

Aus dem Institut für Hygiene, Umweltmedizin und Arbeitsmedizin
des Fachbereichs Humanmedizin
der Freien Universität Berlin
und dem
Institut für Fleischhygiene und -technologie
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

**Das Überlebensverhalten von Mikroorganismen auf Luftfiltern raum-
lufttechnischer Anlagen unter besonderer Berücksichtigung des Arten-
spektrums von Pilzen**

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Berit Müller
Tierärztin aus Köln

Berlin 1999
Journal-Nr. 2249

Gedruckt mit Genehmigung
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan:	Univ.-Prof. Dr. K. Hartung
Erster Gutachter:	Univ.-Prof. Dr. Dr. h.c. R. Reuter
Zweiter Gutachter:	Frau Univ.-Prof. Dr. H. Martiny

Tag der Promotion: 25. März 1999

**Meinen Eltern
in Dankbarkeit und Liebe**

INHALTSVERZEICHNIS

1 EINLEITUNG	9
2 LITERATUR	10
2.1 BEDEUTUNG RAUMLUFTTECHNISCHER ANLAGEN FÜR DAS INNENRAUMKLIMA	10
2.1.1 BAUELEMENTE RAUMLUFTTECHNISCHER ANLAGEN ALS RISIKOFAKTOREN FÜR KONTAMINATIONEN DER RAUMLUFT	13
2.1.2 MIKROORGANISMEN AUF LUFTFILTERN RAUMLUFTTECHNISCHER ANLAGEN	14
2.1.3 MESSUNG VON MIKROORGANISMEN AUF LUFTFILTERN RAUMLUFTTECHNISCHER ANLAGEN	18
2.2 KLINISCHE BEDEUTUNG VON PILZEN IN DER RAUMLUFT	19
2.2.1 MYKOSEN DURCH AEROGEN ÜBERTRAGENE PILZE	19
2.2.2 ALLERGIEN DURCH AEROGEN ÜBERTRAGENE PILZE	23
2.2.3 MYKOTOXINE IN DER RAUMLUFT	24
3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN	29
3.1 MATERIAL	29
3.1.1 RAUMLUFTTECHNISCHE (RLT-)ANLAGE	29
3.1.2 AIROTESTER	30
3.1.3 LUFTFILTER	32
3.1.4 RACE TUBES	32
3.1.5 NÄHRMEDIEN	33
3.1.6 SCHÜTTELLÖSUNG	36
3.1.7 FÄRBE LÖSUNG	37
3.1.7 TECHNISCHE GERÄTE	37
3.2 METHODEN	39
3.2.1 PROBENGWINNUNG	39
3.2.2 PROBENVERARBEITUNG	40

	V
3.2.3 PROBENAUSWERTUNG	41
3.2.4 KLIMATISCHE PARAMETER	42
3.2.5 MYKOLOGISCHE DIFFERENZIERUNG	42
3.2.6 HEMMTEST	54
3.2.7 STATISTISCHE AUSWERTUNG	55
4 ERGEBNISSE	57
4.1 AIROTESTER-VERSUCHE	57
4.1.1 MIKROORGANISMEN AUF LUFTFILTERPROBEN	57
4.1.2 MYKOLOGISCHE DIFFERENZIERUNG	79
4.2 HEMMTEST	87
4.2.1 EINFLUß DES LUFTFILTERMATERIALS AUF DAS WACHSTUM DES PILZMYZELS	88
5 DISKUSSION	90
5.1 ÜBERLEBENSVERHALTEN VON MIKROORGANISMEN AUF LUFTFILTERN RAUMLUFTTECHNISCHER ANLAGEN	90
5.1.2 EINFLUß DES LUFTFILTERMATERIALS	92
5.1.3 EINFLUß DER KLIMATISCHEN PARAMETER	94
5.2 ABUNDANZ UND ARTENSPEKTRUM VON PILZEN AUF LUFTFILTERN	96
6 SCHLUßFOLGERUNGEN	103
7 ZUSAMMENFASSUNG	105
8 SUMMARY	107
9 ANHANG	109
10 LITERATUR	123

DANKSAGUNG

135

LEBENSLAUF

136

Verzeichnis verwendeter Abkürzungen

<i>A.</i>	<i>Aspergillus</i>
Abb.	Abbildung
AIDS	Acquired immuno-deficiency syndrome
a _w -Wert	Wasseraktivität
<i>C.</i>	<i>Cladosporium</i>
cm	Zentimeter
CMA	Cornmeal agar
df	Degree of freedom
DG-18	Dichloran-18% Glycerin-Agar
DIN	Deutsches Institut für Normung, Berlin
g	Gramm
GF	Glasfaserfilter
h	Stunde
IL	Interleukin
KBE	Koloniebildende Einheiten
l	Liter
LT	Lufttemperatur
m	Meter
min	Minute
ml	Milliliter
mm	Millimeter
MQ	Mean Square
n	Probenumfang
p	Signifikanzniveau
<i>P.</i>	<i>Penicillium</i>
PC	Personal Computer
pH	"pondus hydrogeni", negativer, dekadischer Logarithmus der Wasserstoffionenkonzentration
rLF	relative Luftfeuchtigkeit
RLT	Raumluftechnische Anlage

SF	Synthesefaserfilter
SNA	Synthetic nutrient agar
<i>spec.</i>	Species
<i>spp.</i>	Species (Plural)
SQ	Sum of Squares
TNF	Tumornekrosefaktor
UV	Ultraviolett
VOC	Volatile organic compound
WHO	World Health Organization
Z	Erwartungswert
ZNS	Zentralnervensystem

1 EINLEITUNG

Vor dem Hintergrund zunehmender Bedeutung mechanischer Belüftung von Innenräumen durch raumluftechnische (RLT-)Anlagen werden die Luftfilter dieser Anlagen als wichtige Risikofaktoren für Kontaminationen der Innenraumluft diskutiert. Vor allem aerogen übertragene Infektionen und die Auslösung allergischer Reaktionen bei Mensch und Tier werden in diesem Zusammenhang immer häufiger beobachtet.

Als Ursache dafür ist die auf Luftfiltern stattfindende Abscheidung von Staub und biogenen Bestandteilen sowie die Akkumulation von lebenden und toten Mikroorganismen zu sehen, die zu gesundheitsrelevanten Belastungen der Innenraumluft führen können.

RLT- Anlagen erfüllen klimaphysiologische und infektionsprophylaktische Aufgaben in Einrichtungen des Gesundheitswesens, an Arbeitsstätten der Lebensmittel- und Pharmaindustrie sowie den Bereichen Tierproduktion und Versuchstierkunde. Neben einem angemessenen Luftaustausch durch RLT- Anlagen zur Schaffung eines möglichst optimalen Mikroklimas muß in den vorher genannten Bereichen der Transfer von Mikroorganismen zwischen den einzelnen Arbeits- bzw. Stallbereichen verhindert werden. Ebenso muß die Rezirkulation von infektiösen oder allergenen biologischen Stoffen durch die Luftfilter verhindert und die in der Regel mit Verunreinigungen belastete Fortluft so in das Freie geführt werden, daß eine mögliche Belästigung oder die Verbreitung aerogen übertragbarer Infektionen vermieden werden.

In der vorliegenden Arbeit sollen die Konzentrationen und das Überlebensverhalten von Mikroorganismen auf Luftfiltern für RLT- Anlagen mit Hilfe von Airotestern, Testgeräten zur Prüfung der Luft, untersucht werden. Den Airotestern werden in unterschiedlichen Intervallen Luftfilterproben entnommen, die hinsichtlich der auf ihnen zu findenden Pilze und Bakterien quantitativ analysiert werden. Schwerpunkt der Untersuchung liegt dabei beim mykologischen Aspekt, da zunehmend gesundheitsschädliche Effekte durch Pilzsporen und -hyphen sowie durch Mykotoxine in der Innenraumluft beobachtet werden. Deshalb erfolgt, soweit möglich, eine Differenzierung der auf den Luftfiltern zu findenden Pilze bis zur Genus-, in einzelnen Fällen Speziesebene, da es wichtig ist, zwischen Pilzen zu unterscheiden, die als Erreger opportunistischer Mykosen in Frage kommen, deren allergenes Potential als hoch gilt oder die als sekundäre Metaboliten Mykotoxine bilden.

2 LITERATUR

2.1 Bedeutung raumluftechnischer Anlagen für das Innenraumklima

Raumluftechnische (RLT-) Anlagen erfüllen in Einrichtungen des Gesundheitswesens, an Arbeitsstätten der Lebensmittel- und Pharmaindustrie sowie in Bereichen der Tierproduktion und Versuchstierkunde wichtige klimaphysiologische und infektionsprophylaktische Aufgaben. Neben der Aufrechterhaltung des erforderlichen Raumklimas, an das - je nach Funktionseinheit - verschiedene Anforderungen gestellt werden, dienen RLT-Anlagen der Elimination von Partikeln, Staub und Mikroorganismen, aber auch von Gasen und Geruchsstoffen aus der Raumluf (Knoll, 1995).

Seit Beginn der 80er Jahre mehren sich in der Fachpresse Berichte über allergische Reaktionen und aerogen übertragene Infektionen bei Mensch und Tier, die im Zusammenhang mit dem Innenraumklima stehen (Spengler und Sexton, 1983). Unspezifische Symptome, die auf **gesundheitsrelevante Wirkungen des Innenraumklimas** zurückzuführen sind, werden als "Sick Building Syndrom" bezeichnet. Laut einer Definition der WHO (1983) charakterisieren sensorische, olfaktorische und gustatorische Irritationen sowie neurologische und dermatologische Symptome und unspezifische Hypersensibilität das "Sick Building Syndrom". In umfangreichen epidemiologischen Studien (Skov et al., 1990; Zweers et al., 1992) wurden zahlreiche Faktoren ermittelt, die mit dem Auftreten dieser unspezifischen Symptome im Zusammenhang stehen. Unter den Risikofaktoren erwies sich die Lüftung als wichtigster Parameter. Gebäude, die mit raumluftechnischen Anlagen ausgestattet waren, zeigten eine erhöhte Symptomprävalenz der Bewohner gegenüber solchen Gebäuden, die natürlich belüftet wurden (Robertson et al., 1985).

Neben diesen unspezifischen Symptomen spielen im Zusammenhang mit gesundheitsrelevanten Wirkungen des Innenraumklimas ebenso aerogen übertragene Infektionen eine wichtige Rolle (s. Tab 1).

Tabelle 1: Wichtige aerogen übertragbare Infektionserreger

Aerogen übertragbare Infektionserreger		
kurzer Übertragungsweg	längerer Übertragungsweg	weiter Übertragungsweg
<i>Bordetella pertussis</i>	<i>Coxiella burnetii</i>	<i>Bacillus anthracis</i>
<i>Streptococcus spp.</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Coccidioides immitis</i>
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	<i>Histoplasma capsulatum</i>
Influenza -Virus	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Aspergillus spp.</i>
Morbilli-Virus	Varicella-Virus	
Variola-Virus		

Auf die Bedeutung von RLT-Anlagen im Zusammenhang mit aerogen übertragenen pathogenen Mikroorganismen weist der Erlaß des Bundesgesundheitsamts (BGA-Richtlinie, 1993) hin, der im Jahre 1993 unter dem Eindruck vermehrt aufgetretener nosokomialer Aspergillus-Infektionen mit Todesfolgen in Krankenhäusern herausgegeben wurde. Dieser Erlaß legt bauliche und funktionelle Anforderungen bei der Installation von RLT-Anlagen in den **Einrichtungen des Gesundheitswesens** fest, in denen spezielle Reinraumverhältnisse erforderlich sind.

Weitere Bereiche, in denen die Bereitstellung hoher Zuluftqualität durch RLT-Anlagen gewährleistet sein muß, sind verarbeitende **Arbeitsstätten der Lebensmittelindustrie**. Neben der Aufgabe der Überwachungsorgane des Verkehrs mit Lebensmitteln, den Verbraucher vor Schädigungen, Gefährdungen und Täuschungen zu schützen, rückt die Aufgabe, vermeidbare Belastungen zu verhindern, in letzter Zeit verstärkt in den Vordergrund. Vorbeugender Verbraucherschutz ist nur möglich, wenn Kontaminationsquellen möglichst früh aufgedeckt werden. Reuter (1996) weist darauf hin, daß bei der Fleischgewinnung neben anderen hygienewidrigen Konstruktionsmerkmalen der technischen Ausstattung ungenügende Belüftungs- und Feuchtigkeitsregulierung der Raumluft sowie aerogene Kontaminationen durch nicht wartungsgerechte Anlagen zu wichtigen hygienischen Risikofaktoren gehören. Ganz besonders im Bereich der Geflügelproduktion sind durch den tiefgreifenden Wandel von kleinbäuerlichen Haltungsformen zu industriemäßig betriebener Mast (bis zu 30.000 Tiere pro Stall oder Abteilung) und nahezu vollmechanisierter Schlachtung mit Stundenkapazitäten von mittlerweile 8000 Tieren die Risiken großräumiger Fehlentwicklungen auf dem Hygienesektor gestiegen (Weise, 1996).

Ebenso erfolgt in der **Tierproduktion** zunehmend eine Modifikation des Stallklimas mit Hilfe raumluftechnischer Anlagen, da bei der heute üblichen Populationsdichte in der Schweine- und Geflügelproduktion die künstliche Belüftung der Ställe notwendig geworden ist, um einen angemessenen Luftaustausch und die Verteilung der Luft im Raum sicherzustellen. Darüberhinaus muß der Transfer von Mikroorganismen zwischen den einzelnen Stallbereichen eines Betriebs minimiert werden, wobei besonders die Quarantäne- und Jungtierställe eine Rolle spielen, da hier "low-level"-Infektionen von Bedeutung sind. Umfangreiche Studien weisen außerdem auf einen Zusammenhang zwischen Staub-, Bakterien-, Pilz- und Endotoxingehalt in der Stallluft und respiratorischen Erkrankungen bei Geflügel- und Schweinezüchtern hin (Heederik et al., 1991; Clark et al. 1983), weshalb die Elimination von Partikeln und Mikroorganismen aus der Stallluft auch in Hinblick auf die in diesem Bereich Beschäftigten angezeigt ist.

Auch in der **Versuchstierkunde** kommen raumluftechnische Anlagen zum Einsatz. Hier dienen sie in Tierlaboratorien der Aufrechterhaltung eines möglichst optimalen Mikroklimas für die Versuchstiere und der Filterung der Innenraum- und Fortluft. Dies ist von besonderer Bedeutung, da die in diesen Einrichtungen eingesetzten Mikroorganismen, Chemikalien und unter Umständen Radioisotope ein hohes Gefährdungspotential darstellen. Das amerikanische NATIONAL RESEARCH COUNCIL (1997) weist darauf hin, daß bei Beschäftigten in Tierlaboratorien zunehmend allergische Erkrankungen aufgrund einer Sensibilisierung durch Allergene von Versuchstieren oder Einstreu auftreten, weshalb effektive Luftfilterungssysteme auch in dieser Hinsicht die Belastung der Raumluft senken müssen.

Darüber hinaus spielt die künstliche Beeinflussung des Innenraumklimas im Zusammenhang mit der **Tierhaltung in Zoologischen Gärten** eine wichtige Rolle. Die Haltung z. B. von antarktischen Pinguinen ist in unseren Breiten nur in einem gefilterten und gekühlten "Klima-Biotop" zu vertreten. Durch die nahezu keimfreie Luft in ihrem natürlichen Lebensraum Antarktis sind diese Vögel bei Haltung in Gefangenschaft prädestiniert für bakterielle und mykotische Erkrankungen des Respirationstrakts (Eulenberger, 1995). Sektionen der Königspinguine des Leipziger Zoos ergaben bei 42% der Vögel eine Lungen-Aspergillose (Eulenberger und Schütze, 1991), was auf die hohe Bedeutung der Lufthygiene bei der Haltung dieser Tiere hinweist.

2.1.1 Bauelemente raumluftechnischer Anlagen als Risikofaktoren für Kontaminationen der Raumluf

Um optimale Hygieneverhältnisse für Menschen und Tiere in von RLT-Anlagen belüfteten Innenräumen zu erreichen, werden durch DIN-Normen, Verordnungen und Empfehlungen Anforderungen an Installation, Betrieb und Wartung dieser Anlagen gestellt (DIN 1946, Teil 2, 1994; BGA-Richtlinie 6.9, 1993). Vor dem Hintergrund der Problematik zunehmender allergischer Reaktionen und aerogen übertragener Infektionen im Zusammenhang mit gesundheitsrelevanten Wirkungen des Innenraumklimas besteht jedoch Klärungsbedarf hinsichtlich der allergenen und mikrobiellen Belastung der Raumluf durch raumluftechnische Anlagen. Nachfolgend werden die wichtigsten Bauelemente raumluftechnischer Anlagen und deren Problematik in Hinblick auf Kontaminationen der Raumluf erläutert. Die Luftfilter raumluftechnischer Anlagen werden in Abschnitt 2.1.2 besprochen, da sie sich als die wichtigsten Risikofaktoren für mikrobielle und allergene Belastungen der Raumluf herausgestellt haben und deshalb ausführlicher besprochen werden sollen.

- **Außenluftansaugung**

Die Ansaugung von Staub, Ruß, Gerüchen, Abgasen oder Fortluft muß vermieden werden. DIN 1946, Teil 2 (1994) fordert, daß die Öffnungen der Außenluftansaugung mindestens 3 Meter über der Erdoberfläche liegen. Ansaugöffnungen in Gruben sind nicht zulässig. Eine mögliche Interaktion zwischen Außenluftansaugung und Fortluftaustrittsöffnung muß vermieden werden.

- **Fortluftaustrittsöffnung**

Die in der Regel mit Verunreinigungen belastete Fortluft muß so in das Freie geführt werden, daß ein Wiederansaugen ebenso wie eine geruchliche Belästigung oder aerogene Übertragung von Infektionen vermieden werden. Diesbezüglich unzureichende Gegebenheiten waren z. B. Ursache für das Auftreten von Legionellenerkrankungen (Mühlenberg, 1988).

- **Luftbefeuchter und Luftkühler**

In raumluftechnischen Anlagen kann es bei unzureichender Wartung im Sediment der Luftbefeuchter zu einer massiven Ansiedlung von Mikroorganismen kommen. Von hier aus können die Mikroorganismen in den Luftstrom abgegeben werden. Darüber hinaus kommt es zu einer Belastung der angefeuchteten Luft mit Allergenen und Pyrogenen

mikrobiellen Ursprungs, die z. B. Ursache für das Befeuchterfieber, eine exogene allergische Alveolitis, sind (Baur, 1989). Umlaufsprühbefeuchter sind in dieser Hinsicht besonders problematisch, da die Mikroorganismen in den Befeuchteraggregaten, im Gegensatz zu Dampfbefeuchtern, nicht durch Erhitzung abgetötet werden. Nach DIN 1946, Teil 2 (1994) muß das Wasser in Luftbefeuchtern Trinkwasserqualität haben. Um diese Qualität zu erreichen, werden neben physikalischen Verfahren (UV-Bestrahlung, thermische Behandlung) häufig Biozide eingesetzt, deren toxikologische Unbedenklichkeit nur bedingt gesichert ist. Roßkamp (1990) weist darauf hin, daß raumluftechnische Anlagen offene Systeme sind und mit entsprechenden Analyseverfahren Biozidgehalte in der Raumluf festgestellt werden können. Obwohl die festgestellten Biozidkonzentrationen in der Raumluf keine akute Gesundheitsgefährdung bedeuteten, sind Reaktionen im Sinne des "Sick Building Syndroms" nicht auszuschließen.

- **Luftleitungen**

Die Ansammlung von Schmutz und Kondenswasser in den Luftleitungen kann Mikroorganismen das Wachstum in den Luftleitungen ermöglichen. Yang (1996) berichtet von starkem Pilzwachstum in der Glasfaserdämmung von Luftleitungen, Pasanen (1997) konnte aus Staub, der den Luftleitungen raumluftechnischer Anlagen entnommen wurde, sowohl Pilzmyzel als auch Pilzsporen isolieren.

2.1.2 Mikroorganismen auf Luftfiltern raumluftechnischer Anlagen

Durch die auf Luftfiltern stattfindende **Abscheidung von Staub, biogenen Bestandteilen und Mikroorganismen** werden diese Bauelemente raumluftechnischer Anlagen als wichtigste Risikofaktoren im Zusammenhang mit gesundheitsschädigenden Effekten des Innenraumklimas diskutiert. Die auf den Luftfiltern abgeschiedenen organischen Substanzen und die relative Luftfeuchtigkeit der durchströmenden Außenluft bieten das für Wachstum von Bakterien und Pilzen nötige Substrat bzw. Wasser und ermöglichen somit möglicherweise Wachstum und Vermehrung dieser Mikroorganismen auf Luftfiltern. Der Einfluß des a_w -Werts, d. h. von nicht osmotisch gebundenem Wasser, auf das Wachstum zum Beispiel von *Aspergillus niger* und *Eurotium spp.* geht aus Abbildung 1 hervor. Es ist deutlich zu erkennen, daß der minimale a_w -Wert für *Aspergillus niger* bei 0,85 und für die xerophile Pilzspezies *Eurotium* bei 0,75 liegt. Für Bakterien liegen die für ein Wachstum mindestens

erforderlichen a_w -Werte z. B. bei 0,85 (*Staphylococcus aureus*) und 0,9 (*Salmonella spp.*) (Abbildung 2).

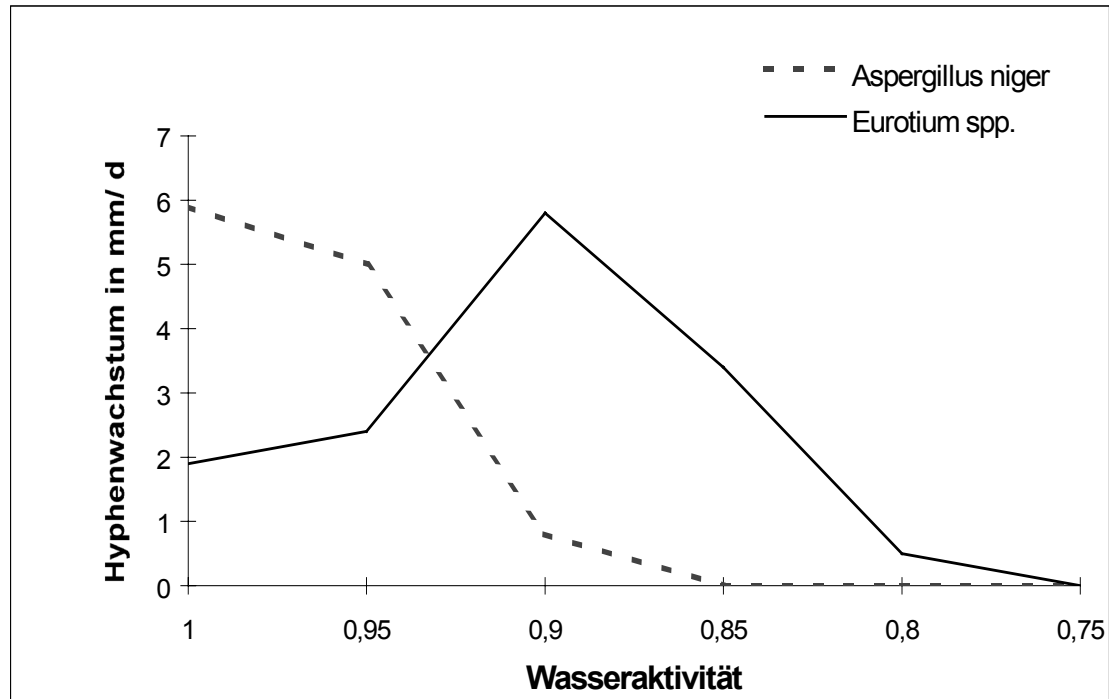


Abbildung 1: Einfluß der Wasseraktivität (a_w -Wert) auf das Hyphenwachstum in cm von *Aspergillus niger* und *Eurotium spp.* (Aus: Samson, R. A., Reenen-Hoekstra, E. S., 1988)

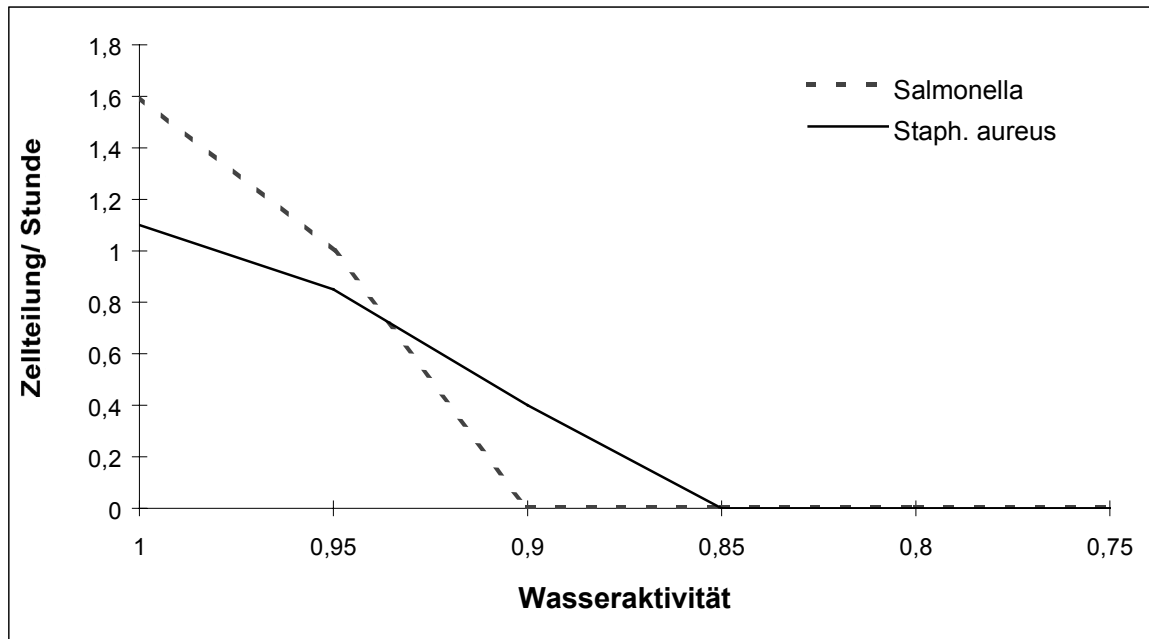


Abbildung 2: Einfluß der Wasseraktivität (a_w -Wert) auf die Zellteilung von *Salmonella* spp. und *Staphylococcus aureus* (Aus: Samson, R. A., Reenen-Hoekstra, E. S., 1988)

Bei gutem Rückhaltevermögen können somit hohe Mikroorganismenkonzentrationen auf Luftfiltern gefunden werden, wodurch ebenfalls hohe Quantitäten der bei der Zellyse von gram-negativen Bakterien freiwerdenden **Endotoxine** sowie von Pilzen stammende **Lysisprodukte** und **Mykotoxine** in die Reinraumluft gelangen können, da diese nicht durch die Luftfilter zurückgehalten werden. Endotoxine führen bei Menschen und Tieren nach Inhalation zu Mediator-vermittelten Schädigungen des Respirationstrakts bis hin zu chronischen Lungenfunktionsstörungen (Harkema und Hotchkiss, 1991; Olenchock, 1997). Die durch Inhalation oder Ingestion von Pilzhypen, -sporen und Mykotoxinen verursachten Gesundheitsschädigungen werden ausführlich unter 2.2.2 behandelt.

Der Frage der **Vermehrung von Mikroorganismen** auf Luftfiltern raumluftechnischer Anlagen wurde in folgenden Studien nachgegangen: Rügen und Botzenhart (1974) bestimmten die Mikroorganismenkonzentration auf den Luftfiltern einer laufenden RLT-Anlage. Unabhängig von der Standzeit der Luftfilter konnte dabei ein Absterben der gemessenen Bakterien und ein Überleben von Sporenbildnern und Pilzen beobachtet werden. Weitere Untersuchungen der Autoren ergaben, daß bei fehlender Durchströmung der Luft-

filter, aber sonst gleichen Versuchsbedingungen, mehr Mikroorganismen auf den Luftfiltern überlebten, wohingegen hohe relative Luftfeuchtigkeiten ($> 70\%$ rF) bei sonst gleichen Versuchsbedingungen zu einem stärkeren Absterben der Mikroorganismen führten. Reckzeh und Dontenwill (1974) konnten bei experimentellen Studien an Luftfiltern, die über einen Zeitraum von 26 Monaten bei relativen Luftfeuchtigkeiten von ca. 60% durchströmt wurden, weder auf der reinluftseitigen Oberfläche noch in der Reinluft hinter den Luftfiltern Mikroorganismen nachweisen. Schmidt-Lorenz et al. (1981) konnten jedoch nach Beaufschlagung von Hochleistungs-Schwebstofffiltern mit organischen Nährstoffen und Pilzsporen (relative Luftfeuchtigkeit $> 70\%$) ein Durchwachsen des Filtermaterials nachweisen. Elixmann (1989) stellte mit Hilfe semiquantitativer Luftkeimzahlbestimmungen fest, daß in der Luft hinter Luftfiltern eine höhere Konzentration von Pilzen gemessen werden konnte als vor den Luftfiltern. Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen wiesen sowohl roh- als auch reinluftseitig Pilzhypen nach. Der Autor schloß daraus, daß Pilze Luftfilter durchwachsen und an der Reinluftseite sporulieren können. Weitere Versuche mit Staubextrakten führten zu der Aussage, daß Pilze den auf den Luftfiltern abgeschiedenen Staub als Substrat verwenden können.

In Laborversuchen untersuchten Kemp et al. (1995) bei Durchströmung mit Außenluft das Wachstum von Mikroorganismen auf Glasfaser- und Polymerfaserfiltern sowie einem zweistufigen Elektrofilter. Über einen Zeitraum von einem Jahr konnte dabei kein Wachstum von Bakterien und Pilzen auf den Luftfiltern beobachtet werden. Anschließend wurden die nun mit Staub beladenen Luftfilter bei konstant hoher relativer Luftfeuchtigkeit (90% rF) durchströmt. Bereits nach sechs Wochen konnte auf den Luftfiltern aus Glas- und Polymerfasermaterial sowohl roh- als auch reinluftseitig Wachstum von Pilzen gemessen werden. In der darauf folgenden Versuchsanordnung (Kemp et al., 1995) wurden die gleichen Luftfiltermaterialien, diesmal unbeladen, bei konstant 21°C und 90% rF durchströmt und künstlich mit *Cladosporium*-Sporen und *Flavobacterium bacteria* beaufschlagt. Bei nur minimaler Staubbeladung durch die durchströmende Luft trat nach einem Jahr schwaches Wachstum von *Cladosporium spp.* auf der rohluftseitigen Oberfläche des Glasfaserfilters auf. Nach zusätzlicher Beaufschlagung der drei verwendeten Luftfiltermaterialien mit einer Nährstofflösung und Durchfeuchtung der Luftfilter (100% rF) konnte bereits nach 21 Tagen deutliches Hyphenwachstum festgestellt werden.

Untersuchungen in geschlossenen Klima-Filter-Prüfständen hinsichtlich des Einflusses der klimatischen Parameter Lufttemperatur und relative Luftfeuchtigkeit auf das Wachstum von Mikroorganismen auf Luftfiltern (Möritz, 1996) zeigten, daß periodisch schwankende Klimabedingungen und Durchströmung der Luftfilter zu einem raschen Absterben aller Mikroorganismen führten, wohingegen es bei lang anhaltender hoher relativer Luftfeuchtigkeit zu einer Vermehrung der Mikroorganismen auf den Luftfiltern kam (Neumeister, 1996).

Anhand der vorhandenen Literatur und der bisher durchgeführten wissenschaftlichen Untersuchungen lassen sich nach wie vor Wissensdefizite bezüglich des **Einflusses der Filterstandzeit und der Filtermaterialien** auf das Überlebensverhalten von Mikroorganismen feststellen. Kemp et al. (1995) konnten auf verschiedenen Luftfiltermaterialien auch ein unterschiedliches Wachstum von Mikroorganismen beobachten, Möritz (1996) dagegen stellte keinen Einfluß der Filterstandzeit oder des Filtermaterials fest. Teijonsalo et al. (1996) hingegen weisen in ihren Versuchen Unterschiede bezüglich der abgeschiedenen Staubmenge und damit der Substratmenge auf den Filtermaterialien Glas- und Synthesefaser nach. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit soll deshalb geklärt werden, ob es bei Durchströmung mit Außenluft und den damit verbundenen saisonal schwankenden Klimabedingungen zu einem Überleben von Bakterien und Pilzen auf Luftfiltern kommt und inwieweit die Filterstandzeit und das Filtermaterial einen Einfluß darauf haben, ob Mikroorganismen sich auf Luftfiltern vermehren oder absterben.

2.1.3 Messung von Mikroorganismen auf Luftfiltern raumluftechnischer Anlagen

Um eine Aussage über das **Überlebensverhalten von Mikroorganismen** auf Luftfiltern machen zu können, war es notwendig, beladene Luftfilter zu untersuchen. Die benötigten Luftfilterproben wurden mit Hilfe von beweglichen Testausrüstungen für Luftproben, sogenannten Airotestern, gewonnen. Mit Airotestern ist im Gegensatz zu Luftproben, die durch Ansaugen einer bestimmten Luftmenge durch Feinstfilter erfolgen, eine Messung über einen längeren Zeitraum möglich. Außerdem kann der Luftdurchfluß dem einer raumluftechnischen Anlage entsprechend eingestellt werden, so daß mit Hilfe der Airotester gewonnene Ergebnisse auf raumluftechnische Anlagen übertragbar sind. Darüber hinaus erlauben diese Geräte eine Untersuchung der Luft mit Hilfe verschiedener

Filtermaterialien. Diese Filtermaterialien können entweder hintereinander oder nebeneinander in die Geräte eingesetzt und auch während des Betriebs der Airotester jederzeit gewechselt werden.

Zur anschließenden quantitativen und qualitativen Messung der Mikroorganismen auf den Luftfilterproben, die den Airotestern entnommen wurden, wurde die Schüttelmethode von Möritz und Martiny (1997) angewendet. Abklatsch- und Abstrichuntersuchungen, wie sie z. B. in den Studien von Kemp et al. (1995) oder Heinemann et al. (1994) angewendet wurden, liefern nur semiquantitative Ergebnisse, wohingegen mit Hilfe der Schüttelmethode auch ein quantitativer Nachweis von Bakterien und Pilzen möglich ist. Da die Verteilung der Mikroorganismen auf der Luftfilterfläche inhomogen ist, ist aus statistischen Gründen die Untersuchung von größeren Flächen notwendig, so daß mikroskopische Verfahren (Heikkilä et al., 1988) sehr aufwendig und damit auch von Nachteil wären.

2.2 Klinische Bedeutung von Pilzen in der Raumluft

In der vorliegenden Arbeit wird das Überleben von Mikroorganismen auf Luftfiltern raumluftechnischer Anlagen schwerpunktmäßig unter mykologischem Aspekt untersucht, da **Pilze in der Raumluft als Pathogene und Allergene** zunehmend an Bedeutung gewinnen. Da Pilzsporen und Hyphenfragmente, die aerogen übertragen werden, in der Luft jedoch nur für einen begrenzten Zeitraum überlebensfähig sind, ist es wichtig, die Kontaminationsquelle lokalisieren zu können. Vor dem Hintergrund der Behauptung Elixmanns (1989), daß Pilzmyzelien Luftfiltermaterial durchwachsen und auf der Reinfluftseite sporulieren können, bedarf deshalb das Überlebensverhalten sowie die Abundanz und das Artenspektrum von Pilzen auf Luftfiltern weiterer Abklärung, um deren Bedeutung für Kontaminationen des Innenraumklimas klären zu können. Die für Menschen und Tiere pathogenen und allergenen aerogen übertragenen Pilze sowie toxische sekundäre Stoffwechselmetaboliten werden nachfolgend kurz erläutert.

2.2.1 Mykosen durch aerogen übertragene Pilze

Mykosen durch aerogen übertragene Pilze können in zwei Kategorien eingeordnet werden: **endemische Mykosen** und **opportunistische Mykosen**. Endemische Mykosen stehen im

Zusammenhang mit dem geographischen Vorkommen bestimmter obligat pathogener Pilze, die aerogen übertragen werden und deren Sporen nach Inhalation, Ingestion oder Hautkontakt zu einer Infektion führen. Aus Tabelle 2 gehen die diesbezüglich human- und veterinärmedizinisch relevanten Pilze hervor.

Tabelle 2: Aerogen übertragene, obligat pathogene Pilze sowie die von ihnen verursachten Mykosen und deren Organmanifestation

Spezies	Erkrankung	Vorkommen	Betroffene Organe
<i>Blastomyces dermatitis</i>	Blastomykose	Mensch	Lunge, Haut, Schleimhäute, Knochen, Gelenke
		Hund	- " -
<i>Coccidioides immitis</i>	Kokzidiomykose	Mensch	Lunge, Haut, innere Organe, ZNS
		Rind, Hund, Nager	- " -
<i>Cryptococcus neoformans</i>	Kryptokokkose	Mensch	Lunge, Haut, innere Organe, ZNS
		Hund, Katze, Pferd	- " -
		Rind, Ziege	- " -
			selten: Eutercryptococcose
<i>Histoplasma capsulatum</i>	Histoplasmose	Mensch	Retikuloendotheliales System, Lunge, Haut, Knochen
		selten: Pferd, Rind, Hund, Katze	- " -
<i>Histoplasma farciminosum</i>	Pseudorotz	Einhufer	Retikuloendotheliales System, respiratorische Schleimhäute

Darüber hinaus gewinnen Pilze, die Erreger opportunistischer Mykosen sind, zunehmend an Bedeutung. Diese Pilze sind fakultativ pathogen, ihr Vorhandensein in der Luft stellt hauptsächlich für Menschen und Tiere mit prädisponierenden Faktoren, z. B. durch schlechte Lebens- bzw. Haltungsbedingungen, chronische Erkrankungen oder durch Gabe von Chemotherapeutika, eine Gefahr dar. Auf Transplantations- und Intensivstationen von Krankenhäusern sind deshalb nosokomiale Infektionen durch Pilze als wichtige Risikofaktoren zu sehen. Ebenso führen die oftmals unzureichenden Haltungsbedingungen in der Massentierhaltung häufig zu opportunistischen Mykosen.

In Mitteleuropa spielen bei den aerogen übertragbaren Pilzen in erster Linie die *Aspergillus*-Spezies *A. fumigatus*, *A. flavus* und *A. niger* sowie die Erreger der Mucormykosen, hervorgerufen durch Vertreter der vier Gattungen *Absidia*, *Mortierella*, *Mucor* und *Rhizopus*, eine Rolle. Im nachfolgenden werden kurz Epidemiologie und Pathologie/ Klinik der opportunistischen Mykosen (Aspergillose, Mucormykose) erläutert.

2.2.1.1 Aspergillose

Epidemiologie

Die Manifestation der Aspergillose ist zum einen von der Anzahl eingeatmeter Sporen abhängig, weshalb eine besondere Gefährdung für Mensch und Tier besteht, wenn es durch technische Mängel von raumluftechnischen Anlagen oder bauliche Schäden (Pilzbefall der Wände) zu hohen Kontaminationen der Innenraumluf durch Pilzsporen von *A. fumigatus*, *A. flavus* und *A. niger* kommt oder wenn Futtermittel und Einstreu durch unsachgemäße Lagerung von Aspergillen befallen sind. Zum anderen spielen prädisponierende Faktoren eine wichtige Rolle. Wie bereits oben angeführt, stellen nosokomiale Aspergillus-Infektionen bei immunsupprimierten und intensivmedizinisch betreuten Patienten zunehmend ein Problem dar (Lie et al., 1987), wobei sich defekte raumluftechnische Anlagen, Baumaßnahmen innerhalb der Krankenhäuser bis hin zur Blumenerde von Topfpflanzen (Staib, 1984) als Infektionsquellen herausgestellt haben. Bei der heutigen Massentierhaltung sind Stallklima und Fütterung als prädisponierende Faktoren ausschlaggebend: Aspergillosen sind häufig zu beobachten, wenn Tiere auf engem Raum gehalten werden und als Einstreumaterial Abfälle der Holzverarbeitenden Industrie (z. B. Sägespäne) verwendet werden, die neben der erhöhten Staubentwicklung bei Intensivhaltung Grund für Läsionen der respiratorischen Schleimhaut sind. Minderwertige, verschimmelte Futtermittel aus landwirtschaftlichen Abfällen (Mais, Zuckerrohr, Erdnüsse) können unter diesen Umständen seuchenartige Krankheitsverläufe verursachen. Dies trifft vor allem auf Geflügel zu, da das Hohlraumssystem der aviären Atmungsorgane optimale Lebensbedingungen für Pilze bietet.

Pathologie/ Klinik

Die aerogene invasive Aspergillose führt beim **Menschen** nach Kolonisierung der Lunge zu einem akuten Verlauf mit hämatogener Dissemination. Extrapulmonale Absiedlungen

sind in praktisch allen Organen (Herz, ZNS, Leber, Niere, Milz, Thyreoidea, Prostata usw.) möglich (Hawkins und Armstrong, 1984; Kwon-Chung und Bennett, 1992). Bei Tieren ist die Aspergillose, wie bereits oben erwähnt, am häufigsten bei **Vögeln** zu diagnostizieren. Hier kommt es zu nekrotisierenden oder/ und granulomatösen Entzündungsprozessen primär im Bereich der Bronchien, der Lunge und der Luftsäcke, nach Generalisation können Gehirn, Augen, Knochen und andere Organe von krankhaften Veränderungen ebenfalls betroffen sein. Das klinische Bild zeigt ein gestörtes Allgemeinbefinden der Tiere mit Atemnot und akzessorischen Atemgeräuschen bis hin zu zentral-nervösen Ausfallserscheinungen (Siegmann, 1993). Während der Bebrütung sind Aspergillen-Infektionen des Eies möglich, die ein Absterben des Embryos oder des Kükens kurz nach dem Schlupf zur Folge haben. Vor allem Brutschränke erweisen sich in diesem Zusammenhang häufig als problematisch.

Bei Säugetieren sind Aspergillosen selten zu diagnostizieren. Erkrankungen des Respirationstrakts durch *A. fumigatus* sind vereinzelt bei **Pferd**, **Katze** und **Hund** beobachtet worden. Manifestationen des Pilzes im Verdauungsapparat konnten wiederholt bei panleukopenischen Katzen festgestellt werden, die über einen längeren Zeitraum unter Antibiotikatherapie standen (Kraft, 1990). Die Pathogenese von Aspergillus-Aborten beim **Rind** ist bisher nicht zufriedenstellend geklärt. Sowohl hämatogene Dissemination ausgehend von Herden in der Lunge (de Kruif, 1993) als auch die Infektion durch kontaminiertes Sperma bei künstlicher Besamung (Aspergillus-Sporen konnten aus Gefriersperma isoliert werden [Rolle und Mayr, 1993]) werden diskutiert. Aspergillus-Mastitiden können zu schweren Störungen des Allgemeinbefindens bei Rindern führen, die jedoch primär auf Aspergillus-Toxine zurückgeführt werden und deshalb an dieser Stelle nicht ausführlicher erläutert werden.

2.2.1.2 Mucormykose

Epidemiologie

Die Erreger der Mucormykose, Pilze der Gattungen *Absidia*, *Mortierella*, *Mucor* und *Rhizopus*, sind als Saprophyten ubiquitär verbreitet. Erkrankungen durch diese opportunistischen Pilze sind weit häufiger beim Menschen als bei Tieren zu finden. Nosokomiale Infektionen sind wesentlich seltener auf Mucorazeen zurückzuführen als auf die bereits besprochenen Aspergillus-Spezies. Prädisponierende Faktoren für Mucormykosen sind in

erster Linie Erkrankungen des Immunsystems (AIDS) (Chavanet, 1990), Leukämie (McNulty, 1982) sowie Stoffwechselstörungen (Diabetes mellitus) (Dennis, 1980).

Pathologie/ Klinik

Die klinische Manifestation der Mucormykose ist abhängig von zugrundeliegenden Erkrankungen und der Eintrittspforte des Erregers. Während vom paranasalen Sinus ausgehende rhinocerebrale und craniofaciale Mucormykosen beim **Menschen** in erster Linie bei Diabetikern gefunden werden konnten, waren von Mucorazeen verursachte Pneumonien häufiger bei AIDS- oder Leukämiepatienten zu beobachten (Kwon-Chung und Bennett, 1992). Kutane Mucormykosen bei Kindern und immunsupprimierten Patienten traten in den meisten Fällen nach operativen Eingriffen, Traumen oder Wundversorgung mit kontaminiertem Verbandsmaterial auf (White et al., 1986; Tintelnott und Nitsche, 1989; Costa, 1990).

Mucormykosen konnten bisher vereinzelt bei landwirtschaftlichen Nutztieren wie **Schwein, Rind** und **Schaf** sowie bei **Pferd, Hund, Katze** und verschiedenen **Nagetierarten** diagnostiziert werden (Ainsworth und Austwick, 1973). Man unterscheidet zwischen pulmonaler und gastrointestinaler Form, wobei die jeweiligen regionären Lymphknoten granulomatös/nekrotisch verändert sind. Nach hämatogener Dissemination kommt es zu Granulomen in Leber und Niere. Gelegentlich konnten bei Kälbern und Ferkeln diphtheroid-nekrotische Darmveränderungen beobachtet werden (Weiss, 1983). Eine besondere Form der Mucormykose ist die mykotische Plazentitis des Rindes mit daraus resultierenden Aborten.

2.2.2 Allergien durch aerogen übertragene Pilze

Pilzsporen und Hyphenfragmente können im menschlichen und tierischen Organismus zu immunpathologischen Reaktionen führen, die als spezifische Überempfindlichkeit oder Allergie bezeichnet werden. Im Zusammenhang mit dem Innenraumklima zählen Pilzsporen zu den häufigsten Verursachern allergischer Reaktionen (Pope et al., 1993). Zahlreiche epidemiologische Studien haben eine Kausalität zwischen der Exposition gegenüber bestimmten Pilz-Spezies in der Raumluft und Überempfindlichkeitsreaktionen bis hin zu chronischen Erkrankungen herstellen können. Dies traf im besonderen auf den Aufenthalt in Räumen zu, in denen eine hohe Konzentration von Pilzsporen in der Luft gemessen

werden konnte (Burge, 1990; Flannigan et al., 1991) oder in Ställen, in denen minderwertiges, verschimmelter Heu und Stroh als Futter bzw. Einstreu verwendet wurde.

Zu den allergischen Erkrankungen, die nach Kontakt bzw. Inhalation von Pilzsporen auftreten, gehören Irritationen der Schleimhäute (katarrhalische Rhinitis, Sinusitis, Konjunktivitis, Pharyngitis), Asthma und die exogen-allergische Alveolitis beim **Menschen** (Lacey, 1990) sowie akute und chronische Bronchitiden bei **Hund**, **Katze** (Kraft, 1990) und **Pferd** (Weiss und Rudolph, 1983). Grundsätzlich können alle Pilz-Spezies in Abhängigkeit von der Dosis bei atopischen Menschen oder Tieren, d. h. mit einer erblichen Überempfindlichkeit, zu allergischen Reaktionen führen. In Studien bezüglich Asthma und der exogen-allergischen Alveolitis des Menschen, die als wichtige Berufskrankheit bei Beschäftigten in landwirtschaftlichen Betrieben zu sehen ist (Farmerlunge, Taubenzüchterlunge etc.), konnten jedoch Pilzarten bzw. -gattungen bestimmt werden, deren “allergenes Potential” als besonders hoch einzustufen ist. Die in unseren Breitengraden vorkommenden Pilze und, soweit bekannt, ihre Herkunft werden in Tabelle 3 aufgeführt.

Tabelle 3: Pilze mit “hohem allergenen Potential”

Spezies	Herkunft	Referenz
<i>Acremonium spp.</i>	Luftbefeuchter	Patterson et al. (1981)
<i>Alternaria alternata</i>	Obstkühlhaus	Kroidl et al. (1984)
<i>Aspergillus (A.) clavatus</i>	Kaninchenfarm	De Closets et al. (1985)
<i>A. flavus</i>	Mais	Patterson et al. (1974)
<i>A. fumigatus</i>	Luftbefeuchter	Van Assendelft (1985)
<i>A. niger</i>	Zitronensäure-verarbeitende Fabrik	Topping et al. (1985)
<i>Aureobasidium pullulans</i>	Hauswand	Torok et al. (1981)
<i>Botrytis cinerea</i>	Weintrauben	Gravesen et al. (1994)
<i>Cladosporium spp.</i>	Hauswand	Jacobs et al. (1986)
<i>Penicillium spp.</i>	Obstkühlhaus	Kroidl et al. (1984)
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	Tabakpflanzen	Lander et al. (1985)

2.2.3 Mykotoxine in der Raumluft

Gegenwärtig sind etwa 400 toxische sekundäre Stoffwechselmetaboliten von myzelbildenden Pilzen bekannt (Samson, 1992). Diese toxischen Metaboliten, zu denen Alkaloide, Cyclopeptide und Cumarine gehören, werden als Mykotoxine bezeichnet.

Zu den wichtigsten Mykotoxinbildnern gehören *Aspergillus*-Spezies, *Penicillium*-Spezies, *Fusarium*-Spezies sowie *Stachybotrys chartarum* und *Claviceps purpurea* (

Tabelle 4). Von diesen Pilzen gebildete Toxine führen zu typischen Organschäden mit sowohl akuten als auch chronischen Erkrankungen, die nicht allergischer oder infektiöser Natur sind. Samson (1992) teilt die pathogene Wirkung von Mykotoxinen in vier Kategorien ein: akut, chronisch, mutagen und kanzerogen. Aus

Tabelle 4 gehen die einzelnen Mykotoxine und ihre pathogene Wirkung hervor. Häufig sind Stämme einer Pilz-Spezies in der Lage, mehrere verschiedene Mykotoxine zu synthetisieren, die synergistisch oder additiv wirken.

Tabelle 4: Pilze und die von ihnen gebildeten Mykotoxine sowie deren pathogene Wirkung (Yang, C. S. und Johanning, E., 1997)

Spezies	Mykotoxin	Toxizität/ Pathogenität
<i>Penicillium spp.</i>	Patulin	hämangiotoxisch
	Citrinin	nephrotoxisch
	Ochratoxin A	nephro- und hepatotoxisch
	Emodin	neurotoxisch
	Verraculogen	neurotoxisch
	Secalonic Säure D	teratogen
<i>Aspergillus spp.</i>	Patulin	hämato- und hämangiotoxisch
<i>A. flavus</i> u. <i>A. parasiticus</i>	Aflatoxin B1 und G1	<u>akut</u> : hämangio- und neurotoxisch <u>chronisch</u> : kanzerogen, mutagen
<i>A. versicolor</i>	Sterigmatocystin	kanzerogen
<i>A. ochraceus</i>	Ochratoxin A	nephro, hepato-, hämato- und neurotoxisch, immunsuppressiv
<i>Stachybotrys chartarum</i>	Trichothecene ^I	hämato-, hämangio-, hepato-, gastro und dermatotoxisch
	(mehr als 170 Derivate bekannt), z. B.:	immunsuppressiv
	T2	hämotoxisch
	Nivalenol	neurotoxisch
	Desoxynivalenol	gastro- und neurotoxisch
	Diaetoxyscirpenol	neurotoxisch
	Satratoxin	hämo-, neuro- und dermatotoxisch abortiv
	Spirolactone	hämato-gen
<i>Fusarium spp.</i>	Zearalenone	Hyperöstrogenismus
<i>Claviceps purpurea</i>	Ergotalkaloide	neurotoxisch, vasokonstriktorisch

Fußnote I: Trichothecene werden auch von teleomorphen Spezies von *Fusarium* synthetisiert

Historisch gesehen, stellen Mykotoxine vorrangig in der **Landwirtschaft** und in der **Lebensmittelindustrie** ein Problem dar. Akute und chronische Vergiftungen von Geflügel, hervorgerufen durch Aflatoxine sowie mykotoxische Nephropathien durch Ochratoxine,

Stachybotryotoxikosen und durch Zearalenone verursachter Hyperöstrogenismus spielen in diesem Zusammenhang bei landwirtschaftlichen Nutztieren eine wichtige Rolle und sind in erster Linie auf verschimmelte Futtermittel zurückzuführen (Gedek et al., 1981).

Ein weiteres Problem stellen Mykotoxine in Lebensmitteln tierischen Ursprungs dar, die aus den Tieren zugeführten Futtermitteln stammen ("Carry-over"). Zahlreiche Kraftfuttergrundlagen wie Erdnußschrot, Baumwollsaaten oder Reiskleie werden aus tropischen Ländern importiert, in denen hohe Luftfeuchtigkeit und hohe Lufttemperatur herrschen, so daß die Bildung von Mykotoxinen, insbesondere Aflatoxinen, relativ häufig auftritt. Besondere Beachtung in der wissenschaftlichen Bearbeitung findet dabei zur Zeit die vor wenigen Jahren entdeckte Gruppe der Fumonisine. Diese Mykotoxine wurden in landwirtschaftlichen Primärprodukten wie Mais nachgewiesen. Fumonisine als Stoffwechselmetaboliten von *Fusarium*-Spezies wie z. B. *Fusarium moniliforme* und *Fusarium proliferatum* haben sich in Tierversuchen als hepato- und nephrotoxisch sowie kanzerogen erwiesen (Rosner und van Egmond, 1995; Voss et al., 1998). Die von Tieren mit dem Futter aufgenommenen Mykotoxine werden anschließend im Tierkörper vor allem in Leber, Niere und Fettgewebe nachgewiesen und können auch auf Eier und Milch übergehen (Großklaus und Kaul, 1989), so daß die Aufnahme von Mykotoxinen durch den Menschen über von Tieren stammende Lebensmittel möglich ist (Bauer und Gareis, 1987; Hadlock und Wagner, 1993). Aus der Vielzahl der beschriebenen Mykotoxine stellen dabei aus heutiger Sicht vor allem Aflatoxine, Ochratoxin A, Citrinin, Patulin, Zearalenon, Deoxynivalenol, T-2-Toxin und Fumonisine ein Gefahrenpotential für den Menschen dar. Diese Mykotoxine unterliegen deshalb bereits einer staatlichen Regelung oder diese wird vorbereitend diskutiert (DFG 1990; WHO 1990). In der Regel stehen dabei nicht die relativ selten auftretenden akuten Intoxikationen einzelner Personen oder auch Tiere im Vordergrund des Interesses, sondern Langzeitaufnahmen bei größeren Verbrauchergruppen (WHO 1993). Bei der Festsetzung von Höchstmengen muß davon ausgegangen werden, daß bisher eine fundierte wissenschaftliche Grundlage häufig nicht besteht, da wesentliche Zusammenhänge zur Zeit nicht bekannt sind. Die nur zum Teil vorliegenden Risikoabschätzungen kommen in Abhängigkeit von der gewählten Methode, den Schwierigkeiten bei der Übertragung von Ergebnissen aus Tierversuchen auf den Menschen und anderen Faktoren zu sehr unterschiedlichen Ergebnissen. Trotz dieser objektiven Schwierigkeiten besteht zu Recht die Forderung, den Ver-

braucher in möglichst umfassender Weise zu schützen, ohne dabei den freien Warenverkehr unnötig zu behindern.

In der Lebensmittelindustrie spielen Pilze jedoch nicht nur als Kontaminanten eine Rolle (Bleßmann, 1992), sondern sie werden ebenso gezielt als Starterkulturen für fermentierte Lebensmittel wie z. B. Rohwürste, Rohschinken oder Käse eingesetzt. Hefen wie z. B. *Debaryomyces hansenii* führen zur Entwicklung eines typischen Hefearomas und der Stabilisierung von roter Pökelfarbe bei der Rohwurstfermentation. Isolate myzelbildender Gattungen wie z. B. *Penicillium* oder *Scopulariopsis* werden ebenfalls als Starterorganismen für fermentierte Fleischerzeugnisse verwendet, da sie durch proteolytische und lipolytische Aktivität zum charakteristischen Aussehen und Aroma dieser Lebensmittel führen sowie Ranzigkeit und Farbfehler reduzieren. Zu den unerwünschten Eigenschaften der Starterkulturorganismen gehören dagegen neben der Bildung von biogenen Aminen oder Säuren, z. B. Essig-, Ameisen- oder Bernsteinsäure, auch die Bildung von Mykotoxinen. Lustner und Eckart (1981) wiesen bei 80% der *Penicillium*-Isolate, die die Autoren von Rohwurst isoliert hatten, auf Nährmedien die Bildung von Mykotoxinen nach. Aus diesem Grunde werden derzeit nur selektierte, nicht-toxinbildende Stämme, wie z. B. "Edelschimmel Kulmbach 72" als Starterkulturen für fermentierte Lebensmittel verwendet. Erst Mitte der 80-er Jahre wurde in Untersuchungen auf die Problematik von Mykotoxinen im Zusammenhang mit **kontaminierter Innenraumluft** hingewiesen: Croft et al. (1986) konnten in einem Wohngebäude mehrere Fälle von Mykotoxikosen auf Kontaminationen der Raumluft durch *Stachybotrys chartarum* zurückführen. Weitere Fälle wurden von Johanning (1994) berichtet.

Da Mykotoxine nicht zu den flüchtigen Stoffen gehören, ist die direkte Inhalation aeroGENER Mykotoxine unwahrscheinlich. Sorenson et al. (1987) zeigten jedoch in Laborstudien, daß aerogen übertragene Sporen von *Stachybotrys chartarum* Trichothecene enthielten. Andere Autoren konnten aus den Sporen von *Aspergillus flavus* und *Aspergillus parasiticus* Aflatoxine isolieren (Wicklow und Shotwell, 1983) sowie in den Sporen von *Fusarium graminearum* und *Fusarium sporotrichoides* die Mykotoxine Deoxynivalenol und T-2-Toxin nachweisen (Miller, 1992). Diese Ergebnisse und zahlreiche neuere Studien (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, bei Menschen und Tieren zu gesundheitsschädlichen Effekten kommen kann.

3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Der Fragestellung wurde mit einer Studie nachgegangen, die sich über den Zeitraum von Januar 1996 bis Dezember 1997 erstreckte. Nachfolgend werden die im Rahmen dieser Studie eingesetzten Materialien und Geräte vorgestellt sowie eine Beschreibung des Versuchsaufbaus und der angewandten Methoden gegeben.

3.1 Material

3.1.1 Raumluftechnische (RLT-)Anlage

Die für diese Untersuchung gewählte RLT-Anlage wurde nach folgenden Kriterien ausgewählt: es mußte ein kontinuierlicher Betrieb der RLT-Anlage gewährleistet sein, ihre Außenluftkammer mußte begehbar sein und einen Stromanschluß sowie genügend Platz zum Aufstellen und Betreiben der Meßgeräte bieten. Diese Kriterien wurden von der Außenluftkammer der 1. Filterstufe der RLT-Anlage eines Berliner Universitätsklinikums erfüllt. Das Klinikum befindet sich am Rande eines innerstädtischen Parks in einem südlichen Wohnbezirk Berlins. Die Luftansaugung der RLT-Anlage erfolgt über das Dach des 6. Obergeschoß des Klinikumgebäudes in ca. 32 m Höhe des nord-westlichen Seitenflügels (Abbildung 3). Die Außenluft wird mit einem Volumenstrom von 49.400 m³/h durch eine starre Lamellen-Sichtverkleidung in die gemauerte Außenluftkammer der RLT-Anlage eingesogen, von wo aus sie auf eine Filterwand verteilt und anschließen zur zweiten Filterstufe weitergeleitet wird.

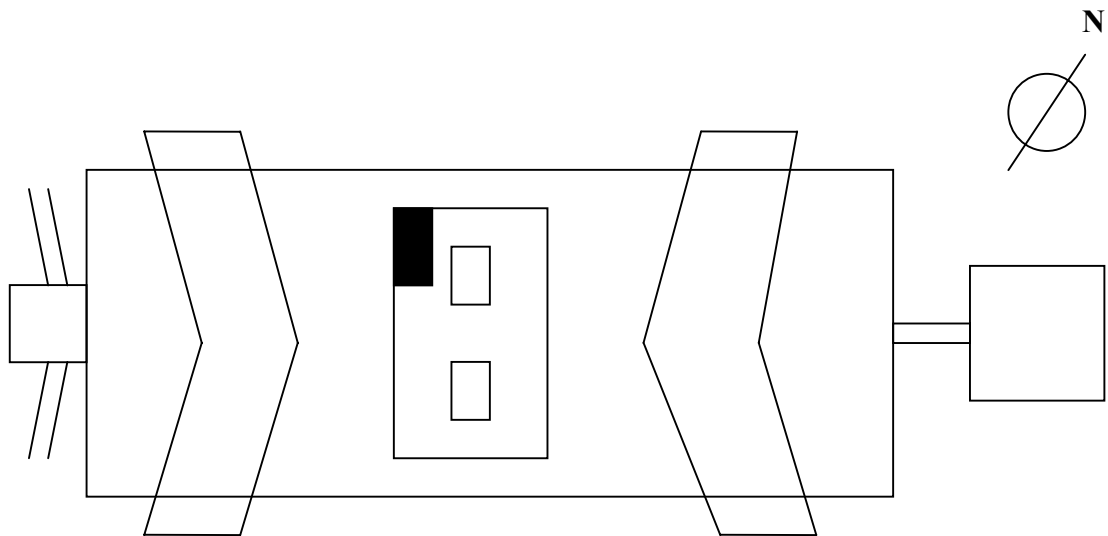


Abbildung 3: Schematischer Grundriß des Universitätsklinikums und Lokalisation der Außenluftkammer (schwarze Markierung) der in den Untersuchungen eingesetzten RLT-Anlage

3.1.2 Airotester

Die benötigten Luftfilterproben wurden mit Hilfe von Airotestern der Fa. CAMFIL, Schweden, gewonnen (Abbildung 4).

3.1.2.1 Aufbau

Der Airotester besteht aus einem Ventilatoreil, auf dem 4 Zylinder aus Plexiglas befestigt sind, durch welche Luft hindurchgesaugt wird. Auf diese Zylinder können verschiedene Luftfiltermaterialien gespannt werden (Abbildung 5).

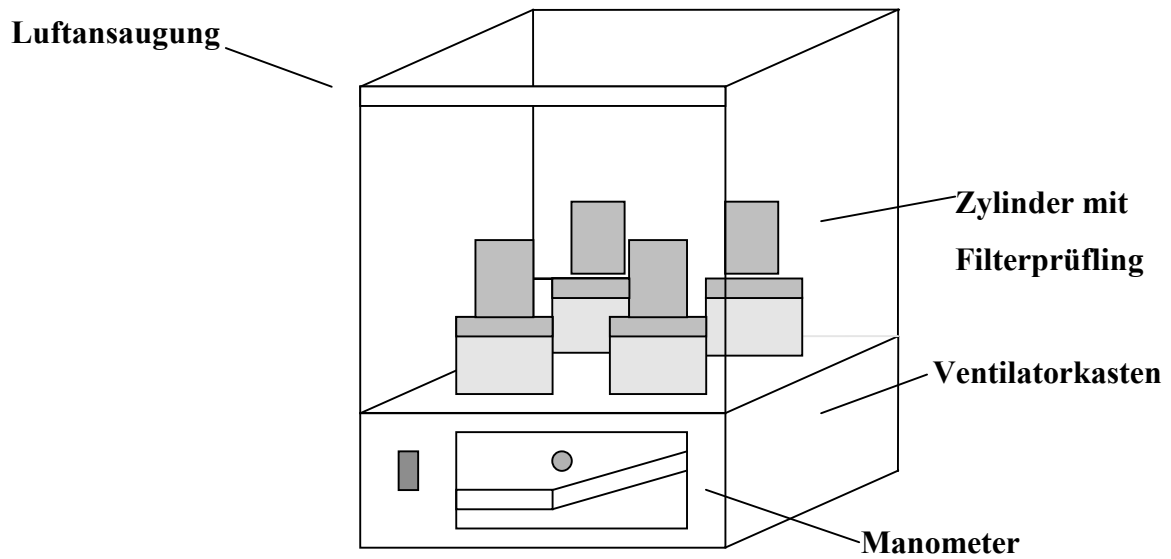


Abbildung 4: Schematischer Aufbau des Airotesters

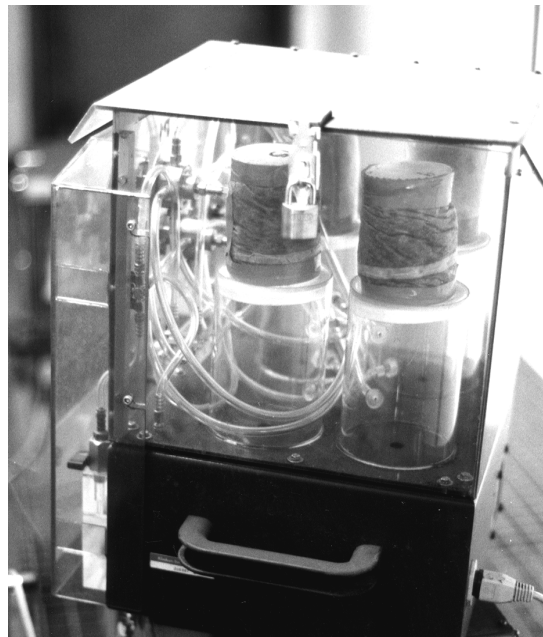


Abbildung 5: Airotester

In der vorliegenden Untersuchung waren die Geräte auf einen Luftdurchfluß von $10 \text{ m}^3/\text{h}$ eingestellt. Die Durchflußmengen in den einzelnen Zylindern weisen nur unbedeutende Abweichungen auf, da der Ventilator mit hohem Druck arbeitet und die Zylinder mit kalibrierten Düsen versehen sind, durch die der größte Teil des Druckes aufgebaut wird.

3.1.2.2 Standort

Zur Untersuchung der Fragestellung wurden drei Airotester auf der Gitterrost-Laufbrücke der Außenluftkammer der ausgewählten RLT-Anlage installiert. Die Außenluft konnte so vor dem Durchtritt durch die Filterwand der RLT-Anlage durch die mit Filtermaterial bespannten Zylinder der Airotester hindurchgesaugt werden.

3.1.3 Luftfilter

In den Airotestern kamen fabrikneue, direkt vom Hersteller bezogene Glasfaserfilter (Fa. Gebrüder Trox GmbH, Neukirchen-Vluyn, Typ 748) und Synthesefaserfilter (Fa. Carl Freudenberg, Weinheim, Typ MF85) zur Anwendung (Tabelle 5).

Aus diesen neuen, unbestaubten Luftfiltern wurden Streifen von der Größe 28 cm x 9 cm ausgeschnitten und anschließend mit Klebeband auf die Zylinder der Airotester gespannt.

Tabelle 5: Kenndaten der untersuchten Luftfilter

MATERIAL	BAUART	FILTERKLASSE
Glasfaser	Beutelfilter	EU 7
Synthesefaser	Taschenfilter	EU 7

3.1.4 Race tubes

Um den möglichen Einfluß der beiden Luftfiltermaterialien Glas- und Synthesefaser auf die Wachstumsgeschwindigkeit von Pilzmyzel zu untersuchen, wurden Race tubes (Ryan et al., 1943) benutzt (Abbildung 6).



Abbildung 6: Race tubes

Mit Race tubes ist eine Beurteilung der Wachstumsgeschwindigkeit des Pilzmyzels möglich, da das Myzel linear von der Inokulationsstelle aus wächst und diese Distanz in regelmäßigen Intervallen markiert und gemessen werden kann (Lilly und Barnett, 1951; Hosking et al., 1995). Gegenüber Petrischalen besteht zusätzlich der Vorteil, daß die Kulturen gut vor Kontaminationen geschützt sind.

3.1.5 Nährmedien

Im folgenden werden die Zusammensetzung und die Zubereitungsvorschriften der in den jeweiligen Abschnitten der Untersuchung verwendeten Nährmedien in alphabetischer Reihenfolge beschrieben.

3.1.5.1 Airotester-Versuche

Für die quantitative Bestimmung von Bakterien und Pilzen und für die mykologische Differenzierung wurden folgende Nährmedien verwendet:

Blut-Agar: Caseinpepton-Sojamehlpepton-Agar (OXOID CM 131)

mit Zusatz von Schafblut

Dieses Nährmedium bietet einem breiten Spektrum von Pilzen und Bakterien günstige Wachstumsbedingungen.

Zusammensetzung	(g/ l)
Caseinpepton	15,0
Sojamehlpepton	5,0
Natriumchlorid	5,0
Agar	15,0
pH-Wert: 7,3 ± 0,2	

Zusatz von 5% defibriniertem Schafblut (OXOID FSR 1055)

Zubereitung: 40 g CSA in 950 ml Aqua dest. suspendieren und bis zum vollständigen Lösen erhitzen. 15 Minuten bei 121° C autoklavieren. Nach dem Abkühlen im Wasserbad auf 52° C erfolgt die Zugabe von 50 ml defibriniertem Schafblut.

Malzextrakt-Agar (Merck 5391) mit Antibiotikazusatz

Dieses Nährmedium bietet sowohl myzelbildenden Pilzen als auch Hefen günstige Wachstumsbedingungen. Das Wachstum xerophiler Pilze wird jedoch unterdrückt und Kolonien langsam wachsender Pilze werden durch schnell wachsende Pilze (v.a. Zygomycetes) überwuchert.

Durch Zusatz von Penicillin/Streptomycin wird bei diesem Nährmedium bakterielles Wachstum unterdrückt.

Zusammensetzung	(g/ l)
Malzextrakt	30,0
Agar	18,0
pH-Wert: 5,0 ± 0,5	

Zubereitung: ad 1000 ml Aqua dest., 20 min bei 121° C autoklavieren.

Zusatz: Penicillin- Streptomycin-Mischung

10.000 U Penicillin G (Penicillin G Kaliumsalz, Merck 6993)/ ml und 10.000 µg Streptomycin (Streptomycinsulfat, Merck 10117)/ml sterilfiltrieren und 16 ml/ 1000 ml Agar nach der Sterilisation zugeben.

3.1.5.2 Nachzucht

In den Fällen, in denen die Identifizierung der Pilze auf Malzextrakt-Agar nicht möglich war, wurde anschließend mit Hilfe der folgenden Nährmedien und veränderten Inkubationsbedingungen versucht, typisches Wachstum und Sporulation der Pilze zu erreichen:

Czapek- Dox-Agar (Oxoid CM 95, modifiziert)

Dieses Nährmedium fördert die Sporulation von *Aspergillus* -Arten.

Zusammensetzung	(g/ l)
Saccharose	200,0
Pepton	1,0
NaNO ₃	3,0
KH ₂ PO ₄	1,0
MgSO ₄ x 7 H ₂ O	0,5
KCl	0,5
FeSO ₄	0,01
Agar	18,0
pH-Wert: 5,0 ± 0,5	

Zubereitung: 200 g Saccharose in 300 ml Aqua dest. lösen, auf 500 ml auffüllen und 20 min bei 121° C autoklavieren.

Die restlichen Bestandteile in 500 ml Aqua dest. lösen und ebenfalls 20 min bei 121° C autoklavieren. Beide Lösungen zusammengeben. Einstellung des pH-Wertes mit 10 %-iger HCl.

DG 18: Dichloran-18% Glycerin-Agar (Oxoid CM 729)

Dieses Nährmedium besitzt eine geringe Wasseraktivität und fördert somit das Wachstum xerophiler Pilze. Dichloran führt zu einem langsameren Wachstum aller Kolonien, verhindert dadurch das schnelle Überwuchern von Kolonien und erleichtert somit die Auszählung und Isolierung.

Zusammensetzung	(g/ l)
Pepton	5,0
Glucose	10,0
KH ₂ PO ₄	1,0
MgSO ₄ x 7 H ₂ O	0,5
Dichloran	0,002
Glycerin	220,0
Agar	15,0
pH-Wert: 5,6 ± 0,2	

Zubereitung: Zutaten (bis auf Glycerin) in 800 ml Aqua dest. lösen und erhitzen, auf 1000 ml auffüllen; Glycerin und eine Ampulle Cloramphenicol-Supplement SR 78 hinzufügen, 20 min bei 121° C autoklavieren und gut mischen.

SNA: Synthetischer nährstoffarmer Agar (Nirenberg, 1976)

Dieses Nährmedium fördert die Sporulation von *Fusarium*-Arten

Zusammensetzung	(g/ l)
KH ₂ PO ₄	1,0
KNO ₃	1,0
MgSO ₄ x 7 H ₂ O	0,5
KCl	0,5
Glucose	0,2
Saccharose	0,2
Agar	20,0
pH-Wert: 7,0 ± 0,2	

Zubereitung: ad 1000 ml Aqua dest., aufkochen, 20 min bei 121° C autoklavieren und gut mischen

3.1.5.3 Hemmtest

Für den Hemmtest wurden Nährmedien verwendet, denen Luftfiltereluat zugefügt wurde, um den Einfluß des Luftfiltermaterials auf das Pilzwachstum zu messen. Der Kontrollgruppe wurde statt des Luftfiltereluats Aqua dest. zugefügt.

Zusammensetzung	(g/ l)
CMA (DIFCO 0386-17-5)	8,5
Agar	0,4
pH-Wert: 5,0 ± 0,5	

Zubereitung: CMA und Agar zu

- | | | |
|------|---------------------------|-----------------------|
| | a.)100 ml Aqua dest. | (Kontrolle) |
| oder | b.)100 ml Luftfiltereluat | (Glasfaserfilter) |
| oder | c.)100 ml " | (Synthesefaserfilter) |

hinzufügen und zum Lösen 10 min auf 80° C erhitzen. Das Luftfiltereluat wird aus jeweils 3 g Glas- oder Synthesefaserfiltermaterial gewonnen. Dazu wird das abgewogene Luftfiltermaterial in mit 100 ml Wasser standardisierter Härte gefüllten Schottflaschen mit einem Schüttelgerät 60 min bei 250 Umdrehungen/ min geschüttelt.

3.1.6 Schüttellösung

Die den Airotestern entnommenen Luftfilterproben wurden zur Gewinnung von Eluaten in Wasser standardisierter Härte geschüttelt.

Wasser standardisierter Härte:

5 ml 10% $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ und 17,5 ml 10% $\text{CaCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$ zu 3300 ml H_2O hinzufügen

3.1.7 Färbelösung

Die zur mikroskopischen Differenzierung der Pilze angefertigten Präparate wurden z. T. mit Lactose-Baumwollblau angefärbt.

Lactose-Baumwollblau: 10 g Anilinblau-Pulver (Merck) in ca. 5 ml Aqua dest. auflösen und mit 85%-iger Milchsäure (Merck) auf 1000 ml auffüllen.

3.1.7 Technische Geräte

Zum Stanzen der Luftfilter wurde eine Knie-Hebel-Stanze (Fa. IMETEX, Venlo, Niederlande, Typ GP2; Ausladung: 312 mm) benutzt.

Zum Schütteln der Luftfilterproben wurde ein Schüttelgerät (Fa. B. Braun Biotech International, Melsungen, Typ CERTOMAT U) verwandt.

Die Bestimmung des pH-Wertes erfolgte mittels eines Digital-pH-Meters (Fa. Knick, Typ 646).

Die Pilze, deren Inkubation nicht in der Klimakammer erfolgte, wurden in einem Brutkühlschrank (Fa. Heraeus, Hanau, Typ BK 5060 E) inkubiert.

Für die Inkubation von Pilzen bei UV-Strahlung wurde ein Duo-Strahler für Dünnschicht- und Säulenchromatographie (Fa. DESAGA, Heidelberg, Typ MinUVIS, UV 366 nm) benutzt.

Zur lichtmikroskopischen Untersuchung von Präparaten wurde ein Stereomikroskop (Fa. Leitz Wetzlar GmbH, Typ Dialux 20) eingesetzt.

Zur Adspektion von Pilzkolonien wurde eine binokulare Lupe (Fa. Leica, Typ Mz 12) mit zusätzlicher Kaltlichtlampe (Fa. Schott, Hofheim a. T., Typ KL 1500) benutzt.

Das Überimpfen von Pilzkolonien erfolgte unter einer Laminar-flow-Bank (Fa. Tecnomara Deutschland GmbH, Typ HB 2460), um Kontaminationen von Kulturen oder der Umgebung zu verhindern.

AIROTESTER-VERSUCH

Installation von Glas- und Synthesefaserfiltermaterial auf den Zylindern der Airotester

Wechsel des Luftfiltermaterials in Intervallen von 1, 2, 3, 6, 9 und 15 Tagen

Ausstanzen von Proben aus dem bestaubten Luftfiltermaterial

Schüttelmethode (Gewinnung von Luftfiltereluat)

Beimpfen von Blut- und Malzextrakt-Agar-Platten mit jeweils 0,1 ml Luftfiltereluat

Inkubation

Quantitative Auswertung

Auszählung der Mikroorganismen auf den Blut- und Malzextrakt-Agar-Platten

Qualitative Auswertung

Mykologische Differenzierung der von den Malzextrakt-Agar-Platten isolierten Pilze

Abbildung 7: Übersicht über Probengewinnung, -verarbeitung und -auswertung in den Airotester-Versuchen

3.2 Methoden

3.2.1 Probengewinnung

Zur Gewinnung von Proben bestaubten Luftfiltermaterials wurden zu Beginn jeder Versuchsreihe Streifen neuer, unbelasteter Glasfaser- bzw. Synthesefaserfilter auf die Zylinder der Airotester gespannt.

Die vier Zylinder von Airotester 1 wurden jeweils mit Luftfilterstreifen aus Glasfasermaterial bestückt und die vier Zylinder von Airotester 2 jeweils mit Luftfilterstreifen aus Synthesefasermaterial. In Airotester 3 wurden je zwei Zylinder mit Glasfaser- und je zwei mit Synthesefaserfilterstreifen bestückt.

Um Proben von Luftfiltermaterial mit unterschiedlichen Standzeiten in den Airotestern untersuchen und miteinander vergleichen zu können, erfolgte während des Betriebs der Airotester der Austausch von bestaubten gegen neue, unbelastete Luftfilterstreifen in Intervallen von 1, 2, 3, 6, 9 und 15 Tagen (Tabelle 6 und Tabelle 7).

Tabelle 6: Wechsel der Luftfilterproben in Airotester 1 und 2

AIROTESTER 1 Glasfaser		AIROTESTER 2 Synthesefaser	
ZYLINDER 1:	Wechsel jeden Tag	=	6 x 1 Tag
ZYLINDER 2:	Wechsel jeden 2. Tag	=	3 x 2 Tage
ZYLINDER 3:	Wechsel jeden 3. Tag	=	2 x 3 Tage
ZYLINDER 4:	Wechsel jeden 6. Tag	=	1 x 6 Tage

Tabelle 7: Wechsel der Luftfilterproben in Airotester 3

AIROTESTER 3 Glas-/ Synthesefaser			
ZYLINDER 1:	Wechsel am 9. Tag (GF)	=	1 x 9 Tage
ZYLINDER 2:	Wechsel am 9. Tag (SF)	=	1 x 9 Tage
ZYLINDER 3:	Wechsel am 15. Tag (GF)	=	1 x 15 Tage
ZYLINDER 4:	Wechsel am 15. Tag (SF)	=	1 x 15 Tage

GF= Glasfaserfilter

SF= Synthesefaserfilter

3.2.2 Probenverarbeitung

Nachdem die Luftfilterstreifen auf die Zylinder der Airotester gespannt und in unterschiedlichen Intervallen wieder entnommen bzw. gegen neue Luftfilterstreifen ausgewechselt wurden, erfolgte mit Hilfe einer Knie-Hebel-Stanze das Ausstanzen von kreisförmigen Proben mit einem Durchmesser von 64 mm. Vor jedem Stanzvorgang wurde zur Vermeidung von Kontaminationen das Stanzeisen der Knie- Hebel- Stanze mit 70%-igem Isopropanol desinfiziert.

Die zur Untersuchung des Überlebensverhaltens von Pilzen und Bakterien auf Luftfiltern erforderliche quantitative Bestimmung der Mikroorganismen auf den Luftfilterproben erfolgte mit Hilfe der Schüttelmethode (Möritz und Martiny, 1997).

3.2.2.1 Schüttelmethode

Die Luftfilterproben, die zuvor aus den beladenen Luftfilterstreifen ausgestanzt worden waren, wurden jeweils in sterile, mit 50 ml Wasser standardisierter Härte und Glasperlen gefüllte 100 ml- Schottflaschen überführt. Anschließend wurden die Schottflaschen mit einem Schüttelgerät 60 min bei 250 Umdrehungen/ min geschüttelt.

Jeweils 0,1 ml des so gewonnenen Luftfiltereluats wurde parallel auf 3 Petrischalen mit dem Nährmedium Malzextrakt-Agar zur quantitativen und qualitativen Bestimmung von Pilzen pipettiert und ausgespatelt. Ebenso wurden jeweils 0,1 ml des Luftfiltereluats parallel auf 3 Petrischalen mit dem Nährmedium Blut-Agar zur ausschließlich quantitativen Bestimmung von Bakterien ausgebracht. Da auf Blut-Agar makroskopisch keine eindeutige Unterscheidung von Bakterien und Hefen möglich ist, sind u. U. bei der quantitativen Bakterienbestimmung ebenfalls Hefen erfaßt worden.

Der pH-Wert des in den Schottflaschen verbliebenen Luftfiltereluats wurde gemessen.

3.2.2.2 Inkubation

Alle während der Untersuchung eingesetzten Agar-Platten wurden zum Ausschluß einer Kontamination vor dem Gebrauch 4 Tage bei Raumtemperatur vorbebrütet.

Nach dem Beimpfen der Agar-Platten mit dem aus den Luftfilterproben gewonnenen Eluat wurden die Agar-Platten in einer Klimakammer ohne Licht inkubiert. Die Inkubation erfolgte für 96 h (Malzextrakt-Agar) bzw. 48 h (Blut-Agar). Die Temperatur in der Klima-

kammer betrug 20° C, die relative Luftfeuchtigkeit betrug 40%. Die Konditionen in der Kammer wurden regelmäßig mit Thermohygrometern überprüft.

Pilzmyzelien, für deren Differenzierung anschließend eine Inkubation mit anderen klimatischen Parametern, z. B. Temperaturen von 30° C, notwendig war, wurden in einem Brutkühlschrank inkubiert. Für Pilze, zu deren Differenzierung eine Inkubation unter UV-Strahlung notwendig war, wurde ein Duo-Strahler für Dünnschicht- und Säulenchromatographie benutzt.

3.2.3 Probenauswertung

Im Anschluß an die Inkubation der Agar-Platten erfolgte

- a.) die Auszählung der darauf gewachsenen Mikroorganismen als koloniebildende Einheiten (KBE)
 - auf den Blut-Agar-Platten nach 48 h Inkubation,
 - auf den Malzextrakt-Agar-Platten nach 96 h Inkubation
- b.) die mykologische Differenzierung (s. 3.2.5) der Isolate der Malzextrakt-Agar-Platten (Mai 1996 bis April 1997)

Um die Konzentration der Mikroorganismen, bezogen auf die Luftfilterfläche (KBE/ cm²), zu berechnen, wurde für jede Luftfilterprobe der arithmetische Mittelwert aus den 3 parallelen Agar-Platten je Nährmedium (Malzextrakt- und Blut-Agar) errechnet, mit dem Faktor 500 (dieser ergibt sich aus dem Verhältnis von 50 ml Luftfiltereluat je Luftfilterprobe zu 0,1 ml Luftfiltereluat je Agar-Platte) multipliziert und durch den Divisor 32,17 (= Fläche der Luftfilterprobe [cm²]) geteilt.

Die Ergebnisse der Auszählung und der mykologischen Differenzierung wurden in vorgefertigte Ergebnistabellen eingetragen und anschließend in einen PC eingegeben. Die Auswertung und graphische Darstellung der Ergebnisse erfolgte mit Hilfe des Tabellenkalkulationsprogramms Excel, Version 5.0., Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA.

Für die graphische Darstellung der Ergebnisse wurden teilweise Boxplots gewählt. Die waagerechte Linie in der Box gibt den Median an. Die Box enthält 50% der Werte, die von ihr ausgehenden Striche reichen bis zu den Beobachtungswerten, die weniger als eine Interquartildistanz außerhalb der Box liegen. Werte, die jenseits dieser Grenze liegen, werden einzeln als "*" aufgetragen.

3.2.4 Klimatische Parameter

Um den Einfluß der Lufttemperatur und der Luftfeuchtigkeit auf das Überlebensverhalten der Mikroorganismen und das Artenspektrum der Pilze untersuchen zu können, wurden diese klimatischen Parameter vom Institut für Meteorologie der Freien Universität Berlin als 3-h-Mittelwerte über den gesamten Zeitraum der Airotester-Untersuchungen bezogen.

3.2.5 Mykologische Differenzierung

3.2.5.1 Makroskopisch - morphologische Differenzierung

Die makroskopische Untersuchung der Form, Farbe, Oberflächen- und Rückseitenstruktur einer Pilzkolonie sowie rasches oder langsames Wachstum des Myzels geben erste Hinweise für die Differenzierung (Kozłowska und Nuber, 1996). Eine Unterscheidung von myzelbildenden Pilzen und Hefen ist in den meisten Fällen schon makroskopisch möglich, da Hefen kein Myzel bilden und glänzende, erhabene Kolonien zeigen (Abbildung 8), wohingegen die Kolonien myzelbildender Pilze ein eher flauschiges oder puderartiges Aussehen zeigen (Abbildung 9). Pilze, die sowohl Hyphen ausbilden als auch hefeartig wachsen können, wie z.B. *Aureobasidium spp.*, *Geotrichum spp.*, wurden den myzelbildenden Pilzen zugeordnet.

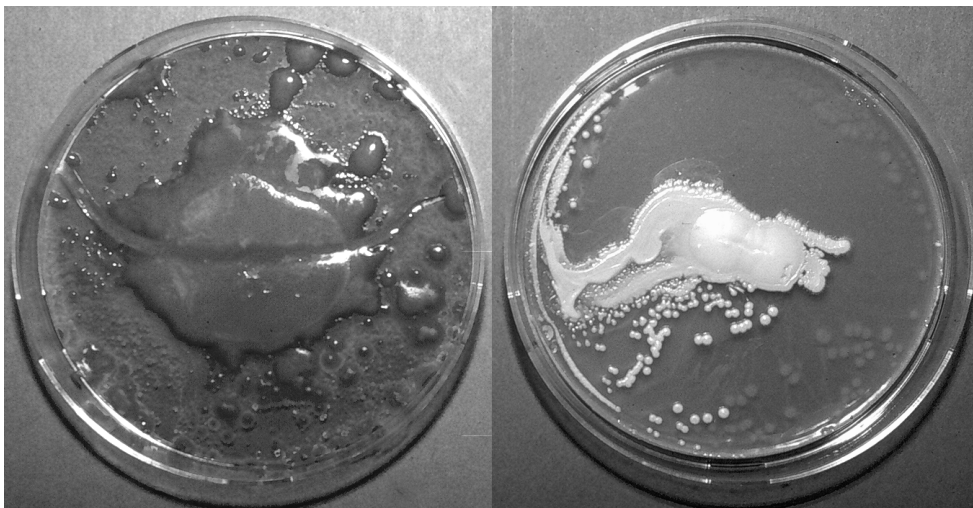


Abbildung 8: Typisches Koloniewachstum von Hefen am Beispiel von *Rhodotorula spec.* (links) und *Candida spec.* (rechts) (Photo: Neumeister-Kemp)

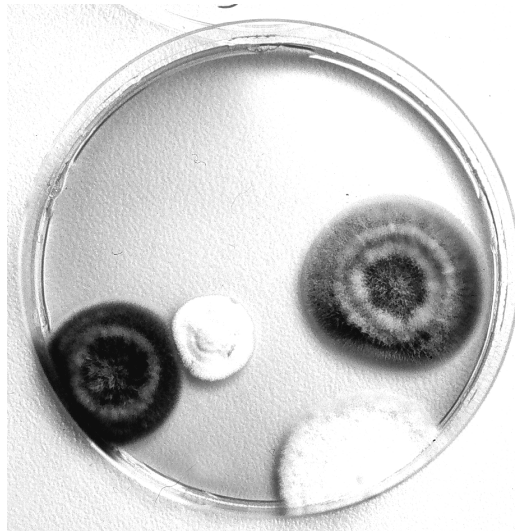


Abbildung 9: Typisches Koloniewachstum myzelbildender Pilze

3.2.5.2 Mikroskopisch - morphologische Differenzierung

a.) Myzelbildende Pilze

Zur ersten Gewinnung von Differenzierungskriterien für myzelbildende Pilze erfolgte die mikroskopische Inspektion der Kulturen auf den Malzextrakt-Agar-Platten mit bis zu 100facher Objektivergrößerung unter einer binokularen Lupe. Hierbei wird die natürliche Anordnung der Pilzelemente nicht gestört, z.B. die Art der Hyphenverzweigung, der Bau der Sporangien bei den *Zygomycetes* oder die Architektur der Konidiophoren bei den Fungi imperfecti (*Deuteromycetes*) (Jehn, 1997).

Für die weitergehende mikroskopische Gattungs- und Artdiagnostik der myzelbildenden Pilze mußten Agarquetschpräparate hergestellt werden: ein wenige Quadratmillimeter großes, möglichst konidientragendes Myzelstück wurde mit einer Lanzette aus dem Agar herausgeschnitten, auf einen Objektträger gelegt, mit einem Deckglas abgedeckt und, nach kurzem Erhitzen zur Verflüssigung des Agars, angedrückt. Als Färbung für die Darstellung von Myzelmaterial erwies sich die Lactose-Baumwollblau-Färbung als besonders geeignet: die Milchsäure überwindet die stark hydrophobe Oberfläche der Hyphen und Sporen, Baumwollblau färbt das Zytoplasma hellblau. Zellwände werden nicht angefärbt, so daß eine gute Unterscheidung von septiertem und unseptiertem Myzel möglich ist.

Bei 40 - 100facher Objektivergrößerung erfolgte anschließend die mikroskopische Inspektion (Abbildung 10 -**Abbildung 12**) hinsichtlich der morphologischen Eigenschaften

des Pilzes, um mit Hilfe von Bestimmungsliteratur eine Differenzierung nach Gattung und, soweit möglich, nach Art durchzuführen.

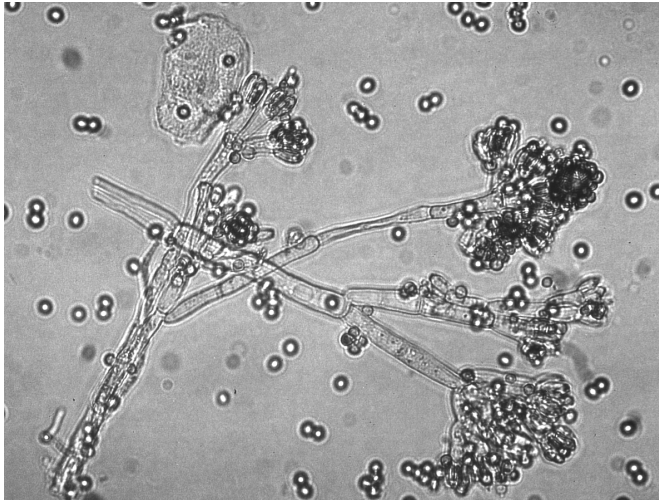


Abbildung 10: *Penicillium spec.*



Abbildung 11: *Alternaria spec.*

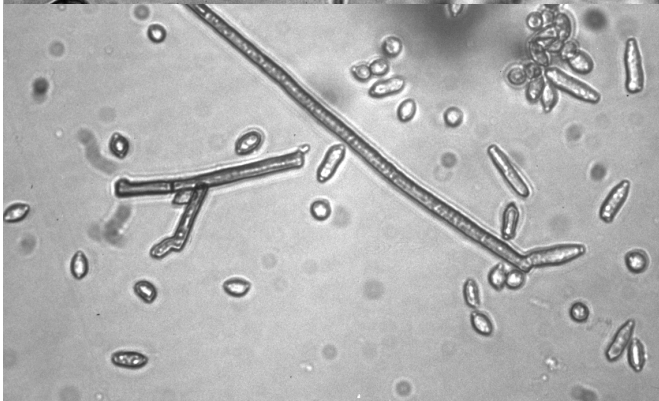


Abbildung 12: *Cladosporium spec.*

Aus umweltmykologischen (Yang und Johanning, 1997) und medizinischen (Lacey, 1990) Untersuchungen ist das Spektrum der Pilzgattungen, die aerogen übertragen werden kön-

nen, bekannt. Da die für dieses Spektrum relevanten mykologischen Differenzierungsschlüssel auf morphologischen Kriterien basieren, die von den Pilzen bei einer Inkubation auf Malzextrakt-Agar bei Temperaturen von 18 - 20° C ausgebildet werden, wurde für die quantitative und qualitative Bestimmung der Pilze, die von den Luftfilterproben isoliert werden konnten, zunächst dieses Nährmedium und die oben genannten Inkubationsparameter gewählt. Diese Parameter haben großen Einfluß auf Wachstumsgeschwindigkeit, Aussehen und Sporulation von Pilzkolonien: während z. B. *Cladosporium herbarum* auf Malzextrakt-Agar bei 18 - 20° C schon nach 7 - 10 Tagen charakteristisches olivgraues Koloniewachstum und Konidienbildung zeigt, wächst diese Spezies auf einem Nährmedium wie Herz-Hirn-Glucose-Blut-Agar erst nach 4 Wochen, u. U. ohne Konidienbildung. Für Isolate, die kein charakteristisches Wachstum bei oben genannten Inkubationsparametern zeigten, wurden diese Bedingungen in weiteren Arbeitsschritten geändert. Darauf wird jedoch weiter unten ausführlicher eingegangen. Aus Tabelle 8 gehen die beiden in der Untersuchung hauptsächlich verwendeten Klassifizierungsschlüssel hervor. Weitere, speziellere Bestimmungsliteratur, die bei selteneren und schwer zu differenzierenden Isolaten wie z. B. *Verticillium spp.* oder Isolaten, die nicht dem erwarteten Spektrum angehörten, wie z. B. *Trichophyton spp.*, zusätzlich verwendet wurde, ist dem Literaturverzeichnis zu entnehmen.

Tabelle 8: Zur mykologischen Differenzierung verwendete Bestimmungsschlüssel

Klassifizierungsschlüssel	Bezieht sich auf
de Hoog et al. (1995)	<i>Ascomycetes</i> , <i>Basidiomycetes</i> , <i>Coelomycetes</i> , <i>Endomycetes</i> , <i>Euscomycetes</i> , Hefen, <i>Hyphomycetes</i> , <i>Zygomycetes</i>
Samson et al. (1988).	<i>Ascomycetes</i> , <i>Deuteromycetes</i> , Hefen, <i>Zygomycetes</i>

Die Einteilung der myzelbildenden Pilze in die **Klassen** der *Ascomycetes*, der Fungi imperfecti (*Deuteromycetes*), der Hefen und der *Zygomycetes* erfolgte anhand folgender Kriterien (Samson und van Reenen-Hoekstra, 1988):

- 1a. Kolonie besteht aus sprossenden Einzelzellen, kein vegetatives Myzel, sondern u. U. Pseudomyzel, das durch Vorwachsen der mit der Mutterzelle verbunden bleibenden Knospen entsteht

Hefe

- 1b. Kolonie mit vegetativem Myzel, Sporen werden in/ von spezialisierten Zellen gebildet

- 2
- 2a. Sporen werden in Fruchtkörpern (Asci) gebildet *Ascomycetes*
- 2b. Sporen werden nicht in Fruchtkörpern gebildet 3
- 3a. Myzel ist wenig oder gar nicht septiert, Sporen werden im Inneren einer spezialisierten Zelle (Sporangium) gebildet *Zygomycetes*
- 3b. Myzel septiert, Sporen werden von spezialisierten Zellen (Konidiophore) gebildet, keine sexuelle Vermehrung Fungi imperfecti (*Deuteromycetes*)

Nachfolgend werden jeweils für die Klassen der *Zygomycetes* und der Fungi imperfecti (*Deuteromycetes*) kurz die morphologischen Merkmale erläutert, die für die weitere Zuordnung der isolierten myzelbildenden Pilze zu den **Gattungen** relevant sind. Anschließend wird der Differenzierungsschlüssel angegeben, der für die Zuordnung verwendet wurde. Die Klasse der *Ascomycetes* wird nicht aufgeführt, da keiner der in der vorliegenden Untersuchung isolierten Pilze dieser Klasse zuzuordnen war.

a.) Klasse der *Zygomycetes*

Die asexuelle Reproduktion der *Zygomycetes* erfolgt durch Sporangiosporen, die im Inneren kugelförmiger Sporangia gebildet werden. Die sporangienbildenden Zellen einer fertilen Hyphe, die Sporangiphoren, besitzen bei einigen Gattungen eine charakteristische Schwellung unterhalb des Sporangiums, die Apophyse. Merosporen werden in Ketten in einem Merosporangium gebildet, das im Gegensatz zum Sporangium keine Kolumella, ein Vesikel im zentralen Teil des Sporangiums, besitzt (Abbildung 13).

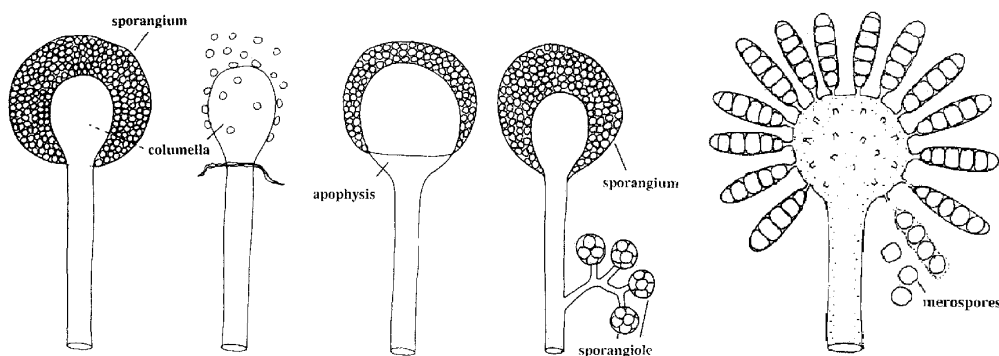


Abbildung 13: *Zygomycetes* (Aus: Samson, R.A., van Reenen-Hoekstra, E. S., 1988)

- 1a. Sporangiosporen bilden Merosporangia am leicht aufgetriebenen Ende der Sporangiphore
Syncephalastrum
- 1b. Sporangiosporen bilden runde Sporangia
2
- 2a. Sporangia und Sporangiphore dunkel pigmentiert, Sporangiphoren meistens unverzweigt, Sporangia variieren von 50 - 360 µm im Durchmesser, Sporen oft gestreift
Rhizopus
- 2b. Sporangia und Sporangiphoren unpigmentiert oder nur leicht gefärbt, Sporangiphoren häufig verzweigt, Sporangia nicht größer als 100 µm im Durchmesser, Sporen nicht gestreift
3
- 3a. Sporangia länglich, mit deutlicher Apophysis, 10 - 40 µm im Durchmesser
Absidia
- 3b. Sporangia rund, ohne Apophysis, meistens größer als 40 µm im Durchmesser
Mucor

b.) Klasse der Fungi imperfecti (*Deuteromycetes*)

Die Fortpflanzung der Fungi imperfecti (*Deuteromycetes*) erfolgt durch asexuell gebildete Konidien, die aus spezialisierten Zellen fertiler Hyphen, den Konidiophoren, hervorgehen. Man unterscheidet die Ordnung der *Coelomycetes* (Unterordnung *Melanconiales* und *Sphaeropsidales*) und der *Moniliales*. Die Konidiophoren der *Coelomycetes* werden in Fruchtkörpern gebildet, die entweder geschlossen bzw. nur mit einer apikalen Öffnung versehen sind (Pyknidia) oder aus flachen, nur von einer Kutikula bedeckten, Strukturen (Acervuli) bestehen (Abbildung 14).

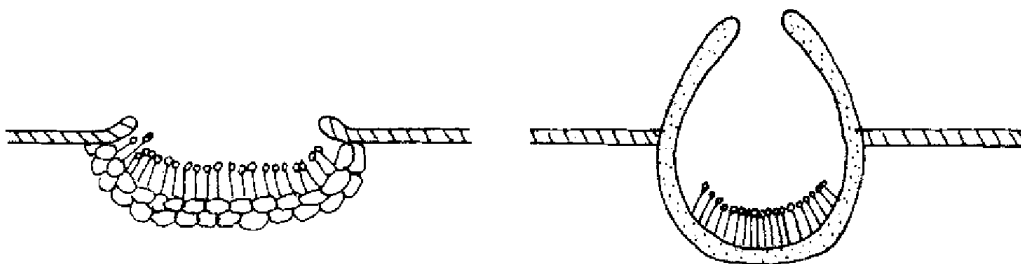


Abbildung 14: Acervuli (links) und Pyknidia (rechts) (Aus: Samson, R.A., van Reenen-Hoekstra, E.S., 1988)

Sowohl bei den *Coelomycetes* als auch bei den *Moniliales* unterscheidet man primär zwischen thallischer, blastischer, phialidischer und annellidischer Konidiogenese:

a.) thallische Konidiogenese

Die Konidien werden einzeln oder in Ketten durch Abschnürung undifferenzierter Hyphenteile gebildet (z. B. *Geotrichum spp.*) (Abbildung 15).

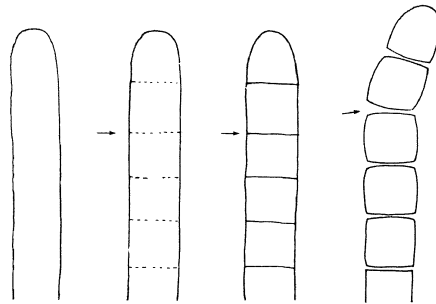


Abbildung 15: Thallische Konidiogenese (Aus: Samson, R.A., van Reenen-Hoekstra, E.S., 1988)

b.) blastische Konidiogenese

Die Wand spezialisierter Zellen bildet durch apikale Ausstülpung einzelne Konidien oder Konidienketten (synchron [*Botrytis spp.*, *Aureobasidium spp.*] (Abbildung 16) oder akropetal, d. h. Abschnürung ist immer an der Kettenspitze [*Cladosporium spp.*] (Abbildung 17). Dabei kann die Basis der Konidien schmal (*Botrytis spp.*) oder breit (*Epicoccum spp.*) sein. Bei einigen Gattungen können Porokonidien beobachtet werden: die Konidien werden durch Poren in der verdickten, pigmentierten Zellwand nach außen gedrückt (*Alternaria spp.*, *Ulocladium spp.*) (Abbildung 18).

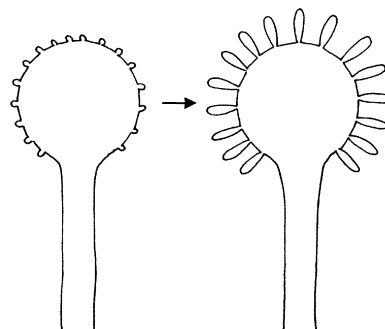


Abbildung 16: Synchrone Abschnürung von Konidien (Aus: Samson, R.A., van Reenen-Hoekstra, E.S., 1988)

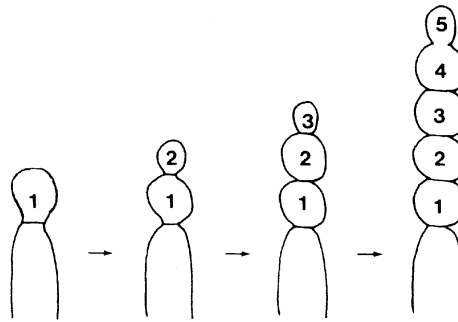


Abbildung 17: Akropetale Abschnürung von Konidien (Aus: Samson, R.A., van Reenen-Hoekstra, E.S., 1988)

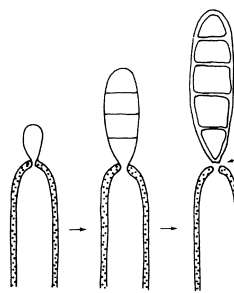


Abbildung 18: Porokonidien (Aus: Samson, R.A., van Reenen-Hoekstra, E.S., 1988)

c.) phialidische Konidiogenese

Die Konidien werden in basipetaler Reihenfolge hervorgebracht, d. h. die Abschnürung erfolgt am Ende der Reihe, aus der Öffnung einer spezialisierten Zelle, der Phialide (Abbildung 19). Dadurch entstehen Konidienketten (*Penicillium spp.*, *Aspergillus spp.*, *Paecilomyces spp.*) oder Aggregationen von Konidien in schleimigen Köpfchen (*Trichoderma spp.*, *Stachybotrys spp.*, *Acremonium spp.*).

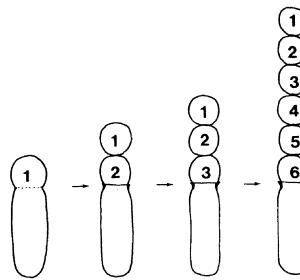


Abbildung 19: Phialidische Konidiogenese (Aus: Samson, R.A., van Reenen-Hoekstra, E.S., 1988)

d.) annellidische Konidiogenese

Spezialisierte Zellen (Annelliden) bilden jeweils auf kleinen Proliferationen die Konidien (Abbildung 20).

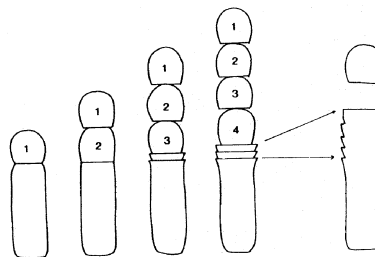


Abbildung 20: Annellidische Konidiogenese (Aus: Samson, R.A., van Reenen-Hoekstra, E.S., 1988)

- | | | |
|-----|---|--------------|
| 1a. | Konidien werden in Pyknidia gebildet | |
| 1b. | Konidien werden auf Hyphen oder Konidiophoren gebildet | <i>Phoma</i> |
| 2a. | Konidien werden in basipetaler Folge von Phialiden oder Annelliden in Ketten oder schleimigen Köpfchen gebildet | 2 |
| 2b. | Konidien werden in akropetaler Folge gebildet oder durch Fragmente von fertilen Hyphen | 3 |
| 3a. | Konidien bilden trockene Ketten | 14 |
| 3b. | Konidien bilden schleimige Köpfchen | 4 |
| | | 9 |

4a.	Konidien meistens zweizellig, leicht schräg angeordnet, konidienbildende Zellen fadenförmig, Kolonie leicht rosafarben	<i>Trichothecium</i>	
4b.	Konidien stets einzellig, in geraden Ketten angeordnet, konidienbildende Zellen kolbenförmig, Kolonie verschiedenfarbig		5
5a.	Kolonie sehr langsam wachsend, rötlich-braun, Konidien durch Teilung einer fertilen, warzenförmigen, zylindrischen Zelle gebildet, zu Beginn kubisch, anschließend rund	<i>Wallemia</i>	
5b.	Kolonien schnell wachsend (Ausnahme: xerophile <i>Aspergillus</i> -Spezies), Konidien werden nicht durch Teilung fertiler Hyphen gebildet		6
6a.	Konidiophoren mit apikaler Auftreibung	<i>Aspergillus</i>	
6b.	Konidiophoren ohne apikale Auftreibung		7
7a.	Konidienbildende Zellen annellidisch, Konidien mit breiter Narbe	<i>Scopulariopsis</i>	
7b.	Konidienbildende Zellen phialidisch, Konidien ohne Narbe		8
8a.	Kolonien gelb bis braun, Phialiden mit langem Hals	<i>Paecilomyces</i>	
8b.	Kolonien grünlich oder weißlich, Phialiden mit kurzem Hals	<i>Penicillium</i>	
9a.	Phialiden schmal und lang, keine Polyphialiden		10
9b.	Phialiden kolbenförmig, Polyphialiden		11
10a.	Phialiden einzeln oder auf verzweigten Konidiophoren	<i>Acremonium</i>	
10b.	Phialiden auf deutlich speichenförmig verzweigten Konidiophoren	<i>Verticillium</i>	
11a.	Kolonien grün (wenn Wachstum bei Tageslicht)	<i>Trichoderma</i>	
11b.	Kolonien weiß, gelb, violett, rosa, braun oder schwärzlich		12
12a.	Kolonien weiß, gelb-rosa, grünlich, Konidien septiert, bananenförmig	<i>Fusarium</i>	
12b.	Kolonien schwarz, selten rosa, Konidien unseptiert		13
13a.	Phialiden einzeln, kolbenförmig mit deutlicher Kollarete, Konidiophore schwach ausgeprägt	<i>Phialophora</i>	
13b.	Phialiden in dichten apikalen Büscheln, keine deutliche Kollarete, Konidiophore deutlich, mit Stacheln	<i>Stachybotrys</i>	

14a.	Kolonien sehr schnell wachsend (füllen Petrischale innerhalb weniger Tage), flockig, orange	<i>Chrysonilia</i>	
14b.	Kolonien nicht sehr schnell wachsend, nicht orange		15
15a.	Konidien ausschließlich eckig	<i>Geotrichum</i>	
15b.	Konidien rund		16
16a.	Mehrere Konidien synchron von Hyphen oder aufgetriebenen Zellen gebildet		17
16b.	Konidien nicht gleichzeitig von Hyphen oder aufgetriebenen Zellen gebildet		18
17a.	Konidien auf Fortsätzen von aufgetriebenen Zellen gebildet, Konidiophore aufgerichtet, apikal verzweigt, Kolonien dünn, grau-braun	<i>Botrytis</i>	
17b.	Konidien von Hyphen oder aufgetriebenen Verzweigungen gebildet, Kolonien hefeähnlich, creme-gelb bis hellbraun, rosa-orange oder schwärzlich-grün	<i>Aureobasidium</i>	
18a.	Konidien einzeln auf schwach ausgeprägten Konidiophoren gebildet, die Gruppen bilden und als schwarze Punkte makroskopisch sichtbar sind	<i>Epicoccum</i>	
18b.	Konidien einzeln oder in Ketten gebildet, Konidiophore deutlich, keine Gruppen bildend		19
19a.	Konidien in Ketten, glattwandig, Kolonien meistens cremefarben, dunkeln mit zunehmendem Alter nach	<i>Moniliella</i>	
19b.	Konidien in Ketten oder einzeln, meistens rauhwandig, Kolonien grünlich-schwarz oder grünlich-braun		20
20a.	Konidien dünnwandig, meistens einzellig, basale Konidie meistens septiert (transversal)	<i>Cladosporium</i>	
20b.	Konidien mit transversalen und longitudinalen Septen		21
21a.	Junge Konidie mit runder Basis, reife Konidie keulenförmig	<i>Alternaria</i>	
21b.	Junge Konidie mit spitz zulaufender Basis, reife Konidie einzeln oder in "falschen" kurzen Ketten	<i>Ulocladium</i>	

In den Fällen, in denen die Differenzierung eines myzelbildenden Pilzes auf Malzextrakt-Agar nach der Inkubation (96 h, 20° C, 40% relative Luftfeuchtigkeit) nicht möglich war, da keine sporulierenden Strukturen ausgebildet wurden und somit die für eine Differenzierung notwendigen Unterscheidungsmöglichkeiten fehlten, wurde anschließend auf weitere

Nährmedien überimpft, um Wachstum und Sporulation der Pilzspezies zu fördern. Dabei wurden parallel Czapek-Dox-Agar, DG-18-Agar und SNA-Agar eingesetzt (Tabelle 9).

Tabelle 9: Zusätzlich eingesetzte Nährmedien und deren Wachstumsspektrum

Nährmedium	fördert Wachstum und Sporulation von:
Czapek-Dox-Agar	<i>Aspergillus</i> -Arten
DG-18-Agar	xerophilen Gattungen
SNA-Agar	<i>Deuteromycetes</i> , v.a. <i>Fusarium</i> -Arten

Anschließend erfolgte eine weitere Inkubation für 96 h und die mikroskopische Inspektion zur Differenzierung der Pilzgattung bzw. -art. In den Fällen, in denen sich auch nach dem Überimpfen auf die oben genannten Nährmedien keine Möglichkeit der Differenzierung bot, wurde außerdem mit Hilfe veränderter Inkubationsparameter versucht, die Ausprägung sporulierender Strukturen zu erreichen: Inkubation bei UV-Strahlung oder 30° C (Tabelle 10).

Tabelle 10: Zusätzlich verwendete Inkubationsparameter und deren Wachstumsspektrum

Inkubationsparameter	Fördert Wachstum und Sporulation von
UV-Strahlung	<i>Epicoccum</i> spp.
30°C	<i>Trichophyton</i> spp.

Myzelbildende Pilze, die auch nach Inkubation auf verschiedenen Nährmedien und mit veränderten Inkubationsparametern nicht zu bestimmen waren, wurden der Kategorie "Sterile Myzelien" zugeordnet.

b.) Hefen

Bei der mikroskopisch-morphologischen Differenzierung von Hefen wurde etwas Material von einer Kolonie in einer kleinen Menge Aqua dest. auf dem Objektträger ausgestrichen und im abgeblendeten Hellfeld ungefärbt mikroskopisch inspiziert. Für die Feststellung der Umrißform und der für Hefen charakteristischen Knospenbildung ("Budding") war dies ausreichend. Auf eine weitere Differenzierung der Hefen mußte aus Zeitgründen verzichtet werden.

HEMMTEST

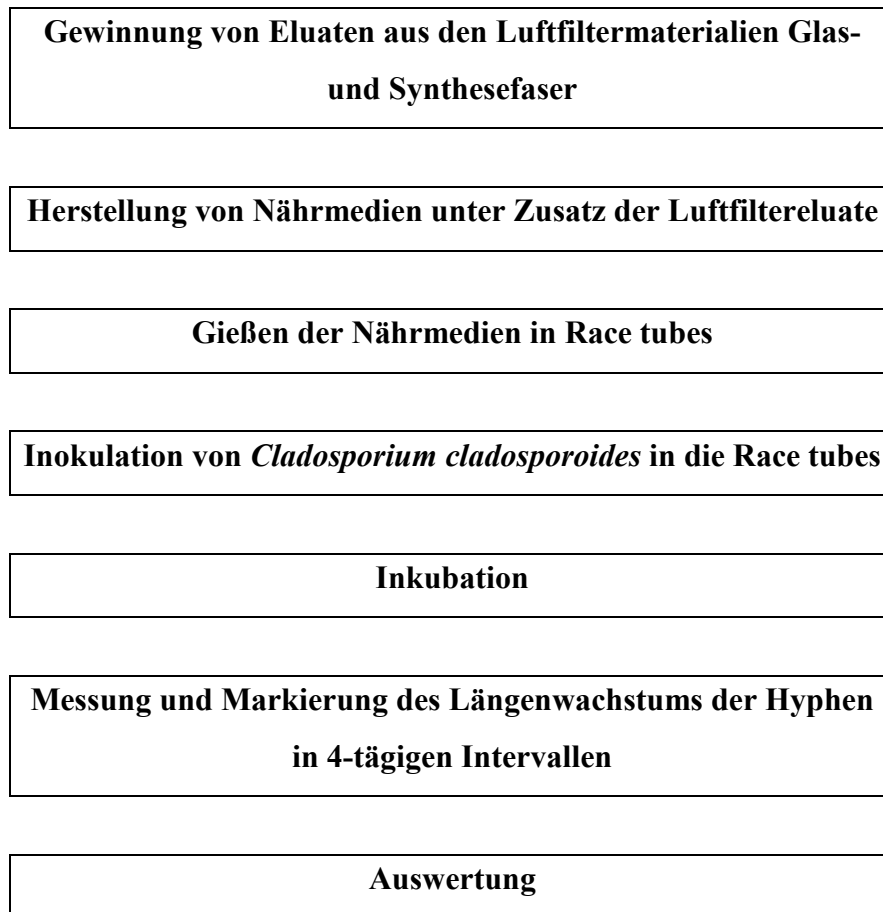


Abbildung 21: Schematische Darstellung der Untersuchung zum Einfluß des Luftfiltermaterials auf das Längenwachstum von Pilzhypen

3.2.6 Hemmtest

Schon die ersten Versuchsläufe in den Airotestern zeigten deutlich voneinander abweichende Ergebnisse der beiden im Versuch verwendeten Luftfiltermaterialien bezüglich der Vitalität der Mikroorganismen. Um diesen Einfluß der beiden Luftfiltermaterialien Glas- und Synthesefaser auf die Wachstumsgeschwindigkeit von Pilzmyzel unabhängig von den Airotester-Versuchen zu untersuchen, wurden von April/ Mai 1997 (Vorversuche) bis Dezember 1997 die Hemmtests durchgeführt (Abbildung 21).

Es existieren bereits Studien, die den Einfluß von Temperatur und Luftfeuchtigkeit (Tang et al., 1996) und freier Wasseraktivität (Yang und Johanning, 1997) auf das Wachstum von Pilzmyzel beschreiben, aber mit den Hemmtests sollte ausschließlich der Einfluß der Luftfiltermaterialien untersucht werden - die klimatischen Parameter blieben konstant.

Für die Hemmtests wurden jeweils 3 g des Glas- bzw. Synthesefaserfiltermaterials, das auch in den Airotester-Versuchen eingesetzt wurde, in mit 100 ml Wasser standardisierter Härte gefüllten Schottflaschen mit einem Schüttelgerät 60 min bei 250 Umdrehungen/ min geschüttelt. Aus den so gewonnenen Luftfiltereluaten wurden unter Zusatz von "Cornmeal-Agar" Nährmedien hergestellt (s. 3.1.5.3) und jeweils 15 ml in "Race tubes" (Hosking et al., 1995) gegossen. Als Kontrolle dienten Nährmedien, denen statt des Luftfiltereluats Aqua dest. zugefügt wurden.

Vor dem nächsten Arbeitsschritt erfolgte eine 4-tägige "Kontroll-Inkubation", um eventuell kontaminierte "Race tubes" erkennen und beseitigen zu können.

Danach wurden jeweils an einer Seite der "Race tubes" mit der Impföse Sporen einer zuvor angelegten Stammkultur von *Cladosporium cladosporioides* auf der Oberfläche der Nährmedien ausgestrichen. Für den Hemmtest wurde *Cladosporium cladosporioides* ausgewählt, da dieser ein sehr häufig in der Innenraumluft zu messender Pilz ist und zudem die oliv-braune Pigmentierung der Konidiophoren und Konidien die Sichtbarkeit und damit auch die Meßbarkeit des Pilzes in den Race tubes erleichtert. Anschließend erfolgte die Inkubation der Kulturen in der Klimakammer ohne Licht bei 20° C und 40% relativer Luftfeuchtigkeit. Über einen Zeitraum von 24 Tagen wurde in 4-tägigen Intervallen das Wachstum des Pilzmyzels markiert und die markierten Distanzen gemessen.

Die Auswertung und graphische Darstellung der Ergebnisse erfolgte, wie bereits unter 3.2.3 beschrieben, mit Hilfe des Tabellenkalkulationsprogramms Excel, Version 5.0., Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA.

3.2.7 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der aus den experimentellen Untersuchungen gewonnenen Werte wurde mit den Statistikprogrammen SAS (SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA) und SPSS (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) durchgeführt.

Unter 4.1.1.2 wurden die ermittelten Daten mit Hilfe des Wilcoxon-Test für Paarvergleiche ausgewertet. Die Zwischenrechnung (Ranks) und zugrundeliegende Daten sind in ? aufgeführt. Unter 4.2.1 wurden die ermittelten Daten mit Hilfe einer Varianzanalyse mit Meßwiederholungen statistisch ausgewertet.

4 ERGEBNISSE

4.1 Airotester-Versuche

4.1.1 Mikroorganismen auf Luftfilterproben

Mit den Airotestern wurden im Zeitraum von Januar 1996 bis Juli 1997 in 27 Versuchsreihen 715 Luftfilterproben gewonnen. Für die anschließende Auszählung der koloniebildenden Einheiten auf den Agar-Platten, die in Dreifachparallelen angelegt worden waren, ergaben sich somit insgesamt jeweils 2145 auszuwertende Malzextrakt-Agar- und 2145 auszuwertende Blut-Agar-Platten, von denen 2 Malzextrakt-Agar-Platten und 18 Blut-Agar-Platten wegen Kontaminationen (Rasenwachstum) nicht ausgewertet werden konnten. In den Ergebnis-Tabellen wurde für diese Platten der Wert n.a. angegeben. Anschließend erfolgte die Probenauswertung (siehe 3.2.3), um die Konzentration der Mikroorganismen bezogen auf die Luftfilterfläche (KBE/cm²) zu berechnen. Im folgenden werden jeweils zuerst die Ergebnisse der Auszählung der Malzextrakt-Agar-Platten (quantitative Pilz-Bestimmung) dargestellt, anschließend die Ergebnisse der Auszählung der Blut-Agar-Platten (quantitative Bakterien- und u. U. Hefenbestimmung). Die Einzelergebnisse sind der Anhangs-Tabelle I zu entnehmen.

4.1.1.1 Einfluß der Luftfilterstandzeit auf die Mikroorganismenkonzentration auf den Luftfilterproben

a.) Zur Untersuchung der Frage, ob Mikroorganismen auf den Luftfiltern raumluftechnischer Anlagen überleben, wurden jeweils die sechs Ein-Tages-Ergebnisse (Proben mit einem Tag Standzeit in einem Airotestern) einer Versuchsreihe addiert und mit dem parallel gewonnenen Sechs-Tages-Ergebnis (Probe mit sechs Tagen Standzeit in einem Airotester) derselben Versuchsreihe verglichen. Ausgehend von der Annahme, daß die Mikroorganismen, die auf den Luftfiltern abgeschieden werden, überleben, müßte die Summe der Ein-Tages-Ergebnisse jeweils dem Sechs-Tages-Ergebnis entsprechen. In Scatter-Diagrammen (Abbildung 22 - Abbildung 25) wird jeweils der Zusammenhang zwischen den addierten Ein-Tages-Ergebnissen und dem Sechs-Tages-Ergebnis für die von Luftfilterproben (Glas- und Synthesefaserfilter) isolierten Pilze und Bakterien dargestellt.

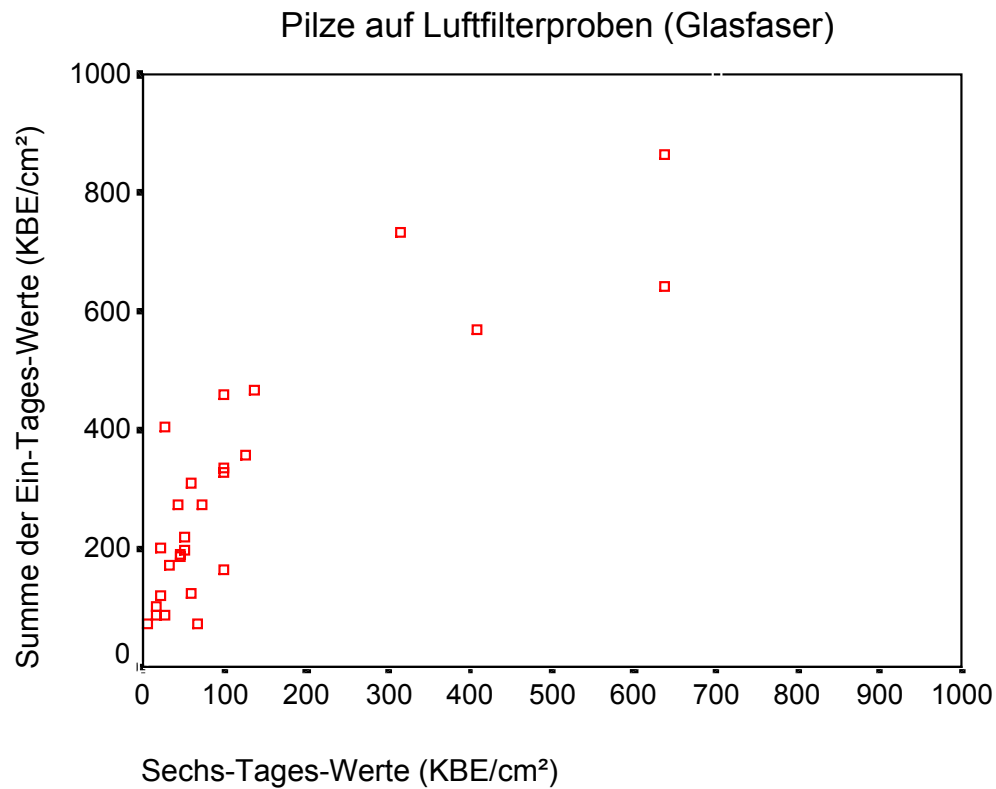
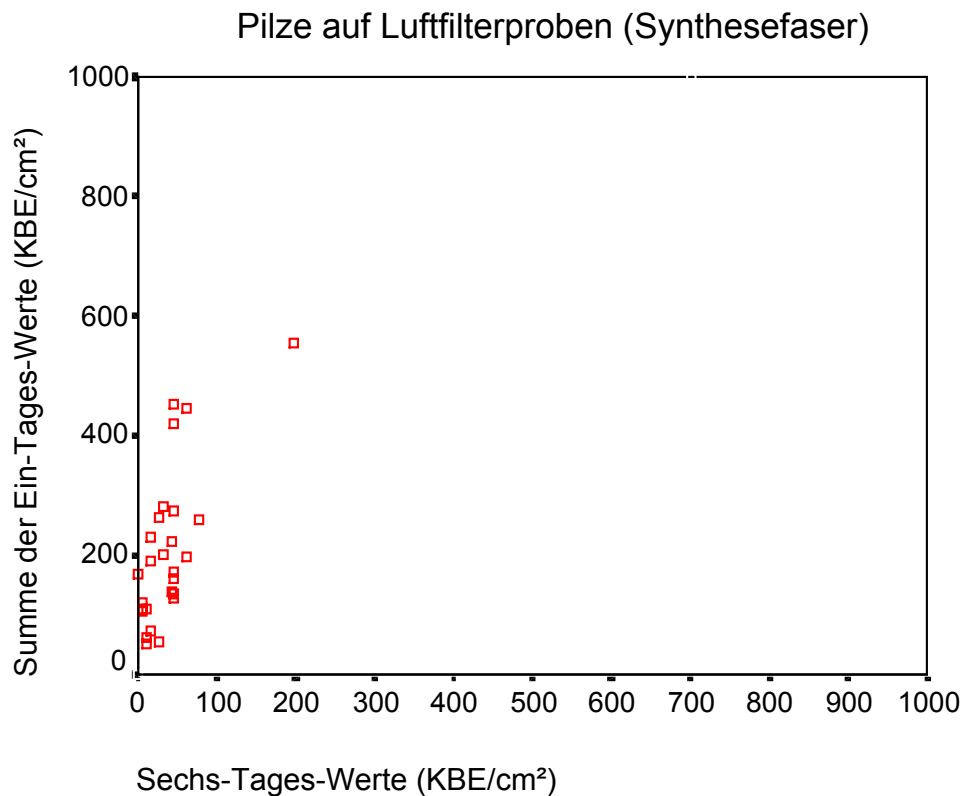


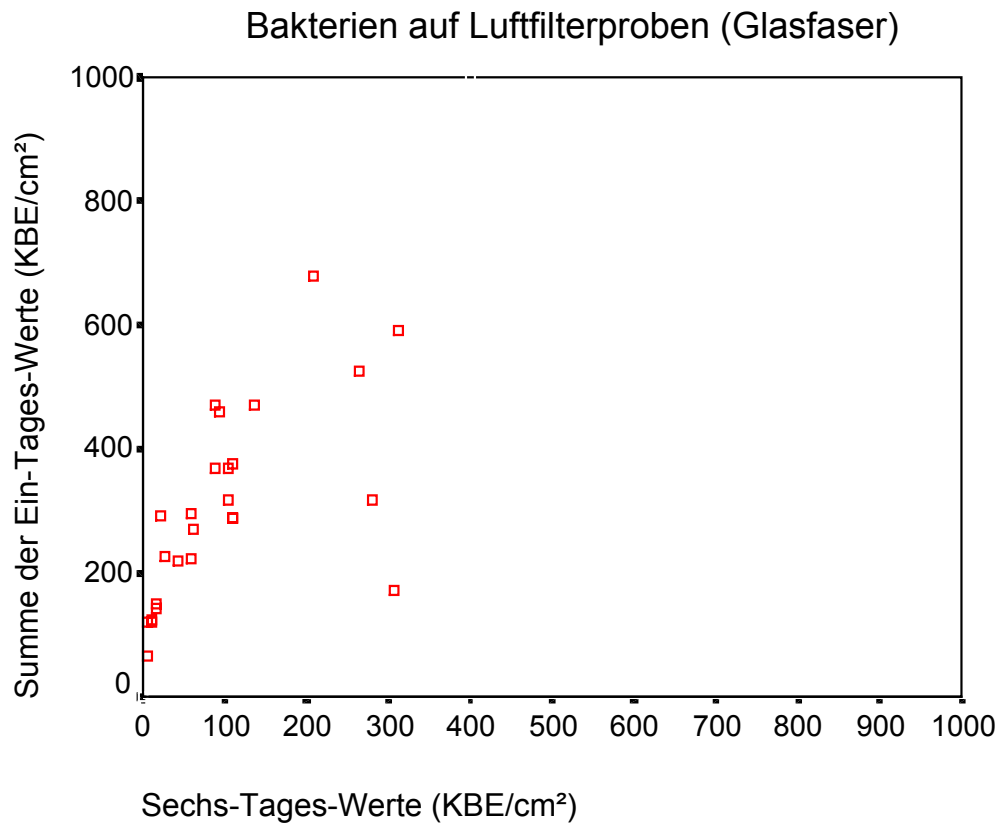
Abbildung 22: Von Luftfilterproben aus Glasfaser isolierte Pilze (KBE/cm²); Verhältnis der addierten Ein-Tages-Werte zu parallel gewonnenen Sechs-Tages-Werten

Auf Abbildung 22 ist das Verhältnis der Summe der Ein-Tages-Ergebnisse im Verhältnis zum Sechs-Tages-Ergebnis für Pilze, die von Luftfilterproben aus Glasfasermaterial isoliert wurden, dargestellt. Es ist zu erkennen, daß die Werte-Paare im Bereich von 47 - 865 KBE (Summe der Ein-Tages-Ergebnisse) und 0 - 637 KBE (Sechs-Tages-Ergebnis) streuen. Außerdem ist zu beobachten, daß die Punkte nicht im Bereich einer 45 °-Linie liegen. Dies wäre jedoch der Fall, wenn die Werte-Paare sich entsprächen.



**Abbildung 23: Von Luftfilterproben aus Synthesefaser isolierte Pilze (KBE/cm²);
Verhältnis der addierten Ein-Tages-Werte zu parallel gewonnenen
Sechs-Tages-Werten**

Die Abbildung 23 zeigt das Verhältnis der Summe der Ein-Tages-Ergebnisse im Verhältnis zum Sechs-Tages-Ergebnis für Pilze, die von Luftfilterproben aus Synthesefasermaterial isoliert wurden. Hier läßt sich im Vergleich zum vorangegangenen Diagramm eine geringere Streuung der Punkte erkennen: 31 - 554 KBE (Summe der Ein-Tages-Ergebnisse) und 0 - 197 KBE (Sechs-Tages-Ergebnis). Auch hier befinden sich die Punkte nicht in der Nähe einer 45°-Linie.



**Abbildung 24: Von Luftfilterproben aus Glasfaser isolierte Bakterien (KBE/cm²);
Verhältnis der Summe der Ein-Tages-Ergebnisse zum Sechs-Tages-
Ergebnis**

Für die auf den Luftfilterproben aus Glasfaser abgeschiedenen Bakterien läßt sich auf Abbildung 24 eine Streuung der Punkte im Bereich von 62 - 678 KBE (Summe der Ein-Tages-Ergebnisse) bzw. 0 - 307 KBE (Sechs-Tages-Ergebnis) erkennen. Nur wenige Punkte liegen in der Nähe der 45°-Linie. Die meisten Punkte befinden sich deutlich oberhalb oder vereinzelt unterhalb dieser Linie.

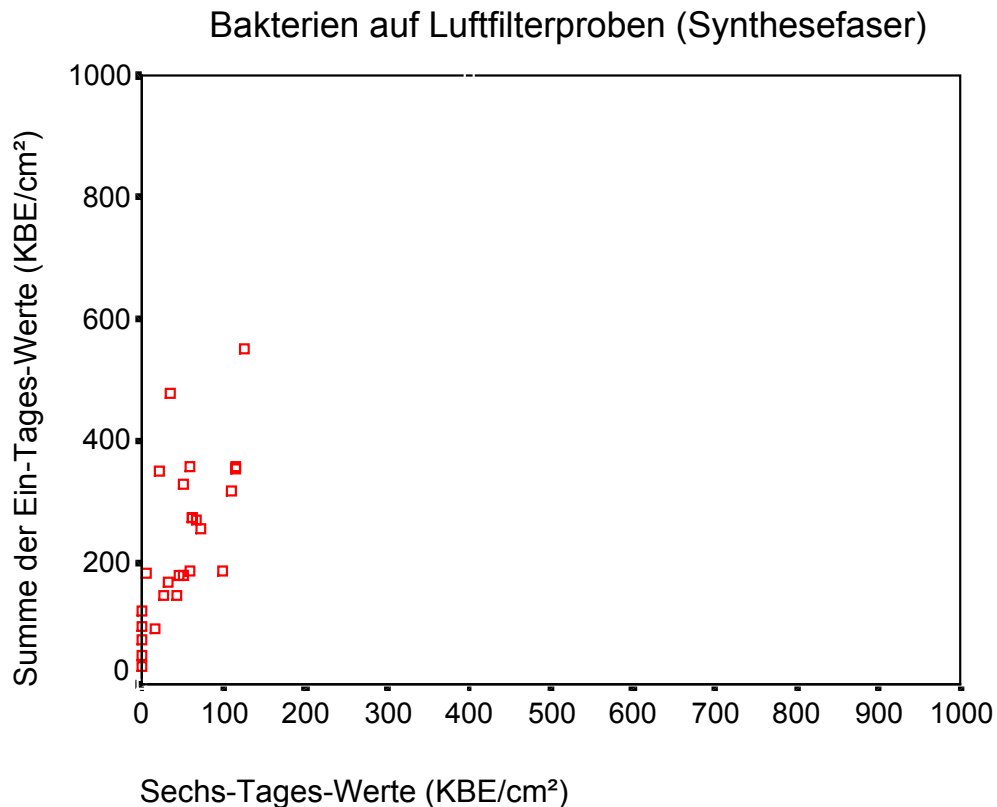


Abbildung 25: Von Luftfilterproben aus Synthesefaser isolierte Bakterien (KBE/cm²); Verhältnis der Summe der Ein-Tages-Ergebnisse zum Sechs-Tages-Ergebnis

Abbildung 25, auf der das Verhältnis der Summe der Ein-Tages-Ergebnisse zu den Sechs-Tages-Ergebnissen für Bakterien auf Luftfilterproben aus Synthesefaser dargestellt ist, zeigt eine geringere Streuung der Punkte als die vorangegangene Abbildung: die Werte liegen dabei im Bereich von 16 - 550 KBE (Summe der Ein-Tages-Ergebnisse) bzw. 0 - 124 KBE (6-er Mittelwerte). Bezüglich der Lage der Punkte hinsichtlich einer 45°-Linie läßt sich beobachten, daß auch in diesem Diagramm die Punkte überwiegend deutlich oberhalb der Linie liegen.

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß aus den vorangegangenen Scatter-Diagrammen nicht hervorgeht, daß sich die gebildeten Werte-Paare entsprechen.

b.) Zur weiteren Untersuchung der Frage, wie sich die Konzentration der Mikroorganismen auf den Luftfilterproben mit zunehmender Standzeit in den Airotestern verändert, werden

die gemessenen Werte in Boxplots dargestellt. Die Zahlenwerte, die den graphischen Darstellungen zugrunde liegen, werden jeweils in den nachfolgenden Tabellen angegeben.

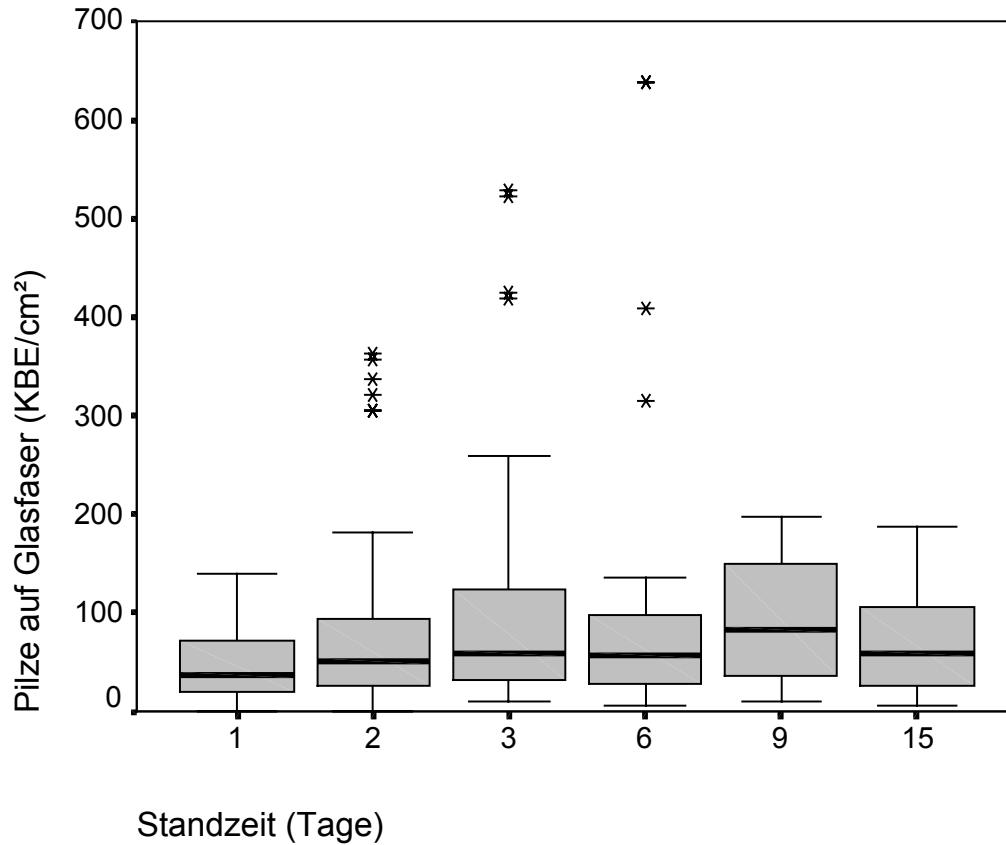


Abbildung 26: Einfluß der Filterstandzeit (Tage) auf die Anzahl kultivierbarer Pilze (KBE/ cm²) auf den Luftfilterproben aus Glasfaser

Tabelle 11: Zahlenwerte zu Abbildung 26

Standzeit (Tage)	n	Mittelwert	Median	Standardabw.	Max.	Min.
1	162	50	36	41	176	0
2	81	88	51	94	368	0
3	54	113	60	127	528	10
6	27	122	57	173	637	5
9	21	94	83	60	197	10
15	12	73	60	59	187	5

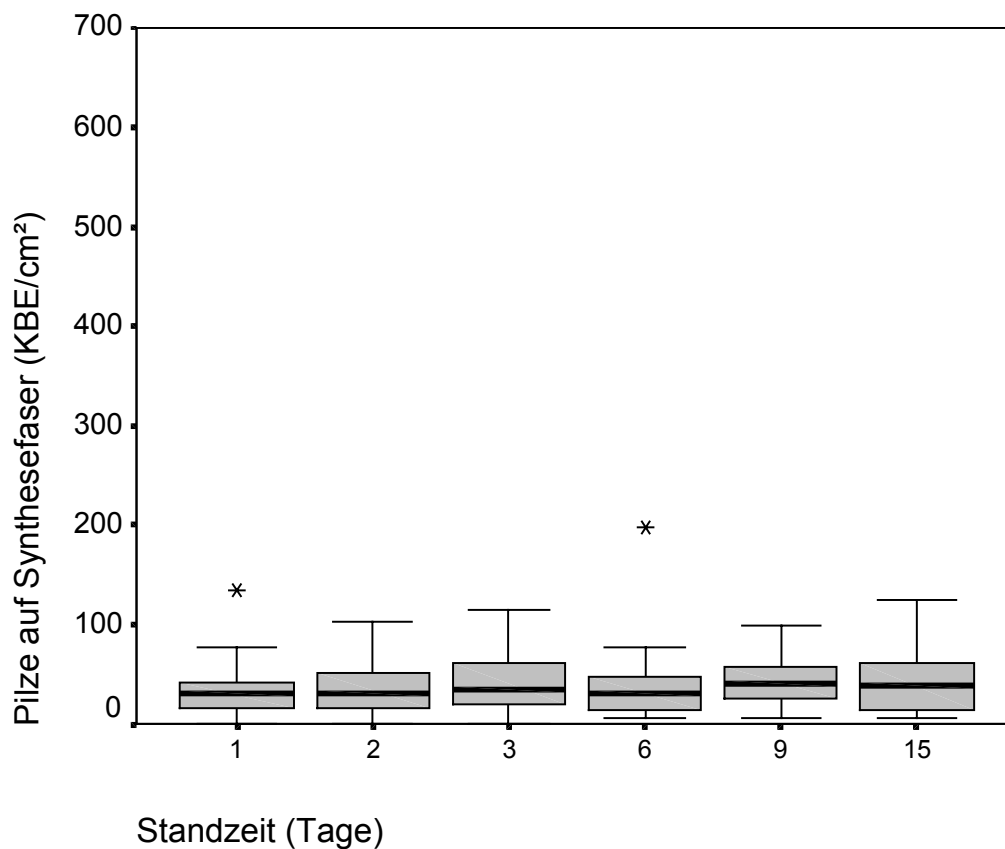


Abbildung 27: Einfluß der Filterstandzeit (Tage) auf die Anzahl kultivierbarer Pilze (KBE/ cm²) auf den Luftfilterproben aus Synthesefaser

Tabelle 12: Zahlenwerte zu Abbildung 27

Standzeit (Tage)	n	Mittelwert	Median	Standardabw.	Max.	Min.
1	162	34	31	26	135	0
2	81	41	31	33	126	0
3	54	45	34	39	134	0
6	27	38	31	38	197	5
9	21	48	41	31	124	5
15	12	49	39	46	150	5

Abbildung 26 und Abbildung 27 zeigen die Anzahl der von den Luftfilterproben isolierten Pilze in Abhängigkeit von der Standzeit der Proben in den Airotestern. Wie aus Abbildung 26 hervorgeht, hat der Median der von Proben aus Glasfaserfilter isolierten Pilze bis zum 9. Tag Filterstandzeit eine Tendenz zu steigenden Werten. Dies ist in Abbildung 27 für den Median der von Synthesefaserfilter isolierten Pilze nicht erkennbar. Auffällig sind die ho-

hen Maxima und Standardabweichungen der Filterstandzeiten von 3 und 6 Tagen (Glasfaserfilter) und die große Streuung der Werte bei Filterstandzeiten von 2, 3 und 6 Tagen (Glasfaserfilter). Bei einem Vergleich der Ergebnisse ist insgesamt deutlich zu erkennen, daß die Werte der Pilze, die aus Luftfilterproben aus Glasfasermaterial isoliert wurden, unabhängig von der Standzeit, höher sind als die der Luftfilterproben aus Synthefasermaterial.

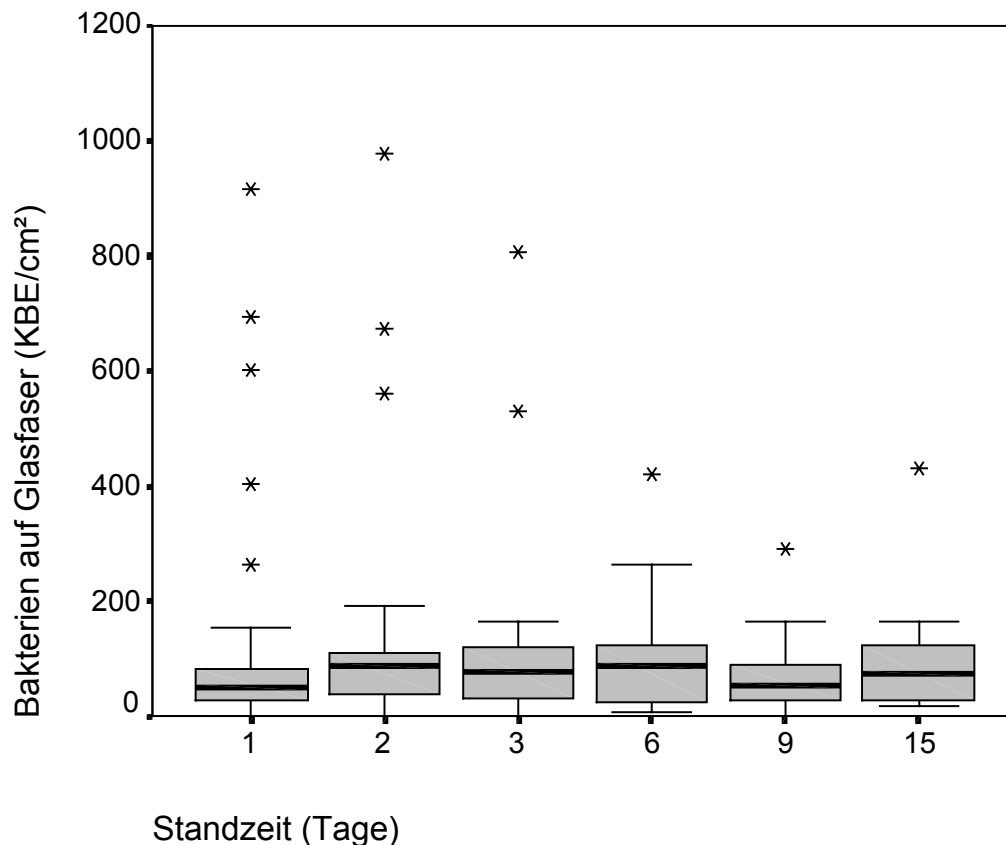


Abbildung 28: Einfluß der Filterstandzeit (Tage) auf die Anzahl kultivierbarer Bakterien (KBE/ cm²) auf den Luftfilterproben aus Glasfaser

Tabelle 13: Zahlenwerte zu Abbildung 28

Standzeit (Tage)	n	Mittelwert	Median	Standardabw.	Max.	Min.
1	162	70	49	106	917	0
2	80	103	85	139	979	0
3	54	107	78	130	808	0
6	27	113	88	112	420	5
9	21	72	52	69	290	0
15	12	102	75	115	430	16

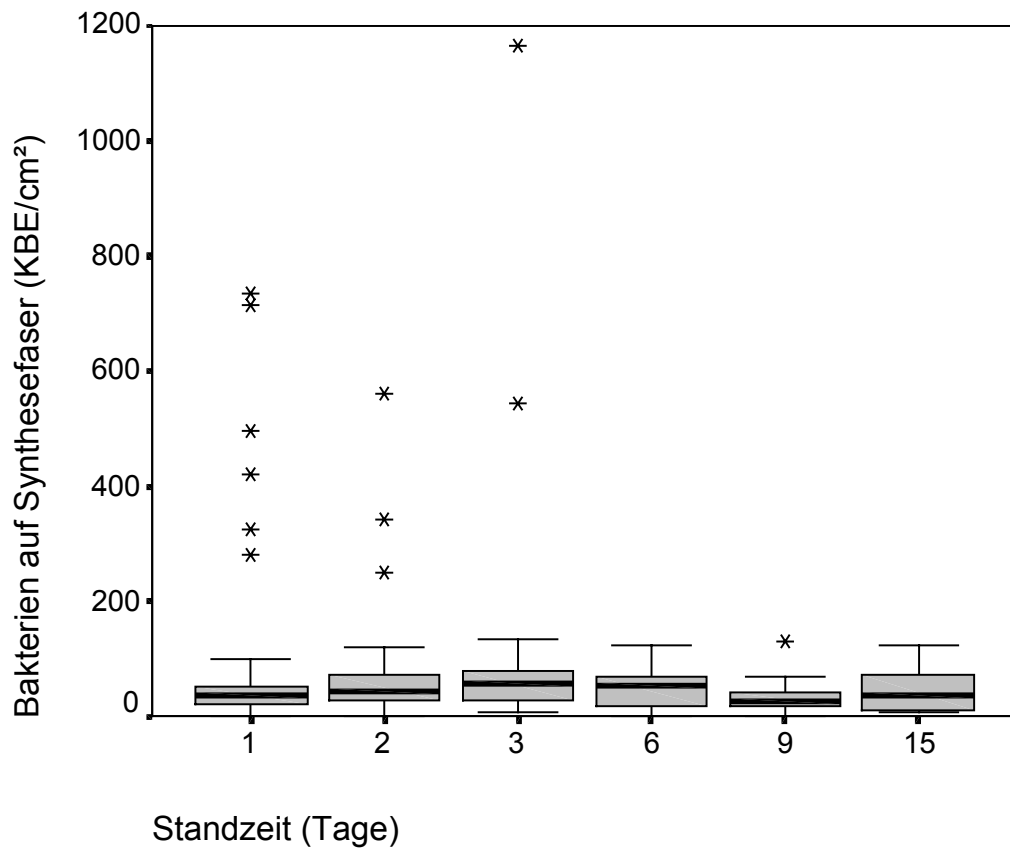


Abbildung 29: Einfluß der Filterstandzeit (Tage) auf die Anzahl kultivierbarer Bakterien (KBE/ cm²) auf den Luftfilterproben aus Synthesefaser

Tabelle 14: Zahlenwerte zu Abbildung 29

Standzeit (Tage)	n	Mittelwert	Median	Standardabw.	Max.	Min.
1	161	56	36	97	736	0
2	81	60	41	76	560	0
3	54	85	57	167	1166	5
6	27	55	52	50	126	0
9	21	37	33	33	130	0
15	12	46	43	43	124	5

In Abbildung 28 und Abbildung 29 werden die Anzahl kultivierbarer Bakterien auf den Luftfilterproben aus Glas- bzw. Synthesefasermaterial in Abhängigkeit von der Standzeit der Proben in den Airotestern dargestellt. Auf den abgebildeten Boxplots sind nur leichte Schwankungen der Mediane zu erkennen, jedoch keine Tendenz zu steigenden Werten bei längerer Filterstandzeit. Auffällig ist die extreme Schiefe der Verteilung in den ersten drei

Tagen Filterstandzeit (Glas- und Synthesefasermaterial). Insgesamt fällt bei der Auswertung der Anzahl isolierter Bakterien ebenso wie bei der vorangegangenen Auswertung bezüglich isolierter Pilze auf, daß bei einem Vergleich der Werte beider Luftfiltermaterialien sowohl die Mittelwerte als auch die Mediane und Maxima der kultivierbaren Bakterien, unabhängig von der Filterstandzeit, auf den Luftfilterproben aus Glasfasermaterial höher sind als auf den Luftfilterproben aus Synthesefasermaterial.

4.1.1.2 Einfluß des Luftfiltermaterials auf die Mikroorganismenkonzentration auf den Luftfilterproben

Um herauszufinden, welchen Einfluß das Material der Luftfilterproben (Glas- und Synthesefaser), das in den Airotestern eingesetzt wurde, auf die Konzentration der kultivierbaren Mikroorganismen hat, wurden die ermittelten Daten zu diesen Parametern mit Hilfe des Wilcoxon-Test für Paarvergleiche statistisch ausgewertet (s. 3.2.7). Dazu wurde jeweils für jede Filterstandzeit (1, 2, 3, 6, 9 und 15 Tage) einer Versuchsreihe die Gesamtkonzentration der Pilze und der Bakterien (+ Hefen) auf Luftfilterproben aus Glasfasermaterial berechnet und mit den entsprechenden Werten der parallel gewonnenen Luftfilterproben aus Synthesefaserfiltermaterial verglichen. Die Hypothese, das Luftfiltermaterial habe keinen Einfluß auf die Mikroorganismenkonzentration auf den Luftfilterproben, wurde abgelehnt, wenn die Überschreitungswahrscheinlichkeit dieser Hypothese unter 5% lag, und es wurde von einem signifikanten Unterschied der Ergebnisse ausgegangen. Aus Anhangstabelle III gehen die Rangwerte mit positiven und negativen Differenzvorzeichen hervor.

Tabelle 15: Vergleich der Gesamtkonzentration der Mikroorganismen, die von Luftfilterproben aus Glasfasermaterial mit Standzeiten von 1, 2, 3, 6, 9 oder 15 Tagen isoliert wurden, mit den entsprechenden Werten der parallel gewonnenen Proben aus Synthesefasermaterial nach dem Wilcoxon-Test für Paarvergleiche

Standzeit (Tage)	isolierte Mikroorganismen	Z	P
1	Bakterien (+ Hefen)	-4,349	<0,001
	Pilze	-4,145	<0,001
2	Bakterien (+ Hefen)	-4,265	<0,001
	Pilze	-4,013	<0,001
3	Bakterien (+ Hefen)	-2,619	0,009
	Pilze	-4,306	<0,001
6	Bakterien (+ Hefen)	-3,726	<0,001
	Pilze	-4,202	<0,001
9	Bakterien (+ Hefen)	-3,422	0,001
	Pilze	-2,633	0,008
15	Bakterien (+ Hefen)	-2,090	0,037
	Pilze	-1,964	0,050
Z= Teststatistik		p= Signifikanzniveau	

Beim Vergleich der beiden Luftfiltermaterialien hinsichtlich der Anzahl kultivierbarer Mikroorganismen ergab sich eine signifikant höhere Anzahl auf den Proben aus Glasfasermaterial als auf denen aus Synthesefasermaterial (Tabelle 15). Dies gilt sowohl für Pilze als auch Bakterien. Keinen signifikanten Unterschied ($p = 0,05$) zwischen den beiden Luftfiltermaterialien wies nur die Anzahl der Pilze auf, die von Luftfilterproben mit einer Standzeit von 15 Tagen isoliert worden waren.

4.1.1.3 Einfluß der klimatischen Parameter Lufttemperatur und relative Luftfeuchtigkeit auf die Mikroorganismenkonzentration auf den Luftfilterproben

a.) Zunächst wird in Abbildung 30 ein Überblick über die innerhalb des Untersuchungszeitraumes vom Institut für Meteorologie der Freien Universität Berlin gemessene relative Luftfeuchtigkeit und Lufttemperatur gegeben. Für diese Darstellung wurden aus den 3-h Mittelwerten der Meßwerte die arithmetischen Mittelwerte von 96 Stunden berechnet.

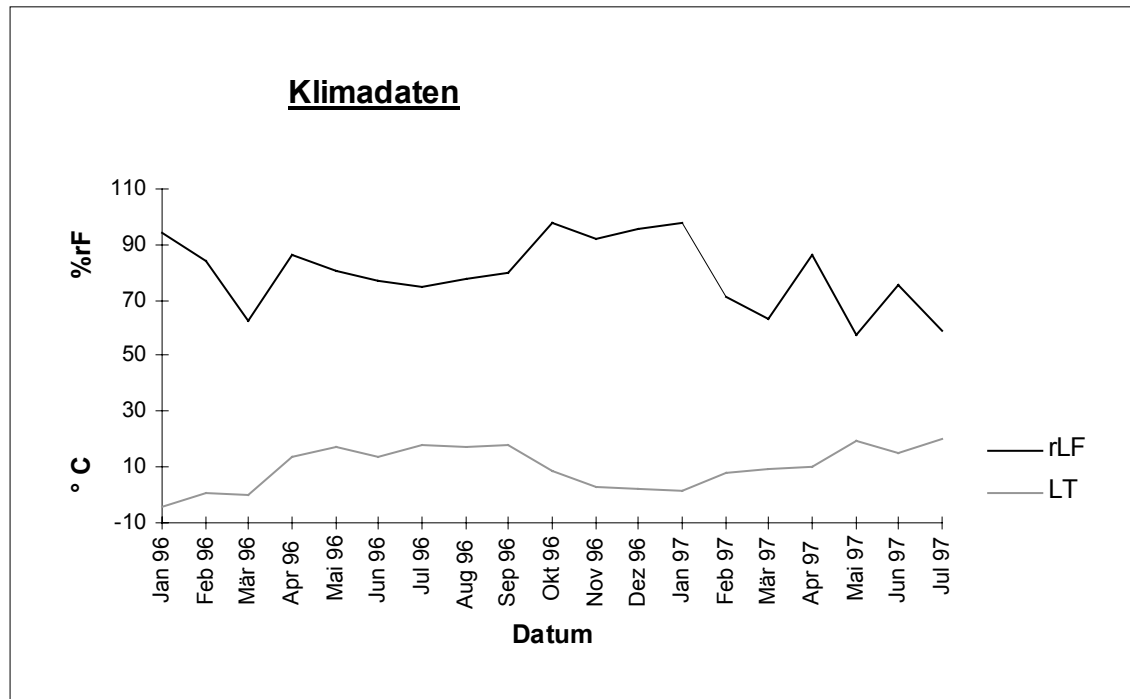


Abbildung 30: Verlauf der relativen Luftfeuchtigkeit (rLF) und der Lufttemperatur (LT) im Untersuchungszeitraum (Januar 1996 - Juli 1997). Arithmetische Mittelwerte von 96 h aus 3-h Mittelwerten der Meßwerte des Instituts für Meteorologie der Freien Universität Berlin.

In Abbildung 31 erfolgt die Darstellung des Verlaufs der Anzahl von **Pilzen**, die von den Luftfilterproben (Glas- und Synthesefasermaterial) während des Untersuchungszeitraumes isoliert werden konnten. Dazu wurde nach der Probenauswertung die Gesamtkonzentration isolierter Pilze jeder Versuchsreihe bestimmt. Pilze, die von Luftfilterproben mit einer Standzeit von 9 und 15 Tagen isoliert worden waren, wurden nicht berücksichtigt, da diese Standzeiten erst ab Mai 1996 bzw. Oktober 1996 in den Versuchsaufbau integriert wurden. Für die Darstellung wurde zur besseren Übersicht ein Kurvendiagramm gewählt.

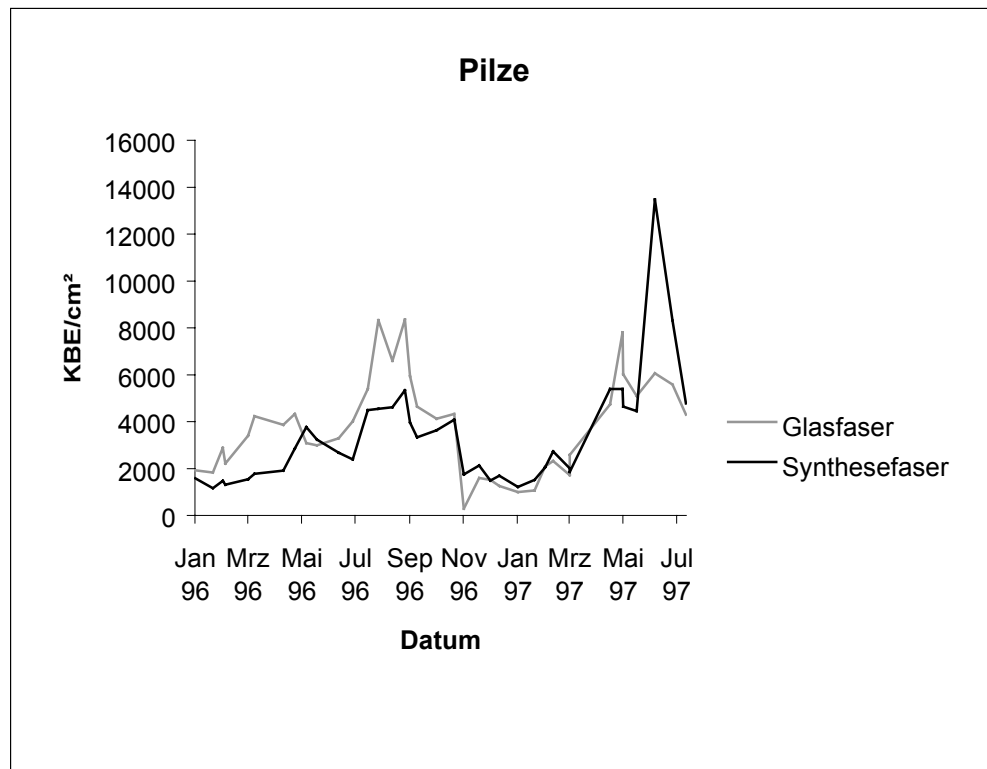


Abbildung 31: Im Untersuchungszeitraum von den Luftfilterproben isolierte Pilze angegeben in KBE/ cm²

Wie zu erkennen ist, zeigen sich tendenziell niedrigere Konzentrationen in den kalten Wintermonaten und höhere Werte in der wärmeren Jahreszeit. Auffällig sind jedoch die Peaks in den Monaten Juli und Ende August 1996, bei denen auf den Luftfilterproben aus Glasfasermaterial Spitzenwerte von 8358 KBE/ cm² erreicht werden und dagegen die deutlich niedrigere Anzahl kultivierbarer Pilze Anfang August 1996 mit Werten von nur 6594 KBE/ cm². Bei einem Vergleich mit den Klimadaten in diesem Zeitraum ist zu erkennen, daß die durchschnittliche Lufttemperatur, die in den Monaten Juni, Juli und August 1996 ca. 20° C beträgt, Ende Juni, also ungefähr vier Wochen vorher, auf nur 13° C absinkt. Zum Ende der Untersuchungen (Mai, Juni, Juli 1997) läßt sich wiederum auf beiden Luftfiltermaterialien ein Anstieg der Anzahl kultivierbarer Pilze beobachten. Wie aus Abbildung 30 zu erkennen ist, kann auch dies im Zusammenhang mit steigender Lufttemperatur und sinkender relativer Luftfeuchtigkeit gesehen werden. Ebenso auffällig ist die sehr niedrige Anzahl kultivierbarer Pilze auf den Luftfilterproben in den Monaten Januar/ Februar 1996

und November - Februar 1997. Auch hier zeigt der Vergleich, daß die klimatischen Parameter einen deutlichen Einfluß ausüben: die durchschnittliche Lufttemperatur liegt in diesen Wintermonaten durchschnittlich bei 0° C, die durchschnittliche Luftfeuchtigkeit beträgt mehr als 90 %.

Bei einem Vergleich beiden Filtermaterialien bezüglich des Verlaufs der Anzahl kultivierbarer Pilze lassen sich in den Monaten Juni, Juli, August 1996 und Juni 1997 deutlich höhere Werte auf Glasfaserfiltermaterial als auf Synthesefaserfiltermaterial beobachten, wohingegen im Juli 1997 höhere Werte auf Synthesefaser als auf Glasfaserfilter zu finden sind. Im restlichen Untersuchungszeitraum sind die Konzentrationen tendenziell gleich.

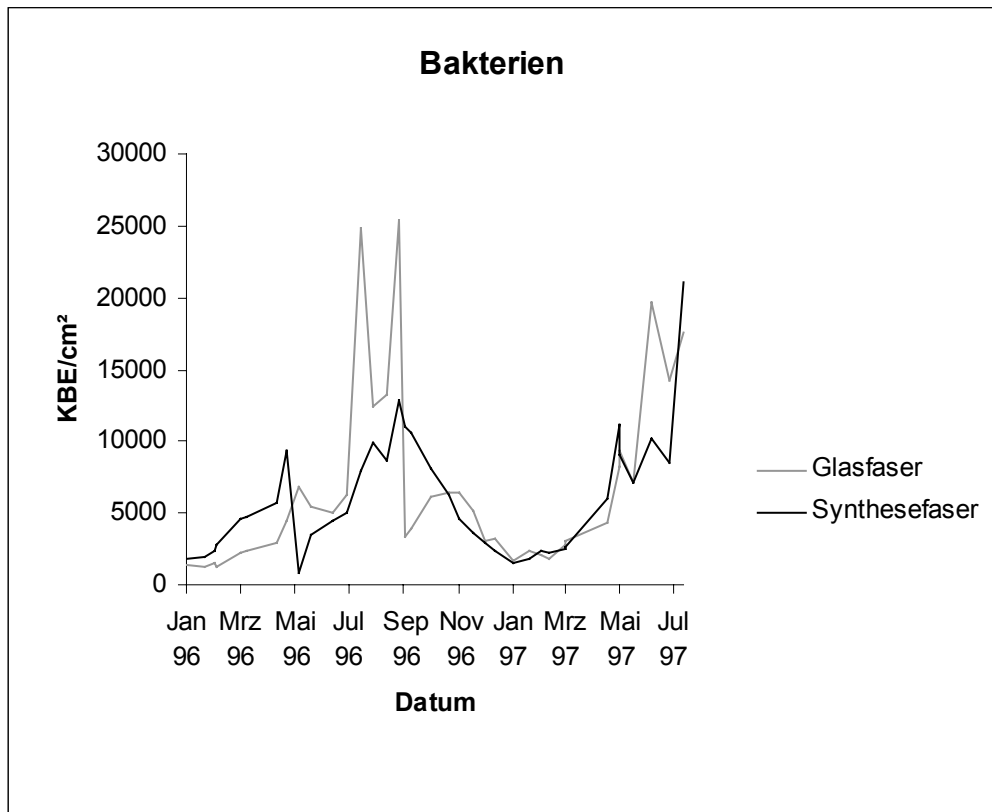


Abbildung 32: Im Untersuchungszeitraum auf den Luftfilterproben gemessene Anzahl kultivierbarer Bakterien, angegeben in KBE/ cm²

Für die Anzahl kultivierbarer **Bakterien** (Abbildung 32) zeigt sich im Untersuchungszeitraum ein ähnlicher Verlauf wie bei der zuvor beschriebenen Anzahl kultivierbarer Pilze. Ausgehend von 1112 KBE/ cm² auf Glasfaserfiltermaterial und 1823 KBE/ cm² auf Synthesefaserfiltermaterial in den Wintermonaten, stieg die Konzentration der kultivierbaren

Bakterien in den Sommermonaten auf bis zu 25.340 KBE/ cm² (Glasfaserfiltermaterial) bzw. 12.778 KBE/ cm² (Synthesefaserfiltermaterial). Zum Ende der Untersuchungen (Juni/ Juli 1997) erreichten die Bakterien ähnlich hohe Konzentrationen wie im gleichen Zeitraum des Vorjahres.

Bezüglich eines Vergleichs der beiden Filtermaterialien ergibt sich ein annähernd gleicher Verlauf der Anzahl kultivierbarer Bakterien auf Glasfaserfiltermaterial und Synthesefaserfiltermaterial. Auffällig sind jedoch die höheren Konzentrationen auf Glasfaserfiltermaterial gegenüber Synthesefaserfiltermaterial in den Monaten Juni, Juli und August 1996 und der frühere Anstieg der Anzahl kultivierbarer Bakterien auf Luftfilterproben aus Synthesefasermaterial gegenüber Proben aus Glasfasermaterial im Juni 1997.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß niedrige Lufttemperaturen und hohe relative Luftfeuchtigkeiten zu niedrigen Konzentrationen sowohl von Pilzen als auch von Bakterien auf den Luftfilterproben führten und mit steigender Temperatur sowie sinkender relativer Luftfeuchtigkeit die Mikroorganismenkonzentration auf den Luftfilterproben zunahm. Der Verlauf der Mikroorganismenkonzentrationen ist auf den beiden Luftfiltermaterialien Glas- und Synthesefaser tendenziell ähnlich, aber in den Sommermonaten fallen einzelne stark unterschiedliche Konzentrationen hinsichtlich des Filtermaterials sowohl bei Pilzen als auch bei Bakterien auf.

b.) Mit Hilfe der nachfolgenden Scatterdiagramme (Abbildung 33 - Abbildung 40) soll untersucht werden, zwischen welchem der beiden Klimaparameter (relative Luftfeuchtigkeit/ Lufttemperatur) und der Mikroorganismenkonzentration eine größere Abhängigkeit besteht. Dazu wird jeweils das Verhältnis zwischen relativer Luftfeuchtigkeit bzw. Lufttemperatur und der Anzahl isolierter Mikroorganismen dargestellt. Für diese Darstellungen wurde jeweils die Gesamtsumme isolierter Mikroorganismen (Pilze/ Bakterien) aus allen Tagen einer Versuchsreihe mit dem arithmetischen Mittelwert der Meßwerte von relativer Luftfeuchtigkeit und Lufttemperatur des gleichen Zeitraumes verglichen.

Auf den Abbildung 33 bis Abbildung 36 wird das Verhältnis zwischen relativer Luftfeuchtigkeit und der Anzahl isolierter Pilze bzw. Bakterien dargestellt. Es ist keine bestimmte Struktur der Wertepaare zu erkennen.

Auf den Abbildung 37 - Abbildung 40, die das Verhältnis zwischen Lufttemperatur und Anzahl isolierter Pilze bzw. Bakterien zeigen, ist jedoch die Tendenz sichtbar, daß bei höherer Lufttemperatur auch höhere Mikroorganismenkonzentrationen auftreten: es ist also eine Abhängigkeit zwischen diesem Klimaparameter und der von den Luftfilterproben zu isolierenden Anzahl von Mikroorganismen festzustellen.

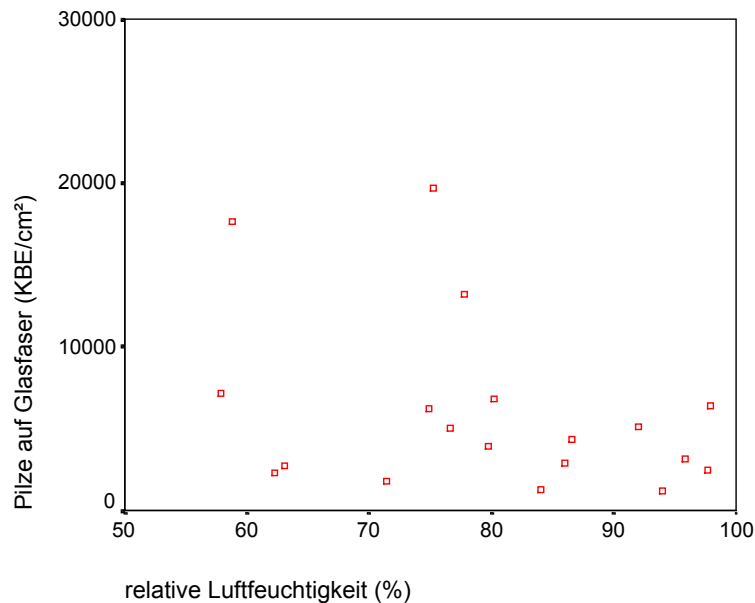


Abbildung 33: Von Luftfilterproben (Glasfaser) isolierte Pilze angegeben in KBE/cm² und die jeweils entsprechende relative Luftfeuchtigkeit in %

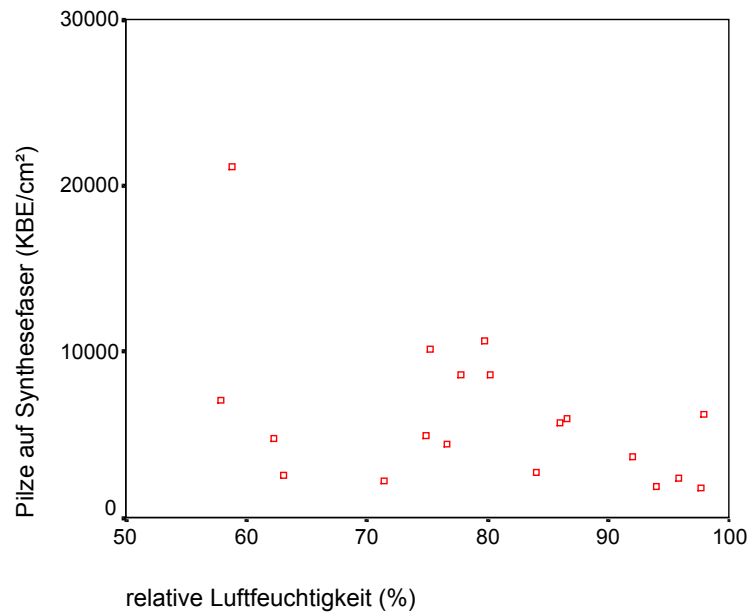


Abbildung 34: Von Luftfilterproben (Synthesefaser) isolierte Pilze angegeben in KBE/cm² und die jeweils entsprechende relative Luftfeuchtigkeit in %

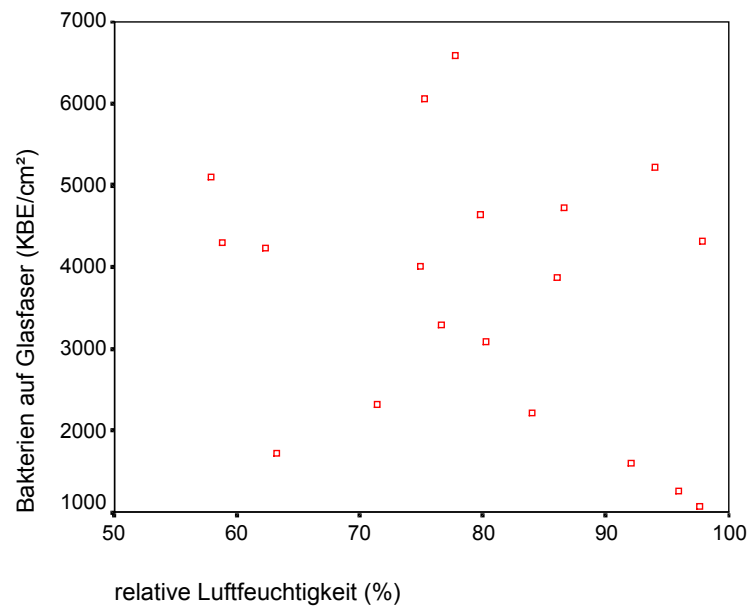


Abbildung 35: Von Luftfilterproben (Glasfaser) isolierte Bakterien angegeben in KBE/cm² und die jeweils entsprechende relative Luftfeuchtigkeit in %

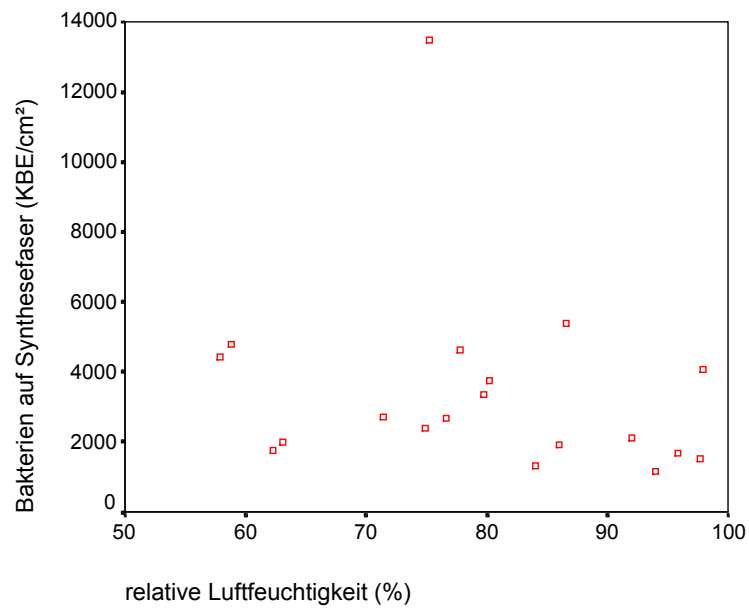


Abbildung 36: Von Luftfilterproben (Synthesefaser) isolierte Bakterien angegeben in KBE/cm² und die jeweils entsprechende relative Luftfeuchtigkeit in %

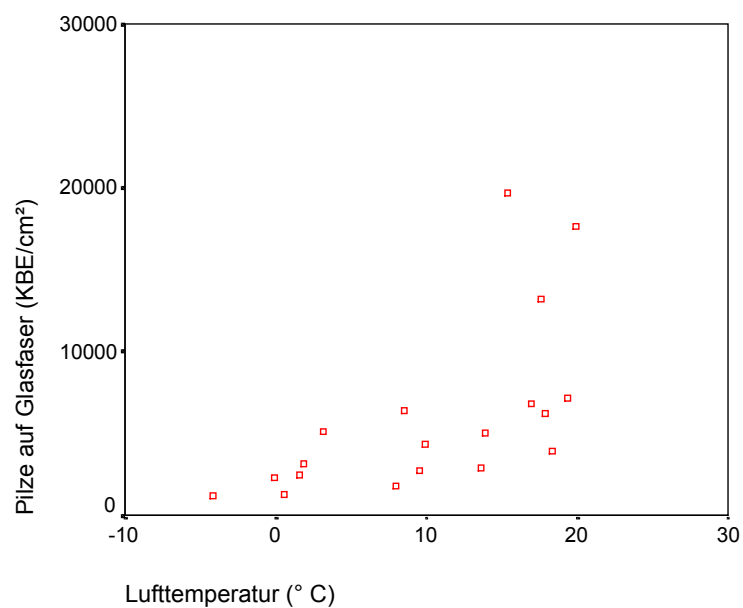


Abbildung 37: Von Luftfilterproben (Glasfaser) isolierte Pilze angegeben in KBE/cm² und die jeweils entsprechende Lufttemperatur in ° C

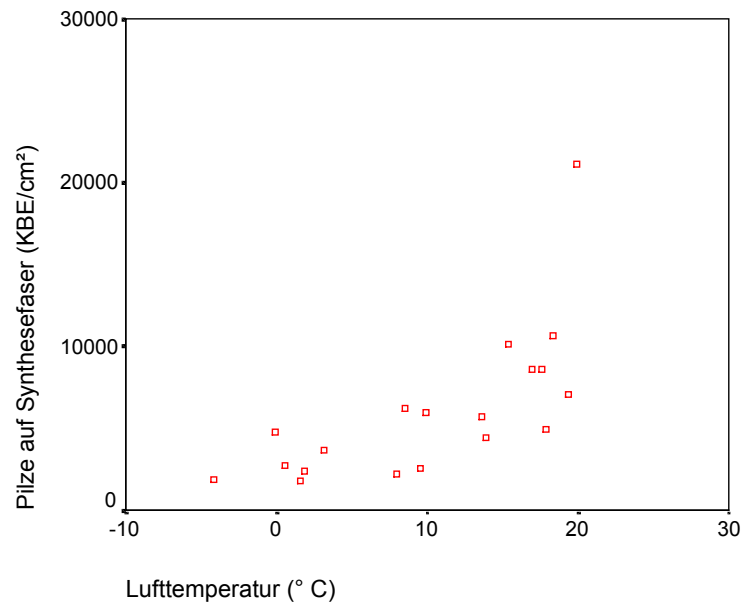


Abbildung 38: Von Luftfilterproben (Synthesefaser) isolierte Pilze angegeben in KBE/cm² und die jeweils entsprechende Lufttemperatur in ° C

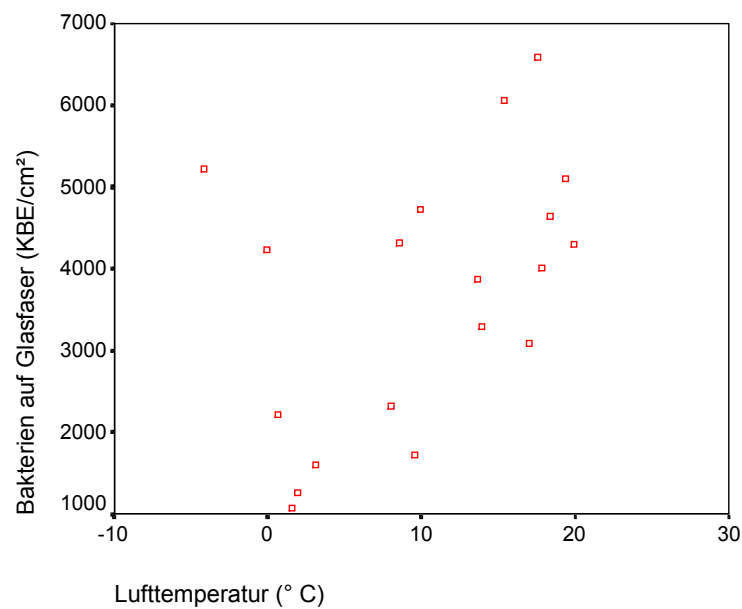


Abbildung 39: Von Luftfilterproben (Glasfaser) isolierte Bakterien angegeben in KBE/cm² und die jeweils entsprechende Lufttemperatur in ° C

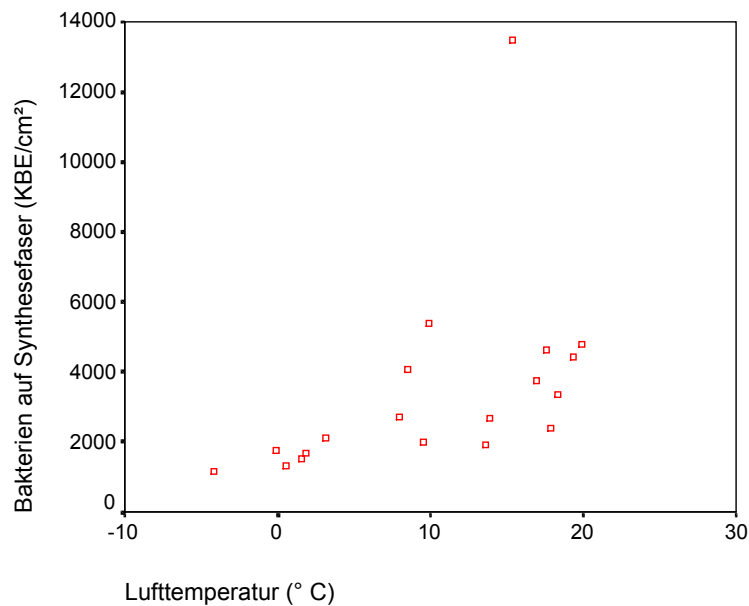


Abbildung 40: Von Luftfilterproben (Synthesefaser) isolierte Bakterien angegeben in KBE/cm² und die jeweils entsprechende Lufttemperatur in ° C

4.1.1.4 Einfluß der Standzeit der Luftfilterproben auf den pH-Wert des Luftfiltereluats

Der pH-Wert des Eluats aus den Luftfilterproben wurde von April 1996 bis Mai 1997 gemessen. Daraus ergibt sich ein Probenumfang von $n = 430$. Die gemessenen pH-Werte des Glasfaserfiltereluats liegen zwischen 8,89 und 5,71, die pH-Werte des Synthesefaserfiltereluats liegen zwischen 8,3 und 5,21. Für die graphische Darstellung der Werte wurden Boxplots gewählt (Abbildung 41 und Abbildung 42). Wie zu erkennen ist, sinkt mit zunehmender Standzeit der Luftfilterproben der Median des pH-Wertes der Luftfiltereluats. Dies gilt sowohl für die Eluate des Glasfaserfiltermaterials als auch für die des Synthesefaserfiltermaterials. Auffällig sind die Extremwerte (*) des Glasfaserfiltereluats bei ein und zwei Tagen Filterstandzeit. Insgesamt ist zu beobachten, daß die Mediane der pH-Werte des Glasfaserfiltereluats höher als die der pH-Werte des Synthesefasereluats sind (Tabelle 16).

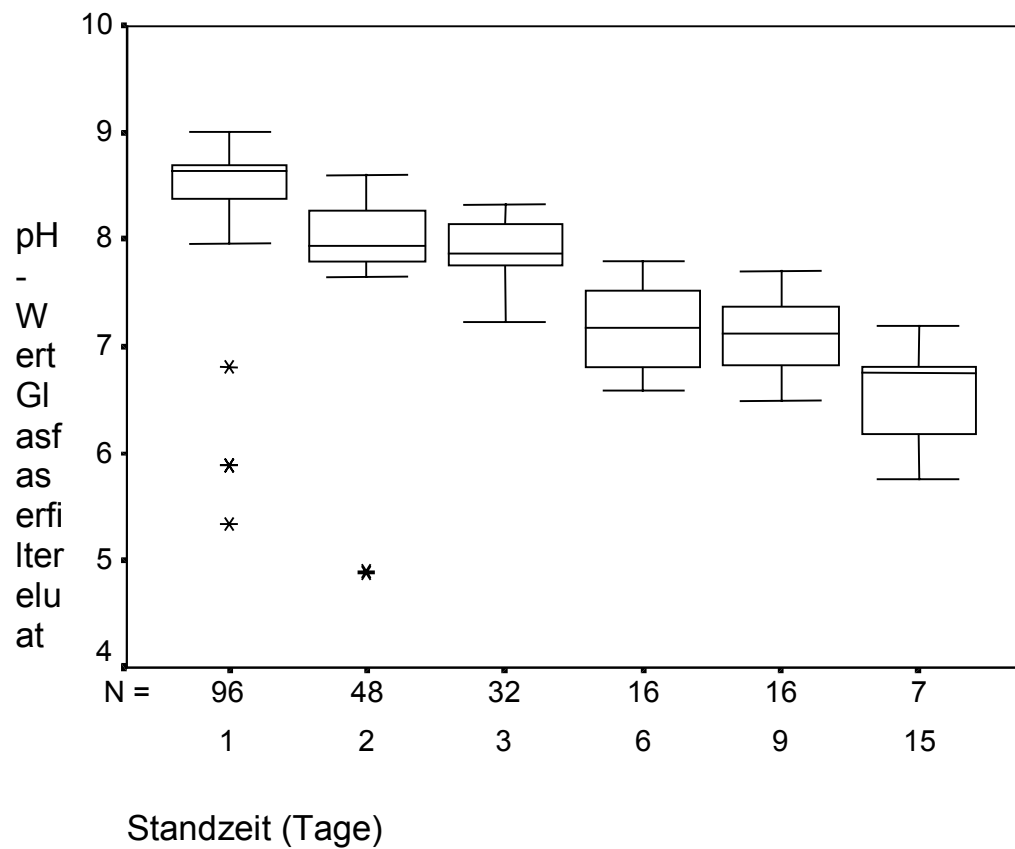


Abbildung 41: pH-Werte der aus den Luftfilterproben (Glasfasermaterial) gewonnenen Eluate (Standzeiten der Luftfilterproben: 1, 2, 3, 6, 9 und 15 Tage)

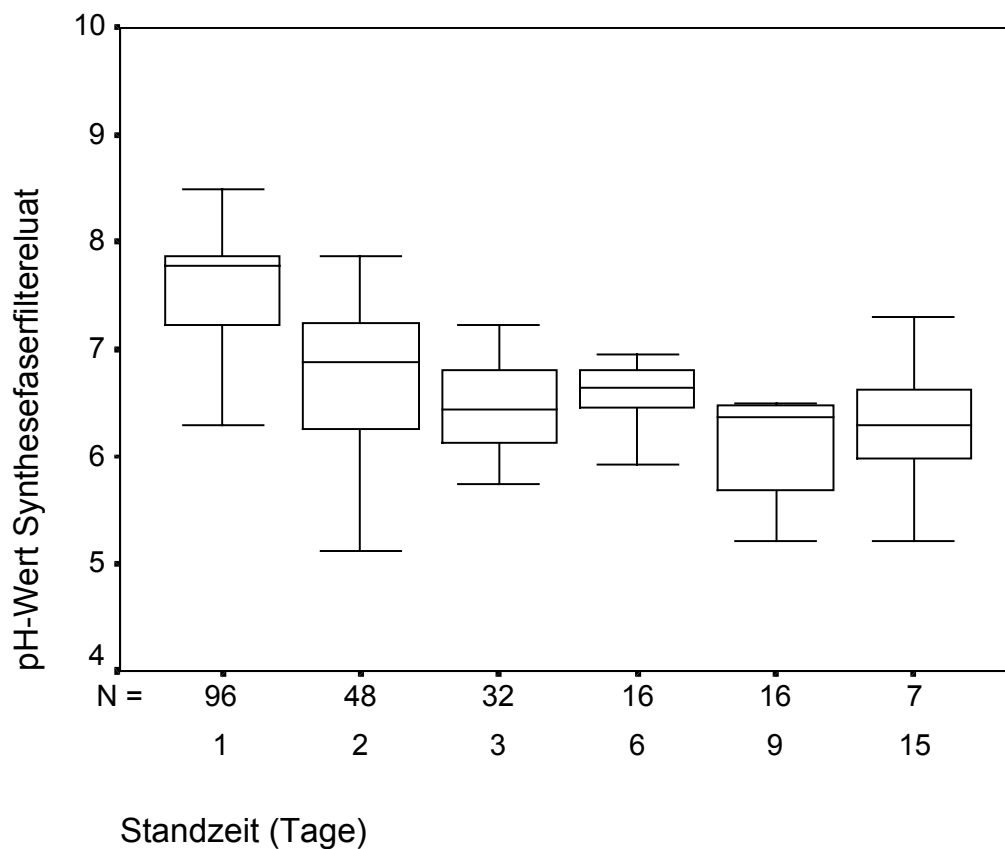


Abbildung 42: pH-Werte der aus den Luftfilterproben (Synthesefasermaterial) gewonnenen Eluate (Standzeiten der Luftfilterproben: 1, 2, 3, 6, 9 und 15 Tage)

Tabelle 16: Zu Abbildung 41 und Abbildung 42 gehörende Mediane der pH-Werte der Luftfiltereluate

Standzeit	Eluat aus:	Median
1	GF	8,65
	SF	7,78
2	GF	8,00
	SF	6,88
3	GF	7,87
	SF	6,60
6	GF	7,18
	SF	6,64
9	GF	7,12
	SF	6,36
15	GF	6,76
	SF	6,30

GF= Glasfaserfilter
SF= Synthesefaserfilter

Um den Unterschied zwischen den pH-Werten der Luftfiltereluate zu veranschaulichen, wurden jeweils die Differenzen aus den Werten der Glasfasereluate und den parallel gewonnenen Werten der Synthesefasereluate gebildet und in Boxplots dargestellt (Abbildung 43). Es ist deutlich zu erkennen, daß der Median der Differenzen für alle Filterstandzeiten positiv ist, d. h. die pH-Werte der Glasfasereluate sind größer als die pH-Werte der Synthesefasereluate. Es fällt außerdem die große Streuung der Werte bei zwei Tagen Filterstandzeit auf.

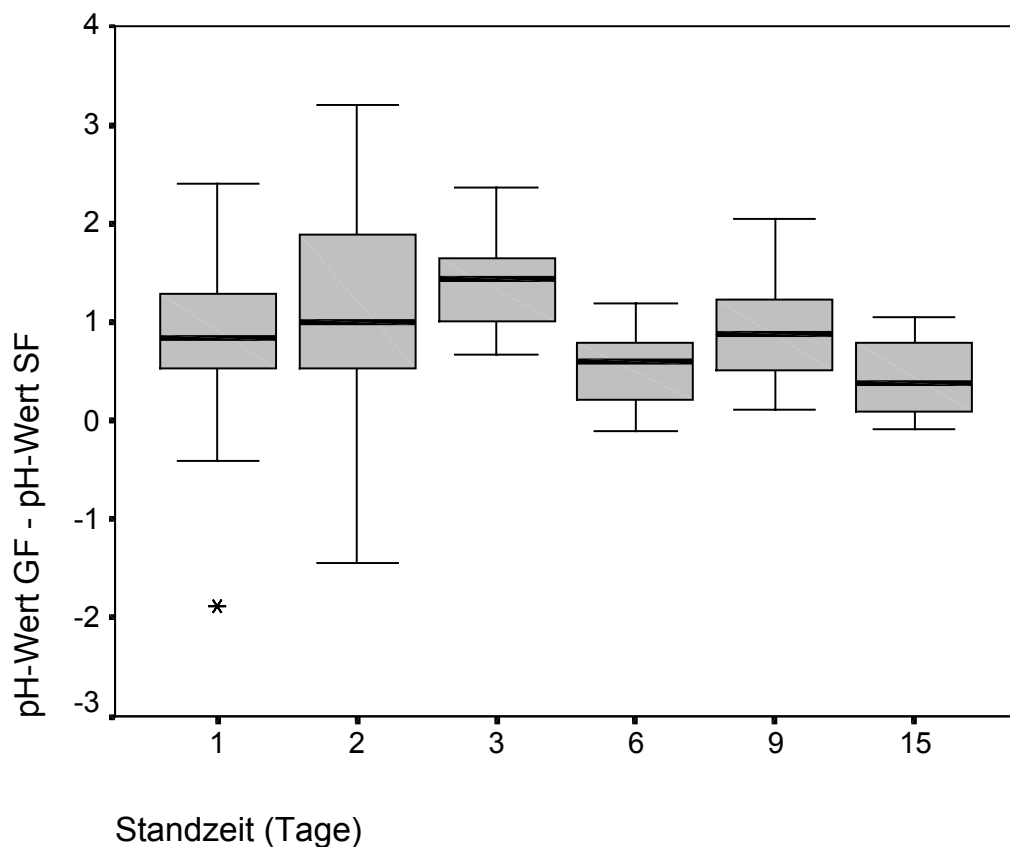


Abbildung 43: Differenz aus den pH-Werten der Glasfasereluate (GF) und den pH-Werten der Synthesefasereluate (SF)

4.1.2 Mykologische Differenzierung

Von Mai 1996 bis April 1997 erfolgte die mykologische Differenzierung aller Isolate (n= 4969) von 1371 Malzextrakt-Agar-Platten aus den Airotester-Versuchen hinsichtlich ihrer Gattung (Anhangstabelle II). Die Bestimmung der Art konnte während der mykologischen Differenzierung aus zeitlichen und aufwandstechnischen Gründen (siehe 3.2.5.2) nur

eingeschränkt erfolgen. Aus Abbildung 44 gehen die im Untersuchungszeitraum differenzierten Pilzgattungen und ihre taxonomische Einteilung hervor. Da die Literatur bezüglich der taxonomischen Einteilung von Pilzen teilweise sehr widersprüchlich ist, wurde die Einteilung von Strasburger et al. (1991) gewählt, da sie dem aktuellsten Stand der Forschung entspricht. Die differenzierten Pilze konnten 21 Gattungen zugeordnet werden. Hefen werden separat aufgeführt, da die Differenzierung nicht bis zur Gattungsebene erfolgte (s. 3.2.5.2 b.). Myzelbildende Pilze, deren Gattung nicht bestimmt werden konnte, sowie Pilze, deren Myzel steril war, werden im weiteren Verlauf gemeinsam der Rubrik "steriles Myzel" (n= 444) zugeordnet und in Abbildung 44 nicht aufgeführt.

Klasse	Ordnung (Unterordnung)	Gattung	KBE (GF)	KBE (SF)
Zygomycetes	Mucorales	<i>Mucor spp.</i>	1	1
		<i>Rhizopus spp.</i>	6	9
Fungi imperfecti (Deuteromyce- tes)	Coelomycetes (<i>Melanconiales</i>)	<i>Epicoccum spp.</i>	3	4
	(Sphaeropsidales) Moniliales	<i>Phoma spec.</i>	1	0
		<i>Acremonium spp.</i>	2	0
		<i>Alternaria spp.</i>	20	36
		<i>Aspergillus spp.</i>	132	119
		<i>Aureobasidium spp.</i>	3	4
		<i>Botryosporium spec.</i>	1	0
		<i>Botrytis spp.</i>	27	38
		<i>Chrysonilia spp.</i>	6	16
		<i>Cladosporium spp.</i>	2163	772
		<i>Fusarium spp.</i>	33	19
		<i>Paecilomyces spp.</i>	4	7
		<i>Penicillium spp.</i>	397	192
		<i>Scopulariopsis spp.</i>	4	5
		<i>Trichoderma spp.</i>	3	3
		<i>Trichophyton spec.</i>	1	0
		<i>Verticillium spp.</i>	0	2
		<i>Wallemia spec.</i>	2	2
		Hefen		
GESAMT			3185	1340

Abbildung 44: Taxonomische Einordnung (Strasburger et al., 1991) der im Zeitraum Mai 1996 bis Mai 1997 von den Malzextrakt Agar-Platten isolierten und differenzierten Pilze (n= 4525), angegeben für die Luftfilterproben aus Glasfaser (GF) und Synthesefaser (SF)

Es fällt auf, daß die Pilzgattungen *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium* sowie Hefen von beiden Filtermaterialien am häufigsten isoliert werden konnten ($KBE > 100$). Insgesamt weniger häufig ($100 > KBE > 10$) konnten dagegen Pilze der Gattungen, *Alternaria*, *Botrytis*, *Chrysonilia*, *Fusarium*, *Paecilomyces* und *Rhizopus* kultiviert werden. Selten ($KBE < 10$) wurden die übrigen Gattungen (*Acremonium*, *Aureobasidium*, *Botryosporium*, *Epicoccum*, *Mucor*, *Phoma*, *Scopulariopsis*, *Trichoderma*, *Trichophyton*, *Verticillium* und *Wallemia*) isoliert. Wie schon aus den vorangegangenen Auswertungen ersichtlich (s. 4.1.1.1), wird auch bei der quantitativen Analyse der isolierten Pilze deutlich, daß im Zeitraum der mykologischen Differenzierung mehr Pilze von den Luftfilterproben aus Glasfasermaterial ($n = 3185$, ohne "steriles Myzel") isoliert werden konnten als von den Luftfilterproben aus Synthesefasermaterial ($n = 1340$, ohne "steriles Myzel"). Der qualitative Vergleich beider Filtermaterialien in Hinsicht auf die Pilzgattungen zeigt, daß gegenüber 20 verschiedenen Gattungen auf den Luftfilterproben aus Glasfasermaterial nur 17 Gattungen auf den Proben aus Synthesefasermaterial zu finden waren: Pilze der Gattungen *Acremonium*, *Botryosporium*, *Phoma* und *Trichophyton* konnten nicht von Proben aus Synthesefasermaterial und Pilze der Gattung *Verticillium* nicht von den Luftfilterproben aus Glasfasermaterial kultiviert werden. Weiterhin fällt hinsichtlich der Pilzgattungen auf, daß alle Gattungen, die häufig isoliert werden konnten, auf Glasfaserfiltermaterial deutlich höhere KBE-Zahlen als auf Synthesefaserfiltermaterial haben. Dahingegen erreichen 12 von 17 (70,6%) der Gattungen, die insgesamt nur selten ($KBE < 10$) zu kultivieren waren, auf Synthesefaserfiltermaterial eine gleich hohe oder höhere KBE-Zahl als auf Glasfaserfiltermaterial.

4.1.2.1 Einfluß der Standzeit der Luftfilterproben auf die isolierten Pilzgattungen am Beispiel von *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.*, *Cladosporium spp.*, *Fusarium spp.* und Hefen

Es wurde der Einfluß der Standzeit der Luftfilterproben auf die Pilzgattungen *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Fusarium* sowie Hefen und steriles Myzel untersucht. Diese Gattungen wurden ausgewählt, da sie den größten Anteil an den von den Luftfilterproben isolierten Pilzgattungen haben (Abbildung 44) und unter dem Aspekt des allergenen bzw. pathogenen Potentials oder der Toxinbildung relevant sind.

Zur Untersuchung dieser Fragestellung wurde von den 21 Pilzgattungen, die im Zeitraum der mykologischen Differenzierung (Mai 1996 - April 1997) isoliert werden konnten, der jeweilige prozentuale Anteil der Gattungen *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium*, Hefen und steriles Myzel an allen 21 isolierten Gattungen in Abhängigkeit von der Filterstandzeit (1, 2, 3, 6, 9 und 15 Tage) ermittelt. Pilzgattungen, die nicht zu den aufgezählten gehören, wurden unter "sonstige Gattungen" zusammengefaßt.

Wie deutlich aus Abbildung 45 hervorgeht, hat auf **Glasfaserfiltermaterial** die Gattung *Cladosporium* unabhängig von der Filterstandzeit den größten prozentualen Anteil bezüglich der ausgewählten Pilzgattungen.

Der mittlere Anteil von *Cladosporium* liegt dabei bei 59%. Bis zu sechs Tagen Filterstandzeit liegt der Anteil dieser Gattung mit 73% am höchsten und nimmt mit 42% bei 15 Tagen ab. Die Gattung *Penicillium* hat einen mittleren Anteil von 13%, wobei der relativ größte Anteil mit 22% bei 15 Tagen Filterstandzeit zu beobachten ist und der relativ kleinste Anteil mit 9% bei zwei und sechs Tagen.

Der mittlere Anteil der Gattung *Aspergillus* liegt bei 5%, wobei ebenso wie bei der vorangegangenen Gattung bei 15 Tagen Filterstandzeit mit 11% der relativ größte Anteil zu beobachten ist. Bei drei Tagen Filterstandzeit ist der Anteil mit 2% relativ am kleinsten.

Wie deutlich ersichtlich, ist der Anteil der Gattung *Fusarium* an den Isolaten insgesamt sehr klein (mittlerer Anteil 1%). Mit 2% bei einem Tag Filterstandzeit ist hier der relativ größte Anteil dieser Gattung zu erkennen, wohingegen *Fusarium* bei 15 Tagen Filterstandzeit nicht isoliert werden konnte.

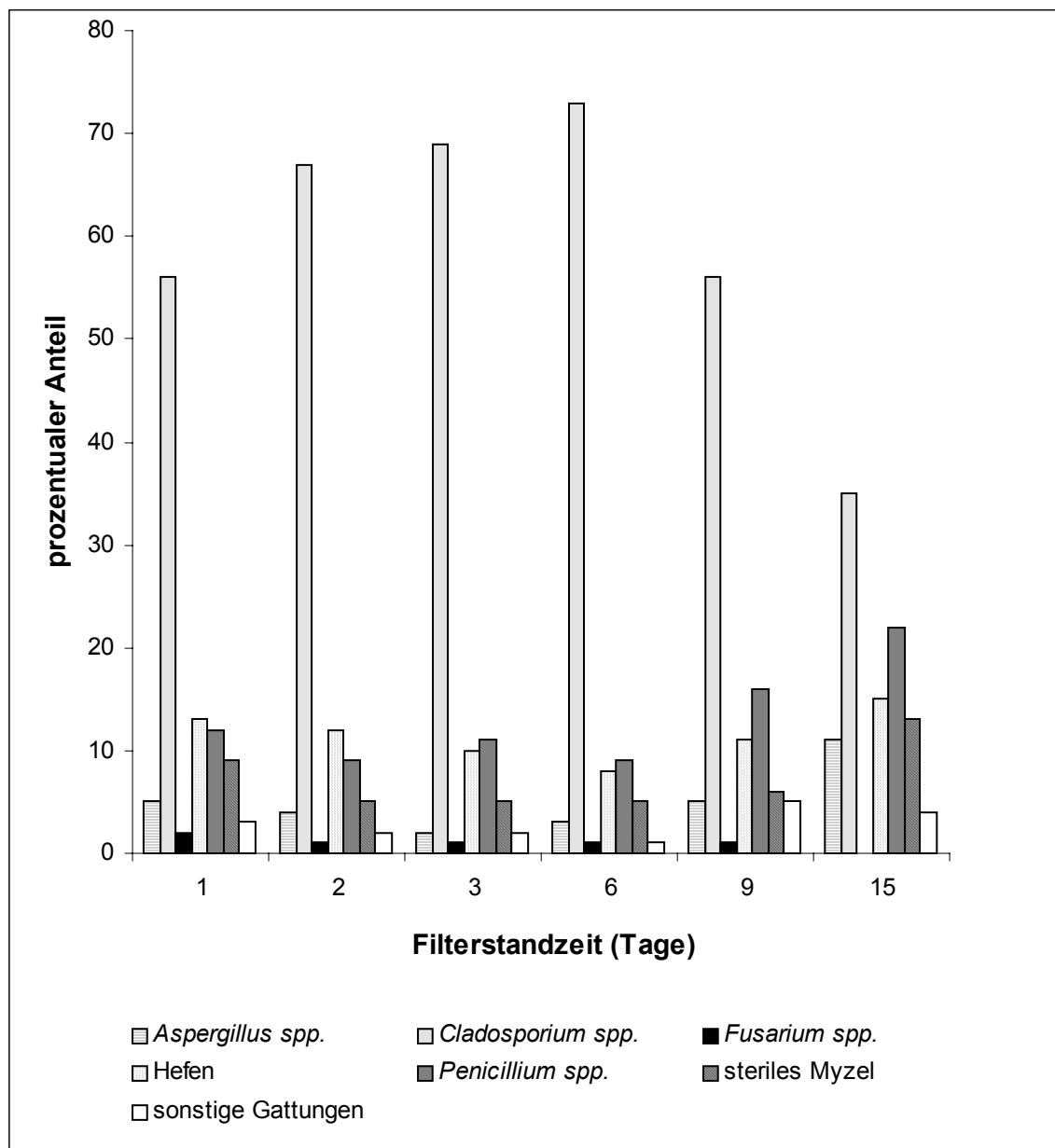


Abbildung 45: Prozentualer Anteil der Gattungen *Aspergillus* (n= 132), *Cladosporium* (n= 2163), *Fusarium* (n= 33), Hefen (n= 376), *Penicillium* (n= 397), und sterilem Myzel (n= 231) an allen isolierten Pilzgattungen (n= 3416) auf den Luftfilterproben aus Glasfasermaterial für Filterstandzeiten von 1, 2, 3, 6, 9 und 15 Tagen

Hefen haben einen mittleren Anteil von 11%. Für Hefen kann der größte Anteil (15%) bei 15 Tagen Filterstandzeit und der kleinste Anteil (8%) bei sechs Tagen registriert werden.

Den relativ größten Anteil (13%) an den Isolaten hat steriles Myzel bei 15 Tagen Filterstandzeit, wohingegen der relativ kleinste Anteil (5%) sowohl bei zwei, drei als auch sechs Tagen beobachtet werden kann (mittlerer Anteil 7%).

Sonstige Pilzgattungen haben einen mittleren Anteil von 3%. Mit 5% bei neun Tagen Filterstandzeit haben diese Gattungen ihren relativ größten Anteil und mit 1% bei sechs Tagen ihren relativ kleinsten Anteil.

Zusammenfassend läßt sich für die ausgewählten Pilzgattungen auf den Luftfilterproben aus Glasfasermaterial feststellen, daß der Anteil der Gattung *Cladosporium* an diesen Gattungen nach einem Anstieg in den ersten 6 Tagen Filterstandzeit bei längerer Standzeit deutlich abnimmt. Der Anteil der Gattungen *Penicillium* und *Aspergillus* dahingegen zeigt sich in den ersten Tagen Filterstandzeit nur leicht schwankend jedoch mit deutlicher Zunahme bei 15 Tagen. Die Gattung *Fusarium* zeigt einen kontinuierlich abnehmenden Anteil an den dargestellten Pilzgattungen bei längerer Filterstandzeit.

Der Anteil von Hefen, ebenso wie von sterilem Myzel und "sonstigen Gattungen", nimmt bis zu sechs Tagen Filterstandzeit leicht ab und steigt dann bei längerer Standzeit kontinuierlich an.

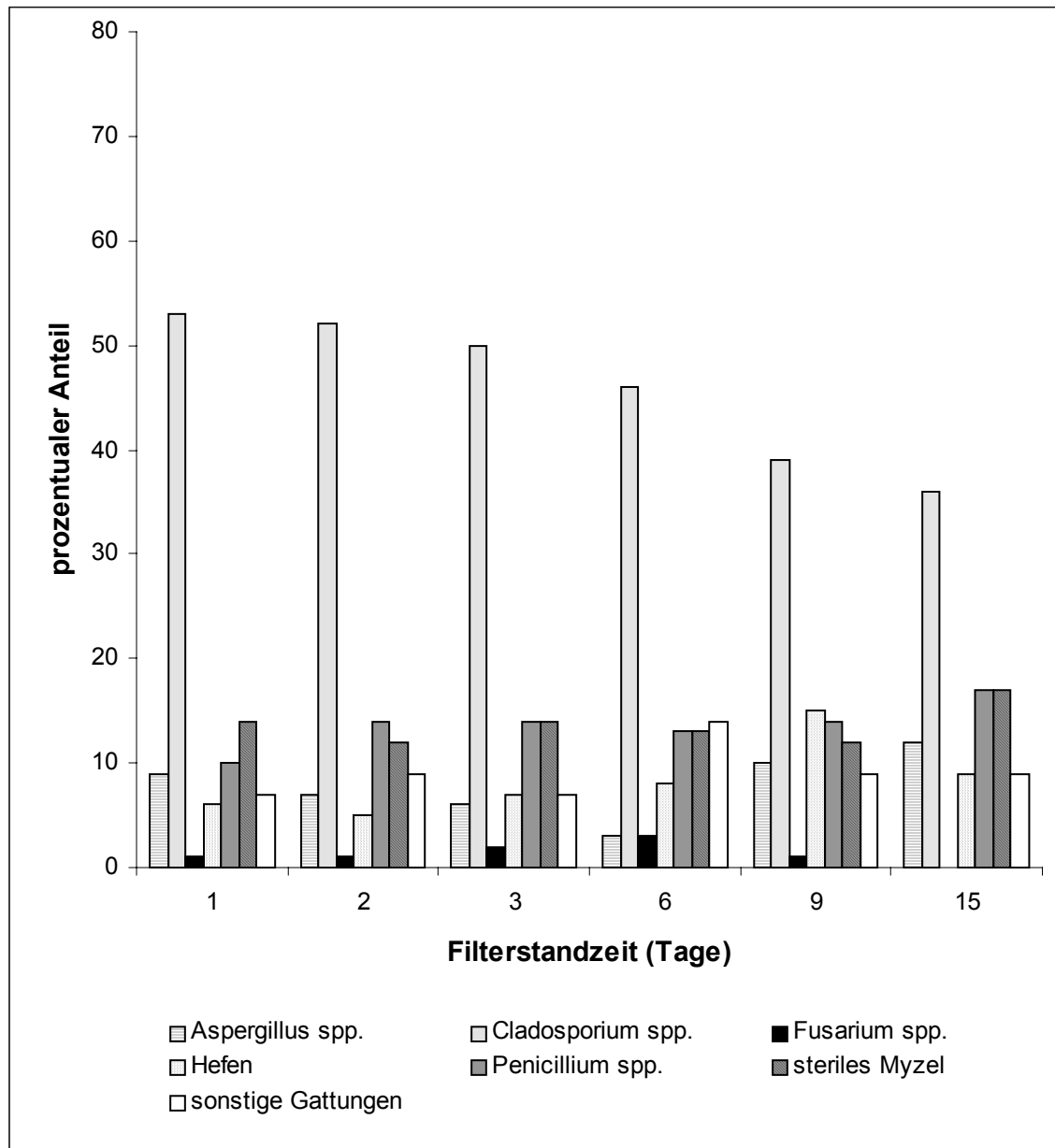


Abbildung 46: Prozentualer Anteil der Pilzgattungen *Aspergillus* (n= 119), *Penicillium* (n= 192), *Cladosporium* (n= 772), *Fusarium* (n= 19) sowie von Hefen (n= 111) und sterilem Myzel (n= 213) an allen isolierten Pilzgattungen (n= 1553) auf den Luftfilterproben aus Synthesefasermaterial für Filterstandzeiten von 1, 2, 3, 6, 9 und 15 Tagen

In Abbildung 46 ist – analog zu Abbildung 45 - der prozentuale Anteil der Pilzgattungen *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Fusarium* sowie von Hefen und sterilem Myzel auf den Luftfilterproben aus **Synthesefasermaterial** für die Filterstandzeiten von 1, 2, 3, 6,

9 und 15 Tagen dargestellt. Auch bei diesem Filtermaterial ist deutlich zu erkennen, daß die Gattung *Cladosporium* insgesamt am häufigsten vertreten ist.

Der mittlere Anteil von *Cladosporium* an den ausgewählten Pilzgattungen liegt dabei bei 46%. Bei einem Tag Filterstandzeit ist der größte Anteil von *Cladosporium* zu beobachten (53%), wohingegen der kleinste Anteil (36%) dieser Gattung bei 15 Tagen sichtbar ist.

Für die Gattung *Penicillium* (mittlerer Anteil 13%) läßt sich dagegen der relativ größte Anteil (17%) bei 15 Tagen Filterstandzeit und der relativ kleinste Anteil (10%) bei einem Tag erkennen.

Der mittlere Anteil der Gattung *Aspergillus* liegt bei 7%. Deutlich ist ablesbar, daß *Aspergillus* bei 15 Tagen Filterstandzeit den für diese Gattung größten Anteil (12%) und bei sechs Tagen den kleinsten Anteil (3%) hat.

Der Anteil der Gattung *Fusarium* an den ausgewählten Pilzgattungen ist insgesamt sehr klein (mittlerer Anteil 1%). Der relativ größte Anteil (3%) von *Fusarium* ist dabei bei sechs Tagen Filterstandzeit zu beobachten, wohingegen diese Gattung bei 15 Tagen nicht isoliert werden konnte.

Hefen, deren mittlerer Anteil 8% beträgt, haben den relativ größten Anteil mit 15% bei neun Tagen Filterstandzeit und den relativ kleinsten Anteil mit 5% bei zwei Tagen.

Steriles Myzel hat den relativ größten Anteil (17%) an den Isolaten bei 15 Tagen Filterstandzeit, wohingegen der relativ kleinste Anteil (12%) bei zwei und neun Tagen beobachtet werden kann (mittlere Anteil 13%).

Sonstige Pilzgattungen haben einen mittleren Anteil von 9%, den relativ größten Anteil deutlich erkennbar bei sechs Tagen Filterstandzeit mit 14% und den relativ kleinsten Anteil mit 7% bei einem und drei Tagen.

Für die ausgewählten Pilzgattungen auf den Luftfilterproben aus Synthesefasermaterial läßt sich zusammenfassend feststellen, daß der Anteil der Gattung *Cladosporium* bei längerer Filterstandzeit kontinuierlich absinkt. Im Gegensatz dazu nimmt der Anteil der Gattung *Penicillium* bei 15 Tagen Filterstandzeit kontinuierlich zu. Nach einer Abnahme in den ersten 3 Tagen zeigt die Gattung *Aspergillus* bei längerer Filterstandzeit einen stark ansteigenden Anteil an den dargestellten Pilzgattungen. Die Gattung *Fusarium* zeigt bei sechs Tagen Filterstandzeit einen zunehmenden, anschließend einen abnehmenden Anteil an den ausgewählten Pilzgattungen. Der Anteil von Hefen steigt bei zwei Tagen Filterstandzeit an,

um jedoch bei 15 Tagen wieder zu sinken. Der Anteil des sterilen Myzels zeigt sich in den ersten Tagen Filterstandzeit nur leicht schwankend mit anschließender deutlicher Zunahme bei 15 Tagen. Bei "sonstigen Gattungen" läßt sich ebenfalls ein schwankender Anteil an den dargestellten Pilzgattungen beobachten, der bei sechs Tagen Filterstandzeit am größten ist und dann bei längerer Standzeit wieder absinkt.

Bei einem Vergleich der beiden Luftfiltermaterialien **Glas-** und **Synthesefaser** muß berücksichtigt werden, daß im Untersuchungszeitraum insgesamt deutlich weniger Pilze von den Luftfilterproben aus Synthesefasermaterial isoliert werden konnten ($n = 1553$) als von den Proben aus Glasfasermaterial ($n = 3416$). Für die Gattung *Cladosporium* fällt bei einem Vergleich der beiden Luftfiltermaterialien auf, daß deren Anteil bei kurzer Filterstandzeit (< 15 Tage) auf Glasfasermaterial größer ist (mittlerer Anteil von 59% gegenüber 46% auf Synthesefasermaterial). Bei 15 Tagen Filterstandzeit ist dagegen der Anteil dieser Gattung auf beiden Filtermaterialien gleich (35% bzw. 36%).

Der Vergleich der beiden Filtermaterialien zeigt außerdem, daß die Gattungen *Penicillium* und *Aspergillus* sowohl auf Glasfaser- als auch Synthesefaserfiltermaterial bei längerer Filterstandzeit einen zunehmenden Anteil an den dargestellten Pilzgattungen haben.

Für *Fusarium* läßt sich bei diesem Vergleich sagen, daß die Gattung auf beiden Filtermaterialien sehr wenig und bei 15 Tagen Standzeit gar nicht isoliert werden konnte.

Für steriles Myzel läßt sich ein deutlich geringerer mittlerer Anteil auf Glasfaserfiltermaterial (7%) als auf Synthesefaserfiltermaterial (13%) beobachten sowie auf beiden Filtermaterialien ein Anstieg bei 15 Tagen Standzeit auf 13% auf Glasfaserfiltermaterial und 17% auf Synthesefaserfiltermaterial.

Der Vergleich des Einflusses von Glas- und Synthesefaserfiltermaterial auf die "sonstigen Gattungen" zeigt, daß diese auf Glasfaserfiltermaterial einen geringeren mittleren Anteil (7%) gegenüber Synthesefaserfiltermaterial (13%) haben.

4.2 Hemmtest

Die Hemmtests wurden in 5 Versuchsreihen von Juli 1997 bis Dezember 1997 durchgeführt. Pro Versuchsreihe wurden parallel 5 Race tubes für jedes Nährmedium (Glasfaserfiltereluat, Synthesefiltereluat, Kontrollmedium) eingesetzt. Da 3 Proben der Nährmedien mit Eluatzusatz und 2 Proben der Kontrollgruppen kontaminiert waren und nicht ausge-

wertet wurden, ergibt sich somit ein Probenumfang von $n = 70$ Proben. Für die nicht ausgewerteten Proben wurde in den Ergebnis-Tabellen im Anhang (Anhangstabelle IV) der Wert n.a. angegeben.

4.2.1 Einfluß des Luftfiltermaterials auf das Wachstum des Pilzmyzels

Zur Klärung des Einflusses des Luftfiltermaterials auf das Wachstum von Pilzmyzel wurde getestet, ob sich das Längenwachstum des Myzels von *Cladosporium cladosporioides* in den Race tubes auf den drei eingesetzten Nährmedien (CMA-Agar mit Zusatz von Glasfaserfiltereluat, Synthesefaserfiltereluat oder Aqua dest. [Kontrollmedium]) über den Unterschied wiederholter Meßreihen hinaus erkennbar unterscheidet. Zu diesem Zweck wurde eine Varianzanalyse mit Meßwiederholungen durchgeführt (s. 3.2.7), deren Ergebnisse aus Tabelle 17 hervorgehen.

Tabelle 17: Ergebnisse der Varianzanalyse mit Meßwiederholungen

Faktor	Typ III SQ	df	MQ	F	P
Material	39,319	2	19,660	36,427	<0,001
Fehler	36,159	67	0,54		
SQ= Summe d. Mittelwerte F= Prüfgröße df= Freiheitsgrad p= Signifikanzniveau MQ= Mittelwert					

Es kann festgestellt werden, daß ein signifikanter Unterschied des Längenwachstums zwischen den drei verwendeten Nährmedien besteht. Zur Veranschaulichung werden in der folgenden Abbildung 47 die arithmetischen Mittelwerte des Myzelwachstums für die drei verwendeten Nährmedien in einem Kurvendiagramm dargestellt. Wie zu erkennen ist, ist der Verlauf der drei Kurven tendenziell ähnlich: das Längenwachstum von *Cladosporium cladosporioides* nimmt von 3 - 4 cm im ersten Meßintervall (0. - 4. Tag) bis zu 10 cm im dritten Meßintervall (8. - 12. Tag) stetig zu, ist im vierten Meßintervall (12. - 16. Tag) mit nur 3 - 5 cm auffallend gering und nimmt anschließend wieder leicht zu.

Jedoch ist bis zum 12. Tag der Messung das Wachstum des Pilzmyzels auf den Nährmedien mit Synthesefaserfiltereluat geringer als auf den Nährmedien mit Glasfaserfiltereluat und den Kontrollmedien, deren Kurven wiederum sehr dicht nebeneinander verlaufen. Vom 12. bis zum 20. Tag dagegen ist das Wachstum auf den Kontrollmedien am stärksten,

und bei dem Vergleich des Längenwachstums auf den Nährmedien mit den beiden Eluatzusätzen fällt auf, daß nun das Pilzmyzel auf Glasfaserfiltereluat geringer wächst.

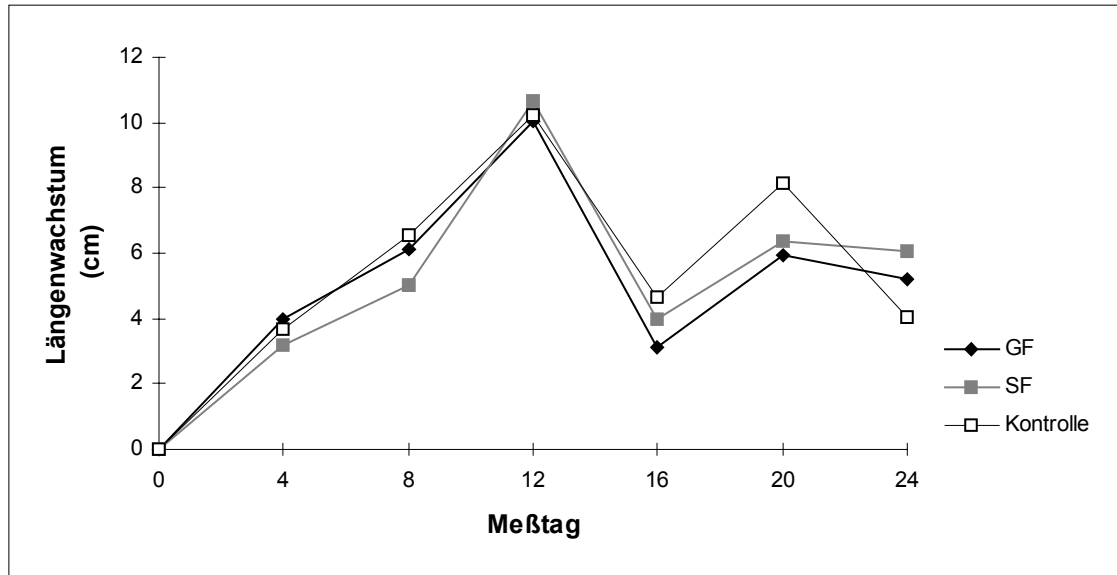


Abbildung 47: Längenwachstum von *Cladosporium cladosporioides*, angegeben in cm, auf Nährmedien mit Zusatz von Luftfiltereluat (GF= Glasfaser, SF= Synthesefaser) und dem Kontrollmedium mit Zusatz von Aqua dest.

5 Diskussion

Wie bereits in Einleitung und Literaturteil dargestellt, werden aerogen übertragene Infektionen und allergische Reaktionen im Zusammenhang mit dem Innenraumklima immer häufiger beobachtet. Da die Luftfilter raumluftechnischer Anlagen wichtige Risikofaktoren im Hinblick auf Kontaminationen der Raumluf sind, sollte im Rahmen dieser Arbeit das Überlebensverhalten von Mikroorganismen auf Luftfiltern untersucht und die Frage geklärt werden, inwieweit die Standzeit und das Material von Luftfiltern Einfluß darauf haben, ob Pilze und Bakterien sich darauf vermehren oder absterben. Darüber hinaus erfolgte die Differenzierung der von den Luftfiltern isolierten Pilze, so daß mit der vorliegenden Studie nicht nur das Überlebensverhalten dieser Mikroorganismen untersucht wurde, sondern auch eine Aussage über das pathogene und allergene Potential der abgeschiedenen Pilze möglich ist.

5.1 Überlebensverhalten von Mikroorganismen auf Luftfiltern raumluftechnischer Anlagen

In bisher durchgeführten Untersuchungen hinsichtlich der Mikroorganismenkonzentration auf Luftfiltern raumluftechnischer Anlagen wurden, je nach Frage- und Zielstellung der Studien, quantitative (Rüden und Botzenhart, 1974; Schmidt-Lorenz et al., 1981) oder semiquantitative (Reckzeh und Dontenwill, 1974; Elixmann, 1989; Kemp et al., 1995) Nachweisverfahren ohne Validation angewendet. In der vorliegenden Untersuchung wurde jedoch eine validierte Methode (Möritz und Martiny, 1997) zum quantitativen Nachweis von Mikroorganismen auf Luftfiltern eingesetzt.

Aus den Ergebnissen der Untersuchung (s. 4.1.1.1) geht hervor, daß auf den Luftfiltern, die in den Airotestern während einer **Standzeit** von bis zu sechs Tagen mit Außenluft durchströmt wurden, keine Akkumulation von kultivierbaren Pilzen oder Bakterien stattfindet, d. h. die Mikroorganismen, die auf den Luftfiltern abgeschieden werden, sterben überwiegend ab. Da während der Untersuchung die Konditionen (Außenluft, Luftdurchfluß, Umgebungsklima) für die Luftfilter in den Airotestern den Konditionen der Vorfilter der gewählten raumluftechnischen Anlage eines Universitätsklinikums entsprachen, sind diese Ergebnisse auch auf die Luftfilter der raumluftechnischen Anlage übertragbar. Die Beobachtung, daß die Mikroorganismen auf den Luftfiltern absterben, stimmt mit der Vermu-

tung von Martiny et al. (1994) überein, daß die theoretische Überlebenszeit von Mikroorganismen auf Luftfiltern ungefähr drei Tage beträgt. Möritz (1998) geht nach einer Stichprobe ebenfalls von einer mittleren Überlebensdauer von ein bis drei Tagen für Außenluft-Mikroorganismen auf Luftfiltern aus.

Bei der Betrachtung der gemessenen Mikroorganismenkonzentration für die einzelnen Luftfilterstandzeiten von 1, 2, 3, 6, 9 und 15 Tagen in den Airotestern (Abbildung 26 - Abbildung 29) sind nur leichte Schwankungen der Konzentrationen auf den Luftfiltern zu erkennen, nicht jedoch eine deutliche Zunahme von kultivierbaren Pilzen oder Bakterien bei längerer Standzeit. Auffällig hohe Werte traten nur in den Sommermonaten bei hohen Lufttemperaturen auf (s. Anhangs-Tabelle I) und sind somit auf **saisonale Schwankungen der Mikroorganismenkonzentration** in der Außenluft zurückzuführen. Die schiefe Verteilung dieser Extremwerte (Abbildung 26 - Abbildung 29) auf die ersten drei Tage Filterstandzeit zeigt, daß bei längerer Filterstandzeit die Anzahl kultivierbarer Mikroorganismen weniger variiert. Dies unterstützt die Aussage der vorliegenden Studie, daß die Mikroorganismen nach wenigen Tagen auf den Luftfiltern absterben, da auch in Versuchsreihen mit einzelnen hohen Abscheideraten die Anzahl kultivierbarer Mikroorganismen bei längerer Filterstandzeit nicht ansteigt.

In jüngsten Untersuchungen von Neumeister-Kemp (persönliche Mitteilung, 1998) konnten auf Luftfiltern mit einer Filterstandzeit von 8 Wochen fluoreszenzmikroskopisch keine vitalen Hyphen nachgewiesen werden, obwohl durch die gegenüber der vorliegenden Untersuchung längere Filterstandzeit eine stärkere Akkumulation von Staub auf den Luftfiltern stattgefunden hatte, der möglicherweise als Substrat hätte dienen können. Laatikainen et al. (1991) haben in Untersuchungen des Staubs aus RLT-Anlagen einen Anteil von 20% organischem Material festgestellt, weshalb dieser Staub unter Umständen als Kohlen- und Stickstoffquelle für Mikroorganismen dienen könnte. Elixmann (1989) und Schata (1995) postulieren, Pilzhypen könnten Staubkuchen auf Luftfiltern als Nährmedien nutzen und die Luftfilter zur Reinluftseite hin durchwachsen. Eine **Vermehrung von Mikroorganismen** auf Luftfiltern kann aber weder durch die vorliegende Untersuchung noch durch die oben angeführte Arbeit von Neumeister-Kemp oder durch die jüngste von Pejtersen (1996) durchgeführte Studie bestätigt werden. In dieser wurde der Zusammenhang zwischen der Staubbeladung von Luftfiltern und mikrobiellen Kontaminationen, die zu sensorischen Belastungen der Innenraumluft führen, untersucht.

Die in der vorliegenden Arbeit durchgeführten Messungen des **pH-Wertes des Luftfiltereluats** (s. 4.1.1.4) zeigen, daß mit längerer Standzeit des Luftfiltermaterials in den Airotestern auch der pH-Wert des Eluats sinkt. Obwohl diese Werte nicht direkt übertragbar sind, da die Substanzen, die aus dem Luftfiltermaterial gewaschen wurden, in Wasser gelöst vorliegen, läßt sich doch erkennen, daß mit zunehmender Standzeit und damit verbundener Beladung der Luftfilter das Milieu auf den Luftfiltern Veränderungen unterworfen ist.

Als Ursache für das **Absterben der Mikroorganismen** auf den Luftfiltern kommt neben diesen Veränderungen des Milieus bei längerer Standzeit vor allem die während des Betriebs einer RLT-Anlage stattfindende Durchströmung mit Luft in Frage. Diese führt zur Dehydrierung der auf den Luftfiltern abgeschiedenen Zellen, da der Luftstrom zu einem höheren Diffusionsgradienten im Umfeld der Zelle und damit zu einer höheren Verdunstung führt. Ursprünglich erhobene Vermutungen, das Luftfiltermaterial selbst enthielte antimikrobielle Komponenten, wurden in Studien von Martikainen et al. (1990) und Kemp et al. (1995) widerlegt, da es den Autoren in Laborversuchen gelang, auf nicht durchströmtem Luftfiltermaterial nach Zusatz von Nährsubstraten mikrobielles Wachstum zu induzieren. Luftfiltermaterialien mit antimikrobiellen Zusätzen werden derzeit hinsichtlich ihrer Eignung und gesundheitlichen Unbedenklichkeit von mehreren Herstellern getestet. Diese sind aber nicht Gegenstand der Untersuchung, da der überwiegende Anteil der in der Praxis eingesetzten Luftfilter diese Zusätze bisher nicht enthält.

5.1.2 Einfluß des Luftfiltermaterials

Um den Einfluß des Luftfiltermaterials auf das Überlebensverhalten von Mikroorganismen zu untersuchen, wurden in der Studie von Möritz (1996) Luftfilter verschiedener Materialien (Glas-, Synthese- und Zellulosefaser), Bauformen (Taschen- und Kassettenfilter) und Hersteller parallel durchströmt. Der Autor kam bei seinen Untersuchungen zu fast identischen Ergebnissen hinsichtlich des Überlebensverhaltens und geht daher davon aus, daß unterschiedliche Verarbeitungsverfahren und Appreturen der Luftfilter keinen Einfluß auf die abgeschiedenen Mikroorganismen haben.

In der vorliegenden Studie wurden die Luftfiltermaterialien Glas- und Synthesefaser untersucht, da es sich bei ihnen um die am häufigsten verwendeten Filtermaterialien handelt. Das ursprünglich ebenfalls eingeplante Zellulosefasermaterial wurde nicht eingesetzt, da es sich für die Verwendung im Airotester als zu spröde erwies. Wie die Ergebnisse (s. 4.1.1.1)

zeigen, ist das Überlebensverhalten von Pilzen und Bakterien auf beiden Luftfiltermaterialien praktisch identisch, d. h., die Mikroorganismen sterben während einer Filterstandzeit von sechs Tagen sowohl auf den Luftfiltern aus Glasfaser als auch auf den Luftfiltern aus Synthesefaser ab. Dagegen ergab der quantitative Vergleich der auf den beiden Luftfiltermaterialien abgeschiedenen Mikroorganismen auf Glasfaserfiltermaterial eine signifikant höhere Anzahl kultivierbarer Pilze und Bakterien. Nur Luftfilter mit einer Standzeit von 15 Tagen zeigten keinen signifikanten Unterschied der Mikroorganismenkonzentration.

Um herauszufinden, ob diese unterschiedliche Quantität der isolierten Mikroorganismen auf einen unterschiedlichen Abscheidegrad der Luftfilter zurückzuführen ist (obwohl die verwendeten Luftfilter derselben Filterklasse 7 angehören) oder aber eventuell auf wachstumshemmende Substanzen der Filtermaterialien selbst, wurde für die vorliegende Arbeit der "**Hemmtest**" konzipiert. Mit Hilfe dieses Tests (genauer Versuchsaufbau s. 3.2.6) wurde der Einfluß der verwendeten Luftfiltermaterialien auf das Längenwachstum von Pilzmyzel untersucht. Wie aus den Ergebnissen (s. 4.2.1) hervorgeht, besteht ein signifikanter Unterschied des Pilzmyzelwachstums auf den in der Arbeit verwendeten Luftfiltermaterialien Glas- und Synthesefaser. Aber die Übertragbarkeit dieser Ergebnisse des Hemmtests auf die Ergebnisse der Airotester-Versuche muß kritisch betrachtet werden, da mit Hilfe des Hemmtests nur die Wirkung der wasserlöslichen Substanzen der Luftfiltermaterialien auf das Pilzmyzel untersucht werden kann, da nur diese in den Eluat und somit auch den Nährmedien enthalten waren. Das Wachstum des Pilzmyzels im Hemmtest ist deshalb nicht uneingeschränkt auf das Überleben von Pilzsporen auf Luftfiltern übertragbar.

Kemp et al. (1995) beobachteten in ihrer Studie einen **Unterschied der Filtereffektivität** von Glasfaser- und Synthesefaserfiltern: während die Abscheideraten auf Glasfaserfiltermaterial nur unwesentlich variierten, zeigten die verwendeten Synthesefaserfilter derselben Filterklasse zu Beginn der Untersuchung geringere Abscheideraten als erwartet. Erst nach den ersten drei Monaten Standzeit, mit zunehmender Staubbeladung, nahm die Effektivität dieses Filtermaterials zu, und es fand damit eine Angleichung an die Abscheideleistung des Glasfaserfiltermaterials statt. Zum gleichen Ergebnis kam Neumeister-Kemp (persönliche Mitteilung, 1998): zwei in der Studie untersuchte Luftfiltermaterialien zeigten in den ersten vier Wochen der Filterstandzeit stark unterschiedliche Mikroorganismenkonzentrationen, die sich aber bei längerer Standzeit zunehmend angleichen. Die Beobachtung, daß Synthese-

faserfiltermaterial einen geringeren Fraktionsabscheidegrad als Glasfaserfiltermaterial derselben Filterklasse hat, wurde auch von Teijonsalo et al. (1996) beschrieben. Die Autoren berichteten, daß im Verlauf ihrer Studie, die sich über sechs Monate erstreckte, die Staubbelastung auf den untersuchten Glasfaserfiltern signifikant höher war als auf den Synthesefaserfiltern. Hake (1998) erwägt in seiner Dissertation, daß sich die Filterleistung von Luftfiltern bei stärkerer Beladung durch Bestandteile von Mikroorganismen (Zellen, Hyphen, Myzelien, Sporen) erhöht.

Vor diesem Hintergrund scheint die in der vorliegenden Untersuchung aufgetretene höhere Anzahl der Mikroorganismen auf den Luftfiltern aus Glasfasermaterial ebenfalls eher auf unterschiedliche Abscheidegrade der Luftfiltermaterialien zurückzuführen sein, da bereits bei der längsten untersuchten Filterstandzeit (15 Tage) kein signifikanter Unterschied der Mikroorganismenkonzentration zwischen den beiden Luftfiltermaterialien gemessen werden konnte. Die Vermutung, daß sich beim Auswaschen der Luftfilterproben ("Schüttelmethode") unterschiedliche Mikroorganismenkonzentrationen aus dem Filtermaterial lösen, wurde bereits bei der Validierung der oben genannten Methode von Möritz und Martiny (1997) berücksichtigt. Dabei konnte gezeigt werden, daß die Erfassungsrate der Methode auch bei inhomogenem Untersuchungsmaterial vergleichbar ist.

5.1.3 Einfluß der klimatischen Parameter

Neben dem Vorhandensein von Nährstoffen (Kohlenstoff- und Stickstoffquellen, Mineralien etc.) sind verfügbares Wasser und Temperatur wichtige Faktoren für das Wachstum von Pilzen und Bakterien. Der Frage, unter welchen klimatischen Bedingungen sich Mikroorganismen auf Luftfiltern raumluftechnischer Anlagen vermehren, wurde in verschiedenen Studien nachgegangen. Rüden und Botzenhart (1974), Reckzeh und Dontenwill (1974) und Kemp et al. (1995) konnten bei einer relativen Luftfeuchtigkeit $< 90\%$ kein mikrobielles Wachstum auf durchströmten Luftfiltern feststellen, wohingegen Schmidt-Lorenz et al. (1981) bereits bei 70% rF Wachstum von Pilzen auf Luftfiltermaterial beobachteten. Jedoch wurde bei dieser Versuchsanordnung das Luftfiltermaterial mit Nährstoffen beaufschlagt und nicht von Luft durchströmt, was nicht den natürlichen Wachstumsbedingungen auf Luftfiltern in RLT-Anlagen entspricht. Mit der Versuchsanordnung von Möritz (1996) konnte in Klima-Filter-Prüfständen bei konstanter Durchströmung bei relativen Luftfeuchtigkeiten $> 90\%$ beginnendes Wachstum von myzelbildenden Pilzen und bei 100% rF

(Durchfeuchtung) massives Wachstum von Bakterien, myzelbildenden Pilzen und Hefen mit Abgabe an die Reinluft gemessen werden.

In den aufgeführten Studien wurde jedoch nicht berücksichtigt, daß Konzentration und Vitalität von Mikroorganismen in der Außenluft in Abhängigkeit von **saisonalen Zyklen** stark schwanken, was sowohl die Abscheiderate als auch das Überlebensverhalten auf den Luftfiltern von RLT-Anlagen beeinflusst. In den Sommer- und frühen Herbstmonaten werden die höchsten Konzentrationen luftgetragener Pilzsporen und Bakterien in der Außenluft gemessen (Lacey, 1990). Auch Pasanen et al. (1990) berichteten von 10^1 bis 10^3 KBE/m³ gemessenen Pilzsporen im Spätsommer und nur 1 bis 10^2 KBE/m³ in den Wintermonaten. Stetzenbach (1997) konnte während der in den Sommermonaten herrschenden Klimabedingungen (hohe Lufttemperatur/niedrige relative Luftfeuchtigkeit) die höchsten Konzentrationen von Sporen der Spezies *Cladosporium* und *Nigrospora* sowie die höchsten Bakterienkonzentrationen messen. Außerdem stellte die Autorin fest, daß diese Klimabedingungen die Vitalität der Mikroorganismen positiv beeinflussten und ihre Überlebensfähigkeit erhöhten. Die während der warmen Jahreszeit zu messenden hohen Konzentrationen von Mikroorganismen in der Außenluft sind zum einen auf die Vegetation zurückzuführen, zum anderen ist die Verbreitung von Pilzsporen und Bakterien von warmem und trockenem Boden durch bodennahe Luftströmungen günstiger. Darüber hinaus führen die in diesem Zeitraum durchgeführten agrarwirtschaftlichen Arbeiten (Ernte, Kompostierung etc.) zu einer Erhöhung der Anzahl luftgetragener Mikroorganismen.

Da sich die Untersuchung der vorliegenden Arbeit über mehr als einen Jahresverlauf erstreckt, konnten sowohl die verschiedenen Vegetationszeiten und die damit einhergehenden Veränderungen der Mikroorganismenkonzentration in der Außenluft als auch die saisonalen Schwankungen der Klimaparameter berücksichtigt werden. Primär läßt sich aus den Ergebnissen eine Abhängigkeit zwischen den jahreszeitlichen Schwankungen der Lufttemperatur und der Mikroorganismenkonzentration auf den Luftfiltern ableiten. Eine direkte Abhängigkeit zu dem Klimaparameter relative Luftfeuchtigkeit läßt sich dagegen nicht wie in den oben angeführten Studien feststellen: in der kälteren Jahreszeit mit Lufttemperaturen $< 0^\circ \text{C}$ konnte selbst bei relativen Luftfeuchten von $> 90\%$ eine geringere Mikroorganismenkonzentration von den Luftfilterproben isoliert werden als in den Sommermonaten mit Lufttemperaturen $> 20^\circ \text{C}$ und relativen Luftfeuchten $< 60\% \text{ rF}$. Dies stimmt mit den Beobachtungen von Flannigan (1992) und Gravesen et al. (1994) überein,

daß die relative Luftfeuchtigkeit der Umgebungsluft einen geringeren Einfluß auf mikrobielles Wachstum hat als das im Material selbst vorhandene Wasser. Da in der vorliegenden Untersuchung keine Durchfeuchtung des Luftfiltermaterials, z. B. durch Regenwasser stattgefunden hat, ist somit der Einfluß der relativen Luftfeuchtigkeit auf die Mikroorganismen gering.

Für die isolierten Pilze war festzustellen, daß das Klima die Vitalität dieser Mikroorganismen beeinflusst, denn in den Wintermonaten war nicht nur deren Anzahl geringer, sondern der Anteil sterilen Myzels an den isolierten Pilzen deutlich erhöht, d. h., die Pilze bildeten keine Sporen. Da die Probennahme- und Inkubationsbedingungen im Laufe der Untersuchung nicht verändert wurden, spricht dies für eine verminderte Vitalität der Mikroorganismen. Somit läßt sich aus den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchung ableiten, daß für die Mikroorganismenkonzentration auf Luftfilterproben ein Zusammenwirken von Lufttemperatur und saisonaler Vegetationsperiode entscheidend ist: mit ansteigender Lufttemperatur war in den oben bereits genannten Vegetationsperioden eine deutliche Zunahme der Mikroorganismenkonzentration und eine höhere Vitalität der Pilzsporen zu erkennen.

5.2 Abundanz und Artenspektrum von Pilzen auf Luftfiltern

Bei der Differenzierung der von den Luftfilterproben isolierten Pilze konnten im Rahmen der vorliegenden Arbeit 21 verschiedene Gattungen identifiziert werden. Nachfolgend werden diese Gattungen hinsichtlich ihres Überlebensverhaltens auf den Luftfiltern sowie ihres **allergen und pathogen Potentials** in der Reihenfolge, die der Häufigkeit ihrer Isolierung entspricht, besprochen. Anschließend wird der Zusammenhang zwischen sekundären Stoffwechselmetaboliten der Pilze (Mykotoxine, β -Glucane und VOC's [Volatile organic compounds]) und gesundheitsrelevanten Wirkungen des Innenraumklimas auf Mensch und Tier diskutiert. Es muß auf das Ergebnis der vorliegenden Untersuchung hingewiesen werden, daß Pilze im Zeitraum von sechs Tagen auf den Luftfiltern von RLT-Anlagen absterben. Wenn im folgenden Text von der Zunahme einer Pilzgattung bei längerer Luftfilterstandzeit gesprochen wird, ist dies nur in Relation zu den übrigen Gattungen zu sehen.

In Mitteleuropa wird die Majorität luftgetragener Sporen von den Gattungen *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Penicillium* und *Rhizopus* bestimmt (Yang und Johanning, 1997). Dies kann durch die Ergebnisse der vorliegenden Studie be-

stätigt werden (Abbildung 44). Darüber hinaus konnten jedoch auch häufig Pilze der Gattung *Botrytis* isoliert werden. Dies stimmt wiederum überein mit den Ergebnissen der Untersuchung von Kircheis (1997). Die Autorin bestimmte im Berliner Raum das Artenspektrum luftgetragener Pilze in der Luft vor und hinter den Luftfiltern raumlufttechnischer Anlagen.

In der vorliegenden Arbeit konnte die Gattung *Cladosporium* am häufigsten isoliert werden. Dies entspricht den Aussagen verschiedener Autoren, daß bei Luftmessungen im urbanen Umfeld in gemäßigten Breitengraden die Sporen von *Cladosporium spp.* dominieren (Lacey, 1990, Yang und Johanning, 1997). Bezüglich des Überlebensverhaltens dieser Gattung fiel jedoch auf, daß bei längerer Standzeit der Luftfilter in den Airotestern der Anteil von *Cladosporium spp.* abnahm (s. 4.1.2.1). Dies deutet darauf hin, daß die Sporen dieser Gattung in der Außenluft zwar den quantitativ höchsten Anteil haben und somit auch am häufigsten auf den Luftfiltern abgeschieden werden, aber bereits nach wenigen Tagen durch das dort herrschende Mikroklima nicht mehr kultivierbar sind. Da jedoch Pilzsporen, auch wenn sie nicht mehr kultivierbar sind, ihr allergenes Potential behalten (Levetin, 1995) und die Gattung *Cladosporium* den Gattungen mit hohem allergischen Potential (Tabelle 3) zuzurechnen ist, stellt die Akkumulation von *Cladosporium*-Sporen auf Luftfiltern einen gesundheitsrelevanten Risikofaktor dar.

Isolate der Gattung *Penicillium* hatten nach denen der Gattung *Cladosporium* den höchsten Anteil an den differenzierten Pilzen. Verschiedene Spezies dieser Gattung haben bei aero-gener Übertragung ein hohes allergenes Potential (Tabelle 3) und werden häufig als wichtige Faktoren im Zusammenhang mit Symptomen des "Sick Building Syndroms" genannt. Außerdem spielen die von *Penicillium spp.* gebildeten Mykotoxine Citrinin, Emodin, Ochratoxin A, Patulin, Verraculogen und deren toxische Wirkung auf den menschlichen und tierischen Organismus eine wichtige Rolle (Tabelle 4).

Die Beobachtung des Überlebensverhaltens von Pilzen der Gattung *Penicillium* auf den Luftfiltern zeigt, daß deren Anteil im Gegensatz zu Pilzen der Gattung *Cladosporium* bei längerer Standzeit der Luftfilter zunimmt. Dies deutet darauf hin, daß die Sporen von *Penicillium spp.* nicht in dem Maße von dem Mikroklima auf den Luftfiltern geschädigt werden wie die Sporen von *Cladosporium spp.*. Vor diesem Hintergrund und der bereits erwähnten Toxizität der von *Penicillium spp.* gebildeten Mykotoxine machen zahlreiche neuere Studi-

en, die auch von gesundheitsschädlichen Effekten bei Inhalation, Ingestion oder Hautkontakt mykotoxinhaltiger Hyphen oder Sporen ausgehen, deutlich, daß besonders in Bereichen, in denen höchste Anforderungen an die Qualität der Innenraumluft gestellt werden (Intensiv-, Transplantationsstationen, pharmazeutische und lebensmitteltechnische Industrie, Versuchstierhaltung, Tierproduktion etc.), die einwandfreie Funktion der eingesetzten raumluftechnischen Anlagen gewährleistet sein muß. Dies gilt ebenso für in Zoologischen Gärten gehaltene Tiere (z. B. arktische Vögel), die nur unzureichend an hiesige Klimaverhältnisse adaptiert sind und deswegen in künstlichen "Klima-Biotopen" gehalten werden müssen.

Zu den in der vorliegenden Untersuchung ebenfalls sehr häufig isolierten Gattungen gehört die Gattung *Aspergillus*. Ebenso wie die Gattung *Penicillium* stieg bei längerer Standzeit der Luftfilter der Anteil von *Aspergillus spp.* an den Pilzen, die von den Luftfiltern isoliert werden konnten, d. h. auch *Aspergillus*-Sporen werden weniger durch das Mikroklima auf den Luftfiltern geschädigt als die Sporen anderer Gattungen. Dies ist von aktueller Bedeutung, da defekte raumluftechnische Anlagen sich häufig als Infektionsquellen für nosokomiale Infektionen durch *Aspergillus fumigatus* herausgestellt haben und unterstreicht wiederum die oben bereits dargestellte Wichtigkeit einer einwandfreien Funktion von raumluftechnischen Anlagen. Somit stellen die auf Luftfiltern abgeschiedenen Sporen von *Aspergillus spp.* einen pathogenen Risikofaktor dar, da in Mitteleuropa bei aerogen übertragenen Mykosen in erster Linie die *Aspergillus*-Spezies *A. fumigatus*, *A. flavus* und *A. niger* eine Rolle spielen. Außerdem gehören *Aspergillus spp.* zu den Pilzen, die am häufigsten im Zusammenhang mit allergischen Respirationserkrankungen genannt werden. Darüber hinaus weisen die von ihnen gebildeten Mykotoxine (Aflatoxin B1 und G1, Ochratoxin A, Patulin, Sterigmatocystin) ein hohes toxisches Potential auf.

Pilze der Gattung *Fusarium* konnten ebenfalls häufig von den Luftfiltern isoliert werden. Diese Gattung spielt als Mykotoxinbildner (Zearalenone) eine wichtige Rolle und muß insofern vor allem im Hinblick auf mögliche schädliche Effekte nach Inhalation mykotoxinhaltiger Sporen oder Myzelbruchstücke berücksichtigt werden. Obwohl *Fusarium spp.* im allgemeinen nicht den Gattungen mit allergischem Potential zugerechnet werden, weist Pascoe (1990) auf luftgetragene, allergene Mesosporen von *Fusarium*-Spezies hin. *Alternaria*-Spezies, die ebenfalls zu den häufig isolierten Gattungen in der vorliegenden Untersuchung gehören, werden als Allergene im Zusammenhang mit Asthma-Erkrankungen

genannt. Bereits 1981 gelang die Identifizierung Sporen-spezifischer Antigene dieser Gattung (Hoffmann et al., 1981).

Weitere Pilzgattungen, die häufiger von den Luftfiltern isoliert werden konnten, waren *Botrytis*, *Chrysonilia*, *Paecilomyces* und *Rhizopus*. Die Gattungen *Botrytis* und *Paecilomyces* werden von Yang und Johanning (1997) als Verursacher allergischer Alveolitiden bei Beschäftigten im landwirtschaftlichen Bereich genannt. Die Gattungen *Chrysonilia* und *Rhizopus* spielen als Allergene keine wesentliche Rolle und werden nur in einzelnen Fallstudien als Erreger von Mykosen erwähnt: Hajsig et al. (1974) berichten von einer durch *Crysonilia pannicola* verursachten Dermatomykose beim Hund, Tintelnöt und Nitsche (1989) stellen einen Patienten mit einer von *Rhizopus microsporus* verursachten Mykose vor.

Hefen oder Pilzgattungen, deren Sporen normalerweise nicht luftgetragen sind, da sie durch Sprossung (Hefen) oder z. B. in schleimigen Köpfchen gebildet werden (*Acremonium* spp., *Aureobasidium* spp., *Phoma* spp.) spielen eine sekundäre Rolle bei Kontaminationen der Innenraumluft. Lysisprodukte dieser Pilze müssen jedoch als Allergene ebenfalls in Betrachtung gezogen werden. Außerdem sind Fälle bekannt, in denen Aerosole mit Sporen von *Acremonium*-Spezies durch Luftbefeuchter oder Duschen zu schweren allergischen Alveolitiden bei Menschen geführt haben (Lacey, 1990).

Neben den bereits genannten Pilzgattungen wurden in der vorliegenden Untersuchung vereinzelt die Gattungen *Botryosporium*, *Epicoccum*, *Mucor*, *Scopulariopsis*, *Trichoderma*, *Trichophyton*, *Verticillium* und *Wallemia* isoliert. Spezies der Gattung *Mucor*, *Trichoderma* und *Wallemia* gehören zu den opportunistischen, fakultativ pathogenen Pilzen und spielen insofern vor allem im Zusammenhang mit prädisponierenden Faktoren bei Mensch und Tier eine Rolle als Krankheitserreger. *Mucor* spp. kann als Erreger von Mukormykosen zu schweren systemischen Erkrankungen führen, ebenso haben *Trichoderma* spp. bei Transplantationspatienten zu schweren Komplikationen geführt (de Hoog et al., 1995) und *Wallemia* spp. werden schon 1909 von Auvrey (1909) im Zusammenhang mit schweren subkutanen Mykosen erwähnt. *Scopulariopsis* spp. werden von Krempel-Lamprecht (1970) als Erreger von Onychomykosen genannt. *Botryosporium* spp., *Epicoccum* spp. und *Verticillium* spp. dagegen werden nicht den allergenen oder pathogenen Pilzen zugerechnet. Die isolierten *Trichophyton spec.* müssen als Zufallsbefund bewertet werden, da sie nicht aerogen übertragen werden.

Für die allergenen und pathogenen Wirkungen der oben angeführten luftgetragenen Pilze sind im Zusammenhang mit dem Innenraumklima vor allem Mykotoxine, β -Glucane und VOC's (Volatile organic compounds) verantwortlich. Auf **Mykotoxine** und ihre pathogene Wirkung wurde bereits im Literaturteil (s. 2.2.3) ausführlich eingegangen. Obwohl der Zusammenhang zwischen Mykotoxinen und dem Auftreten von allergischen Symptomen und Erkrankungen des Respirationstrakts bisher nicht eindeutig bewiesen werden konnte, da die jeweiligen Staub- und Luftmessungen im Umfeld von Menschen mit entsprechenden Symptomen keine erhöhten Konzentrationen der bekannten Mykotoxine ergaben (May et al., 1986), bedarf die Bedeutung der Mykotoxine für die Pathogenese dieser Erkrankungen weiterer Untersuchung. Es muß dabei berücksichtigt werden, daß "neue", wichtige Gruppen der Mykotoxine, wie z. B. die Fumonisine, erst seit 1988 beschrieben sind und die Bedeutung der Inhalation mykotoxinhaltiger Sporen bisher vernachlässigt worden ist. Pasanen et al. (1993) und Sorenson (1994) demonstrierten in Laborversuchen, daß in den Sporen und luftgetragenen Myzelbruchstücken von *Stachybotrys atra* die Trichothecene Satratoxin H, Satratoxin G sowie Trichverrol A und B enthalten sind. Bereits 1990 wurde in der Studie einer Arbeitsgruppe der WHO ein Zusammenhang zwischen Trichothecen-Exposition und menschlichen Erkrankungen vermutet (WHO, 1990).

β -Glucane, wichtige Komponenten der Zellwand von Pilzen, steigern sowohl die Anzahl als auch die Aktivität von Makrophagen und stimulieren die Synthese von Interleukin-1 (IL-1) und Interleukin-2 (IL-2) (Sherwood et al., 1987). Hoffman et al. (1993) demonstrierten, daß von Pilzen stammende β -Glucane ($< 500\mu\text{g/ml}$) die Ausschüttung des Tumor-Nekrose-Faktors α (TNF α) bei Ratten-Makrophagen provozierten, was auf die wichtige Rolle dieser Polysaccharide im Hinblick auf Zellen des Immunsystems hinweist. Auch wenn Mykotoxine oder von Pilzen stammende β -Glucane nicht unmittelbar an der Ätiologie von allergischen Symptomen beteiligt sein mögen, so könnte ihr Vorhandensein doch zu synergistischen Effekten, z. B. mit Endotoxinen führen. In diesem Zusammenhang verglichen Fogelmark et al. (1992) die Effekte von inhalierten Endotoxinen und β -Glucanen auf Entzündungszellen im Respirationstrakt. Nach der Inhalation von Endotoxinen konnten in bronchoalveolären Lavages von Probanden deutlich erhöhte Neutrophilen-, Makrophagen- und Eosinophilenwerte gemessen werden, wohingegen die Inhalation von Endotoxinen in Kombination mit β -Glucanen zu erheblich niedrigeren Werten der ge-

messenen Entzündungszellen führte, was auf einen deutlich immunsupprimierenden Einfluß dieser Kombination hindeutet.

Dieser synergistische Effekt ist für die Thematik der vorliegenden Arbeit von großer Bedeutung, da es auf den Luftfiltern raumluftechnischer Anlagen zur Akkumulation von Bakterien und Pilzen kommt und somit auch zur Kombination ihrer Lysisprodukte, u.a. Endotoxinen und β -Glucanen, in der Innenraumluft von Gebäuden, die mit raumluftechnischen Anlagen ausgestattet sind. Die bereits genannten (s. 2.1) allergischen und respiratorischen Erkrankungen von Bewohnern entsprechender Gebäude, von Beschäftigten aus den Bereichen der Tierproduktion oder Versuchstierkunde, in denen ebenfalls eine Modifikation des Innenraumklimas mit Hilfe dieser Anlagen stattfindet oder von Tieren in Zoologischen Gärten, deren Haltung nur bei künstlicher Beeinflussung des umgebenden Klimas möglich ist, stehen möglicherweise in Zusammenhang mit den oben genannten Synergieeffekten. Auger et al. (1994) vermuteten nach Luftmessungen in Gebäuden, deren Bewohner deutliche allergische Reaktionen zeigten, einen Zusammenhang zwischen β -Glucanen und Mykotoxinen. Sie begründen dies mit den bereits bekannten toxischen und immunsupprimierenden Wirkungen der Substanzen und den wiederholten Beobachtungen anderer Autoren, daß eine Bekämpfung des Pilzbefalls in Gebäuden sehr häufig auch zur Reduzierung oder Beseitigung allergischer Erkrankungen der Bewohner führte (Croft et al., 1986; Holmes et al., 1988).

VOC's sind ebenfalls sekundäre Stoffwechselmetaboliten von Pilzen. In einer Studie von Larsen und Frisvad (1995) wurde die *in vitro* VOC-Produktion von 47 *Penicillium*-Spezies untersucht, wobei Alkohole, Ketone, Ester, Alkene, Monoterpene, Sesquiterpene und aromatische Derivate analysiert werden konnten. Ezeonu et al. (1994) identifizierten Ethanol, Hexanol, Cyclohexan und Benzen in Luftleitungen von RLT-Anlagen, deren Glasfaserdämmung mit *Aspergillus versicolor*, *Acremonium obclavatum* und *Cladosporium herbarum* kolonisiert war. Die Autoren wiesen in diesem Zusammenhang darauf hin, daß sowohl Hexanol als auch Cyclohexan bekannt sind für ihre schleimhautreizende Wirkung. Flannigan et al. (1991) postulierten, daß ein Zusammenhang zwischen VOC's und Symptomen wie Übelkeit und akuten respiratorischen Symptomen besteht. Bisher ist keine seriöse Aussage darüber möglich, inwieweit die kurze oder lange Exposition gegenüber VOC's gesundheitsschädigend auf den menschlichen oder tierischen Organismus wirkt.

Vor diesem Hintergrund wird deutlich, daß die Akkumulation von Pilzen auf Luftfiltern raumluftechnischer Anlagen ein wichtiger Risikofaktor hinsichtlich gesundheitsrelevanter Wirkungen des Innenraumklimas ist:

- Pilzsporen und -myzelfragmente können Mykotoxine enthalten
- auch nicht mehr kultivierbare Pilzsporen oder -myzelfragmente besitzen allergenes Potential
- Lysisprodukte der Pilzzellwand (β -Glucane) haben, vor allem in Kombination mit Endotoxinen, deutlichen Einfluß auf Zellen des Immunsystems

Diese allergenen und pathogenen Wirkungen sind unabhängig von einem Überleben der auf den Luftfiltern abgeschiedenen Pilze, bzw. werden durch das Absterben der Organismen noch verstärkt (Lysisprodukte). Das bereits erläuterte Ergebnis der Untersuchung, daß Mikroorganismen innerhalb eines Zeitraums von sechs Tagen absterben, bedeutet deshalb keine "Entwarnung" hinsichtlich möglicher Kontaminationen der Innenraumluft durch raumluftechnische Anlagen, sondern es muß ganz im Gegenteil eindrücklich auf die in der DIN 1946, Teil 2 (1994) festgelegten technischen Anforderungen, Abnahmeprüfungen, Wartungen und Kontrollen hingewiesen werden. Auch wenn die vorangegangenen Ergebnisse zeigen, daß das von einigen Autoren behauptete Wachstum von Pilzmyzel auf Luftfiltern mit einem möglichen Durchwachsen zur Reinluftseite hin, nicht bestätigt werden kann, stellen jedoch die auf den Luftfiltern akkumulierten Pilze und Bakterien möglicherweise ein potentes allergenes und pathogenes Reservoir dar. Vor allem synergistische Effekte (Endotoxine/ β -Glucane) und die aus neueren Untersuchungen hervorgehende Toxizität mykotoxinhaltiger Sporen und Myzelfragmente bei Inhalation oder Ingestion lassen weiteren Untersuchungsbedarf erkennen.

6 Schlußfolgerungen

Vor dem Hintergrund allergischer Reaktionen und aerogen übertragener Infektionen bei Mensch und Tier, die im Zusammenhang mit dem Innenraumklima stehen, zeigen die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit, daß Luftfilter raumlufttechnischer Anlagen als wichtige Risikofaktoren im Hinblick auf Kontaminationen der Raumluft zu sehen sind.

Das im Rahmen dieser Arbeit untersuchte Überlebensverhalten von Mikroorganismen auf Luftfiltern ergab, daß die darauf abgeschiedenen Pilzsporen und -myzelfragmente sowie Bakterien nur wenige Tage überleben und nicht unter Verwendung abgeschiedener biogener Bestandteile als Substrat wachsen.

Die mykologische Differenzierung der auf den Luftfiltern abgeschiedenen Mikroorganismen zeigt jedoch, daß es sich vor allem um Spezies handelt, deren Sporen oder Myzelfragmente ein hohes allergenes Potential haben und somit als Allergene in der Raumluft von Bedeutung sein können. Sporen und Myzelfragmente der isolierten *Aspergillus*-, *Fusarium*- und *Penicillium*-Spezies können außerdem durch die enthaltenen Mykotoxine nach Inhalation, Ingestion oder Hautkontakt möglicherweise zu gesundheitsschädlichen Effekten führen. Darüber hinaus besteht Abklärungsbedarf hinsichtlich der Pathogenität von mikrobiellen Lysisprodukten (β -Glucane, Endotoxine) und möglicher synergistischer Effekte dieser Sekundärmetaboliten.

In der vorliegenden Arbeit ist es aufgrund der Erweiterung des Hauptversuchs durch den "Hemmtest" gelungen, den unterschiedlichen Einfluß von Luftfiltermaterialien auf die Mikroorganismenkonzentration, die von den Luftfiltern isoliert werden konnten, deutlich zu machen. Es konnte gezeigt werden, daß für diese Quantitätsunterschiede wahrscheinlich weniger wachstumsbeeinflussende Substanzen der Luftfiltermaterialien verantwortlich sind als vielmehr die zu Betriebsbeginn stark unterschiedlichen Fraktionsabscheidegrade der verwendeten Glas- und Synthesefaserfiltermaterialien.

Hinsichtlich des Einflusses klimatischer Parameter auf die Mikroorganismenkonzentration auf den Luftfiltern zeigen die Ergebnisse der Arbeit sehr deutlich, daß in den Vegetationsperioden mit ansteigender Lufttemperatur eine deutliche Zunahme der Mikroorganismenkonzentration und eine höhere Vitalität der isolierten Pilze zu beobachten ist, wohingegen der Einfluß der relativen Luftfeuchtigkeit unter normalen Umständen, d. h. ohne Durchfeuchtung des Luftfilters, eine untergeordnete Rolle spielt.

Die im Rahmen dieser Arbeit gewonnenen Ergebnisse unterstreichen die Wichtigkeit einer einwandfreien Funktion von raumluftechnischen Anlagen, da die auf Luftfiltern stattfindende Akkumulation von Mikroorganismen möglicherweise ein potentes Allergenreservoir darstellt und deren Lysisprodukte zu gesundheitsrelevanten Kontaminationen der Innenraumluf führen können, da diese nicht durch die Luftfilter zurückgehalten werden. In Abhängigkeit von der individuellen Disposition eines Organismus (Atopie, Immundefizienz) können somit allergische Reaktionen und Erkrankungen des Respirationstrakts auf das Innenraumklima zurückgeführt werden. Zur Sicherstellung hygienischer Standards von RLT-Anlagen sind deshalb regelmäßige technische und hygienische Kontrollen erforderlich, bei denen die Leckfreiheit und dichter Sitz der Luftfilter zu überprüfen sind. Spätestens bei Erreichen der vorgegebenen Enddruckdifferenz sind diese auszuwechseln, um die Belastung der Innenraumluf durch Allergene und mikrobielle Lysisprodukte zu minimieren. Außerdem müßten Messungen der Innenraumluf kontrollieren, wie hoch die Konzentration luftgetragener Pilze und Bakterien in Räumen mit künstlicher Belüftung ist. In diesem Zusammenhang muß jedoch darauf hingewiesen werden, daß bisher in Deutschland einheitliche Richt-Grenzwerte hinsichtlich der Pilz-Konzentration in Innenräumen fehlen. Staib (1992) und Neumeister und Kemp (1997) weisen auf die Notwendigkeit zur Erstellung von Überwachungsmodellen sowie Richtlinien für luftgetragene Pilze in Innenräumen hin. Um Gesundheitsrisiken durch aerogen übertragene Mikroorganismen und deren sekundäre Stoffwechselmetaboliten in der Innenraumluf sinnvoll einschätzen zu können, sind darüber hinaus weitergehende Untersuchungen hinsichtlich ihres allergenen und pathogenen Potentials notwendig.

7 Zusammenfassung

Die Luftfilter raumluftechnischer (RLT-)Anlagen werden als Risikofaktoren für Kontaminationen der Innenraumluf gesehen, da es auf ihnen zur Abscheidung von biogenen Bestandteilen und zur Akkumulation von Mikroorganismen kommt, die sich möglicherweise unter günstigen Konditionen auf den Luftfiltern vermehren. Vor allem aerogen übertragene Infektionen und die Auslösung allergischer Reaktionen bei Mensch und Tier werden in diesem Zusammenhang immer häufiger beobachtet.

Ziel dieser Arbeit war es daher, die Konzentration und das Überlebensverhalten von Mikroorganismen auf Luftfiltern von RLT-Anlagen zu untersuchen. Der Schwerpunkt der Untersuchung lag beim mykologischen Aspekt, da zunehmend gesundheitsrelevante Effekte durch Pilzsporen und -hyphen sowie durch Mykotoxine im Zusammenhang mit dem Innenraumklima beobachtet werden.

Im Zeitraum von Januar 1996 bis Juni 1997 wurden in der Vorkammer einer RLT-Anlage eines Berliner Universitätsklinikums "Airotester" betrieben. Mit diesen Prüfgeräten konnte Außenluft angesaugt und auf mit Luftfiltermaterial bespannte Zylinder verteilt werden. Das Luftfiltermaterial (Glas- und Synthesefaser) wurde in Intervallen von 1, 2, 3, 6, 9 und 15 Tagen gewechselt. Aus Proben der entnommenen Luftfiltermaterialien wurden mittels der Schüttelmethode Eluate gewonnen, auf Nährmedien (Malzextrakt- und Blut-Agar) ausgebracht und diese inkubiert. Anschließend erfolgte die quantitative Bestimmung der Mikroorganismen und die umfassende mykologische Differenzierung.

Um darüber hinaus den Einfluß der Luftfiltermaterialien Glas- und Synthesefaser auf die Wachstumsgeschwindigkeit von Pilzmyzel zu untersuchen, wurde außerdem für diese Untersuchung der "Hemmtest" konzipiert und von April bis Dezember 1997 durchgeführt. Dazu wurden Eluate aus fabrikneuen, sauberen Proben der genannten Luftfiltermaterialien gewonnen und aus diesen unter Zusatz von Agar Nährmedien hergestellt. Diese Nährmedien wurden in "Race tubes", Glasröhrchen mit aufgebogenen Enden, gegossen. Anschließend erfolgte jeweils die Inokulation von *Cladosporium cladosporoides* in die "Race tubes" und die Messung des Myzelwachstums über einen Zeitraum von 24 Tagen.

Aus den Ergebnissen der Untersuchung geht hervor, daß auf den Luftfiltern, die in den Airotestern während einer Standzeit von bis zu sechs Tagen mit Außenluft durchströmt wurden, keine Akkumulation von vitalen Pilzen oder Bakterien stattfand, sondern daß die

Mikroorganismen innerhalb dieses Zeitraums abstarben. Der Vergleich der beiden Luftfiltermaterialien Glas- und Synthesefaser hinsichtlich der Anzahl der Mikroorganismen, die von den Luftfiltern isoliert werden konnten, ergab signifikant höhere Konzentrationen für Glasfaserfiltermaterial. Ebenso zeigte der "Hemmtest" einen signifikanten Unterschied der Wachstumsgeschwindigkeit von Pilzmyzel auf Nährmedien mit Zusatz von Glas- oder Synthesefaserfilterreluaten. Der über einen Jahresverlauf untersuchte Einfluß der klimatischen Parameter relative Luftfeuchtigkeit und Lufttemperatur zeigte eine deutliche Abhängigkeit zwischen der Lufttemperatur und der Anzahl sowie der Vitalität der isolierten Pilze und Bakterien. Die mykologische Differenzierung der von den Luftfiltern isolierten Pilze ergab, daß es sich vor allem um Gattungen handelte, deren Sporen und Lysisprodukte ein hohes allergenes Potential haben und die somit als Allergene in der Raumluft von Bedeutung sein können, da sie durch die Luftfilter in die Innenraumluft gelangen.

Aus den gewonnenen Ergebnissen ergibt sich die Forderung nach regelmäßigen technischen und hygienischen Kontrollen von RLT-Anlagen zur Sicherstellung hygienischer Standards und zur Minimierung der Belastung der Innenraumluft durch Allergene und mikrobielle Lysisprodukte. Darüber hinaus macht die Untersuchung deutlich, daß weiterer Abklärungsbedarf hinsichtlich der Pathogenität von inhalierten mykotoxinhaltigen Sporen oder Myzelfragmenten und mikrobiellen Lysisprodukten, wie β -Glucanen und Endotoxinen, besteht.

8 Summary

Survival of micro-organisms on airfilters from heating, ventilation, and air conditioning (HVAC) systems under special emphasis on differentiation of fungal species

Air filters in heating, ventilation and air conditioning (HVAC) systems supplying indoor spaces are proposed as a source of indoor air contaminants. The reasoning is partly based on their main function which is to accumulate airborne micro-organisms - which can proliferate given the right conditions. Recent research indicates that the micro-organisms are increasingly implicated in airborne infections and allergies in humans and animals.

Therefore it was the aim of this study to determine the concentration and the survival time of micro-organisms on the material used in air filters of HVAC systems. The main focus was set on the mycological aspect since adverse health effects are increasingly associated with fungal spores, hyphae and mycotoxins in indoor air.

Between January 1996 and June 1997, "Airotester filter devices" were used in the pre-chamber of a HVAC system in a Berlin university-hospital. These filter devices consist of cylinders through which the outdoor air is drawn. Different filter media can be placed around the cylinders. Two filter materials (glass fiber and synthetic fiber) were changed at intervals of 1, 2, 3, 6, 9 and 15 days. The samples of air-filter were washed out ("Schüttel-methode") and the solution was plated out onto agar media (malt extract agar/blood agar) and incubated. The fungi and bacteria colonies cultivated on the agar media were counted and the fungal genera were identified.

Apart from the above mentioned experiments, another method was developed ("Hemmtest") to compare the influence of the two different filter materials on the growth rate of fungal mycelium. The "Hemmtest" was conducted between April and December, 1997. An eluate was made from new clean filter material (using the same "Schüttel-methode") and added to agar media. The media was filled in "Race tubes". *Cladosporium cladosporoides* was inoculated and its growth rate was measured over 24 days.

The results from the study clearly showed that air filters are a hostile habitat for fungi and bacteria as they appear unable to grow and do not survive very long as viable spores. A different amount of micro-organisms were found. However this seemed more likely due to other factors such as different filter collection efficiency than to any antimicrobial effect of

the filter materials. The mycological differentiation showed that most of the identified fungal genera, respectively their spores and lysis products, are associated with allergic reactions in humans and animals.

The results underline the importance of keeping the filters of HVAC systems in a well designed and maintained state to minimize the growth of potentially allergenic and infectious micro-organisms and contamination of indoor air. The study clearly identifies the further need for investigations on the health implications from inhaled spores or fungal byproducts containing mycotoxins and the consequences of exposure to microbial lysis products such as β -glucans and endotoxins.

9 Anhang

Anhangstabelle I: Ergebnisse der Auszählung der Blut-Agar-Platten (quantitative Bakterien- und u. U. Hefenbestimmung) sowie der Malzextrakt-Agar-Platten (quantitative Pilz-Bestimmung) im Zeitraum Januar 1996 - Juli 1997

Datum	Standzt	Material	MwB	MwP	Datum	Standzt	Material	MwB	MwP
21.01.96	1	1	1,6	0,3	04.02.96	2	1	1,6	0,6
21.01.96	1	1	0,6	1,6	04.02.96	2	1	1	1,6
21.01.96	1	1	0,6	2	04.02.96	2	1	2	0,3
21.01.96	1	1	0,3	0,3	04.02.96	2	2	0,6	1,6
21.01.96	1	1	2,6	1	04.02.96	2	2	3,3	0,3
21.01.96	1	1	3	1,3	04.02.96	2	2	1,6	1
21.01.96	1	2	1,6	0	04.02.96	3	1	3,3	2
21.01.96	1	2	2,6	0,6	04.02.96	3	1	4,6	2
21.01.96	1	2	1	1	04.02.96	3	2	2,6	1,6
21.01.96	1	2	4	1,6	04.02.96	3	2	3	1
21.01.96	1	2	1,3	0,3	04.02.96	6	1	2,6	1
21.01.96	1	2	1	1	04.02.96	6	2	1,6	0,3
21.01.96	2	1	1,6	0,6	08.03.96	1	1	3,6	1,6
21.01.96	2	1	5	0	08.03.96	1	1	2,6	2
21.01.96	2	1	0,6	1	08.03.96	1	1	4,6	4,3
21.01.96	2	2	2,6	1,6	08.03.96	1	1	0,6	2,3
21.01.96	2	2	1,6	1	08.03.96	1	1	3,6	0,6
21.01.96	2	2	0,3	1	08.03.96	1	1	3	0
21.01.96	3	1	2,6	2	08.03.96	1	2	2	2,3
21.01.96	3	1	1,6	2	08.03.96	1	2	6,3	2,6
21.01.96	3	2	1	0,3	08.03.96	1	2	1,6	2
21.01.96	3	2	2	1,6	08.03.96	1	2	0	1
21.01.96	6	1	1	1	08.03.96	1	2	3,6	2,6
21.01.96	6	2	0,3	1	08.03.96	1	2	2,6	0
04.02.96	1	1	4	n.a	08.03.96	2	1	7	2,6
04.02.96	1	1	1,3	1,6	08.03.96	2	1	3,3	1,6
04.02.96	1	1	1	0,6	08.03.96	2	1	5,3	4
04.02.96	1	1	3	0,3	08.03.96	2	2	2	2
04.02.96	1	1	3	1	08.03.96	2	2	2,6	2,6
04.02.96	1	1	1,6	2	08.03.96	2	2	3,6	2
04.02.96	1	2	0,3	1	08.03.96	3	1	2,6	2,6
04.02.96	1	2	2	1,3	08.03.96	3	1	5	1,6
04.02.96	1	2	3,3	0,3	08.03.96	3	2	4,6	2,6
04.02.96	1	2	1	2,3	08.03.96	3	2	8	1
04.02.96	1	2	1	0,5	08.03.96	6	1	7	2
04.02.96	1	2	1,6	1,3	08.03.96	6	2	4,6	0,6

Datum	Standzt	Material	MwB	MwP	Datum	Standzt	Material	MwB	MwP
23.03.96	1	1	59	0,3	10.04.96	3	1	7,6	1,6
23.03.96	1	1	38,6	2,3	10.04.96	3	1	4,3	4
23.03.96	1	1	15,6	2	10.04.96	3	2	1,6	0
23.03.96	1	1	26	0,6	10.04.96	3	2	3,6	2,6
23.03.96	1	1	44,6	2,6	10.04.96	6	1	5,6	3
23.03.96	1	1	17	0	10.04.96	6	2	3,6	3
23.03.96	1	2	27	1	23.04.96	1	1	3,6	4,6
23.03.96	1	2	46	1,3	23.04.96	1	1	10	3,6
23.03.96	1	2	21	3	23.04.96	1	1	7,3	1,3
23.03.96	1	2	47,3	1	23.04.96	1	1	1,3	3,3
23.03.96	1	2	32	0,3	23.04.96	1	1	7	4
23.03.96	1	2	18	1,6	23.04.96	1	1	8,6	3
23.03.96	2	1	63	3,3	23.04.96	1	2	5,6	2
23.03.96	2	1	43,3	2,6	23.04.96	1	2	6,6	3
23.03.96	2	1	36	1	23.04.96	1	2	1	0,6
23.03.96	2	2	36	1,6	23.04.96	1	2	4,3	2,6
23.03.96	2	2	16	2,6	23.04.96	1	2	5	4
23.03.96	2	2	22	1,3	23.04.96	1	2	8	2
23.03.96	3	1	34	2,3	23.04.96	2	1	11,6	6
23.03.96	3	1	52	3,3	23.04.96	2	1	3,6	3,6
23.03.96	3	2	75	3,6	23.04.96	2	1	6	4,6
23.03.96	3	2	35	0,3	23.04.96	2	2	6,6	3,6
23.03.96	6	1	27	3,6	23.04.96	2	2	0,6	2
23.03.96	6	2	14	3	23.04.96	2	2	2,6	4
10.04.96	1	1	8,6	2	23.04.96	3	1	7,6	6,3
10.04.96	1	1	5	0,3	23.04.96	3	1	1,6	4,6
10.04.96	1	1	4,6	1	23.04.96	3	2	5	1,6
10.04.96	1	1	4,6	2	23.04.96	3	2	7	3,3
10.04.96	1	1	3,3	3,6	23.04.96	6	1	20	3,6
10.04.96	1	1	4	3	23.04.96	6	2	2,3	2,6
10.04.96	1	2	7	1	06.05.96	1	1	4,6	4
10.04.96	1	2	2,6	2	06.05.96	1	1	1,3	4,6
10.04.96	1	2	1,6	1	06.05.96	1	1	0,3	0,6
10.04.96	1	2	4	2,6	06.05.96	1	1	4,3	4,3
10.04.96	1	2	3	1,6	06.05.96	1	1	2,6	2,3
10.04.96	1	2	4,6	2	06.05.96	1	1	6,6	7
10.04.96	2	1	8	3	06.05.96	1	2	2	2,5
10.04.96	2	1	4	3,6	06.05.96	1	2	2	2,6
10.04.96	2	1	5,6	4,6	06.05.96	1	2	2,3	2,6
10.04.96	2	2	7	2	06.05.96	1	2	0,6	1,3
10.04.96	2	2	5,3	0,6	06.05.96	1	2	0,6	0,6
10.04.96	2	2	1,6	2	06.05.96	1	2	5	5

Datum	Standzt	Material	MwB	MwP	Datum	Standzt	Material	MwB	MwP
06.05.96	2	1	7	4,3	12.06.96	1	1	1	2,3
06.05.96	2	1	4,3	3,6	12.06.96	1	1	2	1,6
06.05.96	2	1	6,3	4,6	12.06.96	1	1	3,3	2
06.05.96	2	2	2,3	4,3	12.06.96	1	1	5	1,3
06.05.96	2	2	1,6	5,3	12.06.96	1	2	2	1,6
06.05.96	2	2	3,3	4,3	12.06.96	1	2	1,3	2,6
06.05.96	3	1	2,6	8,6	12.06.96	1	2	4	1,6
06.05.96	3	1	2	6	12.06.96	1	2	1,3	2
06.05.96	3	2	4,3	2,3	12.06.96	1	2	1,3	2,6
06.05.96	3	2	3,6	2	12.06.96	1	2	1,6	2
06.05.96	6	1	19,6	8	12.06.96	2	1	5,6	6
06.05.96	6	2	2	1	12.06.96	2	1	5,3	2,6
06.05.96	9	1	2,3	4	12.06.96	2	1	4,3	2,3
06.05.96	9	2	0,6	3,6	12.06.96	2	2	2,6	0,6
18.05.96	1	1	4,6	3,3	12.06.96	2	2	3,3	2,6
18.05.96	1	1	0	0,3	12.06.96	2	2	2,6	2,3
18.05.96	1	1	0,6	3,3	12.06.96	3	1	5	1,6
18.05.96	1	1	1,6	2,3	12.06.96	3	1	4,6	3
18.05.96	1	1	3,3	2,6	12.06.96	3	2	3,6	1
18.05.96	1	1	4	5,6	12.06.96	3	2	4	1,3
18.05.96	1	2	1,6	2,6	12.06.96	6	1	4	6,3
18.05.96	1	2	1	1,3	12.06.96	6	2	3	2
18.05.96	1	2	2,3	1,6	12.06.96	9	1	1	5
18.05.96	1	2	0,6	2,3	12.06.96	9	2	0,6	3
18.05.96	1	2	1	0,6	02.07.96	1	1	5,6	1,6
18.05.96	1	2	2,6	2,3	02.07.96	1	1	1	1,6
18.05.96	2	1	5,6	4,3	02.07.96	1	1	1,3	2,3
18.05.96	2	1	4,3	4	02.07.96	1	1	2,6	2
18.05.96	2	1	3,6	3,6	02.07.96	1	1	3,3	1,6
18.05.96	2	2	3	2,6	02.07.96	1	1	5	2,6
18.05.96	2	2	3	3	02.07.96	1	2	2,3	0,6
18.05.96	2	2	1,6	2	02.07.96	1	2	1,3	2
18.05.96	3	1	4	8	02.07.96	1	2	2,3	2
18.05.96	3	1	2	5,3	02.07.96	1	2	2	1,6
18.05.96	3	2	3,6	2,6	02.07.96	1	2	2,3	2
18.05.96	3	2	3,6	3,3	02.07.96	1	2	1,3	1,3
18.05.96	6	1	3,6	4,6	02.07.96	2	1	4,6	2,6
18.05.96	6	2	2,6	3	02.07.96	2	1	6,3	1,3
18.05.96	9	1	0	2,3	02.07.96	2	1	5	2,3
18.05.96	9	2	1	2	02.07.96	2	2	3,3	1
12.06.96	1	1	5	2	02.07.96	2	2	4,3	1,6
12.06.96	1	1	1,5	1,3	02.07.96	2	2	2	1,6

Datum	Standzt	Material	MwB	MwP	Datum	Standzt	Material	MwB	MwP
02.07.96	3	1	4,6	5,6	27.07.96	1	2	2,6	2
02.07.96	3	1	4	3,6	27.07.96	1	2	5,6	2,3
02.07.96	3	2	4,6	1	27.07.96	1	2	2,6	3,3
02.07.96	3	2	3,3	1,6	27.07.96	1	2	5	1,6
02.07.96	6	1	3,6	3	27.07.96	2	1	7,6	21,6
02.07.96	6	2	3,3	2,6	27.07.96	2	1	11	20,6
02.07.96	9	1	2,3	12,3	27.07.96	2	1	12,3	23,3
02.07.96	9	2	1,6	1,6	27.07.96	2	2	4,3	7,3
15.07.96	1	1	5,3	11,3	27.07.96	2	2	7	4,6
15.07.96	1	1	2	9	27.07.96	2	2	5,6	7,6
15.07.96	1	1	1,6	8	27.07.96	3	1	9,6	7,6
15.07.96	1	1	4,6	8,6	27.07.96	3	1	9,6	7,6
15.07.96	1	1	5,6	8	27.07.96	3	2	7,3	3,6
15.07.96	1	1	6	6,3	27.07.96	3	2	8,6	4,6
15.07.96	1	2	3,3	7,3	27.07.96	6	1	8,6	6,3
15.07.96	1	2	2,3	4	27.07.96	6	2	7,3	2
15.07.96	1	2	2,6	3,3	27.07.96	9	1	5,6	8,6
15.07.96	1	2	2,6	7	27.07.96	9	2	4,3	2
15.07.96	1	2	3,3	2,6	12.08.96	1	1	6	3
15.07.96	1	2	3	4,6	12.08.96	1	1	3	2
15.07.96	2	1	6,3	11	12.08.96	1	1	8	4,6
15.07.96	2	1	8,3	14,3	12.08.96	1	1	6	6
15.07.96	2	1	7	11,6	12.08.96	1	1	4,6	2,6
15.07.96	2	2	4	2,3	12.08.96	1	1	2	3,3
15.07.96	2	2	5,6	2,6	12.08.96	1	2	5	4,6
15.07.96	2	2	5	3	12.08.96	1	2	6,3	3
15.07.96	3	1	7,3	34	12.08.96	1	2	1,6	1,6
15.07.96	3	1	9,3	27	12.08.96	1	2	4,6	3,6
15.07.96	3	2	5,3	4	12.08.96	1	2	3	1,6
15.07.96	3	2	6	5,6	12.08.96	1	2	2	2,6
15.07.96	6	1	6,6	41	12.08.96	2	1	9,6	19,6
15.07.96	6	2	4,3	3	12.08.96	2	1	5,3	23
15.07.96	9	1	5	10	12.08.96	2	1	11,6	19,6
15.07.96	9	2	2,3	1,6	12.08.96	2	2	7,3	7,3
27.07.96	1	1	6	3,6	12.08.96	2	2	5,6	7
27.07.96	1	1	6,6	3,3	12.08.96	2	2	7,6	5,3
27.07.96	1	1	5,3	6,3	12.08.96	3	1	10,6	13
27.07.96	1	1	5	5,6	12.08.96	3	1	9,3	6,6
27.07.96	1	1	5,3	5,6	12.08.96	3	2	5	4
27.07.96	1	1	2	5	12.08.96	3	2	4,3	4
27.07.96	1	2	3	5,6	12.08.96	6	1	6	6,3
27.07.96	1	2	4	3	12.08.96	6	2	7,3	3

Datum	Standzt	Material	MwB	MwP	Datum	Standzt	Material	MwB	MwP
12.08.96	9	1	4,6	12,6	09.09.96	2	1	5,6	3,3
12.08.96	9	2	3	1,6	09.09.96	2	2	0,6	1,3
26.08.96	1	1	6,3	10,3	09.09.96	2	2	7,3	2
26.08.96	1	1	6,3	6,6	09.09.96	2	2	4,6	3
26.08.96	1	1	9	11,3	09.09.96	3	1	7	3,6
26.08.96	1	1	8	8,6	09.09.96	3	1	19,6	3
26.08.96	1	1	7,3	10	09.09.96	3	2	1,6	1
26.08.96	1	1	6,6	8,6	09.09.96	3	2	3	1,3
26.08.96	1	2	6	5,6	09.09.96	6	1	18	1,6
26.08.96	1	2	4,6	3	09.09.96	6	2	7	1,6
26.08.96	1	2	5,6	4	09.09.96	9	1	3,6	2,3
26.08.96	1	2	7	5,3	09.09.96	9	2	1,6	5
26.08.96	1	2	7,6	6,3	21.10.96	1	1	6,3	3,6
26.08.96	1	2	4,3	4,3	21.10.96	1	1	5	2,3
26.08.96	2	1	10,3	8	21.10.96	1	1	1,6	2
26.08.96	2	1	6	17	21.10.96	1	1	1,6	1,6
26.08.96	2	1	10,3	11,6	21.10.96	1	1	2,6	1,6
26.08.96	2	2	2,3	0,3	21.10.96	1	1	2	1,3
26.08.96	2	2	7,3	6,6	21.10.96	1	2	3,3	3
26.08.96	2	2	7	3,3	21.10.96	1	2	0,6	1
26.08.96	3	1	19,6	33,6	21.10.96	1	2	2,6	1,3
26.08.96	3	1	7,6	27,3	21.10.96	1	2	2	1
26.08.96	3	2	3	3	21.10.96	1	2	1	1,3
26.08.96	3	2	5,3	6,6	21.10.96	1	2	1	1
26.08.96	6	1	13,3	41	21.10.96	2	1	3,3	2
26.08.96	6	2	8	4	21.10.96	2	1	3,3	2,3
26.08.96	9	1	10,6	10,3	21.10.96	2	1	8	2,6
26.08.96	9	2	8,3	3,6	21.10.96	2	2	1,6	1,6
09.09.96	1	1	5,3	1,3	21.10.96	2	2	1,3	0,3
09.09.96	1	1	4	3,6	21.10.96	2	2	2,3	2
09.09.96	1	1	3,6	6,6	21.10.96	3	1	5,3	5,6
09.09.96	1	1	2	4,3	21.10.96	3	1	5,3	3
09.09.96	1	1	2,6	2,6	21.10.96	3	2	2,3	6
09.09.96	1	1	2,6	7,3	21.10.96	3	2	3,3	1,3
09.09.96	1	2	4,6	2	21.10.96	6	1	1,3	3,3
09.09.96	1	2	2,6	3,3	21.10.96	6	2	6,3	3
09.09.96	1	2	4,6	4	21.10.96	9	1	2	2
09.09.96	1	2	2,6	1,6	21.10.96	9	2	2	2,6
09.09.96	1	2	3	3	21.10.96	15	1	7	10,3
09.09.96	1	2	2,6	3	21.10.96	15	2	1	3,6
09.09.96	2	1	3	3,3	18.11.96	1	1	3,6	3,6
09.09.96	2	1	5	1	18.11.96	1	1	2,3	4

Datum	Standzt	Material	MwB	MwP	Datum	Standzt	Material	MwB	MwP
18.11.96	1	1	2,3	2,3	11.12.96	2	2	0,3	0,6
18.11.96	1	1	2	1,6	11.12.96	2	2	0,3	0
18.11.96	1	1	2	0,6	11.12.96	3	1	0	0,6
18.11.96	1	1	2,3	1,6	11.12.96	3	1	6,3	2
18.11.96	1	2	2,5	1,3	11.12.96	3	2	0,6	2,6
18.11.96	1	2	0,6	2	11.12.96	3	2	0,6	0
18.11.96	1	2	1,3	1,3	11.12.96	6	1	0,3	1,3
18.11.96	1	2	1,3	1	11.12.96	6	2	0	0,3
18.11.96	1	2	1,6	0,6	11.12.96	9	1	0,6	0,6
18.11.96	1	2	1	1	11.12.96	9	2	0	0,3
18.11.96	2	1	1,3	2,6	11.12.96	15	1	1,3	2,6
18.11.96	2	1	1	1,6	11.12.96	15	2	0,6	0,6
18.11.96	2	1	2,6	1	20.01.97	1	1	0,3	1
18.11.96	2	2	0	2	20.01.97	1	1	1,3	1
18.11.96	2	2	1,3	0,3	20.01.97	1	1	0,6	1
18.11.96	2	2	0,3	0,3	20.01.97	1	1	0,6	1
18.11.96	3	1	1	2	20.01.97	1	1	0,3	0,6
18.11.96	3	1	2	3	20.01.97	1	1	1	1
18.11.96	3	2	0,3	2	20.01.97	1	2	0,3	1
18.11.96	3	2	1	1,6	20.01.97	1	2	n.a.	0,6
18.11.96	6	1	1,6	3,3	20.01.97	1	2	0,3	0,6
18.11.96	6	2	0	0,3	20.01.97	1	2	0,6	1
18.11.96	9	1	4,6	7	20.01.97	1	2	0,3	0,6
18.11.96	9	2	1,3	1,6	20.01.97	1	2	0,3	0
18.11.96	15	1	2	2,3	20.01.97	2	1	1	1,6
18.11.96	15	2	0,3	1	20.01.97	2	1	0,6	1,6
11.12.96	1	1	0	0	20.01.97	2	1	1,3	1
11.12.96	1	1	2	0,6	20.01.97	2	2	0,3	1,6
11.12.96	1	1	2,5	2	20.01.97	2	2	0	0,6
11.12.96	1	1	0,6	1	20.01.97	2	2	0,6	0
11.12.96	1	1	1	1,3	20.01.97	3	1	2	2,3
11.12.96	1	1	2,3	1	20.01.97	3	1	1,6	1,6
11.12.96	1	2	1,3	0,6	20.01.97	3	2	1	1,3
11.12.96	1	2	0,3	2,6	20.01.97	3	2	1	0,3
11.12.96	1	2	1,3	1	20.01.97	6	1	0,3	1,6
11.12.96	1	2	1,3	0,3	20.01.97	6	2	0	0,6
11.12.96	1	2	1,6	2	20.01.97	9	1	1	1,6
11.12.96	1	2	0,3	0,3	20.01.97	9	2	0,6	0,3
11.12.96	2	1	0,3	9	20.01.97	15	1	1	1
11.12.96	2	1	3,3	0,6	20.01.97	15	2	0,3	0,6
11.12.96	2	1	0,6	3,6	10.02.97	1	1	2,3	1,6
11.12.96	2	2	2,6	1,3	10.02.97	1	1	0,6	0,3

Datum	Standzt	Material	MwB	MwP	Datum	Standzt	Material	MwB	MwP
10.02.97	1	1	1	1,3	01.03.97	2	2	1,3	1,3
10.02.97	1	1	1,6	1	01.03.97	2	2	1	1
10.02.97	1	1	1,3	0	01.03.97	3	1	1	2
10.02.97	1	1	0,6	0,3	01.03.97	3	1	4	2,3
10.02.97	1	2	0	0,6	01.03.97	3	2	0,6	1
10.02.97	1	2	0,3	0,3	01.03.97	3	2	1,6	1,3
10.02.97	1	2	1	1	01.03.97	6	1	1	1,3
10.02.97	1	2	0,3	0,3	01.03.97	6	2	0	0,6
10.02.97	1	2	1,3	1	01.03.97	9	1	1,6	2
10.02.97	1	2	1	0	01.03.97	9	2	1	1,6
10.02.97	2	1	n.a.	0	01.03.97	15	1	1,6	0,6
10.02.97	2	1	1	1	01.03.97	15	2	2	0,3
10.02.97	2	1	1,3	0	16.04.97	1	1	3,3	0,6
10.02.97	2	2	1,3	1	16.04.97	1	1	0,3	2
10.02.97	2	2	2	1	16.04.97	1	1	0	0,3
10.02.97	2	2	0,3	0,6	16.04.97	1	1	1,3	0,3
10.02.97	3	1	1,6	2	16.04.97	1	1	1,6	0,3
10.02.97	3	1	0,3	1,6	16.04.97	1	1	1,3	1
10.02.97	3	2	1,3	0	16.04.97	1	2	2,5	0
10.02.97	3	2	1,3	1	16.04.97	1	2	1,6	1
10.02.97	6	1	0,6	0,3	16.04.97	1	2	0,6	0,3
10.02.97	6	2	0	0,6	16.04.97	1	2	0,3	0,3
10.02.97	9	1	1,3	1,3	16.04.97	1	2	0	0,6
10.02.97	9	2	1,6	5,6	16.04.97	1	2	0,6	1,3
10.02.97	15	1	1,6	0,3	16.04.97	2	1	2,3	1,6
10.02.97	15	2	2,6	1,3	16.04.97	2	1	0	1,3
01.03.97	1	1	0,3	2,6	16.04.97	2	1	1	1,6
01.03.97	1	1	4,6	1,3	16.04.97	2	2	1	0,6
01.03.97	1	1	1	1,6	16.04.97	2	2	1	2
01.03.97	1	1	1	1,6	16.04.97	2	2	0,6	0,3
01.03.97	1	1	0,6	4,6	16.04.97	3	1	1,6	1,6
01.03.97	1	1	2	0,6	16.04.97	3	1	0,3	1,6
01.03.97	1	2	0,3	1	16.04.97	3	2	2,3	2
01.03.97	1	2	0	1	16.04.97	3	2	1,6	3,3
01.03.97	1	2	0,3	0,6	16.04.97	6	1	0,6	4,3
01.03.97	1	2	2	0,6	16.04.97	6	2	1	1,6
01.03.97	1	2	1	1,3	16.04.97	9	1	10,6	4,6
01.03.97	1	2	1	2,3	16.04.97	9	2	5,3	6,3
01.03.97	2	1	0,3	1	16.04.97	15	1	7,6	3
01.03.97	2	1	1	2	16.04.97	15	2	7,6	8
01.03.97	2	1	2	1	30.04.97	1	1	5,3	5,3
01.03.97	2	2	2	1	30.04.97	1	1	3,6	3,3

Datum	Standzt	Material	MwB	MwP	Datum	Standzt	Material	MwB	MwP
30.04.97	1	1	4	4	16.05.97	2	2	1,6	1,6
30.04.97	1	1	4	3,3	16.05.97	2	2	3,3	3,3
30.04.97	1	1	3,6	3,3	16.05.97	3	1	2,6	8
30.04.97	1	1	3	2	16.05.97	3	1	6,3	6
30.04.97	1	2	3,3	2	16.05.97	3	2	4	4,6
30.04.97	1	2	3,6	2,3	16.05.97	3	2	2	2,3
30.04.97	1	2	2,6	2,6	16.05.97	6	1	7	2,6
30.04.97	1	2	3,3	2	16.05.97	6	2	3,6	1
30.04.97	1	2	2	1,6	16.05.97	9	1	3	6
30.04.97	1	2	2,6	2	16.05.97	9	2	2,6	3,3
30.04.97	2	1	6,6	3	16.05.97	15	1	5	5,6
30.04.97	2	1	6,6	4,6	16.05.97	15	2	5,6	3,3
30.04.97	2	1	5,6	4,6	06.06.97	1	1	5	8,6
30.04.97	2	2	4,6	2,3	06.06.97	1	1	4,3	8,3
30.04.97	2	2	3	1,6	06.06.97	1	1	2	9
30.04.97	2	2	3,6	1	06.06.97	1	1	4	8,6
30.04.97	3	1	8,3	5,3	06.06.97	1	1	3,6	6,3
30.04.97	3	1	9,6	4,6	06.06.97	1	1	4,6	6,3
30.04.97	3	2	6,6	2,6	06.06.97	1	2	3,6	8,6
30.04.97	3	2	5	4,6	06.06.97	1	2	2,3	5
30.04.97	6	1	5,6	6,3	06.06.97	1	2	2,6	5,3
30.04.97	6	2	4	4	06.06.97	1	2	3,3	6,6
30.04.97	9	1	8,3	5,3	06.06.97	1	2	2,6	5,3
30.04.97	9	2	6,6	5,3	06.06.97	1	2	3	4,6
30.04.97	15	1	10,6	6,3	06.06.97	2	1	6,6	10
30.04.97	15	2	8	3,3	06.06.97	2	1	6,3	15,3
16.05.97	1	1	5,6	4,6	06.06.97	2	1	7	11,3
16.05.97	1	1	1,3	0,6	06.06.97	2	2	3,6	3,6
16.05.97	1	1	2,3	4,3	06.06.97	2	2	5,3	6,6
16.05.97	1	1	4,6	2,3	06.06.97	2	2	5,6	6,6
16.05.97	1	1	1,3	3,3	06.06.97	3	1	7,6	16
16.05.97	1	1	3,3	2,3	06.06.97	3	1	7,6	18,3
16.05.97	1	2	2	2,6	06.06.97	3	2	5	7,3
16.05.97	1	2	2,3	2	06.06.97	3	2	5,3	11
16.05.97	1	2	3	1	06.06.97	6	1	6,6	20,3
16.05.97	1	2	1	2,6	06.06.97	6	2	4	12,6
16.05.97	1	2	2	2	06.06.97	9	1	6,6	9,6
16.05.97	1	2	1,6	1,6	06.06.97	9	2	2,6	8
16.05.97	2	1	6	3,6	06.06.97	15	1	8,3	12
16.05.97	2	1	4,3	3	06.06.97	15	2	3,6	9,6
16.05.97	2	1	5,6	4,3	26.06.97	1	1	6,6	4,6
16.05.97	2	2	3	3,6	26.06.97	1	1	1,3	4,6

Datum	Standzt	Material	MwB	MwP	Datum	Standzt	Material	MwB	MwP
26.06.97	1	1	1,3	5,3	11.07.97	1	1	2,6	3,3
26.06.97	1	1	2,3	5	11.07.97	1	1	6	3,3
26.06.97	1	1	5,6	3,6	11.07.97	1	1	5,3	8
26.06.97	1	1	7	6,6	11.07.97	1	1	5,3	8,6
26.06.97	1	2	4,3	2,3	11.07.97	1	1	6,6	8,3
26.06.97	1	2	3,3	2,3	11.07.97	1	2	4	3,3
26.06.97	1	2	3	4,3	11.07.97	1	2	3	4,6
26.06.97	1	2	3,3	1,6	11.07.97	1	2	2,3	7
26.06.97	1	2	4	3,3	11.07.97	1	2	7,3	2,6
26.06.97	1	2	3,3	2,6	11.07.97	1	2	3	3
26.06.97	2	1	7,6	6	11.07.97	1	2	3	6,3
26.06.97	2	1	7	5,6	11.07.97	2	1	8,3	9,6
26.06.97	2	1	6,6	14,3	11.07.97	2	1	7,3	11,6
26.06.97	2	2	4	9,3	11.07.97	2	1	10	10,3
26.06.97	2	2	6,3	6	11.07.97	2	2	2,6	4,3
26.06.97	2	2	2,6	6,6	11.07.97	2	2	6	3,3
26.06.97	3	1	7,6	19,6	11.07.97	2	2	4	3
26.06.97	3	1	7	16,6	11.07.97	3	1	6,6	17,3
26.06.97	3	2	6,3	9,3	11.07.97	3	1	9,3	9
26.06.97	3	2	3,6	10,6	11.07.97	3	2	1,6	1,6
26.06.97	6	1	7	8,6	11.07.97	3	2	7	4
26.06.97	6	2	3,3	5	11.07.97	6	1	17	26,3
26.06.97	9	1	3,3	8,6	11.07.97	6	2	1,3	3
26.06.97	9	2	1,3	3	11.07.97	9	1	18,6	10
26.06.97	15	1	4,6	7,3	11.07.97	9	2	1,6	2,3
26.06.97	15	2	2,6	4,3	11.07.97	15	1	27,6	4,6
11.07.97	1	1	7,6	5	11.07.97	15	2	0,5	4,6

Datum= 1. Tag der jeweiligen Versuchsreihe

Standzt= Standzeit Filtermaterials in Airotester (Tage)

Material= Glasfaser (1), Synthefaser (2)

MwB= arithm. Mittelwert Bakterien/Platte

MwP= arithm. Mittelwert Pilze/Platte

Anhangstabelle II: Ergebnis der mykologischen Differenzierung der von den Luftfilterproben isolierten Pilze (Zeitraum: 16. 5. 1996 - 30.4.1997)

Standzt.	Mat.	Acremonium	Alternaria	Aspergillus	Aureobasidium	Botryosporium
1	GF	2	12	92	2	0
1	SF	0	22	65	2	0
2	GF	0	5	34	1	0
2	SF	0	9	26	1	0
3	GF	1	5	17	1	0
3	SF	0	4	14	0	0
6	GF	0	1	11	0	0
6	SF	0	1	3	2	0
9	GF	0	3	15	0	0
9	SF	0	2	14	0	0
15	GF	0	0	9	0	1
15	SF	0	2	7	0	0
		Botrytis	Cladosporium	Chrysonilia	Epiccocum	Fusarium
1	GF	22	1104	8	2	28
1	SF	13	467	4	1	9
2	GF	5	608	0	1	7
2	SF	9	187	5	1	2
3	GF	3	512	0	1	7
3	SF	8	127	4	0	5
6	GF	2	308	0	0	3
6	SF	6	46	1	1	3
9	GF	6	155	2	0	2
9	SF	1	56	3	1	1
15	GF	0	28	0	0	0
15	SF	1	21	0	0	0
	Mat.	Hefe	Mucor	Paecilomyces	Penicillium	Phoma
1	GF	250	2	2	246	0
1	SF	44	0	1	86	0
2	GF	104	0	1	93	0
2	SF	17	0	3	54	0
3	GF	69	0	2	82	0
3	SF	19	0	0	35	0
6	GF	35	0	0	38	1
6	SF	8	0	0	13	0
9	GF	31	0	0	43	0
9	SF	23	0	3	20	0
15	GF	12	0	0	18	0
15	SF	5	1	0	10	0

Standzt.		Rhizopus	Scopulariopsis	steriles Myzel	Trichoderma	Trichophyton
1	GF	8	2	190	2	0
1	SF	6	4	135	1	0
2	GF	1	1	48	0	0
2	SF	1	1	44	1	0
3	GF	0	0	40	0	0
3	SF	0	0	37	1	0
6	GF	0	0	21	1	0
6	SF	1	0	14	0	0
9	GF	1	1	17	1	0
9	SF	2	1	18	0	0
15	GF	0	1	10	0	0
15	SF	0	0	15	0	0
	Mat.	Verticillium	Wallemia			
1	GF	0	0			
1	SF	0	0			
2	GF	0	0			
2	SF	0	1			
3	GF	0	1			
3	SF	0	0			
6	GF	0	0			
6	SF	2	0			
9	GF	0	0			
9	SF	0	0			
15	GF	0	1			
15	SF	0	1			

Standzt= Standzeit des Luftfiltermaterials in den Airotestern (Tage)

GF= Glasfaserfiltermaterial

SF= Synthesefaserfiltermaterial

Anhangstabelle III: Einfluß des Luftfiltermaterials auf die Mikroorganismenkonzentration auf den Luftfilterproben, Rangwerte des Wilcoxon-Test für Paarvergleiche

		N	Rangwert
B1SF - B1GF	Rangwerte mit neg. Vorzeichen	25 (B1SF < B1GF)	14,80
	Rangwerte mit pos. Vorzeichen	2 (B1SF > B1GF)	4,00
	gleiche Rangwerte	0 (B1GF = B1SF)	
	Total	27	
B2SF - B2GF	Rangwerte mit neg. Vorzeichen	24 (B2SF < B2GF)	15,27
	Rangwerte mit pos. Vorzeichen	3 (B2SF > B2GF)	3,83
	gleiche Rangwerte	0 (B2GF = B2SF)	
	Total	27	
B3SF - B3GF	Rangwerte mit neg. Vorzeichen	20 (B3SF < B3GF)	14,90
	Rangwerte mit pos. Vorzeichen	7 (B3SF > B3GF)	11,43
	gleiche Rangwerte	0 (B3GF = B3SF)	
	Total	27	
B6SF - B6GF	Rangwerte mit neg. Vorzeichen	24 (B6SF < B6GF)	14,33
	Rangwerte mit pos. Vorzeichen	3 (B6SF > B6GF)	11,33
	gleiche Rangwerte	0 (B6GF = B6SF)	
	Total	27	
B9SF - B9GF	Rangwerte mit neg. Vorzeichen	17 (B9SF < B9GF)	10,59
	Rangwerte mit pos. Vorzeichen	2 (B9SF > B9GF)	5,00
	gleiche Rangwerte	2 (B9GF = B9SF)	
	Total	21	
B15SF - B15GF	Rangwerte mit neg. Vorzeichen	8 (B15SF < B15GF)	7,06
	Rangwerte mit pos. Vorzeichen	3 (B15SF > B15GF)	3,17
	gleiche Rangwerte	1 (B15GF = B15SF)	
	Total	12	
M1SF - M1GF	Rangwerte mit neg. Vorzeichen	24 (M1SF < M1GF)	15,06
	Rangwerte mit pos. Vorzeichen	3 (M1SF > M1GF)	5,50
	gleiche Rangwerte	0 (M1GF = M1SF)	
	Total	27	
M2SF - M2GF	Rangwerte mit neg. Vorzeichen	23 (M2SF < M2GF)	15,48
	Rangwerte mit pos. Vorzeichen	4 (M2SF > M2GF)	5,50
	gleiche Rangwerte	0 (M2GF = M2SF)	
	Total	27	
M3SF - M3GF	Rangwerte mit neg. Vorzeichen	25 (M3SF < M3GF)	13,80
	Rangwerte mit pos. Vorzeichen	1 (M3SF > M3GF)	6,00
	gleiche Rangwerte	1 (M3GF = M3SF)	
	Total	27	

		N	Rangwert
M6SF - M6GF	Rangwerte mit neg. Vorzeichen	23 (M6SF <M6GF)	12,91
	Rangwerte mit pos. Vorzeichen	1 (M6SF > M6GF)	3,00
	gleiche Rangwerte	3 (M6GF = M6SF)	
	Total	27	
M9SF - M9GF	Rangwerte mit neg. Vorzeichen	16 (M9SF <M9GF)	10,97
	Rangwerte mit pos. Vorzeichen	4 (M9SF > M9GF)	8,63
	gleiche Rangwerte	1 (M9GF = M9SF)	
	Total	21	
M15SF - M15GF	Rangwerte mit neg. Vorzeichen	10 (M15SF <M15GF)	6,40
	Rangwerte mit pos. Vorzeichen	2 (M15SF > M15GF)	7,00
	gleiche Rangwerte	0 (M15GF = M15SF)	
	Total	12	

B= Blut-Agar

M= Malzextrakt-Agar

1, 2, 3, 6, 9, 15 = Filterstandzeit in Airotester in Tagen

GF= Glasfaserfilter

SF= Synthesefaserfilter

Anhangstabelle IV: Längenwachstum von *Cladosporium cladosporoides* auf Nährmedien mit Luftfiltereluatzusatz und Kontrollmedien im Hemmtest

Datum	VT	GF	GF	GF	GF	GF	SF	SF	SF	SF	SF	K	K	K	K	K
23.07.1997	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
27.07.1997	4	5	4	5	4	5	n.a.	3	3	1	4	4	4	5	4	3
31.07.1997	8	5	7	6	8	6	n.a.	6	5	5	5	8	7	8	6	8
04.08.1997	12	10	10	11	11	9	n.a.	9	11	13	13	10	10	10	10	10
08.08.1997	16	3	2	3	5	5	n.a.	6	5	4	3	6	5	5	6	5
12.08.1997	20	5	7	7	6	7	n.a.	7	7	6	8	8	10	9	8	10
16.08.1997	24	5	5	5	5	5	n.a.	5	6	7	6	4	4	4	4	3
20.08.1997	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24.08.1997	4	4	5	5	4	5	4	3	4	1	4	4	n.a.	4	5	3
28.08.1997	8	5	6	6	7	6	6	6	4	5	4	7	n.a.	8	6	7
01.09.1997	12	11	10	11	10	10	13	10	12	13	13	10	n.a.	11	12	10
05.09.1997	16	3	4	4	3	4	4	5	4	3	5	6	n.a.	5	6	5
09.09.1997	20	5	7	6	6	7	7	7	7	6	7	8	n.a.	9	8	10
13.09.1997	24	6	4	6	5	6	7	6	6	8	7	4	n.a.	4	4	3

Datum	VT	GF	GF	GF	GF	GF	SF	SF	SF	SF	SF	K	K	K	K	K
26.09.1997	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
30.09.1997	4	4	3	4	5	3	4	3	4	3	5	4	4	5	4	3
04.10.1997	8	7	6	6	8	6	8	6	5	5	6	6	7	8	7	7
08.10.1997	12	10	11	10	10	12	12	11	12	10	11	12	12	12	12	11
12.10.1997	16	4	3	3	3	3	5	5	4	5	5	5	4	5	4	4
16.10.1997	20	6	5	5	5	5	5	6	7	6	6	7	10	9	8	10
20.10.1997	24	7	8	7	6	7	8	8	8	8	8	8	6	5	4	6
23.10.1997	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
27.10.1997	4	3	4	3	4	5	5	3	3	4	4	4	4	5	5	4
31.10.1997	8	6	6	6	7	7	6	5	5	7	5	7	7	8	7	6
04.11.1997	12	10	11	11	11	9	11	10	13	12	11	11	13	11	11	11
08.11.1997	16	3	2	3	5	5	3	6	5	4	3	6	5	5	6	4
12.11.1997	20	5	7	7	6	7	7	7	7	6	8	8	10	9	8	9
16.11.1997	24	5	5	5	5	5	6	5	6	7	6	4	4	4	4	3
24.11.1997	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
28.11.1997	4	4	4	4	n.a.	4	4	n.a.	4	3	3	3	4	4	n.a.	3
02.12.1997	8	5	7	6	n.a.	6	6	n.a.	5	5	6	8	7	7	n.a.	7
06.12.1997	12	10	12	11	n.a.	11	13	n.a.	11	13	10	11	12	11	n.a.	12
10.12.1997	16	3	3	3	n.a.	3	4	n.a.	5	3	3	4	5	5	n.a.	5
14.12.1997	20	8	7	6	n.a.	7	7	n.a.	9	8	8	8	10	9	n.a.	9
18.12.1997	24	4	4	5	n.a.	5	5	n.a.	6	7	6	5	4	5	n.a.	4

VT= Versuchstag

GF= Wachstum von *C. cladosporoides* in cm auf Nährmedium mit Zusatz Glasfaserfilterelat

SF= Wachstum von *C. cladosporoides* in cm auf Nährmedium mit Zusatz Synthesefaserfilterelat

K= Kontrollmedium mit Zusatz Aqua dest.

10 Literatur

2. Ainsworth, G.C., Austwick, P.K.C.: Fungal diseases of animals. Slough, England, Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal (1973)
3. Auger, P.L.: Mycotoxins and neurotoxicity. In: International Conference on Fungi and Bacteria in Indoor Air Environments. (eds.) Johanning, E., Yang, C.S., 161 – 167, Eastern New York Occupational Health Program, Saratoga Springs, New York (1994)
4. Auvrey, M.: A propos d'une nouvelle mycose observée chez l'homme. Suppuration cervicale due a l' *Hemispora stellata*.
Bull. Mem. Soc. Chir. Paris 20, 686 (1909)
5. Bauer, J., Gareis, M.: Ochratoxin A in der Nahrungsmittelkette.
J. Vet. Med. B 34, 613-627 (1987)
6. Baur, X.: Befeuchterlunge und Befeuchterfieber.
Dt. Ärzteblatt 86, 1864-1868 (1989)
7. BGA-Richtlinie für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention. Ziff 6.6, Hygiene-Anforderungen an Lüftungs- und Klimaanlageanlagen.
Bundesgesundheitsbl. Vol. 6 (1993)
8. Bleßmann, G.: Prüfung der fungiziden Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln für den Lebensmittelbereich, geprüft an Schimmelpilzen.
Dissertation Fachbereich Veterinärmedizin, Freie Universität Berlin, Berlin (1992)
9. Burge, H.A.: The fungi. In: Biological Contaminants in Indoor Environments. (eds.) Morey, P., Feeley, J., Otten, J., 136-162, American Society for testing and materials, Philadelphia (1990)
10. Chavanet, P.: Unusual cause of pharyngeal ulcerations in AIDS.
Lancet 2, 383-384 (1990)
11. Clark, S., Rylander, R., Larsson, L.: Airborne bacteria, endotoxin and fungi in dust in poultry and swine confinement buildings.
Am. Ind. Hyg. Assoc. J. 44, 537-541 (1983)
12. Costa, A.R.: Subcutaneous mucormycosis caused by *Mucor hiemalis* Wehmer f. *luteus*.
Mycoses 33, 241-246 (1990)

10. Croft, W.A., Jarvis, B.B., Yatawara, C.S.: Airborne outbreak of trichothecene toxicosis.
Atmos. Environ. 20, 549-552 (1986)
11. de Closets, F., Nastorg, C., De Bièvre, C., Roullier, A.: Sensibilitations à *Aspergillus clavatus* découvert dans un élevage de lapins.
Bull. Soc. Franc. Myc. Méd. 14, 315-319 (1985)
12. de Hoog, G.S., Guarro, J., Tan, C.S., Winternans, R.G.F., Gené, J.: Atlas of clinical fungi. (eds.) de Hoog, G.S., Guarro, J., Centraalbureau voor Schimmelcultures /Universitat Rovira i Virgili, Baarn/Reus (1995)
13. de Kruif, A.: Störungen der Graviditätsdauer. In: Tiergeburtschilfe. (eds.) Grunert, E., Arbeiter, K., 190-212, Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg (1993)
14. Dennis, J.E.: Nosocomial rhizopus infection (zygomycosis) in children.
J. Pediatr. 96, 824-828 (1980)
15. DFG: Ochratoxin A: Vorkommen und toxikologische Bewertung. Deutsche Forschungsgemeinschaft Mitteilung XII der Senatskommission zur Prüfung von Lebensmittelzusatz und -inhaltsstoffen, Weinheim, Basel, Cambridge, New York (1990)
16. DIN 1946, Teil 2: Raumluftechnik - Gesundheitstechnische Anforderungen (VDI-Lüftungsregeln). Normenausschuß Heiz- und Raumluftechnik (NHRS) im DIN Deutsches Institut für Normung e. V., Beuth Verlag, Berlin (1994)
17. Elixmann, J.H.: Filter einer lufttechnischen Anlage als Ökosystem und als Verbreiter von Pilzallergenen. Dustri-Verlag Dr. Karl Feistle, München-Deisenhofen (1989)
18. Eulenberger, K., Schütze, B.: Zur Aufzucht von Pinguinen im Leipziger Zoo.
VAZ 11, 111-116 (1991)
19. Eulenberger, K.: Taucher, Pinguine, Röhrennasen, Ruderfüßer, Watt- und Möwenvögel. In: Erkrankungen der Zoo- und Wildtiere. (eds.) Göltenboth, R., Klös, H.-G., 488-502, Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin (1995)
20. Ezeonu, I.M., Price, D.L., Simmons, R.B., Crow, S.A., Ahearn, D.G.: Fungal production of volatiles during growth on fiberglass.
Appl. Environ. Microbiol. 60, 4172-4173 (1994)

21. Flannigan, B., McCabe, E.M., McGarry, F.: Allergenic and toxigenic micro-organisms in houses.
Soc. Appl. Bacteriol. Symp. Ser. 79, 61-73 (1991)
22. Flannigan, B.: Indoor microbiological pollutants - sources, species, characterization and evaluation. In: Chemical, microbiological, health and comfort aspects of indoor air quality - state of the art in SBS, vol. 4. (eds.) Knöppel, H., Wolkoff, P., 73-98, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht (1992)
23. Fogelmark, B., Goto, H., Yuasa, K., Marchat, B., Rylander, R.: Acute pulmonary toxicity of inhaled β 1, 3-glucan and endotoxin.
Agent Actions 35, 50-56 (1992)
24. Gedek, B., Bauer, J., Schreiber, H.: Zur Mykotoxinbildung Silage-verderbender Schimmelpilze.
Wien. Tierärztl. Monatsschr. 68, 299 (1981)
25. Gravesen, S.: Fungi as a cause of allergic disease.
Allergy 34, 135-154 (1979)
25. Gravesen, S., Frisvad, J.C., Samson, R.A.: Microfungi. Munksgaard, Copenhagen (1994)
26. Großklaus, D., Kaul, A., Lingk, W., Siewert, E., Somogyi, A., Weigert, P., Wirth, E.: Rückstände in von Tieren stammenden Lebensmitteln. (ed.) Großklaus, D., Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg (1989)
27. Hajsig, M., de Vries, G.A., Sertic, V., Naglic, T.: *Chrysosporium evolceanui* from pathologically changed dog skin.
Vet. Archiv 44, 209-211 (1974)
28. Hadlock, R.M., Wagner, G.: Vorkommen von Ochratoxin A beim Menschen in Deutschland.
Fleischwirtsch. 73, 1079-1080 (1993)
29. Hake, W.: Abscheidung von Mikroorganismen durch Filter in raumluftechnischen Anlagen - Quantitative und halb-qualitative Bestimmung der Mikroorganismen hinsichtlich ihrer Lungengängigkeit
Dissertation Fachbereich Humanmedizin, Freie Universität Berlin, Berlin (1998)
30. Harkema, J.R., Hotchkiss, J.A.: In vivo effects of endotoxin on nasal epithelial mucosubstances: quantitative histochemistry.

- Exp. Lung Res. 17, 743-761 (1991)
31. Hawkins, C., Armstrong, D.: Fungal infections in the immunocompromised host. Clin. Haematol. 13, 599-630 (1984)
32. Heederik, D., Brouwer, R., Biersteker, K., Boleij, J.S.M.: Relationship of airborne endotoxin and bacteria levels in pig farms with the lung function and respiratory symptoms of farmers. Int. Arch. Occup. Environ. Health 62, 595-601 (1991)
33. Heikkilä, P., Kotimaa, M., Tuomi, T., Salmi, T., Louhelainen, K.: Identification and counting of fungal spores by scanning electron microscope. Ann. Occup. Hyg. 32, 241-248 (1988)
34. Heinemann, S., Beguin, H., Nolard, N.: Biocontamination in air-conditioning. In: Air quality monographs, vol. 2. (eds.) Samson, R.A., Flannigan, B., Flannigan, M.E., Verhoeff, A.P., Adan, O.C.G., Hoekstra, E.S., 179-186, Elsevier, Amsterdam (1994)
35. Hoffman, D.R., Kozak, P.P., Gillman, S.A., Cummins, L.H., Gallup, J.: Isolation of spore specific allergens from *Alternaria*. Ann. Allergy 46, 310-316 (1981)
35. Hoffman, O.A., Olson, E.J., Limper, A.H.: Fungal β -glucans modulate macrophage release of tumor necrosis factor- α in response to bacterial lipopolysaccharide. Immunol. Lett. 37, 19-25 (1993)
36. Holmes, G.P., Kaplan, J.E., Gantz, N.M., Komaroff, A.L., Schonberger, L.B.: Chronic fatigue syndrome: a working case definition. Ann. Intern. Med. 164, 387-389 (1988)
37. Hosking, S.L., Robson, G.D., Trinci, A.P.J.: Phosphoinositides Play a Role in Hyphal Extension and Branching in *Neurospora crassa*. Environ. Myc. 19, 71-80 (1995)
38. Jacobs, R.L., Thorner, R.E., Holcomb, J.R., Schwietz, L.A., Jacobs, F.O.: Hypersensitivity pneumonitis caused by *Cladosporium* in an enclosed hot-tub area. Ann. Intern. Med. 105, 204-206 (1986)
39. Jehn, U.: Klinische Mykologie. ecomed, Landsberg (1997)
40. Johanning, E.: Health problems related to fungal exposure - the example of toxigenic *Stachybotrys chartarum* (atra). In: International Conference on Fungi and Bac-

- teria in Indoor Air Environment. (eds.) Johanning, E., Yang, C.S., 169-182, Eastern New York Occupational Health Program, Saratoga Springs, New York (1994)
41. Kemp, S.J., Kuehn, T.H., Pui, D.Y.H.: Growth of microorganisms on HVAC filters under controlled temperature and humidity conditions.
ASHRAE Transactions 1995a, part 1, 1-12 (1995)
42. Kemp, S.J., Kuehn, T.H., Pui, D.Y.H.: Filter collection efficiency and growth of microorganisms on filters loaded with outdoor air.
ASHRAE Transactions 199b, part 1, 228-238 (1995)
43. Kircheis, U., Neumeister, H. G., Kemp, P.C., Martiny, H.: Pilze auf Luftfiltern und in der Luft von RLT-Anlagen. In: 31. Wissenschaftliche Tagung der Deutschsprachigen Mykologischen Gesellschaft. Universitätsklinikum der RWTH Aachen, 27, Aachen (1997)
44. Knoll, K.H.: Lüftungs- und Klimatechnik unter Gesichtspunkten der Hygiene.
Hyg. + Med. Rep. 20, 33-39 (1995)
35. Kozłowska, E.A., Nuber, D.: Leitfaden der praktischen Mykologie. Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin - Wien (1996)
36. Kraft, W.: Kleintierkrankheiten Band 1: Innere Medizin. (eds.) Loeffler, K., Strauch, D., Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart (1990)
37. Krempl-Lamprecht, L.: *Scopulariopsis*-Arten bei Onychomykosen.
Vortrag 2nd International Symposium of Medical Mycology. Poznan (1970)
38. Kroidl, R.F., Amthorn, M., Durkes, U., Freitag, V., Hain, E.: Interstitielle Pneumonie durch Schimmelpilze aus einem Obstkühlhaus.
Prax. Klin. Pneumol. 38, 434-437 (1984)
39. Kwon-Chung, K.J., Bennett, J.E.: Medical Mycology. Lea & Febiger, Philadelphia / London (1992)
40. Laatikainen, T., Pasanen, P., Korkonen, L., Nevalainen, A., Ruuskanen, J.: Methods for evaluating dust accumulation in ventilation ducts. In: Healthy Buildings '91. American Society of Heating, Refrigerating and Air-Conditioning Engineers, 238 – 242, Atlanta (1991)
41. Lacey, J.: Aerobiology and Health: the Role of Airborne Fungal Spores in Respiratory Disease. In: 4th International Mycological Congress. (ed.) Hawksworth, D.L., 157-185, C.A.B. International, Regensburg (1990)

-
42. Lander, R., Jepsen, J.R., Gravesen, S.: Late asthmatic reactions caused by micro-fungi in the tobacco industry.
Ugeskr. Laeger 147, 2918-2919 (1985)
 43. Larsen, T.O., Frisvad, J.C.: Characterization of volatile metabolites from 47 *Penicillium* taxa.
Myc. Res. 99, 1153-1166 (1995)
 44. Leistner, L., Eckart, C.: Schimmelpilze und Mykotoxine in Fleisch und Fleischerzeugnissen. In: Mykotoxine in Lebensmitteln. (ed.) Reiß, J., Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York (1981)
 45. Levetin, E.: Fungi in Bioaerosols. Lewis Publishers, Boca Raton (1995)
 46. Lie, T.S., Höfer, M., Höhnke, C., Krizek, L., Kühnen, A., Iwantscheff, O., Köster, A., Overlack, J., Vogel, J.: Aspergillose nach Lebertransplantation als Hospitalismusinfektion.
Dtsch. Med. Wochenschr. 112, 297-301 (1987)
 47. Lilly, V.G., Barnett, H.L.: Physiology of the Fungi. McGraw-Hill Book Company, New York, Toronto, London (1951)
 48. Martikainen, P.J., Asikainen, A., Nevalainen, A., Jantunen, M., Pasanen, P., Kallio-koski, P.: Microbial growth on ventilation filter materials. In: 5th International Conference on Indoor Air Quality and Climate, vol. 3. (ed.) Walkinshaw, D.W., 203-206, Toronto, Canada (1990)
 49. Martiny, H., Möritz, M., Rüdén, H.: Deposit of bacteria and fungi in different materials of air-conditioning systems. In: 12th International Symposium on Contamination Control, 271 – 274, The Japan Air Cleaning Association, Yokohama (1994)
 50. May, J.J., Pratt, D.S., Stallones, L., Morey, P.R., Olenchock, S.A., Deep, J.W., Bennett, G.A.: A study of silo unloading: the work environment and its physiologic effects.
Am. J. Ind. Med. 10, 318 (1986)
 51. McNulty, J.S.: Rhinocerebral mucormycosis: predisposing factors.
Laryngoscope 92, 1140- 1143 (1982)
 52. Miller, J.D.: Fungi as contaminants in indoor air.
Atmos. Environ. 26A, 2163-2172 (1992)

-
53. Möritz, M.: Verhalten von Mikroorganismen auf Luftfiltern in raumluftechnischen Anlagen in Abhängigkeit von den klimatischen Bedingungen der Lufttemperatur und der relativen Luftfeuchtigkeit.
Dissertation Fachbereich Verfahrenstechnik, Werkstoffwissenschaften, Umwelttechnik, Technische Universität Berlin, Berlin (1996)
54. Möritz, M., Martiny, H.: Pilze und Bakterien auf Luftfiltern aus Raumluftechnischen Anlagen: Eine Methode zum Nachweis von Pilzen und Bakterien auf Luftfiltern.
Zentralbl. Hyg. Umweltmed. 199, 513-526 (1997)
55. Möritz, M., Schleibinger, H., Rüdén, H.: Investigations on the survival time of outdoor microorganisms on air filters.
Zentralbl. Hyg. Umweltmed. 201, 125-133 (1998)
56. Mühlenberg, W.: Vorkommen und Bedeutung von Legionellen in Raumluftechnischen Anlagen.
Öffentl. Gesundheitswes. 50, 89-95 (1988)
66. National Research Council (NRC): Occupational health and safety in the care and use of research animals. National Academy Press, Washington D.C. (1997)
67. Neumeister, H. G., Möritz, M., Schleibinger, H.W.: Verhalten von allergenbildenden Pilzen auf Luftfiltern aus Klimaanlage bei hohen relativen Luftfeuchten. In: 30. Wissenschaftliche Tagung der Deutschsprachigen Mykologischen Gesellschaft. (ed.) Brasch, J., 117, Kiel (1996)
68. Neumeister, H.G., Kemp, P.: Luftige Richtlinien für luftgetragene Pilze.
Med-Report 24, 14 (1997)
69. Neumeister-Kemp, H.G.: pers. Mitteilung vom 11. August 1998
70. Nikulin, M., Pasanen, A.-L., Berg, S., Hintikka, E.-L.: *Stachybotrys atra* growth and toxin production in some building materials and fodder under different relative humidities.
Appl. Environ. Microbiol. 60, 3421-3423 (1994)
71. Olenchock, S.A.: Airborne Endotoxin. In: Manual of environmental microbiology. (ed.) Hurst, C.J., 661-665, ASM Press, Washington D.C. (1997)

72. Pasanen, A.-L., Reponen, T., Kalliokoski, P., Nevalainen, A.: Seasonal variation of fungal spore levels in indoor and outdoor air in the subarctic climate. In: Indoor Air '90, vol. 2, 184 – 188, Canada Mortgage and Housing Corporation, Ottawa (1990)
73. Pasanen, A.-L., Nikulin, M., Tuomainen, M., Berg, S., Parikka, P., Hintikka, E.-L.: Laboratory experiments on membrane filter sampling of airborne mycotoxins produced by *Stachybotrys atra corda*. Atmos. Environ. 27A, 9-13 (1993)
74. Pasanen, A.-L., Kujanpää, L., Pasanen, P., Kalliokoski, P., Blomquist, G.: Culturable and total fungi in dust accumulated in air ducts in single-family houses. Indoor Air 7, 121-127 (1997)
75. Pascoe, I.G.: Fusarium morphology II: Experiments on growing conditions and dispersal of mesoconidia. Mycotax. 37, 161-172 (1990)
76. Patterson, R., Sommers, H., Fink, J.N.: Farmer's lung following inhalation of *Aspergillus flavus* growing in mouldy corn. Clin. Allergy 4, 79-86 (1974)
77. Patterson, R., Fink, J.N., Miles, W.B., Basich, J.E., Schleuter, D.B., Tinkelman, D.G., Roberts, M.: Hypersensitivity lung disease presumptively due to *Cephalosporium* in homes contaminated by sewage flooding or humidifier water. J. Allergy Clin. Immunol. 68, 128-132 (1981)
78. Pejtersen, J.: Sensory pollution and microbial contamination of ventilation filters. Indoor Air 6, 239-248 (1996)
79. Pope, A.M., Patterson, R., Burge, H.: Indoor allergens. National Academy Press, Washington D.C. (1993)
80. Reckzeh, G., Dontenwill, W.: Beitrag zur Frage der Verkeimung von Schwebstofffiltern. Zbl. Bak. Hyg. 1. Abt. Orig. B 159, 272-283 (1974)
81. Reiß, J.: Mykotoxine in Lebensmitteln. Gustav Fischer Verlag, New York (1981)
82. Reuter, G.: Mikrobiologie des Fleisches. In: Mikrobiologie der Lebensmittel, Fleisch und Fleischerzeugnisse. (ed.) Weber, H., 3-115, B. Behr's Verlag, Hamburg (1996)

-
83. Robertson, A.S., Burge, P.S., Hedge, A., Sims, J., Gill, F.S., Finnegan, M., Pickering, C.A.C., Dalton, G.: Comparison of health problems related to work and environmental measurements in two office buildings with different ventilation systems. *Br. Med. J.* 291, 373-376 (1985)
 84. Rolle, M., Mayr, A., Gedek, B.: Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre für Tierärzte, Biologen, Agrarwissenschaftler und Interessierte aus benachbarten Fachgebieten. (ed.) Mayr, A., Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart (1993)
 85. Rosner, H., van Egmond, H.P.: Mykotoxin-Höchstmengen in Lebensmitteln. *Bundesgesundhbl.* 12, 467-473 (1995)
 86. Roßkamp, E.: Raumlufttechnische Anlagen - ein gesundheitliches Problem. *Bundesgesundheitsbl.* 33, 117-121 (1990)
 87. Rüden, H., Botzenhart, K.: Untersuchungen zur Frage des Wachstums abgeschiedener Mikroorganismen auf Glasfaser-Feinstaub- und Glasfaser-Hochleistungsschwebstoff-Filtern. *Gesundheits-Ingenieur* 95, 318-321 (1974)
 88. Samson, R.A.: Mycotoxins: a mycologist's perspective. *J. Med. Vet. Mycol. Suppl.* 1 30, 9-18 (1992)
 89. Samson, R.A., van Reenen-Hoekstra, E.S., Frisvad, J.C., Filtenberg, O.: Introduction to food-borne fungi. (eds.) Samson, R.A., van Reenen-Hoekstra, E.S., 4. Ausgabe, Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn (1988)
 90. Schata, M.: Allergische Erkrankungen im Innenraum. *Zentralbl. Hyg. Umweltmed.* 197, 196-211 (1995)
 91. Schiefer, H.B.: Mycotoxins in indoor air: a critical toxicological viewpoint. In: 5th International Conference on Indoor Air Quality and Climate - Indoor Air '90, vol. 1. 44 – 47, Toronto, Canada (1990)
 92. Schmidt-Lorenz, W., Schmid, U., Uehlinger, M., Blaser, P.: Untersuchungen über das Durchwachsen von Schimmelpilzen durch Hochleistungs-Schwebstofffilter. *Swiss Med* 3, 93-108 (1981)
 93. Sherwood, R., Williams, D., McNamee, R., Jones, E.L., Broder, I.W., DiLuzio, N.R.: Enhancement of interleukin-1 and interleukin-2 production by soluble glucan. *J. Immunopharmacol.* 9, 261-267 (1987)

94. Siegmann, O.: Kompendium der Geflügelkrankheiten, 5. Auflage, Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg (1993)
95. Skov, P., Valbjorn, O., Pedersen, B.V.: Influence of indoor climate on the sick building syndrome in an office environment.
Scand. J. Work Environ. Health 16, 1-9 (1990)
96. Sorenson, W.G., Frazier, D.G., Jarvis, B.B., Simpson, J., Robinson, V.A.: Trichothecene mycotoxins in aerosolized conidia of *Stachybotrys atra*.
Appl. Environ. Microbiol. 53, 1370-1375 (1987)
97. Sorenson, W.G.: Aerosolized mycotoxins: implications for occupational settings. In: International Conference on Fungi and Bacteria in Indoor Air Environments. (eds.) Johanning, E., Yang, C.S., 57-67, Eastern New York Occupational Health Program, Saratoga Springs, New York (1994)
98. Spengler, J.D., Sexton, K.: Indoor air pollution: A public health perspective.
Science 221, 9-17 (1983)
99. Staib, F.: Ecological and epidemiological aspects of aspergilli pathogenic for man and animal in Berlin (West).
Zentralbl. Bakteriol. Mikrobiol. Hyg. A 257, 240-245 (1984)
100. Staib, F.: Pathogenic fungi in human dwellings.
Mycoses 35, 289-292 (1992)
101. Stetzenbach, L.D.: Introduction to Aerobiology. In: Manual of environmental microbiology. (ed.) Hurst, C., 619-624, ASM Press, Washington D.C. (1997)
102. Strasburger, E., Noll, F., Schenck, H., Schimper, A.F.W.: Lehrbuch der Botanik für Hochschulen, 33. Ausgabe, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, Jena, New York (1991)
103. Tang, H., Yoshizawa, S., Deguchi, N.: Influences of timely variations of environmental temperature and humidity on the fungal growth speed. In: 7th International Conference on Indoor Air Quality and Climate - Indoor Air '96, vol. 3. Nagoya (1996)
104. Teijonsalo, J., Pasanen, P., Seppänen, O.: Filters of supply units as sources of contaminants. In: 6th International Conference on Indoor Air Quality and Climate - Indoor Air '93, vol.6, 533-538, Helsinki (1993)
105. Tintelnot, K., Nitsche, B.: *Rhizopus oligosporus* as a cause of mucormycosis.

- Mycoses 32, 115-118 (1989)
106. Topping, M.D., Scarisbrick, D.A., Luczynska, C.M., Clarke, E.C., Seaton, A.: Clinical and immunological reactions to *Aspergillus niger* among workers at a biotechnology plant.
Br. J. Ind. Med. 42, 312-318 (1985)
107. Torok, M., de Weck, A.L., Scherrer, M.: Allergische Alveolitis infolge Verschimmelung der Schlafzimmerwand.
Schweiz. Med. Wochenschr. 111, 924-929 (1981)
108. van Assendelft, A.H.W.: Asthma due to contaminated humidifiers.
Thorax 40, 560 (1985)
109. Voss, K.A., Plattner, R.D., Riley, R.T., Meredith, F.I., Norred, W.P.: In vivo effects of fumonisin B1-producing and fumonisin B1-nonproducing *Fusarium moniliforme* isolates are similar: fumonisins B2 and B3 cause hepato- and nephrotoxicity in rats.
Mycopathologia 141, 45-58 (1998)
110. Weise, E.: Mikrobiologie des Geflügelfleisches. In: Mikrobiologie der Lebensmittel, Fleisch und Fleischerzeugnisse. (ed.) Weber, H., 559-619, B. Behr's Verlag, Hamburg (1996)
111. Weiss, E.: Verdauungsorgane. In: Grundriß der speziellen pathologischen Anatomie der Haustiere. (eds.) Dahme, E., Weiss, E., 118-177, Ferdinand Enke Verlag, Hamburg (1983)
112. Weiss, E., Rudolph, R.: Atmungsorgane. In: Grundriß der speziellen pathologischen Anatomie der Haustiere. (eds.) Dahme, E., Weiss, E., 71-112, Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart (1983)
113. White, C.B., Barcia, P.J., Bass, J.W.: Neonatal zygomycotic necrotizing cellulitis.
Pediatrics 78, 100-102 (1986)
114. WHO: Indoor air pollutants: exposure and health effects report on a WHO meeting, Nördlingen, 8 – 11 June 1982. EURO reports and studies 78, Copenhagen (1983)
115. WHO: Selected mycotoxins ochratoxins, trichothecenes, ergot published under the joint sponsorship of the United Nations Environment Programme, the International Labour Organisation and the World Health Organization. Environmental health criteria 105, Genf (1990)

-
116. WHO: IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. International Agency for Research on Cancer, Lyon (1993)
 117. Wicklow, D.T., Shotwell, O.: Intrafungal distribution of aflatoxins among conidia and sclerotia of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. Can. J. Microbiol. 29, 1-5 (1983)
 118. Yang, C.S.: Fungal colonization of HVAC fiber-glass air-duct liner in the USA. In: 7th International Conference on Indoor Air Quality and Climate - Indoor Air '96, vol. 3, 173 – 177, Nagoya (1996)
 119. Yang, C.S., Johanning, E.: Airborne Fungi and Mycotoxins. In: Manual of environmental microbiology. (ed.) Hurst, C.J., 651-660, ASM Press, Washington D.C. (1997)
 120. Zweers, T., Preller, L., Brunekeef, B.: Health and indoor climate complaints of 7043 office workers in 61 buildings in the Netherlands. Indoor Air 2, 127-136 (1992)

Danksagung

Mein erster und ganz besonderer Dank gilt meiner Doktormutter Frau Prof. Dr. H. Martiny. Ich danke ihr für die engagierte fachliche Anleitung und Betreuung meiner Dissertation sowie für die stete Unterstützung und Förderung. Über ihre fachliche Kompetenz hinaus ist mir Frau Prof. Martiny auch menschlich ein Vorbild.

Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. G. Reuter danke ich sehr herzlich für die Übernahme der Arbeit. Seine konstruktiven Ratschläge waren wertvolle Anregungen bei der Anfertigung meiner Dissertation.

Weiterhin möchte ich mich auch bei Frau Dr. H. Neumeister-Kemp sehr herzlich für die fachliche Anleitung bei mykologischen Fragestellungen bedanken. Darüber hinaus waren sie und Herr P. Kemp eine große Hilfe bei der kritischen Durchsicht der Manuskripte.

Frau A. Nickelmann danke ich besonders für die Einweisung in mykologische Labortechniken und die nette Zusammenarbeit im Pilzlabor.

Auch den übrigen Mitgliedern des Pilzteams, Frau U. Kircheis, Frau G. Larsen und Herrn M. Hesse, möchte ich für ihre Hilfsbereitschaft und die nette Atmosphäre im Labor und auf Kongressen danken.

Frau Dr. Dahms, Frau Dr. Arndt und Frau Dr. Sohr danke ich für die fachliche Anleitung und Hilfe bei der statistischen Auswertung der Ergebnisse

Andreas Engels und Dirk Müller danke ich für Ihre unerschütterliche Hilfe und Geduld bei Computer-Problemen.

Meiner Mutter, Silja und Dennis danke ich sehr für die seelische Unterstützung und das Interesse an dieser Arbeit.

Ich danke Bernhard dafür, daß er mir in Computer- und anderen Krisen immer geholfen hat und dabei nie die Geduld oder seine gute Laune verlor. Und dafür, daß er diese Zeit zu einer so schönen Zeit gemacht hat.

Last but not least bedanke ich mich bei der Kommission zur Förderung von Nachwuchswissenschaftlerinnen (KFN), Freie Universität Berlin, für das gewährte Stipendium.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Berit Müller

geboren am 23.08.1969 in Köln

ledig

Schulbildung

08/ 1976 - 05/ 1989 Grundschule und Gymnasium in Köln
Abschluß: Abitur

Hochschulstudium

10/ 1989 - 08/ 1995 Studium der Veterinärmedizin
an der Justus-Liebig-Universität Gießen

02/ 1992 - 07/ 1992 Auslandssemester
École Nationale Vétérinaire, Nantes, Frankreich

20.01. 1997 Approbation

Wissenschaftlicher Werdegang

01/ 1996 - 08/ 1998 Promotionsarbeit am Institut für Hygiene, Umweltmedizin und
Arbeitsmedizin, Fachbereich Humanmedizin, FU Berlin,
Stipendiatin der Kommission zur Förderung von Nachwuchswis-
senschaftlerinnen (KFN) der FU Berlin

11/ 1997 - 04/ 1998 Robert Koch-Institut, Berlin
Mitarbeit in der Projektgruppe
" Neue Methoden der Erregerdiagnostik"

10/ 1998 – 12/1998 BioGenes, Gesellschaft für Biopolymere mbH, Berlin
Wissenschaftliche Mitarbeiterin

seit 01/1999 Robert Koch-Institut, Berlin
Trainingsprogramm für angewandte Infektionsepidemiologie