

BIOAEROSOLMESSUNGEN  
IN DER AUßENLUFT  
2006  
JAHRESZEITLICHE  
UNTERSCHIEDE

Landesanstalt für Umwelt, Messungen und Naturschutz  
Baden-Württemberg  
Referat 23, mikrobiologisches Labor für Bioaerosolanalytik  
Griesbachstraße 1  
76185 Karlsruhe

Bearbeitung:	Ref. 23, Dr. I. Tesseraux
Erstellungsdatum	Juni 2007
Berichtumfang:	22

# INHALTSVERZEICHNIS

1 EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG .....	4
2 DURCHFÜHRUNG DER MESSUNGEN .....	6
2.1 Probenahme - Schimmelpilze.....	6
2.2 Probenahme - Bakterien .....	6
2.3 Umfang der Schimmelpilz-Messungen.....	6
2.4 Kultureller Nachweis der Schimmelpilz-Konzentrationen .....	7
2.5 Umfang der Bakterienmessungen .....	8
2.6 kultureller Nachweis der Bakterien.....	9
3 ERGEBNISSE .....	10
3.1 Gesamtschimmelpilz-Konzentrationen in der Luft .....	10
3.2 Konzentrationen einzelner Schimmelpilz-Gattungen .....	11
3.3 Gesamtbakterien-Konzentrationen / Vergleich Filter- und Impinger-probenahme .....	12
3.4 Gesamtbakterien-Konzentrationen in der Luft.....	14
4 DISKUSSION.....	16
5 ZUSAMMENFASSUNG UND FAZIT .....	19
6 LITERATURVERZEICHNIS .....	20
7 ANHANG .....	21
7.1 Abbildung des Probenahmeortes.....	21
7.2 Abbildungen zum Schimmelpilz-Wachstum auf Kulturnährböden.....	21
7.3 Abbildungen zum Bakterien-Wachstum auf Kulturnährböden.....	22

# 1 Einleitung und Zielsetzung

Die Zusammensetzung der Außenluft wird von natürlichen Faktoren und von Aktivitäten des Menschen bestimmt. Dies gilt auch für biologische Bestandteile. Bioaerosole sind luftgetragene Teilchen biologischer Herkunft. Sie enthalten u. a. Pilz- und Bakteriensporen, Mycelbruchstücke von Schimmelpilzen, Hefen sowie Abbau- und Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen (MVOC = Microbial Volatile Organic Compounds; Mycotoxine, Endotoxine). Schimmelpilze sind an eine Ausbreitung über den Luftweg durch Bildung von Sporen, die nicht nur der Vermehrung sondern auch der Überdauerung dienen, in besonderem Maße angepasst. Sie kommen ubiquitär in der Natur vor und erfüllen eine wichtige Aufgabe im Stoffkreislauf beim Abbau organischen Materials.

Bestandteile und Inhaltsstoffe von Schimmelpilzen und ihrer Sporen können neben Geruchsbelästigungen auch gesundheitliche Beeinträchtigungen hervorrufen, wobei das allergisierende und infektiöse Potenzial von zahlreichen Schimmelpilzen besonders bedeutsam ist. Durch etliche Untersuchungen an Arbeitsplätzen ist der Zusammenhang zwischen Bioaerosolbelastungen in der Atemluft und Erkrankungen der Atemwege belegt (Lacey & Dutkiewicz, 1994). In einer aktuellen Studie konnte eine Korrelation von erhöhten Bioaerosolkonzentrationen in der Umgebung von Kompostierungsanlagen mit irritativen Atemwegsbeschwerden bei exponierten Personen nachgewiesen werden (Herr et al., 2003, Rethage et al., 2006).

Erhöhte Außenluftkonzentrationen an Bioaerosolen können auch durch Anlagen hervorgerufen werden, die einigen Organismen besonders günstige Lebensbedingungen bieten und die z.B. bei biologischen Abfallbehandlungsanlagen die „Nutzorganismen“ sind, die die Abbauprozesse bewerkstelligen. Die VDI-Richtlinie 4251 Blatt 1 („Erfassen luftgetragener Mikroorganismen und Viren in der Außenluft – Planung von anlagenbezogenen Messungen Immissionsbestimmung durch Fahnenmessungen, 2007) enthält im Anhang eine Liste sowohl der Anlagentypen und Anlagen, die Bioaerosole emittieren können mit den jeweiligen anlagentypischen Mikroorganismen-Parametern.

Da es sich bei Bioaerosolen um lebendes Material oder Bestandteile davon handelt, die natürlicherweise in der Luft vorkommen, ist die Variation der Art und Höhe des Vorkommens in der Luft groß und damit die Feststellung einer „Luftbelastung“ oder gar einer gesundheitlichen Bewertung komplex. Eine wesentliche Voraussetzung, um überhaupt gegenüber dem normalen Hintergrund erhöhte Werte feststellen zu können, sind nachvollziehbare und genormte Probenahmen und Messverfahren.

Für die Erfassung von Schimmelpilzen in der Außenluft und zur Probenahme und Messung durch Kultivierung der lebensfähigen Sporen wurden Richtlinien erarbeitet. Als VDI-Richtlinien liegen vor: VDI 4252 Blatt 2 „Aktive Probenahme von Bioaerosolen – Abscheidung von luftgetragenen Schimmelpilzen auf Gelatine/Polycarbonat-Filtern“ (2004) und VDI 4253 Blatt 2 „Verfahren zum kulturellen Nachweis von Schimmelpilz-Konzentrationen in der Luft – Indirektes Verfahren nach Probenahme auf Gelatine/Polycarbonat-Filtern (2004).

Nach diesen Richtlinien wurde im Jahr 2003 ein Messprogramm an vier verschiedenen Messstandorten jeweils über drei Wochen im Frühjahr, im Sommer und im Herbst durchgeführt. In Weiterführung und Ergänzung dieser Untersuchungen wurden im Jahr 2004 im September wie-

derum über drei Wochen an vier Messorten Schimmelpilze in der Außenluft gemessen (UMEG-Jahresbericht 2003, UMEG-Jahresbericht 2004, Tesseraux et al., 2004).

Im Jahr 2005 wurden an einem Messort (Großoberfeld ehemals „UMEG-Vorplatz“) weitere Messungen zum jahreszeitlichen Verlauf und zu Fragestellungen hinsichtlich der Probenahmedauer und des Zeitraums vorgenommen. Im Jahr 2006 wurden an diesem Messort wiederum Schimmelpilzmessungen und an einigen Messtagen zusätzlich Messungen von Bakterien in der Außenluft durchgeführt.

Ein Teil der hier dargestellten Ergebnisse wurde auf dem 41. Messtechnischen Kolloquium am 24. Mai 2006 in Mainz (Tesseraux: „Bioaerosole in der Immission – Jahreszeitlicher Gang“) und beim KRdL-Fachgespräch (Kommission Reinhaltung der Luft im VDI) zum Thema „Bioaerosole – Hintergrundwerte als Bewertungskriterium“ am 9. März 2007 in Düsseldorf (Tesseraux: „Schimmelpilzmessungen an Hintergrundstationen im jahreszeitlichen Verlauf“) vorgetragen.

## 2 Durchführung der Messungen

### 2.1 PROBENAHRME - SCHIMMELPILZE

Die Luftproben für die Bestimmung von Schimmelpilzen wurden nach der VDI-Richtlinie 4252, Blatt 2 (Juni 2004) „Aktive Probenahme von Schimmelpilzen, Abscheidung von Schimmelpilzen auf Gelatine/Polycarbonat-Filtern“ vorgenommen.

Blindwertfilter (ohne Luftdurchsatz) wurden am Ende jedes Messzeitraumes (Tab. 2-1) genommen. Während der Probenahme wurden die Temperatur und die Luftfeuchtigkeit aufgezeichnet.

### 2.2 PROBENAHRME - BAKTERIEN

Die Luftproben für die Bestimmung von Bakterien wurden nach der VDI-Richtlinie 4252, Blatt 3 (Entwurf Juni 2006) „Aktive Probenahme von Bioaerosolen – Abscheidung von luftgetragenen Bakterien in Flüssigkeiten“ genommen. Beim Impingement wird ein definiertes Luftvolumen mittels einer Pumpe durch eine Sammellösung (sterile 0,9% NaCl) gesaugt, in welcher die Partikel abgeschieden werden. Hier wurde ein AGI30 Impinger verwendet.

Für jeden Messtag wurde ein Feldblindwert aufgenommen. Eine Feldblindwertprobe wird in identischer Weise wie eine reale Probe gewonnen ohne jedoch Luft durch den Impinger zu saugen.

In einer Voruntersuchung im Jahr 2005 wurde ein Vergleich der Impinger-Probenahme und der Probenahme auf Gelatinefilter für die Bestimmung von Bakterien durchgeführt.

#### **Probenahmeort**

Alle Messungen wurden auf dem Vorplatz des LUBW-Gebäudes im Großoberfeld (ehemalige UMEG, siehe Abbildung im Anhang) durchgeführt. In wenigen Metern Abstand befindet sich eine Gartenabfallannahme- und Kompostverteiler-Stelle. Aktivitäten und Besonderheiten während der Probenahme wurden dokumentiert.

### 2.3 UMFANG DER SCHIMMELPILZ-MESSUNGEN

In der Tabelle 2-1 ist der Umfang der Messungen und die Zahl der jeweils verwertbaren Proben wiedergegeben (die Probenserie darf nur ausgewertet werden, wenn nach Aufarbeitung der parallel genommenen Blindwertproben ohne Luftdurchsatz maximal zwei Kolonien bezogen auf 0,1 ml der Ausgangslösung auf einer der drei Platten nachgewiesen wurden).

**Tabelle 2-1: Zeiten und Umfang der Schimmelpilzmessungen 2006, sowie klimatische Bedingungen.** Datum = Beginn der 24h-Probenahme; Temperatur (Temp) und relative Luftfeuchte (Rel. F) als Mittel über die Probenahmedauer; \* Pumpen schalteten sich nach ca. 18h ab; - keine Messwerte

Probenahme-Zeitraum	Parallel-Proben (Nr.)	Parallel-Proben (Nr.)	Parallel-Proben (Nr.)	Temp °C	Rel. F %	Wetter / Bemerkungen
<b>Mai 2006</b>						
03.05	60040	60041	60042	15 (bis 25)	-	Schwacher Wind 0,8 m/s aus SO / Quelle wurde am 3.5. kleiner, ab ca. 15:00 abgebaut
04.05	60043	60044	60045	18	-	Wind 1,7 m/s aus NO
<b>Juli 2006</b>						
10.07	60070	60071	60072	29	50	Sonnig sehr warm, Quelle (Komposthaufen ca. 1m entfernt)
11.07	60073	60074	60075	31	49	
<b>Oktober 2006</b>						
09.10	60108	60109	60110	14 (bis 20)	78	Sonnig warm /Anlieferung neuer Kompostmiete, keine Entnahme während der Probenahme
10.10.	60111*	60112*	60113*	17	79	Kaum Wind (W)

## 2.4 KULTURELLER NACHWEIS DER SCHIMMELPILZ-KONZENTRATIONEN

Der Nachweis der Schimmelpilze erfolgte nach dem in der VDI-Richtlinie 4253, Blatt 2 (Juni 2004) beschriebenen „Verfahren zum kulturellen Nachweis der Schimmelpilz-Konzentrationen in der Luft, indirektes Verfahren nach Probenahme mit Gelatine/Polycarbonat-Filtern“.

Außer der rein quantitativen Auswertung werden die Kolonien auf den Nährbodenplatten für die wesentlichsten Gattungen bestimmt. Dies geschieht durch den Vergleich der makroskopischen und nach Anfertigen von Präparaten auch der mikroskopischen Merkmale mit Stammkulturen und Literaturdaten (Samson et al., 2002). Da einige Schimmelpilzgattungen weniger gut auf dem eigentlichen Auszähl Nährboden (Dichloran-18% Glycerin-Agar = DG18) wachsen, werden die Zählungen auf Malzextraktagar (MEA) für die Auswertung nach bestimmten Gattungen oder Spezies verwendet. Da sich bei den Messungen im Jahr 2003 (siehe UMEG-Jahresbericht 2003) gezeigt hatte, dass eine weitere Bebrütungstemperatur von 37°C bei den MEA-Nährböden keine zusätzliche Information über die Häufigkeit des Vorkommens von Kompost-spezifischen Schimmelpilzen, insbesondere von *Aspergillus fumigatus* erbrachte, wurden hier beide Nährböden nur bei 25°C inkubiert.

Die Berechnung der KBE/m<sup>3</sup> (KBE = koloniebildende Einheit) für einzelne Gattungen geschieht in gleicher Weise wie für die Gesamt-Schimmelpilz-KBE/m<sup>3</sup>.

## Bestimmungsgrenze

Eine Nachweisgrenze ist bei diesem Verfahren (nach der Richtlinie VDI 4253, Blatt 2) nicht eindeutig vorgegeben, kann aber nach bei den hier gewählten Bedingungen wie folgt abgeleitet werden:

Bei 24-stündiger Probenahme und einem daraus resultierenden beprobten Luftvolumen von 72 m<sup>3</sup> (Normkubikmeter bei 0 °C und 101,3 kPa) sind theoretisch – unter Einrechnung der Verdünnung von 1:100 (Ausspateln von 0,1 ml aus 10ml Extraktionslösung) – Konzentrationen von 1– 2 Gesamt-KBE/m<sup>3</sup> bestimmbar, wenn 1 KBE pro Platte gezählt wird. Da jedoch der Blindwert bereits maximal 2 KBE auf einer der Parallelschalen aufweisen darf, um die Probenserie noch auswerten zu dürfen und der sichere Zählbereich bei einer Plattenbelegung (85 mm Durchmesser) bei etwa 10 KBE beginnt, sollten 7 bis 10 KBE auf einer Platte vorhanden sein, um eine sinnvolle quantitative Auswertung vorzunehmen. Daraus ergibt sich ein Angabenschwellenwert von 7 KBE/m<sup>3</sup> bis 14 KBE/m<sup>3</sup>. Nach unseren Erfahrungen wird eine Schwelle von 10 KBE/m<sup>3</sup> für die Angabe von Werten festgelegt, ab der ein sicherer Nachweis von Schimmelpilzen in der Luftprobe gegeben ist. Werte darunter werden als < 10 KBE/m<sup>3</sup> angegeben.

Bei kürzeren Probenahmezeiten – wie sie sich hier für verschiedene Fragestellungen ergaben - erhöht sich der Angabenschwellenwert entsprechend: z. B. bei 18 Stunden Probenahme auf ca. 20 KBE/m<sup>3</sup>.

## 2.5 UMFANG DER BAKTERIENMESSUNGEN

In der Tabelle 2-2 ist der Umfang der Messungen von Gesamtbakterien zusammengefasst. An den einzelnen Messtagen wurden jeweils nacheinander 30-minütige Probenahmen durchgeführt.

**Tabelle 2-2: Zeiten und Umfang der Bakterienmessungen 2006, sowie klimatische Bedingungen, sowie Vorversuch 2005 Probenahme mit Impinger und Gelatinefilter zeitgleich\*.**

Jeweils 30 Minuten Probenahme; Bl = Blindwert; Temperatur (Temp), relative Feuchte (rel. F)

Probenahme-Zeitraum	Proben-Nr.	Proben-Nr.	Proben-Nr.	Proben-Nr.	Proben-Nr.	Wetter / Bemerkungen Temp, rel. F
<b>November 2005</b>						
09.11	791/792*	793/794*	795/796*	797/798*	799/800*	801Bl; 12-15°C
09.11 Filter	802/803*	804/805*	806/807*	808/809*	810/811*	812Bl
<b>Mai 2006</b>						
04.05	60047	60048	60049	60050	60051Bl	sonnig, trocken, 20°C, schwach windig aus NW
<b>Juli 2006</b>						
12.07	60077	60078	60079	60080	60081Bl	schwül warm, 30-36 °C, 54% rel. F
<b>Oktober 2006</b>						
12.10	60115	60116	60117	60118Bl		dichter Nebel, 12 °C, 80% rel. F, windstill; Entfernung Quelle ca. 1m
<b>November 2006</b>						
28.11	60123	60124	60125	60126Bl		anfangs neblig, 8°C, 80% rel. F, sonnig bis bewölkt, kühl; Entfernung Quelle ca. 3m

## 2.6 KULTURELLER NACHWEIS DER BAKTERIEN

Der Nachweis der Gesamtbakterien bei 36°C und bei 22°C erfolgte nach dem in der VDI-Richtlinie 4253, Blatt 3 (Entwurf Juni 2006) beschriebenen „Verfahren zum quantitativen kulturellen Nachweis von Bakterien in der Luft – Verfahren nach Abscheidung in Flüssigkeiten“. Dabei wird die Sammelflüssigkeit entweder direkt auf CASO-Nährbodenplatten ausgestrichen (100µl; oder 1ml auf vier Platten je 250µl) oder dezimale Verdünnungen der Sammelflüssigkeit. Um niedrigere Konzentrationen bestimmen zu können, kann die Sammelflüssigkeit filtriert werden (10ml) und die Filter direkt auf die CASO-Nährbodenplatte zur Kultivierung aufgelegt werden. Die beimpften Platten werden nach 48 h (Bebrütung bei 36°C) und nach sieben Tagen (Bebrütung bei 22°C) visuell ausgezählt.

### **Bestimmungsgrenze**

Für den Nachweis von Bakterien mit dem Impingerverfahren bei den hier eingehaltenen Bedingungen ergibt sich folgende Bestimmungsgrenze:

Bei 30-minütiger Probenahmezeit und einem Luftdurchfluss des AGI30 Impingers von 12,1 l/min - ergibt sich für 30 Minuten 0,363 m<sup>3</sup> beprobtes Luftvolumen. Mit einem Verdünnungsfaktor von ca. 3 (zu beziehen auf das nach der Messung verbliebene Restvolumen), der daraus resultiert, dass aus den <30 ml Sammelflüssigkeit 10ml filtriert und auf die Kulturschale verbracht wird, ergibt sich eine theoretische Bestimmungsgrenze (für 1 KBE/Platte gezählt) von ca. 10 KBE/m<sup>3</sup>. Bei Auswertung des Ansatzes, bei dem 1ml Sammelflüssigkeit auf 4 Platten ausgestrichen wird, liegt diese Grenze um den Faktor 10 höher bei ca. 100 KBE/m<sup>3</sup>. Ein sicherer Nachweis ist jedoch erst gegeben bei einer Anzahl von KBE auf der Platte (in Richtlinienentwurf VDI4252, Blatt 3 sind 10 KBE/Platte genannt) von deutlich über dem Blindwert.

# 3 Ergebnisse

## 3.1 GESAMTSCHIMMELPILZ-KONZENTRATIONEN IN DER LUFT

Die in der Tabelle 2-1 dargestellte Messplanung ergibt eine Anzahl von 20 Einzelproben für Schimmelpilzbestimmungen im Jahr 2006. Es waren keine Ausfälle zu verzeichnen. In der Tabelle 3-1 sind die Ergebnisse der Immissionsmessungen der Gesamtschimmelpilz-Konzentrationen sowie der Konzentrationen der Gattungen Aspergillus, Cladosporium und Penicillium zusammengefasst. Für die Dreifachbestimmungen sind die relativen Standardabweichungen aufgeführt. Für Konzentrationsberechnungen wurden die Auswertungen auf beiden Nährböden DG18 (Dichloran-Glyzerin) und MEA (Malzextraktagar) zugrunde gelegt. Nach der VDI-Richtlinie 4253, Blatt 2 ist der DG18-Nährboden als eigentlicher Auszähl-Nährboden heranzuziehen, die zusätzliche Auswertung auf MEA-Nährboden dient dazu auch Arten zu erfassen, die auf DG18 nicht wachsen.

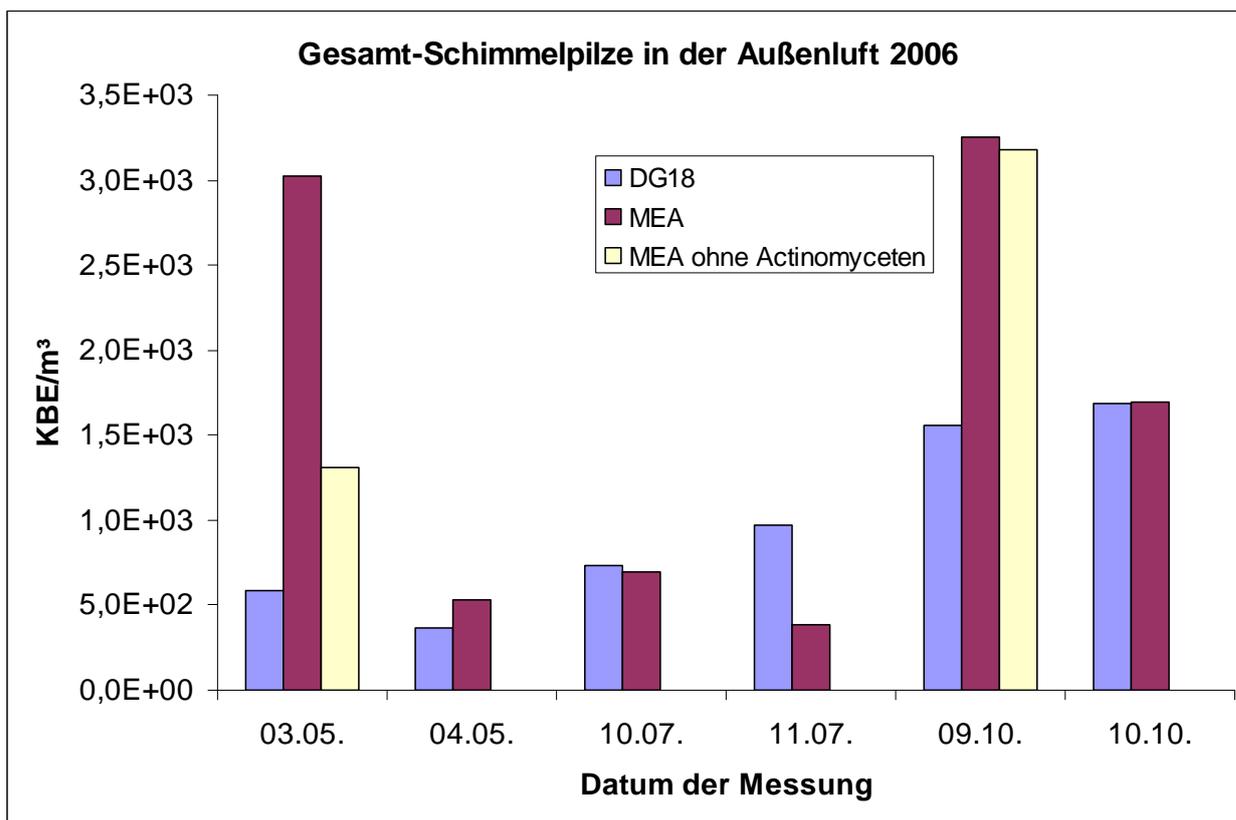
**Tabelle 3-1: Gesamt – Schimmelpilzkonzentrationen in der Außenluft (KBE/m<sup>3</sup>).**

RSA = relative Standardabweichung in %. kursiv, Werte < Bestimmungsgrenze oder nur ein Wert

Probenahme Datum	Proben-Nummern	Gesamt KBE KBE/ m <sup>3</sup> (RSA)	Cladosporium / Aspergillus / Penicillium KBE/m <sup>3</sup> (RSA )		
<b>Mai 2006</b>					
02.05. DG18	60040, 60041, 60042	<b>6x10<sup>2</sup> (7)</b>	3x10 <sup>2</sup> (17)	4x10 <sup>1</sup> (49)	1x10 <sup>2</sup>
MEA	“	3x10 <sup>3</sup> (136)	2x10 <sup>2</sup>	1x10 <sup>1</sup>	4x10 <sup>1</sup> (123)
03.05. DG18	60043, 60044, 60045	<b>4x10<sup>2</sup> (14)</b>	1x10 <sup>2</sup> (10)	7x10 <sup>1</sup> (14)	9x10 <sup>1</sup> (44)
MEA	“	5x10 <sup>2</sup> (4)	4x10 <sup>1</sup> (52)	8x10 <sup>1</sup> (15)	5x10 <sup>1</sup> (44)
<b>Juli 2006</b>					
10.07. DG18	60070, 60071, 60072	<b>7x10<sup>2</sup> (17)</b>	5x10 <sup>2</sup> (13)	4x10 <sup>1</sup> (48)	9x10 <sup>1</sup> (37)
MEA	“	7x10 <sup>2</sup> (30)	4x10 <sup>1</sup> (52)	2x10 <sup>1</sup> (27)	3x10 <sup>1</sup> (17)
11.07. DG18	60073, 60074, 60075	<b>1x10<sup>3</sup> (3)</b>	8x10 <sup>2</sup> (9)	2x10 <sup>1</sup> (43)	4x10 <sup>1</sup> (87)
MEA	“	4x10 <sup>2</sup> (17)	2x10 <sup>2</sup> (19)	0,9x10 <sup>1</sup> (87)	2x10 <sup>1</sup> (99)
<b>Oktober 2006</b>					
09.10. DG18	60108, 60109, 60110	<b>2x10<sup>3</sup> (35)</b>	7x10 <sup>2</sup> (14)	3x10 <sup>1</sup> (63)	2x10 <sup>2</sup> (32)
MEA	“	3x10 <sup>3</sup> (51)	6x10 <sup>2</sup> (23)	4x10 <sup>1</sup> (34)	1x10 <sup>2</sup> (89)
10.10. DG18	60111, 60112, 60113	<b>2x10<sup>3</sup> (7)</b>	1x10 <sup>3</sup> (9)	4x10 <sup>1</sup> (43)	2x10 <sup>2</sup> (31)
MEA	“	2x10 <sup>3</sup> (7)	1x10 <sup>3</sup> (9)	5x10 <sup>1</sup> (19)	7x10 <sup>1</sup> (24)

Die während des gesamten Messprogramms genommenen Blindwerte ergaben keine Schimmelpilzkulturen, bzw. nicht mehr als maximal 2 KBE in 0,1ml der unbeaufschlagten Ausgangslösung.

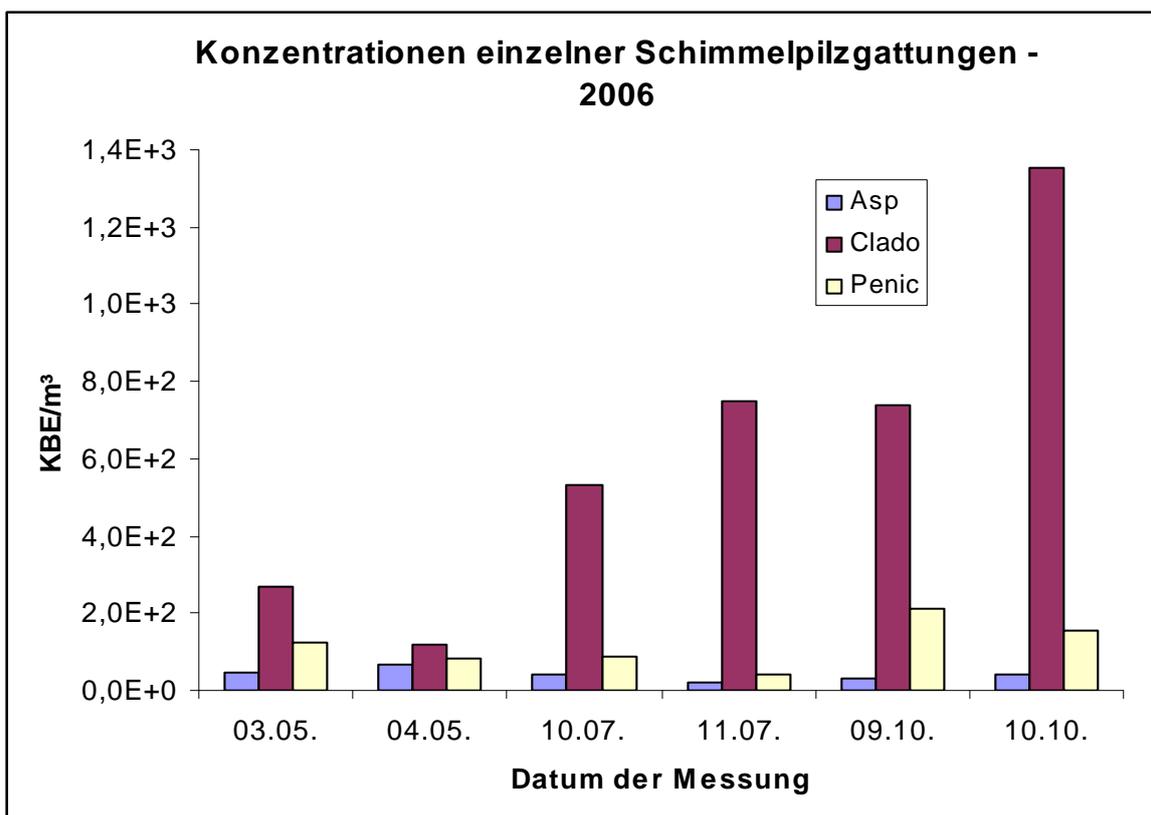
In der Darstellung in Abb. 3-1 sind die gemessenen Gesamt-KBE/m<sup>3</sup> im jahreszeitlichen Verlauf ausgewertet auf DG18-Nährboden und zum Vergleich auf Malzextraktnährboden (MEA) grafisch wiedergegeben.



**Abb. 3-1: Gesamtschimmelpilze in der Außenluft (KBE/m³) im jahreszeitlichen Verlauf 2006 am Messort Großoberfeld.** Ausgewertet auf DG18 und MEA-Nährboden (Mittelwerte aus 3 Parallelmessungen)

### 3.2 KONZENTRATIONEN EINZELNER SCHIMMELPILZ-GATTUNGEN

Die gewachsenen Schimmelpilzkolonien wurden auf DG18-Nährboden (Bebrütungstemperatur 25°C) differenziert und die KBE/m³ berechnet. Bei der Bestimmung wurden die folgenden Gattungen berücksichtigt (in Klammern die in der Abbildung benutzten Abkürzungen): Alternaria, Aspergillus (Asp), Cladosporium (Clado), Eurotium, Fusarium, Hefen und Penicillium (Pen). Alle nicht zu diesen Gattungen gehörigen oder nicht bestimmbar Kolonien wurden als Sonstige gezählt. Wenn in beiden Parallelproben die Konzentrationen einer Gattung über dem Angabenschwellenwert lagen, wurde ein Mittelwert gebildet und die relative Standardabweichung berechnet. Im Wesentlichen war dies nur für die Gattungen Cladosporium, Aspergillus und Penicillium der Fall. In der Tabelle 3-1 sind die Konzentrationen dieser Gattungen mit relativer Standardabweichung angegeben.



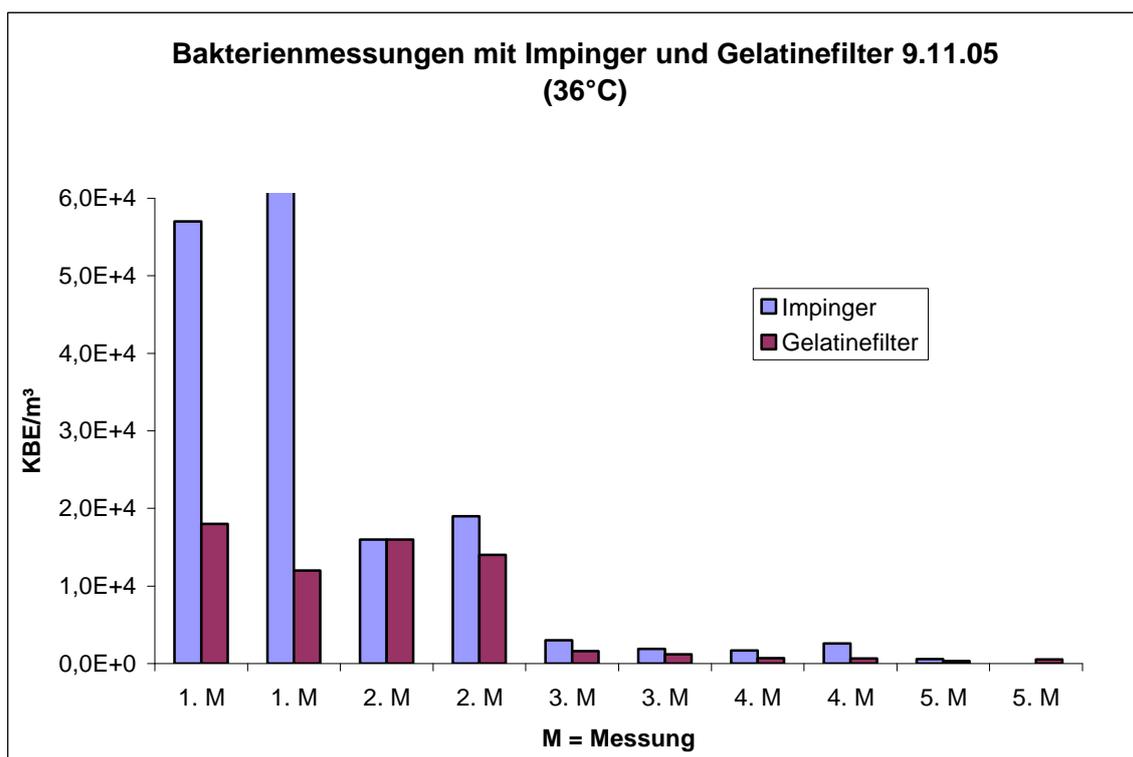
**Abb. 3-2: Konzentrationen von Schimmelpilzgattungen in der Außenluft (KBE/m<sup>3</sup>) im jahreszeitlichen Verlauf 2005 am Messplatz UMEG-Vorplatz. (DG18-Nährboden) Asp = Aspergillus, Clado = Cladosporium, Penic = Penicillium**

### 3.3 GESAMTBAKTERIEN-KONZENTRATIONEN / VERGLEICH FILTER- UND IMPINGER-PROBENAHEME

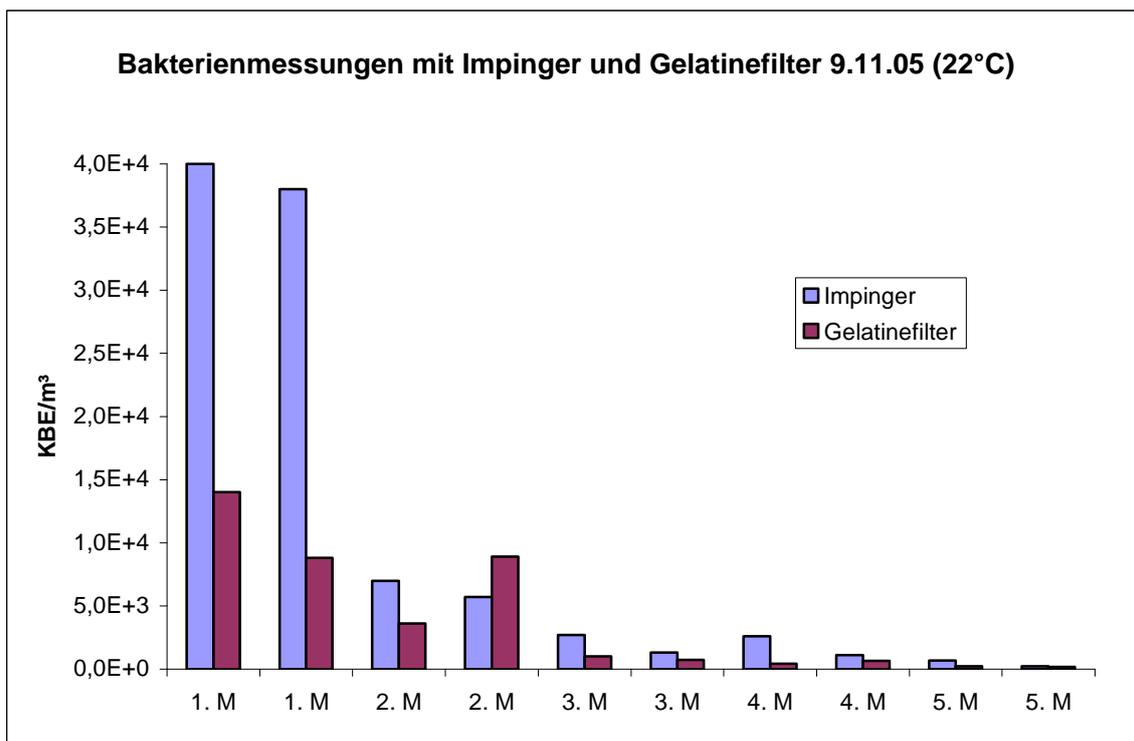
Im Zuge der Standardisierung der Probenahme für eine quantitative Bestimmung von Bakterien in der Luft (VDI 4252, Blatt 3) wurde ein Vergleich der Probenahme für die Gesamtbakterienbestimmung mit Beprobung auf Gelatinefilter und Impinger durchgeführt (im Jahr 2005). Dabei wurden am 9. November 2005 am Messort Großoberfeld in Karlsruhe fünf mal nacheinander jeweils 2 Parallelproben auf Filter (Gelatinefilter) und 2 Parallelproben in Flüssigkeit mit Impingern genommen. Die Impinger waren mit 30 ml steriler 0,9% NaCl-Lösung gefüllt, die 0,01 % Tween enthielt. Die Probenahmedauer betrug jeweils 30 min. Die Außenlufttemperatur lag während der Probennahmen zwischen 13°C und 15°C. Die Tabelle 3-3 zeigt die Ergebnisse dieser Messungen, die Abb. 3-3 und Abb. 3-4 grafische Darstellungen der Ergebnisse für die Gesamtbakterien bei 36°C und 22°C.

**Tabelle 3-3: Gesamt-Bakterienkonzentrationen (36°C und 22°C) in der Außenluft (KBE/m<sup>3</sup>) – Messungen vom 9.11.2005 – Vergleich Filter- und Impinger-Probenahme.**  
 RSA = relative Standardabweichung in %.

	Probennr. -Impinger Probennr. - Filter	Gesamt-Bakterien bei 36°C KBE/m <sup>3</sup> (RSA)	Gesamt-Bakterien bei 22°C KBE/m <sup>3</sup> (RSA)
<b>9. November 2005</b>			
1. Messung I	791, 792	<b>7x10<sup>4</sup> (18)</b>	<b>4x10<sup>4</sup> (3)</b>
1. Messung F	802, 803	<b>2x10<sup>4</sup> (25)</b>	<b>1x10<sup>4</sup> (31)</b>
2. Messung I	793, 794	<b>2x10<sup>4</sup> (11)</b>	<b>6x10<sup>3</sup> (14)</b>
2. Messung F	804, 805	<b>2x10<sup>4</sup> (8)</b>	<b>6x10<sup>3</sup> (59)</b>
3. Messung I	795, 796	<b>3x10<sup>3</sup> (31)</b>	<b>2x10<sup>3</sup> (50)</b>
3. Messung F	806, 807	<b>1x10<sup>3</sup> (20)</b>	<b>9x10<sup>2</sup> (23)</b>
4. Messung I	797, 798	<b>2x10<sup>3</sup> (30)</b>	<b>2x10<sup>3</sup> (59)</b>
4. Messung F	808, 809	<b>7x10<sup>2</sup> (2)</b>	<b>6x10<sup>2</sup> (29)</b>
5. Messung I	799, 800	<b>4x10<sup>2</sup> (82)</b>	<b>5x10<sup>2</sup> (72)</b>
5. Messung F	810, 811	<b>4x10<sup>2</sup> (39)</b>	<b>2x10<sup>2</sup> (18)</b>



**Abb. 3-3: Konzentrationen von Gesamtbakterien in der Außenluft (KBE/m<sup>3</sup> bei 36°C) Vergleich Filter- und Impinger-Probenahme – fünf aufeinander folgende Messungen über je 30 min. Jeweils zwei zeitgleiche Parallelproben (Filter und Impinger)**



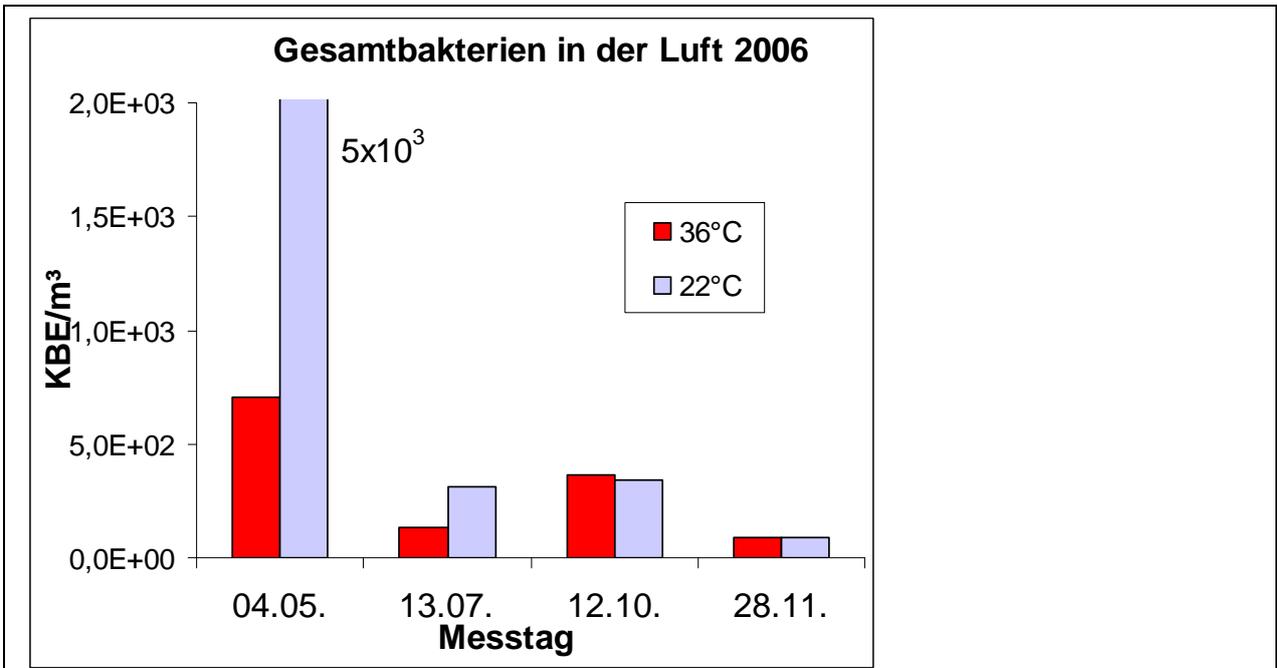
**Abb. 3-4: Konzentrationen von Gesamtbakterien in der Außenluft (KBE/m<sup>3</sup> bei 22°C) Vergleich Filter- und Impinger-Probenahme – fünf aufeinander folgende Messungen über je 30 min. Jeweils zwei zeitgleiche Parallelproben (Filter und Impinger)**

### 3.4 GESAMTBAKTERIEN-KONZENTRATIONEN IN DER LUFT

Die in der Tabelle 2-2 dargestellte Messplanung ergibt eine Anzahl von 18 Einzelproben (einschließlich Blindproben) für Gesamtbakterienbestimmungen im Jahr 2006. Es waren keine Ausfälle zu verzeichnen. In der Tabelle 3-4 sind die Ergebnisse der Immissionsmessungen der Gesamtbakterien (36°C und 22°C) wiedergegeben, Abb. 3-5 ist eine grafische Darstellung dieser Ergebnisse.

**Tabelle 3-4: Gesamt-Bakterienkonzentrationen in der Außenluft (KBE/m<sup>3</sup>). Auswertung des Fitrationsansatzes der Proben, gemittelt wurden die aufeinander folgend über jeweils 30 min genommenen Proben. RSA = relative Standardabweichung in %.**

Probenahme Datum	Probennummern	Gesamt-Bakterien bei 36°C KBE/m <sup>3</sup> (RSA)	Gesamt-Bakterien bei 22°C KBE/ m <sup>3</sup> (RSA)
<b>Mai 2006</b>			
04.05.	60047, 60048, 60049, 60050	<b>7x10<sup>2</sup> (95)</b>	<b>5x10<sup>3</sup> (117)</b>
<b>Juli 2006</b>			
13.07.	60077, 60078, 60079, 60080	<b>1x10<sup>2</sup> (59)</b>	<b>3x10<sup>2</sup> (18)</b>
<b>Oktober 2006</b>			
12.10.	60115, 60116, 60117	<b>4x10<sup>2</sup> (20)</b>	<b>3x10<sup>2</sup> (92)</b>
<b>November 2006</b>			
28.11.	60123, 60124, 60125	<b>9x10<sup>1</sup> (140)</b>	<b>9x10<sup>1</sup> (111)</b>

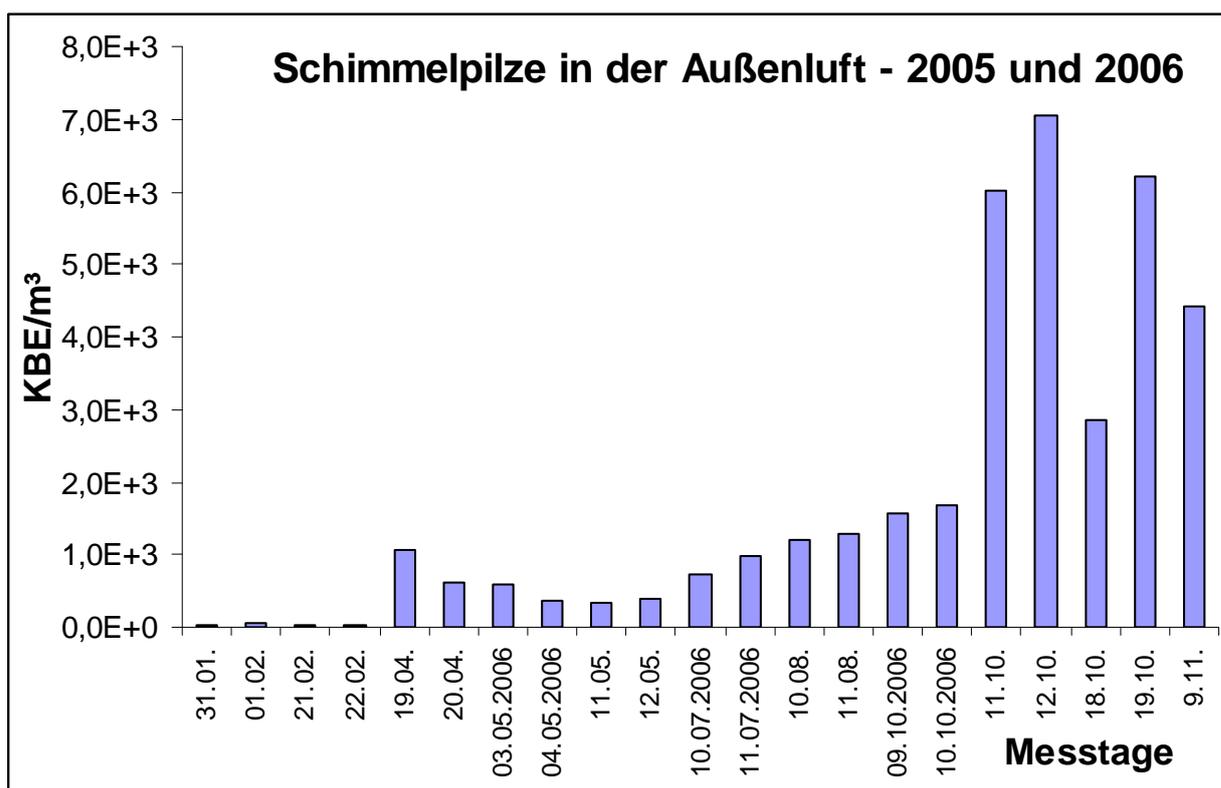


**Abb. 3-5: Gesamt-Bakterienkonzentrationen (36°C und 22°C) in der Außenluft (KBE/m³) – 2006 am Messort Großoberfeld. Je Messtag Mittelwert aus 3 bis 4 Einzelmessungen.**

## 4 Diskussion

Bei den Probenahmen für die Schimmelpilzmessungen in der Außenluft im jahreszeitlichen Verlauf 2006 traten keine Ausfälle auf. Ebenso konnten alle Proben ausgewertet werden, da die Blindwerte keine Kolonien aufwiesen. Die relative Standardabweichung zwischen 3 parallel genommenen Proben lag zwischen 3 % und 35 % (auf dem Auszähl-Nährboden DG18).

Die Auswertung der Gesamtschimmelpilze auf zwei Nährböden (DG18 und MEA) nach Bebrütung bei 25°C ergab für alle Messungen eine gute Übereinstimmung. Die höchsten Konzentrationen mit  $2 \times 10^3$  KBE/m<sup>3</sup> wurden bei der Messung im Oktober festgestellt. Diese Daten fügen sich gut ein in die vorausgegangenen Messungen zum jahreszeitlichen Verlauf an diesem und anderen Hintergrundmessorten (UMEG-Jahresberichte 2003 und 2004). Die Ergebnisse aus dem Jahr 2005 am selben Messort sind hier (Abb. 4-1) zum Vergleich zusammen mit den Daten aus dem Jahr 2006 dargestellt.



**Abb. 4-1: Gesamt-Schimmelpilze in der Außenluft (KBE/m<sup>3</sup>) im jahreszeitlichen Verlauf 2005 und 2006 (mit Jahreszahl gekennzeichnet) am Messort Großoberfeld, Karlsruhe. Ausgewertet auf DG18-Nährboden (Mittelwerte aus 2 oder 3 Parallelmessungen)**

Bei der Auswertung der Messungen aus dem Jahr 2006 fällt auf, dass sich auf dem zweiten Nährboden MEA (Malzextraktagar) an zwei Messtagen (03.05. und 09.10.) deutlich höhere Konzentrationen ergaben verglichen mit dem Auszähl-Nährboden DG18. Am Messtag 03.05. war dies durch erhöhtes Vorkommen von Actinomyceten bedingt, am 09.10. waren nur wenige Actinomy-

ceten vorhanden, die höhere Konzentration war hier im wesentlichen durch andere Schimmelpilzarten (sterile weiße Mycelien) verursacht. Actinomyceten sind Leitkeime bei der Kompostierung und könnten hier durch die am Messort vorhandenen Grünabfälle und Komposterde freigesetzt worden sein auch wenn an den betreffenden Tagen keine besonderen Aktivitäten verzeichnet wurden. Dies zeigt, dass auch ohne im Einzelnen erkennbare Ursachen sporadisch auch andere Schimmelpilze oder Bakterien in der Luft erhöhte Konzentrationen erreichen können.

Die Konzentrationen der Gattungen *Aspergillus* und *Penicillium* lagen bei allen Messungen in einem ähnlichen Bereich während die der Gattung *Cladosporium* im Juli und insbesondere im Oktober den wesentlichen Anteil an der Gesamt-Konzentration ausmachten. Diese Beobachtung deckt sich mit den Ergebnissen der vorangegangenen Jahre und wird durch Angaben in der Literatur bestätigt (UMEG Jahresberichte 2003, 2004, Tesseraux et al. 2004, Hryhorczuk et al. 2001, Mullins, 2001).

Der Test zum Einfluss unterschiedlicher Probenahmearten - Impinger- und Gelatinefilter - auf die Bestimmung der Gesamtbakterienkonzentration der Luft ergab bei fast allen nacheinander durchgeführten Messungen deutlich höhere Konzentrationen bei der Probenahme in Flüssigkeit (Impinger). Die zu Beginn des Vormittages genommenen Proben erbrachten höhere Konzentrationen als die darauf folgenden. Diese Abnahme der Konzentration über die Probenahmezeitspanne zeigte sich bei beiden Probenahmearten. Die relative Übereinstimmung zwischen den Ergebnissen nach Filter- und Impingerbeprobung war bei niedrigen Konzentrationen besser als bei den höheren Konzentrationen zu Beginn der Messreihe.

Die Sammlung luftgetragener Bakterien in Flüssigkeit ist offenbar schonender (bei der anschließenden Analyse mittels Kultivierung werden nur lebende Keime nachgewiesen) und führt so zu höheren Messergebnissen. Die Probenahme für Bakterien in der Luft ist in der VDI-Richtlinie 4252, Blatt 3 somit auch als Abscheidung in Flüssigkeit standardisiert worden.

Weiterhin veranschaulichen diese an einem Vormittag nacheinander durchgeführten Messungen, dass bei kurzen Probenahmezeiten (30 min) aber auch sehr unterschiedliche Konzentrationen auftreten können. In Abwesenheit einer eindeutigen Quelle – wie z.B. in Tierställen, ist die Freisetzung und Verteilung von Bakterien diskontinuierlich und variiert entsprechend breit. Längere Probenahmedauern, die dies möglicherweise ausgleichen könnten, sind mit dem hier standardisierten und auch anderen Verfahren zur Probennahme von Bakterien in der Luft nicht möglich, sofern der anschließende Nachweis auf Kultivierung beruht wobei nur lebende Keime nachgewiesen werden. Längere Probenahmezeiten führen zum Absterben der Bakterien, die in der Regel an die Verbreitung über die Luft weit weniger gut angepasst sind als Schimmelpilze.

Im Jahr 2006 wurden mit dem Impinger-Probenahmeverfahren erste Messungen der Gesamtbakterien (36°C und 22°C) in der Außenluft im Mai, Juli, Oktober und November durchgeführt. Die aus drei bis vier aufeinander folgenden Messungen gemittelten Werte liegen zwischen  $10^2$  KBE/m<sup>3</sup> und  $5 \times 10^3$  KBE/m<sup>3</sup>. Die relative Standardabweichung lag zwischen knapp 18% bis über 100%. Die große Varianz bei aufeinander folgenden Messungen hatte sich bereits bei den Messungen zum Vergleich der Probenahmearten gezeigt. Angesichts dieser großen Varianz der Bakterienkonzentration in der Außenluft ist nach diesen ersten Messungen weder eine Abhängigkeit von der Jahreszeit noch von der aktuellen Temperatur feststellbar.

Die Konzentrationen waren bei den Messungen im Mai am höchsten und wiesen an diesem Mess-tag auch große Unterschiede auf zwischen den Kultivierungsparametern 36°C und 22°C.

Bei allen Messungen wurde der Filtrationsansatz zur Auswertung herangezogen. Durch filtrieren von jeweils 10ml der Impingerflüssigkeit kann die Bestimmungsgrenze gesenkt werden. Dies bedeutet aber auch, dass alle Messwerte im Bereich oder nur wenig oberhalb der Bestimmungsgrenze des Verfahrens liegen. Diese ersten Messungen mit standardisierten Verfahren für die Probenahme und den Nachweis von Bakterien in der Luft machen deutlich, dass zur Feststellung ob die Außenluft im Bereich von Anlagen vermehrt mit Bakterien belastet ist, mehrere zeitgleiche Messungen im LUV (der Windseite der Anlage) unerlässlich sind.

## 5 Zusammenfassung und Fazit

Die im Jahr 2006 durchgeführten Messungen von Schimmelpilzen am Standort Großoberfeld in Karlsruhe ergaben die höchsten Konzentrationen mit  $2 \times 10^3$  KBE/m<sup>3</sup> im Oktober. Die Daten fügen sich gut ein in die vorausgegangenen Messungen zum jahreszeitlichen Verlauf an diesem und anderen Hintergrundmessorten.

Die Konzentrationen der Gattungen *Aspergillus* und *Penicillium* lagen bei allen Messungen in einem ähnlichen Bereich während die der Gattung *Cladosporium* im Juli und insbesondere im Oktober den wesentlichen Anteil an der Gesamt-Konzentration ausmachten. Auch dies ist ein Befund, der sich mit den Ergebnissen der vergangenen eigenen Messungen sowie auch mit Angaben in der Literatur deckt. Festzustellen ist, dass es gelegentlich auch ohne im Einzelnen erkennbare Ursachen sporadisch auch andere Schimmelpilze oder Bakterien in der Luft erhöhte Konzentrationen erreichen können. Um diese Beobachtung weiter zu überprüfen sind Messungen an einem anderen - eindeutig als Hintergrund zu charakterisierenden (am Messort Großoberfeld befindet sich eine Kompost-Abholstelle) – Messstandort notwendig.

Für die Bestimmung der Gesamtbakterienkonzentration der Luft wurde 2005 ein Test zum Einfluss unterschiedlicher Probenahmearten - Impinger- und Gelatinefilter – durchgeführt. Dabei ergaben bei fast allen nacheinander durchgeführten Messungen deutlich höhere Konzentrationen bei der Probenahme in Flüssigkeit (Impinger). Die Sammlung luftgetragener Bakterien in Flüssigkeit ist offenbar schonender (bei der anschließenden Analyse mittels Kultivierung werden nur lebende Keime nachgewiesen) und führt so zu höheren Messergebnissen. Die Probenahme für Bakterien in der Luft ist in der VDI-Richtlinie 4252, Blatt 3 somit auch als Abscheidung in Flüssigkeit standardisiert worden (im Juni 2006 zusammen mit der VDI Richtlinie 4253, Blatt 3 „Analyse luftgetragener Bakterien in Impingerflüssigkeiten“ als Entwurf erschienen).

Im Jahr 2006 wurden nach diesen standardisierten Verfahren erste Messungen der Gesamtbakterien (36°C und 22°C) in der Außenluft im Mai, Juli, Oktober und November durchgeführt. Die Konzentrationen lagen zwischen  $10^2$  KBE/m<sup>3</sup> und  $5 \times 10^3$  KBE/m<sup>3</sup>. Die relative Standardabweichung der aufeinander folgend erhobenen Messwerte betrug teilweise über 100%. Die große Varianz bei aufeinander folgenden Messungen hatte sich bereits bei den Messungen zum Vergleich der Probenahmearten gezeigt. Angesichts dieser großen Varianz der Bakterienkonzentration in der Außenluft ist nach diesen ersten Messungen weder eine Abhängigkeit von der Jahreszeit noch von der aktuellen Temperatur feststellbar. Die meisten Messwerte lagen außerdem nur wenig oberhalb der Bestimmungsgrenze des Verfahrens. Diese ersten Messungen mit standardisierten Verfahren für die Probenahme und den Nachweis von Bakterien in der Luft machen deutlich, dass zur Feststellung ob die Außenluft im Bereich von Anlagen vermehrt mit Bakterien belastet ist, mehrere zeitgleiche Messungen im LUV (der Windseite der Anlage) unerlässlich sind.

## 6 Literaturverzeichnis

**Herr et al.**, 2003: Effects of bioaerosol polluted outdoor air on airways of residents: a cross sectional study. *Occup Environ Med* 60, 336-342

**Hryhorczuk et al.**, 2001: Bioaerosol emissions from a suburban yard waste composting facility. *Ann Agric Environ Med* 8, 177-185

**Lacey & Dutkiewicz**, 1994: Bioaerosols and occupational lung disease. *J. Aerosol Sci.* 25, 1371-1404

**Mullins, J.**, 2001: Microorganisms in outdoor air. In: *Microorganisms in home and indoor work environments* (Hrsg. Flannigan, B., Samson, R.A., Miller, J.D.)

**Rethage et al.**, 2006: Follow-up berichteter Beschwerden nach Außenluftbelastungen durch Bioaerosole im Wohngebiet: eine geschlechtsspezifische Betrachtung. *Gefahrstoffe – Reinhaltung der Luft* 66, 343-348

**Tesseraux et al.**, 2004.: Immissionsmessungen von Schimmelpilzen in der Außenluft nach VDI 4252 Blatt 2 und VDI 4253 Blatt 2 im jahreszeitlichen Vergleich. *Gefahrstoffe – Reinhaltung der Luft* 64, 300-305

**UMEG**, 2003: Jahresbericht 2003

**UMEG**, 2004: Jahresbericht 2004

**VDI 4251**, Blatt 1, 2007: „Erfassen luftgetragener Mikroorganismen und Viren in der Außenluft - „Planung von anlagenbezogenen Messungen, Immissionsbestimmung durch Fahnenmessungen“

**VDI 4252**, Blatt 2, Juni 2004: „Aktive Probenahme von Bioaerosolen – Abscheidung von luftgetragenen Schimmelpilzen auf Gelatine/Polycarbonat-Filtern“

**VDI 4253**, Blatt 2, Juni 2004: „Verfahren zum kulturellen Nachweis von Schimmelpilzkonzentrationen in der Luft – Indirektes Verfahren nach Probenahme auf Gelatine/Polycarbonat-Filtern“

**VDI 4252 E**, Blatt 3, Juni 2006: „Aktive Probenahme von Bioaerosolen – Abscheidung von Bakterien mit Impingern nach dem Prinzip der kritischen Düse“

**VDI 4253 E**, Blatt 3, Juni 2006: „Verfahren zum quantitativen kulturellen Nachweis von Bakterien in der Luft – Verfahren nach Abscheidung in Flüssigkeiten“

# 7 Anhang

## 7.1 ABBILDUNG DES PROBENAHMEORTES



Kleinfiltergeräte

Juli



Impinger

Juli

## 7.2 ABBILDUNGEN ZUM SCHIMMELPILZ-WACHSTUM AUF KULTURNÄHRBÖDEN

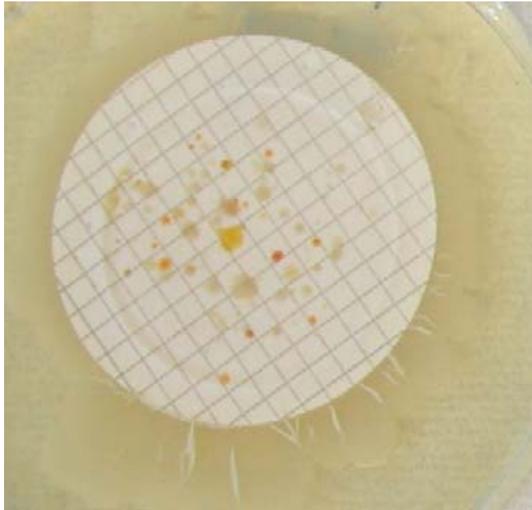


Juli: Verdünnung der Suspensionslösung 1:100, drei parallel ausgestrichene Schalen. oben auf MEA, unten auf DG18



Juli: Verdünnung der Suspensionslösung 1:1000, drei parallel ausgestrichene Schalen. oben auf MEA, unten auf DG18

**7.3 ABBILDUNGEN ZUM BAKTERIEN-WACHSTUM AUF KULTURNÄHRBÖDEN**



Juli: Filtrationsansatz aus Impinger, 22 °C



Juli: Filtrationsansatz aus Impinger, 36 °C