viren), Bakterienbruchstückchen (Endotoxinen) bzw. Stoffwechselprodukten von Bakterien und Pilzen besteht (Müller und Schlenker, 2002).

Alle im Luftraum befindlichen Ansammlungen von Partikeln, denen Pilze (Sporen, Konidien, Hyphenbruchstücke), Bakterien, Viren und oder Pollen sowie deren Zellwandbestandteile und Stoffwechselprodukte (z.B. Endotoxine, Mykotoxine) anhaften bzw. diese beinhalten oder bilden werden unter dem Begriff **Bioaerosol** zusammengefasst (VDI 4252, Blatt 2, Entwurf 2003). Bioaerosole können beim Menschen und aufgestellten Tieren teilweise gesundheitliche Beeinträchtigungen unter anderem auf Grund ihrer infektiösen, allergieauslösenden und entzündungsauslösenden Potenz, hervorrufen (Zucker et al., 2001).

Im Folgenden soll das aus Stallanlagen emittierte Bioaerosol genauer betrachtet werden.

2.2.2 STAUB

Die Quellen der Stäube in der Stallluft sind Einstreu, Tieroberflächen, Futtermittel, Kot, Abrieb von Baumaterialien und die Außenluft (primäre Quellen; Herdlitschka, 1980). Einen gewissen Anteil am luftgetragenen Stallstaub bilden bereits abgesetzte Staubpartikel die durch Luftbewegung erneut in den luftgetragenen Zustand überführt werden, sogenanntes Reentrainment (sekundäre Quelle; Müller, 1987).

Die Schweb- und Sedimentationsstaubkonzentrationen in Ställen werden durch eine Reihe von Haltungs- und Fütterungsfaktoren sowie durch die Tiere selbst beeinflusst:

- Bewegungsaktivität der Tiere,
- Alter der Tiere bzw. Haltungsdauer,
- Fütterungssystem (Flüssig- oder Trockenfütterung),
- Konsistenz der Futtermittel (mehlförmig, breiartig),
- Vorhandensein und Art der Einstreu,
- Exkrementenabsatz und Entmistungssystem,
- Temperatur und Luftfeuchte,
- Luftbewegung und Luftrate,
- Haltungssystem und Management,
- Reinigung und Desinfektion (Hoy, 2002).

Die Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe (2003) teilt luftgetragene Partikel nach deren Einatembarkeit ein und unterscheidet zwischen einatembarer (E) und alveolengängiger (A) Fraktion. Bis 1996 entsprachen diese Fraktionen den Definitionen für „Gesamtstaub“ (G) und „Feinstaub“ (F). Die Abscheidekurven vieler gängiger Messgeräte z.B. des Personengetragenen Gefahrstoff-Probenahmesystems (s. 3.2.1.3) (Firma Ströhlein Instruments, Deutschland) sind auf diese Fraktionen geicht.

In verschiedenen Stallanlagen mit unterschiedlichen Haltungsformen wurden die in Tabelle 2 aufgeführten Staubkonzentration in der Luft ermittelt.

Tabelle 2: Einatembarer Stallstaub in verschiedenen Haltungsformen, ergänzt (*) nach Zucker, 2004

Tiere/Haltungsform	Konzentration mg/m³Luft	Literatur
Schweinehaltung, allgemein	2,19	Takai et al., 1998
Sauen auf Einstreu	1,75	Seedorf, 1997
Sauen ohne Einstreu	1,24	Seedorf, 1997
Ferkel auf Tiefstreu	2,14	Winter, 1994
Ferkel in zweietagigen Gruppenaufzuchtkäfigen	1,87	Winter, 1994
Läufer ohne Einstreu	3,20	Seedorf, 1997
Mastschweine ohne Einstreu	2,60	Seedorf, 1997
Geflügel allgemein	0,45	Takai et al., 1998
Broiler auf Einstreu	5,17	Seedorf, 1997
Rinder, allgemein	0,38	Takai et al., 1998
Schweine	3,11-11,18	Crook et al., 1991*
Legehennen, Käfighaltung	0,36-1,67	Zucker und Müller 2000a*
Enten	1,9	Seedorf et al., 1998*

2.2.3 BAKTERIEN UND ENDOTOXINE

Die in der Stallluft vorkommenden Keime sind zu einem hohen Anteil an Stäube gebunden und verhalten sich aerodynamisch wie Partikel $>4 \mu\text{m}$ (Müller et al., 1977).

Die Quelle für die Mikroorganismen der Stallluft bilden hauptsächlich die Tiere. Von den Tieroberflächen werden überwiegend Staphylokokken und Streptokokken abgegeben. Über Futter und verkotete Einstreu gelangen hauptsächlich Sporenbildner und coliforme Keime in die Stallluft (Müller, 2002).

Die beiden folgenden Tabellen geben Luftkeimgehalte an. Tabelle 3 zeigt allgemeine Werte, Tabelle 4 gibt speziell die Keimgehalte in Geflügelstallungen an und führt zusätzlich die Sammelmethode auf.

Tabelle 3: Luftkeimgehalte (aerobe Bakterien) in Nutztierstallungen, Nebenbetrieben und im menschlichen Wohnbereich; nach Matthes, 1979 und Müller (*), 2002

Tierart/Haltungsform	Keimgehalt/l Luft	Literatur
Rind	172-562	Hurtienne, 1967
	35-85	Marschang et al., 1971
	88-159	Gebhardt, 1973
	31	Mehlhorn, 1974
	3-120	Schönherr, 1959*
	45	Beer et al., 1973*
Kalb	75-85	Marschang et al., 1971*
Schwein	567-6231	Hurtienne, 1967
	1182-11400	Hilliger, 1969
	741	Fiser, 1970
	125-1002	Gebhardt, 1973
	829-2254	Gebhardt, 1973
	4-142	Mehlhorn, 1974
	300-500	Gärttner, 1975
	600-800	Gärttner, 1975
Schwein – Abferkelstall	340-1400	Gärttner, 1975*
Schwein – Maststall	238-607	Gärttner, 1975*
Legehuhn - Bodenhaltung	16730-48461	Hurtienne, 1967
	2200-16000	Hilliger, 1969
	50228-160956	Kösters u. Müller, 1970
	185-3595	Gebhardt, 1973
	9368-22456	Gebhardt, 1973
	1920	Sarikas, 1976
Geflügel – Bodenhaltung	850-2680	Gärttner, 1975*
Legehuhn - Käfighaltung	680-5860	Kösters u. Müller, 1970
	342-2003	Kösters u. Müller, 1970
	90-366	Gebhardt, 1973
	50-200	Gärttner, 1975
	200-300	Gärttner, 1975
Mastküken – Bodenhaltung	1500-3000	Gärttner, 1975
	5000-8000	Gärttner, 1975
Geflügel-Schlachtereien	2-250	Kotula u. Kinner, 1964
	0-140	Devos et al., 1968
menschlicher Wohnbereich	max. 1	Kösters u. Müller, 1970
Freiluft (Kahler Asten)	0,01-0,1	Rüden et al., 1978

Tabelle 4: Literaturangaben zu Konzentrationen luftgetragener Mikroorganismen in verschiedenen Geflügelställen, nach Albrecht et al. 2003 und Saleh et al. 2003*

Tiere/Haltungsform	Sammelmethode/ Nährmedien	Konzentration KE/m³Luft	Literatur
Legehennen, 1 Woche Mast	k.A.	10 ⁵	Dutkiewicz, 1978
Legehennen, 10 Wochen Mast	k.A.	10 ⁶	Dutkiewicz, 1978
Geflügel	k.A.	10 ⁴ bis 10 ⁵	Nowak, 1998
Enten, Stroheinstreu	Impingement (AGI-30), Blutagar	10 ⁶	Seedorf et al., 1998
Legehennen, Batterie	Impaktion (Andersen-Sammler), Hammelblutagar (5%)	10 ³ bis 10 ⁴	Zucker und Müller, 2000
Legehennen, Käfig	Impaktion (Andersen-Sammler), Pferdeblut (5%)	10 ⁵	Clark et al., 1983
Geflügel, Voliere	Filtration, Blutagar	1,49 x 10 ⁶	Saleh et al., 2003*
Geflügel, ausgestalteter Käfig	Filtration, Blutagar	2,4 x 10 ⁵	Saleh et al., 2003*
Geflügel, Batteriekäfig	Filtration, Blutagar	3,0 x 10 ⁵	Saleh et al., 2003*
Geflügel, Kaltscharr-Raum	Filtration, Blutagar	7,0 x 10 ⁴	Saleh et al., 2003*

k.A.= keine Angabe

2.2.3.1 Gramnegative Keime

Gramnegative Bakterien kommen in großer Zahl im Boden, auf Pflanzen, im Wasser und bei Mensch und Tier auf der Körperoberfläche, im Bereich der äußeren Schleimhäute des Respirations- und Urogenitaltraktes sowie auf der Darmschleimhaut vor (Stark, 2001).

Unter humanmedizinisch relevanten gramnegativen Bakterien führt Burkhardt (1992) die Familien *Pseudomonadaceae*, *Rhizobiaceae*, *Legionellaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Vibrionaceae*, *Pasteurellaceae* und *Bacteroidaceae* auf.

Im Wasser finden sich häufig Coliforme, Pseudomonaden, Flavobakterien, Aeromonaden und Legionellen (anonym, 2003a).

Eine Beschreibung von natürlichem Standort, sowie medizinischer und ökologischer Bedeutung von häufig aus der Luft von Tierställen isolierten gramnegativen Bakterien findet sich bei Zucker (2004). Die Konzentrationen an luftgetragenen *Pseudomonadaceae* korrelierten gut mit der relativen Luftfeuchtigkeit (Zucker und Müller, 2000b).

Verschiedene Autoren führten Untersuchungen von Konzentration und Spezieszusammensetzung der gramnegativen Bakterienflora aus Substratproben und aus der Luft durch. Die Ergebnisse dieser Studien sind in Tabelle 5 dargestellt (Stark, 2001).

Tabelle 5: Gramnegative Keimspezies und Keimkonzentrationen an verschiedenen Untersuchungsorten (ergänzt*, nach Stark, 2001)

Untersuchungsort (Sammel-methode)	Keimspezies	Keim-konzentration	Anteil an Gesamt-keimzahl	Quelle
Hausmüllabholung und Verbrennung (Luft)	<i>Pseudomonas</i> ssp. (<i>Ps. fluoreszens</i> , <i>Ps. putida</i>) 59,3% <i>Klebsiella/Enterobacter</i> ssp. (<i>Ent. cloacae</i> , <i>Ent. agglomerans</i>) 21,4% <i>Serratia</i> ssp. (<i>Serr. liquefaciens</i>) 10,5% <i>E. coli</i> 0,3%, <i>Acinetobacter</i> ssp. <i>Citrobacter freundii</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i>	29000 KE/m ³		Crook et al., 1987
Baumwollmühle (Luft)	<i>Enterobacter</i> (<i>Ent. agglomerans</i>), <i>Pseudomonas</i> ssp., <i>Acinetobacter</i> ssp., <i>Klebsiella</i> ssp., <i>Chromobacterium</i>			Gokani et al., 1987
Schweinestall (Andersen-Sammler, Luft)	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> , <i>Enterobacter agglomerans</i> , <i>Moraxella</i> ssp., <i>Pseudomonas</i> ssp. (u.a. <i>Ps. fluoreszens</i> und <i>Ps. putida</i>), <i>Pasteurella aerogenes</i> , <i>Serratia marcescens</i>	343 KE/m ³	28-53%	Cormier et al., 1990
Haus- und Nassmüll	<i>Enterobacter</i> ssp., <i>Klebsiella</i> ssp., <i>Proteus</i> ssp., <i>Acinetobacter</i> ssp., <i>Serratia</i> ssp., <i>Citrobacter</i> ssp., <i>E. Coli</i> ssp.			Jager et al., 1996
Grossbäckerei (Luft)	<i>Erwinia herbicola</i> , <i>Acinetobacter iwoffii</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i>			Domanska, Stroszejn-Mrowca, 1994

Literatur

Kartoffelverarbeitung	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> , <i>Pseudomonas</i> ssp.		< 5%	Dutkiewicz, 1994
Schweinestall (Oberflächenstaub)	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> , <i>Enterobacter agglomerans</i> , <i>Pasteurella</i> ssp., <i>Vibrio</i> spezie		2,4%	Martin et al., 1996
Rinder- und Kälberställe (AGI-30, Luft)			0,2 bis 6,5%	Zucker und Müller, 1998
Luftproben aus Tierställen, Substratproben aus Futtermitteln, Einstreu, Trinkwasser, Faeces und Oberflächenstaub	<i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Pseudomonadaceae</i> , <i>Neisseriaceae</i> ; Geflügel: <i>Enterobacteriaceae</i> (<i>E. Coli</i> , <i>Enterobacter agglomerans</i>); Milchkühe: <i>Neisseriaceae</i> (<i>Acinetobacter iwoffii</i>), Kälber: <i>Pseudomonadaceae</i> Faeces: <i>E. Coli</i> , Futter und Einstreu: <i>Enterobacter agglomerans</i> , Trinkwasser: <i>Pseudomonadaceae</i> , Oberflächenstaub: <i>E. Coli</i> , <i>Enterobacter agglomerans</i> , <i>Pseudomonadaceae</i> , <i>Proteus</i> ssp.		0,02% (Schweinestall) bis 5,16% (Kälberstall)	Zucker und Müller, 2000b
Geflügelstall (Andersen-Sammler)		0,9 - 26,9 KE/m ³	0,04%	Zucker und Müller, 2000a*

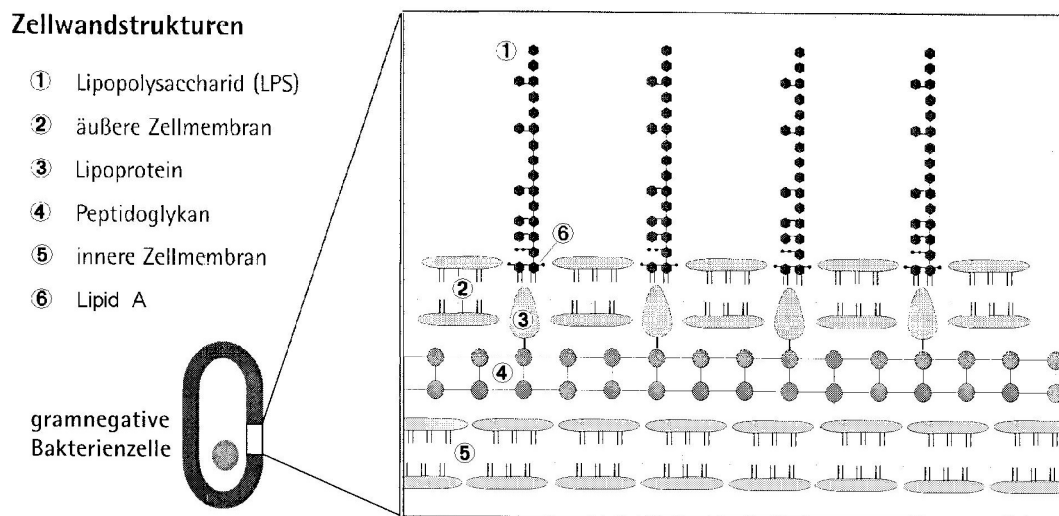
2.2.3.2 Endotoxine

Definition und Struktur

Der Begriff Endotoxin geht auf Richard Pfeiffer (1892) zurück. Dieser injizierte abgetötete Choleraerkrankungsbakterien in Meerschweinchen und fand heraus, dass ein großer Teil der Meerschweinchen starben, obwohl die Bakterien ihre infektiöse Wirkung verloren hatten. Er postulierte, dass es ein Gift (Toxin) geben müsse, welches er in (endo) den Bakterien vermutete. Daraufhin nannte er den gefundenen Stoff Endotoxin.

Später fand man heraus, dass Endotoxine ein integraler Bestandteil der Zellwand von gramnegativen Bakterien sind (Rietschel et al., 1993). Biochemisch handelt es sich um Lipopolysaccharide (LPS), bestehend aus speziesspezifisch unterschiedlichen Polysaccharidketten und Lipid A, das kaum speziesspezifische Unterschiede zeigt (Abb. 1). Lipid A bedingt die toxischen Eigenschaften der Endotoxine.

Abbildung 1: Schematische Darstellung der Zellwandstrukturen einer gramnegativen Bakterienzelle, nach Krüger et al., 2000



Ein einzelnes Bakterium eines Wildtypen *Enterobacteriaceae* enthält eine durchschnittliche Menge von 30-40 fg Endotoxin (Hurley, 1995).

Luftgetragene Endotoxine

Herkunft

Luftgetragene Endotoxine sind ubiquitär verbreitet (Olenchock, 2002). Besonders hohe Konzentrationen finden sich in Landwirtschaft, Abfallentsorgungsindustrie und Baumwollindustrie (Stark, 2001). Auch aus kontaminierten Kühlschmierstoffen können Endotoxine in die Luft übergehen (Boxhammer, 2001). In der Luft von Nutztierhaltungen können erhebliche Mengen an Endotoxinen vorhanden sein. Ihre Konzentration ist abhängig von Tierart, Tieralter, Aufstallungssystem, Fütterung und Stallmanagement. Die höchsten tagesdurchschnittlichen Konzentrationen werden in Masthähnchenställen beobachtet, gefolgt von Sauen, Absetzerferkeln, Legehennen, Mastrindern, Kälbern, Milchkühen und Mastschweinen (Hartung und Seedorf, 1999).

Zucker und Müller (2000a) geben als Quellen für luftgetragenes Endotoxin in Geflügelställen Kot, Futter und Oberflächenstaub an. Wobei durchschnittlich im Kot mit 4848,3 EU/mg im Gegensatz zu Futter mit 69,1 EU/mg und Oberflächenstaub mit 818,2 EU/mg die höchsten Endotoxinkonzentrationen gefunden wurden.

Es existieren zahlreiche Arbeiten über den Endotoxingehalt der Luft an arbeitsmedizinisch relevanten Standorten (Tab. 6). Die veröffentlichten Messwerte sind nur bedingt vergleichbar, da sie an unterschiedlichen Orten und mittels verschiedener Techniken bzw. Materialien ermittelt wurden. Weiterhin sind für die Angaben der Messwerte verschiedene Einheiten benutzt worden. Für die Angabe ng/m^3 gilt die Prämisse, dass 10 Endotoxin Units der Gewichtseinheit 1 ng entsprechen (Stark, 2001).

Allen Messergebnissen war gemeinsam, dass sie den von Douwes und Heederik (1997) vorgeschlagenen Grenzwert von 50 EU/m^3 größtenteils erreichten bzw. übertrafen (Stark, 2001).

Tabelle 6: Messwerte luftgetragener Endotoxine an verschiedenen Standorten (Bereichsgrenzen oder Mittelwerte) ergänzt (*) nach Stark 2001

Standort	Gemessene Endotoxin-Konzentration	Probennahme mittels	Quelle
Geflügelstall	11,39 µg/g luftgetragenen Staub	Filtration	Thedell et al., 1980
Schweineestall	47,74 µg/g luftgetragenen Staub	Filtration	
Baumwollindustrie versch. Standorte	1 - 300 ng/m ³	Filtration	Rylander und Vesterlund, 1982
Schweineestall	300 - 1200 ng/m ³	100	
Geflügelschlachtung	- 800 ng/m ³	Filtration	
Büro (Luftbefeuchter)	100 - 1200 ng/m ³	Filtration	
Baumwollmühle	80 - 12060 ng/m ³	Filtration	Haglund und Rylander, 1984
Geflügelställe	130 - 1090 ng/m ³	Filtration	Thelin et al., 1984
Baumwollmühle	70 - 5600 ng/m ³	Filtration	Rylander et al., 1987
Baumwollmühle	190 - 1780 ng/m ³	Filtration	Gokani et al., 1987
Milchkuh-Stall	10 - 50000 ng/m ³	Filtration	Rask-Andersen et al., 1989
Müllsortierung	480 ng/m ³	Filtration	Malmros et al., 1991
Schweineeställe	31 - 343 ng/m ³	Filtration	Heederik et al., 1991
Futtermühle	0,2 - 470 ng/m ³	Filtration	Smid et al., 1992
Kompostwerk	636 - 16300 EU/m ³	Filtration	Weber et al., 1993
"Sick Buildings"	254 ng/m ³	Filtration	Teeuw et al., 1994
Schweineeställe	438 - 41307 EU/m ³	Filtration	Zejsa et al., 1994
Großbäckerei	40 - 50 ng/m ³	Filtration	Domanska und Stroszejn-Mrowca, 1994
Kartoffelverarbeitung	45,9 - 1893,9 µg/m ³	Filtration	Dutkiewicz, 1994
Schweineestall	900 - 1400 ng/m ³	Filtration	Zhiping et al., 1996
Schaukeln v. Holzsplittern	13 - 91 ng/m ³	Filtration	Wintermeyer et al., 1997
Schweineeställe	800 - 1400 ng/m ³	Filtration	Wang et al., 1997
Schweinebauern	1880 - 31250 ng/m ³	Filtration	Mackiewicz, 1998
Baumwollarbeiter	1808 - 3193 EU/m ³	Filtration	Keman et al., 1998
Biomüll-Abholung Hausmüll-Abholung	0,1 - 1,2 ng/m ³ 0,3 - 1,2 ng/m ³	Filtration Filtration	Thorn et al., 1998
Kälberställe Milchkuhstall	44 - 262 EU/m ³ 36 - 761 EU/m ³	Impingement	
Hühnerstall	1861 EU/m ³	Filtration	Nieuwenhuijsen et al., 1999
Gemüseernte	642 EU/m ³	Filtration	
Kuhstall	29 EU/m ³	Filtration	
Kuhstall während Fütterung	120 EU/m ³	Filtration	
Entenmaststall	7132,4 ng/m ³	Filtration und Impingement	Seedorf, J.; Schröder, M.; Hartung J., 1998*
Geflügelstall während des Entmistens	8355,5 EU/m ³	Filtration	Zucker B.A., Müller W., 2000a*

Literatur

Broilermast	498 - 7120 EU/m ³	Filtration	Stark, 2001*
Kläranlage	1,03 EU/m ³	Filtration	
Textilwerk	2882 - 8172 EU/m ³	Filtration	
Mülldeponie-Bohrschacht	1,255 EU/m ³	Filtration	
Mülldeponie-Entlüftungsrohr	< 0,05 EU/m ³	Filtration	
Legebatterie	111 - 435 EU/m ³	Filtration	
Abferkelstall	585 - 3233 EU/m ³	Filtration	
Ferkel-Aufzuchtstall	1250 - 9139 EU/m ³	Filtration	
Müllverbrennung	23 - 397 EU/m ³	Filtration	
Kompostwerk A, Rotte	32 - 81 EU/m ³	Filtration	
Düngerherstellung	21,7 - 56,5 EU/m ³	Filtration	
Futtermühle	3,7 - 22,2 EU/m ³	Filtration	
Kompostwerk B, Anlieferung	903 - 1389 EU/m ³	Filtration	

Wirkungen

Rylander (1986) sieht Anhaltspunkte, dass Endotoxine bei den Effekten, die nach dem Einatmen von organischen Stäuben auftreten, eine Rolle spielen. Organische Stäube können beim Einatmen Entzündungsreaktionen, Asthma oder ODTS (organic dust toxic syndrom) auslösen. Bei den Entzündungsreaktionen wird zwischen akuten und chronischen unterschieden. Es treten akute Entzündungen der oberen Atemwege mit Husten und vermehrter Schleimproduktion auf. Bei andauernder Belastung kann es zur chronischen obstruktiven Bronchitis (COB bzw. COPD) und sogar zur Lungenfibrose kommen.

Bei Schweinestallarbeitern fanden Crook et al. (1991) Irritationen von Nasen- und Augenschleimhäuten, Husten, Brustenge, Atembeschwerden und Lungenfunktionsstörungen. Ferner können sich bestehende Atemwegserkrankungen verschlimmern (Bergmann und Müsken, 1994). Auch an der Entstehung des Sick Building Syndroms sollen luftgetragene Endotoxine beteiligt sein (Fennrich et al., 2000).

Andererseits wird angenommen, dass der Kontakt mit Endotoxinen während der Kindheit möglicherweise eine bessere Toleranz des Immunsystems auf Allergene bewirkt und infolge dessen allergischen Reaktionen seltener auftreten (Braun-Fahrländer et al., 2002). So litten 8,8 % der nicht bäuerlichen Kinder an Heuschnupfen gegenüber nur 2,9 % der Bauernkinder (Mutius et al., 2001).

2.2.4 SCHIMMELPILZE

Unter dem Begriff Schimmelpilze fasst man im Sprachgebrauch Fadenpilze aus mehreren taxonomischen Gruppen zusammen, namentlich *Zygomycetes*, *Ascomycetes* und *Fungi imperfecti*. Diese stellen damit nur einen Teil der taxonomischen Untergruppen im Reich der Pilze dar (VDI 4252, Blatt 2 Entwurf, 2003).

Schimmelpilze, vor allem Arten der Gattung *Aspergillus* und *Penicillium* sind die am häufigsten in der Natur verbreiteten Pilze. Innerhalb der Gattung *Aspergillus* sind *A. fumigatus* und *A. niger* die wichtigsten, medizinisch bedeutsamen Erreger (Alber, 1995).

Toxische sekundäre Stoffwechselmetaboliten von (mycelbildenden) Pilzen sind **Mykotoxine**. Zu diesen gehören Alkaloide, Cyclopeptide und Cumarine. Zu den wichtigsten Mykotoxinbildnern gehören *Aspergillus*-Spezies, *Penicillium*-Spezies, *Fusarium*-Spezies, *Stachybotrys chartarum* und *Claviceps purpurea*. Bei den Wirkungen von Mykotoxinen lassen sich akute, chronische, mutagene und kanzerogene unterscheiden (Samson, 1992). Zahlreiche Untersuchungen (Schiefer, 1990; Nikulin et al., 1994) sprechen dafür, dass es nach Inhalation, Ingestion oder Hautkontakt von mykotoxinhaltigen Hyphen oder Sporen, abhängig von Dosis und Dauer der Aufnahme zu gesundheitsschädlichen Effekten kommen kann.

Umfangreiche Angaben zum Vorkommen von Schimmelpilzen in der Stallluft finden sich bei Schütze (2001; Tab. 7).

Tabelle 7: Schimmelpilzvorkommen in der Stallluft [KE/m³] ergänzt (*) nach Schütze, 2001

Spezies	Vorkommen	Konzentration		Literatur
		Sommer	Winter	
<i>Penicillium</i>	Puten	29,0	3577,0	Debey et al., 1995
<i>Scopulariopsis</i>	Puten	60,0	3942,0	
<i>Cladosporium</i>	Puten	2696,0	121,0	
<i>Fusarium</i>	Puten	202,0	121,0	
<i>Aspergillus</i>	Puten	84,4	1193,0	
<i>Alternaria</i>	Puten	66,7	3,3	
<i>Mucor</i>	Puten	2,2	44,4	
GSP	Puten	3443,0	9354,0	
GSP	Broilermast	176500	229200	Petkow und Zuzumanski, 1975
<i>Cladosporium, Penicillium</i>	Geflügel, Käfig, erwachsen	8200		Gemeinhardt u. Wallenstein, 1985
<i>Cladosporium, Rhodotorula</i>	Geflügel, Käfig, erwachsen	10650		
<i>Cladosporium, Penicillium</i>	Geflügel, Käfig, 50 Wochen	4560		
<i>Cladosporium, Penicillium, Trichosporon</i>	Geflügel, Boden, erwachsen	19150		
<i>Cladosporium, Scopulariopsis, Penicillium</i>	Geflügel, Boden, 50 Wochen	14600		
<i>Penicillium, vereinzelt Aspergillus flavus</i>	Geflügel, Boden, 52 Wochen	4827		
<i>Penicillium, Aspergillus, Trichosporon (vereinzelt Aspergillus flavus)</i>	Boden, Kükenaufzucht	145708		
<i>Penicillium, Aspergillus, vereinzelt Aspergillus flavus</i>	Boden, Kükenaufzucht	84650		
GSP	Geflügel, Käfighaltung	18500		Petkow und Zuzumanski, 1975
GSP	Geflügel, Tiefstreuhaltung	50000		
GSP	Geflügelmast	5370000		Madelin und Wathes, 1989
mesophile Pilze	Entenmast	7915		Seedorf et al., 1998*
thermotolerante Pilze	Entenmast	1198		
GSP	12000 Legehennen	742,65		Schütze, 2001*

GSP: Gesamtschimmelpilzkoloniezahl

n.n.: nicht nachweisbar

Tabelle 8 gibt potentielle Quellen für luftgetragene Schimmelpilze an.

Tabelle 8: Quellen verschiedener Schimmelpilzarten, ergänzt (*) nach Schütze, 2001

Quelle	Spezies	Literatur
Wasser	<i>Cephalosporium, Cladosporium, Penicillium</i> , u.a.	Reiß, 1986
Gülle von Puten und Hühnern	zahlreiche Arten	Debey et al., 1995
Heu mit geringem Staubgehalt	<i>Aspergillus</i> (13000 KE/g) <i>Mucor</i> (2000 KE/g)	Kamphues et al., 1989
staubreiches Heu	<i>Aspergillus</i> ($2,0 \times 10^6$ KE/g) <i>Mucor</i> ($1,1 \times 10^6$ KE/g)	
Getreide	<i>Penicillium, Cladosporium, Fusarium, Mucor</i>	Beuchat, 1992; Debey et al., 1995; Floerke, 1987; Hanhela et al., 1995; Kotimaa et al., 1991
Stroh	<i>Fusarium</i>	Floerke, 1987; Hanhela et al., 1995
Federn	<i>Penicillium</i>	Dutkiewicz, 1980
Hühnerfedern	<i>Aspergillus, Chrysosporium, Scopulariopsis</i>	Mohawed et al., 1995
Schlupfabteilung von Großbrutanlage	<i>Aspergillus, Penicillium, Mucoraceae</i>	Devos et al., 1969
Nesteinstreu, Boden und Futter	<i>Aspergillus, Penicillium</i>	Madelin und Wathes, 1989
Hühner	<i>Penicillium, Aspergillus, Cladosporium, Scopulariopsis</i> ; seltener: <i>Wallemia, Alternaria</i>	Schütze, 2001*

Im Hinblick auf das Artenspektrum von Pilzen auf Luftfiltern von raumluftechnischen Anlagen in öffentlichen Gebäuden gibt Möritz (1996) an, dass nach 3-wöchiger Durchströmung der Luftfilter bei 100% relativer Feuchte *Penicillium* species (bis zu 90%) dominieren, während auf trockenen Filtern *Cladosporium* species am häufigsten vorkommen.

2.3 UNTERSUCHUNG VON BIOAEROSOLEN

Die Untersuchung eines Bioaerosols umfasst die Abscheidung von luftgetragenen Partikeln aus der Luft, die Bestimmung ihrer Zahl pro Volumeneinheit der Luft und die nähere Differenzierung und Quantifizierung der ihnen anhaftenden Keime und deren Stoffwechselprodukten (Jarnych, 1976).

2.3.1 ABSCHIEDUNG LUFTGETRAGENER PARTIKEL

Jarnych (1976) unterscheidet bei den Methoden zur Abscheidung von luftgetragenen Partikeln Absetzmethoden, Filtrationsmethoden, Sorptionsmethoden und kombinierte Methoden.

2.3.1.1 Absetzmethoden

Die Absetzmethoden beruhen auf der spontanen (schwerkraftbedingten) bzw. durch spezielle Manipulationen zwangsweise herbeigeführten Abscheidung der Mikroorganismen aus der Luft (Jarnych, 1976).

Die einfachste Absetzmethode ist die **Sedimentation**. Hierbei werden Auffangmedien eine bestimmte Zeit lang der Luft ausgesetzt. Die Mikroorganismen setzen sich aufgrund der Schwerkraft ab. Als Medien kommen Petrischalen mit oder ohne Nährböden (Kochsches Verfahren), Haftfolien etc. zum Einsatz. Der Nachteil des Sedimentationsverfahren besteht darin, dass die Anzahl der abgeschiedenen Partikel sowohl von Richtung und Geschwindigkeit des Luftstroms als auch von Partikelgröße und -dichte abhängen (Kiefer, 1992). Somit können mit dieser Methode hauptsächlich qualitative Aussagen getroffen werden.

Auch die **Impaktion** ist eine Absetzmethode. Das Wirkungsprinzip der Impaktoren beruht darauf, dass ein Aerosolstrom bei senkrechtem Auftreffen auf eine ebene Oberfläche um 90° abgelenkt wird. Teilchen mit einer bestimmten kinetischen Energie bewegen sich dabei auf Grund ihrer Trägheit geradlinig weiter und bleiben nach dem Anprall auf der Oberfläche haften (Jarnych, 1976). Ein bekannter Sammler dieser Art ist der Andersen-Kaskaden-Impaktor (Andersen, 1958).

Weitere Absetzmethoden sind die Zentrifugalabscheidung, Thermalpräzipitation und Elektropräzipitation.

2.3.1.2 Filtrationsmethoden

Die Teilchenabscheidung auf Filtern dient vorwiegend zur Ermittlung von gravimetrischen Aerosolkonzentrationen, d.h. der Gesamtmasse der Teilchen pro Volumeneinheit Luft, also z.B. zur Bestimmung der Staubmasse. Diese Methoden basieren auf der Filtration der zu untersuchenden Luft durch einen porösen Stoff (Jarnych, 1976). Als Filtermaterialien werden Membranfilter aus Zelluloseestergel, Watte und Papier benutzt. Zudem können Gelatinefilter, Gemische aus Zellulose, Asbestfasern und hydrophoben Glasfasern verwendet werden. Gelatinefilter besitzen den Vorteil, dass darauf abgeschiedenes Material durch Auflösung des Filters vollständig gewonnen werden kann (Kiefer, 1992).

Die Vorteile der Filtration liegen im geringen gerätetechnischen Aufwand, hohem Abscheidegrad und geringen Energiebedarf. Weitere Vorteile sind die Anwendbarkeit auch bei niedrigen Temperaturen und die Vermeidung des Durchreißeffektes. Zur Ermittlung der Luftkeimkonzentrationen ist die Filtration wegen der oft irreversiblen Schädigung der gesammelten Keime durch Dehydration allerdings wenig geeignet (Kiefer, 1992). Ein für arbeitsmedizinische Staubmessungen häufig verwendetes Filtersystem ist das Personengetragene Gefahrstoff-Probenahmesystem (PGP-System) der Firma Ströhlein Instruments (Deutschland).

2.3.1.3 Sorption und Impingement

Die Sorption ist die Filtration der zu untersuchenden Luft in einer Schicht von Flüssigkeit. Die hierfür verwendeten Geräte arbeiten nach dem Waschflaschenprinzip. Je kleiner die Bläschen sind, die durch die Flüssigkeit treten, desto vollständiger ist die Abscheidung (Jarnych, 1976). Eine Weiterentwicklung der einfachen Waschflasche stellt der **Impinger** dar (Rosebury, 1947). Bei diesem waschflaschenähnlichen Gerät endet das Luftleitungsrohr als Kapillare über dem Gefäßboden, sodass der Luftstrom nahezu auf Schallgeschwindigkeit beschleunigt wird und auf das Glas prallt. Ein Teil der Mikroorganismen wird infolge ihrer Trägheit abgeschieden (Impaktion). Somit ist der Impinger eine Kombination aus Waschflasche und Impaktor.

Die Vorteile dieser Methode liegen im Aufbrechen von vorhandenen Bakteriekonglomeraten und damit Nachweis von einzelnen an Partikeln haftenden Keimen. Des Weiteren sind Keime in flüssigen Medien gut überlebensfähig. Nachteilig ist die im Labor notwendige Aufbereitung der Proben, die Bildung von Sekundäraerosolen und die adiabatische Abkühlung, die vor allem bei Temperaturen um den Gefrierpunkt während der Probenahme zu Problemen (z.B. dem Gefrieren der Waschflüssigkeit) führt (Böhm et al., 1998).

Ein bekannter Impinger ist der von Brachman et al. (1964) als Standardimpinger vorgeschlagene All Glas Impinger-30 (AGI-30).

2.3.1.4 Sammelmethode für luftgetragene Endotoxine

Die BIA-Arbeitsmappe gibt zur Bestimmung der Endotoxinkonzentration in der Luft am Arbeitsplatz an, hierfür Staub mit Hilfe geeigneter Staubsammelgeräte auf Membranfiltern zu sammeln, die Filter anschließend in endotoxinfreiem Wasser zu extrahieren und die Endotoxinkonzentration mittels LAL-Test zu quantifizieren (Anonym, 2002a). Als Filter sollen bindemittelfreie Glasfaserfilter aus Borsilikatglas benutzt werden, da dieses Material nur geringen Einfluss auf den Endotoxinnachweis hat.

Zucker et al. (2000a) nutzen zur Sammlung von luftgetragendem Endotoxin aus Tierställen sowohl die Filtration als auch die Impingermethode. Bei der Impingermethode wurde die Sammelflüssigkeit zentrifugiert und anschließend im LAL-Test (s. 2.3.2.2) auf ihren Endotoxingehalt untersucht.

2.3.2 DIFFERENZIERUNG UND QUANTIFIZIERUNG VON AN LUFTGETRAGENEN PARTIKELN HAFTENDEN KEIMEN UND ENDOTOXINEN

2.3.2.1 Kultivierungsmedien für Mikroorganismen

aerobe Gesamtkoloniezahl

Für die Kultivierung von aeroben Bakterien benutzten Zucker und Müller (1998) 5%igen Hammelblutagar und bebrüteten bei 37°C 48 Stunden. Blutagar nutzten auch Seedorf et al. (1998) mit einer Kultivierungstemperatur von 36°C für 2 bis 14 Tage. Hegel et al. (2001) verwendeten zur Anzucht von mesophilen aeroben Bakterien CASO-Agar. Diesem setzten sie Cycloheximid und Nystatin zu und bebrüteten ein bis drei Tage bei 25°C.

Gramnegative

Die Isolierung von Gramnegativen erfolgt auf festen Nährböden, die so zusammengesetzt sind, dass sie das Wachstum gramnegativer Bakterien bevorzugen und gleichzeitig dasjenige anderer Mikroorganismen hemmen (Stark, 2001). Auf ihre Eignung für die Anzucht von luftgetragenen gramnegativen Keimen untersuchten Zucker et al. (2000b) verschiedene Nährböden. Dabei wuchsen auf MacConkey No. 3 Agar (Oxoid CM 115) vergleichsweise die meisten gramnegative Bakterien, während umgekehrt die meisten grampositive Bakterien in ihrem Wachstum gehemmt wurden.

Schimmelpilze

Auch Pilze werden zumeist auf festen Nährmedien angezüchtet. Pilznährböden enthalten als Stickstoffquelle oft Pepton selten auch einzelne Aminosäuren. Als Kohlenstoffquelle können Glucose, Mannose, Saccharose oder Malzextrakt dienen. Pilze bevorzugen einen schwach sauren bis neutralen Nährboden. Die Wasseraktivität (a_w -Wert) des Nährmediums kann durch Kochsalz, Zucker oder Glycerin gesenkt werden. Zusätzlich werden z.T. Hemmstoffe eingesetzt, z.B. Chloramphenicol gegen Bakterien und Dichloran oder Bengalrot gegen das Überwuchern des Nährbodens durch bestimmte Schimmelpilze (Schütze, 2001).

Die VDI-Richtlinie 4253 (Entwurf, 2003) schlägt für den kulturellen Nachweis der Schimmelpilzkonzentrationen der Luft Dichloran-Glycerin-Agar (DG-18-Agar) vor. Der DG-18-Agar eignet sich zum Nachweis eines breiten Spektrums von xerophilen (die Trockenheit bevorzugenden) und mesophilen sowie thermotoleranten Schimmelpilzen (VDI 4253, 2003).

Schütze (2001) untersuchte Sabouraud-Glucose-Nährboden, Bengalrot-Chloramphenicol-Agar, Malzextrakt-Agar und Dichloran-Glycerin-Agar zur Kultivierung von luftgetragenen Schimmelpilzen aus der Luft von Tierställen und kam zu dem Schluss, dass DG-18-Agar hierfür am besten geeignet sei.

Literatur

Der DG-18-Agar enthält Agar, Pepton, Glucose, Kaliumhydrogenphosphat Magnesiumsulfat und Dichloran. Ihm werden Chloramphenicol und 18 Gewichts-% Glycerin zugegeben.

Die Kultivierung von Pilzen erfolgt mit dem Deckel nach oben. Außerdem müssen die Platten erschütterungs- und zugfrei stehen. Dies soll verhindern, dass Sporen auf der Agarplatte verteilt werden können und es dadurch zur Bildung von Sekundärkolonien kommt (VDI 4253, 2003).

2.3.2.2 Endotoxin-Nachweismethoden

Kaninchentest

Der Kaninchenpyrogentest wurde 1942 als erster Test zum Nachweis von pyrogenen Verunreinigungen in vorwiegend parenteral zu verabreichenden Arzneimitteln durchgeführt (Boxhammer, 2001; Stark, 2001). Hierbei wird drei Tieren das Testpräparat intravenös injiziert und als Reaktion die Körperkerntemperatur gemessen. Die Erhöhung der Körpertemperaturen darf einen bestimmten Betrag nicht überschreiten, sonst wird ein Präparat in Deutschland nicht freigegeben (Stark, 2001). Das Kaninchen reagiert weniger empfindlich auf Endotoxine als der Mensch. Die Nachteile des Tests sind seine mangelnde Standardisierbarkeit und seine Eignung nur für lösliche Substanzen. Außerdem ist er aus ethischen Gründen abzulösen (Hartung T., 2001).

LAL-Test

Dem Limulus-Amöbozyten-Lysate (LAL-Test) liegt die Bildung eines Gels nach Inkubation des Lysates aus Amöbozyten (Blutzellen) von *Limulus polyphemus* (Pfeilschwanzkrebs) in Gegenwart von Endotoxin zugrunde (Levin und Bang, 1964). Der LAL-Test ist um den Faktor 300 empfindlicher als der Kaninchen-Test (Ditter et al., 1983). Allerdings handelt es sich beim Pfeilschwanzkrebs um einen entwicklungsgeschichtlich sehr alten Organismus (Boxhammer, 2001), der im Extremfall nicht zwischen zwei Endotoxinen unterscheidet, die sich im Kaninchentest um den Faktor 10000 unterscheiden (Fennrich et al. 1998).

Der LAL-Test interferiert mit zahlreichen Stoffen (Stark, 2001). Pseudoendotoxinverhalten zeigen z.B. Polynukleotide, Peptidoglykane, Listerien, Streptokokken und Lipoteichonsäure (Röpke und Lindner, 2001). Die auftretenden Interferenzen können durch das Mitführen von Spikes (Stark, 2001) erfasst und durch Verdünnen der Proben (Zimmermann, 1985) oder den Zusatz von Magnesiumchlorid (Tsuji und Steindler, 1983) vermindert werden. Beim Spike handelt es sich um eine definierte Menge Endotoxin, die der Probe zugesetzt wird. Die Spike-Wiederfindungsrate (Positivkontrolle) muss z.B. bei der chromogenen Endpunktmethode (s.u.) bei +/- 25% liegen, andernfalls hat eine geeignete Behandlung der Probe (Verdünnung oder Zusatz von Magnesiumchlorid) zu erfolgen (Anonym, 1987).

Es existieren drei Methoden zur Durchführung des LAL-Tests. Dies sind die Gelbildungsmethode, die turbidimetrische Methode und die chromogene Methode (Kleiber, 2001). Die chromogene Methode wird in die chromogene Endpunktmethode und die kinetische chromogene Methode unterteilt (anonym, 2002b). Zur Durchführung der Gelbildungsmethode werden die zu untersuchende Probe und das LAL-Testreagenz gemischt und eine vorgegebene Zeit inkubiert (Kleiber, 2001). Durch Verdünnungsreihen kann die

Endotoxinkonzentration semiquantitativ bestimmt werden. Die turbidimetrische Methode nutzt die nach einer vorgegebenen Inkubationszeit auftretende Trübung der Probenlösung. Die Trübung wird, ähnlich der bei chromogenen Methode auftretenden Färbung, quantitativ im Spektrometer gemessen (Hurley, 1995). Der Inter-Assay-Variationskoeffizient beträgt bei der chromogenen Methode bis zu 40% (Linsel et al., 2002).

Vollbluttest

Seit Mitte der 90er Jahre (Hartung und Wendel, 1995) ist ein Test in der Erprobung, bei dem menschliches Vollblut zum Pyrogen-Nachweis benutzt wird. Grundprinzip ist, die pyrogene Wirkung einer Substanz nach Inkubation mit humanem Vollblut in vitro anhand der Freisetzung der Zytokine IL-1 β , IL-6 und TNF- α sowie des Mediators Prostaglandin E2 (PGE2) zu messen. Mit diesem Test soll die menschliche Reaktion auf Pyrogene optimal zu beurteilen sein. „Die Einführung von Vollblut als Zellsystem lässt den Traum von der menschlichen Fieberreaktion im Reagenzglas Wirklichkeit werden“ (Bonenberger et al., 2000).

Sonstige

Es existieren Nachweismethoden für Endotoxine, die auf immunologischen (ELISA) und biochemischen (Chromatographie) Prinzipien beruhen. Mit diesen Methoden sind genaue Angaben über die Lipopolysaccharid-Menge in Nanogramm möglich. Der Aufwand der Untersuchungen ist beträchtlich und eine Aussage bezüglich der biologischen Aktivität der Endotoxine ist damit nicht möglich (Boxhammer, 2001).

Empfindlichkeit der verschiedenen Nachweismethoden

Der humane Vollbluttest liegt im gleichen Empfindlichkeitsbereich wie die sensitivste Kaninchenrasse, der LAL-Test jeweils eine Zehnerpotenz darunter (Tabelle 9).

Tabelle 9: untere Nachweisgrenzen der jeweiligen Tests

Kaninchenpyrogentest	LAL-Test	Vollbluttest	Quelle
50 – 350 pg/ml	ca. 3 pg/ml	20-50 pg/ml	Bonenberger et al., 2000
--	0,05 EU/ml (QCL-1000, Cambrex)	0,5 EU/ml*	Zucker et al., 2001

* bezogen auf das „Control Standard Endotoxin“ von E. coli 0113:H10 ein pg/ml entspricht 0,01 EU/ml