

# Zur Charakterisierung der Ausbreitungsentfernung von Bioaerosolen aus Masthühnerställen

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doktor der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)  
der Fakultät für Biologie  
der Universität Bielefeld

vorgelegt von  
Jochen Schulz

Dezember 2007



# Inhaltsverzeichnis

	<b>Seite</b>
<b>1</b>	<b>Einleitung</b> <span style="float: right;"><b>1</b></span>
1.1	Hintergrund <span style="float: right;">1</span>
1.2	Zusammensetzung und Wirkung in der Stallluft vorkommender Bioaerosole <span style="float: right;">3</span>
1.3	Ausbreitung luftgetragener Keime aus Tierställen <span style="float: right;">6</span>
1.4	Emissionen aus Masthühnerställen <span style="float: right;">10</span>
1.5	Das Keimpektrum unbelasteter Außenluft <span style="float: right;">11</span>
1.6	Indikatorbioaerosole für Ausbreitungsuntersuchungen <span style="float: right;">14</span>
1.7	Ziele der Untersuchungen <span style="float: right;">16</span>
<b>2</b>	<b>Material und Methoden</b> <span style="float: right;"><b>18</b></span>
2.1	Material <span style="float: right;">18</span>
2.1.1	Die ausgewählten Stallanlagen <span style="float: right;">18</span>
2.1.2	Benutzte Geräte <span style="float: right;">21</span>
2.1.2.1	Der AGI-30 Impinger zur Luftkeimsammlung <span style="float: right;">21</span>
2.1.2.2	Wetterstation <span style="float: right;">22</span>
2.1.2.3	Messschacht mit Probenahmesonde für Impinger und Strömungsgleichrichter für Emissionsmessungen <span style="float: right;">23</span>
2.1.2.4	Tachymeter <span style="float: right;">25</span>
2.1.2.5	Weitere benutzte Geräte <span style="float: right;">25</span>
2.1.3	Verwendete Bakterien <span style="float: right;">26</span>
2.1.4	Benutzte Nährmedien <span style="float: right;">27</span>
2.1.5	Puffer und Lösungen <span style="float: right;">28</span>
2.1.6	Verwendete Chemikalien/Biochemikalien <span style="float: right;">29</span>
2.2	Methoden <span style="float: right;">30</span>
2.2.1	Glycerin-Phosphatpuffer als Sammelflüssigkeit in Impingern: Einfluss auf die Anzahl der KBE ausgewählter Bakterienarten <span style="float: right;">30</span>
2.2.2	Die Wiederfindungsrate luftgetragener kultivierbarer <i>Staphylococcus xylosus</i> Zellen in Glycerin-Phosphatpuffer befüllten Impingern <span style="float: right;">32</span>
2.2.3	Erfassung luftgetragener Mikroorganismen aus der Stallluft <span style="float: right;">35</span>
2.2.4	Erfassung luftgetragener Mikroorganismen im Außenbereich der Ställe <span style="float: right;">37</span>
2.2.5	Senkung der Nachweisgrenze für die in der Außenluft gesammelten Mikroorganismen <span style="float: right;">39</span>

2.2.6	Begleitende Untersuchungen zur Herkunft der aus dem Stall A emittierten Staphylokokken	40
2.2.7	Bestimmungen der gesammelten Mikroorganismen	41
2.2.7.1	Bestimmung von mesophilen Schimmelpilzen und Hefen	41
2.2.7.2	Bestimmung der Staphylokokken bis zur Gattung	41
2.2.7.3	Nachweis von <i>S. aureus</i> durch den „clumping factor“	42
2.2.7.4	Identifizierung von Staphylokokken mit dem ID 32 STAPH Test	42
2.2.7.5	Identifizierung von Staphylokokken durch die Amplifikation der 16S-23S rDNA „internal transcribed spacer“ Region und durch die Restriktion der PCR-Produkte	42
2.2.8	Statistik	45
2.2.9	Berechnung der Staphylokokkenausbreitung mit einem Gaußschen Ausbreitungsmodell	45
<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>49</b>
3.1	Ergebnisse aus Vorversuchen	49
3.1.1	Glycerin-Phosphatpuffer als Sammelflüssigkeit in Impingern: Einfluss auf die Anzahl der KBE ausgewählter Bakterienarten	49
3.1.2	Die Wiederfindungsrate luftgetragener kultivierbarer <i>Staphylococcus xylosus</i> Zellen in Glycerin-Phosphatpuffer befüllten Impingern	52
3.2	Ergebnisse der Felduntersuchungen	53
3.2.1	Befunde in und am frei gelüfteten Masthühnerstall A	53
3.2.2	Konzentrationen luftgetragener Mikroorganismen in der Luft von Stall A	54
3.2.3	Vergleich der Anzahl von Schimmelpilzen und Hefen in Luv und Lee des Stalles A	55
3.2.4	Zeitgleich in Luv und Lee des Stalles A bestimmte Gesamtzahlen mesophiler Bakterien	57
3.2.5	Ausbreitung luftgetragener Staphylokokken am Stall A	58
3.2.6	Vergleich der gemessenen Staphylokokkenabnahme am Stall A mit einer Ausbreitungsrechnung	60
3.2.7	Ausbreitungsmodellierung mittlerer Staphylokokkenimmissionen im Umfeld des Stalles A	62
3.2.8	Differenzierung zeitgleich in der Stallluft und in Lee am Stall A erfasster Staphylokokken	64
3.2.9	Begleitende Untersuchungen zur Herkunft der aus dem Stall A emittierten Staphylokokken	71
3.3	Befunde der Felduntersuchungen an dem zwangsbelüfteten Masthühnerstall (Stall B)	71

3.3.1	Bestimmung der Keimzahlen in der Stallabluft am Stall B	72
3.3.2	Vergleich der Anzahl von Schimmelpilzen und Hefen in Luv und Lee des Stalles B	73
3.3.3	Vergleich der Konzentrationen mesophiler Bakterien in Luv und Lee des Stalles B	74
3.3.4	Ausbreitung luftgetragener Staphylokokken am Stall B	76
3.3.5	Vergleich der gemessenen Staphylokokkenabnahme am Stall B mit einer Ausbreitungsrechnung	77
3.3.6	Direkter Vergleich von Messungen und Ausbreitungsrechnungen an einzelnen Messtagen am Stall B	79
3.3.7	Differenzierung zeitgleich in der Stallluft und in Lee am Stall B erfasster Staphylokokken	81
<b>4</b>	<b>Diskussion</b>	<b>83</b>
4.1	Einflüsse auf Luftkeimgehalt und Keimemissionen der untersuchten Stallanlagen	83
4.2	Die gemessene Keimausbreitung: Einflüsse auf Konzentrationen und potentielle Risiken für Mensch und Tier in der Stallumgebung	86
4.2.1	Schimmelpilze	87
4.2.2	Mesophile Bakterien	88
4.2.3	Staphylokokken	88
4.3	Kritische Betrachtung der benutzten Keimsammelmethode	91
4.4	Wirkung abiotischer Faktoren in der Außenluft auf die Vermehrungsfähigkeit von <i>Staphylococcus</i> spp. und andere Keime	92
4.5	Vergleich von Ausbreitungsmessungen mit Ausbreitungsrechnungen	97
4.6	Zur Frage des „sicheren“ Abstandes zwischen Ställen	98
4.7	Ausblick	100
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>102</b>
<b>6</b>	<b>Summary</b>	<b>104</b>
<b>7</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>106</b>
<b>8</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>121</b>
<b>9</b>	<b>Glossar</b>	<b>123</b>
<b>10</b>	<b>Anhang</b>	<b>128</b>

# 1 EINLEITUNG

## 1.1 Hintergrund

Die Außenluft in ländlichen Gebieten ist im Vergleich zu städtischen Ballungsräumen deutlich geringer mit Abgasen und Feinstäuben aus Kraftfahrzeugverkehr und Industrie belastet (KAPPOS et al., 2003; DIEGMANN et al., 2007). Sie gilt auch heute noch sprichwörtlich als „frisch“ und dient der Erholung. Allerdings kann auch die Landluft mit einer Vielzahl von Verunreinigungen belastet sein. So können Gerüche, die aus Ställen, Dunglagern und bei der Ausbringung von Fest- und Flüssigmist freigesetzt werden, Anwohner in der nächsten Umgebung belästigen (KTBL, 2006). Ebenso stellt die Überdüngung von terrestrischen und aquatischen Ökosystemen sowie das Auftreten von Waldschäden durch Ammoniakemissionen aus Tierhaltungsanlagen ein Problem dar (DÄMMGEN und ERISMANN, 2006; DORN et al., 2003). Darüber hinaus werden erhebliche Mengen an Staub und eine Vielzahl an Mikroorganismen aus den Tierställen über die Abluft abgegeben (TAKAI et al. 1998; Seedorf et al. 1998a; SEEDORF und HARTUNG, 2002). Diese partikulären Luftverunreinigungen haben vorwiegend lokale bis regionale Wirkungen (HARTUNG und WATHES, 2001), wobei besonders für Mikroorganismen noch weitgehend ungeklärt ist, wie weit sie sich über die Luft in der Umgebung verbreiten und welche gesundheitlichen Risiken für benachbarte Tierbestände oder auch für Anwohner von ihnen ausgehen können. So messen einige Autoren in der Fachliteratur der aerogenen Transmission von bakteriellen Erregern zwischen benachbarten Betrieben praktisch keine Bedeutung bei, während andere hierin ein deutlich erhöhtes Risiko der Infektionsübertragung sehen (BUTCHER und MILES, 2003; HEGE et al., 2002). Ebenso ist unklar, inwieweit Zoonosenerreger aus Tierställen über den Luftweg auf den Menschen in der Umgebung übertragen werden können (SEEDORF, 2006).

Die Unwissenheit über die Erregerausbreitung aus Tierställen einerseits sowie andererseits die Kenntnis darüber, dass Stallluftbestandteile zu Erkrankungen bei Landwirten führen (RADON et al., 2006) und aerogene Infektionen bei den Nutztieren auftreten (diverse Fachzeitschriften), trägt zu einer Verunsicherung der Nachbarn bei und führt zu einer steigenden Anzahl von Nachbarschaftsklagen. Dabei handelt es sich sowohl um Klagen von besorgten Anwohnern als auch von benachbarten Tierhaltern gegen den Neubau oder die Erweiterung eines Tierstalles. Während die einen in erster Linie eine Beeinträchtigung ihrer persönlichen Gesundheit und Lebensqualität sehen, fürchten die anderen den Eintrag von

Infektionserregern über die Luft und wirtschaftliche und unter Umständen auch seuchenrechtlichen Folgen bei zu geringem Abstand zwischen den Ställen der Betriebe. Diese Befürchtungen und Streitigkeiten haben u. a. eine wesentliche Ursache in dem starken Strukturwandel, dem die Landwirtschaft insgesamt und besonders die Tierhaltung seit dem Ende des zweiten Weltkrieges unterworfen wurde und noch ist (HARTUNG, 2006). So führte die Intensivierung der Nutztierhaltung zu einer Abnahme an landwirtschaftlichen Betrieben bei gleichzeitigem Anstieg des Viehbestandes in Deutschland. Vor allem nahm die Schweine- und Geflügelproduktion zu. Betrug der Schweinebestand in der BRD und DDR 1950 noch insgesamt 17 Mio. Tiere, so stieg dieser bis Jahre 2003 in Deutschland auf 26 Mio. Tiere an. Beim Geflügel, vornehmlich Masthühner, Legehennen und Truthühner, ist sogar ein noch höherer Zuwachs zu verzeichnen. Im gleichen Zeitraum stieg der Bestand von etwa 74 Mio. auf 123 Mio. Tiere an (KTBL, 2005). Dabei konzentriert sich die Haltung der Nutztiere sehr stark auf Regionen in Niedersachsen, Nordrhein-Westfalen, Bayern und Schleswig-Holstein (BMVEL, 2005). Niedersachsen weist beispielsweise den größten Mastschweine-, Zuchtsauen-, Legehennen-, Masthühner- und Mastputenbestand in Deutschland auf (DBV, 2007), wobei allein in den Landkreisen Vechta und Cloppenburg zur Jahrtausendwende knapp 1,1 Mio. Mastschweine und etwa 6,2 Mio. Legehennen standen. Betriebe mit mehr als 600 Schweinen und über 30 000 Hühnern von denen hohe Emissionen an Stäuben, Endotoxinen, Schimmelpilzen und Bakterien ausgehen, sind inzwischen übliche Bestandsgrößen (Nds. MELF, 2002; SEEDORF, 2004).

Während die Abstände der Tierställe zur Wohnbebauung anhand der Geruchsbeurteilung geregelt werden (HARTMANN, 2006) und auch der Mindestabstand zu Wäldern über die zu erwartenden Ammoniakmissionen festgelegt wird (TA Luft 2002), existieren für die Mindestentfernung zwischen Betrieben keine rechtlichen Vorgaben. Obwohl Seuchen wie die Schweinepest in viehdichten Gebieten mit Großbestandshaltung bereits zu verheerenden Epidemien führten, wird von einer Entzerrung der Tierhaltung in Deutschland noch abgesehen (WINDHORST, 1999; BMVEL, 2005). Es steht zu befürchten, dass insbesondere bei geringen Entfernungen zwischen benachbarten Betrieben Infektionen auch aerogen übertragen werden können. Allerdings ist weitgehend unklar, in welchen Konzentrationen und wie lange Keime aus Ställen im vermehrungs- und gegebenenfalls infektiöses Stadium in der Außenluft auftreten. Vor diesem Hintergrund sind Untersuchungen zur Charakterisierung der Ausbreitung und zur Bestimmung der Verfrachtungsentfernung von Mikroorganismen aus Nutztierställen sowohl von wissenschaftlicher und epidemiologischer als auch von öffentlicher Seite her von besonderem Interesse. Diese Arbeit soll einen Beitrag

zur Charakterisierung der Ausbreitung und zur Bestimmung der Verfrachtungsentfernung von Mikroorganismen aus Nutztierställen am Beispiel von zwei typischen Masthühnerställen leisten.

## **1.2 Zusammensetzung und Wirkung in der Stallluft vorkommender Bioaerosole**

Bei den Luftverunreinigungen in Nutztierställen handelt es sich um ein heterogenes Gemisch unterschiedlicher Stoffe, zu denen Gase wie Ammoniak, überwiegend aus organischen Komponenten bestehende Grob- und Feinstäube, Allergene, eine Vielzahl von Mikroorganismen (vor allem Bakterien und Pilze), Viren und Substanzen wie Endotoxine und Mykotoxine zählen, von denen teilweise einzeln, aber auch in ihrer Gesamtheit biologische Wirkungen ausgehen können (SEEDORF und HARTUNG, 2000). Partikel in der Stallluft bestehen häufig aus einer komplexen Zusammensetzung dieser Bestandteile (CARPENTER, 1986) und werden aufgrund ihres biologischen Ursprungs oder ihrer biologischen Aktivität, die u. a. die Infektiosität, Toxizität, Allergisierung oder pharmakologische Wirkung einschließt, zusammenfassend auch als Bioaerosole bezeichnet (HIRST, 1995). Der weitaus größte Anteil dieser Bioaerosole (bis zu 99%) in Nutztierställen besitzt Partikeldurchmesser von weniger als 10 µm und gelangt über die Atmung in die oberen, teilweise aber auch in die mittleren und terminalen Atemwege von Mensch und Tier (SCHNEIDER, 2005; SEEDORF und HARTUNG, 2002). Die Wechselwirkungen zwischen diesen Partikeln und Atemtrakt sind umfassend in einer KTBL-Schrift von SEEDORF und HARTUNG (2002) zusammengestellt worden. Hierin werden die wesentlichen gesundheitlich nachteiligen Effekte für Mensch und Tier genannt, die durch das Einatmen von Stallluftbestandteilen bzw. von Bioaerosolen hervorgerufen werden können. Zu diesen gehören:

- Die Überlastung der mechanischen und zellulären Abwehrmechanismen der Atemwege mit Staub- bzw. Bioaerosolpartikeln
- Irritationen des Atemtraktes durch Stäube und Gase
- Epithelschäden im Atemtrakt, z. B. durch die Aktivität mikrobieller Proteinase oder hohe Ammoniakkonzentrationen
- Entzündungsreaktionen, z. B. ausgelöst durch Mikroorganismen bzw. durch deren pro-inflammatorische Bestandteile wie Endotoxine und beta(1,3)-Glucane



- Allergische Reaktionen oder Sensibilisierung (vorwiegend beim Menschen), hervorgerufen durch tierische Epithelien, Milben- und Insektenbestandteile sowie Allergenen von Schimmelpilzen und Actinomyceten
- Toxische Wirkungen durch beispielsweise Mykotoxine
- Infektionen durch Bakterien, Pilze oder Viren

Es kann davon ausgegangen werden, dass Synergien der aufgeführten Effekte Atemwegserkrankungen bei Mensch und Tier im Stall begünstigen (COLE et al., 2000; BAEBKO, 1990 MURPHY und CARGILL, 2004). Dies gilt wahrscheinlich auch für Infektionen mit spezifischen Erregern (HAMILTON et al., 1999), von denen nach WATHES (1995) eine Vielzahl obligat und fakultativ pathogener Bakterien, Pilze und Viren häufig in der Luft von Schweine- und Geflügelställen nachgewiesen werden können. Die Tabelle 1.1 gibt die entsprechende, nicht systematisch geordnete Aufstellung von WATHES (1995) wieder, ergänzt um die Kennzeichnung, welche der gelisteten Keime zu den Zoonoserregern (Z) zählen. Unter Zoonosen werden nach der Definition der WHO Erkrankungen und Infektionen verstanden, die unter natürlichen Bedingungen zwischen Wirbeltieren und dem Menschen übertragen werden (WIESNER und RIBBECK, 2000). Bei den nicht gekennzeichneten Erregern handelt es sich um tierpathogene Keime, zu denen beispielsweise die meisten der aufgeführten Viren oder Bakterien aus den Gattungen *Haemophilus* und *Mycoplasma* gehören sowie um tier- und humanpathogene Erreger bei denen die Übertragung von Tier zu Mensch oder Mensch zu Tier keine oder nur eine unbedeutende Rolle spielt (beispielsweise die aufgeführten Aspergillen).

**Tabelle 1.1: Aerogen übertragbare Infektionserreger in Schweine- und Geflügelställen. Zoonoserreger sind mit (Z) markiert (nach WATHES (1995), modifiziert).**

<b>Bakterien</b>		
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	<i>Haemophilus parasuis</i>	<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i>
<i>Brucella suis</i> (Z)	<i>Haemophilus pleuropneumoniae</i>	<i>Pasteurella multocida</i> (Z)
<i>Chlamydia psittaci</i> (Z)	<i>Listeria monocytogenes</i> (Z)	<i>Pasteurella pseudotuberculosis</i>
<i>Corynebacterium equi</i>	<i>Leptospira pomona</i> (Z)	<i>Salmonella pullorum</i> (Z)
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i> (Z)	<i>Mycobacterium avium</i> (Z)	<i>Salmonella typhimurium</i> (Z)
<i>Escherichia coli</i> (VTEC) (Z)	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> (Z)	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Haemophilus gallinarum</i>	<i>Mycoplasma gallisepticum</i>	<i>Streptococcus suis</i> (Z)
<b>Pilze</b>		
<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Aspergillus nidulans</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i> (Z)
<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Coccidioides immitis</i>	<i>Histoplasma farciminosum</i> (Z)
<i>Aspergillus niger</i>		

Viren		
African Swine Fever-like Virus (ASFV)	Avian infectious bronchitis virus (AIBV)	Newcastle Disease Virus ( <b>Z</b> )
	Infektiöses Laryngotracheitis Virus	Porcines respirat. Coronavirus
Aviäres Leukose Virus (ALV)	Herpesvirus 2 des Huhns	Schweineinfluenza Virus
Aviäres Influenza A-Virus ( <b>Z</b> )	Maul- und Klauenseuche (MKS) Virus ( <b>Z</b> )	Teschen/Talfan disease Virus
Avian infectious bronchitis virus (AIBV)	Suines Herpes Virus ( <b>Z</b> )	Hog cholera Virus (HCV)
	Suines Herpes-Virus 2	

In der Tabelle finden sich die Erreger der anzeigepflichtigen Tierseuchen des Geflügels und der Schweine wieder, zu denen die aviäre Influenza, die Newcastle Disease, die klassische Schweinepest (HCV) und die Maul- und Klauenseuche gehören sowie viele der bedeutendsten Viren, Bakterien und Pilze, die Pneumonien beim Schwein oder Atemwegserkrankungen beim Geflügel verursachen (HEINRITZI et al., 2006; SIEGMANN und NEUMANN, 2005). Dennoch könnte die Liste noch um wichtige Erreger erweitert werden. So ist zum Beispiel das **Porcine Reproductive And Respiratory Syndrome Virus (PRRSV)** zu nennen, das zu großen Ferkelverlusten in der Schweineproduktion führt (CHO et al., 2006). Im Geflügelbereich ist das Anfang der 90er Jahre entdeckte *Ornithobacterium rhinotracheale* ein bedeutsamer Krankheitskeim bei Hühnern und Puten (HAFEZ, 2002). Ebenfalls beim Nutzgeflügel treten mit *Campylobacter* spp. Bakterien auf, die inzwischen die am häufigsten gemeldete Zoonoseerkrankung (Campylobacteriose) in der EU verursachen (EFSA, 2007). Aufgrund der geringen infektiösen Dosis wird sogar davon ausgegangen, dass diese Bakterien, die üblicherweise über kontaminierte Lebensmittel übertragen werden, Menschen auch auf aerogenem Wege infizieren können (WILSON, 2004).

Hohe Besatzdichten begünstigen die Übertragung von aerogenen Erregern im Stall (MAES et al., 2000) und führen vermutlich auch zu höheren Erregerprävalenzen in der Stallluft. Über die Abluft können die Erreger in die Außenluft gelangen und stellen somit eine potentielle Gefahr für Tiere und Menschen in der Nachbarschaft dar. Allerdings werden die Konzentrationen von Bioaerosolen an der Außenluft erheblich verdünnt und die Partikel unterliegen dort veränderten physikalischen und chemischen Einflüssen. So ändern sich die Gaszusammensetzung, die Temperatur und die Luftfeuchte nach dem Austreten aus dem Stall meist schlagartig (KTBL, 2006) und bei Tage werden die Partikel in Abhängigkeit vom Sonnenstand und Bewölkungsgrad von der biologisch aktiven Sonnenstrahlung getroffen (HÖLZLE und HÖNIGSMANN, 2005). Infolge der Konzentrationsabnahme und der Einflüsse durch abiotische Faktoren wird das Potential der biologischen Wirkung von

Bioaerosolen auf Mensch und Tier beeinflusst und es ist fraglich, in welchen Abständen zum Stall noch eine gesundheitliche Beeinträchtigung erfolgen kann.

### 1.3 Ausbreitung luftgetragener Keime aus Tierställen

Die Konzentrationen von Stallluftpartikeln werden an der Außenluft durch die meteorologischen Bedingungen, die orographischen Gegebenheiten und durch die Partikeleigenschaften selbst bestimmt. Größere Partikel setzen sich relativ rasch in Stallnähe ab, während kleinere Partikel weiter mit der Luft davongetragen werden. Die Partikelgrößenfraktion, in der sich die überwiegende Zahl vermehrungsfähiger Mikroorganismen und Viren aus der Stallluft wieder findet, besitzen aerodynamische Durchmesser von etwa 3  $\mu\text{m}$  bis 15  $\mu\text{m}$  (CARPENTER, 1986).

Der aerodynamische Durchmesser eines Partikels in der Luft ist der Durchmesser eines sphärischen Partikels mit der Dichte 1,0  $\text{g/cm}^3$ , welches die äquivalente Sinkgeschwindigkeit zu einem Partikel beliebiger Form und Dichte besitzt (HINDS, 1982). Somit erhält man durch die Bestimmung der Sinkgeschwindigkeit eine berechenbare Bezugsgröße für Partikel, ohne deren genaue Form und Dichte zu kennen.

Der höchste Anteil luftgetragener kultivierbarer Mikroorganismen in Schweine- und Geflügelställen wurde mittels Kaskadenimpaktoren nach ANDERSEN (1958) in Partikelfractionen  $< 7 \mu\text{m}$  gefunden (CHINIVASAGAM und BLACKALL, 2005; YODER und VAN WICKLEN, 1988). Stallluftpartikel dieser Größenordnung sinken weniger als 2 mm pro Sekunde (SCHMITT-PAUKSZTAT et al., 2005), daher kann davon ausgegangen werden, dass die mehrheitliche Anzahl der Mikroorganismen an der Außenluft über weite Entfernungen getragen wird, wenn sie nicht durch Hindernisse wie Bäume oder Gebäude, Turbulenzen, Regen oder Agglomeration aus der Luft entfernt werden.

Die Konzentrationsabnahme mit zunehmender Entfernung zum Stall wird dann im Wesentlichen durch die vorherrschende Windgeschwindigkeit, Windrichtung und atmosphärische Schichtung bestimmt. Unter Letzterer versteht man die vertikale Temperaturschichtung der Atmosphäre. Diese ist stabil, wenn eine Warmluftschicht über einer bodennahen kälteren Luftschicht liegt (z. B. Inversionswetterlage). Der vertikale Luftaustausch wird dadurch vermindert, wodurch höher konzentrierte Abluftfahnen entstehen. Bei labilen Schichtungen dagegen steigt die wärmere bodennahe Luftschicht auf und vermischt sich mit den darüber liegenden kälteren Luftschichten. Dies führt zu einem erhöhten vertikalen Luftaustausch und somit zu einer stärkeren Verdünnung von Abluftfahnen (GROSS, 1998).

Neben den Windeinflüssen sind bei der Ausbreitung von lebenden Mikroorganismen und Bioaerosolen mit einer Aktivität (z. B. Viren, Toxine) die auf sie wirkenden Umweltfaktoren wie Temperatur, Luftfeuchte, UV-Strahlung, Ozon, Schwefel- und Stickoxide sowie der „open air factor“ (OAF) von Bedeutung.

Die Bezeichnung „open air factor“ (OAF) beruht darauf, dass die Natur dieses keimabtötenden Effekts bei seiner Entdeckung Ende der 60er Jahre des zwanzigsten Jahrhunderts noch unbekannt war (COX, 1995). Ein paar Jahre später stellten COX et al. 1973 fest, dass es sich bei dem Phänomen um einen Prozess in der Luft handelt, bei dem Ozon mit Olefinen (Alkenen) interagiert und dabei bakterizide Verbindungen bildet. Die Toxizität dieser Verbindungen gegenüber luftgetragenen Bakterien beruht vermutlich auf Reaktionen, die durch Metallionen katalysiert werden, und bei denen freie Radikale entstehen, die Zellstrukturen angreifen (COX, 1995).

Diese Faktoren können einzeln oder synergetisch mit Zell- bzw. Molekülstrukturen interagieren und die Überlebensfähigkeit von Mikroorganismen an der Luft einschränken bzw. die biologische Wirkung von Bioaerosolen verändern (BURGE, 1995; COX, 1995). Die Kenntnisse über Effekte solcher Faktoren auf luftgetragene Mikroorganismen wurden überwiegend in Laborversuchen gewonnen. Über ihre Wirkungen an der Außenluft, besonders unter dem Einfluss des Sonnenlichtes, ist kaum etwas bekannt. In den meisten der bisherigen Untersuchungen zur Ausbreitung von Luftkeimen aus Tierställen (vgl. Tab. 1.2) wurden mögliche Einwirkungen von Umweltfaktoren auf die Tenazität vernachlässigt.

Unter Tenazität wird in der medizinischen Mikrobiologie die allgemeine Widerstandsfähigkeit von Mikroorganismen gegenüber chemischen und physikalischen Umweltfaktoren verstanden, die z. B. die Überlebenschance von Erregern in der Außenwelt erhöht und ihre Verbreitung begünstigt (WIESNER und RIBBECK, 2000; ROLLE und MAYR, 2001).

Lediglich in ersten Modellrechnungen über die Ausbreitung von Luftkeimen aus Tierställen wurden Lebenserwartungen luftgetragener Bakterien (ohne UV-Einfluss) berücksichtigt (MÜLLER et al. 1978). Die Autoren benutzten zur Berechnung der Keimausbreitung ein Diffusionsmodell (Gaußsches Ausbreitungsmodell), welches üblicherweise für Immissionsprognosen gasförmiger Stoffe und Stäube verwendet wird. MÜLLER und WIESER (1987) validierten später dieses Modell, indem sie gemessene Bakterienkonzentrationen auf der Leeseite (Wind abgewandte Seite) eines Legehennenstalles mit den Modellwerten verglichen. Die Messwerte zeigten in 200 m Abstand zum Stall im Vergleich zu üblichen Hintergrundwerten ( $150 \text{ KBE/m}^3$ ) für ländliche Gebiete (WÜST et al., 1999) noch leicht höhere Werte, wobei jedoch unklar blieb, ob es sich bei den leeseitig gemessenen Bakterien tatsächlich um stallspezifische Organismen handelte. Die Modellrechnungen ergaben eine von den Windgeschwindigkeiten beeinflusste exponentielle Abnahme der Bakterien mit der Entfernung zum Stall. Zwischen 250 m und 300 m erreichten

die Modellprognosen das Niveau der üblichen Hintergrundwerte in ländlichen Gebieten. Die Autoren schlossen aus ihren Ergebnissen, dass benachbarte Tierstallungen 200 bis 300 m von Legehennenställen entfernt liegen sollten, um das Risiko einer Erregerübertragung zu vermindern. Allerdings lag die im Modell eingesetzte Emissionsrate der Bakterien mit  $1 \times 10^6$  KBE/s deutlich unter den Raten heute typischer Stallgrößen. So emittiert ein durchschnittlich großer Masthühnerstall, der mit 30 000 ca. ein Kilogramm schweren Tieren besetzt ist, mehr als das Zehnfache an lebensfähigen Bakterien, wenn mittlere Lüftungsraten vorausgesetzt werden (HARTUNG, 1992). Daher lieferte das Modell zwar erste Einschätzungen zur Ausbreitung von Keimen aus Nutztierställen, die aber nicht unmittelbar auf heute übliche Stallgrößen bezogen werden können. Weitere, auf Messungen beruhende, Ausbreitungsuntersuchungen die in der Umgebung von Nutztierställen durchgeführt wurden, werden in der Tabelle 1.2 zusammengefasst.

**Tab. 1.2: In Lee gemessene Verfrachtungsentfernungen von kultivierten Bakterien/Viren aus Geflügelställen und Schweinemastbetrieben**

Nutztier	Entferntester Messpunkt zur Emissionsquelle in m	Nachgewiesene Bakterien/Viren	Autoren
Legehenne	100	Streptokokken Staphylokokken	SARIKAS (1976)
Legehenne	250	Mikrokokken	PLATZ (1979)
Mastschwein	100	Streptokokken Staphylokokken	PLATZ et al. (1995)
Mastente	25	Actinomyceten	SEEDORF et al. (1998b)
Mastschwein	200	Streptokokken Enterokokken	HOMES et al. (2000)
Mastschwein	25	Salmonellen Coliforme Staphylokokken	SHAWN et al. (2004)
Mastschwein	200	Mesophile Bakterien Staphylokokken	KÖLLNER und HELLER (2005)
Masthuhn	30	<i>Campylobacter</i> spp.	BULL et al. (2006)
Legehenne	64	Newcastle Disease Virus	HUGHE-JONES et al. (1973)

Aus den aufgelisteten Untersuchungen geht hervor, dass Bakterien und Viren, die mit großer Wahrscheinlichkeit aus dem Stall stammten, in Entfernungen bis zu 250 m zur Emissionsquelle noch nachgewiesen werden konnten. Dabei handelte es sich auch um fakultativ pathogene Erreger aus den Gattungen *Streptococcus* und *Staphylococcus*, um Zoonosenerreger aus den Gattungen *Salmonella* spp. und *Campylobacter* spp. sowie um einen Tierseuchenerreger aus der Familie der Paramyxoviren. Zur Erfassung der Erreger an der Außenluft kamen unterschiedliche Messverfahren zum Einsatz. Diese Verfahren beruhten auf den Sammelprinzipien der Filtration, der Impaktion und des Impingement, die zusammengefasst mit ihren Vor- und Nachteilen bei JENSEN und SCHAFER (1998) ausführlich beschrieben sind. Bei der Filtration werden luftgetragene Keime aus einem

angesaugten Luftstrom auf einem Filtermedium abgeschieden. Ein wesentlicher Nachteil dieser Methode besteht allerdings darin, dass empfindliche Keime durch den Sammelluftstrom ausgetrocknet werden und somit nach der Aufarbeitung der Filter nicht mehr kultivierbar sind. Dieses Problem besteht bei der Impaktion weniger. Hier werden Mikroorganismen direkt auf Agarmedien abgeschieden (impaktiert), die der Austrocknung durch den Luftstrom entgegenwirken. Der wesentliche Nachteil der Impaktion besteht in der schnellen Überfrachtung der Medien bei hohen Luftkeimkonzentrationen sowie darin, dass aus abgeschiedenen Bakterienaggregaten unter Umständen nur eine Kolonie oder eine Mischkolonie hervorgeht, wodurch die tatsächliche Luftkeimzahl unterschätzt wird. Das Problem der Austrocknung und der Unterschätzung der Luftkeimzahl besteht beim Einsatz des Impingement nicht bzw. weniger. Mit diesem Verfahren werden Luftkeime in einer Flüssigkeit (i. d. R. Puffer oder Kochsalzlösungen) gesammelt, aus der sie direkt ausplattiert werden können. Durch das Anlegen von Verdünnungsreihen können auch sehr hohe Luftkeimzahlen ( $> 10^6$  KBE/m<sup>3</sup>) bestimmt werden. Im Vergleich zur Filtration und Impaktion stellt das Impingement das effizienteste Luftkeimsammelverfahren dar (PAHL et al. 1997; THORNE et al., 1992). Ein Nachteil des Standardimpingement besteht in der Evaporation der Sammelflüssigkeit beim Luftdurchfluss, weshalb für quantitative Erhebungen die Sammelzeit auf maximal 15 - 30 Minuten begrenzt ist (LIN et al., 1999). Möglicherweise daher und aufgrund des höheren technischen Aufwandes, der zum Betrieb der Impinger bei Feldmessungen eingesetzt werden muss, wurde dieses Verfahren bislang nur bei den stallnahen Untersuchungen von SEEDORF et al. (1998) eingesetzt.

Die Sensitivität der gewählten Sammelmethode und die Tatsache, dass bei einigen in Tabelle 1.2 aufgeführten Untersuchungen nicht in größeren als den angegebenen Entfernungen gemessen wurde, sind wahrscheinlich der Grund dafür, dass ein Nachweis von Stallkeimen in größeren Abständen bislang ausblieb. Für die zu den Picornaviren gehörenden Erreger der Maul- und Klauenseuche geht man heute davon aus, dass unter günstigen meteorologischen Bedingungen eine Erregerübertragung bis zu 60 km möglich ist. Die Übertragung der Krankheit wird durch die geringe infektiöse Dosis und die hohe Viruspartikelzahl in einzelnen Aerosolen dabei begünstigt (GLOSTER et al., 2005). Theoretisch können auch Bakterien aus Tierställen über diese Entfernungen mit dem Wind getragen werden, jedoch dürfte dies aus epidemiologischer Sicht aufgrund der äußerst gering zu erwartenden Konzentrationen keine Rolle spielen. Von besonderem Interesse ist daher zur Abschätzung von Infektionsrisiken die zahlenmäßige Erfassung von Keimen aus der Stallluft in der näheren Umgebung von Nutztierställen.

## 1.4 Emissionen aus Masthühnerställen

Die partikulären Emissionen aus Masthühnerställen und deren biologische Wirkung auf Anwohner und andere Tierbestände im Immissionsbereich sind in der Vergangenheit stärker in den Blickpunkt der Öffentlichkeit geraten und nicht zuletzt auch von hohem wissenschaftlichem Interesse. Dazu beigetragen hat die enorme Intensivierung der Tierhaltung in diesem Bereich in den letzten Jahren. Betrug die Anzahl der Tierplätze in deutschen Masthühnerbeständen 1990 noch 35,4 Mio., so stieg sie bis zum Jahre 2003 auf 54,6 Mio. Plätze an, wobei mehr als die Hälfte der Tiere in Niedersachsen gehalten werden (KTBL, 2005; STATISTISCHES BUNDESAMT, 2005). Gegenläufig zu dieser Entwicklung hat sich die Zahl der Masthühnerhalter drastisch reduziert, was bedeutet, dass die Bestände pro Betrieb zunehmend größer wurden (LANDESSTELLE FÜR LANDWIRTSCHAFT UND MARKTKUNDE, 2001). Auch die Stallanlagen wurden größer, denn mit der Änderung des Bundesimmissionsschutzgesetzes im Jahre 1997 wurde die Anzahl der Mastgeflügelplätze für nicht genehmigungsbedürftige Anlagen nach dem BImSchG von 14 000 auf 40 000 Plätze angehoben (MÖHLE, 1998). Durch die steigenden Tierplatzzahlen in den Ställen und den damit verbundenen höheren Luftaustauschraten haben auch die Quellstärken der Ställe zugenommen, unter denen die Masse oder die Anzahl eines aus einer Emissionsquelle emittierenden Stoffes bzw. Partikels pro Zeiteinheit verstanden wird. Wird die Quellstärke auf das Tiergewicht bezogen, lassen sich tierartspezifische Emissionsfaktoren errechnen. SEEDORF (2004) errechnete z. B. für die Masthühnerhaltung in Niedersachsen durchschnittliche Emissionsfaktoren pro Großvieheinheit (eine Großvieheinheit entspricht 500 kg Lebendtiermasse) von 2,99 g/h für einatembaren Staub (Mensch), 88,88 µg/h für Endotoxine,  $3,44 \times 10^9$  KBE/h für mesophile Bakterien,  $1,414 \times 10^6$  KBE/h für Enterobakterien und  $3,63 \times 10^7$  KBE/h für mesophile Schimmelpilze. Diese Werte liegen bis auf die Anzahl der Enterobakterien vergleichsweise über den Faktoren, die für die Rinder- und Schweinehaltung in Niedersachsen bestimmt wurden. In Landkreisen, die eine relativ hohe Dichte an gehaltenen Hühnern aufweisen, wie z. B. im Nordwesten Niedersachsens, muss daher auch mit den stärksten Emissionen an einatembaren Stäuben bzw. Bioaerosolen aus der Tierhaltung gerechnet werden (SEEDORF, 2004). Die höchsten Einträge von Bioaerosolen in die Außenluft sind in der wärmeren Jahreszeit zu erwarten, da in dieser Zeit die Wärmeabfuhr aus den Ställen den höchsten Lüftungsbedarf erfordert, während in den Wintermonaten deutlich weniger gelüftet wird, um die Wärme für ein ideales Wachstum der Tiere zu halten (TAKAI et al., 1998; SEEDORF et al. 1998c). Dies bedeutet auch, dass Messungen in der Außenluft zur Erfassung stallspezifischer Komponenten in größeren

Entfernungen in den Sommermonaten den größten Erfolg versprechen. In dieser Zeit kann ein Masthühnerstall, der mit etwa 30.000 Tieren besetzt ist, durchaus  $1 \times 10^7$  KBE mesophiler Bakterien pro Sekunde emittieren. Bei dem überwiegenden Teil dieser Bakterien handelt es sich nach bisherigen Erkenntnissen um Gram-positive Kokken wie Staphylo- und Streptokokken (HINZ et al., 1993; MADELIN und WATHES, 1989; HARTUNG, 1992). Daneben wurden aus der Gruppe der Bakterien *E. coli* und andere Enterobakterien, Aktinomyceten, *Pseudomonas* spp., und *Bacillus* spp. regelmäßig in der Stallluft nachgewiesen (SALEH, 2006; MADELIN und WATHES, 1989; HARTMANN, 1980). Von den Schimmelpilzen und Hefen scheinen *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Scopulariopsis* spp., *Cladosporium* spp. und *Candida* spp. übliche Vertreter der luftgetragenen Mikroflora zu sein (MÜLLER et al., 2004; MADELIN und WATHES, 1989). Wie unter 1.2 bereits aufgeführt, muss im Luftkeimspektrum von Masthühnerställen auch mit pathogenen Erregern gerechnet werden.

Inwieweit sich vermehrungsfähige Keime in der Umgebung von Masthühnerställen quantitativ ausbreiten, ist nicht bekannt. Klar ist, dass Keimemissionen in der Abluftfahne der Ställe zu einer Anreicherung von Mikroorganismen wie Bakterien und Schimmelpilzen in der Außenluft führen. Neben der Anreicherung mit Mikroorganismen dürfte sich auch das Keimspektrum in der Außenluft auf der Leeseite der Ställe verändern.

## 1.5 Das Keimspektrum unbelasteter Außenluft

Zur Beurteilung der qualitativen und quantitativen Änderung des Luftkeimspektrums durch Emissionen aus der Tierhaltung ist es angebracht, das Keimspektrum der unbelasteten Außenluft zu betrachten. Mikroorganismen können sich aerogen verbreiten und sind ein natürlicher Bestandteil der Außenluft. Ihr Spektrum in der Außenluft des Festlandes in Deutschland oder einer für Deutschland typischen Klimazone setzt sich überwiegend aus Sporen der Ascomycota, Basidiomycota, und Zygomycota sowie aus Gram-positiven Bakterien zusammen (GABRIO et al., 2005; HARRISON et al., 2005; MOULI et al., 2005; DOTT et al., 2004). Bei den Pilzsporen handelt es sich vornehmlich um Konidien der im allgemeinen Sprachgebrauch auch als Schimmelpilze bezeichneten Organismen, die auch heute noch häufiger dem obsoleten Taxon der *Fungi imperfecti* zugeordnet werden. Regelmäßig werden auch Hefezellen in der Luft angetroffen und temporär kann es zu höheren Konzentrationen von Sporen der *Basidiomycetes* kommen (SHELTON et al., 2002; PELIZARRI, 1996; DOTT et al., 2004). Bei den durch kulturelle Verfahren nachgewiesenen



Prokaryonten, treten Gram-positive Bakterien gegenüber den Gram-negativen Bakterien üblicherweise in höheren Konzentrationen in der Außenluft auf (MOULI et al., 2005; SHAFFER und LIGHTHART, 2004; HARRISON et al., 2005). Dies ist wahrscheinlich auf die Verbreitung von Sporen und vegetativen Zellen zurückzuführen, die stressresistenter gegenüber Umwelteinflüssen in der Luft sind, als Gram-negative Zellen. Beispielhaft können hier Bakterien aus den Gattungen *Bacillus*, *Micrococcus* und *Kocuria* genannt werden, wobei nach derzeitigem Kenntnisstand der überwiegende Teil der nicht Sporenbildner Pigmente bildet (KRUCZALAK et al., 2002; SHAFFER und LIGHTHART, 2004; GRIFFIN et al., 2007; MANCINELLI und SHULLS, 1978). Pigmente können vor der schädigenden Wirkung von UV-Strahlen des Sonnenlichtes schützen und als „scavenger“ für reaktive Sauerstoffverbindungen fungieren (SUNDIN und JACOBS, 1999; LIU et al., 2005). Das ubiquitäre und häufige Vorkommen der Gattung *Bacillus* in der Außenluft liegt in der Bildung stressresistenter Endosporen begründet, die praktisch in allen Umweltmedien zu finden sind und nach der Suspension in der Luft über weite Strecken mit dem Wind davongetragen werden können. Die Sporenhülle und die Synthese von „Small acid soluble proteins“ (SASP), die während der Sporulation synthetisiert werden, schützen dabei vor Schäden durch Oxidation und UV-Strahlung. Zudem besitzen *Bacillus* spp. sehr effektive Reparatursysteme, die mit dem Beginn der Sporenceimung aktiviert werden (RIESEMANN und NICHOLSON, 2000; NICHOLSON et al., 2000).

Das dargestellte Bild vom allgemeinen Keimspektrum der Außenluft wird natürlich auch von lokalen Einflüssen geprägt. So kann es in bestimmten Situationen zu verhältnismäßig hohen Werten von Gram-negativen Bakterien wie z. B. *Pseudomonas* spp. kommen, die von Boden- oder Pflanzenoberflächen aufgewirbelt werden (ZUCKER und MÜLLER 2004; HARRISON et al., 2005). Des Weiteren konnten bislang in geringen Konzentrationen auch Algen wie *Chlorella* und *Chlorococcum* in der Außenluft nachgewiesen werden, die z. B. aus Oberflächengewässern oder oberen Bodenschichten freigesetzt werden (LACEY und VENETTE, 1995). Über das Vorkommen von Prokaryonten aus der Gruppe der Archae liegen soweit bekannt keine Untersuchungen vor.

Die Konzentrationen der Pilzsporen, der Hefen und der Bakterien in der Außenluft zeigen, vor allem durch den Einfluss der Temperatur, deutliche saisonale Unterschiede. So ist mit den höchsten Konzentrationen in den Sommermonaten zu rechnen und die geringsten Konzentrationen treten im Winter auf. Als Grund dafür können die höheren Wachstumsraten mesophiler Mikroorganismen bei den höheren Temperaturen im Sommer gesehen werden, deren Sporen dann besonders häufig in der Außenluft zu finden sind. Dies trifft vor allem für

Pilze aus der Gattung *Cladosporium* und Bakterien aus der Gattung *Bacillus* zu, die von Boden- oder Pflanzenoberflächen aus in die Luft gelangen (REISS, 1986; UMEG, 2003; GABRIO et al., 2005; SHELTON et al., 2002; HARRISON et al., 2005). Zusätzlich zu den saisonalen Effekten werden auch diurnale Konzentrationsschwankungen beobachtet. Dabei werden höhere Werte von Bakterien und Schimmelpilzen im Verlauf des Nachmittages erreicht, während nachts ein deutlicher Rückgang der Konzentrationen zu verzeichnen ist. Diese Beobachtungen werden ebenfalls auf den Zusammenhang zwischen Außentemperaturen und Wachstumsraten der Mikroorganismen zurückgeführt. Außerdem begünstigen die i. d. R. tagsüber geringeren Luftfeuchten und stärkeren Luftströmungen die Freisetzung von Sporen und Zellen in die Luft (HARRISON et al., 2005; LIGHTHART und SHAFFER, 1995; LACEY und VENETTE, 1995; REISS, 1986).

Die über kulturelle Verfahren ermittelten mesophilen Gesamtbakterienzahlen in der Außenluft, erreichen nach bisherigen Untersuchungen in ländlichen, in suburbanen und in urbanen Gebieten maximale Werte von  $> 10^3$  koloniebildenden Einheiten (KBE) pro  $m^3$ , wobei die mittleren Konzentrationen deutlich unter  $10^3$  oder sogar unter  $10^2$  KBE/ $m^3$  liegen (MOULI et al., 2005; ZUCKER und MÜLLER, 2004; DOTT et al., 2004; LIGHTHART und SHAFFER, 1995; WÜST et al., 1999; PLATZ et al., 1995; JONES und COOKSON, 1983; BOVALLIUS et al., 1978). Höhere Gesamtzahlen werden dagegen für Schimmelpilze gefunden, die im Sommer in der Außenluft Maximalwerte von mehr als  $10^4$  KBE/ $m^3$  und mittlere Konzentrationen von über  $10^3$  KBE/ $m^3$  erreichen. Diese Konzentrationen können standortbedingt oder durch den saisonalen Einfluss jedoch auch deutlich geringer ausfallen (GABRIO et al., 2005; UMEG, 2003; LUGAUSKAS et al., 2003).

In Anbetracht der hohen Bakterienkonzentrationen in der Stallluft von Masthühnerställen (z. B.  $1 \times 10^7$  KBE/ $m^3$  mesophile Bakterien) werden in unmittelbarer Umgebung der Emissionsquelle die Keimzahlen in der Außenluft ansteigen. Wie bereits erwähnt ist auch eine qualitative Veränderung des Luftkeimspektrums in der Außenluft zu erwarten, wobei davon ausgegangen werden kann, dass die Aufschlüsselung des Spektrums einer weit reichenden und aufwendigen Differenzierung bedarf. Die Zuordnung zur Quelle Stall dürfte vor allem dadurch erschwert werden, dass einige Gattungen von Bakterien und Schimmelpilzen sowohl in der Außenluft als auch in der Stallluft (vgl. 1.4) vorkommen. Daher wird für die anstehenden Untersuchungen zur luftgetragenen Ausbreitung von Mikroorganismen aus Masthühnerställen vorgeschlagen potentielle Stallindikatorkeime zu erfassen, wodurch auf der einen Seite der analytische Aufwand in Grenzen gehalten werden

kann und auf der anderen Seite möglicherweise eine höhere Sicherheit bei der quantitativen Betrachtung der Keimausbreitung erreicht werden kann.

## 1.6 Indikatorbioaerosole für Ausbreitungsuntersuchungen

Grundsätzlich kommen als Indikatorbioaerosole aus Tierställen sowohl unbelebte Partikel (z. B. Staubkomponenten, Endotoxine) als auch belebte (z. B. Pilze, Bakterien) in Frage. Die unbelebten Stallluftbestandteile sind für die vorliegenden Fragestellungen weniger geeignet, da sie nur wenig Hinweise auf mögliche Infektionsübertragungen liefern. Aussichtsreicher erscheint daher die Suche nach stallspezifischen Bakterienspezies.

So ist beispielsweise bekannt, dass Staphylokokken regelmäßig und im Vergleich zu anderen erfassten Mikroorganismen in relativ hohen Konzentrationen in der Luft von Tierställen vorkommen (HARTUNG, 1992). Staphylokokken wurden bereits früher auf der Leeseite von Ställen nachgewiesen (vgl. Tab. 1.2), während sie an Kontrollmessorten nicht auftraten. Für diese Organismen wurde eine relativ kleine Absterbekonstante von  $k = -0,00003 \times s^{-1}$  im luftgetragenen Zustand ermittelt (MÜLLER und WIESER, 1987), wobei allerdings die natürliche UV-Strahlung unberücksichtigt blieb. Staphylokokken scheinen demnach insgesamt als Indikatoren für die Ausbreitung von Mikroorganismen aus Nutztierställen prädestiniert, jedoch sollten bei Ausbreitungsuntersuchungen mögliche Einflüsse auf die Tenazität der Keime in der Außenluft (z. B. durch die UV-Strahlung der Sonne) sowie das Auftreten möglicher Sekundärquellen außerhalb der Ställe berücksichtigt werden.

Eine weitere Bakteriengattung, die regelmäßig in der Luft von Tierställen nachgewiesen wurde, ist *Streptococcus* (HARTMANN, 1980). Unter der früher angewandten Systematik wurden darunter auch Bakterien gefasst, die heute zu den Gattungen *Lactococcus* und *Enterococcus* zählen (SCHLEIFER und KILPPER-BÄLZ, 1987; HOLT et al., 1994). Als Quellen für die in der Stallluft gefundenen Lakto-, Entero- und Streptokokken kommen die Haut der Tiere, die Schleimhäute des Atemtraktes, der Darmtrakt, aber auch Pflanzen- und Futterbestandteile in Frage (RUOFF, 1992; DEVRIESE et al., 1992; TEUBER et al., 1992). Ihre Anzahl dürfte zwar für die Detektion stallspezifischer Bioaerosole außerhalb von Tierställen ausreichend sein (PLATZ et al., 1995), allerdings stellten HINZ et al. (1993) fest, dass die Konzentration der Streptokokken (einschließlich Enterokokken und Laktokokken) in der Luft von Masthühnerställen im Verhältnis um den Faktor 10 niedriger lagen, als die Konzentrationen der gleichzeitig erfassten Staphylokokken. Somit eignen sich Staphylokokken wahrscheinlich eher als Indikatoren für Ausbreitungsuntersuchungen.

Andere Bakterien die stets in der Stallluft erwartet werden dürfen gehören zur Familie der Enterobacteriaceae (SEEDORF, 2004). Ihr Vorkommen ist auf die Ausscheidungen der Tiere zurückzuführen, die in den Ställen anfallen. Da Kotpartikel zum üblichen Spektrum der Bioaerosole im Stall gehören, können diese Bakterien auch in die Umgebungsluft von Stallanlagen gelangen. Als Indikatorbakterien für Ausbreitungsuntersuchungen sind sie jedoch wahrscheinlich weniger geeignet. Die bislang ermittelten Emissionen koloniebildender Einheiten zeigten Vergleichsweise zu den Gram-positiven Kokken nur geringe Werte, wodurch die Nachweiswahrscheinlichkeit in größeren Abständen zu den Ställen rapide sinkt. Ein weiterer Nachteil von Bakterien aus der Gruppe der Enterobacteriaceae ist ihre geringere Tenazität im luftgetragenen Zustand. Vor allem bei moderaten Luftfeuchten kann mit erhöhten Absterberaten gerechnet werden, was die Nachweiswahrscheinlichkeit zusätzlich einschränken würde (PLATZ, 1979; SEEDORF, 1998b; MÜLLER UND WIESER, 1987; PAEZ-RUBIO und PECCIA, 2005).

Prinzipiell können auch Schimmelpilze als Indikatoren für Bioaerosole aus Nutztierställen in Betracht gezogen werden. Sie gehören zur üblichen Stallluftflora und besitzen eine gesundheitliche Bedeutung als Auslöser von Allergien, als Mykotoxinproduzenten oder als Infektionserreger (MÜLLER et al., 2004; SEEDORF und HARTUNG, 2002; DOTTE et al., 2004). Der bedeutendste Erreger, der durch Inhalation aufgenommen wird und beim Menschen sowie beim Nutzgeflügel und bei Wildvögeln eine Aspergillose verursachen kann, ist *Aspergillus fumigatus* (LATGÉ, 1999; SIEGMANN und NEUMANN, 2005; ROLLE und MAYR, 2001; JOSEPH, 2000). Dieser Erreger sowie andere Schimmelpilze kommen beispielsweise in der Einstreu und im Sedimentationsstaub von Masthühnerställen vor (VISSIENNON, 1999). Allerdings ergaben Untersuchungen in solchen Ställen, dass die Gesamtzahl kultivierter Schimmelpilze in der Luft im Vergleich zu den Staphylokokken etwa um den Faktor 100 niedriger lag (SALEH, 2006). Damit sinkt im Vergleich zu den Bakterien die Nachweiswahrscheinlichkeit in größeren Abständen zu den Ställen. Ein weiteres Problem könnten die, vor allem im Sommer und im Herbst, in der Außenluft vermehrt auftretenden Schimmelpilze sein, da sie die Ergebnisse der Luftuntersuchungen auf der Leeseite von Ställen maßgeblich beeinflussen dürften (UMEG, 2003; GABRIO et al., 2005). In diesem Zusammenhang sollte auch der Einfluss von möglichen Sekundärquellen berücksichtigt werden. Hierbei handelt es sich z. B. um Kompostierungsanlagen, Holz- oder Pflanzen verarbeitende Betriebe, andere Stallanlagen und natürliche Quellen (z. B. Vegetation, verrottende Pflanzenbestandteile). Solche Quellen, in denen Schimmelpilze als Saprophyten fungieren, können die Umgebungsluft mit Sporen anreichern und somit die Zuordnung der in

der Stallumgebung erfassten Schimmelpilze zur Emissionsquelle Stall erschweren. Daher eignen sich Schimmelpilze vermutlich weniger oder nur bedingt als Indikatoren für die Ausbreitung stallspezifischer Mikroorganismen über die Luft.

Zusammengefasst darf vermutet werden, dass Staphylokokken am ehesten geeignete Indikatororganismen für die luftgetragene Ausbreitung vermehrungsfähiger Mikroorganismen bzw. Erreger aus Masthühnerställen darstellen können, sofern keine Sekundärquellen dieser Bakterien die Außenluftuntersuchungen beeinflussen. Daher werden Staphylokokken als mögliche Indikatoren für die Untersuchungen herangezogen. Inwieweit auch andere kultivierbare Bakterien eine Indikatorfunktion ausüben können, ist noch nicht absehbar. Eine Betrachtung des Gesamtkeimspektrums auf Standardnährböden aus zeitgleichen Stall- und Außenluftmessungen könnte hier Informationen liefern. Zumindest sollten auf diese Weise Vergleichszahlen zu bisherigen Untersuchungen gewonnen werden. Auch die Messungen und Anzucht von Schimmelpilzen aus Luftproben innerhalb und außerhalb der Ställe könnten eine Einschätzung über den zusätzlichen Eintrag von Mikroorganismen in die Umgebungsluft der Ställe erlauben.

## 1.7 Ziele der Untersuchungen

Ziel der Untersuchungen ist es, einen Beitrag zur Aufklärung der Ausbreitung und Verfrachtungsentfernung von luftgetragenen Mikroorganismen aus Masthühnerställen zu leisten. Die quantitative Erfassung dieser Organismen soll auch der Abschätzung von Infektionsrisiken durch die aerogene Transmission von Erregern dienen. Dazu werden zwei unterschiedliche praxisübliche Stalltypen untersucht. Ein zwangsbelüfteter Stall, der Platz für etwa 31 000 Tiere bietet und ein frei gelüfteter Stall vom Louisianatyp der für knapp 40 000 Tierplätze ausgelegt ist. Zur Beurteilung des quantitativen Eintrages von Mikroorganismen in die Umgebungsluft der Stallanlagen werden mesophile Bakterien sowie Schimmelpilze und Hefen erfasst. Staphylokokken sollen dabei als spezifische Indikatoren für das Ausbreitungsverhalten von Bioaerosolen aus den Ställen dienen. Die Ausbreitung soll in Abhängigkeit von den Emissionskonzentrationen und von den meteorologischen Bedingungen vor Ort dargestellt werden. Hierzu werden simultane Messungen in der Stall- und in der Außenluft bei gleichzeitiger Erfassung der Wetterdaten vor Ort durchgeführt. Als Luftkeimsammelmethode wird mit dem Impingement eines der effizientesten Sammelverfahren für luftgetragenen Mikroorganismen zum Einsatz kommen (vgl. 1.4). Das Verfahren soll in geeigneter Weise für die Untersuchungen im Feld angepasst werden. So

wird eine Modifikation angestrebt, die längere Sammelzeiten an der Außenluft zulässt. Zur Beurteilung, inwieweit es sich bei den leeseitig gesammelten Mikroorganismen um emittierte Organismen aus den Ställen handelt, sollen Bakterien und Pilze aus der Stall- und Außenluft in geeigneter Weise bestimmt werden.

Bei der Ausbreitung in der Außenluft können verschiedene Faktoren zu einem beschleunigten Absterben der aus der Stallluft stammenden Mikroorganismen führen (vgl. 1.3). Ob dies auch für relativ kurze Verweilzeiten im Nahbereich der Ställe gilt, ist fraglich. Durch einen Vergleich der Keimkonzentrationen aus den Ausbreitungsmessungen mit den prognostizierten Konzentrationen eines validierten atmosphärischen Ausbreitungsmodells (Gaußmodell, vgl. 1.3) lassen sich möglicherweise Unterschiede aufdecken, die auf die Tenazität der Luftkeime einflussnehmenden Faktoren zurückzuführen sind. In diesem Zusammenhang soll die generelle Bedeutung von abiotischen Faktoren, die in der Außenluft die Überlebensfähigkeit von Keimen beeinflussen, diskutiert werden.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Material

#### 2.1.1 Die ausgewählten Stallanlagen

Für die Untersuchungen wurden zwei für Niedersachsen und Deutschland typische Masthühnerställe ausgewählt. Dabei handelt es sich um einen frei gelüfteten Stall vom Typ Louisianastall (Stall A) nördlich von Hannover und einen Stall mit Zwangslüftung (Stall B) im Landkreis Aurich. Die Pfeile in Abbildung 2.1 zeigen in etwa die geographische Lage der Ställe an.



**Abb. 2.1: Niedersachsenkarte mit Lage der untersuchten Ställe.**

Der Stall A hat eine Grundfläche von 120 m x 16 m. Die Giebelhöhe beträgt ca. 6,2 m. Der Einraumstall mit festem Betonboden bietet 39.900 Mastplätze. Die Tiere (Hybridlinien der Firma Ross) werden als Eintagsküken mit etwa 40 g Körpergewicht auf Stroheinstreu eingestallt und verbleiben in dem Stallraum bis zum Erreichen des Schlachtgewichtes von

etwa 1,8 kg. Die Abbildung 2.2 zeigt eine Momentaufnahme in der 4. Mastwoche mit den wichtigsten Stalleinrichtungen.



**Abb. 2.2: Stall A in der vierten Mastwoche. Erklärungen im Text.**

Der Stall besitzt Gaszonenheizungen (1) zur Einstellung optimaler Temperaturen für das Wachstum der Tiere sowie eine automatische Futter- und Wasserversorgung (2 bzw. 3). Die Be- und Entlüftung des Stalles erfolgt über die durchgängigen Seitenwandöffnungen, die beidseitig über die gesamte Länge des Stalles reichen (4 und 5). Die jeweilige Strömungsrichtung sowohl der Zu- als auch der Abluft wird wesentlich von der vorherrschenden Windrichtung bestimmt. Die Intensität des Luftaustausches wird über sensorgesteuerte (Lufttemperatursensoren innen und außen) Seitenwandjalousien geregelt. Bei Bedarf können zusätzlich 24 gleichmäßig über die Stalllänge verteilte Abluftschächte geöffnet werden (6). Bei sehr hohen Temperaturen im Sommer können seitenwandständige Zusatzventilatoren (7) für zusätzliche Luftbewegung im Tierbereich sorgen.

In Ost-Nordöstlicher Richtung vom Stall liegt ein breites freies Windfeld ohne Baumbestand oder Gebäude (vgl. auch Abb. 2.6). Erst nach etwa 350 m fängt der Baumbestand eines kleinen Waldstückes an. Nördlich liegen ein alter Eichenbaumbestand und die Gebäude eines landwirtschaftlichen Betriebes ohne Tierhaltung. Westlich verläuft eine Landstraße, die von einer lichten Baumreihe gesäumt wird.



Bei dem Stall B handelt es sich um einen zwangsbelüfteten, wärmegeprägten geschlossenen Stall mit Unterdrucklüftung und Stroheinstreu. Der Stall ist 75 m lang, 17 m breit und 5,4 m hoch (Giebelhöhe) und bietet Platz für 31 000 Masthühner (auch hier: Ross-Hybridhühner). Futter- und Wasserversorgung sowie die Zonenheizungen sind ähnlich angeordnet wie im Stall A. Zusätzlich besitzt der Stall eine Luftbefeuchtungsanlage, mit der über seitenwandständig angebrachte Düsen die Stallluft bei Bedarf mit einem feinen Sprühnebel befeuchtet und auf diese Weise abgekühlt werden kann. Die Stallluft wird über eine Batterie von 12 Abluftschächten mit Ventilatoren über Dach aktiv in die Außenluft abgeführt. Die Abbildung 2.3 zeigt die 12 Abluftschächte der zentralen Abluftanlage. Ein Schacht ist mit einem speziellen Aufsatz für die standardisierte Luftprobenahme (braunes Rohr) versehen.



**Abb. 2.3: Emissionsquelle des zwangsbelüfteten Stalles B. Ein Abluftschacht ist mit einem Aufsatz (Messschacht) zur Probennahme bestückt.**

Die Abluft tritt in etwa 7 m Höhe über Grund in die Außenluft ein, an dem Luftprobenschacht in ca. 8 m Höhe. Bei sehr warmer Witterung können zwei zusätzliche Ventilatoren in der nördlichen Giebelwand des Stalles zugeschaltet werden. Die Zuluft strömt über verstellbare Zuluftklappen in den längsseitigen Stallwänden durch den von den Abluftventilatoren erzeugten Unterdruck in den Stallraum ein.

Der Stall B liegt fast allein auf einer freien Fläche und kann vom Wind von Norden, Osten und Westen frei angeströmt werden. Lediglich im Süden befinden sich die Wirtschaftsgebäude des Stallbetreibers mit einem Kuhstall, in dem sich zur Zeit der Untersuchungen etwa ein Dutzend Milchkühe befanden. Die Abbildung 2.4 zeigt die

Ausdehnung des freien Feldes in Ost- und Südostrichtung vom Stalldach aus gesehen, was Luftprobenahmen im freien Windfeld bis zu Entfernungen von etwa 500 m zulässt.



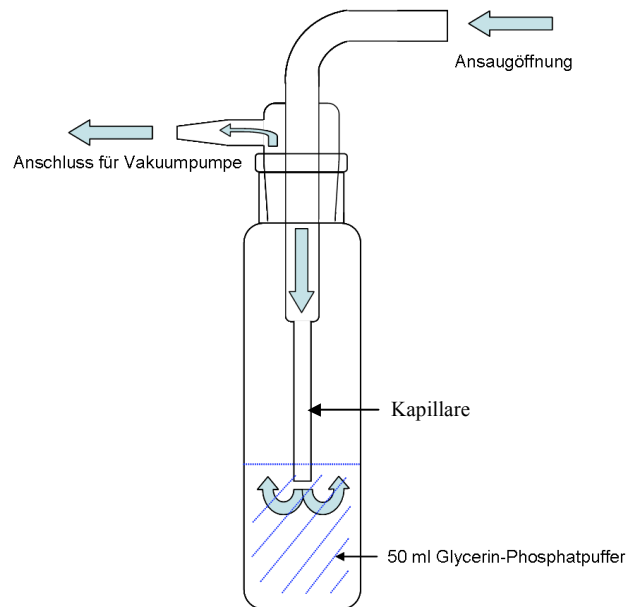
**Abb. 2.4: Freies Windfeld in ost-südöstlicher Ausdehnung vom Dach des Stalles B aus.**

## 2.1.2 Benutzte Geräte

### 2.1.2.1 Der AGI-30 Impinger zur Luftkeimsammlung

Zur Luftkeimsammlung wurde das Verfahren des Impingement mit dem AGI-30 Impinger (Ace Glass Inc. Vineland, N.Y.) gewählt. Bei dem AGI-30 handelt es sich um eine erstmals von BRACHMANN (1964) beschriebene standardisierte Waschflasche aus Glas, die einen speziellen Schliffaufsatz besitzt, in dem das Luftansaugrohr eingearbeitet ist. Das untere Ende des Ansaugrohres ist als Kapillare ausgeführt und endet knapp unterhalb der Oberfläche der Sammelflüssigkeit, für die in diesen Untersuchungen Glycerin-Phosphatpuffer verwendet wurde. In Abbildung 2.5 ist der Impinger schematisch dargestellt. Das Sammelprinzip beruht darauf, dass mittels Vakuumpumpe ein definierter Probenluftvolumenstrom von 12,5 l/min erzeugt wird, der durch das speziell geformte Ansaugrohr in die Sammelflüssigkeit geführt wird. Die Krümmung des Ansaugrohres simuliert in etwa den Übergang vom Nasen- in den Rachenraum des Menschen. Im Bereich der Krümmung werden Partikel mit einem Durchmesser von  $> 15 \mu\text{m}$  infolge ihrer Trägheit, ähnlich wie im Nasen-Rachenraum, abgeschieden. Kleinere Partikel bis zu einer unteren Grenze von etwa  $0,3 \mu\text{m}$  werden dagegen in der Kapillare am Ende des Ansaugrohres beschleunigt und treffen mit

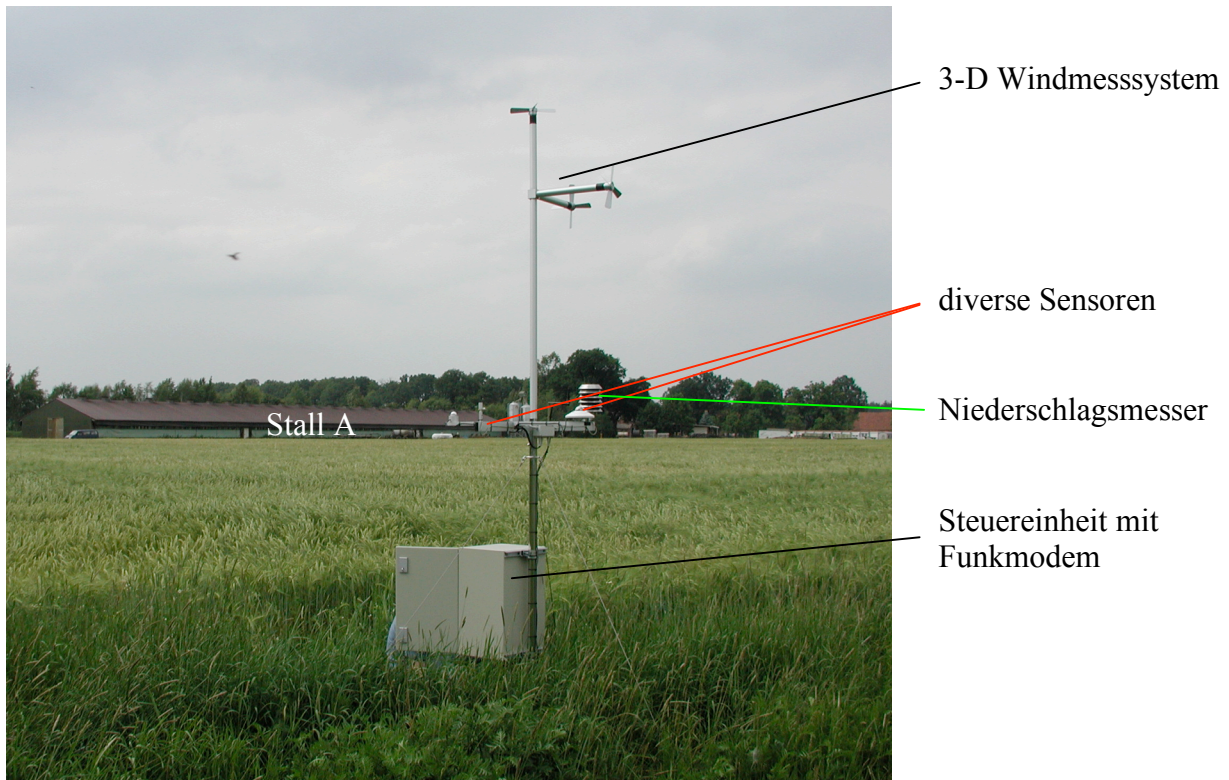
Ultraschallgeschwindigkeit auf die Sammelflüssigkeit. Durch die hohe Beschleunigung werden Partikelaggregate wie z. B. Keimaggregate beim Aufprall zerkleinert und zerfallen in Bruchstücke oder Einzelzellen, die sich in der Sammelflüssigkeit anreichern (JENSEN und SCHAFER, 1998). Die eingesaugte und in der Flüssigkeit „gewaschene“ Luft wird über den Anschluss zur Vakuumpumpe abgesaugt.



**Abb. 2.5: Impinger AGI-30 schematisch mit Glycerin-Phosphatpuffer als Sammelflüssigkeit. Blaue Pfeile kennzeichnen den Weg des Probenluftstromes.**

### 2.1.2.2 Wetterstation

Zur Beschreibung der Ausbreitung von Bioaerosolen aus den Stallanlagen ist es notwendig, die Wetterbedingungen möglichst genau zu erfassen. Dazu wurde jeweils über den Untersuchungszeitraum eine Wetterstation (UNIKLIMA 7, Toss, Potsdam) vor Ort im freien Windfeld der Stallanlagen positioniert. Die Wetterstation ist mit einem 3-D Windmesssystem ausgestattet, das nach Einnordung die Windrichtung (0 - 360°), die Windhöhe (steigende oder fallende Winde  $\pm 90^\circ$ ) und die Windgeschwindigkeit (0,3 - 50m/s) erfasst. Diese Messwerte werden im Minutentakt gespeichert und können über die Software der Wetterstation vor Ort oder online ausgelesen werden. Die Abbildung 2.6 zeigt eine Aufnahme der Wetterstation im Feld, etwa 200 m vom Stall A (im Hintergrund) entfernt.



**Abb. 2.6: Wetterstation in südöstlicher Lage zum Stall A.**

Neben den Windbedingungen wurden weitere Messgrößen über Sensoren bzw. den Niederschlagsmesser der Station erfasst und aufgezeichnet, da diese einen Einfluss auf die gemessenen Keimausbreitungen besitzen konnten. Tabelle 2.1 listet die weiteren erfassten Messgrößen einschl. ihrer Messbereiche auf.

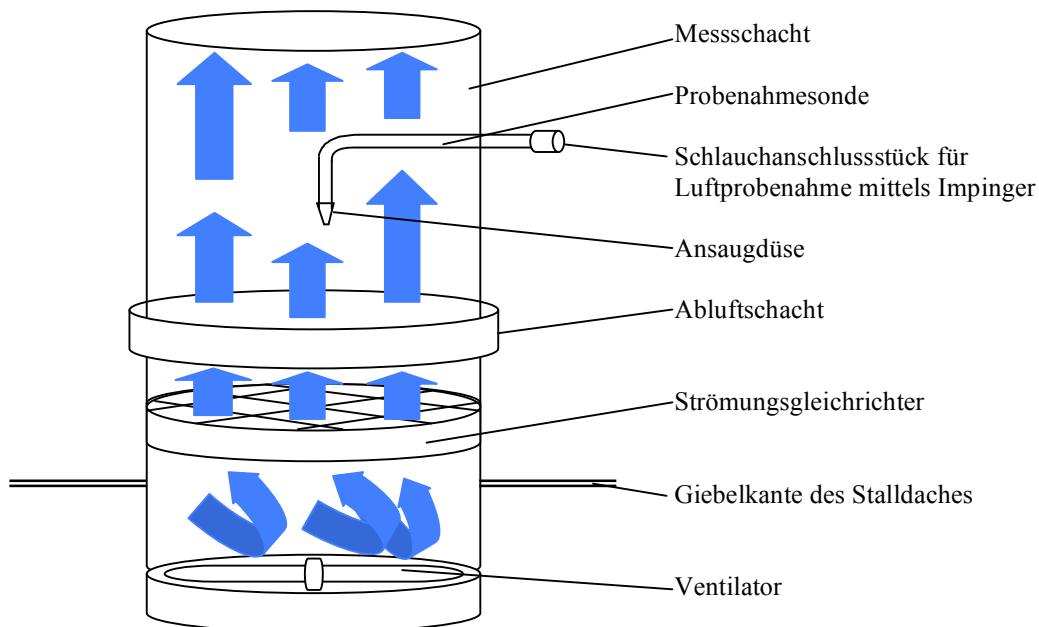
**Tab. 2.1: Weitere mit der Wetterstation erfasste Messgrößen**

Messgrößen	Messbereich
Globalstrahlung	305 – 2800 nm
UV-Strahlung	290 – 400 nm
Temperatur	-50 bis 80°C ± 0,3°
Luftfeuchte	0 – 100% ± 3%
Niederschlagsmenge	Auflösung 0,1 mm

### 2.1.2.3 Messschacht mit Probenahmesonde für Impinger und Strömungsgleichrichter für Emissionsmessungen

Für die sachgerechte Luftprobennahme aus Abluftschächten ist eine möglichst isokinetische Probenahme über Probenahmesonden erforderlich. Dazu ist es notwendig, die üblicherweise in Abluftschächten auftretenden turbulenten Strömungen mit Hilfe eines Strömungsgleichrichters zumindest im Probenahmebereich des Schachtes so auszugleichen,

das weitgehend homogene Luftproben entnommen werden können. Daher wurde einer von den über die ganze Mastperiode laufenden Abluftschächte (siehe Abb. 2.3) als Probenahmeschacht ausgewählt und mit einem nach Erfahrungen von FORMOSA (2005) passend angefertigten Messaufsatz versehen, in dem der Gleichrichter untergebracht war und in dem die Probenahmen vorgenommen wurden. In der Wand des Messaufsatzes sind Bohrungen angebracht, durch die die Probenahmesonde in den Luftstrom gezielt eingeführt werden kann. Bei solchen Sonden handelt es sich um im vorderen Bereich im Winkel von  $90^\circ$  gekrümmte verzinkte Stahlrohre (Innendurchmesser 12 mm), an deren Spitze eine Eingangsdüse angebracht ist, deren Einlassöffnung so gewählt wird, dass bei einer bestimmten Luftgeschwindigkeit im Schacht eine isokinetische Probenahme möglich ist. Bei gleichgerichteter (laminarer) Strömung ist die anzustrebende Position der Einlassdüse etwa in Schachtmitte. Dies wurde bei den Untersuchungen auch so eingehalten. Abbildung 2.7 zeigt schematisch die Anordnung des Gleichrichters und die Sonde.



**Abb. 2.7: Schema des Abluftschachtes mit Strömungsgleichrichter und Messaufsatz einschl. der Probenahmesonde für Luftkeimprobenahmen mit dem AGI-30 Impinger. Blaue Pfeile deuten die Richtung der Abluftströmung an.**

Der Strömungsgleichrichter wandelt die durch den Ventilator verwirbelte Luft im Abluftschacht quasi in eine laminare Strömung um und bewirkt eine gleichmäßigere Verteilung von Partikeln bzw. Mikroorganismen im Abluftstrom. Damit dieser Luftstrom keinen Staudruck an der Düse der Probenahmesonde erzeugt, wurde der Düsendurchmesser dem Abluftstrom so angepasst, dass die Ansauggeschwindigkeit am Düseneinlass bei einem Probenahmevervolumen von 12,5 l/min stets leicht über der Geschwindigkeit des

gleichgerichteten Abluftstromes lag. Die Ansauggeschwindigkeit berechnet sich nach folgender Gleichung (1):

$$\text{Ansauggeschwindigkeit}_{\text{Düse}} = \frac{V_{\text{Probenahme}} \left[ m^3 \right]}{A_{\text{Düsen einlass}} \left[ m^2 \right] \cdot [s]} \quad (1)$$

V = Volumen der Probenahme; A = Fläche des Düsen einlasses

Die Geschwindigkeiten des Abluftstromes wurden mit einem Windmessgerät (Flügelradanemometer der Firma TESTO, Lenzkirch) nach der Methode von FORMOSA (2005) bestimmt. Tabelle 2.2 zeigt die verwendeten Düsendurchmesser bei verschiedenen Abluftstromgeschwindigkeiten.

**Tab. 2.2: Eingesetzte Düsen bei unterschiedlichen Abluftstromgeschwindigkeiten**

Geschwindigkeit Abluftstrom	Düsendurchmesser in cm bei 12,5 l/min Probenluft
bis 4 m/s	0,8
bis 7 m/s	0,6
bis 10 m/s	0,5
> 10 m/s	0,4

#### 2.1.2.4 Tachymeter

Zur Vermessung der Entfernungen zwischen Stall und Messorten wurde ein Tachymeter TC(R)110 (Leica Geosystems, Schweiz) benutzt, wie es üblicherweise im Vermessungswesen eingesetzt wird. Dabei handelt es sich um ein elektronisches Vermessungsinstrument zur Ermittlung von Distanzen, Winkeln und Koordinaten. Die Distanzmessung erfolgt mit einem Infrarotstrahl, der auf ein reflektierendes Prisma gelenkt wird. Die Messungen sind bis zu einer Entfernung von 500 m Entfernung auf 5 mm genau.

#### 2.1.2.5 Weitere benutzte Geräte

Weitere zur Umsetzung der Methoden benutzte Geräte und deren Hersteller, die nicht gesondert im Text beschrieben werden, sind in der folgenden Tabelle 2.3 aufgelistet.

**Tab. 2.3: Weitere benutzte Geräte und deren Hersteller**

Geräte	Hersteller
Agagel Standard Gelkammer	Biometra, Göttingen
BIO 1.209 Spektrometer	Grimm, Ainring
Brutschränke	Memmert, Schwabach

Geräte	Hersteller
Hera Safe Sicherheitswerkbank K1.2	Heraeus, Darmstadt
Labofuge 400R	Heraeus, Hanau
Lichtmikroskop H500	Hund, Wetzlar
Mastercycler gradient	Eppendorf, Hamburg
Nassabscheider	Eigene Anfertigung
PARI BOY N Kompressor	PARI, Starnberg
PARI LL Vernebler	PARI, Starnberg
Polysine beschichtete Objektträger	Menzel Gläser, Braunschweig
Spannungsgeber Standard Power Pack 25	Biometra, Göttingen
Spectrophotometer UV 1602	SHIMADZU, Deutschland GmbH, Hannover
Strömungsmesser	Aalborg Instruments, Oranenburg N.Y., USA
Thermisches Anemometer 405-V1	Testo, Lenzkirch
TF 5 W Drehschieberpumpen	ASF THOMAS, Memmingen
Transilluminator BioDocAnalyze- System	Biometra, Göttingen
Vivaspin 20 Röhrchen	Vivascience, Göttingen
Vortex	Heidolph, Schwabach
Wettermasten	Testcam
Zentrifuge 5417C	Eppendorf, Hamburg

### 2.1.3 Verwendete Bakterien

Zur Charakterisierung der Überlebens- bzw. Wiederfindungsrate von Bakterien im AGI-30 Impinger und zur Bestimmung der aus den Masthühnerställen emittierten Staphylokokken mittels einer modifizierten 16S-23S rDNA ITS- PCR (**I**nternal transcribed spacer-**P**olymerase chain reaction) wurden die in Tabelle 2.4 aufgelisteten Bakterien verwendet.

**Tab. 2.4: Verwendete Bakterien**

Gattung	Spezies, Subspezies	Stamm	Bezugsquelle
<i>Staphylococcus</i>	<i>cohnii</i> subsp. <i>urealyticum</i>	6718	DSMZ
<i>Staphylococcus</i>	<i>saprophyticus</i> subsp. <i>saprophyticus</i>	20229	DSMZ
<i>Staphylococcus</i>	<i>haemolyticus</i>	20263	DSMZ
<i>Staphylococcus</i>	<i>xylosus</i>	20266	DSMZ
<i>Staphylococcus</i>	<i>warneri</i>	20316	DSMZ
<i>Staphylococcus</i>	<i>lentus</i>	20352	DSMZ
<i>Staphylococcus</i>	<i>intermedius</i>	20373	DSMZ
<i>Staphylococcus</i>	<i>carnosus</i> subsp. <i>carnosus</i>	20501	DSMZ
<i>Staphylococcus</i>	<i>gallinarum</i>	20610	DSMZ
<i>Staphylococcus</i>	<i>kloosii</i>	20677	DSMZ

Gattung	Spezies, Subspezies	Stamm	Bezugsquelle
<i>Staphylococcus</i>	<i>hominis</i> subsp. <i>hominis</i>	20328	DSMZ
<i>Staphylococcus</i>	<i>hyicus</i>	20459	DSMZ
<i>Staphylococcus</i>	<i>caprae</i>	20608	DSMZ
<i>Staphylococcus</i>	<i>arlettae</i>	20672	DSMZ
<i>Staphylococcus</i>	<i>lugdunensis</i>	4804	DSMZ
<i>Staphylococcus</i>	<i>schleiferi</i> subsp. <i>schleiferi</i>	4807	DSMZ
<i>Staphylococcus</i>	<i>sciuri</i> subsp. <i>sciuri</i>	6671	DSMZ
<i>Staphylococcus</i>	<i>muscae</i>	7068	DSMZ
<i>Staphylococcus</i>	<i>pasteuri</i>	10657	DSMZ
<i>Staphylococcus</i>	<i>simulans</i>	20323	DSMZ
<i>Staphylococcus</i>	<i>capitis</i> subsp. <i>capitis</i>	20326	DSMZ
<i>Staphylococcus</i>	<i>chromogenes</i>	20454	DSMZ
<i>Staphylococcus</i>	<i>auricularis</i>	20609	DSMZ
<i>Staphylococcus</i>	<i>equorum</i>	20675	DSMZ
<i>Staphylococcus</i>	<i>delphini</i>	20771	DSMZ
<i>Staphylococcus</i>	<i>schleiferi</i> subsp. <i>coagulans</i>	6628	DSZM
<i>Staphylococcus</i>	<i>capitis</i> subsp. <i>ureolyticum</i>	6717	DSMZ
<i>Staphylococcus</i>	<i>piscifermentans</i>	7373	DSMZ
<i>Staphylococcus</i>	<i>felis</i>	7377	DSMZ
<i>Staphylococcus</i>	<i>pulvereri</i>	9931	DSMZ
<i>Staphylococcus</i>	<i>lutrae</i>	10244	DSZM
<i>Staphylococcus</i>	<i>vitulinus</i>	15615	DSMZ
<i>Staphylococcus</i>	<i>cohnii</i> subsp. <i>cohnii</i>	20260	DSMZ
<i>Staphylococcus</i>	<i>saccharolyticus</i>	20359	DSMZ
<i>Staphylococcus</i>	<i>aureus</i> subsp. <i>anaerobius</i>	20714	DSMZ
<i>Staphylococcus</i>	<i>epidermidis</i>	1798	DSMZ
<i>Staphylococcus</i>	<i>aureus</i>	1104	DSMZ
<i>Staphylococcus</i>	<i>caseolyticus</i>	20597	DSZM
<i>Streptococcus</i>	<i>saccharolyticus</i>	20726	DSMZ
<i>Pseudomonas</i>	<i>fluorescens</i>	50090	DSMZ
<i>Bacillus</i>	<i>subtilis</i>	BGA	Merck
<i>Escherichia</i>	<i>coli</i>	V 1357	Mikrobiologie der TiHo Hannover

DSMZ = Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen

## 2.1.4 Benutzte Nährmedien

Sämtliche in dieser Arbeit verwendeten Nährmedien wurden von der Firma Oxoid LTD, Wesel, bezogen. Benutzt wurden Blutagar-Basis Nr. 2 zur Gesamtkeimzahlbestimmung und



zur Anreicherung von Bakterien, Dichloran-Glycerol (DG 18)- Agar zur Bestimmung und Quantifizierung luftgetragener Schimmelpilze und Hefen, MacCONKEY-Agar Nr. 3 zur Bestimmung der Anzahl von Enterobakterien und Mannit-Kochsalz-Agar zur Isolierung und Quantifizierung von Staphylokokken. Die Nährmedien wurden nach Angaben des Herstellers angesetzt, autoklaviert und anschließend unter einer Sicherheitswerkbank in Petrischalen gegossen.

### **2.1.5 Puffer und Lösungen**

#### ***Phosphatpuffer pH 7,0 nach Sørensen***

Eine 67 mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$  Lösung 1 wurde mit Aqua bidest. hergestellt und mit einer 67 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  Lösung 2, die ebenfalls mit Aqua bidest. angesetzt wurde, im Verhältnis von 1,703 (Lösung 1 zu Lösung 2) gemischt. Anschließend wurde der pH-Wert (Soll 7,0) kontrolliert und der Puffer im Autoklaven sterilisiert.

#### ***Glycerin-Phosphatpuffer für die Luftkeimsammlung mit dem Impingement***

Phosphatpuffer pH 7,0 nach Sørensen und reines Glycerin werden im Verhältnis von 1:1 gemischt und anschließend autoklaviert. Der mit dem Tauspiegel-Verfahren bestimmte  $a_w$ -Wert des Gemisches betrug 0,77.

#### ***Glycerin-Phosphatpuffer zur Fluoreszenzfärbung luftgetragener Bakterien***

Phosphatpuffer pH 7,0 nach Sørensen und reines Glycerin werden im Verhältnis von 1:1 gemischt und anschließend autoklaviert. Zur Fluoreszenzanfärbung von Bakterien wird der Puffer unmittelbar vor der Anwendung mit 0,1 % Triton X-100 und mit 0,5  $\mu\text{g/ml}$  vom DNA-Farbstoff 4',6-Diamidino-2-phenylindol-Dihydrochlorid (DAPI) versetzt.

#### ***PBS Puffer***

137 mM NaCl, 2,7 mM KCl, 1,8 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 8 mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$  wurden in Aqua bidest. gelöst, mit 0,1 mol HCl auf pH 7,4 eingestellt und anschließend autoklaviert.

#### ***Zellaufschlusspuffer***

Es wurden eine 0,025 molare  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  Lösung 1 und eine 0,025 molare  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  Lösung 2 mit deionisiertem Wasser hergestellt. Die Lösung 1 wurde mit der Lösung 2 im Verhältnis 5,25 : 1 gemischt. Anschließend wurden der gemischten Pufferlösung 100  $\mu\text{g/ml}$  Lysostaphin zugesetzt. Das Enzym wurde unter leichtem Rühren gelöst und die Lösung sterilfiltriert.

**Gelladepuffer**

Eine 50 mM EDTA- Dinatriumsalz-Dihydrat-Lösung wurde mit 0,05 % (w/v) Bromphenolblau und 50 % (v/v) Glycerin gemischt.

**TBE Puffer 5x**

0,445 M Tris (base), 0,1 M EDTA-Dinatriumsalz-Dihydrat und 0,445 M Borsäure wurden in Aqua bidest. gelöst und die Lösung anschließend sterilisiert. Der pH-Sollwert betrug  $8,3 \pm 0,2$ .

**Wasserstoffperoxid-Lösung 3 %**

Eine 30 %ige  $H_2O_2$ -Lösung wurde 1:10 mit Aqua bidest. verdünnt.

**2.1.6 Verwendete Chemikalien/Biochemikalien**

In Tabelle 2.5 werden die in dieser Arbeit verwendeten Chemikalien/Biochemikalien sowie ihre Bezugsquellen zusammengefasst aufgeführt.

**Tab. 2.5: Verwendete Chemikalien/Biochemikalien und ihre Bezugsquellen**

Chemikalien/Biochemikalien	Bezugsquelle
Agarose IMG	AppliChem, Darmstadt
Bactident Oxidase Test	Merck, Darmstadt
Borsäure	AppliChem, Darmstadt
Bromphenolblau	AppliChem, Darmstadt
DAPI	AppliChem, Darmstadt
dNTP- Mix	Eppendorf, Hamburg
EDTA- Dinatriumsalz- Dihydrat- Lösung	AppliChem, Darmstadt
Ethanol zur Analyse	Merck, Darmstadt
Ethidiumbromid	AppliChem, Darmstadt
F- 303SD Längenstandard	Finnzymes, Espoo, Finnland
GeneReleaser	BioVentures Inc., Murfreesboro, USA
Green buffer II	Qbiogene Inc., Irvine, Kanada
$H_2O_2$ -Lösung	Merck, Darmstadt
HCl	Merck, Darmstadt
ID32 STAPH Test	bioMérieux, Marcy l'Etoile, Frankreich
Kcl	Merck, Darmstadt
$KH_2PO_4$	Merck, Darmstadt
Kristallviolettlösung	Merck, Darmstadt
Lugols Lösung (verdünnte Iod- Kaliumiodidlösung)	Merck, Darmstadt

Chemikalien/Biochemikalien	Bezugsquelle
Lysostaphin	SIGMA, Taufkirchen
MinElute PCR Purification Kit	QIAGEN, Hilden
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	Merck, Darmstadt
NaCl	Merck, Darmstadt
peq Gold 100 bp DNA- Leiter Längenstandard	peqlab, Erlangen
Primer G1	Biometra, Göttingen
Primer L1	Biometra, Göttingen
Reines Glycerin	Merck, Darmstadt
Restriktionsenzym Dra I	Qbiogene Inc., Irvine, Kanada
Safraninlösung	Merck, Darmstadt
Staphylase Test- Kit DR595	Oxoid LTD, Basingstoke, Hampshire, England
Taq Master	Eppendorf, Hamburg
Taq Polymerase	Eppendorf, Hamburg
Taq Puffer incl. Mg <sup>2+</sup>	Eppendorf, Hamburg
Tris	AppliChem, Darmstadt
Triton X-100	Omnilab, Bremen
Trockenperlen	Omnilab, Bremen

## 2.2 Methoden

Zunächst wird die Methodik von zwei im Labor durchgeführten Vorversuchen (vgl. 2.2.1 und 2.2.2) vorgestellt, in denen der Einfluss von Glycerin-Phosphatpuffer als Sammelflüssigkeit im AGI-30 Impinger auf die Anzahl koloniebildender Einheiten ausgewählter Bakterien untersucht wurde. Dabei wurde insbesondere der Einfluss des Sammelprozesses und der anschließenden Aufbewahrung in der Sammelflüssigkeit auf das Überleben von Staphylokokken getestet, da diesen im Vorfeld der Ausbreitungsuntersuchungen eine mögliche Indikatorfunktion zugeschrieben wurde. Dann erfolgen die Beschreibungen der Methoden zur Erfassung, Identifizierung und Ausbreitungscharakterisierung der in der Stallluft und in der Außenluft erfassten Mikroorganismen sowie die Darstellung von Methoden zur Durchführung von Begleituntersuchungen.

### 2.2.1 Glycerin-Phosphatpuffer als Sammelflüssigkeit in Impingern: Einfluss auf die Anzahl der KBE ausgewählter Bakterienarten

In Impingern werden für die Sammlung von Bakterien aus der Luft üblicherweise wässrige Phosphatpufferlösungen oder 0,9%ige Kochsalzlösungen benutzt. Bei hohen

Umgebungstemperaturen und bei längeren Sammelzeiten von über 15 Minuten kommt es jedoch zu erheblichen Verlusten der Sammelflüssigkeit infolge Verdunstung (LIN et al., 1999), was die Anwendung des Impingers für Feldmessungen und in wenig mit Bakterien belasteter Luft erheblich einschränkt. Um für die Messungen Abhilfe zu schaffen und längere Laufzeiten zu ermöglichen, wurde dem Phosphatpuffer Glycerin im Verhältnis 1:1 zugemischt. Dieser Glycerin-Phosphatpuffer besitzt eine Wasseraktivität von  $a_w = 0,77$  (nach Analyse des Institutes für Lebensmittelqualität und – sicherheit der TiHo Hannover) und ist eine so stark visköse Flüssigkeit, dass deutlich weniger Anteile des Sammelmediums verloren gehen und die Sammelzeit erheblich verlängert werden kann. Unklar war jedoch der Einfluss dieses Gemisches auf die Kultivierbarkeit von Bakterien, die in diesem Gemisch gesammelt und nach den Probenahmen darin aufbewahrt werden. So könnten physikalischer und physiologischer Stress in der viskösen Flüssigkeit während der Sammlung, des Transports oder der Lagerung Einfluss auf die kultivierbare Bakterienzahl nehmen.

Es wurde daher vor dem Feldeinsatz der Einfluss des Glycerin-Phosphatpuffers auf die Kultivierbarkeit von Bakterien durch den Sammelprozess und durch die anschließende Aufbewahrung im Sammelmedium im Labor geprüft. Ausgewählt wurden Bakterienarten, die auch in Nutztierställen vorhanden sein können. Untersucht wurden *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus xylosum*, *Staphylococcus arlettae*, *Staphylococcus cohnii* subsp. *urealyticum*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus saccharolyticus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens* und *Escherichia coli*. Pro Bakterienart wurden drei etwa 24 Stunden lang gewachsene Kolonien bei leichtem Rühren auf dem Magnetrührer in 270 ml Glycerin-Phosphatpuffer gelöst. Davon wurden 50 ml Aliquote auf fünf skalierte Impinger verteilt. Dann erfolgte die Bestimmung der KBE/ml in den Impingern vor der Luftdurchströmung. Die Gram-positiven Bakterien wurden dazu auf Blutagar-Basis ausplattiert und bei 36 °C bebrütet. Die Kultivierung von *Pseudomonas fluorescens* erfolgte auf Blutagar-Basis bei 30 °C und *Escherichia coli* wurde bei 36 °C auf MacCONKEY-Agar angezogen. Die Bebrütungszeiten betragen zwischen 24 und 36 Stunden.

Nach der Bestimmung der Ausgangskeimzahl wurden die fünf Impinger mit derselben Bakterienart und eine Kontrolle mit sterilem Sammelmedium 90 Minuten lang in der sterilfiltrierten Luft einer Sicherheitswerkbank der Klasse 2 mit einer Durchflussrate von jeweils 12 l/min gleichzeitig betrieben. Die Flussrate wurde mit einem Strömungsmesser überprüft. Nach der Luftdurchströmung wurden die verbliebenen Volumina des Glycerin-Phosphatpuffers an den Skalen der Impinger abgelesen und es erfolgte unmittelbar danach die Bestimmung der KBE/ml aus der jeweils verbliebenen Sammelflüssigkeit. Anschließend

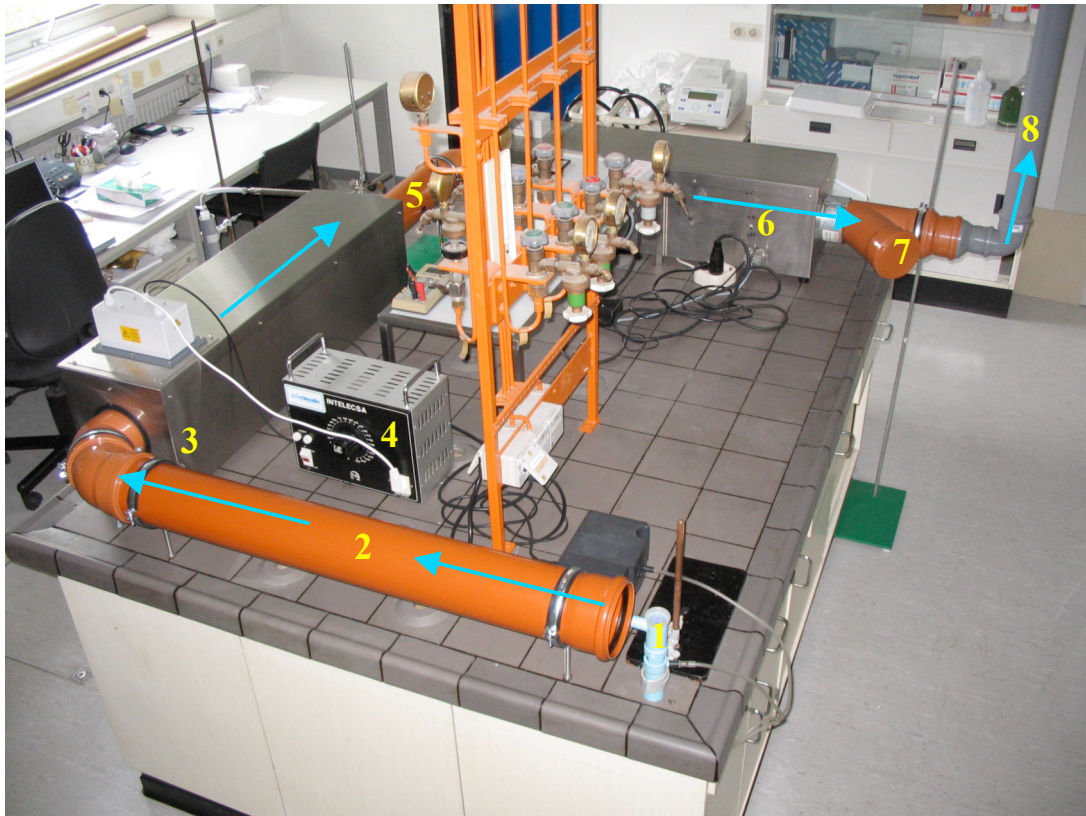
wurden die Impinger 24 Stunden bei 4 °C gelagert und der Effekt dieser Lagerung wurde durch eine weitere Keimzahlmessung (KBE/ml) bestimmt.

### **2.2.2 Die Wiederfindungsrate luftgetragener kultivierbarer *Staphylococcus xylosus* Zellen in Glycerin-Phosphatpuffer befüllten Impingern**

Im AGI-30 Impinger werden luftgetragene Mikroorganismen stark beschleunigt und prallen mit hoher Geschwindigkeit in die Sammelflüssigkeit (vgl. 2.1.2.1). Dieser Aufprall kann ein Stressfaktor für die Mikroorganismen darstellen, der sie vermehrungsunfähig machen kann und folglich zu einer Unterschätzung der Luftkeimzahl führt (STEWART et al., 1995). Inwieweit dies auch für den hier verwendeten Glycerin-Phosphatpuffer zutrifft war unbekannt und wurde im Rahmen eines weiteren Vorversuches getestet.

Dazu wurde eine Messreihe mit *Staphylococcus xylosus* in einer Aerosolmessstrecke des Bioaerosollabors am Institut für Tierhygiene, Tierschutz und Nutztierethologie (ITTN) der Stiftung Tierärztliche Hochschule durchgeführt. In diese Messstrecke wurden definierte Mengen an Staphylokokken mittels eines Verneblers in Form von Einzellzellen oder Diplokokken in den Luftstrom der Messstrecke eingebracht und ihre Konzentration in der Messstrecke über ein Probenahmerohr mit Glycerin-Phosphatpuffer befüllten AGI-30 Impingern erfasst. Die in der Luft der Messstrecke gemessenen Bakterienkonzentrationen wurden mit den in dieselbe Luft eingebrachten Bakterienkonzentrationen verglichen. Daraus ließ sich die Wiederfindungsrate der Bakterien bestimmen.

Die Bakteriensuspension für die Vernebelung wurde aus frisch angezogenen Kolonien von *S. xylosus*, die in Phosphatpuffer suspendiert wurden, hergestellt. Der Phosphatpuffer mit den Bakterien wurde auf eine optische Dichte (O.D.<sub>580 nm</sub>) von 0,15 eingestellt und mit dem gleichen Puffer nochmals 1:4 verdünnt. Um weitgehend Einzelzellen und Diplokokken in der Suspension zu erzeugen, wurde diese eine Minute bei voller Leistung auf dem Vortex geschüttelt. Die Keimzahl dieser Suspension betrug  $5,75 \times 10^6$  KBE/ml. 8 ml davon wurden in den Vernebler (1) vor dem Ansaugrohr (2) der Messstrecke pipettiert. Abbildung 2.8 zeigt den Aufbau der Aerosolmessstrecke im Labor des ITTN.



**Abb. 2.8: Aerosolmesstrecke. Blaue Pfeile markieren die Richtung der Luftströmung. Weitere Erläuterungen im Text.**

Bevor nun die Bakterien in den Luftstrom am Ansaugrohr (2) vernebelt wurden, wurde ein Luftvolumenstrom von  $0,0061 \text{ m}^3/\text{s}$  im Probenahmerohr (5) ermittelt. Dieser ergab sich aus der im Rohr mit einem thermischen Anemometer (Hitzedrahtsonde zur Bestimmung von Windgeschwindigkeit und Luftvolumen) gemessenen Windgeschwindigkeit von  $0,55 \text{ m/s}$  und der Querschnittsfläche des Rohres ( $\pi \times 0,0593 \text{ m}^2$ ). Dann wurden wiederholt jeweils 5 Minuten lang *S. xylosus* Zellen in den Luftstrom der Messstrecke vernebelt. Die Bakterien passierten nach dem Ansaugrohr (2) einen Ionisator (3), der für diese Untersuchungen keine weitere Rolle spielte und lediglich zur Desinfektion der Messstrecke über den Transformator (4) nach der Versuchsreihe aktiviert wurde. Am Ende des Ionisators wurde durch einen Strömungsgleichrichter innerhalb der Messstrecke ein annähernd laminarer Luftstrom erzeugt, bevor die mit Bakterien angereicherte Luft in das Probenahmerohr (5) eintrat. Am Probenahmerohr (5) wurden dann mit einer Probenahmesonde (vgl. 2.1.2.3) Bakterien aus dem Luftstrom zeitgleich zur Vernebelung in Impingern gesammelt. Als Sammelflüssigkeit dienten  $50 \text{ ml}$  eines sterilen Glycerin-Phosphatpuffer-Gemisches. Die Durchflussrate der Probenluft im Impinger wurde über eine regelbare Unterdruckpumpe auf  $12,5 \text{ l/min}$  eingestellt. Der Volumenstrom wurde vor jeder Messung mit einem Strömungsmesser geprüft. Als negative Kontrolle wurde der Luftstrom in der Messstrecke vor der Einbringung

der Testkeime beprobt. Die nach jeweils 5 Minuten eingenebelte Menge der Bakteriensuspension wurde durch die Gewichts­differenz des Verneblers vor und nach der Vernebelung bestimmt (bei Raumtemperatur besitzt die Suspension eine Dichte von 1). Daraus ergab sich die Anzahl an KBE, die kontinuierlich über den Messzeitraum in den Luftstrom eingebracht wurde, und die zu erwartende Anzahl an kultivierbaren Staphylokokken pro Liter Probenluft im Probenahmerohr (5) berechnete sich nach folgender Gleichung (2):

$$\frac{KBE}{l_{\text{Probenluft}}} = \frac{KBE_{\text{Stamm­lösung}} \times \text{vernebelte Menge [ml]}}{\text{ml} \times \text{Probenahmezeit [s]}} \times \frac{1}{0,0061 \text{m}^3 \times \text{s}^{-1}} \times \frac{1}{1000 \text{l} \times \text{m}^{-3}} \quad (2)$$

Zur Berechnung der Wiederfindungsrate wurde die jeweils zu erwartende Keimzahl mit den zeitgleich durch Impinger gemessenen Keimzahlen im Probenahmerohr (5) verglichen. Die gemessene Anzahl an KBE/l Probenluft berechnet sich nach Gleichung (3):

$$\frac{KBE}{l_{\text{Probenluft}}} = \frac{KBE}{\text{Durchflussrate in l} \times \text{min}^{-1} \times \text{Probenahmezeit in min}} \times \frac{V_{\text{Puffer nach Sammlung}}}{V_{\text{ausplattiertes Aliquot}}} \quad (3)$$

Die Wiederfindungsrate ergab sich nun aus dem Quotienten der Gleichungen (3) und (2).

Bei den Untersuchungen wurde nur ein Teilvolumen aus der mit Bakterien angereicherten Probenluft durch die Impinger geleitet. Die überschüssige Probenluft die nicht den Impinger passierte wurde zur Entkeimung durch ein Luftreinigungsgerät (6) mit Partikelfilter und UV-C Strahlung geleitet. Die entkeimte Luft wurde dann über ein Leitungsrohr (8) in einen Laborabzug geführt. Der Anschluss (7) dient zur Erstellung eines Luftkreislaufes, der zum Zwecke der Entkeimung der Oberflächen und Bauteile innerhalb der Messstrecke mittels Ionisation und Ozonierung durch eine Verbindung mit dem Ansaugrohr (2) geschlossen werden kann.

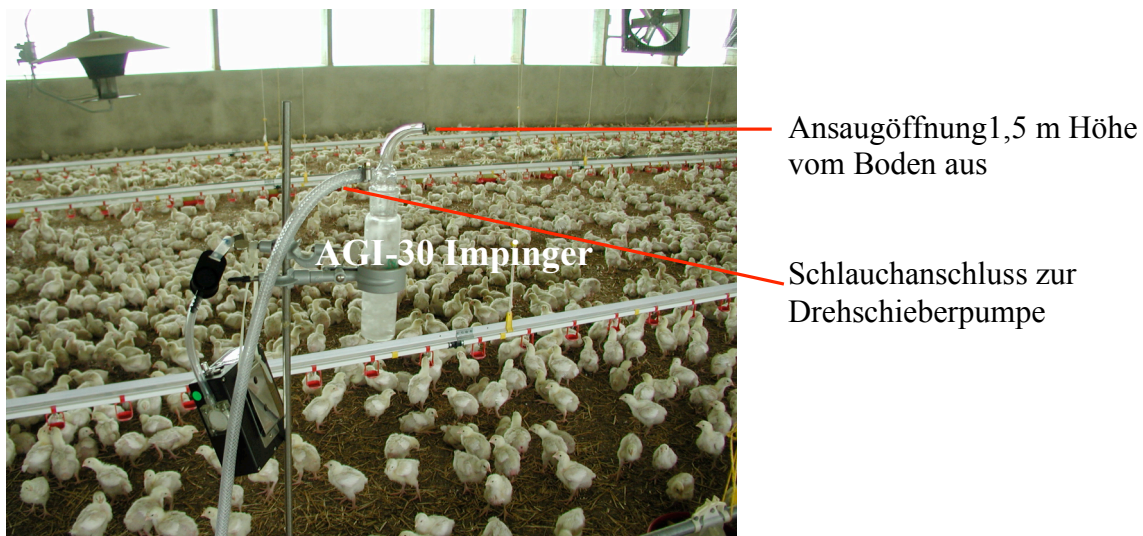
Zusätzlich wurde überprüft, in welcher Zellform (Einzelzellen, Diplokokken, Zellaggregate) die Bakterien im Luftstrom der Messstrecke vorgelegen haben. Dazu wurden Bakterien aus der Luft im Probenahmerohr mit dem BIO Spektrometer 1.209 auf mit Polysine beschichtete Objektträger abgeschieden. Die abgeschiedenen Zellen auf dem Objektträger wurden mit Deckgläsern bedeckt, die auf ihrer Unterseite mit DAPI enthaltendem Glycerin-Phosphatpuffer beschichtet waren. Nach fünf bis zehn Minuten Reaktionszeit bei

Raumtemperatur wurden im Fluoreszenzlicht eines Fluoreszenzmikroskops mit DAPI-Filter die Zellen fokussiert und mit der Digitalkamera des Mikroskops fotografiert.

### 2.2.3 Erfassung luftgetragener Mikroorganismen aus der Stallluft

Die Erfassung der luftgetragenen Mikroorganismen in Stall- und Außenluft erfolgte mit dem unter 2.1.2.1 vorgestellten AGI-30 Impinger. Die Impinger für die Feldprobenahmen wurden im Labor unter sterilen Bedingungen mit 50 ml Glycerin-Phosphatpuffer befüllt und mit Stopfen verschlossen. Der Transport der Impinger vor und nach den Probenahmen fand bei 4 ° bis 8 °C in Kühlboxen statt.

Zur Ermittlung der Anzahl luftgetragener Mikroorganismen in der Stallluft des frei gelüfteten Stalles A wurden zwei bis drei aufeinander folgende Proben zentral im Stall in 1,5 m Höhe genommen. Die Ansaugöffnung stand im 90° Winkel quer zu den geöffneten Seitenwänden und somit auch quer zur Luftstromrichtung im Stall, wodurch eine ungünstige Anströmung der Ansaugöffnung von hinten vermieden wurde. Die Abbildung 2.9 zeigt die Messanordnung in der Mitte des Stalles in der zweiten Mastwoche.



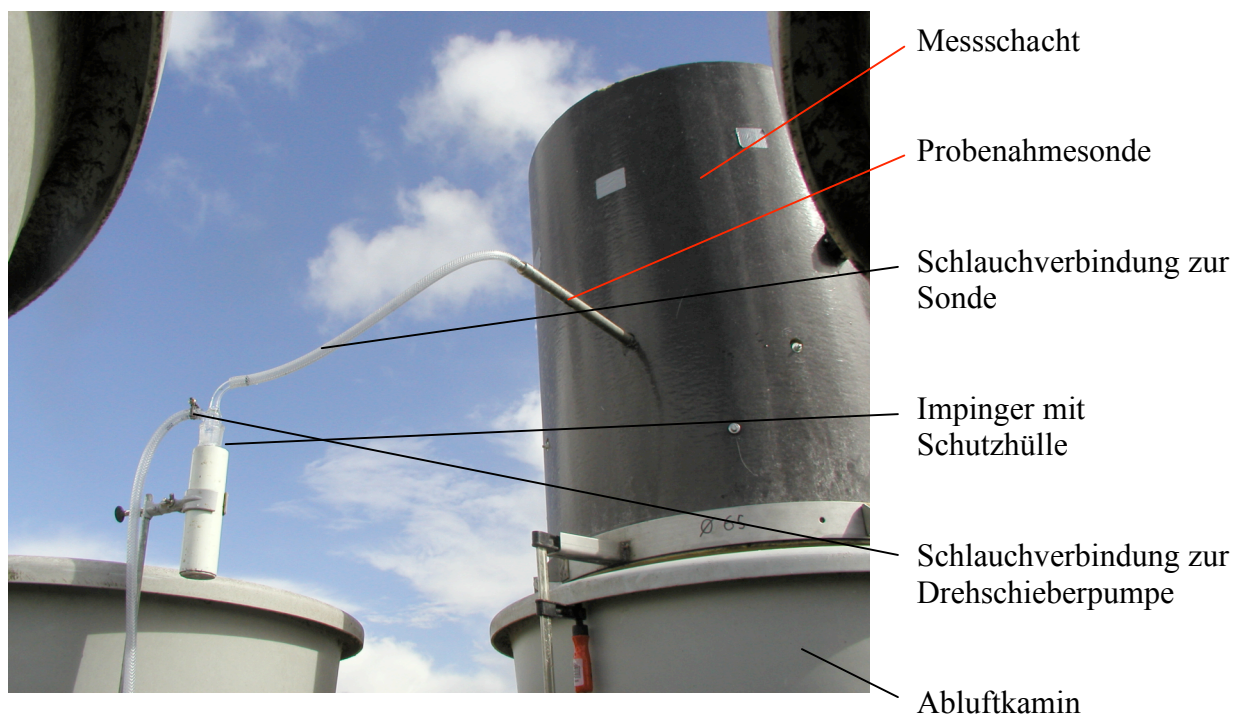
**Abb. 2.9: Messanordnung im freigelüfteten Stall A mit AGI- 30 Impinger.**

Die Impinger wurden über Schlauchverbindungen an Drehschieberpumpen angeschlossen, mit deren Hilfe die Probenluft durch den Sammelpuffer gesogen wurde. Zwischen Impinger und Pumpe wurden selbstgebaute, mit Trockenperlen gefüllte Nassabscheider zum Schutze der Pumpen vor Feuchtigkeit eingesetzt. Die Probezeit im Stall betrug 30 Minuten bei einer Durchflussrate von  $12 \pm 0,5$  l/min. Die Durchflussrate wurde zu Beginn und mit Beendigung der Messung mit einem Strömungsmesser (Genauigkeit 0,5 l/min) kontrolliert. Die



Messungen erfolgten, bis auf einige Ausnahmen im Herbst und Winter, grundsätzlich parallel zu Außenluftmessungen, um einerseits die Quellstärke des Stalles kalkulieren zu können und andererseits Indikatormikroorganismen für die Ausbreitung der aus der Stallluft stammenden Mikroorganismen bestimmen zu können.

Am zwangsbelüfteten Stall B wurden zur Ermittlung der Quellstärke der Stallluftkeime und für die Erfassung stallluftspezifischer Indikatorkeime Messungen direkt am Abluftkamin auf dem Stalldach durchgeführt. Dazu wurde eine Probenahmesonde in einen aufgesetzten Messschacht eingebaut, der auf einen Abluftkamin des Stalles aufgesetzt wurde (vgl. hierzu auch die Schemazeichnung Abb. 2.7). Abbildung 2.10 zeigt die Messanordnung auf dem Dach des Stalles.



**Abb. 2.10: Impingerprobenahme am Messschacht des Stalles B.**

Es wurde jeweils 30 Minuten lang Probenluft aus dem Abluftstrom durch einen Impinger geleitet. Die Beprobungen fanden parallel zu jeder Messkampagne in der Außenluft der Umgebung des Stalles B statt. Die Durchflussraten wurden unmittelbar vor und nach den Probenahmen kontrolliert, indem der Strömungsmesser zwischen Impinger und Schlauchverbindung der Sonde geschaltet wurde.

Nach den Probenahmen wurden die Impinger wieder mit sterilen Stopfen verschlossen, gekühlt zum Labor transportiert und dort aufgearbeitet. Im Labor wurden die Impinger kurz auf dem Vortex geschüttelt und Aliquote für Verdünnungsreihen abgenommen. Aus den einzelnen Stufen der Verdünnungsreihen wurde je dreimal auf Dichloran-Glycerol (DG18)-Agar, auf Blut-Agar-Basis und auf Mannit-Kochsalz-Agar ausplattiert. Mit DG18 wurde die

Anzahl von Schimmelpilzen und Hefen bestimmt, indem sie bei 25 °C bebrütet und nach 72 h sowie nach 120 h ausgezählt wurden. Die Gesamtkeimzahl mesophiler Bakterien wurde nach 24 und 48 Stunden Bebrütung bei 36 °C auf Blut-Agar-Basis erfasst. Zur Kultivierung von Staphylokokken wurde Mannit-Kochsalz-Agar für 24 h bis 48 h bei 36 °C bebrütet.

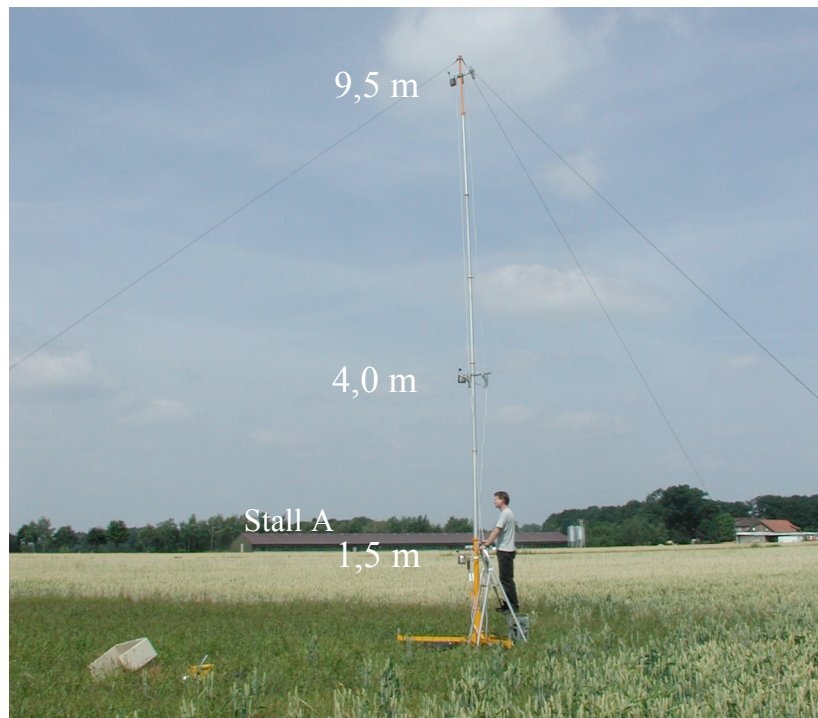
Die Konzentration (C) in KBE/m<sup>3</sup> wurde nach folgender Gleichung (4) berechnet:

$$C = 1000 \times \frac{KBE}{\text{Durchflussrate in l} \times \text{min}^{-1} \times \text{Sammelzeit in min}} \times \frac{V_{\text{Puffer nach Sammlung}}}{V_{\text{ausplattiertes Aliquot}}} \quad (4)$$

Aufgrund der standardisierten Haltungsbedingungen sind die Einzeltiergewichte eng an das Tieralter gekoppelt (KTBL, 2005). Daher wurden die Keimzahlen in der Stallluft über den Mastverlauf in Abhängigkeit vom Tieralter dargestellt. Dies hatte die Vorteile, dass die Tiergewichte im Stall nicht extra bestimmt werden mussten und, dass die Ergebnisse mit Literaturwerten direkt verglichen werden konnten.

#### **2.2.4 Erfassung luftgetragener Mikroorganismen im Außenbereich der Ställe**

Außerhalb der Ställe A und B wurden die luftgetragene Mikroorganismen mit Hilfe von Wettermasten in Höhen von 1,5 m, 4,0 m und 9,5 m gemessen. Die zeitgleichen Messungen in verschiedenen Höhen sollten Informationen über die Verteilung der Mikroorganismen in der Vertikalen des Windfeldes liefern, wobei 1,5 m die durchschnittliche Einatemhöhe des Menschen darstellt und mit annähernd 10 m eine praktische Messhöhe aus der Meteorologie gewählt wurde. Die Abbildung 2.11 zeigt einen im Vordergrund von Stall A mit Spannseilen gesicherten Wettermasten, an dem in drei Messhöhen je zwei PVC behüllte Impinger arretiert wurden. Die Kunststoffummantelungen diente zur Abschirmung Glas transmittierender UV-A Strahlung (CHAPPLE et al., 1992).



**Abb. 2.11: Probenahme in drei Messhöhen mit Hilfe eines Wettermasten am Stall A.**

Diese Masten wurden an dem jeweiligen Messtag in Windrichtung auf der Leeseite und an einem Referenzmessort auf der Luvseite eines Stalles errichtet. Aufgrund des hohen Zeitbedarfes für den Aufbau der Masten, die Arretierung der Probenahmegeräte und die Herstellung der Energieversorgung zur Betreibung der für die Probenahme notwendigen Unterdruckpumpen konnten maximal drei Messmasten an einem Messtag eingesetzt werden. Die Entfernungen und Lagen der Messmasten im Verhältnis zu den Ställen wurden mit dem unter 2.1.2.4 beschriebenen Tachymeter bestimmt. Dazu wurde ein Prisma an einer Stallkante montiert und die Entfernungen sowie die Winkel in Bezug zur Nordrichtung relativ zum Prisma von den Messorten aus gemessen. Diese Messdaten wurden mit Hilfe eines AutoCAD 2000 Programms in elektronische Liegenschaftskarten übertragen, in der die Ställe und ihre Umgebung abgebildet sind. Die Abbildungen 5 und 6 im Anhang zeigen die bearbeiteten Liegenschaftskarten mit den ermittelten Lagen und Entfernungen der Messorte zu den Ställen. Die elektronischen Liegenschaftskarten wurden von den Katasterämtern Celle und Aurich geordert und geben Entfernungen auf einen Dezimeter genau wieder. Aus den relativen Lagen der Messorte zum Stall und den während der Messungen bestimmten Windrichtungen mit der unter 2.1.2.2 beschriebenen Wetterstation ließen sich auch die Abweichungen der Messorte in Grad ( $^{\circ}$ ) von den jeweiligen Hauptwindrichtungen mittels des AutoCAD 2000 Programms auf einen Grad genau bestimmen.

Wegen häufig stark wechselnder Windverhältnisse am Stall B im Landkreis Aurich wurde das Probenahmefeld auf der Leeseite des zwangsbelüfteten Stalles breiter angelegt. Dazu wurden zusätzliche Messorte mit Stativen eingerichtet, an denen in 1,5 m Höhe gemessen wurden. Abbildung 2.12 zeigt einen solchen Messort.



**Abb. 2.12: Impinger an einfachem Stativ im Messfeld des Stalles B. Lufteinlass des Impingers in 1,5 m Abstand zum Boden.**

Die größere Anzahl an Messorten erhöhte die Wahrscheinlichkeit des Immissionsnachweises, erforderte allerdings einen erheblichen Zusatzaufwand an Material und Zeit. Daher wurde auf die Errichtung eines zweiten Messmastes auf der Leeseite des Stalles B verzichtet.

Nach der Positionierung der Impinger wurden die Außenmessungen zeitgleich gestartet. Die Probenahmedauer betrug in der Außenluft 90 Minuten. Die Probenaufarbeitung, Kultivierung und Quantifizierung der Mikroorganismen wurde in gleicher Weise wie unter 2.2.3 beschrieben durchgeführt.

### **2.2.5 Senkung der Nachweisgrenze für die in der Außenluft gesammelten Mikroorganismen**

Während des 90 Minuten langen Betriebes der Impinger an der Außenluft gingen bis zu 20 ml des Sammelpuffers durch Tröpfchenbildung und Verdunstung im Impinger verloren. Die Nachweisgrenze bei einem minimalen Restvolumen des Sammelpuffers von 30 ml betrug für Bakterien  $300 \text{ KBE/m}^3$ , da 0,1 ml des Puffers ausplattiert wurden. Die Nachweisgrenze für Schimmelpilze bzw. Hefen betrug  $60 \text{ KBE/m}^3$ , weil auf DG18-Agar 0,5 ml ausplattiert werden konnten (vgl. hierzu Formel 3 in 2.2.2). Für die Analyse der auf der Luvseite der Ställe genommenen Proben wurde die Nachweisgrenze gesenkt, um weitgehend ausschließen zu

können, dass die für die Ausbreitung aus den Ställen herangezogenen Indikatororganismen bereits in der Luft vorhanden waren. Dafür wurde ein Membranzentrifugationsverfahren verwendet, mit dem Mikroorganismen aus dem Sammelpuffer der Impinger bei einer Wiederfindungsrate von 95% (Herstellerangabe) aufkonzentriert wurden. 20 ml des Sammelpuffers wurden dazu in ein Vivaspin-20-Röhrchen (Porengröße 0,2 µm) mit einer Polyethersulfonmembran überführt und sechs Minuten lang bei 4000 rpm in der Labofuge 400R ultrafiltriert. Das im Röhrchen verbliebene Restvolumen von 50 µl wurde mit 950 µl PBS-Puffer ergänzt und kurz auf dem Vortex gemischt. Je 0,1 ml davon wurde auf drei Mannit-Kochsalz-Medien und auf drei Blutagar-Basis-Medien ausplattiert. Die Nachweisgrenze für Bakterien lag dann bei ca. 15 KBE/m<sup>3</sup>.

### **2.2.6 Begleitende Untersuchungen zur Herkunft der aus dem Stall A emittierten Staphylokokken**

Durch qualitative Untersuchungen in Form von Abstrichproben wurde der Frage nachgegangen, welches die potentiellen Emissionsquellen für die in der Stallluft und in der Außenluft gefundenen Staphylokokken waren. Mittels steriler, in Phosphatpuffer getränkter Wattestäbchen wurden 10 Abstriche vom Absetzstaub des Stallinventars, 10 aus der verkoteten Einstreu, 5 aus dem Gefieder von Hühnern im Stall und jeweils einer von der Haut bzw. aus den Daunen von 10 Eintagsküken (vor der Einstallung) genommen. Für die Abstriche aus dem Gefieder und von der Haut der Hühner, war es notwendig die Tiere zunächst zu fixieren. Bei der Fixierung wurden Schutzkleidung, sterile Handschuhe und Filtermasken getragen, um die Übertragung von Bakterien durch den Probennehmer auf die Tiere zu vermeiden. Die Abstriche wurden im Nackenbereich und unter den Flügeln der Tiere vorgenommen, wobei das Wattestäbchen durch das Gefieder geführt und mehrfach über die Haut der Tiere gestrichen wurde.

Nach dem Abstreichen des Stallinventars und der Tiere wurden die Wattestäbchen direkt auf Mannit-Kochsalz-Agar ausgestrichen. Die Nährmedien wurden anschließend 24 bis 48 h lang bei 36°C bebrütet. Von den bebrüteten Nährmedien wurden insgesamt 70 Kolonien willkürlich ausgewählt und nach 2.2.7.2 bis zur Gattung *Staphylococcus* bestimmt. Dabei wurde darauf geachtet, dass Kolonien mit unterschiedlicher Morphologie und Pigmentierung aus unterschiedlichen Quellen erfasst wurden. Von angelegten Reinkulturen wurde anschließend mittels ITS-PCR oder durch den ID 32 Staph Test eine Bestimmung bis zur Art durchgeführt (vgl. 2.2.7.4 und 2.2.7.5).

## 2.2.7 Bestimmung der gesammelten Mikroorganismen

### 2.2.7.1 Bestimmungen von mesophilen Schimmelpilzen und Hefen

Die Bestimmung der Schimmelpilze bis zur Gattung erfolgte nach SAMSON und REENEN-HOEKSTRA (1988) sowie nach DE HOOG et al. (2000). Zunächst wurde das charakteristische Koloniewachstum auf DG18-Agar für fünf bis sieben Tage bei 25 °C beobachtet. Nach dem Einsetzen der Sporenbildung wurde bei vierhundertfacher bis eintausendfacher Vergrößerung unter dem Lichtmikroskop die Morphologie der Sporenträger, der Sporen sowie der Hyphen betrachtet. Zur Größenbestimmung von Strukturen wie Hyphen, Phialiden, Metulae, Vesikeln und Sporen wurde ein Objektmikrometer verwendet. Hefen wurden durch ihr charakteristisches Wachstum auf DG18-Agar und über ihre typischen Zellformen mikroskopisch bestimmt, jedoch i. d. R. nicht weiter differenziert.

### 2.2.7.2 Bestimmungen der Staphylokokken bis zur Gattung

Staphylokokken aus Luft- oder Abstrichproben wurden auf Mannit-Kochsalz-Agar angezogen. Zur Bestimmung der Gattung wurden zunächst die Morphologie der Zellen bzw. Zellhaufen einer Kolonie unter dem Lichtmikroskop bei 1000-facher Vergrößerung betrachtet. Lagen Kokken oder Haufenkokken vor, wurde die Katalasereaktion mit einer 3 %igen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Lösung auf einem Objektträger getestet. Da dieser Nachweis als Bestimmungsmerkmal herangezogen wurde, konnten die Katalase negativen Arten *S. saccharolyticus* und *S. aureus* subsp. *anaerobius* (KLOOS et al., 1992) bei der weiteren Differenzierung nicht berücksichtigt werden. Katalase positive Kokken wurden zur Anreicherung auf Blutagar überimpft. Nach der Kultivierung der überimpften Bakterien wurde die Gram-Färbung nach BAST (1999) und der Bactident Oxidase Test nach Angabe des Herstellers durchgeführt. Gram-positive, Katalase positive und Oxidase negative Kokken wurden der Gattung *Staphylococcus* zugeordnet. Kokken mit den gleichen Eigenschaften, aber einer Oxidase positiven Reaktion wie *S. sciuri*, *S. lentus* und *S. caseolyticus*, die Cytochrome vom Typ C besitzen, wurden mit dem Enzym Lysostaphin nach FRENEY et al., (1999) auf die Lysostaphin Suszeptibilität hin getestet. Entgegen des Protokolls von FRENEY et al. wurde die hergestellte Zellsuspension direkt auf Blutagar-Basis ausgespatelt. Die Endopeptidase greift die Interpeptidbrücke des Peptidoglycans von Staphylokokken an (KLOOS et al., 1992), was im Bereich der aufgetropften Enzymlösung zu sichtbaren Hemmzonen im Bakterienrasen führt. Oxidase positive Bakterien, deren Wachstum deutlich durch Lysostaphin inhibiert wurde, wurden daraufhin ebenfalls der Gattung *Staphylococcus* zugeordnet.

### 2.2.7.3 Nachweis von *S. aureus* durch den „clumping factor“

Alle bis zur Gattung bestimmten Staphylokokken wurden auf die Präsenz von *S. aureus* Stämmen hin untersucht. Der Nachweis erfolgte über ein in der Zellwand von *S. aureus* vorkommendes Adhäsins, das auch als „clumping factor“ bezeichnet wird, mit dem Staphylase Test Kit DR595. Dazu wurde etwas Material von Mannit verwertenden Kolonien mit einer ausgeglühten Platinöse vom Nährmedium genommen und mit Fibrinogen beschichteten Schaferythrozyten auf den Testfeldern des Test Kit vermischt. Bei Anwesenheit des „clumping factors“ agglutinieren die Erythrozyten, weil eine Domäne des Adhäsins an Fibrinogen bindet. Neben der negativen Kontrolle des Testes wurde stets eine positive Kontrolle von *Staphylococcus aureus* (DSMZ Nr.1104) mitgeführt, anhand derer die Reaktionsfähigkeit des Testes überprüft werden konnte.

### 2.2.7.4 Identifizierung von Staphylokokken mit dem ID 32 STAPH Test

Mit dem ID 32 STAPH Test können 32 *Staphylococcus* Arten und einige Unterarten sowie Bakterien der Gattungen *Micrococcus*, *Stomatococcus*, und *Aerococcus* anhand von 26 biochemischen Reaktionen bestimmt werden. Zur Identifizierung der Staphylokokken wurden ausgewählte Kolonien auf Blutagar-Basis Medium angezogen, anschließend entnommen und in demineralisiertem Wasser suspendiert. Mittels eines Spectrophotometers UV 1602 wurde eine O. D. der Suspension von 0,125 bei 550 nm eingestellt. Nach der Einstellung der O. D. erfolgte gemäß der Testvorschriften des ID 32 STAPH Testes die Herstellung der Reaktionsansätze. Die aus den Reaktionen hervorgegangenen Farbreaktionen in den Feldern der Teststreifen wurden anhand einer Farbskala des Herstellers mit positiv oder negativ bewertet. Die Artbestimmung erfolgte dann über die Auswertung der Ergebnisse mit der APILAB Plus Software vom Testhersteller.

### 2.2.7.5 Identifizierung von Staphylokokken durch die Amplifikation der 16S-23S rDNA „internal transcribed spacer“ Region und durch die Restriktion der PCR-Produkte

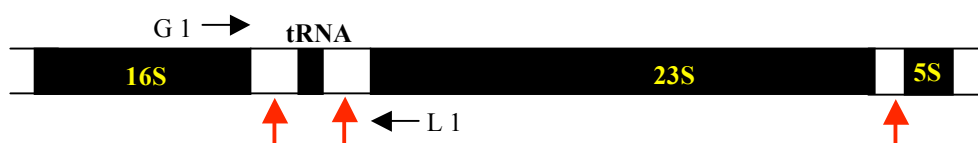
Ein Teil einer auf Blutagar Basis oder Mannit-Kochsalz-Agar angezogenen Staphylokokkenkolonie wurde mit einem sterilen Zahnstocher in ein 0,2 ml PCR Reaktionsgefäß überführt. Die Bakterien wurden mit 5 µl Zellaufschlusspuffer überschichtet und in einem Mastercycler gradient bei geschlossenem Deckel 30 min lang bei 37 °C inkubiert. Danach wurden 5 µl eines GeneReleaser zum Reaktionsansatz gegeben und das Thermocyclerprogramm für den Aufschluss von Bakterien nach Angaben des Herstellerprotokolls gefahren. Während des Aufschlusses wurde der Deckel des

Mastercyclers auf 105°C beheizt, um der Evaporation in den Reaktionsgefäßen entgegenzuwirken. Nach Beendigung des Programms standen die Aufschlussproben für die PCR zur Verfügung.

Zu den 10 µl Proben aus dem Zellaufschlussverfahren wurden 40 µl eines Mastermix mit folgender Zusammensetzung zupipettiert:

- 5 µl 10x Taq Puffer incl. Mg<sup>2+</sup>
- 10 µl Taq Master
- 1 µl Primer L1 (100 pmol/µl)
- 1 µl Primer G1 (100 pmol/µl)
- 1 µl dNTP-Mix (200 µM von jedem dNTP)
- 0,5 µl Taq Polymerase (2,5 U)
- 21,5 µl bi-dest. H<sub>2</sub>O

Die Primer L1 (5'- GAA GTC GTA ACA AGG - 3') und G1 (5' - CAA GGC ATC CAC CGT - 3') binden an hoch konservierten Regionen der 16S bzw. der 23S rDNA und ermöglichen die Amplifikation der variablen „internal transcribed spacer“ Regionen von Staphylokokken und anderer Gattungen (GÜRTLER und BARRIE, 1995). Abbildung 2.13 zeigt die Bindestellen der Primer im rRNA Operon.



**Abb. 2.13: Schematische Darstellung des rRNA Operons mit den Bindestellen für die Primer G1 und L1 zur Amplifikation der ITS Region. Die roten Pfeile deuten Positionen variabler Sequenzen an.**

Nachdem die Reaktionsansätze aus dem Mastermix für die Amplifikation zu den Proben gegeben wurden, erfolgten das Vorheizen des Thermocyclerdeckels auf 105°C und der anschließende Start des folgenden PCR-Programms:

PCR-Programm	
Schritt 1	Initiale Denaturierung, 2 min bei 95°C
Schritt 2	Denaturierung, 30 sek bei 95°C
Schritt 3	Annealing, 2 min bei 47°C



PCR-Programm	
Schritt 4	Elongation, 2 min bei 72°C
Schritt 2 bis 4	26 Zyklen
Schritt 5	Finale Elongation, 10 min bei 72°C
Schritt 6	Runterkühlen und halten bei 4°C

Für die Auftrennung der amplifizierten PCR-Produkte eigneten sich Agarosegele in einer Endkonzentration von 3 %. 1,5 g IGM Agarose wurden in 50 ml 1x TBE Puffer gekocht und nach dem Abkühlen auf 50°C - 60°C blasenfrei in eine Gelkammer gegossen. Nach dem Erstarren des Gels wurde die Gelkammer mit 1x TBE Puffer gefüllt, bis der Puffer einige Millimeter über dem Gel stand. 7 µl aus dem PCR Produkt wurden mit 3 µl Gelladepuffer gemischt und in die Geltaschen pipettiert. Zur Längenbestimmung der Fragmente wurden neben den Proben 5 µl des peqGold 100 bp DNA-Leiter Längenstandards oder 5 µl des F-303SD Längenstandards von Finnzymes aufgetragen. Die Auftrennung der Fragmente erfolgte 3 Stunden lang bei einer Gleichspannung von 5 V/cm.

Nach der Auftrennung der PCR-Produkte wurden die Gele in 1x TBE Puffer, der 0,5 µg/ml Ethidiumbromid enthielt, für 20 bis 30 Minuten gefärbt. Im Anschluss an die Färbung wurden die Gele kurz mit Wasser abgespült und auf dem Transilluminator eines BioDocAnalyse-Systems gelegt. Es erfolgten die Bildeinstellungen über die BioDocAnalyse Software und die Bildaufnahmen einschließlich der Speicherung der digitalen Bilder. Die Bandenmuster auf den Gelfotos wurden zur Identifizierung der Arten mit den Bandenmustern von *Staphylococcus* Stämmen aus der DSMZ verglichen.

In einigen Fällen konnten die Amplifikate der 16S-23S rDNA „internal transcribed spacer“ Region nicht eindeutig einer Art zugeordnet werden. Zur Identifizierung dieser Arten wurden die PCR-Produkte mit einem Restriktionsenzym geschnitten. Das erforderte zunächst die Trennung der genomischen DNA von den PCR-Produkten im Reaktionsansatz. Mit einem MinElute PCR Purification Kit wurde nach dem Protokoll des Herstellers die PCR-Produkte über eine Trennsäule isoliert und aufgereinigt. Dazu wurden 30 µl aus dem Reaktionsansatz der PCR eingesetzt. Im letzten Schritt des Protokolls wurde die amplifizierte DNA mit reinem H<sub>2</sub>O von der Säule eluiert, da Puffer, wie z. B. TE-Puffer, in denen DNA üblicherweise gelöst wird, EDTA enthalten, welches die Aktivität der Restriktionsenzyme inhibieren konnte. Die aufgereinigte DNA wurde bei -20 °C gelagert oder direkt für den Restriktionsverdau verwendet.

Als Restriktionsenzym diente Dra I (Qbiogene Inc., Irvine, Kanada) isoliert aus *Deinococcus radiophilus*. Für die Restriktion wurde folgender Reaktionsansatz in einem 0,2 ml sterilem und DNase freiem Reaktionsgefäß erstellt:

- 9 µl aufgereinigtes PCR-Produkt
- 1,1 µl 10x green buffer II von Qbiogene
- 1 µl Dra I (10 U/µl)

Der Ansatz wurde für 90 min. bei 37°C inkubiert und zum Stoppen der Reaktion für weitere 30 min auf 85 °C temperiert. Zur Einschränkung der Verdunstung wurden die Ansätze im Thermocycler bei geschlossenem und beheiztem Deckel erwärmt. Die Deckeltemperaturen lagen jeweils 10 °C über den für die Reaktionen eingestellten Blocktemperaturen. Zur Auswertung wurden 5,5 µl Probe aus dem Restriktionsansatz mit 2,5 µl Bromphenolblau gemischt und in der Agarosegelelektrophorese eingesetzt. Die Elektrophorese, Färbung und Detektion der Banden im Gel, erfolgte nach der in diesem Kapitel bereits beschriebenen Vorgehensweise.

### 2.2.8 Statistik

Zur Darstellung der deskriptiven Statistik und für statistische Berechnungen wurden das Statistikprogramm STATISTICA Version 5.1 und das Tabellenkalkulationsprogramm Excel aus der Microsoft Office Version 2004 verwendet. Die verwendeten statistischen Tests wurden auf der Grundlage von SACHS (2004) durchgeführt.

### 2.2.9 Berechnung der Staphylokokkenausbreitung mit einem Gaußschen Ausbreitungsmodell

Abiotische Faktoren in der Außenluft können zu Verlusten der Vermehrungsfähigkeit von luftgetragenen Keimen führen (vgl. 1.3). Inwieweit dies für die von den Ställen ausgehenden Staphylokokken gilt ist fraglich. Darüber sollte der Vergleich von gemessenen Staphylokokkenkonzentrationen in der Hauptausbreitungsrichtung mit prognostizierten Konzentrationen eines Gaußschen Ausbreitungsmodells Aufschluss geben. Mit Gaußmodellen kann die Ausbreitung von Mikroorganismen aus bodennahen Emissionsquellen in ebenen und wenig strukturierten Geländen, wie am Stall A und B gegeben, berechnet werden (LIGHART und FRISCH, 1976; MÜLLER et al., 1978).

MÜLLER und WIESER (1987) validierten solch ein Modell und kamen zu guten Übereinstimmungen zwischen Mess- und Rechenwerten in Entfernungen von etwa 50 bis 200 m zu einem Legehennenstall. Daher wurde eine Computerversion (TALIP V 1.2, Ingenieurbüro T. Lung, Berlin) eines nach den gleichen Prinzipien arbeitenden Gaußmodells in dieser Arbeit eingesetzt.

Wie allen Gaußfahnenmodellen liegt diesem Modell eine analytische Lösung der Advektions-Diffusionsgleichung zugrunde. Zur Vertiefung der physikalischen-mathematischen Grundlagen dieses Modells wird an dieser Stelle auf die VDI-Richtlinie 3782, Blatt 1, auf einen Buchbeitrag von MÜLLER und WIESER (1987) und auf das Handbuch des hier verwendeten Modells hingewiesen (LUNG, 2004). Die Lösung der Advektions-Diffusionsgleichung lautet:

$$\bar{c}(x, y, z) = \frac{Q}{2\pi \cdot \bar{u} \cdot \sigma_y \cdot \sigma_z} \cdot \exp\left\{-\frac{y^2}{2 \cdot \sigma_y^2}\right\} \cdot \left[ \exp\left\{-\frac{(z-h)^2}{2 \cdot \sigma_z^2}\right\} + \exp\left\{-\frac{(z+h)^2}{2 \cdot \sigma_z^2}\right\} \right] \quad (5)$$

Für das verwendete Modell bedeuten:

x,y,z	kartesische Koordinaten der Aufpunkte in Ausbreitungsrichtung (x), senkrecht zur Ausbreitungsrichtung horizontal (y) und vertikal (z)
$\bar{c}(x,y,z)$	Bakterienkonzentration in KBE/m <sup>3</sup> am Aufpunkt (Immissionsort)
z	Höhe des Aufpunktes über dem Boden in m
Q	Quellstärke der Bakterien in KBE/h
h	effektive Quellhöhe in m
$\sigma_y \sigma_z$	horizontale und vertikale Ausbreitungsparameter
$\bar{u}$	Windgeschwindigkeit in m/sec

Für die Keimausbreitungsrechnungen mit dem Computermodell wurden z, Q, h, und  $\bar{u}$  eingegeben. Die Ausbreitungsparameter  $\sigma_y$  und  $\sigma_z$  sind bereits im Modell vorgegebene Größen, deren Zahlenwerte allerdings von der Eingabe der im Berechnungszeitraum vorherrschenden Ausbreitungsklasse abhängen. Diese Ausbreitungsklassen nach Klug/Manier (VDI 3782) wurden vom Deutschen Wetterdienst bezogen. Es wird in fünf Ausbreitungsklassen eingeteilt. Klasse I bedeutet eine sehr stabile, Klasse II eine stabile, Klasse III eine indifferente, Klasse IV eine labile und Klasse V eine sehr labile atmosphärische Schichtung. Die Ausbreitungsklassen werden in Stundenmittelwerten

geliefert. Zum Vergleich von Messungen und Modellwerten wurde die zum Zeitpunkt der Messungen vorherrschende mittlere Ausbreitungsklasse sowie die mit der Wetterstation erfassten mittleren Windgeschwindigkeiten und Windrichtungen in das Modell eingegeben. Des Weiteren wurde die Lage der Emissionsquelle für die Darstellung der Keimausbreitung in einem Flächenraster angegeben.

Zur Bestimmung der Quellstärken (Q) wurden zunächst die mittleren Staphylokokkenkonzentrationen in der Luft von Stall A und B berechnet, die während der Messungen in Hauptausbreitungsrichtung vorlagen. Das heißt, dass sich die folgenden Angaben überwiegend auf die vierte und fünfte Mastwoche beziehen. Für Stall A ergaben sich  $5,11 \cdot 10^6$  KBE/m<sup>3</sup> und für Stall B  $2,74 \cdot 10^6$  KBE/m<sup>3</sup>. Diese Konzentrationen wurden zur Quellstärkenbestimmung mit denen nach DIN 18190-1:2004 berechneten Sommerluftvolumenströmen für Masthühner multipliziert, da die Lüftungssteuerungen in beiden Ställen nach dieser Richtlinie ausgelegt sind. Für Stall A ergab sich aufgrund des mittleren Gewichtes der Tiere (1,25 kg/Tier) ein Volumenstrom von  $3,9 \text{ m}^3/\text{h} \cdot \text{Tier}$  und somit für 39 000 Tiere ein Gesamtvolumenstrom von  $152\,100 \text{ m}^3/\text{h}$ . Multipliziert mit der Staphylokokkenkonzentration beträgt Q dann  $7,772 \cdot 10^{11}$  KBE/h. Im Stall B waren im Mittel 27 500 Tiere mit knapp 1,5 kg Körpergewicht aufgestellt. Nach DIN erhält man einen Volumenstrom von  $4,5 \text{ m}^3/\text{h} \cdot \text{Tier}$  und somit einen Gesamtvolumenstrom von  $123\,750 \text{ m}^3/\text{h}$ . Dieser, multipliziert mit der Anzahl an Staphylokokken in der Stallabluft von Stall B, ergibt Q mit  $3,391 \cdot 10^{11}$  KBE/h.

Im Fall von Stall A handelt es sich um eine bodennahe Linienquelle, bei der noch die Gebäudegeometrie für die Ausbreitungsrechnung berücksichtigt wurde. Es wurden eine Länge von 112 m, eine Breite von 16 m, eine Höhe von 6,2 m und die Lage der Längsachse des Gebäudes (+ 6°) im Verhältnis zur Nordrichtung (0°) im Modell berücksichtigt. Als Quellhöhe wurde am Stall A die mittlere Gebäudehöhe angesetzt. Beim Stall B brauchten keine Gebäudedaten berücksichtigt werden, da die Entlüftung über konzentriert angeordnete Abluftschächte eine Punktquelle darstellt. Die Quellhöhe wurde entsprechend der Austrittshöhe der Abluft an den Schächten mit 7 m über dem Boden angegeben. Als Stoffart wurde in den Grundeinstellungen des Rechenprogramms Schwebstaub angegeben, da Bakterien in der Stallluft überwiegend staubgebunden vorliegen oder sich wie Staubpartikel in der Luft verhalten.

Nach Eingabe der Daten für den jeweiligen Stall in das Programm des Ausbreitungsmodells wurden die Ergebnisse der Ausbreitungsrechnungen in Zahlenwertgrafiken dargestellt (vgl.

Abb. 7 und 8 im Anhang). Aus den Grafiken wurden die Staphylokokkenkonzentrationen in definierten Abständen zu den Emissionsquellen der Ställe zeichnerisch ermittelt. Dazu wurden am Stall A die mittlere Konzentration der Werte mit einer Abweichung von  $\pm 7^\circ$  und am Stall B die mittleren Werte mit einer Abweichung von  $\pm 9^\circ$  zur Achse der Hauptwindrichtung herangezogen (vgl. Tab. 14 und 15 im Anhang). Dies diente der Vergleichbarkeit von Modell- und Messwerten, denn die mittleren Abweichungen der Messorte von der Hauptwindrichtung betrugen während der Keimzahlbestimmungen am Stall A  $7^\circ$  und am Stall B  $9^\circ$ . Aus denen mit zunehmender Entfernung zu den Ställen A und B resultierenden Staphylokokkenabnahmen wurden die Funktionen berechnet und miteinander verglichen.

Neben der Bestimmung der Keimabnahme und der Verfrachtungsentfernung von Staphylokokken in Hauptwindrichtung von den Ställen aus, konnte mit dem Ausbreitungsmodell auch die mittlere Keimbelastung im Umfeld von Stall A über mehrere Monate berechnet werden. Dazu wurde vom Ingenieurbüro Lung in Berlin eine Zeitreihe zur Verfügung gestellt. Sie beinhaltete die Stundenmittel der Windrichtung, Windgeschwindigkeit und Ausbreitungsklassen, die über den Zeitraum vom 01.05.2003 bis einschließlich des 30.09.2003 am Stall A vorherrschten. Die Zeitreihe und die in 3.2.7 ermittelte durchschnittliche Quellstärke der aus dem Stall stammenden Staphylokokken wurden in das Ausbreitungsmodell eingegeben. Die Ausbreitung der Staphylokokken in der Umgebung des Stalles wurde zur Veranschaulichung in ähnlicher Weise wie bei Immissionskatastern mit einer Computergrafik des Ausbreitungsmodells simuliert.

## 3 Ergebnisse

Den Ergebnissen aus den Felduntersuchungen werden zunächst Befunde aus Vorversuchen, die im Labor durchgeführt wurden, vorangestellt.

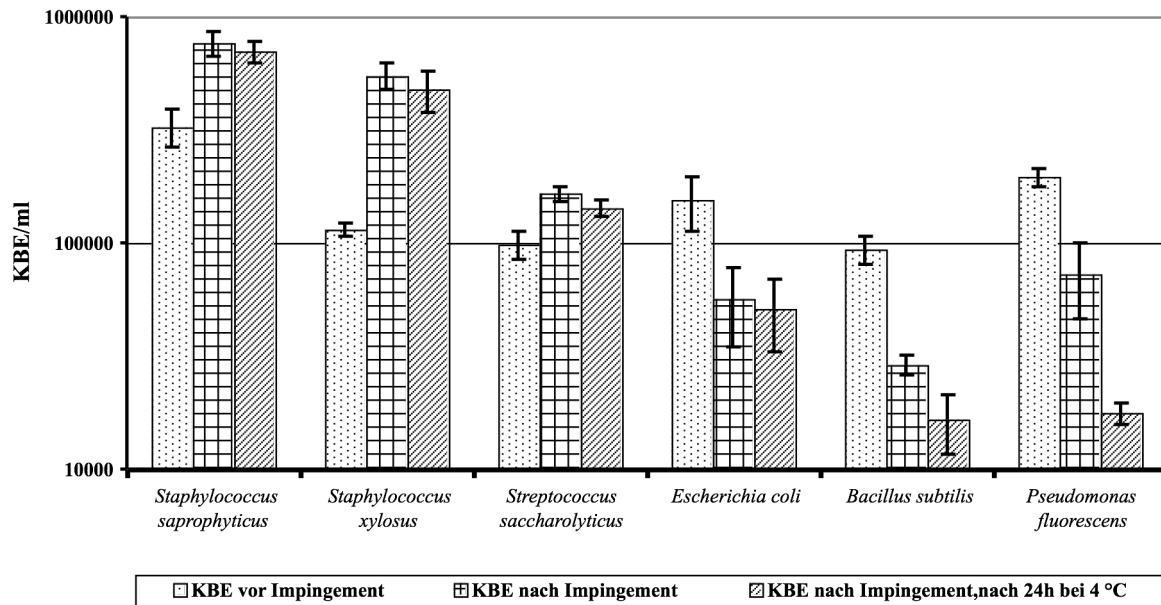
### 3.1 Ergebnisse aus Vorversuchen

Die Vorversuche (vgl. 3.1.1 und 3.1.2) wurden durchgeführt, um den Einfluss des in den Feldversuchen benutzten Impingement mit einem viskösen Sammelmedium auf die Überlebensfähigkeit von ausgewählten Bakterien (insbesondere Staphylokokkenspezies) zu prüfen.

#### 3.1.1 Glycerin-Phosphatpuffer als Sammelflüssigkeit in Impingern: Einfluss auf die Anzahl der KBE ausgewählter Bakterienarten

Der Einfluss einer viskösen Lösung (50%iges Glycerin- Phosphatpuffer-Gemisch (v/v) mit  $a_w = 0,77$ ) wurde auf die Anzahl der KBE ausgewählter Bakterien unter Laborbedingungen getestet. Es sollte festgestellt werden, ob die Verwirbelung des Sammelmediums bei der Durchströmung der Impinger mit keimfreier Luft und die anschließende Aufbewahrung des Mediums unter kühlen Bedingungen einen Einfluss auf die Überlebensfähigkeit ausgewählter Bakterienarten besaßen. Als Repräsentanten für Stallluft typische Bakterien wurden Arten aus den Gattungen *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Escherichia*, *Pseudomonas* und *Bacillus* im Sammelmedium der Impinger vorgelegt.

Die Koloniezahlen der Staphylo- und Streptokokken nahmen nach der 90 Minuten langen Luftdurchströmung der Impinger deutlich zu, während die mittleren Koloniezahlen von *E. coli* um 64%, von *B. subtilis* um 69% und von *P. fluorescens* um 63% zurückgingen (vgl. Abb.3.1). Ein zusätzlicher Eintrag von Bakterien in die Impinger über den sterilfiltrierten Luftstrom konnte ausgeschlossen werden, da in den Kontrollimpingern kein mikrobielles Wachstum feststellbar war. Die Abbildung 3.1 fasst die Befunde der vergleichenden Untersuchungen zusammen.

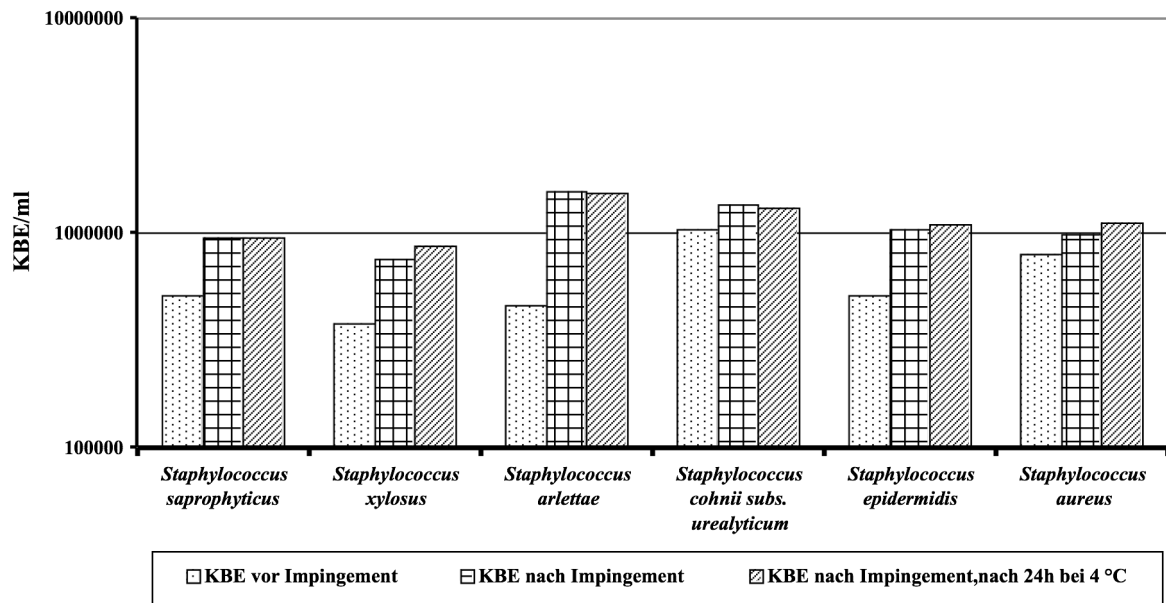


**Abb. 3.1: KBE aus n = 5 zeitgleich untersuchten Impingern pro Art vor, direkt nach sowie 24 Stunden (bei 4°C) nach der Durchströmung der Impinger mit keimfreier Luft.**

Mikroskopische Untersuchungen der Bakteriensuspensionen vor der Luftdurchströmung zeigten sowohl Einzelzellen als auch das Vorkommen von Zellaggregaten (Haufenkokken, Filamente) in den Proben. Nach der Durchströmung lagen fast ausschließlich Einzelzellen und Diplokokken vor. Die Zunahme von teilungsfähigen Einzelzellen bzw. Diplokokken wurde sehr wahrscheinlich durch die starke Verwirbelung des Sammelmediums infolge der mit hoher Geschwindigkeit einströmenden Luft verursacht. Möglicherweise führte dieser Prozess auch zu einer Beschädigung von stäbchenförmigen Zellen und somit zu einer Reduktion der KBE von *E. coli*, *B. subtilis* und *P. fluorescens*.

Für alle untersuchten Bakterienarten konnte Konzentrationsabfall nach der 24 Stunden langen Aufbewahrung der Proben bei 4°C beobachtet werden. Bei der Überprüfung der Gleichheit zweier Varianzen paariger Stichproben konnte jedoch keine signifikante Abnahme der KBE für Staphylokokken, Streptokokken oder *E. coli* festgestellt werden. Die Abnahme der Kolonienzahlen zeigte für *B. subtilis* lediglich auf dem 20% Niveau eine schwache Signifikanz, für *P. fluorescens* war sie allerdings noch auf dem 0,2% Niveau hoch signifikant.

Die Verwendung von Glycerin- Phosphatpuffer in Impingern besaß demnach einen Einfluss auf die Überlebensfähigkeit von Bakterien. Es wurden keine Absterbeeffekte bei den Gram-positiven Kokken beobachtet. Diese Feststellung wurde durch eine weitere Untersuchung untermauert, bei der sechs Staphylokokkenstämme, einschließlich der zwei zuvor schon getesteten Stämme, mit der gleichen Methode zeitgleich getestet wurden. Abbildung 3.2 zeigt das Ergebnis der Vergleichsmessung.



**Abb. 3.2: Koloniebildende Einheiten vor, nach und 24 Stunden (bei 4°C) nach dem Impingement aus 6 parallel getesteten Impingern, die mit jeweils einer Staphylokokken Art angeimpft wurden.**

Wie in Abbildung 3.1 konnte der Effekt der Zellaggregatzerschlagung bei allen *Staphylococcus* Stämmen durch die Zunahme der KBE nach der Durchströmung der Impinger mit sterilfiltrierter Luft festgestellt werden. Die Zunahmen waren in ihrer Höhe verschieden. So zeigte *S. arlettae* bei etwa gleicher Ausgangszahl vergleichsweise einen wesentlich deutlicheren Zuwachs an KBE als *S. saprophyticus*. Vermutlich lagen in den Impingern unterschiedlich große Zellaggregate der einzelnen Spezies im Sammelmedium vor, deren Auflösung durch die Verwirbelung des Mediums zu unterschiedlichen Zuwächsen führte.

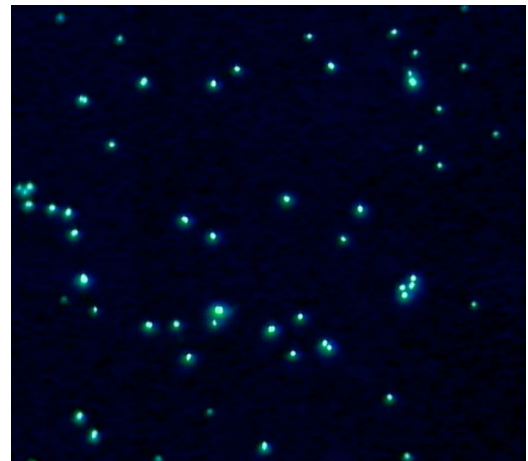
Eine Zunahme oder Abnahme der KBE nach 24 stündiger Aufbewahrung bei 4°C wurde nicht beobachtet. Die Prüfung des Erwartungswertes der Paardifferenzen auf Null zwischen der Anzahl der KBE nach dem Betrieb der Impinger und der Zahl der KBE nach einem Tag Aufbewahrung ergab keinen signifikanten Unterschied. Diesen Ergebnissen zufolge kann die Anzahl mit dem Impinger gesammelter Staphylokokken bei entsprechender Kühlung für mindestens 24 Stunden konstant gehalten werden.



### 3.1.2 Die Wiederfindungsrate luftgetragener kultivierbarer *Staphylococcus xylosus* Zellen in Glycerin-Phosphatpuffer befüllten Impingern

Zur Abschätzung inwieweit sich aus der Luft gesammelte *Staphylococcus xylosus* nach dem Beschleunigten Eintrag in den Impinger kultivieren lassen, wurde eine definierte Anzahl an kultivierbaren Zellen in Form von Einzelzellen oder Diplokokken in den Luftstrom einer Aerosolmessstrecke eingebracht. Ein bestimmtes Teilvolumen dieses Luftstromes wurde durch Glycerin-Phosphatpuffer befüllte Impinger geleitet, um die Wiederfindungsrate der KBE von *S. xylosus* zu bestimmen. Untersuchungen nach Methode 2.2.2 zeigten, dass die Bakterienzellen im Luftstrom tatsächlich nur in Form von Einzelzellen und Diplokokken vorlagen. Abbildung 3.3 zeigt beispielhaft die aus dem Luftstrom auf einem speziell präparierten Objektträger abgeschiedenen und angefärbten Zellen von *S. xylosus*. Ähnliche Bilder ergaben sich für alle parallel zu den Impingermessungen durchgeführten Untersuchungen.

Aus der bekannten Anzahl der in den Luftstrom eingebrachten Einzelzellen und Diplokokken hervorgehenden koloniebildenden Einheiten wurden die zu erwartenden Keimzahlen aus den Impingerproben berechnet. Diese wurden mit den tatsächlich in den Impingern gemessenen Keimzahlen verglichen und die Wiederfindungsrate bestimmt



**Abb. 3.3: Fluoreszierende Einzelzellen und Diplokokken aus dem Luftstrom der Aerosolmessstrecke.**

(vgl. auch 2.2.2 und Tab. 3 im Anhang). Folgende Tabelle 3.1 stellt die Ergebnisse der Keimzahlbestimmungen aus einer Messreihe gegenüber. Die Wiederfindungsrate und deren Standardabweichung werden in Prozent angegeben.

**Tabelle 3.1: Vergleich der im Luftstrom einer Aerosolmessstrecke erwarteten Keimzahl mit der gemessenen Keimzahl und der sich daraus ergebenden Wiederfindungsrate**

Versuch Nr.	gemessener Eintrag KBE/Impinger	erwarteter Eintrag KBE/Impinger	Wiederfindungsrate in %	mittlere Wiederfindungsrate in % und deren Stabw.
1	200 900	230 000	87	80 ± 9
2	171 500	239 426	72	
3	181 300	220 574	82	
4	151 900	230 000	66	
5	254 800	290 328	88	
6	188 650	248 852	76	
7	210 700	237 541	89	
Kontr.	0	0	-	-

Die Ergebnisse der Messreihe zeigen, dass in allen Fällen weniger koloniebildende Einheiten in den Impingern wieder gefunden wurden als erwartet werden konnten. Der Verlust an KBE schwankt zwischen 11 und 34 %, wobei ein mittlerer Verlust von 20 % festgestellt wurde. Die Ergebnisse beruhen auf einer kulturellen Bestimmung, bei der mindestens 200 Kolonien pro Platte gezählt werden konnten. Dadurch ergab sich für das 95%-Konfidenzintervall ein statistischer Fehler von maximal  $\pm 14\%$  für die Bestimmung der Koloniezahlen auf den Parallelplatten derselben Probe (BAST, 1999). Demnach kann der mittlere Keimverlust von 20% nicht allein auf einen Fehler bei der Bestimmung der KBE von *S. xylosus* zurückgeführt werden. Es ist daher nicht gänzlich auszuschließen, dass Zellen von *Staphylococcus* spp. beim Aufprall auf den Impingersammelpuffer Stress erfahren, der die Vermehrungsfähigkeit zumindest bei einem Teil der gesammelten Zellen verhindert. Wahrscheinlicher ist jedoch, dass beim Sammelprozess feine Tröpfchen im Impinger entstehen, die einzelne Zellen enthalten können und mit dem durch die Sammefflüssigkeit geleiteten Luftprobenstrom wieder ausgetragen werden (LIN et al., 1997). Die relativ geringe Standardabweichung von  $\pm 9\%$  deutet die gute Reproduktion der Ergebnisse innerhalb der Versuchsreihe an. Ein systematischer Fehler z. B. durch Impaktion der Bakterien auf Bauteilen wie Ionisatoren und Strömungsgleichrichter innerhalb der Messstrecke war aufgrund der Über- und Unterschreitungen der Messwerte nicht erkennbar.

## 3.2 Ergebnisse der Felduntersuchungen

### 3.2.1 Befunde in und am frei gelüfteten Masthühnerstall A

Mittels Impingern wurden Schimmelpilze, Hefen und Bakterien in der Luft und in der Umgebungsluft des Stalles A gemessen. Über einen Zeitraum von 11 Monaten (November 2002 bis September 2003) wurden Keimkonzentrationen in sechs verschiedenen Mastdurchgängen im Stall bestimmt, mit dem Zweck, die Emissionsquelle zu charakterisieren und die Quellstärke bestimmen zu können. In den Monaten März bis September 2003 wurden zeitgleich zu Messungen im Stall, die Keimimmissionen in der Umgebung des Stalles bestimmt. Es wurden 186 Außenluftproben aus drei Messhöhen (1,5, 4,0 und 10 m) ausgewertet, von denen im Folgenden die Keimkonzentrationen aus der Abluftfahne des Stalles und aus den zeitgleich durchgeführten luvseitigen Referenzmessungen zur Beschreibung der Ausbreitung herangezogen werden. Die Immissionsmessungen wurden an

11 verschiedenen, teilweise mehrfach beprobten, Messorten durchgeführt, die sich aufgrund der häufigen Westwindsituationen überwiegend auf der östlichen Seite des Stalles in einem weitgehend freien Windfeld befanden (vgl. Abb. 5 im Anhang)

Aus Stallluft- und parallel genommenen leeseitigen Außenluftproben von sechs Messtagen wurden Staphylokokken zur Überprüfung ihrer Herkunft bis zur Art bestimmt und miteinander verglichen. Ebenso wurden Staphylokokken im Rahmen von Begleituntersuchungen aus im Stall genommenen Abstrichproben differenziert, um potentielle Emissionsquellen dieser Bakterien auszumachen.

### 3.2.2 Konzentrationen luftgetragener Mikroorganismen in der Luft von Stall A

Die Abbildung 3.4 zeigt die Konzentrationsverläufe von Staphylokokken, von der Gesamtzahl mesophiler Bakterien sowie von Schimmelpilzen und Hefen über den Mastverlauf. Es wurden ein bis drei Proben an 18 Tagen aus verschiedenen Mastdurchgängen im Winter, Frühjahr und Sommer genommen. Im leeren und desinfizierten Stall lagen die Bakterienkonzentrationen unter der Nachweisgrenze (Alter 0 Tage). Nachweisbar waren lediglich Schimmelpilze in Größenordnungen zwischen 500 und 1 000 KBE/m<sup>3</sup>, die aufgrund der vollständig geöffneten Seitenwandjalousien auch aus der Außenluft stammen konnten.

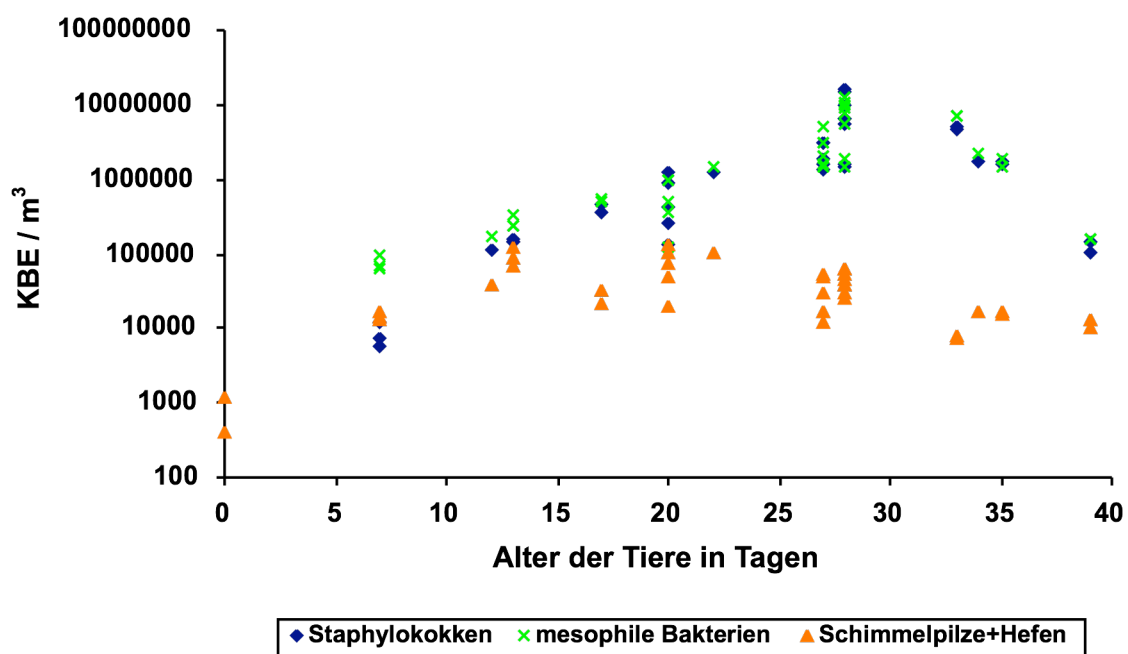


Abb. 3.4: Keimkonzentrationen in der Luft eines Masthühnerstalles mit freier Lüftung über 40 Tage vom Tag 0 (vor der Einstallung) bis zum Mastende.

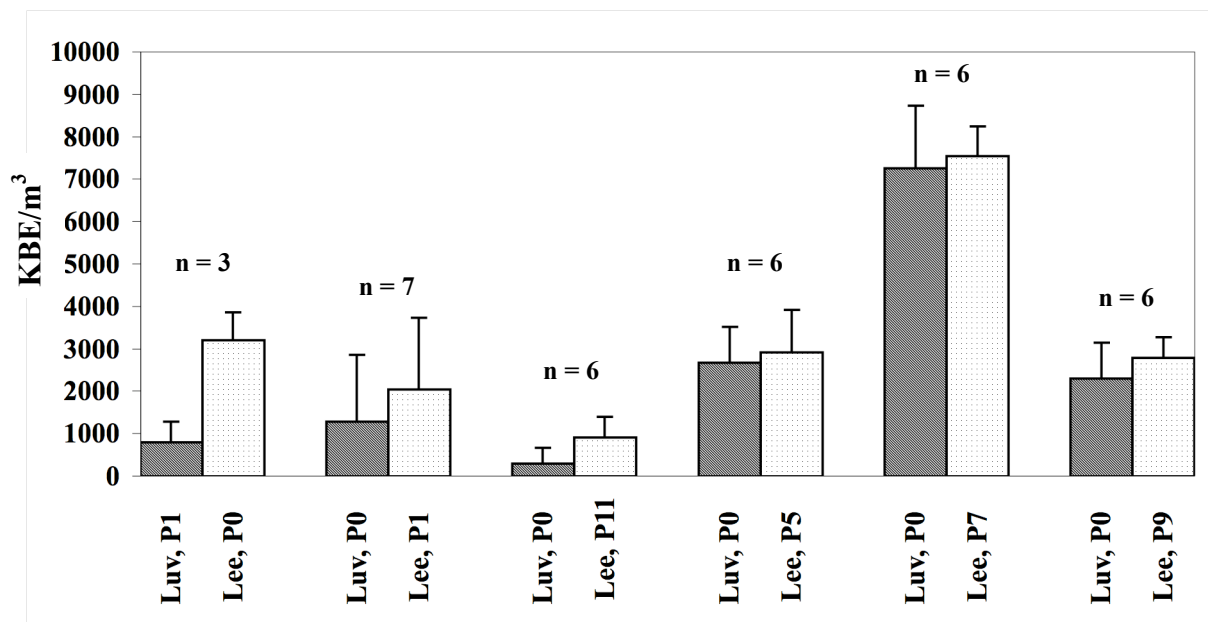
Die Konzentrationen der mesophilen Bakterien und der Staphylokokken in der Stallluft lagen um den 7. Masttag bei etwa  $10^4$  bis  $10^5$  KBE/ $m^3$  und stiegen im weiteren Mastverlauf um mehr als das Tausendfache an. Die höchsten Werte mit über  $10^7$  KBE/ $m^3$  Staphylokokken und Gesamtkeime wurden bei einem Alter der Tiere von 28 Tagen erreicht. Der bei diesem Tialter auffallend hohe Unterschied zwischen den Konzentrationen der gleichen Parameter kann auf den Einfluss der Außentemperaturen zurückgeführt werden. So wurden im Falle der Staphylokokken etwa  $15 \cdot 10^6$  KBE/ $m^3$  bei  $3^\circ\text{C}$ ,  $8 \cdot 10^6$  KBE/ $m^3$  bei  $15^\circ\text{C}$  und  $2 \cdot 10^6$  KBE/ $m^3$  bei  $35^\circ\text{C}$  gemessen (vgl. Tabellen 4 und 12 im Anhang), weil durch den steigenden Lüftungsbedarf mit zunehmender Außentemperatur die Keimkonzentrationen in der Stallluft stärker verdünnt wurden. Im weiteren Verlauf nahm das Konzentrationsniveau bis zum 35. Masttag nicht mehr zu. Am 35. Tag wurde in diesem Stall ein Teil der Tiere (etwa 9 000) vorgefangen und zur Schlachtung gegeben. Die verminderte Besatzdichte machte sich an deutlich sinkenden Luftkeimzahlen bemerkbar.

Auffällig in Abbildung 3.4 ist, dass an einigen Messtagen die Anzahl der Staphylokokken teilweise gleiche oder sogar höhere Konzentrationen erreichte als die Gesamtzahl mesophiler Bakterien. In diesem Zusammenhang müssen die Einflüsse des Probenahmeverfahrens und der Kultivierung berücksichtigt werden, welche im Kapitel 4 noch genauer betrachtet werden. Die Konzentrationen der Schimmelpilze und Hefen in der Stallluft erreichten zwischen dem 13. und 22. Masttag etwa  $10^5$  KBE/ $m^3$ . Danach fielen die Konzentrationen ab und pendelten zwischen ca.  $10^4$  und  $6 \times 10^4$  KBE/ $m^3$ . Vor allem in der mittleren und der Endmastphase machten Schimmelpilze und Hefen im Vergleich zu den Bakterien nur einen geringen Anteil der Luftkeimkonzentration im Stall aus. So betrug ihre Konzentration im Vergleich zu den luftgetragenen Staphylokokken am 33. Masttag lediglich 1,2%. Bei den in der Stallluft gefundenen Schimmelpilzen traten regelmäßig und überwiegend die Gattungen *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, und *Alternaria* auf. Hefen waren dagegen unregelmäßig und im Verhältnis zu den Schimmelpilzen nur in geringen Konzentrationen zu finden. Eine weitere Differenzierung der Hefen wurde nicht vorgenommen.

### **3.2.3 Vergleich der Anzahl von Schimmelpilzen und Hefen in Luv und Lee des Stalles A**

Die Konzentrationen der Schimmelpilze und Hefen lag in der Luft des Stalles A vorwiegend im Bereich von  $10^4$  bis  $10^5$  KBE/ $m^3$  (vgl. Abb. 3.4). Aufgrund des für die Tiere notwendigen Luftaustausches im Stall war zu erwarten, dass diese Organismen über die Abluft in die

Umgebungsluft des Stalles eingetragen werden. An 6 Messtagen im Frühjahr und im Sommer konnten insgesamt 34 Impingerproben von 6 verschiedenen Messorten aus der leeseitigen Hauptwindrichtung gewonnen werden und mit den 34 zeitgleich genommenen Referenzproben aus dem Luv verglichen werden. Die Abweichungen von der mittleren Hauptwindrichtung betragen i. d. R. weniger als  $\pm 15^\circ$ , lediglich bei der Erhebung der Konzentrationen an den stallnahen leeseitigen Messpunkten P0 und P1 betrug die Abweichung  $28^\circ$  bzw.  $24^\circ$ . Der Stall war während der Probenahmen mit Tieren besetzt, die mindestens 17 Tage alt waren. Die durchschnittlichen Windgeschwindigkeiten während der Messungen variierten zwischen 1,6 m/s und 4,1 m/s. Die Entfernungen der Messorte zum Emissionsschwerpunkt des Stalles betragen P0 = 40 m, P1 = 60 m, P5 = 221 m, P7 = 264 m, P9 = 333 m, P11 = 130 m (vgl. auch Abb. 5 im Anhang).



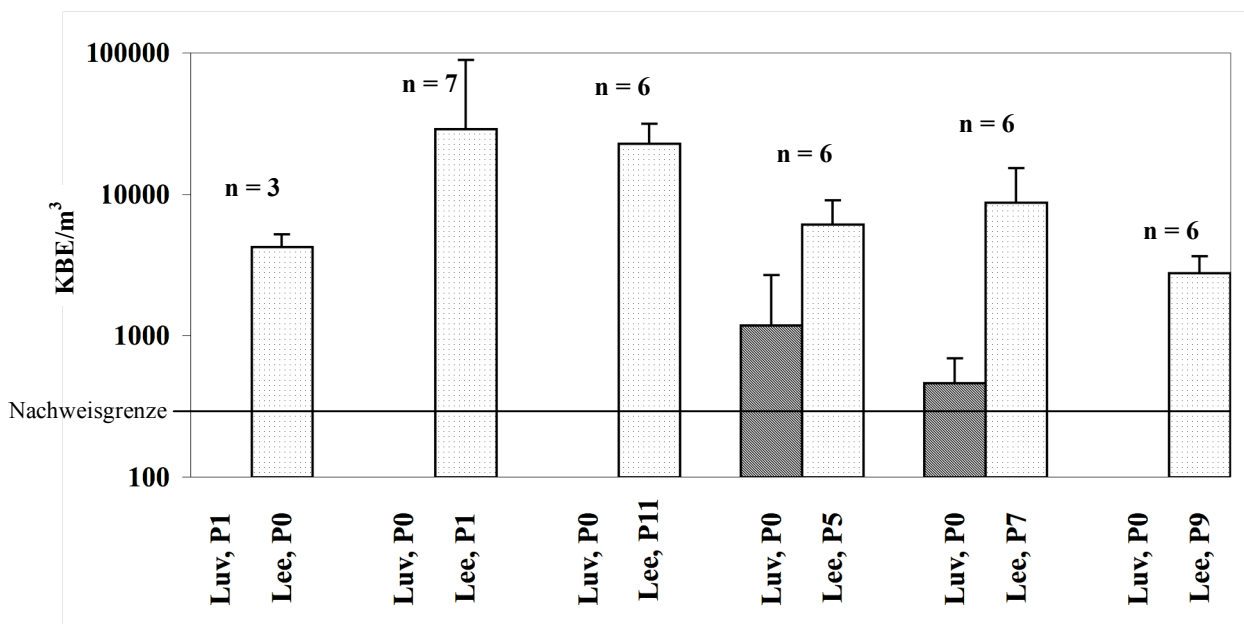
**Abb. 3.5:** Mittelwerte und Standardabweichungen von Schimmelpilzen und Hefen an 6 in der Hauptwindrichtung gelegenen Messorten im Vergleich zu Referenzmessorten in Luv. n = Anzahl der gepaarten Messwerte.

Die leeseitig erfassten mittleren Konzentrationen der Schimmelpilze und Hefen lagen grob zwischen  $10^3$  und  $10^4$  KBE/m<sup>3</sup> und durchgehend über den Konzentrationen an den Referenzmessorten in Luv. Die weitaus überwiegend in den Luv- und Leeproben gefundenen Schimmelpilze waren *Cladosporium* spp., *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp. und *Alternaria* spp. Hefen wurden nur vereinzelt gefunden und spielten kaum eine Rolle. An den Messorten P0, P1 und P11 in Lee, die mit 40 m, 60 m bzw. 130 m Abstand zum Emissionsschwerpunkt relativ nahe am Stall positioniert waren, waren die Konzentrationsunterschiede zwischen Luv und Lee, und somit der Einfluss des Stalles, noch deutlich erkennbar. In größeren Abständen

221 m (P5), 264 m (P7) und 333 m (P9) glichen die mittleren Konzentrationen fast den Werten aus den luvseitigen Messungen. Einzelwerte am Messpunkt P7 lagen sogar niedriger als am Referenzmessort. Die z. T. hohen Vorbelastungen der Außenluft führten dazu, dass der Einfluss der Konzentrationen emittierter mesophiler Schimmelpilze und Hefen aus dem Stall in über 200 m Entfernung nicht mehr klar erkannt werden konnte. Der t-Test für paarweise angeordnete Messwerte ergab für die Entfernungen > 200 m auf dem 5 % Niveau keinen signifikanten Unterschied zwischen den Luv- und Leekonzentrationen.

### 3.2.4 Zeitgleich in Luv und Lee des Stalles A bestimmte Gesamtzahlen mesophiler Bakterien

Aus den gleichen Proben, die der Bestimmung der Schimmelpilze und Hefen unter 3.2.3 zugrunde lagen, wurden auch die Gesamtzahlen mesophiler Bakterien in der Hauptwindrichtung vom Stall A aus ermittelt und mit den zeitgleich in Luv gemessenen Werten verglichen (Abb. 3.6).



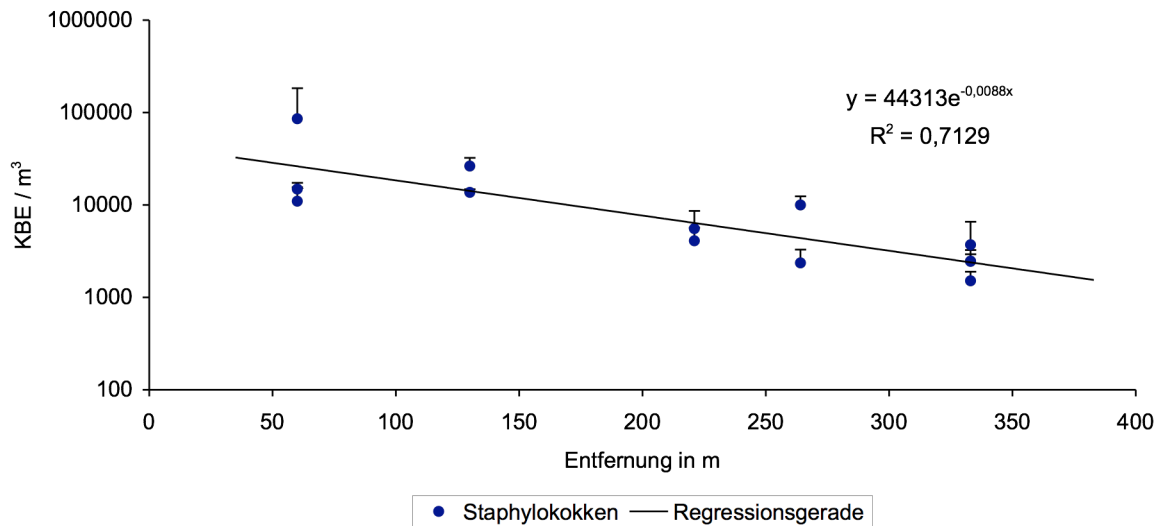
**Abb. 3.6: Mittelwerte und Standardabweichung mesophiler Bakterien an 6 in der Hauptwindrichtung gelegenen Messorten im Vergleich zu Referenzmessorten in Luv. n = Anzahl der gepaarten Messwerte.**

Die Messungen fanden an Tagen statt, an denen die Bakterienkonzentrationen in der Stallluft zwischen  $0.5 \times 10^6$  und  $10^7$  KBE/m<sup>3</sup> lagen. Dies führte im Vergleich zu den Luvmessorten zu einem deutlichen Keimeintrag auf der Leeseite des Stalles an allen Messorten. Die Mittelwerte aus den leeseitigen Probenahmen ergaben in 130 m Entfernung (P11) über 20 000 KBE/m<sup>3</sup> und erreichten in einer maximalen Entfernung von 330 m (P9) noch ca. 3 000

KBE/m<sup>3</sup>. Der nächstgelegene Messort P0 (Lee) wies niedrigere Konzentrationen auf als weiter entfernte Messorte. Im Vergleich zu den anderen Messungen wurde bei einem jüngeren Mastalter der Tiere gemessen und die Konzentrationen mesophiler Bakterien im Stall waren am Messtag mit  $0,5 \times 10^6$  KBE/m<sup>3</sup> gegenüber mindestens  $10^6$  KBE/m<sup>3</sup> an den anderen Messtagen deutlich geringer. Geringere Bakterienemissionen und die relativ große Abweichung von 28° des Messortes zur Hauptwindrichtung führten vermutlich zu den relativ geringeren Bakterienkonzentrationen an PO in Lee. Während der Messungen an den Messorten P5 und P7 in 221 m bzw. 264 m Entfernung wurden auf den Luvseiten Gesamtbakterienzahlen in Höhen nachgewiesen, die zeigten, dass bereits in der Außenluft vorhandene Keime die Messwerte auf der Leeseite nicht unerheblich beeinträchtigen konnten. Andererseits lagen die Referenzwerte auf der Luvseite häufig unter der methodisch bedingten Nachweisgrenze von etwa 300 KBE/m<sup>3</sup>.

### **3.2.5 Ausbreitung luftgetragener Staphylokokken am Stall A**

Zur Beschreibung der Ausbreitung aus dem Stall stammender Mikroorganismen wurden Staphylokokken gewählt, die in hohen Zahlen in der Stallluft vorkamen (Abb. 3.4) und im Keimspektrum der unbelasteten Außenluft nicht zwingend erwartet wurden. An 10 Messtagen im Frühjahr und im Sommer konnten Staphylokokken in drei Messhöhen (1,5 m, 4,0 m und 9,5 m) in der Umgebung des Stalles nachgewiesen werden (Tab. 10 im Anhang). Von insgesamt 80 positiven Impingerproben lagen 39 mit einer Abweichung von maximal  $\pm 15^\circ$  in der Hauptwindrichtung auf der Leeseite des Stalles. Die Entfernungen der Messorte zum Emissionsschwerpunkt des Stalles betrugen zwischen 60 m und 333 m. Die Tiere befanden sich während der Probennahmen in der vierten oder fünften Mastwoche und die parallel zu den Außenluftmessungen bestimmten Staphylokokkenkonzentrationen im Stall betrugen zwischen  $10^6$  und  $10^7$  KBE/m<sup>3</sup>. Die mittleren Windgeschwindigkeiten variierten zwischen 1,5 und 3,6 m/s. In Abbildung 3.7 sind die leeseitig vom Stall gemessenen Staphylokokkenkonzentrationen in Abhängigkeit von der Entfernung zum Emissionsschwerpunkt (Mitte des frei gelüfteten Stalles) dargestellt.



**Abb. 3.7:** In der Hauptwindrichtung gemessenen Staphylokokkenkonzentrationen auf der Leeseite am Stall A. Mittelwerte aus 13 Probenahmen mit  $n = 3$  Proben aus den Messhöhen 1,5 m, 4,0 m und 9,5 m.

Die Abbildung zeigt, dass im Nahbereich des Stalles vereinzelt Konzentrationen im Bereich von  $10^5$  KBE/m<sup>3</sup> gemessen wurden, die mit zunehmender Entfernung zum Stall abfielen und in gut 330 m Entfernung noch ungefähr zwischen 1 000 und 7 000 KBE/m<sup>3</sup> lagen. Die Abnahme der Konzentrationen verlief exponentiell. An den Referenzmessorten in Luv konnten bei Windgeschwindigkeiten  $>1,5$  m/s generell keine Staphylokokken gefunden werden, auch nicht am stallnahen Referenzmessort P0 (Abstand 40 m), wenn durch Aufkonzentrierung der Impingerlösung mittels Membranzentrifugation die Nachweisgrenze für Staphylokokken auf ca. 15 KBE/m<sup>3</sup> gesenkt wurde. Damit konnte weitgehend sichergestellt werden, dass die leeseitig gemessenen Staphylokokken aus dem Stall stammten.

Zur Beschreibung einer linearen Regression zwischen dem Staphylokokkengehalt und der Entfernung zum Stall und zur Berechnung des Korrelationskoeffizienten  $r$  wurde die Ordinate logarithmiert (linearisierende Transformation). Aus dem Bestimmtheitsmaß  $B = R^2$  der Geraden wurde  $r$  ( $r = \sqrt{R^2}$ ) berechnet. Der Korrelationskoeffizient  $r$  betrug  $-0,84$  und war für 37 Freiheitsgrade ( $FG = n-2$ ) auf dem 0,1 % Niveau signifikant von Null verschieden. Die Korrelation verdeutlicht die Abhängigkeit zwischen der exponentiellen Abnahme der Bakterien und der Entfernung unter den gegebenen Messbedingungen. Die erhebliche Standardabweichung der Messwerte am Messort P1 (60 m Entfernung) hing sehr wahrscheinlich mit Turbulenzen im Luftstrom zusammen, die üblicherweise im Nahbereich des Gebäudes auftreten und sehr wahrscheinlich zu den beachtlichen Konzentrationsunterschieden in den Messhöhen führten. An den Messorten mit größeren Entfernungen zum Stall waren die Standardabweichungen und damit die

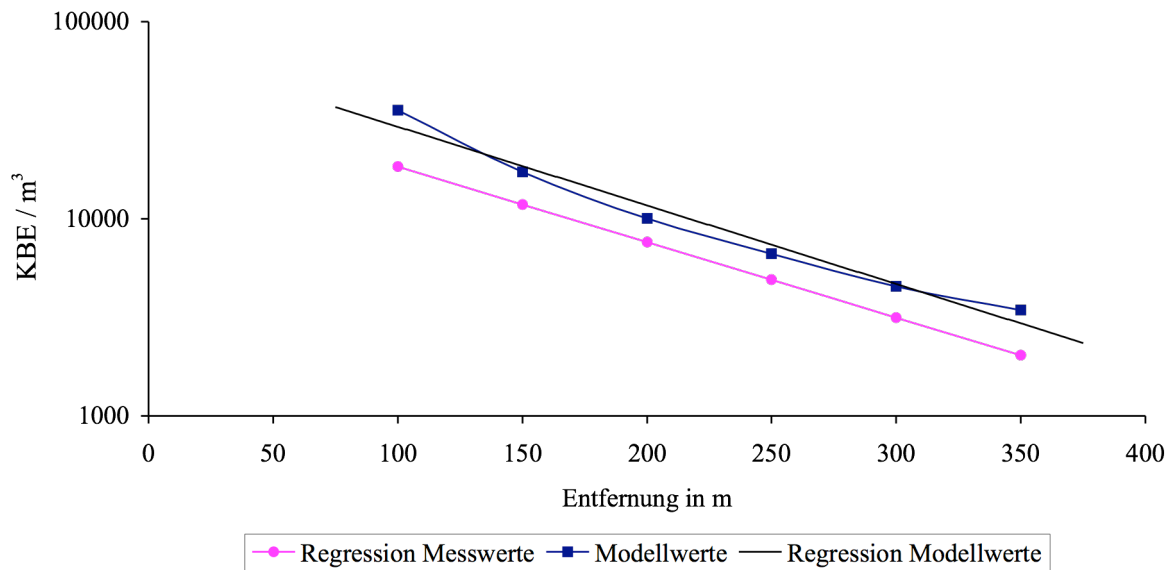


Konzentrationsunterschiede in der Vertikalen eher gering. Dies deutet an, dass zu den Messzeiten ein weitgehend homogenes Windfeld im Messbereich vorgelegen hat, wenn auch in 333 m Entfernung noch einmal eine höhere Standardabweichungen auffällt, die möglicherweise durch inhomogene Strömungen im Bereich des Messortes zustande kam.

Insgesamt gesehen unterlagen die emittierenden Staphylokokken an der Außenluft einer erheblichen Verdünnung. Bezogen auf die durchschnittliche Staphylokokkenkonzentration der Stallluft ( $6\,153\,400\text{ KBE/m}^3$ ), die zeitgleich zu denen in der Hauptwindrichtung gemessenen Werten erhoben wurde, konnten nur noch ca. 0,3 % der Ausgangskonzentration in 100 m Entfernung zum Emissionsschwerpunkt des Stalles gefunden werden. Andererseits kann aufgrund des Verlaufes der Regressionsgeraden in Abbildung 3.7 davon ausgegangen werden, dass Staphylokokken im Umfeld des untersuchten Stalles auch in Entfernungen von deutlich über 400 m messbar gewesen wären, wenn Baumbestände und unzugängliches Gelände die Messungen in noch größeren Abständen nicht verhindert hätten.

### **3.2.6 Vergleich der gemessenen Staphylokokkenabnahme am Stall A mit einer Ausbreitungsrechnung**

Im vorangegangenen Kapitel war eine exponentielle Abnahme der gemessenen Staphylokokkenkonzentrationen in der Hauptwindrichtung von Stall A festgestellt worden. Im Folgenden wird diese Keimabnahme mit einer Ausbreitungsrechnung eines Gaußmodells verglichen. Messwerte aus Entfernungen mit geringerem Abstand als 100 m zum Emissionsschwerpunkt des Stalles wurden nicht in den Vergleich mit einbezogen, da durch das Stallgebäude verursachte Turbulenzen in diesem Entfernungsbereich zu nicht kalkulierbaren Konzentrationsschwankungen führen können. In Abbildung 3.8 wird die aus den Messungen hervorgegangene Konzentrationsabnahme mit zunehmender Entfernung zum Stall (vgl. auch 3.2.5) mit der Abnahme, die aus der Ausbreitungsrechnung hervorgegangen ist, verglichen.



**Abb. 3.8: Vergleich der aus Messungen hervorgegangenen Staphylokokkenabnahme am Stall A mit berechneten Werten aus dem Gaußschen Ausbreitungsmodell.  $r = 0,98$ .**

Die nahezu parallel verlaufenden Konzentrationsabnahmen in Abbildung 3.8 ergeben im Mittel um den Faktor 1,6 höhere Staphylokokkenkonzentrationen für die Ausbreitungsrechnung wieder. Eine Erklärung dafür könnte die nach DIN 18910-1 angesetzte Quellstärke im Ausbreitungsmodell sein. Vermutlich wurden die nach der DIN vorgegebenen Luftvolumenströme im frei gelüfteten Stall nicht erreicht (FORMOSA, 2005). Demnach sind wahrscheinlich die Emission der Staphylokokken zu hoch angesetzt worden, was die eindeutig höheren Konzentrationen auf der Immissionseite erklären würde.

Umwelteinflüsse, wie beispielsweise die Einwirkung von UV-Strahlen auf die Bakterien an der Außenluft, führten nach den vorliegenden Ergebnissen im Abstand bis zu 350 m zu keiner erkennbaren Verringerung der Keimzahlen. Die beobachteten Keimabnahmen folgen der Beziehung  $N = N_0 \cdot e^{-k \cdot x}$ , wobei die Geschwindigkeit mit der die Keime mit zunehmender Entfernung zum Stall abnehmen, durch die Konstante  $-k$  bestimmt wird. Die Konstanten, die aus den Messwerten ( $-k = 0,0088$ ) und der Ausbreitungsrechnung ( $-k = 0,0092$ ) hervorgingen, besitzen nahezu die gleiche Größe, was sich auch im parallelen Verlauf der Regressionsgeraden in Abbildung 3.8 widerspiegelt. Bei einflussnehmenden Absterbefeffekten durch Umwelteinflüsse hätte jedoch eine schnellere Keimabnahme bei den Messwerten erkennbar werden sollen, was durch eine stärkere Steigung der Regressionsgerade aus den Messwerten zum Ausdruck gekommen wäre.

### 3.2.7 Ausbreitungsmodellierung mittlerer Staphylokokkenimmissionen im Umfeld des Stalles A

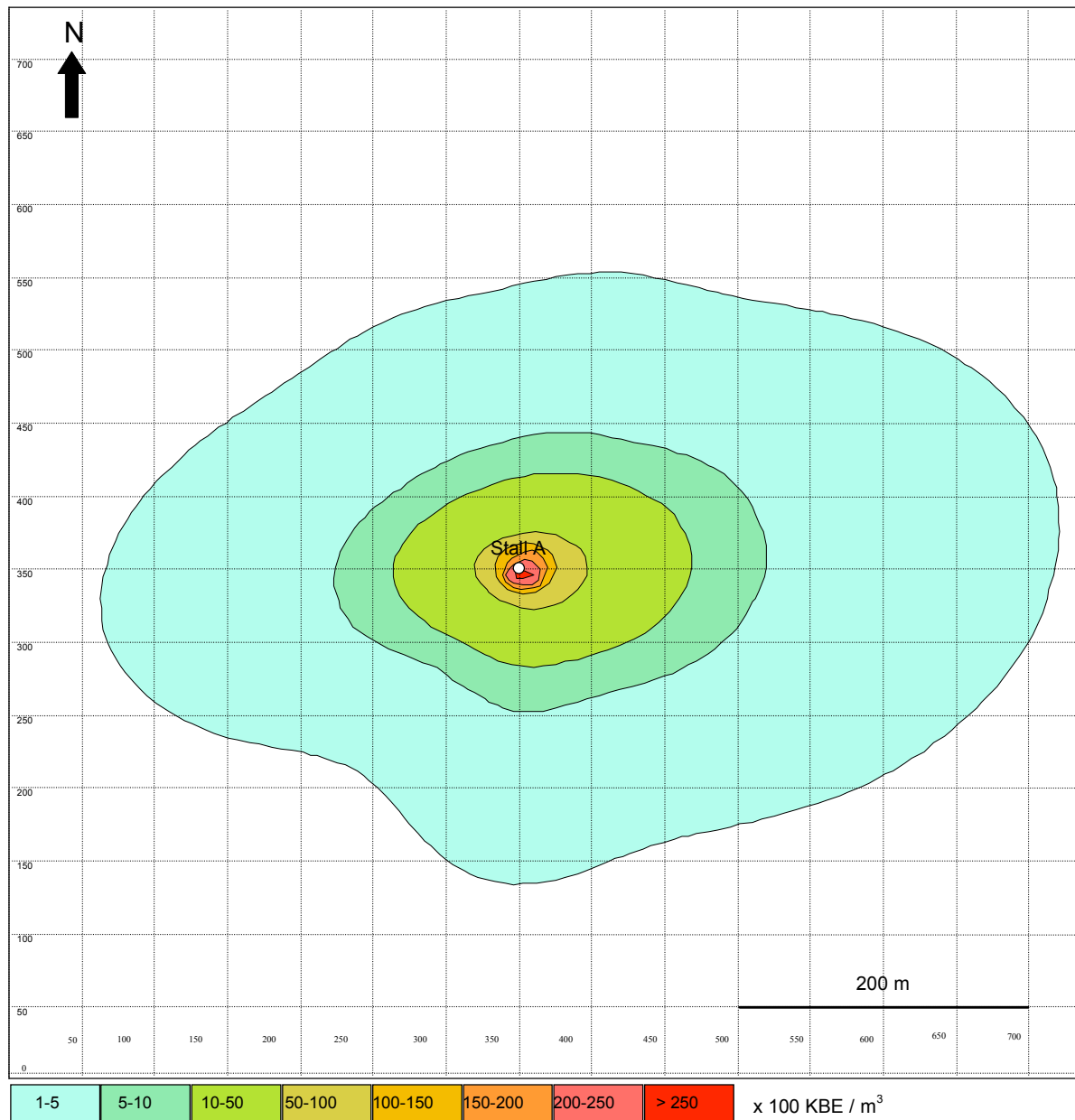
Die durchschnittlich zu erwartenden Staphylokokkenkonzentrationen im Umfeld von Stall A wurden durch die Implementierung einer Zeitreihe in das Ausbreitungsmodell berechnet. Als Datengrundlage wurden die aufgezeichneten Wetterdaten aus dem Untersuchungszeitraum von Anfang Mai bis Ende September 2003 gewählt. Aus den Stalldaten, den gemessenen Staphylokokkengehalten in der Stallluft und unter Verwendung der DIN 18910-1:2004 wurde zunächst die mittlere Quellstärke der Bakterien für den Verlauf eines Mastdurchganges berechnet.

**Tab 3.2: Mittlere Staphylokokkenquellstärke eines Mastdurchganges am Stall A**

Tieralter in Tagen	1	12	16	25	31	35	39
Tiergewicht kg	0,05	0,30	0,50	1,00	1,50	1,70	2,00
Tierzahl	40 000	39 500	39 000	39 000	38 500	38 500	29 000
Luftvolumenstrom* $\text{m}^3 \text{h}^{-1} \text{Tier}^{-1}$	0,2	0,8	1,15	1,95	2,65	2,95	3,25
Staphylokokken $\text{KBE m}^{-3}$	$1,0 \cdot 10^3$	$1,5 \cdot 10^5$	$4 \cdot 10^5$	$1,5 \cdot 10^6$	$5,0 \cdot 10^6$	$1,7 \cdot 10^6$	$1,3 \cdot 10^5$
Quellstärke $\text{KBE h}^{-1}$	$8 \cdot 10^6$	$4,7 \cdot 10^9$	$1,8 \cdot 10^{10}$	$1,1 \cdot 10^{11}$	$5,1 \cdot 10^{11}$	$1,9 \cdot 10^{11}$	$1,2 \cdot 10^{10}$
Mittlere Quellstärke $\text{KBE h}^{-1}$	$1,2 \cdot 10^{11}$						

\* Die Luftvolumenströme stellen Mittelwerte aus minimalem und maximalem Sommervolumenstrom bei  $\Delta\Theta = 2$  K nach DIN 18910-1:2004 dar.

Die berechnete mittlere Quellstärke mit  $1,2 \cdot 10^{11}$  KBE/h beruht auf am Tage gemessenen Bakterienkonzentrationen im Stall, die sich von den nächtlichen Konzentrationen jedoch nur geringfügig unterscheiden dürften (SEEDORF et al., 1998a). Im Untersuchungszeitraum vom 01.05.03 bis zum 30.09.03 (153 Tage) fanden 3,5 Mastdurchgänge statt. 28 Tage lang stand der Stall in diesem Zeitraum aufgrund der erforderlichen Hygienemaßnahmen leer. Daraus folgte eine verminderte mittlere Quellstärke für den genannten Zeitraum, die  $9,8 \cdot 10^{10}$  KBE/h betrug. Mittels dieser Quellstärke, der Zeitreihe und weiteren für die Ausbreitungsrechnung notwendigen Eingabegrößen (vgl. 2.2.9) wurden die durchschnittlich zu erwartenden Staphylokokkenimmissionen im Umfeld von Stall A berechnet. Abbildung 3.9 zeigt die computersimulierte Ausbreitung im 50 x 50 m Raster.



**Abb. 3.9: Mittlere Staphylokokkenimmissionen in der wärmeren Jahreszeit (Mai bis einschl. September) am Stall A. Konzentrationen in 1,5 m Höhe vom Boden.**

Die durchschnittlichen Bakterienkonzentrationen dehnten sich aufgrund der häufigeren Ost-Nordost- und West-Südwest-Bedingungen in diesen Richtungen etwas weiter aus. Die Konzentrationsbereiche machen den Einfluss um den Stall herum in unmittelbarer Stallumgebung deutlich. In Entfernungen von etwa 120 m (westliche Richtung) und 170 m (östliche Richtung) vom Stall aus überschreiten auch die mittleren Staphylokokkenimmissionen noch 500 KBE/m<sup>3</sup>. Durch die Verdünnung mit der Außenluft nehmen die Konzentrationen insgesamt jedoch schnell ab. In Entfernungen von 200 m in südlicher und nördlicher Ausdehnung sowie bis ca. 300 bzw. 350 m in westlicher und östlicher Ausdehnung vom Emissionsschwerpunkt des Stalles aus gesehen betrug die mittlere Konzentration noch etwa 100 KBE/m<sup>3</sup>. Anhand des durchschnittlich zu erwartenden

Eintrages von Staphylokokken in die Außenluft wird klar, dass Menschen, Tiere und Pflanzen, die im näheren Umkreis von 200 bis 350 m des Masthühnerstalles ansässig sind, langfristig gesehen dauerhaft mit Bakterien aus der Stallanlage exponiert werden. Die dargestellten mittleren Keimkonzentrationen können in Einzelsituationen jedoch um ein vielfaches überschritten werden, wie die Untersuchungen in 3.2.5 und 3.2.6 zeigten. Dies ist besonders für epidemiologische Fragestellungen von Bedeutung, bei denen die Betrachtung der infektiösen Dosis eines Keims eine tragende Rolle spielt.

### 3.2.8 Differenzierung zeitgleich in der Stallluft und in Lee am Stall A erfasster Staphylokokken

Ein guter Beleg dafür, dass die an der Außenluft gemessenen Staphylokokken tatsächlich aus dem Stall stammten, konnte der Vergleich des Artenspektrums der zeitgleich in der Stallluft und in Lee des Stalles erfassten Staphylokokken sein. Unter *Staphylococcus* Arten wurden Bakterien verstanden, die auf der 16S rRNA Gensequenzanalyse basierend, dem phylogenetischen Stammbaum von TAKAHASHI et al. (1999) zugeordnet werden. Dieser Stammbaum enthält 38 Taxa von denen die 16S-23S Internal-Transcribed-Spacer-Regionen (ITS-Region) mittels einer Kolonie-PCR amplifiziert wurden. Abbildung 3.10 zeigt beispielhaft die Amplifikate von 14 verschiedenen *Staphylococcus* Arten (DSMZ-Stämme) aus einer PCR.

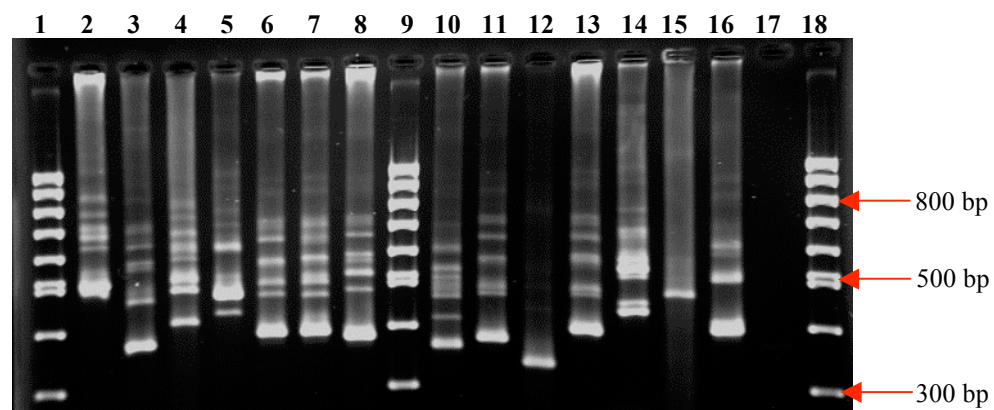


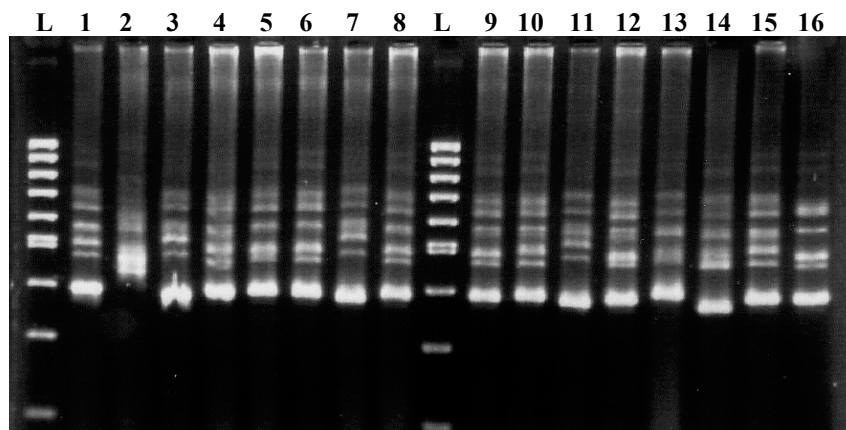
Abb. 3.10: 16S-23S ITS-Region Bandenmuster von *Staphylococcus* Arten. Spuren: 1, 9 und 18 Längenstandard; 2, *S. kloosii*; 3, *S. lentus*; 4, *S. intermedius*; 5, *S. warneri*; 6, *S. saprophyticus*; 7, *S. cohnii* subsp. *urealyticum*; 8, *S. arlettae*; 10, *S. caprae*; 11, *S. gallinarum*; 12, *S. carnosus*; 13, *S. xylosum*; 14, *S. haemolyticus*; 15 *S. hyicus*; 16 *S. hominis*; 17, neg. Kontrolle;

Das Beispiel zeigt, dass aus der Amplifikation artspezifische Bandenmuster hervorgingen. Diese waren bzgl. der zu erwartenden „spacer“-Größen im Bereich von 300 bis maximal

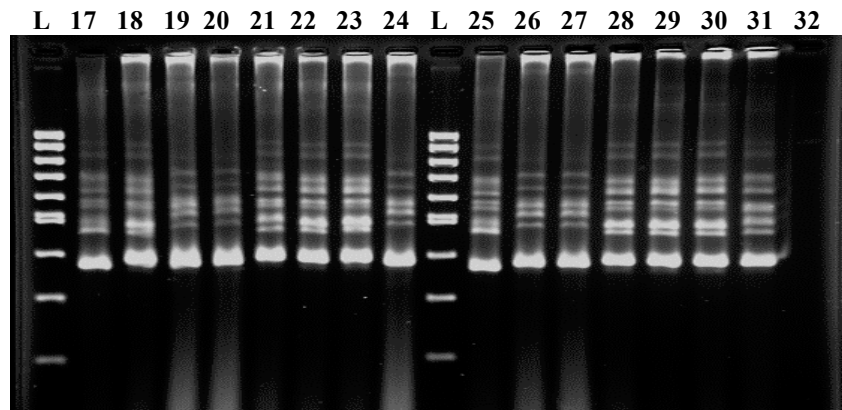
800 bp (COUTO et al., 2001; MENDOZA et al., 1998) reproduzierbar. Größere Fragmente waren eher unspezifisch bzw. konnten RNA-Banden darstellen. Für die im Beispiel nur schwach auftretenden Banden von *S. carnosus* und *S. hyicus* wurden nachträglich Fragmentgrößen von 440 bp, 480 bp und 530 bp bzw. 490 bp und 550 bp bestimmt ( $\pm 10$  bp). Insgesamt konnten 34 artspezifische Bandenmuster amplifiziert werden. Die artspezifischen Bandenmuster der PCR beruhten auf unterschiedlichen Fragmentgrößen der internen „spacer“, die auf variable Sequenzen und auf unterschiedlichen Anzahlen an tRNA Sequenzen innerhalb der amplifizierten Region zurückgeführt werden können (GÜRTLER und BARRIE, 1995; ANTON et al., 1998). Die Subspezies von *S. cohnii* konnten jedoch nicht unterschieden werden. *S. lutrae* zeigte auch nach mehrfach wiederholter Amplifikation nur undeutliche Banden (vgl. auch Abb. 3 und 4 im Anhang).

Die Bandenmuster der von der DSMZ bezogenen Referenzstämme dienten zur Identifizierung der Staphylokokken aus den Stallluft- und Außenluftproben. Die Auftrennung der PCR-Produkte der aus den Luftproben gewonnenen Staphylokokken ließ in einigen Fällen jedoch keine eindeutige Zuordnung der Bandenmuster zu den Mustern der Referenzstämme zu. So konnten ähnliche Muster wie die von *S. saprophyticus* und *S. cohnii* (vgl. Abb. 3.10) häufig nicht sicher unterschieden werden. In diesen Fällen wurden die PCR-Produkte säulenchromatographisch aufgereinigt und anschließend mit dem Restriktionsenzym Dra I inkubiert. Die erneute Auftrennung dieser Produkte im Gel ermöglichte die eindeutige Unterscheidung zwischen den Arten.

In den folgenden vier Abbildungen 3.11, 3.12, 3.13 und 3.14 wird die Identifizierung von simultan aus der Stallluft und aus der Außenluft in Lee isolierten Staphylokokken beispielhaft nach dem eben geschilderten Prinzip dargestellt.

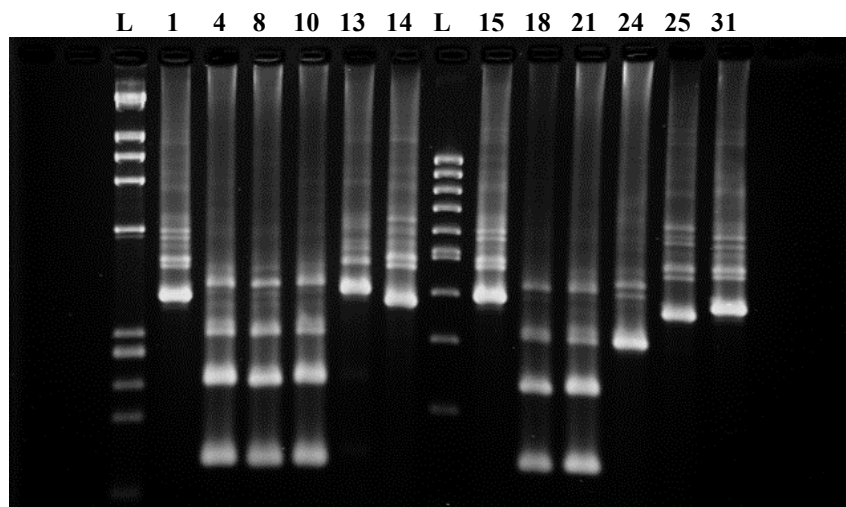


**Abb. 3.11:** Spuren 1 bis 16: 16S-23S ITS-Regionen von luftgetragenen Staphylokokken am Messort P6. L = Längenstandard



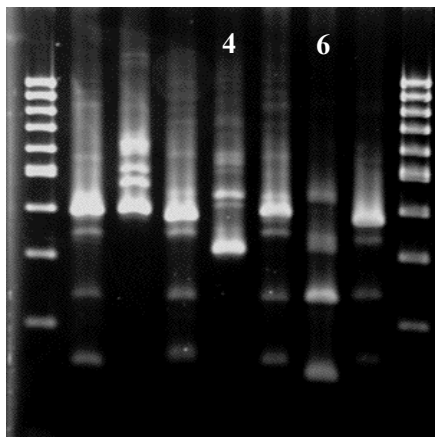
**Abb. 3.12: Spuren 17 – 21: 16S-23S ITS-Regionen von Staphylokokken am Messort P6. Spuren 22 – 31: „Spacer“ von Staphylokokken aus zeitgleicher Stallluftprobe; 32 neg. Kontrolle.**

Die Abbildungen 3.11 und 3.12 zeigen 21 PCR-Produkte (Spuren 1 bis 21) von Staphylokokken aus der leeseitigen Außenluft am Messort P6 (vgl. Abb. 5 im Anhang) und 10 Produkte (Spuren 22 bis 31) von Stämmen aus der parallel genommenen Stallluftprobe. Durch den Vergleich der Fragmentgrößen aller Spuren mit den Fragmentgrößen der Referenzstämme wurden zunächst folgende Arten identifiziert: *S. saprophyticus* (Spuren 1, 4, 15 und 31); *S. warneri* (Spur 2); *S. arlettae* (Spuren 3, 7, 11, 19, 20, 24, 26 und 27); *S. cohnii* (Spuren 5, 6, 8, 9, 10, 16, 18, 21, 22, 23, 28, 29 und 30); *S. xylosus* (Spur 13); *S. lentus* (Spuren 14, 17 und 25). *S. saprophyticus*, *S. arlettae*, *S. cohnii* und *S. lentus* wurden demnach im Stall und gleichzeitig in der Außenluft gefunden. Einige der Artbestimmungen waren jedoch nicht eindeutig, da einzelne Banden nicht sauber aufgetrennt wurden, wie z. B. in der Spur 13. Auch führten in der Routinediagnostik unterschiedliche Konsistenzen im Gel zu Verschiebungen der Banden, wie in den Spuren 3 und 4 erkennbar. In solchen Fällen wurden die PCR Produkte aufgereinigt und mit Dra I geschnitten, wodurch eine unzweifelhafte Diskriminierung zwischen Arten mit ähnlichen ITS-Regionen gelang. In der folgenden Abbildung 3.13 sind zwölf der in Abb. 3.11 und Abb. 3.12 dargestellten Produkte aufgetrennt worden, nachdem sie mit dem Enzym Dra I inkubiert wurden.



**Abb. 3.13: DraI Spaltung von zwölf PCR-Produkten. Die Spurnummern entsprechen den Spuren aus den Abbildungen 3.10 und 3.11. Banden: L = Längenstandards; 1, *S. saprophyticus*; 4, *S. cohnii*; 8, *S. cohnii*; 10, *S. cohnii*; 13, *S. xylosus*; 14, *S. lentus*; 15, *S. saprophyticus*; 18, *S. cohnii*; 21, *S. cohnii*; 24, *S. arlettae*; 25, *S. lentus*; 31, *S. saprophyticus*;**

Die Spuren 4, 8, 10, 18, 21 und 24 beinhalten von Dra I geschnittene ITS-Regionen und konnten durch einen Vergleich mit Schnittmustern bekannter Stämme *S. cohnii* bzw. *S.*



**Abb. 3.14: Restringierte ITS-Region von *S. arlettae* (4) und *S. cohnii* (6).**

*arlettae* (vgl. Abb. 3.14) zugeordnet werden. Die ITS-Regionen von *S. saprophyticus* (Spuren 1, 15 und 31), *S. xylosus* (Spur 13) und *S. lentus* (Spuren 14 und 25) wiesen keine Schnittstelle auf, zeigten aber nach der Aufreinigung i. d. R. eine bessere Auftrennung der Banden, was die Identifizierung erleichterte. Durch diese Verfahrensweise wurden die nicht eindeutigen Ergebnisse aus der ITS-PCR in Abbildungen 3.11 und 3.12 gesichert und im Falle der Spur 4 in Abbildung 3.11 wurde das vorläufige Ergebnis *S. saprophyticus* aufgrund der Restriktionsanalyse zu *S. cohnii* korrigiert. Die hier

dargestellten Ergebnisse stehen beispielhaft für die Identifizierungen der Staphylokokken an weiteren Messtagen, deren Ergebnisse zusammengefasst in der folgenden Tabelle 3.3 aufgeführt werden.



**Tab. 3.3: Bestimmung simultan erfasster Staphylokokken aus der Stallluft und aus der Außenluft in Lee am Stall A mittels ITS-PCR und Restriktion der ITS-Region**

Datum der Probenahme	Arten aus Stallluftproben	Konzentration KBE/m <sup>3</sup> Stallluft	Arten am Messort (P) in Lee	Konzentration KBE/m <sup>3</sup> in Lee
07.05.03	1 x <i>S. cohnii</i> 1 x <i>S. saprophyticus</i> 1 x <i>S. xylosus</i> 1 x <i>S. lentus</i> 1 x <i>S. arlettae</i>	1,17 • 10 <sup>6</sup> 1,17 • 10 <sup>6</sup> 1,17 • 10 <sup>6</sup> 1,17 • 10 <sup>6</sup> 1,17 • 10 <sup>6</sup>	P1: 6 x <i>S. cohnii</i> 4 x <i>S. saprophyticus</i> 3 x <i>S. arlettae</i> 1 x <i>S. xylosus</i> 1 x <i>S. warneri</i>	1,80 • 10 <sup>3</sup> 1,20 • 10 <sup>3</sup> 8,99 • 10 <sup>2</sup> 3,00 • 10 <sup>2</sup> 3,00 • 10 <sup>2</sup>
17.06.03	10 x <i>S. arlettae</i> 8 x <i>S. cohnii</i> 7 x <i>S. saprophyticus</i>	1,13 • 10 <sup>5</sup> 9,11 • 10 <sup>4</sup> 7,97 • 10 <sup>4</sup>	P0: 22 x <i>S. saprophyticus</i> 9 x <i>S. cohnii</i> 5 x <i>S. arlettae</i> 1 x <i>S. xylosus</i> 1 x <i>S. caprae</i>	6,72 • 10 <sup>3</sup> 2,75 • 10 <sup>3</sup> 1,53 • 10 <sup>3</sup> 3,06 • 10 <sup>2</sup> 3,06 • 10 <sup>2</sup>
02.07.03	12 x <i>S. cohnii</i> 4 x <i>S. lentus</i> 2 x <i>S. arlettae</i>	1,39 • 10 <sup>6</sup> 4,63 • 10 <sup>5</sup> 2,32 • 10 <sup>5</sup>	P5: 10 x <i>S. cohnii</i> 6 x <i>S. arlettae</i> 4 x <i>S. lentus</i>	3,43 • 10 <sup>3</sup> 2,06 • 10 <sup>3</sup> 1,37 • 10 <sup>3</sup>
08.07.03	5 x <i>S. cohnii</i> 3 x <i>S. saprophyticus</i> 1 x <i>S. lentus</i> 1 x <i>S. arlettae</i>	6,18 • 10 <sup>4</sup> 3,70 • 10 <sup>4</sup> 1,23 • 10 <sup>4</sup> 1,23 • 10 <sup>4</sup>	P6: 10 x <i>S. cohnii</i> 5 x <i>S. arlettae</i> 2 x <i>S. saprophyticus</i> 2 x <i>S. lentus</i> 1 x <i>S. xylosus</i> 1 x <i>S. warneri</i>	3,15 • 10 <sup>3</sup> 1,57 • 10 <sup>3</sup> 6,30 • 10 <sup>2</sup> 6,30 • 10 <sup>2</sup> 3,15 • 10 <sup>2</sup> 3,15 • 10 <sup>2</sup>
16.09.03	9 x <i>S. saprophyticus</i> 7 x <i>S. arlettae</i> 7 x <i>S. cohnii</i> 1 x <i>S. lentus</i>	9,60 • 10 <sup>5</sup> 7,47 • 10 <sup>5</sup> 7,47 • 10 <sup>5</sup> 1,07 • 10 <sup>5</sup>	P9: 9 x <i>S. saprophyticus</i> 4 x <i>S. cohnii</i> 2 x <i>S. arlettae</i>	3,08 • 10 <sup>3</sup> 1,37 • 10 <sup>3</sup> 6,85 • 10 <sup>2</sup>
24. 09. 03	9 x <i>S. arlaette</i> 7 x <i>S. cohnii</i> 3 x <i>S. saprophyticus</i> 3 x <i>S. lentus</i>	3,08 • 10 <sup>6</sup> 2,40 • 10 <sup>6</sup> 1,03 • 10 <sup>6</sup> 1,03 • 10 <sup>6</sup>	P9: 8 x <i>S. cohnii</i> 5 x <i>S. arlettae</i> 5 x <i>S. lentus</i> 2 x <i>S. saprophyticus</i>	9,59 • 10 <sup>2</sup> 8,99 • 10 <sup>2</sup> 8,99 • 10 <sup>2</sup> 7,19 • 10 <sup>2</sup>

Die Ergebnisse zeigen, dass bis auf zwei Ausnahmen (*S. lentus* am 07.05.03 und am 16.09.03) sämtliche aus der Stallluft identifizierte Arten in den parallel genommenen Außenluftproben wieder gefunden wurden. In der Außenluft traten einzelne Kolonien von Arten auf (*S. warneri*, *S. caprae* und *S. xylosus*), die nicht zeitgleich in der Stallluft gefunden wurden. In diesem Zusammenhang muss berücksichtigt werden, dass beim Ausplattieren von Aliquoten aus Impingerlösungen Arten in geringer Konzentration rein zufällig erfasst werden.

Insgesamt belegen die Ergebnisse, dass die auf der Immissionsseite gefundenen Staphylokokken tatsächlich aus dem Stall stammten, was durch die negativen Befunde an den Referenzmessorten in Luv des Stalles als gesichert gelten kann. Die identifizierten Arten gehörten sämtlich zu den koagulase negativen Staphylokokken, deren überwiegender Teil nach TAKAHASHI et al. (1999) phylogenetisch der *S. saprophyticus* Gruppe zugeordnet

wird. Dieser Gruppe gehören *S. kloosii*, *S. gallinarum*, *S. arlettae*, *S. saprophyticus*, *S. xylosus*, *S. equorum* und *S. cohnii* an.

Eine Auswahl von 131 Stämmen die alle in Tab 3.3 auftretenden Arten repräsentierten, wurden zusätzlich mit dem ID 32 Staph Test identifiziert. Es gab 120 Übereinstimmungen mit der PCR-Methode. Zwei Stämme konnten biochemisch nur sicher bis zur Gattung bestimmt werden und neunmal wurde *S. kloosii* mit dem ID 32 Staph Test identifiziert, während die Ergebnisse aus der ITS-PCR *S. arlettae* ergaben. Die Bandenmuster von *S. arlettae* und *S. kloosii* unterscheiden sich allerdings eindeutig (vgl. Abb. 3.10) und anhand dieser Ergebnisse scheint die Differenzierung zwischen diesen Arten mit den biochemischen Tests nicht hinreichend genau zu sein. Die beiden Arten gehören der *S. saprophyticus* Gruppe an und stehen sich phylogenetisch sehr nahe (TAKAHASHI et al., 1999; KWOK und CHOW, 2003). Die Nichtverwertung von Lactose oder Maltose kann bei der Auswertung mit der Testsoftware des ID 32 STAPH Testes dazu führen, dass anstelle des Taxons *S. arlettae* das Taxon *S. kloosii* ausgegeben wird. Eine Fehlinterpretation der biochemischen Reaktion oder aber die Möglichkeit, dass die aus den Ställen bzw. der Stallluft isolierten *S. arlettae* Stämme Lactose oder Maltose nicht fermentieren, könnte zu den unterschiedlichen Resultaten in der Artbestimmung geführt haben.

Die für die ITS-PCR Primer G1 und L1 binden an hoch konservierten Regionen der 16S und der 23S rDNA (vgl. Abb. 2.13; JENSEN et al., 1993). Die Ergebnisse der PCR ergaben für die Staphylokokken fünf bis sieben spezifische Banden, die der ITS Region zugeordnet wurden. Daher sollte die Anzahl an spezifischen PCR-Produkten mindestens der Anzahl an rRNA Operons im Genom der Staphylokokken entsprechen. Zur Überprüfung dieser These wurde eine Datenbankrecherche über das NCBI (National Center for Biotechnology Information) vorgenommen und die bekannten Anzahlen an rRNA Operons aus vollständig sequenzierten *Staphylococcus* spp. Genomen ermittelt. Die Zahl der rRNA Operons wird in folgender Tabelle 3.4 der Anzahl an PCR-Produkten aus untersuchten Arten gegenübergestellt.

**Tab. 3.4: Vergleich der Anzahl spezifischer PCR-Produkte aus der 16S-23S rDNA ITS-PCR und der Anzahl an rRNA Operons aus vollständig sequenzierten *Staphylococcus* Genomen.**

Art, Stamm	Anzahl PCR-Produkte	Art, Stamm	Anzahl rRNA Operons	Literatur
<i>S. haemolyticus</i> , DSMZ 20263	6	<i>S. haemolyticus</i> JCSC 1435	5	TAKEUCHI et al., 2005

Art, Stamm	Anzahl PCR-Produkte	Art, Stamm	Anzahl rRNA Operons	Literatur
<i>S. saprophyticus</i> DSMZ 20229	6	<i>S. saprophyticus</i> ATCC 15305	6	KURODA et al., 2005
<i>S. epidermidis</i> DSMZ 1798	6	<i>S. epidermidis</i> RP62A	6	GILL et al., 2005
		<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	5	ZHANG et al., 2003
<i>S. aureus</i> DSMZ 1104	6	<i>S. aureus</i> MW2	6	BABA et al., 2002
		<i>S. aureus</i> N315	5	KURODA et al., 2001
		<i>S. aureus</i> JH1	6	COPELAND et al., 2007

Die Tabelle zeigt, dass die Anzahl an PCR-Produkten nicht mit der Anzahl an rRNA Operons übereinstimmen muss, da die Anzahl der Operons offensichtlich auch innerhalb einer Art variiert. Weiterhin kann nicht ausgeschlossen werden, dass Segmente unvollständiger rRNA Operons bzw. rRNA Gene im Bakteriengenom vorkommen (YAP et al., 1999), die die Primersequenzen einschließen und somit zu einem Amplifikat führen. Das würde bedeuten, dass die Anzahl der spezifischen PCR-Produkte aus der 16S-23S rDNA ITS-PCR auch höher sein kann als die Zahl der rRNA Operons, aber dennoch ein für die Art charakteristisches Bandenmuster ergeben kann.

Aufgrund der hervorzuhebenden Bedeutung von *S. aureus*-Infektionen bei Mensch und Tier, wurden neben den Untersuchungen zur Bestimmung der Arten aus ausgewählten Luftproben, sämtliche Impingerproben auf das Vorhandensein dieses Erregers getestet. Dazu wurden aus den Außenluftproben und aus den höchsten Verdünnungsstufen der Stallluftproben alle Mannit verwertenden, beige bis gelb pigmentierten *Staphylococcus* Kolonien mit dem „clumping factor“ Test untersucht. Mit diesem Test konnte *S. aureus* in keiner Luftprobe nachgewiesen werden.

### 3.2.9 Begleitende Untersuchungen zur Herkunft der aus dem Stall A emittierten Staphylokokken

Begleituntersuchungen in Form von Abstrichproben im Stall sollten Hinweise auf die Herkunft der in der Stall- und Außenluft gefundenen Staphylokokken liefern. Tabelle 3.5 zeigt zusammengefasst die Ergebnisse der Artbestimmungen aus diesen Proben.

**Tab. 3.5: Identifizierte Staphylokokken aus Abstrichproben**

Beprobte Materialien und Tiere	Identifizierte Arten
verstaubtes Stallinventar	<i>S. xylosus</i> , <i>S. saprophyticus</i> , <i>S. cohnii</i> , <i>S. hominis</i> , <i>S. warneri</i> , <i>S. lentus</i> , <i>S. arlettae</i> , <i>S. gallinarum</i>
verkotete Einstreu	<i>S. saprophyticus</i> , <i>S. cohnii</i> , <i>S. xylosus</i> , <i>S. gallinarum</i> , <i>S. caprae</i> , <i>S. intermedius</i>
aufgestallte Hühner (Gefieder)	<i>S. cohnii</i> , <i>S. xylosus</i>
Eintagsküken vor der Einstallung (Haut bzw. Daunen)	<i>S. lentus</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. arlettae</i> , <i>S. xylosus</i>

Insgesamt konnten 11 verschiedene Arten aus 70 Kolonien von 35 Abstrichproben bestimmt werden. Dabei ist hervorzuheben, dass sämtliche aus der Stall- und der Außenluft isolierten Staphylokokken auch in den Abstrichproben wieder gefunden wurden. Somit konnten potentielle Emissionsquellen für die aus der Stall- bzw. Außenluft isolierten Staphylokokken auffindig gemacht werden. Interessanterweise wurden die Arten *S. lentus* und *S. arlettae* bereits auf den Eintagsküken nachgewiesen und traten sowohl im Stallstaub als auch regelmäßig in den Luftproben auf. Das deutete darauf hin, dass die Besiedelung der Tiere, die bereits in der Brüterei oder auf dem Tiertransport stattfinden kann, die Entwicklung der Keimflora im Stall maßgeblich beeinflussen kann. Neben den Koagulase negativen Staphylokokken, die ausschließlich in der Luft gefunden wurden, sind mit *S. aureus* und *S. intermedius* auch pathogene, Koagulase positive Staphylokokken auf den Tieren bzw. in der Einstreu gefunden worden.

### 3.3 Befunde der Felduntersuchungen an dem zwangsbelüfteten Masthühnerstall (Stall B)

Ergänzend zu den Untersuchungen am Stall A wurden im Folgejahr gleichsinnige Untersuchungen an einem für Niedersachsen typischen Masthühnerstall mit Zwangslüftung durchgeführt. Die Erfassung der Keimemissionen und Immissionen erfolgte in den

Sommermonaten Juli, August und September. Aufgrund der häufiger wechselnden Windrichtungen im Untersuchungsgebiet wurden zur besseren Erfassung der Immissionen zusätzliche Messstative (Messhöhe 1,5 m) Höhe eingesetzt. Daher wurden deutlich mehr Messorte am Stall B beprobt, die sich vor allem westlich und östlich vom Stall befanden (vgl. Abb. 6 im Anhang). Insgesamt wurden an 13 Messtagen 105 Impingerproben in der Außenluft genommen und gemeinsam mit den parallel in der Stallabluft gezogenen Proben analysiert.

Es werden zunächst die Ergebnisse aus der Keimzahlbestimmung in der Abluft des Stalles B vorgestellt und dann die Befunde aus der leeseitigen mittleren Hauptwindrichtung ( $\pm 30^\circ$  Abweichung) im Vergleich zu den Referenzwerten aus dem Luv des Stalles.

### 3.3.1 Bestimmung der Keimzahlen in der Stallabluft am Stall B

Die Bestimmungen der Emissionen von Schimmelpilzen und Hefen, der Gesamtzahl mesophiler Bakterien und Staphylokokken wurden über eine Messsonde mit dem Impingement im gleichgerichteten Abluftstrom eines Abluftkamins durchgeführt. Die Messungen fanden zeitgleich zu den Messungen an den verschiedenen Messorten im Feld statt und dienten der Bestimmung der Quellstärke und der Beschreibung der Keimkonzentrationen im Mastverlauf. Die Ergebnisse sind in der Abbildung 3.15 dargestellt.

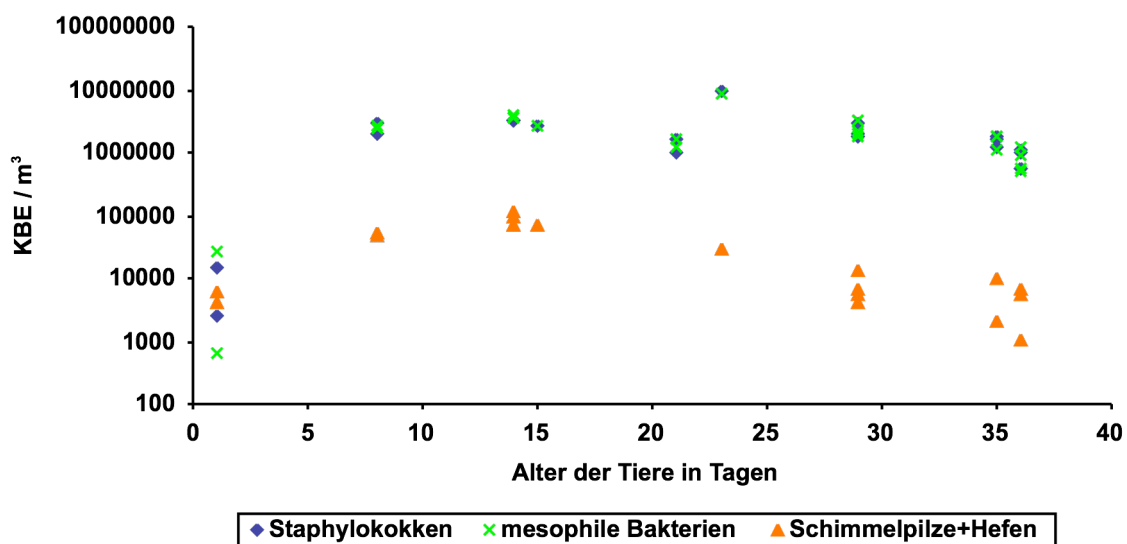


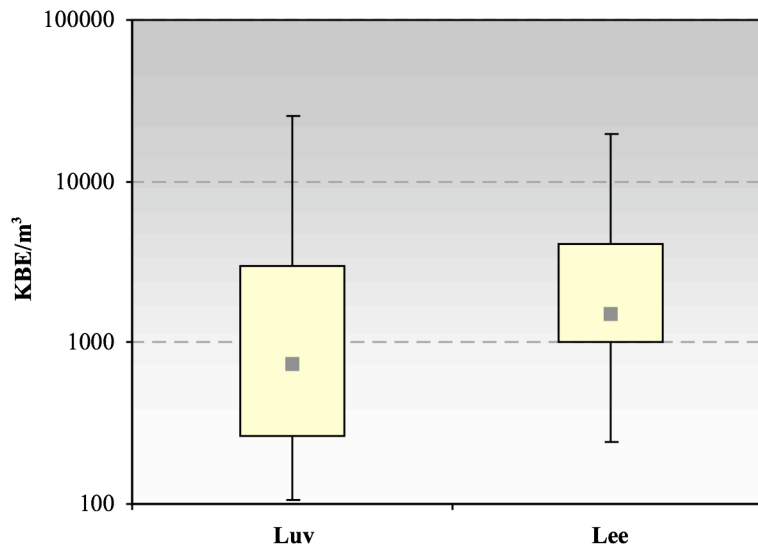
Abb. 3.15: Keimkonzentrationen in der Abluft des Stalles B über 36 Tage vom Tag 1 nach der Einstellung bis zum Mastende. n = 22 Probenahmen.

Die Abbildung zeigt, dass die Bakterienkonzentrationen in der Luft des zwangsbelüfteten Stalles, ähnlich wie beim frei gelüfteten Stall, von einigen Tausend KBE pro Kubikmeter zu Beginn der Mast bis nahezu  $10^7$  KBE/m<sup>3</sup> in der vierten Mastwoche anstiegen. Danach war eine Abnahme der Konzentrationen zu beobachten, die nach dem 35. Masttag durch die Vorausstallung eines Drittels der Tiere noch deutlicher wurde. Gesamtkeime und Staphylokokken lagen durchgängig auf einem ähnlichen Niveau. Wie schon am Stall A drückt dies den hohen Anteil der Staphylokokken an mesophilen Bakterien in der Stallluft aus, der allerdings auch hier methodisch beeinflusst sein dürfte. Auffällig gegenüber der Keimentwicklung am Stall A war, dass im automatisch klimatisierten Stall schon nach 8 Tagen Keimzahlen von über  $10^6$  KBE/m<sup>3</sup> gemessen wurden.

Die Konzentrationen der Schimmelpilze und Hefen lagen mit etwa  $10^3$  bis  $10^5$  KBE/m<sup>3</sup> im Vergleich zu den Bakterien wesentlich niedriger und ihr Anteil an den gemessenen Luftkeimzahlen im Stall betrug mit Ausnahme der ersten Woche stets weniger als 4%. Die überwiegenden aus der kulturellen und morphologischen Bestimmung hervorgegangen Schimmelpilzgattungen gehörten zu den Gattungen *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* und *Alternaria*. Hefen traten nur unregelmäßig und in geringeren Koloniezahlen auf den Nährmedien auf.

### **3.3.2 Vergleich der Anzahl von Schimmelpilzen und Hefen in Luv und Lee des Stalles B**

Die Konzentrationen der Schimmelpilze und Hefen erreichten im Stall Konzentrationen von bis zu  $10^5$  KBE/m<sup>3</sup>. Durch die i. d. R. intensive Lüftung im Stall in den Sommermonaten wurde daher mit einem Austrag dieser Organismen aus dem Stall gerechnet, der sich in vergleichenden Luv- und Leemessungen widerspiegeln sollte. In der Abbildung 3.16 werden die mit dem Impingement gemessenen Konzentrationen von 21 Messungen aus der Hauptwindrichtung der entsprechenden Anzahl an Referenzmessungen aus dem Luv des Stalles B in Form von Box-Whisker-Plots (ohne Ausreißer) gegenübergestellt. Die Abstände der Messorte zur Emissionsquelle des Stalles betrugen in Lee zwischen 70 und 480 m und in Luv zwischen 70 und 100 m.



**Abb. 3.16: Vergleich der Konzentrationen von Schimmelpilzen und Hefen in Luv und Lee des Stalles B. n = 21 Wertepaare.**

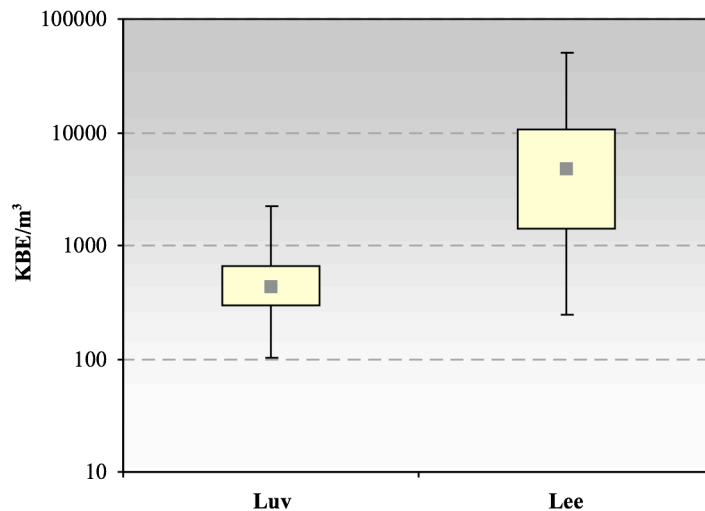
Die Differenz zwischen den Medianen beträgt  $750 \text{ KBE/m}^3$  zugunsten der leeseitig gemessenen Konzentrationen und auch die höheren Quartilgrenzen der Leewerte belegen den Eintrag von Schimmelpilzen und Hefen aus dem Stall in seine Umgebung. In Entfernungen von mehr als 200 m konnte der Einfluss des Stalles jedoch kaum noch gemessen werden (Einzelwerte in Tab. 7 im Anhang). Das Maximum in Luv zeigte, dass in Einzelsituationen die Außenluft in Sommermonaten bereits hohe Konzentrationen an Schimmelpilzsporen und Hefen enthalten konnte. So trat zum Beispiel die Hefe *Rhodotorula* spp. an zwei Messtagen mit über  $1\,000 \text{ KBE/m}^3$  in Luv- und Leeproben auf, während sie in den parallel genommen Stallluftproben nicht nachgewiesen wurden.

Auf der anderen Seite wurden in der Stallluft von Stall B, wie zuvor am Stall A, überwiegend Schimmelpilze der gleichen Gattungen gefunden, die auch in der Außenluft in Luv des Stalles vertreten waren. Vor allem kamen *Cladosporium* spp., *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp. und *Alternaria* spp. vor, und auffallend häufiger als am Stall A, wurde das Wachstum von *Fusarium* spp. beim Auszählen der Nährmedien beobachtet.

### 3.3.3 Vergleich der Konzentrationen mesophiler Bakterien in Luv und Lee des Stalles B

Zum Konzentrationsvergleich mesophiler Bakterien zwischen Luv und Lee des zwangsbelüfteten Stalles konnten 25 Messungen an den Referenzmessorten mit 25 Messungen aus der leeseitigen Hauptwindrichtung miteinander verglichen werden. Die

Proben stammten aus Entfernungen zwischen 70 und 480 m auf der Leeseite und zwischen 70 und 100 m auf der Luvseite. Das Tieralter betrug während der Messungen mindestens 8 Tage, d. h. es konnte bereits mit erhöhten Keimemissionen aus dem Stall gerechnet werden (vgl. auch Abb. 3.15). Abbildung 3.17 zeigt den Vergleich zwischen Luv- und Leekonzentrationen in Form von Box-Whisker-Plots.



**Abb. 3.17: Konzentrationen mesophiler Bakterien in Luv und Lee des Stalles B. n = 25 Wertepaare.**

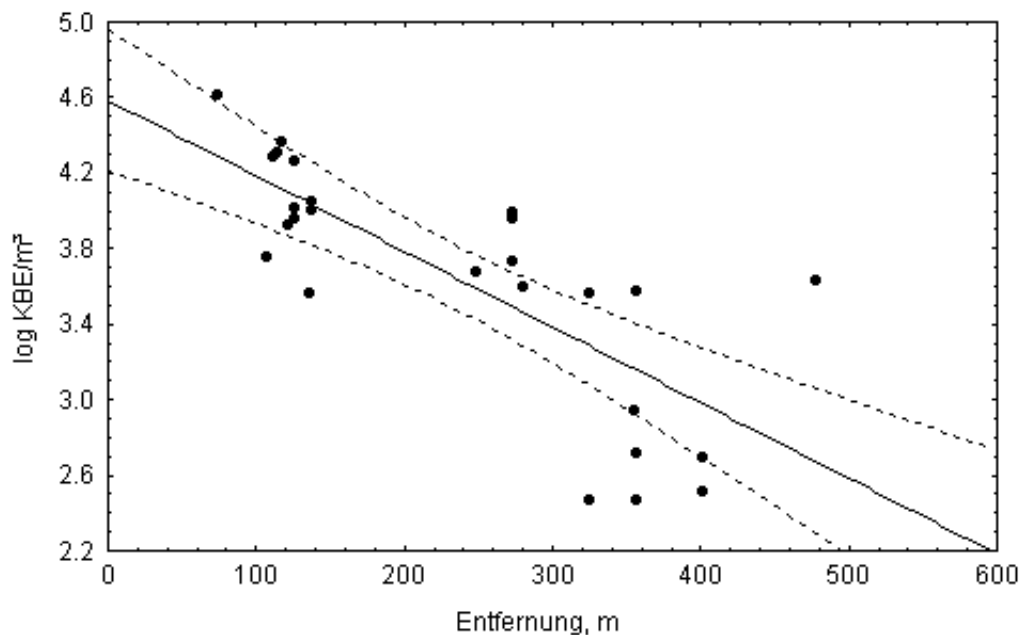
Der Vergleich der Mediane ergibt für die Leeseite einen um mehr als 4 000 KBE/m<sup>3</sup> höheren Wert und die untere Quartilgrenze der leeseitigen Konzentrationen liegt klar über der oberen Quartilgrenze der Werte aus der Luvseite. Hohe Konzentrationen von > 10<sup>4</sup> KBE/m<sup>3</sup> wurden noch in Entfernungen von ca. 270 m gemessen und in knapp 480 m Abstand zum Stall lag die Anzahl der Keime noch weit über dem Maximum der Luvseite. Der Einfluss der Stallanlage auf die Anzahl mesophiler Bakterien an der Außenluft war damit noch in größeren Entfernungen zum Stall deutlich erkennbar. Allerdings wuchs auf der Leeseite mit der Entfernung zum Stall auch der Einfluss der Hintergrundkonzentrationen der Außenluft. In einigen Fällen wurden etwa 1 000 bis 2 000 KBE/m<sup>3</sup> an den Referenzmessorten in Luv erreicht. Damit konnte auch bei hohen Emissionen der Anteil an der Zahl mesophiler Bakterien durch die Vorbelastung der Außenluft in Entfernungen von > 300 m beträchtlich sein (Einzelwerte in Tab. 9 im Anhang). Die zur Ermittlung der mesophilen Bakterienzahl angezüchteten Bakterien wurden nur sporadisch weiter differenziert. Aufgrund der Morphologie wurden Kolonien ausgewählt, die relativ häufig in Erscheinung traten. Es handelte sich dabei überwiegend um aerobe oder fakultativ aerobe Gram-positive und Katalase positive endosporenbildende Stäbchen sowie um pigmentierte Gram-positive,



Katalase positive und Oxidase positive Kokken. Demnach wurden Bakterien aus der Gattung *Bacillus* und aus der Gruppe der Mikrokokken in Luv und Lee erfasst.

### 3.3.4 Ausbreitung luftgetragener Staphylokokken am Stall B

Am Stall B wurden 105 Impingerproben aus dem Außenluftbereich des Stalles auf den Gehalt an Staphylokokken untersucht. Zur Bestimmung der Ausbreitungsentfernungen gelang es an neun verschiedenen Tagen in der wärmeren Jahreszeit (Außentemperaturen  $> 16\text{ °C}$ ), insgesamt 26 Impinger in der Hauptwindrichtung zu platzieren. Die Messorte wichen dabei nicht mehr als  $\pm 17^\circ$  von der mittleren Hauptwindrichtung ab. Allerdings war der Wind in der Umgebung des Stalles B im Vergleich zum Stall A böiger und erreichte zum Teil wesentlich höhere Windgeschwindigkeiten. Abbildung 3.18 zeigt die Abnahme der Staphylokokkenkonzentrationen mit der Entfernung zum Emissionsschwerpunkt des Stalles.



**Abb. 3.18:** Abnahme der Staphylokokken mit zunehmender Entfernung vom Stall B in Hauptwindrichtung bei mittleren Windgeschwindigkeit zwischen 1,7 m/s und 6,3 m/s.  $n=26$ , --- = 95% Vertrauensbereich für den Korrelationskoeffizienten.

Im Nahbereich des Stalles (ca. 120 m Entfernung) wurden über  $10^4$  KBE/m<sup>3</sup> ermittelt und sogar in einer Entfernung von ca. 480 m konnten immer noch einige Tausend KBE/m<sup>3</sup> gemessen werden. Wie schon am Stall A wurden keine Staphylokokken an den Referenzmessorten gemessen, wodurch eine hohe Wahrscheinlichkeit gegeben war, dass die leeseitig erfassten Staphylokokken aus dem Stall stammten.

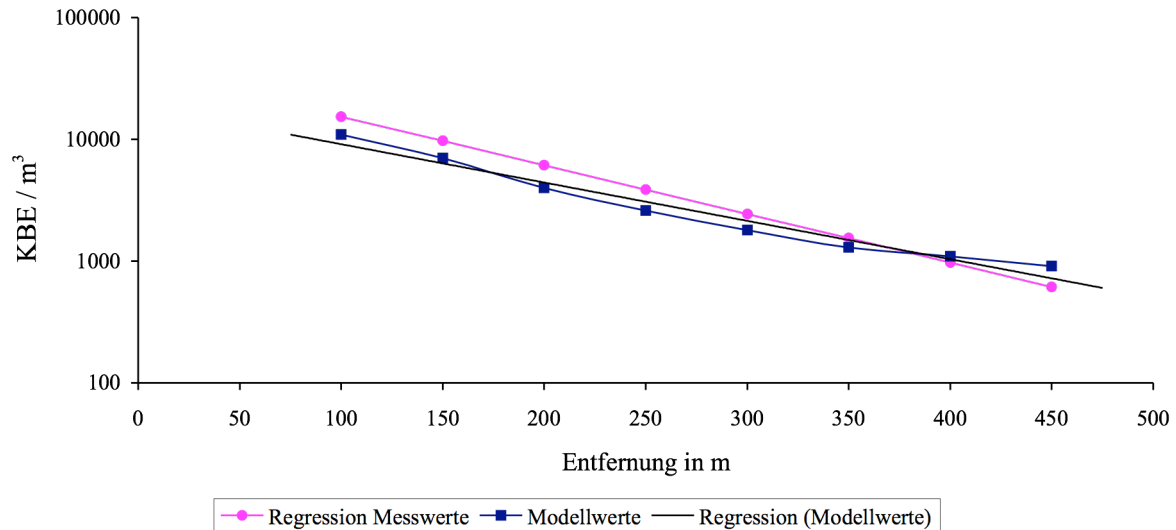
Aufgrund der überwiegenden Einzelmessungen in einer Messhöhe von 1,5 m an den Messorten wurde für die deskriptive Statistik der 95% Vertrauensbereich für den

Korrelationskoeffizienten angegeben. Der Korrelationskoeffizient  $r$  betrug  $-0,71$  und war für 24 Freiheitsgrade ( $FG = n - 2$ ) auf dem 0,1% Niveau signifikant von Null verschieden. Die Korrelation zeigte eine eindeutige Abhängigkeit zwischen den exponentiell abnehmenden Keimkonzentrationen und der Entfernung zum Emissionsschwerpunkt des Stalles. Die auffälligen Abweichungen vom 95% Vertrauensbereich wurden vor allem auf die an einzelnen Messtagen stark unterschiedlichen Windverhältnisse und auf schwankende Quellstärken zurückgeführt. Ein gutes Beispiel dafür liefert der Messwert in 478 m Entfernung. Die ermittelte Bakterienkonzentration weicht stark vom Vertrauensbereich ab. Tatsächlich wurde aber an diesem Tag von allen Proben die höchste Staphylokokkenkonzentration in der Abluft des Stalles bestimmt. Hinzu kommt, dass die Windrichtung während der Messung konstant blieb und Windgeschwindigkeiten von 2 bis 3 m/s bei einer neutralen atmosphärischen Schichtung (Ausbreitungsklasse 3) herrschten. Damit lagen besonders günstige Bedingungen für eine weit reichende Verfrachtung der Organismen in der Hauptwindrichtung vor.

Wurde der verhältnismäßige Anteil der KBE auf der Leeseite des Stalles in 100 m Entfernung betrachtet, so wurden weniger als 1% der zeitgleich in der Abluft des Stalles bestimmten Staphylokokken wieder gefunden. Im Folgenden soll durch den Vergleich der Messungen mit einer Ausbreitungsrechnung auch untersucht werden, ob diese beträchtliche Keimreduktion allein durch die meteorologischen Bedingungen verursacht wurde, oder möglicherweise ein Absterben der Bakterien an der Außenluft einen zusätzlichen Einfluss nahm.

### **3.3.5 Vergleich der gemessenen Staphylokokkenabnahme am Stall B mit einer Ausbreitungsrechnung**

Analog zu den Ausbreitungsuntersuchungen am frei gelüfteten Stall A wurde untersucht, inwieweit die gemessene Staphylokokkenabnahme mit den Ergebnissen einer Ausbreitungsrechnung vergleichbar ist. Abbildung 3.19 zeigt den Vergleich der aus den Messungen ermittelten Keimabnahme (vgl. 3.3.4) mit der berechneten Abnahme des Gaußschen Ausbreitungsmodells.



**Abb. 3.19: Vergleich der aus Messungen hervorgegangenen Staphylokokkenabnahme am Stall B mit berechneten Werten aus dem Gaußschen Ausbreitungsmodell.  $r = 1$ .**

Die Verläufe der Staphylokokkenabnahmen mit zunehmender Entfernung zum Stall B zeigen relativ gute Übereinstimmungen. Die mittlere Abweichung der Messwerte liegt im Vergleich zu den Modellwerten um den Faktor 1,1 höher, wobei die höchste Abweichung zwischen einem Wertepaar (200 m Entfernung) das 1,5-fache betrug. Im Unterschied zum freigelüfteten Stall A lassen sich durch die Unterdrucklüftung am Stall B die in der DIN 18910-1 vorgegebenen Luftvolumenströme genauer regeln. Vermutlich konnte dadurch mit einer Quellstärke im Modell gerechnet werden, die weitaus realistischer war als die am Stall A.

Die Keimabnahmen in Abbildung 3.19 folgten, wie bereits am Stall A festgestellt, der Beziehung  $N = N_0 \cdot e^{-k \cdot x}$ . Der aus den Messungen am Stall B hervorgegangene Konstante  $-k = 0,0092$  ist in der Größenordnung mit der aus der Abnahme der Staphylokokken am Stall A ( $-0,0088$ ) vergleichbar, insbesondere weil die 4. Nachkommastelle bereits durch den statistischen Fehler bei der Kultivierung beeinflusst wird. Ebenso würden die Abweichungen von den eingesetzten Mittelwerten für die Windgeschwindigkeit und die Ausbreitungsklasse die vierte Nachkommastelle bereits deutlich verändern, daher sollte diese gänzlich für vergleichende Betrachtungen vernachlässigt werden.

Ein größerer Unterschied als am Stall A besteht hier vergleichsweise zwischen der Modellwertkonstante ( $-k = 0,0072$ ) und der aus den Messungen ermittelten Konstante. Die Differenz beträgt  $0,0020$  und bedeutet, dass die aus der Modellrechnung resultierende Keimreduktion langsamer verlief als die aus den Messungen hervorgegangene. Dies wird anhand der sich kreuzenden Regressionsgeraden in Abbildung 3.19 erkennbar, wobei auffällt, dass die Modellwerte eine langsamere Keimabnahme erst ab 350 m Abstand zum Stall zeigen.

Es steht zur Diskussion, ob hier eine Fehleinschätzung durch die Ausbreitungsrechnung vorliegt, oder ob der raschere Verlust bei den Messungen möglicherweise auf Umwelteinflüsse an der Außenluft zurückgeführt werden kann.

### 3.3.6 Direkter Vergleich von Messungen und Ausbreitungsrechnungen an einzelnen Messtagen am Stall B

Die Ausbreitungsuntersuchungen zeigten bislang, dass bei einem Vergleich der Regressionswerte aus den Messungen mit den berechneten Keimabnahmen zum Teil größere Unterschiede, wie am Stall A festgestellt, oder auch nur geringe Unterschiede, wie am Stall B gesehen, vorliegen. Bei den Untersuchungen am Stall B wurden an vier Messtagen mit der Unterstützung der Stallbaufirma die Luftvolumenströme der einzelnen Ventilatoren in den Abluftschächten über die Leistung bestimmt. Anhand der im Abluftstrom gemessenen Staphylokokkenkonzentrationen konnten die Quellstärken dieser Bakterien zum Zeitpunkt der Außenluftmessungen relativ genau bestimmt werden. Mit diesen Quellstärken und den meteorologischen Bedingungen, die zur Zeit der Feldmessungen vorlagen, wurden Ausbreitungsrechnungen durchgeführt. Die berechneten Werte wurden mit den Messwerten an einzelnen Messorten verglichen. Tabelle 3.6 gibt die Ergebnisse wieder.

**Tab. 3.6: Vergleich der Staphylokokkenkonzentrationen aus Außenluftmessungen und Ausbreitungsrechnungen an vier Messtagen am Stall B**

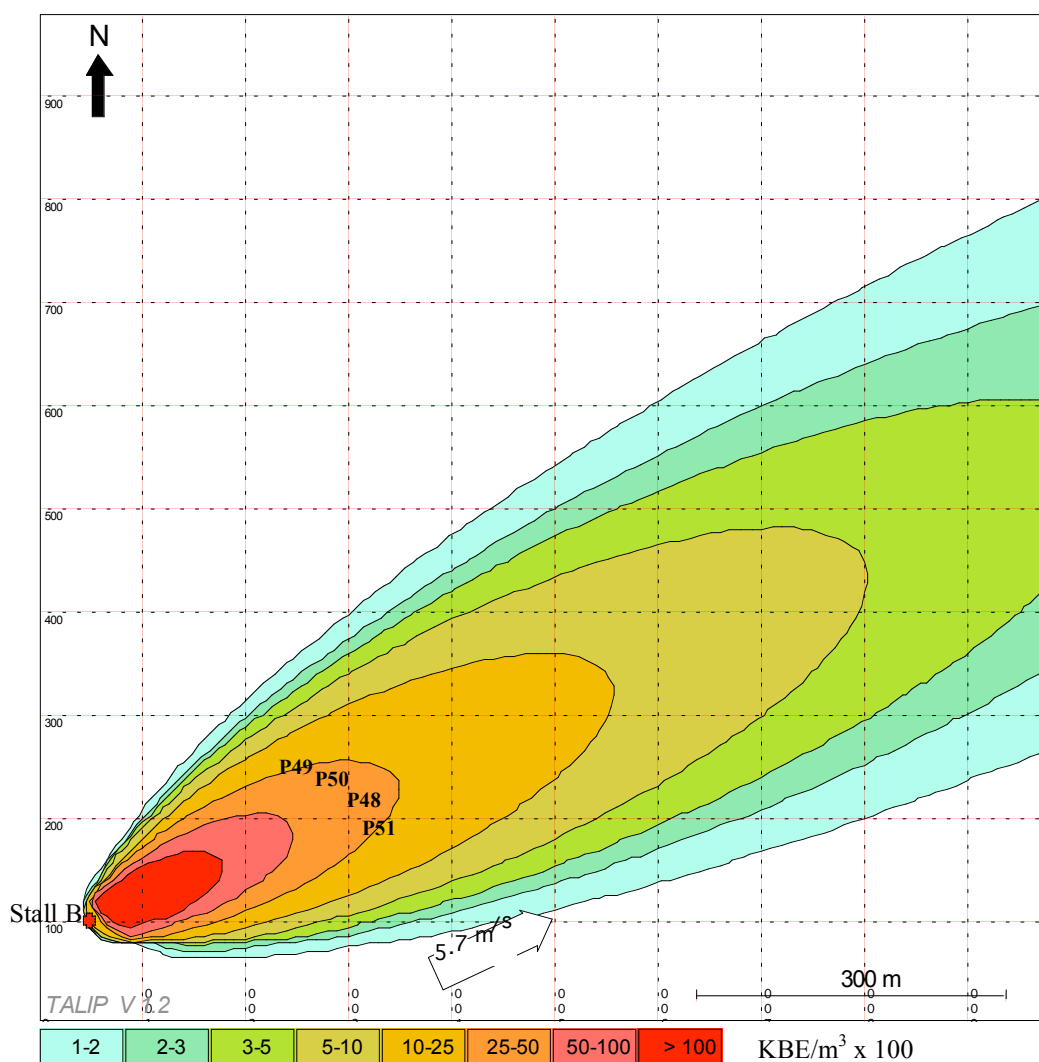
Messtag; HW*	Messort; Entfernung; Abweichung von der HW*	Messung KBE/m <sup>3</sup>	Prognostizierter Modellwert KBE/m <sup>3</sup>	Differenzen KBE/m <sup>3</sup> aus Messung - Prognosewert
25.08.04 226°	P32; 121m; 8°	8 502	3 200	5 302
	P31; 137m; 3°	10 278	3 400	6 878
	P33; 135m; 14°	3 682	1 900	1 782
09.09.04 108°	P44; 108m; 39°	150	480	-330
	P42; 113m; 27°	3 842	3 900	-58
	P43; 125m; 15°	18 500	15 350	3 150
	P45; 117m; 5°	23 339	25 150	-1 811
	P46; 114m; 10°	20 680	24 000	-3 320
15.09.04 245°	P49; 248m; 13°	4 782	2 425	2 357
	P50; 272m; 8°	5 460	3 425	2 035
	P48; 273m; 0°	9 214	3 600	5 614
	P51; 280m; 8°	4 017	2 525	1 492
16.09.04 258°	P54; 324m; 7°	3 700	3 625	75
	P53; 356m; 7°	3 748	4 375	-627

\* HW = Hauptwindrichtung

Sowohl Messungen als auch Ausbreitungsrechnungen geben die Tendenz höherer Keimzahlen bei geringeren Abweichungen zur Hauptwindrichtung erwartungsgemäß wieder. An den Messtagen am 25.08.04 und am 15.09.04 werden mit 6 900 und 5 600 KBE/m<sup>3</sup> die höchsten Differenzen zwischen Messungen und Berechnungen festgestellt. An diesen

Messtagen waren die Windgeschwindigkeiten mit 5,7 bzw. 6,3 m/s relativ hoch. In solchen Situationen scheint das Ausbreitungsmodell die Messwerte z. T. deutlich zu unterschätzen. Am 09.09.04 und am 16.09.04 ergaben sich dagegen gute Übereinstimmungen von Mess- und Modellwerten bei geringeren Windgeschwindigkeiten von 2,8 bzw. 1,7 m/s. Hierbei kann es sich nur um eine vorläufige Einschätzung handeln. Die Datenlage ist zu gering, um die gemachten Feststellungen statistisch abzusichern.

In der folgenden Abbildung 3.20 wird beispielhaft die mit dem Modell berechnete Staphylokokkenausbreitung am 15.09.04 mit den eingetragenen Messorten P48 bis P51 im 100 x 100 m Raster dargestellt.



**Abb. 3.20: Modellierte Staphylokokkenausbreitung bei einer Windgeschwindigkeit von 5,7 m/s. P48 bis P51 = Messorte vom 15.09.04. Die Werte der Konzentrationsflächen mit 100 multipliziert, ergeben die Konzentrationsbereiche in KBE/m<sup>3</sup>.**

Die Ausbreitungsfahne der Staphylokokken erscheint bei vorliegender neutraler atmosphärischer Schichtung (Ausbreitungsklasse 3) und einer mittleren Windgeschwindigkeit

von 5,7 relativ schmal und konzentriert. Es wird deutlich, dass in der vorliegenden Situation im letzten Mastabschnitt der Tiere auch noch in Entfernungen von über 500 m zum Stall mit mehr als 1 000 KBE/m<sup>3</sup> an Staphylokokken gerechnet werden muss. Dies erscheint auch dadurch plausibel, dass die vier erhobenen Messwerte in Abständen von 250 bis 280 m an diesem Tag noch erheblich über den prognostizierten Werten lagen (vgl. Tab. 3.6). Die Einschätzung wird durch den Messbefund in 480 m Entfernung zum Stall gestützt (vgl. 3.3.4).

### 3.3.7 Differenzierung zeitgleich in der Stallluft und in Lee am Stall B erfasster Staphylokokken

Auch am zwangsbelüfteten Stall wurden Staphylokokken, die zeitgleich in der Stallabluft und an leeseitigen Messorten gesammelt wurden, bis zur Art bestimmt. Dazu wurden fünf bis zehn zuvor bis zur Gattung differenzierte *Staphylococcus* Kolonien, die sich z. B. in der Pigmentierung oder der Koloniemorphologie unterschieden, aus einer Luftprobe mit dem ID 32 Staph Test bis zur Art bestimmt. Tabelle 3.7 zeigt weitgehende Übereinstimmungen zwischen den bestimmten Arten aus der Abluft und aus der Außenluft.

**Tab. 3.7: Artbestimmung simultan erfasster Staphylokokken aus der Stallabluft des zwangsbelüfteten Stalles B und aus der leeseitigen Außenluft**

Datum der Probenahme	Arten in der Stallabluft	Arten an leeseitigem Messort (P)	Entfernung des Messortes zur Emissionsquelle
06.07.04	<i>S. saprophyticus</i> <i>S. xylosus</i> <i>S. lentus</i> <i>S. arlettae</i> <i>S. gallinarum</i>	P2: <i>S. saprophyticus</i> <i>S. xylosus</i> <i>S. lentus</i> <i>S. arlettae</i> <i>S. cohnii</i>	401m
15.07.04	<i>S. saprophyticus</i> <i>S. lentus</i> <i>S. arlettae</i> <i>S. cohnii</i>	P3: <i>S. lentus</i> <i>S. arlettae</i> <i>S. cohnii</i>	478m
29.07.04	<i>S. lentus</i> <i>S. cohnii</i> <i>S. kloosii</i>	P17: <i>S. caprae</i> <i>S. cohnii</i> <i>S. kloosii</i>	73m

Das Auftreten von *S. cohnii* am 06.07.04 und von *S. caprae* am 29.07.04 in der Außenluft und der ausgebliebene Nachweis in den zeitgleich genommenen Abluftproben, lag möglicherweise in der Auswahl der Kolonien begründet. Insgesamt bestätigte das Ergebnis die bereits am Stall A gemachte Beobachtung, dass die leeseitig in der Hauptwindrichtung gemessenen *Staphylococcus* spp. aus dem Masthühnerstall stammten, zumal keine Staphylokokken an den Referenzmessorten auf der Luvseite gefunden wurden. Wie zuvor am

Stall A festgestellt, handelte es sich hierbei im Wesentlichen um Staphylokokken der *S. saprophyticus* Gruppe (TAKAHASHI et al., 1999) und um *S. lentus*.

## 4 Diskussion

Masthühnerställe sind bedeutende Emittenten von umweltrelevanten Gasen und Gerüchen sowie von partikulären Aerosolen, zu denen auch belebte Partikel wie Bakterien und Pilze gehören. Über die Immissionen von kultivierbaren Mikroorganismen im Umfeld von Masthühnerställen ist bislang nur wenig bekannt, obgleich eine Einschätzung über mögliche Erregereinträge in die Umwelt und besonders in benachbarte Tierbestände oder die umliegende Wohnbebauung seit längerem von starkem Interesse ist (SEEDORF, 2006). Daher wurden im Rahmen dieser Arbeit Untersuchungen zur Ausbreitung luftgetragener Mikroorganismen am Beispiel zweier praxisüblicher Masthühnerställe durchgeführt. Es konnte gezeigt werden, dass die quantitative Ausbreitung von Pilzen und mesophilen Bakterien von einer Reihe einflussnehmender Faktoren bestimmt wird. Vor allem wurde am Beispiel der in hohen Konzentrationen emittierten Staphylokokken klar, dass Bakterien nach dem Eintrag in die Außenluft einer erheblichen Verdünnung unterliegen und dennoch in Entfernungen von 0,5 km und vermutlich darüber hinaus mit vermehrungsfähigen Keimen gerechnet werden muss.

### 4.1 Einflüsse auf Luftkeimgehalt und Keimemissionen der untersuchten Stallanlagen

Die Anzahl der Bakterien und Pilze, die vom Stall in die Außenluft übergehen, wird von ihren Konzentrationen in der Stallluft und vom Luftvolumenstrom der Stalllüftung bestimmt. In der Stallluft zeigten die Konzentrationen der Pilze, die sich überwiegend aus *Cladosporium* spp., *Penicillium* spp., *Fusarium* spp., *Aspergillus* spp. und *Alternaria* spp. zusammensetzten, und die Konzentrationen der mesophilen Bakterien über den Mastverlauf ein heterogenes Bild. Die Pilze erreichten ihre höchsten Konzentrationen mit ca.  $1 \times 10^5$  KBE/m<sup>3</sup> in der dritten (Stall A) bzw. am Ende der zweiten Mastwoche (Stall B) und fielen im weiteren Verlauf der Mast stetig ab. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch SALEH (2006) sowie MADELIN und WATHES (1989) in eingestreuten Masthühnerställen. Eine mögliche Erklärung dafür könnten Veränderungen in der Einstreu während der Mast sein, von der vermutlich der Hauptanteil der luftgetragenen Schimmelpilze ausgeht (WHYTE, 1993). Zu Beginn der Mast liegt die Stroheinstreu locker auf dem Stallfußboden. In dieser Phase ist sie noch relativ gut durchlüftet und besitzt wahrscheinlich einen leicht sauren bis neutralen pH-Wert (WHYTE, 1993). Im Stroh sind verwertbare Kohlenhydrate wie z. B. Cellulose, Hemicellulose, Pentosan oder Lignin (ABBAS et al., 2005; FALCK und HAAG, 2006) enthalten und durch den anfallenden



Hühnerkot und durch verstreute Futterbestandteile wird die Einstreu zusätzlich mit Nährstoffen angereichert (KRATZ et al., 2000). Somit liegen zunächst gute Bedingungen für den aeroben Substratabbau durch Schimmelpilze vor. Im weiteren Verlauf der Mast verfestigt sich die Einstreu. Dies führt zu einer geringeren Durchlüftung und es kann davon ausgegangen werden, dass durch den mikrobiellen Abbau von Proteinen und Harnsäure vermehrt Ammoniak entsteht. SLOBODZIAN-KSENICZ und KUCZYNSKI (2002) zeigten, dass der pH-Wert in der Einstreu auf Werte um neun ansteigen kann. Da alkalische Bedingungen zu einer Inhibierung des Wachstums der meisten Schimmelpilze führt (SAMSON und REENEN-HOEKSTRA, 1988), gelangen in der zweiten Masthälfte offenbar weniger Sporen in die Stallluft. Steigende Luftraten zum Ende der Mast mögen den Konzentrationsabfall noch verstärkt haben.

Bei den mesophilen Bakterien wurden deutlich andere Konzentrationsprofile über den Mastverlauf beobachtet. Sie stiegen von Beginn der Mast um etwa 4 Zehnerpotenzen auf  $10^6$  bis  $10^7$  KBE/m<sup>3</sup> Stallluft an. Die Höchstwerte erreichten sie in der vierten Mastwoche. In den letzten Masttagen war ein leichter Rückgang der Konzentrationen zu verzeichnen. Diese Konzentrationsabnahme erfolgte trotz weiter zunehmender Besatzdichte infolge des Tierwachstums. Möglicherweise spielen auch die verstärkte Verklebung der Einstreu mit Kot im Mastverlauf, eine verminderte Aktivität der schwerer werdenden Tiere und die gegen Ende der Mast üblicherweise höheren Luftraten eine Rolle. Ähnliche Befunde werden auch von MADELIN und WATHES (1989) in einem eingestreuten Masthühnerstall berichtet.

Keime in der Stallluft sind weitaus überwiegend an Staubpartikel gebunden, besonders in der Partikelgrößenfraktion von 0,5 bis 5 µm, deren Anteil an der Gesamtpartikelzahl in Nutztierställen über 90% beträgt (SCHNEIDER, 2005; SEEDORF und HARTUNG, 2002; MÜLLER und WIESER, 1987; SALEH, 2006; CARPENTER, 1986). Die wesentlichen Quellen für die an Stäube assoziierten Keime in Masthühnerställen sind das Futter, die Einstreu, die Fäkalien sowie Haut- und Federn der Tiere (WHYTE, 1993). Zum Beispiel sind die zahlreich in der Stallluft vorkommenden Staphylokokken Kommensalen auf der Haut und in den nasalen Passagen der Hühner (DEVRIESE et al., 1985; SHIMIZU et al., 1992). Des Weiteren fungieren sie in der Einstreu als Saprophyten (THAXTON et al., 2003). Hautuntersuchungen bei Hühnern und eine 16S rDNA Sequenzierung von Bakterien aus Einstreuproben zeigten überwiegend Staphylokokken der *S. saprophyticus* Gruppe, *Staphylococcus lentus* und *Staphylococcus hyicus* (DEVRIESE et al., 1985; SHIMIZU et al., 1991; AWAN und MATSUMOTO, 1998; LU et al., 2003). Bei den Untersuchungen zu dieser Arbeit wurde *S. hyicus* nicht gefunden. Aus den Luft- und Abstrichuntersuchungen gingen

jedoch mit großer Mehrheit Arten der *S. saprophyticus* Gruppe und *S. lentus* hervor. Offenbar sind diese Arten typische Vertreter in der Hühnermast, wenn sie auch nicht wirtsspezifisch sind (KLOOS et al., 1992; DEVRIESE et al., 1985; SHIMIZU et al., 1991).

Selbst durchgeführte Begleituntersuchungen bestätigen die von TANKSON et al. (2002) gemachte Beobachtung, dass die Eintagsküken bereits vor der Einnistung mit Staphylokokken besiedelt zu sein scheinen. Weiterhin könnten Staphylokokken über nicht entfernte Staub- und Kotreste des vorangegangenen Mastdurchganges, über das Stallpersonal und möglicherweise auch über Insekten (HÁJEK und BALLUSEK, 1985) in den Stall gelangen. Ebenfalls kann ein Wiedereintrag durch Stäube aus der Stallumgebung nicht ausgeschlossen werden. Die frühe Präsenz im Stall trug sehr wahrscheinlich zu der schnellen Populationsentwicklung und somit zu den enormen Konzentrationsanstiegen in der Stallluft bei, die in Einzelfällen sogar höhere Konzentrationen als die mesophilen Gesamtbakterien erreichten. Einfluss können hier die kulturellen Detektionsmethoden genommen haben. Es ist bekannt, dass die Verwendung von verschiedenen Kulturmedien zu unterschiedlichen Luftkeimzahlen führen kann (ZUCKER et al., 2000; BOVALLIUS et al., 1978). Besonders der Vergleich eines Selektivmediums mit einem allgemeinen Medium, das für ein breites Spektrum an Keimen verwendet werden kann, bereitet Schwierigkeiten, da sich auf letzterem Mikroorganismen aus unterschiedlichen Gruppen im Wachstum beeinflussen können (BAST, 1999).

Der Anstieg der Keimkonzentrationen in der Stallluft wird i. d. R. von zunehmenden Luftvolumenströme über den Mastverlauf begleitet (MÜLLER et al., 2006). Dabei soll der Luftaustausch gewährleisten, dass sich Gase wie z. B. Ammoniak nicht in gesundheitsschädlichen Konzentrationen im Stall anreichern und dass im Stall entstehende überschüssige Wärme in ausreichender Menge abgeführt wird, um die Tiere vor Hitzestress zu schützen. Besonders in den Sommermonaten werden hohe Luftvolumenströme benötigt. Nach BÜSCHER (1998) können die Sommerluftraten in Masthühnerställen das zehnfache bis zwanzigfache der Winterluftraten betragen. Daher ist die Keimkonzentration in der Abluft an warmen Sommertagen bei hohen Luftraten zwar relativ gering, die Keimemission pro Stunde jedoch deutlich höher als im Winter.

Wesentlich beeinflusst die Aktivität der Tiere die Höhe der Keimemissionen aus den Ställen. Am Tage sind die Tiere aktiver als zur Nachtzeit, so dass sich ein Tagesrhythmus in der Keimemission mit Spitzen am Tag und niedrigeren Werten in der Nacht ergibt (SCHNEIDER et al., 2006). Am Tag wurden aus beiden Ställen durchaus  $1 \times 10^{10}$  KBE/h • GV freigesetzt.

Dieser Wert liegt noch über den von SEEDORF (2004) kalkulierten Emissionen mesophiler Bakterien aus der Masthühnerhaltung in Niedersachsen ( $3,45 \cdot 10^9$  KBE/h  $\cdot$  GV), die allerdings auch nur einen Durchschnittswert über den Jahresverlauf darstellen.

## **4.2 Die gemessene Keimausbreitung: Einflüsse auf Konzentrationen und potentielle Risiken für Mensch und Tier in der Stallumgebung**

Beim Eintritt in die Außenluft wurden die staubgebundenen oder auch frei in der Luft vorliegenden Mikroorganismen aus der Stallluft mit dem Wind fort getragen. Ein Teil wird, vermutlich durch Turbulenzen am Stallgebäude, relativ rasch niedergeschlagen und somit aus der Luft entfernt (WALLENFANG et al., 2002; GROSS, 1998). Die z. T. stark schwankenden Bakterienkonzentrationen in den drei verschiedenen Messhöhen an stallnahen Messorten waren ein Indiz dafür. Bei Entfernungen von  $> 100$  m zum Stall zeigten die Messwerte in den Messhöhen häufig kaum Unterschiede, was auf ein zunehmend turbulenzfreies Windfeld auf der jeweiligen Leeseite der Ställe hindeutet. Erheblichen Einfluss auf die Ausbreitung der Bakterien nimmt die stabile Windrichtung. Dies zeigen die mit zunehmender Abweichung zur Hauptwindrichtung stark abfallenden Keimkonzentrationen.

Der Einfluss der Windgeschwindigkeit auf die Konzentrationen der leeseitig erfassten Stallkeime konnte nicht festgestellt werden, da auch in aufeinander folgenden Messungen am gleichen Messort die Differenzen der Windgeschwindigkeiten zu gering waren. Allerdings ist bekannt, dass höhere Windgeschwindigkeiten einen höheren Luftaustausch im Windfeld erzeugen und somit eine raschere Keimabnahme in Ausbreitungsrichtung bewirken (MÜLLER und WIESER, 1987). Ungeklärt bleibt auch der Einfluss der atmosphärischen Schichtung auf die gemessenen Keimkonzentrationen, da zu wenig vergleichbare Messsituationen mit unterschiedlichen Ausbreitungsklassen vorlagen (vgl. 2.2.9). Solche Einflüsse können möglicherweise durch multiple Regressionsmodelle beschrieben werden, was jedoch Langzeitstudien an stets den gleichen Messorten erfordert hätte (MOULI et al., 2005). Diese Vorgehensweise war für die hier angestrebte Ermittlung der Verfrachtungsentfernung in der Hauptwindrichtung nicht angebracht.

Weiterhin bestimmt auch das jeweilige Lüftungssystem der Ställe die Verteilung der Bakterien im Windfeld. Der frei gelüftete Stall A stellt eine Linienquelle dar, aus der bei Queranströmung über die gesamte Breite mit einem Austrag von Mikroorganismen über die

geöffneten Seitenwände gerechnet werden muss. In solchen Fällen nimmt die Immissionsfläche in der Umgebung des Stalles größere Werte an, als am zwangsbelüfteten Stall B, der eine Punktquelle darstellt (SCHNEIDER et al., 2006). Von letzterer gehen über die in einem Bereich auf dem Dach des Stalles angeordneten Abluftschächte eher schmalere Abluffahnen aus, wie auch die mit dem Gaußmodell berechneten Konzentrationsverteilungen der Staphylokokken auf der Leeseite der Ställe A und B verdeutlichen (vgl. Abb.7 und Abb. 8 im Anhang). Dies dürfte auch die Erklärung für die hohen Keimdifferenzen von mehreren Tausend KBE/m<sup>3</sup> bei nur geringen Abweichungen (weniger als  $\pm 10^\circ$ ) von der Hauptwindrichtung am Stall B sein.

#### 4.2.1 Schimmelpilze

Trotz der unterschiedlichen Quelleigenschaften zeigte die Ausbreitungscharakteristik der aus den Ställen emittierten Mikroorganismen übereinstimmende Merkmale. So wurden an beiden Ställen Pilze in erhöhten Konzentrationen in der Außenluft bis zu Entfernungen von 200 m festgestellt. Bei größeren Entfernungen konnten keine Unterschiede zum ubiquitären Schimmelpilzgehalt in der Außenluft mehr gemessen werden. Erschwerend kam hinzu, dass die überwiegend aus dem Stall emittierten *Cladosporium* spp., *Penicillium* spp., *Fusarium* spp., *Aspergillus* spp. und *Alternaria* spp. gleichzeitig typische Vertreter in der Außenluft der wärmeren Jahreszeit sind (GABRIO et al., 2005; LUGAUSKAS et al., 2003). Zur genauen Beschreibung der Pilzausbreitung aus den Ställen müsste daher eine Differenzierung der Pilze vorgenommen werden, die über die Bestimmungen bis zur Gattung hinausgeht. Dies könnte auch zur Identifizierung möglicher Indikatorpilze aus den Ställen, wie z. B. *Scopulariopsis brevicaulis*, führen (MADELIN und WATHES, 1989; GABRIO et al., 2005). Im Winter können gegebenenfalls auch die Schimmelpilze zur Beschreibung der Keimausbreitung herangezogen werden, da in dieser Jahreszeit die Hintergrundkonzentrationen in der Außenluft sehr niedrig sind, wie die Messungen z.B. von GABRIO et al. (2005) zeigen, die bei vergleichenden Außenluftmessungen im Sommer einen Median von 980 KBE/m<sup>3</sup> und im Winter einen von 50 KBE/m<sup>3</sup> für *Cladosporium* spp. fanden.

Ob der Eintrag von Schimmelpilzen in die Stallumgebung auch eine gesundheitliche Bedeutung für Menschen besitzt, ist nur schwer abzuschätzen (RADON et al., 2005). Für den Menschen kommen gesundheitliche Beeinträchtigungen im Umfeld von Stallanlagen eher durch den Austrag von Aeroallergenen in Betracht. Viele der in der Stallluft vorkommenden Schimmelpilze besitzen das Potential, eine Allergie auszulösen (LGA, 2004; SEEDORF und

HARTUNG, 2002). Für bereits sensibilisierte Menschen könnten erhöhte Allergenkonzentrationen im Umfeld von Stallanlagen gesundheitliche Nachteile mit sich bringen. Die Wirkung auf gesunde Menschen ist jedoch umstritten. So wird sogar der Exposition von Anwohnern mit Inhalationsallergenen aus Tierställen gelegentlich ein protektiver Effekt bzgl. einer Sensibilisierung zugeschrieben (CSICSAKY et al., 2005).

Von jungen Greifvögeln ist bekannt, dass sie bei erhöhter Exposition gegenüber Aspergillen wie *Aspergillus fumigatus*, der auch regelmäßig im Sedimentationsstaub von Masthühnerställen in hohen Konzentrationen angetroffen wird (VISSIENNON, 1999), eine Aspergillose entwickeln können (SCHULZ und HARTUNG, 2007). Somit kann für empfängliche Tiere in der Umgebung solcher Ställe ein Infektionsrisiko nicht völlig ausgeschlossen werden.

#### 4.2.2 Mesophile Bakterien

Die aus den beiden Stallanlagen emittierten mesophilen Bakterien unterliegen in der Außenluft einer erheblichen Verdünnung, die mit zunehmender Entfernung vom Stall zunimmt. So wurden im Vergleich zur Stallluft nur noch weniger als 0,1% der kultivierbaren Bakterien im Abstand von 330 m zum Stall A ( $6 \times 10^3$  KBE/m<sup>3</sup>) und 480 m zum Stall B ( $4 \times 10^3$  KBE/m<sup>3</sup>) wieder gefunden. In diesen Zahlen sind auch die natürlicherweise in der Außenluft vorkommenden Bakterien eingeschlossen, die an Stall A häufig weniger als 300 KBE/m<sup>3</sup> und an Stall B etwa 400 KBE/m<sup>3</sup> erreichten - in Einzelfällen wurden an beiden Ställen auch mehr als 1000 KBE/m<sup>3</sup> beobachtet - so dass die gemessene mesophile Gesamtbakterienzahl die Ausbreitung der Stallkeime in größerer Entfernung vom Stall nur unscharf abbildet. Daher ist die Zahl der mesophilen Gesamtbakterien allein für eine genaue Bestimmung der bakteriellen Ausbreitung aus Ställen nur bedingt geeignet. Wegen der in aller Regel wechselnden Anteile der Einzelspezies an der Summe der Bakterien können auch keine Dosis-Wirkungsbeziehungen hergestellt werden, wodurch eine Abschätzung bzgl. eines Gesundheitsrisikos anhand einer Gesamtkeimzahl derzeit nicht möglich ist (EICKMANN et al., 2007).

#### 4.2.3 Staphylokokken

Staphylokokken eignen sich dagegen offenbar gut als Indikatorkeime für die Ausbreitungsuntersuchungen an beiden Stallanlagen. Bei den Untersuchungen zur Verfrachtungsentfernung traten sie in den Referenzmessorten auf der Luvseite der Ställe nie

auf. Somit war allein schon die Differenzierung bis zur Gattung ein Indiz für den leeseitigen Eintrag aus dem Stall. Die weitergehende Differenzierung von zeitgleich im Stall und in der Außenluft erfassten Staphylokokken bis zur Art belegte, dass die in der Außenluft gemessenen Staphylokokken zweifelsfrei aus den Ställen stammten. So wurden wie im Stall vor allem Arten aus der *Saprophyticus* Gruppe und *S. lentus* bestimmt. Die Bestimmungsmethoden (ID 32 Staph Test und 16S–23S ITS-PCR) wurden dabei miteinander verglichen und zeigten gute Übereinstimmungen. In Einzelfällen scheint die PCR-Methode, die in Zweifelsfällen durch eine RFLP-Methode ergänzt wurde, genauer zu sein als die biochemischen Tests. Eine ähnliche Beobachtung machten auch CUOTO et al. (2001) beim Vergleich klinischer Staphylokokkenisolate mit dem ID 32 STAPH Test und einer ITS-PCR. Eine Unterscheidung auf der Ebene der Subspecies war durch die ITS-PCR allerdings nicht möglich. Dies stellten auch MENDOZA et al. (1998) fest.

Mit der für diese Arbeit eingestellten ITS-PCR wurden nach dem phylogenetischen Stammbaum von TAKAHASHI et al. (1999) alle Katalase positiven *Staphylococcus* Arten untersucht. Damit wurden mehr Arten erfasst als in früheren Untersuchungen (MENDOZA et al., 1998; CUOTO et al., 2001) und es konnte gezeigt werden, dass der für diese Arbeit entwickelte Lysostaphin basierte DNA-Aufschluss mit einem GeneReleaser im PCR-Reaktionsgefäß eine geeignete Methode für die anschließend durchgeführte Amplifikation der 16S - 23S ITS Sequenz war. Im Prinzip handelte es sich daher um eine Colony-ITS-PCR, die auch für die Amplifikation anderer DNA-Abschnitte geeignet sein dürfte.

Die gemessenen Keimkonzentrationsabnahmen mit zunehmenden Entfernungen zu den Ställen erfolgten in der Hauptwindrichtung exponentiell. Die Messwerte korrelierten mit der Entfernung am Stall A ( $r = -0,84$ ) stärker als am Stall B ( $r = -0,71$ ). Vermutlich bewirkten größere Differenzen in den Windgeschwindigkeiten und stärkere Abweichungen der Messorte von der Hauptwindrichtung an einzelnen Messtagen, höhere Konzentrationsunterschiede bei annähernd gleichen Messentfernungen am Stall B. Diese Einflüsse spiegelten sich auch in den Abweichungen der Messwerte vom Vertrauensbereich für den Korrelationskoeffizienten am Stall B wieder. Nahezu ausgeschlossen wurde, dass Resuspensionen bei der Ermittlung der Immissionskonzentrationen der Staphylokokken eine Rolle spielten. Das Auftreten von Resuspensionen, mit denen hier die Aufwirbelung von bereits am Boden deponierten Keimen gemeint ist, wurde zwar anhand der Erfassung sporenbildender Actinomyceten und Schimmelpilzsporen bereits belegt (BAUDISCH, 2000), hatte aber bei der Sammlung der luftgetragenen Staphylokokken außerhalb der Ställe sehr wahrscheinlich wenig Einfluss. Für diese Annahme spricht, dass keine Einträge von Staphylokokken durch Resuspensionen von der Oberfläche an den Luvmessorten oder an leeseitigen Messorten, die abseits der Hauptwindrichtung lagen, festgestellt werden konnten. Vermutlich wurde der abgesetzte und

mit Mikroorganismen beladene Staub vom Oberflächenbewuchs, der entweder aus Gras oder aus Getreidepflanzen bestand, gebunden bzw. weitgehend zurückgehalten (JONAS, 1982).

Die Charakteristik der gemessenen Keimabnahmen war an beiden Ställen vergleichbar. Sie folgte der Beziehung  $N = N_0 \cdot e^{-k \cdot x}$  ( $N$  = Konzentration im Abstand  $x$  [m],  $N_0$  = Populationsgröße in KBE/m<sup>3</sup> an der Emissionsquelle,  $-k$  = Konstante der Keimabnahme), wobei die Konstanten  $k$  mit  $-0.0088$  (Stall A) und  $-0,0092$  (Stall B) fast gleich lagen. Diese Konstanten wurden in der Ausdehnung der Hauptwindrichtung wahrscheinlich nicht nur durch die Windgeschwindigkeiten, sondern auch durch die thermischen Schichtungen der Atmosphäre und möglicherweise durch Umwelteinflüsse, die auf die Tenazität der Keime wirkten, beeinflusst. Daher kann davon ausgegangen werden, dass  $k$  zusammengesetzte Konstanten nach der Beziehung  $-k = -(k_1 + k_2 + \dots k_n)$  darstellen. Werden nun die an den Ställen gemessenen Keimabnahmekonstanten und  $N_0$ -Werte zugrunde gelegt und die zu erwartenden Keimkonzentrationen in  $x = 1000$  m Entfernung berechnet, ergeben sich am Stall A noch 7 KBE/m<sup>3</sup> und am Stall B noch 4 KBE/m<sup>3</sup>. Dies verdeutlicht, dass Keime aus Masthühnerställen unter bestimmten Umständen, wenn auch in sehr geringen Konzentrationen, noch in weiten Entfernungen vom Stall aus angetroffen werden können.

Die aus der Luft und der Abluftfahne der Ställe bestimmten Staphylokokken gehörten zu den koagulase negativen Staphylokokken, die im Vergleich zu den koagulase positiven Arten *S. aureus*, *S. intermedius* und *S. hyicus* nicht zu den primären Infektionserregern gehören. Allerdings treten die koagulase negativen Arten bei Mensch und Tier als Opportunisten auf und können an systemischen oder Sekundärinfektionen beteiligt sein. Dies kann insbesondere dann problematisch verlaufen, wenn multiresistente Keime an Infektionen beteiligt sind (AWAN und MATSUMOTO, 1998; KAWANO et al., 1996; NAWAZ et al., 1999). Methicillin resistente Staphylokokken wurden in Geflügelställen bereits nachgewiesen (LEE, 2006) und in der Praxis werden Penicilline, wie z. B. Oxacillin, zu Therapiezwecken in Ställen eingesetzt. Dadurch und durch den horizontalen Gentransfer bei den Bakterien kann die Resistenzbildung im Stall noch begünstigt werden (ROE und PILLAI, 2003; GIBBS et al., 2004). Somit könnten sich auch multiresistente Staphylokokken aus Masthühnerställen über den Luftweg in der Umgebung ausbreiten, wie es aus dem Nahbereich von Schweinemastställen berichtet wurde (PLATZ et al., 1995).

*S. aureus*, der Erreger mit der höchsten Pathogenität unter den Staphylokokken (CROSSLEY und ARCHER, 1997) konnte in den Luftproben durch den Staphylase-Test nicht nachgewiesen werden, obwohl er bereits häufiger in der Luft von Geflügelställen gefunden

wurde (HARTMANN, 1980; SAUTER et al., 1981). Der Test gilt als hochempfindlich und reagierte nach Angabe des Herstellers mit 100% von mehr als 2000 getesteten *S. aureus* Stämmen positiv. Da alle Mannit verwertenden Staphylokokken aus den Luftproben mit dem Staphylase-Test untersucht wurden und keine positive Reaktion festgestellt wurde, bestand zur Zeit der Ausbreitungsuntersuchungen höchstwahrscheinlich keine Gefahr für Mensch und Tier durch eine aerogene Übertragung von *S. aureus*. Es ist jedoch denkbar, dass sich dieser Erreger unter bestimmten Vorraussetzungen im Stall anreichert. *S. aureus* verursacht bei Hühnern z. B. Osteomyelitis und ist häufig an Wundinfektionen und Systemerkrankungen beteiligt (SKEELES, 1997; AWAN und MATSUMOTO, 1998). In solchen Fällen könnte der Keim auch in erhöhtem Maße in die Stallabluft gelangen und in der Stallumgebung verbreitet werden. Aufgrund seines zoonotischen Potentials können *S. aureus* Stämme von Tieren auch Infektionen beim Menschen verursachen. Seine zahlreichen Virulenzfaktoren unterstützen dabei das Infektionsgeschehen, weshalb eine Verbreitung dieses Erregers als besonders kritisch zu betrachten wäre.

Am Beispiel einer Ausbreitungsrechnung mittels einer Zeitreihe am Stall A wurde deutlich, dass Menschen und Tiere im Umkreis von 200 bis 300 m vom Stall, einer Exposition mit Staphylokokken und folglich auch mit anderen Stallluftbestandteilen ausgesetzt sein können. Neben einem infektiösen Potential besitzen koagulase positive und koagulase negative Staphylokokken Zellwandbestandteile und Enterotoxine die nach der Inhalation Entzündungsreaktionen im Atemtrakt hervorrufen können (RUSNAK et al., 2004; LEEMANS et al., 2003; LARSSON et al., 1999; BECKER et al., 2005). Inwieweit dies bei exponierten Menschen und Tieren in der Stallumgebung nachteilige gesundheitliche Effekte bewirken könnte, ist bislang nicht gezielt untersucht worden. Im Sinne der Gesundheitsvorsorge sollte jedoch dem Verbleib und der Wirkung der stallspezifischen Immissionen weiter nachgegangen werden.

### **4.3 Kritische Betrachtungen der benutzten Keimsammelmethode**

Felduntersuchungen unterliegen stets einer Vielzahl häufig nicht völlig beherrschbarer Randbedingungen. Daher sollten die eingesetzten Sammelverfahren auch möglichst effizient und unter mobilen Probenahmebedingungen verlässlich zu bedienen sein. Das Impingement schien dazu wegen seiner hohen Sammeleffizienz (vgl. 1.3, S. 9) in Kombination mit einer Glycerin-Sammellösung am besten geeignet, wie es besonders für Sporen beschrieben ist (LIN et al., 2000). Weniger Erfahrungen lagen mit vegetativen Bakterien in der Glycerin-

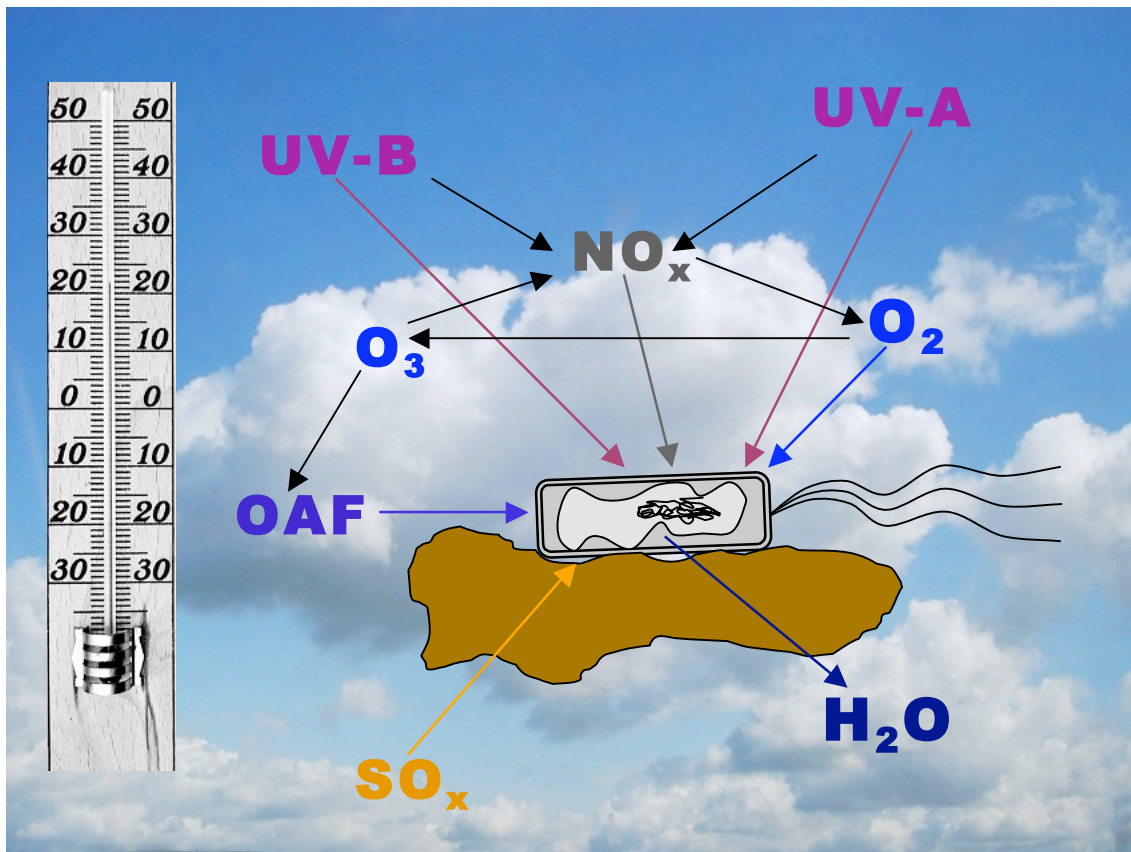


Sammellösung vor. Erste Versuche im Labor zeigten erhebliche Unterschiede bei den Keimarten. Während Staphylokokken durch den Sammelvorgang keine signifikanten Verluste aufwiesen, konnten bei einigen empfindlichen vegetativen Keimspezies Keimabnahmen in der Sammelflüssigkeit von bis zu 60 % beobachtet werden. Dies lag möglicherweise an dem Glycerinanteil im Sammelpuffer. Der Glycerinanteil im Puffer bewirkt unter Standardbedingungen einen Abfall des  $a_w$ -Wertes auf 0,77, wodurch zum Ausgleich des osmotischen Druckes Glycerin passiv über Aquaglyceropore in die Bakterienzellen aufgenommen wird (LU et al., 2003). Vermutlich erlitten durch diesen osmotischen Stress insbesondere die an feuchte Umgebungen angepassten Bakterien, wie beispielsweise *P. fluorescens*, einen Verlust ihrer Teilungsfähigkeit (HØJBERG et al., 1999; REID, 1980). Ein weiterer Nachteil des Impingement könnte in dem mechanischen Stress, dem die Bakterien bei dem Sammelvorgang ausgesetzt sind, bestehen. Durch die starke Verwirbelung in der Sammelflüssigkeit lösen sich Zellaggregate und Zellfäden auf. Dies führt gegenüber anderen Verfahren zu einer höheren Keimzahl (PAHL et al., 1997), jedoch könnten dabei auch Zellschädigungen auftreten. Ob dies der Grund für die geringere Wiederfindungsrate von luftgetragenen *S. xylosus* Zellen aus einer Aerosolmesstrecke war, wurde nicht geklärt. Insgesamt zeigten die Vorversuche aber, dass es durch das Impingement mit Glycerin-Phosphatpuffer sehr wahrscheinlich zu einer Unterschätzung der tatsächlich in der Stall- und Außenluft vorhandenen Keimzahlen kommt.

#### **4.4 Wirkungen abiotischer Faktoren in der Außenluft auf die Vermehrungsfähigkeit von *Staphylococcus* spp. und andere Keime**

Die Ausbreitungsuntersuchungen zeigen, dass vermehrungsfähige Staphylokokken aus den Ställen auch noch in 500 m Entfernung in der Außenluft auftreten. Dies trifft auf die anderen Keimspezies, die mit der Abluft aus den Ställen emittiert werden nicht in gleichem Umfang zu. Dies liegt neben aerodynamischen Eigenschaften wesentlich an der Widerstandsfähigkeit (Tenazität) der Keime gegenüber Umwelteinflüssen. Nach dem Übergang von der Stall- in die Außenluft werden die Keime mit einer Vielzahl vornehmlich abiotischen Umweltfaktoren konfrontiert. So verändern sich in aller Regel die Temperatur der Luft, die Luftfeuchte und die Konzentrationen der Gase wie Ammoniak und Kohlendioxyd (FORMOSA, 2005). Bei Tageslicht wirkt in Abhängigkeit vom Sonnenstand und dem Bewölkungsgrad die Sonnenstrahlung auf die Bakterien ein, die einen abtötenden Effekt besitzen kann (HOCKBERGER, 2000).

Weitere wichtige Einflussfaktoren, die zu einem Verlust der Vermehrungsfähigkeit von luftgetragenen Mikroorganismen führen können, sind reaktive Sauerstoffspezies, der Ozongehalt, der „open air factor“ (OAF, vgl. hierzu 1.3, S. 7) und auch Luftverschmutzungen in Form von Schwefel- und Stickoxiden (BURGE, 1995). Diese Faktoren wirken tagsüber meist gleichzeitig, oft in wechselnden Anteilen, auf die Mikroorganismen ein, wobei über Nacht der Einfluss der UV-Strahlung und des Ozons entfällt. Die Empfänglichkeit der Mikroorganismen für diese Einflüsse ist jedoch unterschiedlich. Beispielsweise werden Enterobakterien wie *E. coli* oder *Serratia marcescens* in der Außenluft unter moderaten oder niedrigen Luftfeuchten in erster Linie durch Austrocknung irreversibel geschädigt, während Mykobakterien unter gleichen Bedingungen am ehesten durch UV-Strahlung abgetötet werden (PAEZ-RUBIO und PECCIA, 2005). Die Wirksamkeit der UV-Strahlung hängt von der Wellenlänge und der Strahlungs dosis sowie von der relativen Luftfeuchte ab (PECCIA und HERNANDEZ, 2001, KULUNCSICS et al. 1999). Einzelne ungebundene Zellen werden in der Luft rascher und stärker von den Umweltfaktoren beeinflusst als Bakterien, die in Keimagglomeraten auftreten oder an Staubpartikeln gebunden sind (TONG und LIGHTHART, 1998; NYELETI et al., 2004). Auch der Wachstumszustand kann einen Einfluss nehmen. Staphylokokken können beispielsweise in der exponentiellen Wachstumsphase empfindlicher gegenüber Umwelteinflüssen wie der UV-Strahlung reagieren als in der stationären Phase (CHAPPLE et al., 1992). Abbildung 4.1 gibt eine bildliche Übersicht über die Einflüsse, denen ein luftgetragenes, an einen Staubpartikel gebundenes Bakterium ausgesetzt ist. Die Reaktionen der beteiligten Luftkomponenten werden u. a. wesentlich von der Lufttemperatur beeinflusst und sind äußerst komplex. So basiert die Bildung von Ozon auf photooxidativen Vorgängen. Dabei werden Stickstoffoxide durch die UV-Strahlung zu einer Übertragung von atomarem Sauerstoff auf den Luftsauerstoff angeregt. Das dadurch gebildete Ozon kann direkt mit Zellstrukturen reagieren oder mit Alkenen den OAF bilden, der ebenfalls cytotoxische Eigenschaften besitzt.



**Abb. 4.1: Einflüsse auf die Tenazität eines staubgebundenen, luftgetragenen Bakteriums in bodennahen Luftschichten bei Tageslicht. Schwarze Pfeile: Reaktionen zwischen Komponenten der Luft.**

Durch diese Reaktionen können Bakterienzellen aber auch Viren geschädigt werden (COX, 1995). Während dem OAF für Viren und Bakterien eine bis zu 50%ige Wirkung innerhalb von 30 Minuten zugeschrieben wird (COX et al., 1973; COX, 1995), ist die keimabtötende Wirkung von Ozon, z. B. gegenüber Gram-negativen und Gram-positiven Bakterien (unter anderem auch *Staphylococcus epidermidis*), erst nach einer Expositionszeit von 10 bis 60 Minuten überhaupt erkennbar (HEINDEL et al. (1993). Wegen dieser langfristigen Mechanismen spielen OAF und Ozon für die Ausbreitungscharakteristik von Staphylokokken in diesen Untersuchungen keine Rolle, da die Verweilzeiten der Bakterien in der Außenluft bei allen Messungen weniger als vier Minuten betragen. Ebenso wird der toxische Effekt von  $\text{SO}_x$ - und  $\text{NO}_x$ -Verbindungen wird als gering eingeschätzt (COX, 1995; EHRLICH und MILLER, 1972).

Dies dürfte auch für die toxische Wirkung des molekularen Luftsauerstoffs gelten. Seine toxische Wirkung auf Bakterien in der Luftphase wurde anhand von *Serratia marcescens* in künstlichen Atmosphären bei einer gleich bleibenden Luftfeuchte von 20% durch die schrittweise Erhöhung der Sauerstoffkonzentrationen von 2 auf 30 % nachgewiesen (COX, 1995). Staphylokokken besiedeln allerdings häufig Habitate, in denen sie üblicherweise dem

Luftsauerstoff ausgesetzt sind und weisen eine hohe Toleranz gegenüber reaktiven Sauerstoffspezies auf (CLEMENS und FOSTER, 1999).

Gemeinhin wird der ultravioletten Strahlung der Sonne eine erhebliche antibakterielle Wirkung zugeschrieben. So waren bei den Ausbreitungsmessungen die aus den Ställen emittierten Staphylokokken sowohl der UV-A (320 – 400 nm) als auch der UV-B Strahlung (280 – 320 nm) ausgesetzt (HÖLZLE und HÖNIGSMANN 2005; HOCKBERGER, 2000; vgl. auch Tab. 12 und 13 im Anhang). Die UV-A Strahlung induziert überwiegend oxidative Schäden an der DNA, während die UV-B Strahlung direkte Strukturveränderungen (Generierung von Photoprodukten) erzeugt, die sowohl die Transkription als auch die Replikation inhibieren können (QIU et al., 2004). In Abhängigkeit von der Höhe der UV-Dosis können beide Mechanismen zum Absterben von vegetativen Zellen und Sporen führen (KULUNCSICS et al., 1999; EL-ADHAMI et al., 1994). Erstaunlicherweise gibt es über den direkten Einfluss der Sonneneinstrahlung auf luftgetragene Mikroorganismen nur wenige Untersuchungen. Gut dokumentiert sind die Versuche von PAEZ-RUBIO und PECCIA (2005), die den Einfluss des natürlichen Sonnenlichtes in der Mittagssonne Arizonas im Herbst auf luftgetragene Mykobakterien bzw. *E. coli* in einer UV durchlässigen Quarzkabine untersuchten. Sie ermittelten eine Absterbekonstante für *Mycobacterium parafortuitum* von  $0,0019 \cdot s^{-1}$  bei moderaten Luftfeuchten und Temperaturen von 22 bis 36 °C. Für *E. coli* konnte keine zuverlässige Konstante gefunden werden, da die hohen Standardabweichungen der Messwerte aufgrund des Luftfeuchte- und Temperatureinflusses bei diesen Bakterien keine klare Aussage zuließen.

Sonnenstrahlung tötet Staphylokokken (CHAPPLE et al., 1992), allerdings liegen zur Wirkung der natürlichen UV-Strahlung auf luftgetragene Staphylokokken keine Befunde vor. Zwar existieren Untersuchungen mit artifizieller Bestrahlung von *Staphylococcus*-Aerosolen mit UV-C Licht, allerdings ist dies mit der synergetischen Wirkung von UV-A- und UV-B-Anteilen des natürlichen Sonnenlichtes nicht vergleichbar (KOWALSKI et al., 2002; KULUNCSICS et al., 1999), zumal die biologische Wirkung der Strahlung unter 280 nm in der Troposphäre praktisch vernachlässigt werden kann (HÖLZLE und HÖNIGSMANN, 2005; TONG und LIGHTHART, 1998). Daher ist eine genaue Abschätzung des Einflusses der Sonnenstrahlung auf Staphylokokken in der Außenluft derzeit kaum möglich.

Einen deutlichen Einfluss nimmt die relative Luftfeuchte (RF). Dabei kann auch der  $a_w$ -Wert des Mediums eine Rolle spielen, von dem ein Bakterium in die Luft abgegeben wird. Treten z. B. vegetative Zellen aus Umgebungen mit  $a_w$ -Werten  $> 0,8$  in die Luftphase mit relativen

Luftfeuchten von weniger als 80 % ein, kann ihnen in wenigen Sekunden das ungebundene Wasser aus dem Zytoplasma entzogen werden (WEBB, 1967; HUGHES, 2003). Der Zusammenhang zwischen der RF und dem  $a_w$ -Wert wird mit  $RF (\%) = a_w \cdot 100$  beschrieben. Die Effekte des Wasserverlustes können sehr vielfältig sein. Zellen beginnen zu schrumpfen und verändern ihre Oberflächenstruktur. Membranen und Pili werden geschädigt, und die Strukturen von Makromolekülen wie Proteinen und der DNA verändern sich. Außerdem werden Stoffwechselreaktionen, wie z. B. Enzymreaktionen, inhibiert, Maillard-Reaktionen werden beschleunigt und Reparatursysteme werden inaktiviert (POTTS et al., 2005; POTTS, 1994; COX, 1995).

Der Begriff Maillard-Reaktionen wird auf die zwischen 1912 und 1917 von Louis-Carmille Maillard beschriebene Kondensationsreaktion zurückgeführt bei der die Aminogruppe eines Proteins und die Carbonylgruppe eines reduzierenden Zuckers unter der Bildung einer Schiffschens Base reagieren. Die Schiffschens Basen werden anschließend in eine Fülle von anderen Reaktionsprodukten umgewandelt. Diese Reaktionen können z. B. bewirken, dass Porine der äußeren Membran von Gram-negativen Bakterien ihre Funktion verlieren (COX, 1995).

Inwieweit es zu einer Austrocknung und zum Absterben eines luftgetragenen Mikroorganismus kommt, hängt wesentlich von seinen physiologischen und strukturellen Eigenschaften ab. So sind Dauerformen wie Sporen von Bakterien und Schimmelpilzen i.d.R. sehr resistent gegenüber Austrocknung, während vegetative Zellen wie z. B. *Serratia marcescens* oder *E. coli* höchst sensitiv auf Austrocknung reagieren (WEBB, 1965). Staphylokokken sind gegenüber der Austrocknung an der Luft wesentlich resistenter als vegetative Zellen vieler anderer Bakteriengattungen und können in der Luftphase mehr als 10 Stunden überleben (POTTS, 1994; MÜLLER und WIESER 1987; WEBB, 1965). Vermutlich schützen Zellwandstrukturen und Stoffwechseleigenschaften die Zellen weitgehend vor der Austrocknung. In Frage kommen beispielsweise der Aufbau der Zellwand bzw. die Bildung einer hygroskopischen Exopolysaccharidschicht, die den Wasserverlust reduziert. Des Weiteren kann eine konstitutive Synthese von nicht reduzierenden Zuckern Makromoleküle wie Proteine und die DNA stabilisieren. Vermutlich trägt auch die Synthese von essentiellen Enzymen, die nach der Dehydrierung und der anschließenden Rehydrierung ihre Funktionen beibehalten, zu einer höheren Tenazität bei (POTTS, 1994, COX, 1995). Weiterhin schützt die Synthese von kompatibel gelösten Substanzen die Staphylokokken vor Schäden durch Austrocknung (POTTS, 1994). Prolin, Glycin und Betain reichern sich in den Staphylokokken an, wenn sie unter osmotischen Stress geraten (CLEMENS und FOSTER, 1999; REID, 1980). Eine solche Situation kann z. B. beim Abtrocknen der Einstreuoberfläche durch den Luftstrom im Stall entstehen. Die genannten Schutzmechanismen tragen zur Anreicherung der

Staphylokokken im Stall und in der Stallluft bei und begünstigen ihr Überleben in der Außenluft. Dies wird eindrucksvoll durch die von MÜLLER und GRÖNING (1981) beschriebene Absterbekonstante von  $-0,00003$  für luftgetragene Staphylokokken bei moderaten Luftfeuchten ohne UV-Einfluss bestätigt.

## 4.5 Vergleich von Ausbreitungsmessungen mit Ausbreitungsrechnungen

Die für Staphylokokken von MÜLLER und GRÖNING (1981) postulierte geringe Absterberate in der Luft wird durch die eigenen Untersuchungen im Prinzip bestätigt, obwohl während der Ausbreitungsmessungen an den beiden Ställen im Mittel ein UV-Strahlung (290 nm – 400 nm) von etwa  $20 \text{ W/m}^2$  vorherrschte, was einer mittleren zu erwartenden Strahlungsstärke im Sommer entsprechen dürfte (HÖLZLE und HÖNIGSMANN, 2005). So korrelierten die Regressionsgeraden aus Mess- und Modellwerten sehr hoch miteinander und die Konstanten ( $-k$ ), die sich aus der exponentiellen Abnahme ( $N = N_0 \cdot e^{-k \cdot x}$ ) der Staphylokokken mit zunehmender Entfernung vom Stall ergaben, lagen in der gleichen Größenordnung. Lediglich am Stall B lag die Konstante der Modellwerte etwas niedriger, wodurch die gemessenen Staphylokokken scheinbar etwas schneller abnahmen. Dies lag sehr wahrscheinlich nicht in Umwelteinflüssen begründet, sondern in den z. T. deutlich unterschiedlichen Windgeschwindigkeiten und Ausbreitungsklassen, die an diesem frei in der norddeutschen Tiefebene liegenden Stall herrschten. Da im Modell nur eine mittlere Windgeschwindigkeit bzw. mittlere Ausbreitungsklasse berücksichtigt werden konnte, war es nur unzureichend parametrisierbar (BOEKER et al., 2000). Darauf deuteten auch die Vergleiche von Einzelmesswerten mit Modellwerten am Stall B hin, wobei es insbesondere bei hohen Windgeschwindigkeiten zu auffälligen Unterschätzungen der Messwerte kam. Diese Vergleiche machen die Defizite von Modellrechnungen offensichtlich, wenn sie ohne Berücksichtigung der tatsächlich vor Ort herrschenden Gegebenheiten angewendet werden. Trotz der Unsicherheiten können Ausbreitungsmodelle ein nützliches Instrument sein, um Keimausbreitungen abzuschätzen (SEEDORF, 2006). Allerdings kann nach derzeitiger Einschätzung häufig noch nicht auf Feldmessungen vor Ort verzichtet werden, da beispielsweise für viele Keimarten keine Informationen über das Absterben an der Außenluft vorliegen und somit diese Informationen auch nicht in Ausbreitungsmodelle implementiert werden können.

## 4.6 Zur Frage des „sicheren“ Abstandes zwischen Ställen

Die Abstände zwischen benachbarten Stallanlagen sind besonders in agrarischen Intensivgebieten in Deutschland häufig relativ gering. Distanzen von wenigen hundert Metern sind keine Seltenheit und in Extremfällen werden von den Behörden auch heute noch beim Neubau von Stallanlagen Abstände von unter 100 m genehmigt. Während die großen Seuchenzüge der Schweinepest beispielsweise in den Niederlanden bereits zu einem Umdenken in der Agrarpolitik geführt haben und als Präventionsmaßnahme eine zunehmende Entzerrung der Intensivtierhaltung angestrebt wird, wird bzgl. solcher Maßnahmen in Deutschland noch kein Handlungsbedarf gesehen (WINDHORST, 1999, BMVEL, 2005). Neben wirtschaftlichen Gründen mag dies auch daran liegen, dass unsere Kenntnisse zur Übertragung von Krankheitserregern über die Luft noch gering sind (SEEDORF und HARTUNG, 2002). Zwar ist seit langem bekannt, dass MKS-Viren (Erreger der Maul und Klauenseuche) über weite Strecken aerogen verbreitet werden können (DONALDSON et al., 1982; GLOSTER et al. 2005), das Risiko einer aerogenen Übertragung von bakteriellen Erregern zwischen benachbarten Ställen wird jedoch wenig beachtet und ist in Fachkreisen umstritten. Beispielsweise reichen die Aussagen bzgl. der Übertragung aviärer Mycoplasmen von „besonders gefährlich“ bis „keine signifikante Bedeutung“ (HINZ und BEHR, 2005; BUTCHER und MILES, 2003). Ein wesentlicher Grund dafür liegt vermutlich in den fehlenden Kenntnissen, wie weit und in welchen Konzentrationen vermehrungsfähige und somit potentiell infektiöse Erreger über die Luft getragen werden können.

Erreger sind häufig eng an ihre Umgebung bzw. an ihren Wirt angepasst und besitzen im Vergleich zu den relativ widerstandsfähigen Staphylokokken eine geringere Überlebensfähigkeit in der Luft. Um dies zu verdeutlichen, wurde aus bekannten Absterberaten der Keimverlust von Erregern die beim Huhn vorkommen können nach einer Verweilzeit von 250 s in der Luftphase bestimmt. Die Verweilzeit entspricht einer Ausbreitungsentfernung von ca. 500 m bei einer durchschnittlichen Windgeschwindigkeit von 2 m/s (ohne Turbulenzen). Die Tabelle 4.1 fasst die Ergebnisse zusammen.

**Tab. 4.1: Verlust von Erregern im Aerosolstatus unter Berücksichtigung der Luftfeuchte und Temperatur**

Erreger	Rel. Feuchte (%)	Temperatur (°C)	Verlust vermehrungsfähiger Keime nach 250 sec (%)	Literatur
<i>E. coli</i> (O78)	30-40	28-34	10	MÜLLER und WIESER (1987)

Erreger	Rel. Feuchte (%)	Temperatur (°C)	Verlust vermehrungsfähiger Keime nach 250 sec (%)	Literatur
<i>E. coli</i> (O78)	15-40	22	14	MÜLLER und WIESER (1987)
<i>E. coli</i> *	50	22-36	22	PAEZ-RUBIO und PECCIA (2005)
<i>Mycoplasma gallisepticum</i>	40-50	25	< 3	BEARD und ANDERSON (1966)
<i>P. multocida</i>	40, 59 und 79	23	< 50	THOMSON et al. (1992)
<i>P. multocida</i>	28	23	70	THOMSON et al. (1992)
<i>Salmonella enteritidis</i>	75	24	< 20	McDERMID und LEVER (1996)
<i>Salmonella typhimurium</i>	75	24	< 20	McDERMID und LEVER (1996)
<i>S. aureus</i>	50	22	< 1	MÜLLER und GRÖNING (1981)
<i>S. epidermidis</i>	50	22	< 1	MÜLLER und GRÖNING (1981)
<i>Enterococcus faecalis</i>	15	21	1	BÖHM et al. (1998)
<i>Enterococcus faecalis</i>	85	21	< 1	BÖHM et al. (1998)
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	15-20	22	28	BÖHM et al. (1998)
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	15	30	46	BÖHM et al. (1998)
Influenza A Viren	50	21	> 70	SCHAFFER et al. (1976)
Influenza A Viren	70	21	> 66	SCHAFFER et al. (1976)
Newcastle disease Virus (NDV)	10	23	Nicht nachweisbar	SONGER (1967)



Erreger	Rel. Feuchte (%)	Temperatur (°C)	Verlust vermehrungsfähiger Keime nach 250 sec (%)	Literatur
Newcastle disease Virus (NDV)	35 und 90	23	20	SONGER (1967)

\* Der Verlust dieses Stammes wurde unter dem Einfluss des Sonnenlichtes gemessen.

Es wird deutlich, dass Luftfeuchte und Temperatur einen Einfluss auf die Vermehrungsfähigkeit nehmen. Der Keimverlust von *Pasteurella multocida*, dem Erreger der Geflügelcholera, ist beispielsweise bei niedrigeren Luftfeuchten höher, wenn die Temperatur konstant bleibt. Ein Temperatureffekt zeigt sich am Beispiel von *Yersinia pseudotuberculosis* (Erreger der aviären Pseudotuberkulose), dass bei annähernd gleicher Feuchte mit zunehmender Temperatur einen höheren Keimverlust aufweist. Auffällig sind auch die geringen Verluste der unbehüllten Viren (NDV) im Vergleich zu denen mit einer Hüllmembran versehenen Influenza A Viren. Möglicherweise führen Membranphasenwechsel und damit verbundene membranschädigende Maillard Reaktionen zu einem Verlust der Infektiosität im luftgetragene Zustand (COX, 1995).

So wird auch an der Außenluft mit stark schwankenden Keimverlusten zu rechnen sein. Dennoch zeigen die Ergebnisse, dass bei einem Großteil der Erreger unter günstigen Bedingungen noch mit einem erheblichen Anteil an vermehrungsfähigen Keimen bei gegebener Verweilzeit gerechnet werden kann. Somit erscheint eine Übertragung auch von weniger widerstandsfähigen Keimen über Distanzen im betrachteten Entfernungsbereich möglich, wenn geeignete meteorologische und orographische Gegebenheiten vorliegen.

Insgesamt zeigt die Diskussion, dass die aerogene Übertragung von Krankheitserregern zwischen Ställen nicht unterschätzt werden sollte. Zwar ist eine fundierte Beantwortung der Frage nach dem „sicheren“ Abstand derzeit nicht möglich, jedoch kann unter günstigen Ausbreitungsbedingungen mit abnehmender Entfernung zwischen Stallanlage mit einem exponentiellen Anstieg eines Keimeintrages gerechnet werden. Daher kommt dem Abstand eine wichtige Bedeutung als Präventionsmaßnahme zu. Dies sollte bei der Planung von Tierställen im ländlichen Raum vermehrt Berücksichtigung finden.

## 4.7 Ausblick

Es wird angeregt, die Ausbreitungsentfernung, nicht nur der Staphylokokken, sondern in Zukunft auch anderer potentieller Krankheits- und Zoonosenerreger aus Nutztierställen, zu

bestimmen. Für eine Abschätzung des Eintrages in benachbarte Wohngebiete oder Tierbestände und dem damit verbundenen Infektionsrisiko ist es angebracht, sowohl deren Emissionskonzentrationen, als auch die Konzentrationen in der Außenluft unter der Berücksichtigung der auf die Vermehrungsfähigkeit der Keime wirkenden Umweltfaktoren zu erfassen. Dabei sollten auch die sich verändernden Umweltbedingungen, wie zunehmende UV-Strahlung und klimatische Veränderungen in Betracht gezogen werden (REIZOPOULOU et al., 2000; WATSON und McMICHAEL, 2001), die voraussichtlich zu einer Verschiebung des natürlichen Luftkeimspektrums (TONG und LIGHTHART, 1997) und möglicherweise auch des Spektrums der aus den Ställen emittierenden Keime führen. Zur Erhebung belastbarer Daten können Messstrategien, wie sie in dieser Arbeit angewendet wurden, nützlich sein.

## 5 Zusammenfassung

Die Ausbreitung von Bioaerosolen aus Nutztierställen und deren Wirkungen auf die Umwelt ist noch wenig untersucht. Unter diesen Bioaerosolen werden luftgetragene Stoffe biologischen Ursprungs verstanden, zu denen belebte und unbelebte Partikel wie Bakterien, Pilze und Staub sowie weitere Stoffe, die in den Staubpartikeln vorhanden sind, zählen. Besonders hohe Konzentrationen an Bioaerosolen werden in Masthühnerställen gefunden. Diese gelangen mit der Abluft in die Stallumgebung, wo sie sich in Abhängigkeit von ihren aerodynamischen und biologischen Eigenschaften, den meteorologischen Bedingungen und den orographischen Gegebenheiten sowie weiteren Faktoren (Stalltyp, Ventilationssystem, Stallgröße, Besatzdichte), welche wesentlich die Quellbedingungen für die Emissionen beeinflussen, ausbreiten. Unklar ist, wie weit sich diese Bioaerosole oder Anteile von Ihnen in welchen Mengen von einer Stallanlage ausbreiten. Die vorliegende Arbeit soll einen Beitrag zur Charakterisierung der Ausbreitungsentfernung von in diesen Bioaerosolen enthaltenen luftgetragenen Mikroorganismen aus zwei typischen Masthühnerställen leisten. Dazu wurden in und an einem frei gelüfteten Stall mit knapp 40 000 Mastplätzen (Stall A) und an einem zwangsbelüfteten Stall mit ca. 31 000 Mastplätzen (Stall B) Luftkeimmessungen durchgeführt. Als Messverfahren wurden AGI-30 Impinger mit einer Glycerin-Phosphatpuffermischung eingesetzt, wodurch die Sammelzeiten gegenüber dem Standard-Impinger-Verfahren deutlich verlängert werden konnten.

Luftkeimmessungen fanden über das Jahr verteilt überwiegend in den Sommermonaten in der Stallluft von Stall A, in den Abluftschächten von Stall B und in der Außenluft der Umgebung der Ställe statt. Es wurden die Koloniezahlen von Schimmelpilzen, Hefen, mesophilen Bakterien und insbesondere die von *Staphylococcus* spp. pro Kubikmeter Luft erfasst. Über den Mastverlauf von 35 bis 39 Tagen bewegten sich die Konzentrationen von Schimmelpilzen und Hefen in der Stallluft zwischen  $1 \times 10^3$  und  $1 \times 10^5$  KBE/m<sup>3</sup>. Die Bakterienkonzentrationen stiegen dagegen von ca.  $1 \times 10^3$  auf mehr als  $1 \times 10^6$  KBE/m<sup>3</sup> an, wobei in der vierten Mastwoche Spitzenwerte von  $1 \times 10^7$  KBE/m<sup>3</sup> erreicht wurden. Anhand der Konzentrationsverläufe und der üblichen Luftvolumenströme (DIN 18910) in den Ställen wurden die höchsten Keimemissionen ab etwa der dritten bis einschließlich der fünften Mastwoche im Sommer errechnet. In diesem Zeitraum emittieren zwischen  $1 \times 10^{11}$  und  $1 \times 10^{12}$  KBE/h über die Abluft aus den Ställen.

In der Außenluft unterliegen die Keime einer erheblichen „Abmangelung“ (kulturell nachweisbare Keimabnahme nach Verlassen des Stalles), die von unterschiedlichen Faktoren

(z.B. Verdünnung, Windgeschwindigkeit, wechselnden Windrichtungen, turbulente Strömung) sowie der Tenazität des jeweiligen Keimes gegenüber Umwelteinflüssen, wie Temperatur, Luftfeuchte und Strahlung, bestimmt wird. Die mittleren Konzentrationen der Schimmelpilze und Hefen, die sich überwiegend aus *Cladosporium* spp., *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Alternaria* spp. sowie *Fusarium* spp. zusammensetzten, wiesen ab einer Entfernung von etwa 200 m von den Ställen mit  $10^3$  bis  $10^4$  KBE/m<sup>3</sup> keine signifikanten Unterschiede zu den in der Außenluft üblichen Pilzkonzentrationen auf.

Deutlich weiter wurden mesophile Bakterien, insbesondere Staphylokokken, getragen, die auch noch in einer Entfernung von 480 m in erheblichen Konzentrationen (bis zu 4000 KBE/m<sup>3</sup>) nachweisbar waren (Stall B). Da Staphylokokken in der Umgebungsluft auf der windzugewandten Seite der Ställe nicht nachgewiesen werden konnten, scheinen sie sich als Indikatorbakterien für die Keimausbreitung aus Masthühnerställen zu eignen. Die Differenzierung der Staphylokokken mit einer 16S-23S-ITS-PCR und dem ID32 Staph Test ergab, dass es sich sowohl bei den in den Ställen als auch in der Außenluft gesammelten Staphylokokken überwiegend um Arten der *S. saprophyticus* Gruppe und um *S. lentus* handelte. *S. aureus* wurde in der Außenluft nicht nachgewiesen.

Werden die in der Außenluft in den unterschiedlichen Entfernungen vom Stall gemessenen Staphylokokkenkonzentrationen in das Ausbreitungsmodell nach Gauß eingebracht, so ergeben sich rechnerisch unter mittleren Umweltbedingungen in einem Abstand von 500 m von den Ställen noch etwa 1000 KBE/m<sup>3</sup>. Dies zeigt einerseits eine prinzipielle Übereinstimmung der Messungen und des Rechenmodells, rechnerisch kann es jedoch auch zu einer erheblichen Unterschätzung der tatsächlichen bakteriellen Belastung am Immissionsort kommen. Die Vermehrungsfähigkeit der Staphylokokken wurde im luftgetragenen Zustand auch bis zum Messort in 500 m Entfernung nicht erkennbar nachteilig beeinflusst.

Die Untersuchungen zeigen am Beispiel der Staphylokokken, dass aus typischen Masthühnerställen emittierte Keime in der Außenluft bei freiem Windfeld mindestens 500 m weit in vermehrungsfähigem Zustand getragen werden können. Dies sollte bei der Errichtung neuer Stallanlagen im Hinblick auf eine mögliche nachteilige Beeinflussung von Nachbarställen (Tierseuchenerreger) und in der Nähe gelegenen Wohngebieten (Zoonosenerreger) beachtet werden. In zukünftigen Untersuchungen können Staphylokokken als Modellindikatorkeim für die aerogene Verfrachtung mit einbezogen werden.

## 6 Summary

### **Estimation of airborne transmission distance for bio-aerosols emitted from two types of broiler houses**

There is little scientific knowledge about the emission and spread of bio-aerosols from farm animal houses and their impact on the environment. The term bio-aerosols comprises airborne compounds of biological origin such as viable and non-viable particles including bacteria, fungi and dust as well as other components which are attached to these dust particles. Particularly high concentrations of bio-aerosols are found in broiler houses. These compounds are emitted by the ventilation system into the ambient air where they are distributed over longer or shorter distances depending on their aerodynamic and biological properties, the meteorological and orographical conditions as well as further factors such as type of the animal house, ventilation system, size of the barn and animal density, factors which considerably influence emission amounts and conditions at the source. Little is presently known how far and in which amounts these bio-aerosols and their components are dispersed by way of the air in the surrounding of animal barns. This study is designed to contribute to the characterisation of the distances micro-organisms, which are typical components of bio-aerosols, travel in an airborne state after being emitted from two differently designed typical broiler houses. Barn A is a free ventilated barn with a capacity of nearly 40,000 fattening places. The second barn is equipped with a forced ventilation system and holds 31,000 fattening places (barn B). Sampling of airborne micro-organisms inside and outside the barns was carried out by impingement (AGI-30 impinger with glycerine phosphate buffer solution). This sampling solution allows longer sampling times as compared to the standard impinger technique.

In the course of one year samplings took place in the air of both barns A and B, in one of the exhaust chimneys of barn B and at different distances from the barns in the ambient air. The colony forming units (cfu) of fungi, yeasts and bacteria, *Staphylococcus* spp. in particular, were counted and given in cfu/m<sup>3</sup> of air. The concentrations of fungi and yeasts ranged from  $1 \times 10^3$  to  $1 \times 10^5$  cfu/m<sup>3</sup> during the course of the fattening periods of 35 to 39 days. The average bacterial counts rose from about  $1 \times 10^3$  to more than  $1 \times 10^6$  cfu/m<sup>3</sup> with highest values of about  $1 \times 10^7$  cfu/m<sup>3</sup> during the fourth week of fattening. The highest emissions of micro-organisms were observed in the last two weeks of the fattening period in summer time where concentrations ranged from  $1 \times 10^{11}$  to  $1 \times 10^{12}$  cfu/h.

When released into the ambient air the number of micro-organisms per volume of air declines quickly depending on various factors such as dilution, air velocity, changing wind directions, turbulent air currents and last but not least the tenacity of the respective micro-organism against environmental influences like temperature, air humidity and radiation. The average concentrations of fungi and yeasts predominately *Cladosporium* spp., *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Alternaria* spp. as well as *Fusarium* spp., were around  $10^3$  to  $10^4$  cfu/m<sup>3</sup> in distances of about 200 m from the barns which is in the range of the usual ambient air concentration of fungi.

Bacteria and in particular staphylococci were transported over longer distances. In 480 m downwind of barn B about 4,000 cfu/m<sup>3</sup> of staphylococci were found. Because staphylococci are usually not found in ambient air or in only very small amounts, it seems that these bacteria have got a good potential as indicator bacteria for characterising bacterial emissions from broiler barns. The application of the ID32 Staph Test and PCR (16S-23S-ITS) revealed, that in the animal house air and in the ambient air the same staphylococci species were found dominated by *S. saprophyticus* and *S. lentus*. *S. aureus* was not found in the ambient air.

The application of the dispersion model after Gauß shows that about 1,000 cfu/m<sup>3</sup> can be expected in a distance of 500 m downwind the barns under average environmental conditions. This calculation stands in principal in agreement to the results of the measurements; however it also shows that the used model can considerably underestimate the real bacterial deposition at a certain place in the vicinity of the barn. The viability of staphylococci was not significantly influenced in the ambient air when travelling 500 m downwind the barn.

The investigations demonstrate that staphylococci which are typical airborne bacteria in broiler barns are distributed in the ambient air under normal meteorological conditions and in the open field over distances of at least 500 m. This should be taken into account when new farms or new residential dwellings are planned in rural areas in view of possible influences by animal pathogens and zoonotic agents. There is a need for future investigations in order to clarify “safe distances” between neighbouring farms and between farms and residential dwellings where staphylococci may serve as model indicators for airborne bacterial transmission.

## 7 Literaturverzeichnis

ABBAS, A., KOC, H., LIU, F., TIEN, M. (2005): Fungal degradation of wood: initial proteomic analysis of extracellular proteins of *Phanerochaete chrysosporium* grown on oak substrate. *Curr. Genet.* 47 : 49-56

ANTON A.I., MARTINEZ-MURCIA, A.J., RODRIGUEZ-VALERA, F. (1998): Sequence diversity in the 16S-23S intergenic spacer region (ISR) of the rRNA operons in representatives of the *Escherichia coli* ECOR collection. *J. Mol. Evol.* 47 (1): 62-72

AWAN, M.A., MARTSUMOTO, M. (1998): Heterogeneity of staphylococci and other bacteria isolated from six-week-old broiler chickens. *Poultry Science* 77: 944-949

BABA, T., TAKEUCHI, F., KURODA, M., YUZAWA, H., AOKI, K., OGUCHI, A., NAGAI, Y., IWAMA, N., ASANO, K., NAIMI, T., KURODA, H., CUI, L., YAMAMOTO, K., HIRAMATSU, K. (2002): Genome and virulence determinants of high virulence community-acquired MRSA. *Lancet* 359 (9320): 1819-1827

BAEBKO, P. (1990): Air quality in Danish pig herds. *Proc. 11th Congr. Int. Pig Vet. Soc., Lausanne, Schweiz*, 395

BAST, E. (1999): *Mikrobiologische Methoden*. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg-Berlin

BAUDISCH, C. (2000): Bildung von Sekundärquellen in der Umgebung von fünf biologischen Abfallbehandlungsanlagen – Diskussionsbeitrag zu einer Studie des TÜV-Süddeutschland. *Kommission Reinhaltung der Luft -3/7/02 N 2000-10*: 1-9

BEARD, C.W., ANDERSON, D.P. (1966): Aerosol studies with avian mycoplasma. I. Survival in the air. *Avian Diseases* 11(1): 54-59

BECKER, S., DAILEY, L., SOUKUP, J.M., SILBAJORIS, R., DELVIN, R.B. (2005): TLR-2 is involved in airway epithelial cell response to air pollution particles. *Toxicology and applied pharmacology* 203 (1): 45-52

BMVEL (Bundesministerium für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft) (2005): *Zukunft der Nutztierhaltung. Gutachten des wissenschaftlichen Beirates Agrarpolitik, nachhaltige Landwirtschaft und Entwicklung ländlicher Räume beim Bundesministerium für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft*. BMVEL (Hrsg.), Berlin im Januar 2005: 30-34

BRACHMANN, P. S. (1964): Standard sampler for assay of airborne microorganisms. *Science* 144: 1295

BÖHM, R., W. MARTENS und P. M. BITTIGHOFER (1998): *Aktuelle Bewertung der Luftkeimbelastung in Abfallbehandlungsanlagen*. *Abfall-Wirtschaft, Neues aus Forschung und Praxis*; M.I.C. BAEZA-Verlag, Witzenhausen

BOEKER, P., WALLENFANG, O., KOSTER, F., CROCE, R., DIEKMANN, B., GRIEBEL, M., SCHULZE-LAMMERS, P. (2000): Ausbreitungsmodellierung von Gerüchen mit zeitaufgelösten Modellen. *Agrartechnische Forschung* 6 (4): 84-89

- BOVALLIUS, Å., BUCHT, B. ROFFEY, R. ÅNÄS, P. (1978): Three-Year Investigation of the natural airborne bacterial flora at four localities in Sweden. *Appl. Environ. Microbiol.* 35 (5): 847-852
- BULL, S.A., ALLEN, V.M., DOMINGUE, G., JØRGENSEN, F., FROST, J.A., URE, R., WHYTE, R., TINKER, D., CORRY, J.E.L., GILLARD-KING, J., HUMPHREY, T.J. (2006): Sources of *Campylobacter* spp. Colonizing housed broiler flocks during rearing. *Appl. Environ. Microbiol.* 72 (1): 645-652
- BURGE, H.A. (1995): Airborne contagious disease. In: *Bioaerosols*, Harriet A. Burge (Hrsg.), CRC Press, Boca Raton, Florida, USA: 25-47
- BÜSCHER, W. (1998): Wie plant man eine Lüftungsanlage? DGS intern, Woche 34: 4-9
- BUTCHER, G.D., MILES, R.D. (2003): Disease prevention in commercial poultry. Document CIR 1079 of the Veterinary Medicine-Large Animal Clinical Science Department, University of Florida, USA
- CARPENTER, G.A. (1986): Dust in livestock buildings-Review of some aspects. *J. agric. Engng Res.* 33: 227-241
- CHAPPLE, R.M., INGLIS, B., STEWART, P.R. (1992): Lethal and mutation effects of solar and UV radiation on *Staphylococcus aureus*. *Arch. Microbiol.* 157: 242-248
- CHINIVASAGAM, H.N., BLACKALL, P.J. (2005): Investigation and application of methods for enumerating heterotrophs and *Escherichia coli* in the air within piggery sheds. *Journal of applied Microbiology* 98: 1137-1145
- CHO, J.G., DEE, S.A., DEEN, J., TRINCADO, C., FANGO, E., JIANG, Y., FAABERG, K., MURTAUGH, M.P., GUEDES, A., COLLINS, J.E., JOO, H.S. (2006): The impact of animal age, bacterial coinfection, and isolate pathogenicity on the shedding of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in aerosols from experimentally infected pigs. *The Canadian Journal of Veterinary Research* 70: 297-301
- CLEMENS, M.O., FOSTER, S.J. (1999): Stress resistance in *Staphylococcus aureus*. *Trends In Microbiology* 7 (11): 458-462
- COLE, D., TODD, L., WING, S. (2000): Concentrated swine feeding operations and public health: A review of occupational and community effects. *Environmental Health Perspectives* 108 (8): 685-699
- COUTO, I., PEREIRA, S., MIRAGAIA, M., SANCHES I.S., DE LENCASTRE, H. (2001): Identification of clinical staphylococcal isolates from humans by internal transcribed spacer PCR. *J. Clin. Microbiol.* 39 (9): 3099-3103
- COX C. S., HOOD, A. M., BAXTER, J. (1973): Method for comparing concentrations of the open-air factor. *Applied Microbiology* 26: 640-642
- COX, C.S. (1991): Quantitative and qualitative analysis of airborne spora. *Grana* 30: 407-408



- COX, C.S. (1995): Stability of airborne Microbes and allergens. In: Bioaerosols Handbook, C.S. Cox and C.M. Wathes (Hrsg.), CRC Press, Boca Raton, Florida, USA: 77-99
- CROSSLEY, K.B., ARCHER, G.L. (1997): The staphylococci in human disease. Churchill Livingstone, USA
- CSICSAKY, M., HOOPMANN, M., RADON, K., SEEDORF, J. (2005): Atemwegsgesundheit und Allergiestatus bei jungen Erwachsenen in ländlichen Regionen Niedersachsens – Niedersächsische Lungenstudie NiLS. *Umwelmed. Forsch. Prax.* 10 (5): 335-336
- DÄMMGEN, U., ERISMAN, J.W. (2006): Emission, Ausbreitung und Immission von Ammoniak und Ammonium – Übersicht über den gegenwärtigen Stand des Wissens. *KTBL-Schrift* 449: 65-78
- DE HOOG, G.S., GUARRO, J., GENE, J., FIGUERAS, M.J. (2000): Atlas of clinical fungi. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, Niederlande
- DEVRISE, L.A., SCHLEIFER, K.H., ADEGOKE, G.O. (1985): Identification of coagulase-negativ staphylococci from farm animals. *Journal of Applied Bacteriology* 58: 45-55
- DEVRIESE, L.A., COLLINS, M.D., WIRTH, R. (1992): The genus *enterococcus* In: Balows, A., Trüper, H.G., Dworkin, M., Harder, W., Schleifer, K.H. *The prokaryotes* Vol. II: 1465-1481
- DIEGMANN, V., PFÄFFLIN, F., WIEGAND, G., WURSTHORN, H., (2007): Maßnahmen zur Reduzierung von Feinstaub und Stickstoffdioxid. Forschungsbericht im Auftrage des Umweltbundesamtes unter der Mitwirkung der IVU Umwelt GmbH und unter der Mitarbeit von Frank Dünnebeil, Hinrich Helms, Udo Lambrecht und des IFEU Heidelberg. [http://www.umweltbundesamt.de/uba-info-medien/mysql\\_medien.php?anfrage=Kennnummer&Suchwort=3240](http://www.umweltbundesamt.de/uba-info-medien/mysql_medien.php?anfrage=Kennnummer&Suchwort=3240)
- DONALDSON, A.I., GLOSTER, J., HARVEY, L.D.J., DEANS, D.H. (1982): Use of prediction models to forecast and analyse airborne spread during the foot-and-mouth disease outbreaks in Brittany, Jersey and the Isle of Wight in 1981. *The veterinary record* 110: 53-57
- DORN, S., EINERT, P., REGULIN, K., STROHBACH, B., WOHLFAHRT, T. (2003): Handlungsrahmen zur Beurteilung von Waldökosystemen im Umfeld von Tierhaltungsanlagen. Landesumweltamt Brandenburg (Hrsg.), Brandenburg Dezember 2003: 1-42
- DOTT, W., FISCHER, G., MÜLLER, T., THISSEN, R. WIESMÜLLER, G.A. (2004): Belastung der Arbeitnehmer bei Schimmelpilzsanierungsarbeiten in Innenräumen. Literaturstudie im Auftrag der Tiefbau-Berufsgenossenschaft München (AZ 612.17TB12 AK Gebäudesanierung)
- EHRlich, R., MILLER, S. (1972): Effect of NO<sub>2</sub> on Airborne Venezuelan Equine Encephalomyelitis Virus. *Applied Microbiology* 23 (3): 481-484

- EIKMANN, T., HARPEL, S. HERR, C. (2007): Aktuelle Aspekte für die Bewertung von Bioaerosolen in der Außenluft – Perspektiven für die Entwicklung einer Wirkungsrichtlinie. KRdL – Schriftenreihe Band 39: 9-14
- EFSA (European Food Safety Authority) (2007): The community summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents, antimicrobial resistance and foodborne outbreaks in the European Union in 2005. The EFSA Journal 94: 3-288
- FALK, R., HAAG, W. (2006): Der Lignin- und der Cellulose-Abbau des Holzes, zwei verschiedenen Zersetzungsprozesse durch holz-bewohnende Fadenpilze. Berichte d. D. Chem. Gesellschaft 60: 225-232
- FORMOSA, L.C. (2005): Calculating air exchange rates from broiler houses. Dissertation an der Fakultät für Agrarwissenschaften, Universität Göttingen.
- FRENEY, J., KLOOS, W.E., HAJEK, V., WEBSTER, J.A. (1999): Recommended minimal standards for description of new staphylococcal species. International Journal of Systematic Bacteriology 49: 489-502
- GABRIO, T., SEIDL, H.-P., SZEWYK, R., TRAUTMANN, C., WEIDNER, U. (2005): Aussagekraft von Luft- und Hausstaubuntersuchungen im Zusammenhang mit Schimmelpilzproblemen in Innenräumen. Gefahrstoffe – Reinhaltung der Luft 65: 106-113
- GIBBS, S.H., GREEN, F.G., TARWATER, P.M. (2004): Airborne antibiotic resistant and non-resistant bacteria and fungi recovered from two swine herd confined animal feeding operations. Journal of occupational and environmental Hygiene 1: 699-706
- GILL, S.R., FOUTS, D.E., ARCHER, G.L., MONGODIN, E.F., DEBOY, R.T., RAVEL, J., PAULSEN, I.T., KOLONAY, J.F., BRINKAC, L., BEANAN, M., DODSON, R.J., DAUGHERTY, S.C., MADUPU, R., ANGIUOLI, S.V., DURKIN, A.S., HAFT, D.H., VAMATHEVAN, J., KHOURI, H., UTTERBACK, T., LEE, C., DIMITROV, G., JIANG, L.X., QIN, H.Y., WEIDMAN, J., TRAN, K., KANG, K., HANCE, I.R., NELSON, K.E., FRASER, C.M. (2005): Insights on evolution of virulence and resistance from the complete genome analysis of an early methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain and a biofilm-producing methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* strain. J. Bacteriol. 187 (7): 2426-2438
- GLOSTER, J., FRESHWATER, A., SELLERS, R.F., ALEXANDERSEN, S. (2005): Re-assessing the likelihood of airborne spread of foot-and-mouth disease at the start of the 1967-1968 UK foot-and-mouth disease epidemic. Epidemiol. Infect.000: 1-17
- GRIFFIN, D.W., KUBILAY, N., KOCAK, M., GRAY, M.A., BORDEN, T.C., SHINN, E.A. (2007): Airborne desert dust and aeromicrobiology over the Turkish Mediterranean coastline. Atmospheric Environment 41: 4050-4062
- GROSS, G. (1998): Berechnungen der Ausbreitung von organischen Partikeln aus Tierställen und vergleichbaren Anlage. Dtsch. tierärztl. Wschr. 105: 241-243
- GÜRTLER, V., BARRIE, H.D. (1995): Typing of *Staphylococcus aureus* strains by per-amplification of variable-length 16s-23s rDNA spacer regions - Characterization of spacer sequences. Microbiol. 141: 1255-1265

- HÁJEK, V. BALUSEK, J. (1985): Staphylococci from flies of different environments, p.129-133. In: J. Jeljaszewicz (Hrsg.), The staphylococci: Proceedings of the Vth international symposium on staphylococci and staphylococci infections. Gustaf Fischer Verlag, Stuttgart
- HAFEZ, M.H. (2002): Diagnosis of *Ornithobacterium rhinotracheale*. International Journal of Poultry Science 1 (5): 114-118
- HAMILTON, T.D.C., ROE, J.M., HAYES, C.M., JONES, P., PEARSON, G.R., WEBSTER, A.J.F. (1999): Contribution and exacerbating roles of gaseous ammonia and organic dust in etiology of atrophic rhinitis. Clin. Diag. Lab. Immun. 6: 199-203
- HARRISON, R.M., JONES, A.M., BIGGINS, P.D.E., POMEROY, N., COX, C.S., KIDD, S.P., HOBMAN, J.L., BROWN, N.L., BESWICK, A. (2005): Climate factors influencing bacteria count in background air samples. Int. J. Biometeorol. 49: 167-178
- HARTMANN, F. (1980): Experimentelle Untersuchungen über die atmosphärische Ausbreitung von Luftkeimen aus Stallanlagen und aus künstlichen Quellen. Diss. Hohenheim.
- HARTMANN, U. (2006): Geruchsbeurteilung in der Landwirtschaft – Ermittlung der Belastungssituation in NRW durch Modellrechnung. KTBL-Schrift 449: 169-178
- HARTUNG, J. (1992): Emissionen luftgetragener Stoffe aus Nutztierställen. Pneumologie 46: 196-202
- HARTUNG, J., WHATES, C.M. (2001): Environmental impact of livestock farming in Europe. Lanbauforschung Völkenrode, Sonderheft 226: 1-3
- HARTUNG, J. (2006): Herausforderungen für eine zukunftsorientierte Tierhaltung. In: Nachhaltige Landwirtschaft: Realistische Perspektive oder ferne Vision? Institut für Landwirtschaft und Umwelt (Hrsg.) unter besonderer Mitwirkung von Borresch, R., Christen, O., Hartung, J., Hilse, W., Schmitz, P. M., Wahmhoff, W.: Studie des Beirats der Fördergemeinschaft Nachhaltige Landwirtschaft e.V., Bonn: 37-53
- HEGE, R., ZIMMERMANN, W., SCHNEIDEGGER, R. STÄRK, K.D.C. (2002): Incidence of reinfections with *Mycoplasma hypopneumoniae* and *Actinobacillus pleuropneumoniae* in pig farms located in respiratory-disease-free regions of Switzerland. Acta vet. Scand. 43: 145-156
- HEINDEL, T.H., STREIB, R., BOTZENHART, K. (1993): Wirkung von Ozon in der Luft auf Mikroorganismen. Zbl. Hyg. 194: 464-480
- HEINRITZI, K., GINDELE, H.R., REINER, G., SCHNURRBACH, U. (2006): Schweinekrankheiten. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart
- HINDS, W. (1982): Aerosol Technology. Properties, behaviour, and measurement of airborne particles. John Wiley & Sons, New York
- HINZ, T., WIEMANN, H.D., HARTUNG, J. WIEGAND, B. (1993): Luftqualität in Louisiana-Ställen. Lanbauforschung Völkerode 43, Heft 1: 39-46

- HINZ, K.-H.; BEHR, K.P. (2005): Aviäre Mykoplasmen. In: Kompendium der Geflügelkrankheiten, O. Siegmann und U. Neumann (Hrsg.), Schlütersche Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG, Hannover: 266-276
- HIRST, J.M. (1995): Bioaerosols: Introduction, Retrospect and prospect. In: Bioaerosols Handbook, C.S. Cox and C.M. Wathes (Hrsg.), CRC Press, Boca Raton, Florida, USA: 5-14
- HOCKBERGER, P.E. (2000): The discovery of the damaging effect of sunlight on bacteria. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 58: 185-191
- HÖLZLE, E., HÖNIGSMANN, H. (2005): Ultraviolette Strahlung – Quellen, Spektren, Umwelteinflüsse. *JDDG; 2005 Supplement 2*: 3-10
- HØJBERG, O., SCHNIDER, U., WINTELER, H.V., SØRENSEN, J., HAAS, D. (1999): Oxygen stress reporter strain of *Pseudomonas fluorescens* for monitoring the distribution of low-oxygen habitats in soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 65: 4085-4093
- HOLT, J.G., KRIEG, N.R., SNEATH, P.H.A., STALEY, J.T., WILLIAMS, S.T. (1994): *Bergey's manual of determinative bacteriology* 9: 527-558
- HOMES, M.J., HEBER, A.J., WU, C.C., CLARK, L.K., GRANT, R.H., ZIMMERMANN, N.N.J., HILL, M.A., STROBEL, B.R., PEUGH, M.W., JONES, D.D. (2000): Viability of bioaerosols produced from a swine facility.  
<http://anr.ces.purdue.edu/anr/anr/swine/house/conf.htm>
- HUGHES, K.A. (2003): Aerial dispersal and survival of sewage-derived faecal coliforms in Antarctica. *Atmospheric environment* 37: 3147-3155
- HUGHE-JONES, M.E., ALLAN, W.H., DARK, F.A., HARPER, G.J. (1973): The evidence of the airborne spread of Newcastle disease. *J. Hyg. (Camb.)* 71: 325-339
- JENSEN, M.A., WEBSTER, J.A., STRAUS, N. (1993): Rapid identification of bacteria on the basis of polymerase chain reaction-amplified ribosomal DNA spacer polymorphisms. *Appl. Environ. Microbiol.* 59 (4): 945-952
- JENSEN P.A., SCHAFFER M.P. (1998): Sampling and characterisation of bioaerosols, in *NIOSH Manual of Analytical Methods*: 82-112
- JENSEN, P.A., TODD, W.F., DAVIS, G.N., SCARPINO, P.V. (1992): Evaluation of eight bioaerosol samplers challenged with aerosols of free bacteria. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 53:660-667
- JONAS, R. (1982): Ablagerung und Bindung von Luftverunreinigungen an Vegetation und anderen atmosphärischen Grenzflächen. Dissertation an der T.H. Aachen.
- JONES, B.L., COOKSON, J.T. (1983): Natural atmospheric microbial conditions in a typical suburban area. *Appl. Environ. Microbiol.* 45: 919-934
- JOSEPH, V. (2000): Aspergillosis in raptors. *Seminars in Avian Exotic Pet Medicine* 9 (2): 66-74

- KAWANO, J., SHIMIZU, A., SAITOH, Y., YAGI, M., SAITO, T., OKAMOTO, R. (1996): Isolation of methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci from chickens. *J. Clin. Microbiol.* 34 (9): 2072-2077
- KAPPOS, A., BRUCKMANN, P., EIKMANN, T., ENGLERT, N., HEINRICH, U., HÖPPE, P., KOCH, E., METZ, N., RAUCHFUSS, K., ROMBOUT, P., SCHABRONATH, J., SCHULZ-KLEMP, V., SPALLEK, M.F., WICHMANN, H.E., KREYLINK, W.G., KRAUSE, G.H.M. (2003) Bewertung des aktuellen wissenschaftlichen Kenntnisstandes zur gesundheitlichen Wirkung von Partikeln in der Luft. *Umweltmed Forsch Prax* 8 (5): 257-278.
- KLOOS, W.E., SCHLEIFER, K.H., GÖTZ, F. (1992): The Genus *Staphylococcus*. In: Balows, A., Trüper, H.G., Dworkin, M., Harder, W., Schleifer, K.H. *The prokaryotes Vol. II*, Springer-Verlag, Berlin: 1382
- KOWALSKI, W.J., BAHNFLETH, W.P., WITHAM, D.L., SEVERIN, B.F., WITHAM, T.S. (2002): Mathematical modeling of ultraviolet germicidal irradiation for air disinfection. *Quantitative Microbiology* 2: 249-270
- KÖLLNER, B., HELLER, D. (2005): Bioaerosole aus Tierhaltungsanlagen – aktuelle Untersuchungen in NRW. *Gefahstoffe - Reinhaltung der Luft* 65: 374-376
- KRATZ, S., ROGASIK, J., SCHNUG, E. (2000): Umwelteinwirkungen der Broilermast – eine Übersicht. *Landbauforschung Völkerode Heft 1/2*: 3-14
- KRUCZALAK, K., OLANCZUK-NEYMAN, K., MARKS, R. (2002): Airborne microorganisms fluctuation over the gulf of Gdansk coastal zone (Southern Baltic). *Polish Journal of Environmental Studies*, 11 (5): 531-536
- KTBL (2005): *Faustzahlen für die Landwirtschaft* 13. Auflage, KTBL-Schriftenvertrieb im Landwirtschaftsverlag, Münster-Hiltrup
- KTBL (2006): *Emissionen der Tierhaltung*. KTBL-Schrift 449
- KULUNCSICS, Z., PERDIZ, D., BRULAY, E. MUEL, B. SAGE, E., (1999): Wavelength dependence of ultraviolet-induced DNA damage distributio : involvement of direct or indirect mechanisms and possible artefacts. *J. Photochem. Photobiol. B* 49: 71-80
- KURATORIUM FÜR TECHNIK UND BAUWESEN IN DER LANDWIRTSCHAFT (2006): *Emissionen der Tierhaltung*. KTBL-Schrift 449
- KURODA, M., OHTA, T., UCHIYAMA, I., BABA, T., YUZAWA, H., KOBAYASHI, I., CUI, L.Z., OGUCHI, A., AOKI, K., NAGAI, Y., LIAN, J.Q., ITO, T., KANAMORI, M., MATSUMARU, H., MARUYAMA, A., MURAKAMI, H., HOSOYAMA, A., MIZUTANI-UI, Y., TAKAHASHI, N.K., SAWANO, T., INOUE, R., KAITO, C., SEKIMIZU, K., HIRAKAWA, H., KUHARA, S., GOTO, S., YABUZAKI, J., KANEHISA, M., YAMASHITA, A., OSHIMA, K., FURUYA, K., YOSHINO, C., SHIBA, T., HATTORI, M., OGASAWARA, N., HAYASHI, H., HIRAMATSU, K. (2001): Whole genome sequencing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet* 357 (9264): 1225-1240

- KURODA, M., YAMASHITA, A., HIRAKAWA, H., KUMANO, M., MORIKAWA, K., HIGASHIDE, M., MARUYAMA, A., INOSE, Y., MATOBA, K., TOH, H., KUHARA, S., HATTORI, M., OHTA, T. (2005): Whole genome sequence of *Staphylococcus saprophyticus* reveals the pathogenesis of uncomplicated urinary tract infection. Proceedings of the National Academy Of Sciences of the United States of America 102 (37): 13272-13277
- KWOK, A.Y.C., CHOW, A.W. (2003): Phylogenetic study of *Staphylococcus* and *Micrococcus* species based on partial hsp60 gene sequences. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 53: 87-92
- LACEY, J., VENETTE, J. (1995): Outdoor air sampling techniques. In: Bioaerosols Handbook, C.S. Cox and C.M. Wathes (Hrsg.), CRC Press, Boca Raton, Florida, USA: 407-471
- LANDESSTELLE FÜR LANDWIRTSCHAFT UND MARKTKUNDE (2001): Eier und Schlachtgeflügel. Agrarmärkte 2001: 134
- LARSSON, B.M., LARSSON, K., MALMBERG, P., PALMBERG, L. (1999): Gram positive bacteria induce IL-6 and IL-8 production in human alveolar macrophages and epithelial cells. Inflammation 23 (3): 217-230
- LATGÉ, J.P. (1999): *Aspergillus fumigatus* and aspergillosis. Clinical Microbiology Reviews 12 (2): 310-350
- LEE, J.H. (2006): Occurrence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains from cattle and chicken, and analyses of their *mecA*, *mecR1* and *mecI* genes. Veterinary Microbiology 114: 155-159
- LEEMANS, J.C., HEIKENS, M., VAN KESSEL, K.P.M., FLORQUIN, S., VAN DER POLL, T. (2003): Lipoteichoic acid and peptidoglycan from *Staphylococcus aureus* synergistically induce neutrophil influx into the lungs of mice. Clinical and diagnostic laboratory immunology 10 (5): 950-953
- LGA (Landes GesundheitsAmt Baden-Württemberg), (2004): Schimmelpilze in Innenräumen – Nachweis, Bewertung, Qualitätsmanagement. LGA Stuttgart (Hrsg.): 16-20
- LIGHTHART, B., FRISCH, A.S. (1976): estimation of viable airborne microbes downwind from a point source. Appl. Environ. Microbiol. 31 (5): 700-704
- LIGHTHART, B., SHAFFER, B.T. (1995): Airborne bacteria in the atmospheric surface layer: Temporal distribution above a grass seed field. Appl. Environ. Microbiol. 61: 1492-1496
- LIN, X., REPONEN, T.A., WILLEKE, ULEVICIUS, V., K., GRINSHUPUN, S.A. (1997): Effect of sampling time on the collection efficiency of all-glass impingers. Am. Ind. Hyg. Assoc. J. 58(7): 480-488
- LIN, X., REPONEN, T.A., WILLEKE, K., WANG, Z., GRINSHUPUN, S.A., TRUNOV, M. (2000): Survival of airborne microorganisms during swirling aerosol collection. Aerosol science and technology 32 (3): 184-196

- LIN, X., REPONEN, T.A., WILLEKE, K., GRINSHPUN, S.A., FOARDE, K.K., ENSOR, D.S. (1999): Long term sampling of airborne bacteria and fungi into a non-evaporating liquid. *Atmospheric environment* 33: 4291-4298
- LIU, G.Y., ESSEX, A., BUCHANAN, J.T., DATTA, V., HOFFMAN, H.M., BASTIAN, J.F., FIERER, J., NIZET, V. (2005): *Staphylococcus aureus* golden pigment impairs neutrophil killing and promotes virulence through its antioxidant activity. *JEM* 202 (2): 209-205
- LU, D., GRAYSON, P., SCHULTEN, K. (2003): Glycerol conductance and physical asymmetry of the *Escherichia coli* Glycerol facilitator GlpF. *Biophysical Journal* 85(5): 2977-2987
- LU, J., SANCHEZ, S., HOFACRE, C., MAURER, J.J., HARMON, B.G., LEE, M.D. (2003): Evaluation of broiler litter with reference to the microbial composition as assessed by using 16S rRNA and functional gene markers. *Appl. Environ. Microbiol.* 69 (2): 901-908
- LUGAUSKAS, A., SVEISTYTE, L., ULEVICIUS, V. (2003): Concentration and species diversity of airborne fungi near busy streets in Lithuanian urban areas. *Ann. Agric. Environ. Med.* 10: 233-239
- LUNG, T. (2003): Ausbreitungsrechnungen und computergesteuerte Anlagenführung. In: *Umwelt und Geologie, Mikroorganismen in der Umgebung von Abfallbehandlungsanlagen*, HLUG Hessisches Landesamt für Umwelt und Geologie Wiesbaden (Hrsg.): 11-18
- LUNG, T. (2004): *Handbuch zum Gaußschen Ausbreitungsmodell TALIP 1.2*, T. Lung (Hrsg.), Ingenieurbüro Lung, Berlin
- MADÉLIN, T.M., WATHES, C.M. (1989): Air hygiene in a broiler house: Comparison of deep litter with raised netting floors. *British Poultry Science* 30: 23-37
- MAES, D., DELUYKER, H., VERDONCK, M., CASTRYCK, F., MIRY, C., VRIJENS, B., DE KRUIF, A. (2000): Herd factors associated with the seroprevalences of four major respiratory pathogens in slaughter pigs from farrow-to-finish pig herds. *Vet. Res.* 31: 313-327
- MANCINELLI, R.L., SHULLS, W.A. (1978): Airborne bacteria in an urban environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 35 (6): 1096-1101
- McDERMID, A.S., LEVER, M.S. (1996): Survival of *Salmonella enteritidis* PT4 and *Salm. Taphimurium* Swindon in aerosols. *Letters in Applied Microbiology* 23: 107-109
- MENDOZA, M., MEUGNIER, H., BES, M., ETIENNE, J., FRENEY, J. (1998): Identification of *Staphylococcus* species by 16S-23S rDNA intergenic spacer PCR analysis. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 48: 1049-1055
- MÖHLE, R. (1998): Anwohnerschutz bei Intensivtierhaltungen unter dem Gesichtspunkt möglicher Gesundheitsverfahren. *Dtsch. tierärztl. Wschr.* 105: 209-252
- MOULI, P.C., MOHAN, S.V., REDDY, S.J. (2005): Assessment of microbial (bacteria) concentrations of ambient air at semi-arid urban region: Influence of meteorological factors. *Applied Ecology And Environmental Research* 3(2): 139-149

- MÜLLER, W., GRÖNING, K. (1981): The tenacity of airborne bacteria. 2<sup>nd</sup> communication: Experimental investigations carried out for determining the kill constant  $\beta_{\text{biol}}$  for cocci. Zbl. Bakt. Hyg. 173: 180-187
- MÜLLER, W., WIESER, P., KÜHME, H. (1978): Zur Frage der Ausbreitung von Luftkeimen aus Tierställen. Zbl. Vet. Med. B, 25: 216-224
- MÜLLER, W., WIESER, P. (1987): Dust and microbial emissions from animal production. In: Animal production and environmental health. World animal science, B6; Elsevier science Publishers B.V., Amsterdam, Niederlande: 47-89
- MÜLLER, W., SCHÜTZE, U., SCHULZ, J., ZUCKER, B.A. (2004): Sampling and differentiation of airborne molds in animal houses. Proceedings of the In-between congress of the ISAH Vol. 1: 201-202
- MURPHY, T.W., CARGILL, C.F. (2004): The effect of aerial ammonia and streptococcal organisms on the feed intake, immune function and physiology of the pig. Proceedings of the In-between congress of the ISAH Vol. 1: 207-208
- NAWAZ, M.S., KHAN, A.A., KHAN, S.A., PAIN, D.D., POTHULURI, J.V., CERNIGLIA, C.E. (1999): Biochemical and molecular characterisation of erythromycin-resistant avian *Staphylococcus* spp. Isolated from chickens. Poultry Science 78: 1191-1197
- NICHOLSON, W.L., MUNAKATA, N., HORNECK, G., MELOSH, H.J. SETLOW, P. (2000): Resistance of bacillus endospores to extreme terrestrial and extraterrestrial environments. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 64: 548-572
- NYELETI, C., COGAN, T.A., HUMPHREY, T.J. (2004): Effect of sunlight on the survival of *Salmonella* on surfaces. J. Appl. Microbiol. 97: 617-620
- PAEZ-RUBIO, T., PECCIA, J. (2005): Estimating solar and nonsolar inactivation rates of airborne bacteria. J. Environ. Engin. 131 (4): 512-517
- PAHL, O., PHILLIPS, V.R., LACEY, J., HARTUNG, J., WATHES, C.M. (1997): Comparison of commonly used samplers with a novel bioaerosol sampler with automatic plate exchange. J. Aerosol Sci. 28: 427-435
- PECCIA, J., HERNANDEZ, M. (2001): Photoreactivation in airborne *Mycobacterium parafortium*. Appl. Environ. Microbiol. 67: 4225-4232
- PELIZARRI, F. (1996): Gravimetric survey of airborne fungal spores in Milan. Aerobiologia 12: 205-207
- PLATZ, S. (1979): Menge und Ausbreitung von aus Geflügelställen emittierten Bakterien und die durch sie verursachte Kontamination der Umwelt. Berl. Tierärztl. Wschr. 92: 297-301
- PLATZ, S., SCHERER, M., UNSHELM, J. (1995): Untersuchungen zur Belastung von Mastschweinen sowie der Umgebung von Mastschweinställen durch atembaren Feinstaub, stallspezifische Bakterien und Ammoniak. Zbl. Hyg. 196: 399-415
- POTTS, M. (1994): Desiccation tolerance of prokaryotes. Microbiol. Rev. 58 (4): 755-805



- POTTS, M., SLAUGHTER, S.M., HUNNEKE, F.U., GARST, J.F., HELM, R.F. (2005): Desiccation tolerance of prokaryotes: Application of principles to human cells. *Integr. Comp. Biol.* 45: 800-809
- QIU, X., SUNDIN, G.W., CHAI, B., TIEDJE, J.M. (2004): Survival of *Shewanella oneidensis* MR-1 after UV radiation exposure. *Appl. Environ. Microbiol.* 70: 6435-6443
- RADON, K. (2005): „Atemwegsgesundheit und Allergiestatus bei jungen Erwachsenen in ländlichen Regionen Niedersachsens“ -Niedersächsische Lungenstudie-. Niedersächsisches Ministerium für Soziales, Frauen, Familie und Gesundheit (Hrsg.), [www.ms.niedersachsen.de/master/C9209292\\_N8270\\_L20\\_D0\\_1674.html](http://www.ms.niedersachsen.de/master/C9209292_N8270_L20_D0_1674.html)
- RADON, K., SCHULZE, A., PRALM, G., NOWAK, D. (2006): Potentieller Einfluss von Emissionen aus Betrieben der Veredelungswirtschaft auf die Atemwegsgesundheit und den Allergiestatus von Anwohnern – Ergebnisse umweltepidemiologischer Studien. *KTBL-Schrift* 449: 138-149
- REID, D.S. (1980): In *Contemporary Microbial Ecology*, D.C. Elwood, J.N. Hedger, M.J. Latham, J.M. Lynch & J.H. Slater (Hrsg.), Academic Press, London & New York: 15
- REISS, J. (1986): *Schimmelpilze*. Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo
- REIZOPOULOU, S., SANTAS, Ph., DANIELIDIS, D., HÄDER, D.-P., SANTAS, R. (2000): UV effects on invertebrate and diatom assemblages of Greece. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 56 (2): 172-180
- RIESEMANN, P.J., NICHOLSON, W.L. (2000): Role of the spore coat layers in *Bacillus subtilis* spore resistance of hydrogen peroxide, artificial UV-C, UV-B and solar UV radiation. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 620-626
- ROE, M.T., PILLAI, S.D. (2003): Monitoring and Identifying antibiotic resistance mechanisms in bacteria. *Poultry Science* 82: 622-624
- ROLLE, M., MAYR, A. (2001): *Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre*. 7. Auflage, Enke Verlag, Stuttgart
- RUOFF, K.L. (1992): The genus *Streptococcus*-medical. In: Balows, A., Trüper, H.G., Dworkin, M., Harder, W., Schleifer, K.H. *The prokaryotes* Vol. II, Springer-Verlag, Berlin: 1450-1464
- RUSNAK, J.M., KORTEPETER, M., ULRICH, R., POLI, M., BOUDREAU, E. (2004): Laboratory exposures to staphylococcal enterotoxin B. *Emerging infectious diseases* 10 (9): 1544-1549
- SACHS, L. (2004): *Angewandte Statistik*. 11. überarb. u. aktualisierte Aufl. Springer-Verlag, Berlin
- SALEH, M. (2006): Untersuchungen zur Luftqualität in verschiedenen Systemen der Geflügelhaltung mit besonderer Berücksichtigung von Staub und Luftkeimen. Dissertation am Lehrstuhl für Tierhygiene, Tierschutz und Nutztierethologie der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover

- SAMSON, A.S., REENEN-HOEKSTRA, E.S. (1988): Introduction to food-borne fungi. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn, Niederlande.
- SARIKAS, G. (1976): Untersuchungen über Keim- und Staubemissionen aus Geflügelställen. Dissertation an der Tierärztlichen Hochschule Hannover.
- SAUTER, E.A., PETERSEN, C.F., STEELE, E.E., PARKINSON, J.F. (1981): The airborne microflora of poultry houses. Poultry Sci. 60: 569-574.
- SCHAFFER, F.L., SOERGEL, M.E., STRAUBE, D.C. (1976): Survival of airborne Influenza virus: Effects of propagating host, relative humidity, and composition of spray fluids. Archives of Virology 51: 263-273
- SCHLEIFER, K.H., KILPPER-BÄLZ, R. (1987): Molecular and chemotaxonomic approaches to the classification of streptococci, enterococci and lactococci: a review. Sytem. Appl. Micobiol. 10: 1-19
- SCHMITT-PAUKSZTAT, G., ROSENTHAL, E., BÜSCHER, W., DIEKMANN, B. (2005): Sinkgeschwindigkeiten von Tierstäuben. Landtechnik 60 (5): 270-271
- SCHNEIDER, F. (2005): Charakterisierung von Aerosolpartikeln in der Landwirtschaft. Dissertation an der Fakultät für Agrarwissenschaften, Universität Hohenheim.
- SCHNEIDER, T., ROSENTHAL, E., BÜSCHER, W., DIEKMANN, B. (2006). Einflussgrößen auf Emissionen, Transmission und Immission von Partikeln. KTBL-Schrift 449: 104-114
- SCHULZ, J., SANCHEZ, A., LIERZ, M., HARTUNG, J. (2007): Dead losses of falcons caused by aspergillosis. Proceedings of the International congress in animal hygiene ISAH-2007, Vol. 2: 707-711
- SEEDORF, J., HARTUNG, J., SCHRÖDER, M., LINKERT, K. H., PHILLIPS, V. R., HOLDEN, M. R. SNEATH, R. W., SHORT, J. L., WHITE, R. P., PEDERSEN, S., TAKAI, H., JOHNSON, J. O., METZ, J. H. M., GROOT KOERKAMP, P. W. G., UENK, G. H., WATHES, C. M. (1998a): Concentrations and Emissions of Airborne Endotoxins and Microorganisms in Livestock Buildings in Northern Europe. Journal of Agricultural Engineering Research 70: 97-109
- SEEDORF, J. SCHRÖDER, M. HARTUNG, J. (1998b): Emissionen und Immissionen von Bioaerosolen aus einem Entenstall. Zent.bl. Hyg. Umweltmedizin 201: 387-403
- SEEDORF, J., HARTUNG, J., SCHRÖDER, M., LINKERT, K. H., PEDERSEN, S., TAKAI, H., JOHNSON, J. O., METZ, J. H. M., GROOT KOERKAMP, P. W. G., UENK, G. H., PHILLIPS, V.R., HOLDEN, M.R., SNEATH, R.W., SHORT, J.L., WHITE, R.P., WATHES, C. M. (1998c): A survey of ventilation rates in livestock buildings in northern Europe. Journal of Agricultural Engineering Research 70: 39-47
- SEEDORF, J., HARTUNG, J. (2002): Stäube und Mikroorganismen in der Tierhaltung. KTBL Schrift 393

- SEEDORF, J. (2004): An emission inventory of livestock-related bioaerosols for Lower Saxony, Germany. *Atmospheric Environment* 38: 6565-6581
- SEEDORF, J. (2006): Bioaerosole in und aus der Tierhaltung – umwelthygienische Bedeutung und Messbarkeit. *KTBL-Schrift* 449: 115-137
- SELIM, M.I., JUCHEMS, A.M., POPENDORF, W. (1998): Assessing airborne aflatoxin B1 during on farm grain handling activities. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 59: 252-256
- SHAFFER, B.T. and LIGHTHART, B. (2004): Survey of airborne bacteria at four diverse locations in Oregon: Urban, rural, forest, and coastal. *Earth and Environmental Science* 34: 167-177
- SHAWN, G.G., GREEN, C.F., TARWATER, P.M., SCARPINO, P.V. (2004): Airborne antibiotic resistant and nonresistant bacteria and fungi recovered from two swine herd confined animal feeding operation. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene* 1: 699-706
- SHELTON, B.G., KIRKLAND, K.H., FLANDERS, W.D., MORRIS, G.K. (2002): Profiles of airborne fungi in buildings and outdoor environments in the United States. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 1743-1753
- SHIMIZU, A., OZAKI, J., KAWANO, J., SAITOH, Y., KIMURA, S. (1992): Distribution of staphylococcus species on animal skin. *J. Vet. Med. Sci.* 54 (2): 355-357
- SIEGMANN, O., NEUMANN, U. (2005): *Kompendium der Geflügelkrankheiten*, 6. aktualisierte und erweiterte Auflage. Schlütersche Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG, Hannover
- SKEELES, J.K. (1997): Staphylococcosis. In: *Disease of poultry*, 10. Ausgabe, B.W. Calnek (Hrsg.), Iowa State Univ. Press, Ames, IA: 247-253
- SLOBODZIAN-KSENICZ, O., KUCZYNSKI, T. (2002): Effect of litter type on ammonia emissions in turkey housing. *Agricultural Engineering International: The CIGR Journal of scientific research and development. Manuscript BC 01 006 Vol. IV. May, 2002*: 1-11
- SONGER, J.R. (1967): Influence of relative humidity on the survival of some airborne viruses. *Applied Microbiology* 15 (1): 35-42
- STATISTISCHES BUNDESAMT (2005): Repräsentative Erhebung der Tierbestände 2005. Genesis-online, Tabellen 41311-0001 und 41311-0002
- STEWART, S.L., GRINSHPUN, S.A., WILLEKE, K., TERZIEVA, S., ULEVICICUS, V., DONNELLY, J. (1995): Effect of impact stress on microbial recovery on an agar surface. *Appl. Environ. Microbiol.* 61: 1232-1239
- SUNDIN, G.W., JACOBS, J.L. (1999): Ultraviolet radiation (UVR) sensitivity analysis and UVR survival strategies of a bacterial community from the phyllosphere of field-grown peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Microbial Ecology* 38 (1): 27-38
- TA Luft (2002): Erste Allgemeine Verwaltungsvorschrift zum Bundes-Immissionsschutzgesetz (Technische Anleitung zur Reinhaltung der Luft – TA Luft) vom 24.07.2002, GMBI, H. 25-27: 511-605

- TANKSON, J.D., THAXTON, J.P., VIZZIER-THAXTON, Y. (2002): Bacteria in heart and lungs of young chicks. *J. Appl. Microbiol.* 92: 443-450
- TAKAHASHI, T., SATOH, I., KIKUCHI, N. (1999): Phylogenetic relationships of 38 taxa of the genus *Staphylococcus* based on 16S rRNA gene sequence analysis *Int. J. Syst. Bacteriol.* 49: 725-728
- TAKAI, H., PEDERSEN, S., JOHNSON, J. O., METZ, J. H. M., GROOT KOERKAMP, P. W. G., UENK, G. H., PHILLIPS, V. R., HOLDEN, M. R., SNEATH, R. W., SHORT, J. L., WHITE, R. P., HARTUNG, J., SEEDORF, J., SCHRÖDER, M., LIKERT, K. H., WATHES, C. M. (1998): Concentrations and emissions of airborne dust in livestock buildings in northern Europe. *Journal of Agricultural Engineering Research* 70: 59-77
- TAKEUCHI, F., WATANABE, S., BABA, T., YUZAWA, H., ITO, T., MORIMOTO, Y., KURODA, M., CUI, L.Z., TAKAHASHI, M., ANKAI, A., BABA, S., FUKUI, S., LEE, J.C., HIRAMATSU, K. (2005): Whole-genome sequencing of *Staphylococcus haemolyticus* uncovers the extreme plasticity of its genome and the evolution of human-colonizing staphylococcal species. *J. Bacteriol.* 187 (21): 7292-7308
- TEUBER, M., GEIS, A., NEVE, H. (1992): The genus *lactococcus* In: Balows, A., Trüper, H.G., Dworkin, M., Harder, W., Schleifer, K.H. *The prokaryotes* Vol. II: 1482-1501
- THAXTON, Y. V., BALZLI, C. L., TANKSON, J. D. (2003): Relationship of broiler flock numbers to litter microflora. *J. Appl. Poult. Res.* 12: 81-84
- THORN, P.S., KIEKHAEFER, M.S., WHITTEN, P., DONHAM, K.J. (1992): Comparison of bioaerosol sampling methods in barns housing swine. *Appl. Environ. Microbiol.* 58 (8): 2543-2551
- THOMSON, C.M.A., CHANTER, N., WATHES, C.M. (1992): Survival of toxigenic *Pasteurella multocida* in Aerosols and aqueous liquids. *Appl. Environ. Microbiol.* 58 (3): 932-936
- TONG, Y., LIGHTHART, B. (1997): Solar radiation has a lethal effect on natural populations of culturable outdoor atmospheric bacteria. *Atmospheric Environment* 31 (6): 897-900
- TONG, Y., LIGHTHART, B. (1998): Effect of simulated solar radiation on mixed outdoor atmospheric bacterial populations. *FEMS Microbiology Ecology* 26: 311-316
- UMEG, Gesellschaft für Umweltmessungen und Umwelterhebungen (2003): Bioaerosole in der Immission- Immissionsmessungen von Schimmelpilzen in Baden Württemberg. *Jahresbericht 2003*: 154-163
- VISSIENNON, TH: (1999): Untersuchungen zur Pilzbelastung im Hühnerstall und ihrer ätiopathogenetischen Bedeutung für Mensch und Tier. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* 112: 104-107
- WALLENFANG, O., SCHULZE LAMMERS, S., DIEKMANN, B., BOEKER, P., BÜSCHER, W. (2002): Vom Winde verweht. *DGS Magazin* 27: 10-13

- WATHES, C.M. (1995): Bioaerosols in animal houses. In: Bioaerosols Handbook, C.S. Cox and C.M. Wathes (Hrsg.), CRC Press, Boca Raton, Florida, USA: 547-577
- WATSON, R.T., McMICHAEL, A.J. (2001): Global climate change – the latest assessment: does global warming warrant a health warning? *Global Health and Human Health* 2 (1): 64-75
- WEBB, S.J. (1965): Bound water in biological integrity. Charles C. Thomas, Springfield, III
- WEBB, S.J. (1967): Mutation of bacterial cells by controlled desiccation. *Nature* 213: 1137-1139
- WHYTE, R.T. (1993): Aerial pollutants and the health of poultry farmers. *World's poultry science journal* 49: 139-156
- WIESNER, E., RIBBECK, R. (2000): Lexikon der Veterinärmedizin. 4. Aufl., Enke im Hippokrates Verlag GmbH, Stuttgart
- WILSON, I.G. (2004): Airborne *Campylobacter* infection in a poultry worker: case report and review of the literature. *Communicable Disease And Public Health* 7 (4): 349-353
- WINHORST, H.W. (1999): Intensivlandwirtschaft im Grenzbereich Nordwestdeutschlands und der Niederlande: Strukturen, Probleme, Lösungsstrategien. In: Institut für Strukturforschung und Planung in agrarischen Intensivgebieten (ISPA), Heft 39: 53-99
- WINTZER, H.J. (1999): Krankheiten des Pferdes. 3. Auflage, Parey Buchverlag, Berlin
- WÜST, G., REINTHALER, F. F., HAAS, D., MARTH, E. (1999): Vergleichende Untersuchungen luftgetragener, kultivierbarer Mikroorganismen an ausgewählten Standorten in der Abfallwirtschaft, der Nutztierhaltung und im Anwohnerbereich. Schriftenreihe des Vereins für Wasser-, Boden- und Lufthygiene, Band 30: 703-711
- YAP, W.H., ZHANG, Z.S., WANG, Y. (1999): Distinct types of rRNA operons exist in the genome of the actinomycete *Thermomonospora chromogena* and evidence for horizontal transfer of an entire rRNA operon. *J. Bacteriol.* 181 (17): 5201-5209
- YODER, M.F., VAN WICKLEN, G.L. (1988): Respirable aerosol generation by broiler chickens. *Transaction of the Am. Soc. Agric. Eng.* 31: 1510-1517
- ZHANG, Y.Q., REN, S.X., LI, H.L., WANG, Y.X., FU, G., YANG, J., QIN, Z.Q., MIAO, Y.G., WANG, W.Y., CHEN, R.S., SHEN, Y., CHEN, Z., YUAN, Z.H., ZHAO, G.P., QU, D., DANCHIN, A., WEN, Y.M. (2003): Genome-based analysis of virulence genes in a non-biofilm-forming *Staphylococcus epidermidis* strain (ATCC 12228). *Mol. Microbiol.* 49 (6): 1577-1593
- ZUCKER, B.-A., TROJAN, S., MÜLLER, W. (2000): Airborne Gram-negative bacterial flora in animal houses. *J. Vet. Med. B* 47: 37-46
- ZUCKER, B.A., MÜLLER, W. (2004): Airborne endotoxins and airborne gram-negative bacteria in a residential neighbourhood. *Water, Air, and Soil Pollution* 158: 67-75

## 8 Abkürzungsverzeichnis

A	Fläche
$a_w$	activity of water
BImSchG	Bundes-Immissionsschutzgesetz
bidest.	bidestillata
bp	Basenpaare
C	Konzentration
°C	Grad Celsius
CAD	computer aided design
DNA	Desoxyribonucleinsäure
DNase	Desoxyribonuclease
dNTP	Desoxynucleotidtriphosphat
DSMZ	Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen
DWD	Deutscher Wetterdienst
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
ES	Emissionsschwerpunkt
FG	Freiheitsgrade
GV	Großvieheinheit
h	Stunden
HW	Hauptwindrichtung
ITS	Internal transcribed spacer
kg	Kilogramm
KBE	koloniebildende Einheiten
l	Liter
lg	Logarithmus einer Zahl zur Basis 10
LTD	limited
$\mu\text{g}$	Mikrogramm
$\mu\text{m}$	Mikrometer
m	Meter
M	Mol
min	Minute
Mio.	Millionen
ml	Milliliter

---

mM	Millimol
n	Anzahl von Ereignissen bzw. Probenzahl
nm	Nanometer
NCBI	National Center for Biotechnology Information
OAF	open air factor
O. D.	optische Dichte
PBS	phosphate buffered saline
PCR	polymerase chain reaction
pmol	Picomol
pH	negativ dekadischer Logarithmus des Zahlenwertes der $H_3O^+$ -Konzentration
r	Korrelationskoeffizient
rDNA	ribosomale Desoxyribonucleinsäure
RF	relative Luftfeuchte
RFLP	Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus
RNA	Ribonucleinsäure
rpm	rounds per minute
<i>S.</i>	<i>Staphylococcus</i>
16S, 23S	Sedimentationskoeffizienten bakterieller rRNA
spp.	Spezies plural
Stabw.	Standardabweichung
TA Luft	Technische Anleitung zur Reinhaltung der Luft
TALIP	TA-Luft Immissionsprognose
TBE	Tris-Borat-EDTA - Puffer
U	units
UV	Ultraviolett
V	Volumen
V/cm	Volt/Zentimeter
v/v	volume/volume
w/v	weight/volume

## 9 Glossar

<b>Actinomyceten</b>	sind grampositive, filamentöse, meist aerobe Bakterien mit hohem GC-Gehalt. Sie stellen einen wesentlichen Bestandteil der Bodenmikroflora dar, wenige Arten leben aquatisch.
<b>aerodynamischer Durchmesser</b>	ist eine abstrakte Größe zur Beschreibung des Verhaltens eines gasgetragenen Partikels. Der aerodynamische Durchmesser ist definiert als der Durchmesser einer Kugel mit der normierten Dichte von $1 \text{ g/cm}^3$ , welche die gleiche Sinkgeschwindigkeit besitzt wie das zu beschreibende Partikel.
<b>aerogen</b>	bezeichnet den Transport über die Luft.
<b>Aerosol</b>	in mehrphasigen Systemen von Gasen insb. Luft dispers verteilte partikelförmige Feststoffe oder Flüssigkeiten
<b>Allergene</b>	sind Substanzen – häufig Proteinverbindungen – die über Vermittlung des Immunsystems Überempfindlichkeitsreaktionen auslösen.
<b>Allergisierung</b>	bezeichnet die Entwicklung einer Allergie. Zunächst kommt es zu einer Antigen-Antikörper-Reaktion des Immunsystems. Das als Antigen wirkende Allergen löst eine Sensibilisierung aus, worauf eine Antikörperbildung folgt. Wirkt nun das Allergen erneut auf das Immunsystem ein, kommt es zur allergischen Reaktion.
<b>Anemometer</b>	oder Windmesser dient zur Messung der Windgeschwindigkeit. Die Messung kann je nach Bauart beispielsweise durch mechanische Übersetzung des Winddruckes auf eine Anzeigevorrichtung, thermisch, etwa durch Windkühlung eines Hitzedrahts, akustisch und elektromechanisch, durch Messung von Ultraschallpulsen, durch Messung des Volumenstroms oder durch Erfassung des Staudrucks auf ein Messrohr erfolgen.
<b>aw-Wert</b>	ist ein Maß für frei verfügbares Wasser in einem Material. Er ist definiert als Quotient des Wasserdampfdruckes über einem Material ( $p$ ) zu dem Wasserdampfdruck über reinem Wasser ( $p_0$ ) bei einer bestimmten Temperatur: aw-Wert $p/p_0$
<b>Ascomycota</b>	bilden zusammen mit den Basidiomycota das Taxon der Dikaryomykota. Charakteristisch sind die schlauchförmigen Fortpflanzungsstrukturen (Asci). Einige essbare Pilze wie Morchel und Trüffel werden zu den Ascomycota gezählt, vor allem aber die meisten Hefen und Schimmelpilze.
<b>atmosphärische Schichtung</b>	bestimmt alle vertikalen Luftbewegungen und ist damit von elementarer Bedeutung für alle konvektiven Vorgänge innerhalb der Erdatmosphäre sowie den damit verbundenen Prozessen der Wolkenentstehung oder Luftverschmutzung. Von einer stabilen atmosphärischen Schichtung spricht man, wenn eine Warmluftschicht über einer bodennahen kälteren Luftschicht liegt (z. B. Inversionswetterlage). Bei labilen Schichtungen werden hingegen die bodennahen Luftschichten stärker erwärmt, steigen auf und vermischen sich mit den darüber liegenden kälteren Luftschichten.
<b>Aviäre Influenza</b>	ist eine durch Viren hervorgerufene anzeigepflichtige Tierseuche, von der Hühner, Puten, Gänse, Enten, wildlebende Wasservögel und andere Vögel betroffen sein können. Die Aviäre Influenza wird auch als Geflügelpest oder als Vogelgrippe bezeichnet. Einige Varianten der Geflügelpest-Viren, insbesondere die Variante A/H5N1, sind in Einzelfällen auf Menschen, Zootiere wie Leoparden sowie auf Hauskatzen übertragen worden.



<b>Basidiomycota</b>	bilden zusammen mit den Ascomycota das Taxon der Dikaryomykota. Zu den Basidiomycota werden Basidiomycetes (Ständerpilze), Urediniomycetes (Rostpilze) und Ustilaginomycetes (Brandpilze) gezählt.
<b>Besatzdichte</b>	beschreibt die Tiermasse in kg Lebendgewicht pro Quadratmeter Stallfläche.
<b>beta(1,3)-Glukane</b>	sind Glucose-Polymere, die in Pflanzen, Bakterien und besonders in Zellwänden von Pilzen vorkommen. Sie zeigen die immunmodulatorische aber auch Anti-Tumor-Effekte.
<b>Bioaerosol</b>	bezeichnet ein Aerosol mit biologischem Ursprung oder biologischer Aktivität, die u. a. die Infektiosität, Toxizität, Allergisierung oder pharmakologische Wirkung einschließt.
<b>Diffusionsmodell</b>	beschreibt modellhaft die Ausbreitung von Teilchen aufgrund thermischer Bewegung unter verschiedenen Einflussgrößen.
<b>Emission</b>	Emissionen sind die von einer Anlage ausgehenden Luftverunreinigungen, Geräusche, Erschütterungen, Licht, Wärme, Strahlen und ähnlichen Erscheinungen.
<b>Emissionsschwerpunkt</b>	als Emissionsschwerpunkt wird der Punkt mit der höchsten mittleren Emission einer Emissionsquelle bezeichnet. Vereinfacht wurde in dieser Arbeit der Mittelpunkt der jeweiligen Emissionsquelle angegeben.
<b>Endotoxine</b>	sind Bestandteil der äußeren Zellmembran von gramnegativen Bakterien oder Blaualgen. Chemisch sind sie Lipopolysaccharide (LPS) und aus einem hydrophilen Polysaccharid- und einem lipophilen Lipidanteil aufgebaut. Die Lipid A-Fraktion ist Träger der Toxizität.
<b>Filtration</b>	wird zu den mechanischen Trennverfahren gezählt. Für eine Luftbeprobung werden luftgetragene Partikel aus dem Probenluftstrom auf einem Filter gesaugt.
<b>frei gelüftet</b>	bedeutet in der vorliegenden Arbeit eine natürliche Belüftung des Stalles über Seitenwandöffnungen ohne zusätzliche Ventilation.
<b>Gaußsches Ausbreitungsmodell</b>	Beschreibt die Ausbreitung luftgetragener Stoffe auf der Grundlage einer analytischen Lösung der Advektions-Diffusionsgleichung. Die Stoffe breiten sich dabei in Windrichtung nach einer Gaußverteilung in y- und z-Richtung aus.
<b>GV</b>	(oder auch GVE) steht für Großvieheinheit und ist ein Maß in der Nutztierhaltung. Eine Großvieheinheit ist orientiert an dem Gewicht von Rindern (Großvieh) und entspricht einer Lebendmasse von 500 kg. Eine Legehenne bedeutet beispielsweise nach TA Luft 2002 0,0034 GV.
<b>Immission</b>	Immissionen sind auf Menschen, Tiere und Pflanzen, den Boden, das Wasser, die Atmosphäre sowie Kultur- und sonstige Sachgüter einwirkende Luftverunreinigungen, Geräusche, Erschütterungen, Licht, Wärme, Strahlen und ähnliche Umwelteinwirkungen.
<b>Impaktion</b>	steht hier für die Abscheidung von Bakterien aus einem Luftstrom auf einer Fläche. Bei dem ebenso bezeichneten Luftkeimsammelverfahren werden Keime im Probenluftstrom beschleunigt und impaktieren (schlagen) in ein Nährmedium ein.
<b>Impingement</b>	ein aus dem englischen übernommener Begriff für ein Luftkeimsammelverfahren bei dem luftgetragene Keime im Probenvolumenstrom stark beschleunigt werden und in den Sammelgeräten (Impingern) auf eine Flüssigkeit auftreffen, in der sie suspendieren.

<b>infektiöse Dosis</b>	bezeichnet die Menge an Erregern die minimal notwendig ist, eine Infektion hervorzurufen. Die infektiöse Dosis variiert sehr stark von Erreger zu Erreger.
<b>Infektiosität</b>	beschreibt die Fähigkeit eines Erregers, einen Wirt zu infizieren. Sie ist somit abhängig von den Virulenz- und Pathogenitätsfaktoren und damit von der Fähigkeit eines Erregers zur Adhäsion, Invasion und Infektion eines Wirtes.
<b>Inversionswetterlage</b>	ist eine Wetterlage, die durch eine Umkehr des atmosphärischen Temperaturgradienten geprägt ist. In der Folge steigt die Lufttemperatur mit der Höhe an, was die Schichtungsstabilität der Troposphäre und insbesondere alle konvektiven Prozesse beeinflusst. Der Bereich, in dem diese Inversion auftritt, wird als Inversionsschicht bezeichnet.
<b>Ionisator</b>	bezeichnet ein Gerät zur Ionisierung von Luft. Dabei entstehen durch Hochspannung geladenen Teilchen in der Luft, die z. B. mit Mikroorganismen interagieren, und bei ausreichender Konzentration einen germiciden Effekt besitzen.
<b>internal transcribed spacer</b>	abgekürzt ITS, bezeichnet hier einen Abschnitt variabler Sequenzen zwischen rRNA Sequenzen.
<b>Kaskadenimpaktor</b>	auch Stufenimpaktor genannt, der luftgetragene Partikel in mehreren definierten Größenfraktionen abscheidet
<b>Konidien</b>	nennt man eine bestimmte Form von Sporen der Pilze. Sie zählen zu den Mitosporen, werden folglich ungeschlechtlich (mitotisch) durch Umbildung von Hyphen oder an Konidienträgern gebildet. Sie sind die für die höheren Pilze (Asco- und Basidiomyceten) charakteristischen Verbreitungsorgane der vegetativen Vermehrung.
<b>Lee</b>	ist ein Begriff aus der Seemannssprache und bedeutet die dem Wind abgewandte Seite. In der Meteorologie und der Geographie bezeichnet Lee die windabgewandte Seite eines Strömungshindernisses.
<b>Louisianatyp</b>	bezeichnet eine bestimmte Stallbauweise für die Geflügelmast mit freier Belüftung.
<b>Luv</b>	ist ein Begriff aus der Seemannssprache und bedeutet die dem Wind zugekehrte Seite. In der Meteorologie und der Geographie bezeichnet Luv die dem Wind zugewandte Seite eines Strömungshindernisses.
<b>Maul- und Klauenseuche</b>	ist eine anzeigepflichtige Tierseuche bei Rindern und Schweinen. Auch andere Paarhufer wie Rehe, Ziegen und Schafe, aber auch Elefanten, Ratten und Igel können sich infizieren. Pferde sind nicht für MKS anfällig. Eine Infektion des Menschen tritt gelegentlich auf. Der Erreger ist ein hoch kontagiöses Einzel-(+)-Strang-RNA-Virus [ss(+)-RNA] aus der Virenfamilie der <i>Picornaviridae</i> .
<b>Maillard-Reaktion</b>	bezeichnet die nach Louis-Camille Maillard benannte Kondensation einer Aminogruppe eines Proteins mit der Carbonylgruppe eines reduzierenden Zuckers zu einer Schiffischen Base, welche sich anschließend in weitere Reaktionsprodukte umwandelt.
<b>mesophil</b>	bezeichnet in der technischen Mikrobiologie ein Wachstumsoptimum im Bereich von 25-40°C.
<b>Mykotoxine</b>	sind sekundäre Stoffwechselprodukte aus Schimmelpilzen. Es sind etwa 200 verschiedene Mykotoxine bekannt, die von über 300 Pilzarten produziert werden. Die meisten Mykotoxine sind sehr widerstandsfähig gegenüber Hitze- und Säurebehandlung.

<b>Newcastle Disease</b>	ist eine weltweit verbreitete, hoch ansteckende und meldepflichtige Viruserkrankung der Vögel. Das Krankheitsbild erinnert an die Aviäre Influenza, daher wird die Newcastle Disease in Fachkreisen auch als atypische Geflügelpest bezeichnet.
<b>Olefine</b>	ist eine früher gebräuchliche Bezeichnung für Alkene.
<b>OAF</b>	steht für „open air factor“ und bezeichnet einen keimabtötenden Effekt in der Luft, bei dem Ozon mit Alkenen interagiert und dabei bakterizide Verbindungen bildet. Die Toxizität dieser Verbindungen gegenüber luftgetragenen Bakterien beruht vermutlich auf Reaktionen die durch Metallionen katalysiert werden und bei denen freie Radikale entstehen, die Zellstrukturen angreifen.
<b>orographisch</b>	bezeichnet Erscheinungen, Eigenschaften und Zusammenhänge, die von Hangneigungen und Hangrichtungen (Exposition) der Geländeoberfläche und ihren fließenden Gewässern geprägt werden.
<b>Paramyxoviridae</b>	bezeichnet behüllte Viren mit einer einzelsträngigen, linearen RNA mit negativer Polarität als Genom. Die Familie <i>Paramyxoviridae</i> umfasst Virusspezies, die das respiratorische System selbst betreffen oder von ihm aus ihren Ausgang nehmen. Daher werden <i>Paramyxoviridae</i> nicht durch Vektoren und fast ausschließlich durch Tröpfcheninfektion übertragen. Dies sind bei Säugetieren und Vögeln weit verbreitete und wichtige Erkrankungen, wie z. B. Staupe und Newcastle Disease, oder Infektionen wie Masern, Mumps und Parainfluenza beim Menschen.
<b>pharmakologische Wirkung</b>	beschreibt die Wechselwirkung zwischen Agenzien (z.B. Arzneimitteln) und dem Organismus.
<b>Picornaviridae</b>	umfassen unbehüllte Viren mit einer einzelsträngigen, linearen RNA mit positiver Polarität als Genom. Die Viren dieser Familie gehören mit einer Größe von 22-30 nm zu den kleinsten Viren, was zur Namensgebung pico (lat. für sehr klein) und RNA für das Genom führte.
<b>Pneumonie</b>	ist eine akute oder chronische Entzündung des Lungengewebes. Sie wird meist durch eine Infektion mit Bakterien, Viren oder Pilzen verursacht, selten auch toxisch durch Inhalation giftiger Stoffe oder immunologisch.
<b>Porcine Reproductive and Respiratory Syndrom Virus</b>	ist der Erreger des PRRS (Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome) (oder auch: Seuchenhafter Spätabort der Schweine (SSS), Mystery swine disease (MSD), Swine infertility and respiratory syndrome (SIRS) und Porcine epidemic abortion and respiratory syndrome (PEARS), einer Seuche des Schweins, bei der Verluste von bis zu 75% des Schweinebestandes entstehen können.
<b>scavenger</b>	(engl.: Aasfresser), ist in der Chemie eine allgemeine Bezeichnung für eine Substanz, die in einem Fluid Verunreinigungen abfängt und bindet.
<b>Schweinepest</b>	auch klassische Schweinepest (KSP), Europäische Schweinepest (ESP), Swine Fever oder Hog Cholera (HC)) zählt zu den gefährlichsten Schweinekrankheiten überhaupt und ist bis heute schwer kontrollierbar und nicht ausgerottet. Die Schweinepest gilt als Tierseuche und ist anzeigepflichtig.
<b>Sensibilisierung</b>	ist der Prozess durch den es nach dem Erstkontakt mit einem Allergen zum Aufbau einer fehlgeleiteten spezifischen Immunantwort kommt und somit beim erneuten Kontakt zu einer allergischen Reaktion.
<b>Small acid soluble proteins (SASP)</b>	DNA bindende Proteine, die während der Sporulation von <i>Bacillus</i> spp. synthetisiert werden. Sie schützen die DNA vor Schäden durch Austrocknung und wahrscheinlich auch vor Strahlungsschäden.

---

<b>Tachymeter</b>	bezeichnet in der Landvermessung ein Gerät, mit dem horizontale und vertikale Winkelmessungen sowie exakte Entfernungsbestimmungen über einen Infrarotstrahl durchgeführt werden können.
<b>Tenazität</b>	unter Tenazität wird in der medizinischen Mikrobiologie die allgemeine Widerstandsfähigkeit von Mikroorganismen gegenüber chemischen und physikalischen Umweltfaktoren verstanden, die z. B. die Überlebenschance von Erregern in der Außenwelt erhöht und seine Verbreitung begünstigt.
<b>Zoonose</b>	ist eine von Tier zu Mensch und von Mensch zu Tier übertragbare Infektionskrankheit. Die Definition der Weltgesundheitsorganisation (WHO) von 1959 besagt einschränkend, dass Zoonosen Krankheiten und Infektionen sind, die auf natürliche Weise zwischen Mensch und anderen Wirbeltieren übertragen werden können.
<b>zwangsbelüftet</b>	bedeutet in der vorliegenden Arbeit eine mechanische Belüftung von Ställen durch Ventilatoren.
<b>Zygomycota</b>	bilden eine Abteilung innerhalb des Reichs der Pilze. Sie sind nach den bei der geschlechtlichen Vermehrung auftretenden jochartigen Strukturen (Jochpilze) beziehungsweise den darin ausgebildeten charakteristischen schwarzen Zygosporen benannt.

## 10 Anhang

**Tab. 1: Ausgangsdaten für Abbildung 3.1 zur Prüfung der Gleichheit zweier Varianzen paariger Stichproben**

Art	Zellen u. Zellaggregate / ml vor dem Imp.	KBE / ml vor dem Imp.	Zellen u. Zellaggregate / ml nach dem Imp.	KBE / ml nach dem Imp.	KBE / ml nach dem Imp. und nach 24h bei 4 °C
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	720000	327000	1530000	787000	747000
		290000		923000	803000
		290000		677000	620000
		400000		747000	653000
				700000	687000
				766800	702000
arithmetr. Mittel		327000		766800	702000
Standardabweichung		63509		97114	73444
		Kontrolle 0		Kontrolle 0	Kontrolle 0
<i>Staphylococcus xylosus</i>	960000	115000	1790000	450000	620000
		107000		510000	357000
		122000		603000	447000
		116000		647000	523000
				543000	427000
				550600	474800
arithmetr. Mittel		115000		550600	474800
Standardabweichung		7550		77242	100425
		Kontrolle 0		Kontrolle 0	Kontrolle 0
<i>Streptococcus saccharolyticus</i>	640000	98300	872000	151300	142300
		114000		173700	147300
		91000		170700	122300
		90000		152700	149700
				176700	154700
				165020	143260
arithmetr. Mittel		98300		165020	143260
Standardabweichung		13577		12084	12539
		Kontrolle 0		Kontrolle 0	Kontrolle 0
<i>Escherichia coli</i>	3250000	155300	3975000	79700	70300
		123000		75300	40700
		140000		28000	25700
		203000		56700	55000
				42000	64000
				56340	51140
arithmetr. Mittel		155300		56340	51140
Standardabweichung		42147		21875	18053
		Kontrolle 0		Kontrolle 0	Kontrolle 0
<i>Bacillus subtilis</i>	800000	94000	744000	28000	9070
		108000		31000	22500
		93000		24000	18670
		81000		30000	17100
				31000	15330
				28800	16534
arithmetr. Mittel		94000		28800	16534
Standardabweichung		13528		2950	4941
		Kontrolle 0		Kontrolle 0	Kontrolle 0

Art	Zellen u. Zellaggregate / ml vor dem Imp.	KBE / ml vor dem Imp.	Zellen u. Zellaggregate / ml nach dem Imp.	KBE / ml nach dem Imp.	KBE / ml nach dem Imp. und nach 24h bei 4 °C	
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1450000	195300	1500000	54700	20800	
		198000		46300	17600	
		211000		100000	15630	
		177000		102700	17130	
				61000	17270	
		arithmetr. Mittel		195300	72940	17686
		Standardabweichung		17156	26471	1898
	Kontrolle 0	Kontrolle 0	Kontrolle 0			

**Tab. 2: Ausgangsdaten für Abbildung 3.2 zur Prüfung des Erwartungswertes der Paardifferenzen auf Null**

Art	Zellen und Zellaggregate / ml vor dem Impingement	Zellen und Zellaggregate / ml nach dem Impingement	KBE / ml vor dem Impingement	KBE / ml nach dem Impingement	KBE / ml nach Impingement, nach 24h bei 4 °C
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	720000	1530000	510000	940000	940000
<i>Staphylococcus xylosus</i>	960000	1790000	377000	750000	870000
<i>Staphylococcus arlettae</i>	640000	872000	460000	1560000	1540000
<i>Staphylococcus cohnii subs. urealyticum</i>	3250000	3975000	1040000	1340000	1300000
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	800000	744000	510000	1040000	1100000
<i>Staphylococcus aureus</i>	1450000	1500000	790000	990000	1120000

**Tab. 3: Wiederfindungsrate von *S. xylosus* in Impingern nach Methode 2.2.2**

Versuch Nr.	vernebelte Suspension	KBE/ml	vernebelte Menge in ml/5 min	vernebelte Keimzahl KBE	Luftstrom in L	KBE/L Luft
1	5750000		1,48	8510000	1830	4650
2	5750000		1,22	7015000	1830	3833
3	5750000		1,27	7302500	1830	3990
4	5750000		1,17	6727500	1830	3676
5	5750000		1,22	7015000	1830	3833
6	5750000		1,54	8855000	1830	4839
7	5750000		1,32	7590000	1830	4148
8	5750000		1,22	7015000	1830	3833
9	5750000		1,26	7245000	1830	3959
Kontrolle	0		0	0	1830	0

Versuch Nr.	Durchfluss Impinger in L	theoretischer Eintrag KBE/Impinger	KBE/ml Sammpuffer
1	60	279016	900
2	60	230000	4100
3	60	239426	3500
4	60	220574	3700
5	60	230000	3100
6	60	290328	5200
7	60	248852	3850
8	60	230000	2450
9	60	237541	4300
Kontrolle	60	0	0

Versuch Nr.	Vol. Sammpuffer in ml	gemessener Eintrag KBE/Impinger	Wiederfindung in %	Wiederfindung in % ohne 1 und 8
1	49	44100	16	-
2	49	200900	87	87
3	49	171500	72	72
4	49	181300	82	82
5	49	151900	66	66
6	49	254800	88	88
7	49	188650	76	76
8	49	120050	52	-
9	49	210700	89	89
Kontrolle	49	0	-	-
				<b>Mittel</b>
				80
				<b>S.D.</b>
				9

**Tab 4: Keimzahlen in der Luft des frei gelüfteten Masthühnerstalles (Stall A)**

Datum der Probenahme	Alter der Tiere in [t]	Anzahl der Tiere	Staphylokokken KBE/m <sup>3</sup>	mesophile Bakterien KBE/m <sup>3</sup>	Schimmelpilze und Hefen KBE/m <sup>3</sup>
12.11.2002	13	39.172	163200	338900	121200
12.11.2002	13	39.172	147200	235500	87220
12.11.2002	13	39.172	141700	246600	69920
19.11.2002	20	38.935	133300	126800	19250
19.11.2002	20	38.935	265900	374400	10850
19.11.2002	20	38.935	441000	519000	133000
26.11.2002	27	38.820	3140000	3130000	52800
26.11.2002	27	38.820	1630000	1970000	31100
26.11.2002	27	38.820	3110000	5230000	48000
26.02.2003	7	39.666	5718	63360	13910
26.02.2003	7	39.666	7570	71600	13700
26.02.2003	7	39.666	12600	98300	17400
13.03.2003	22	39.214	1270000	1440000	100000
18.03.2003	27	39.136	1820000	1630000	16900
18.03.2003	27	39.136	1350000	1480000	12400
19.03.2003	28	39.113	16000000	9730000	38400
19.03.2003	28	39.113	14500000	12900000	25600
25.03.2003	34	39.016	1750000	2220000	17200
07.05.2003	28	39.198	5650000	5560000	29500
07.05.2003	28	39.198	6420000	8880000	39500
27.05.2003	0	0	< 350	< 350	1240
27.05.2003	0	0	< 350	< 350	404
12.06.2003	12	39.251	110000	174000	37300
17.06.2003	17	39.047	362000	525000	33500
17.06.2003	17	39.047	467000	501000	22400
02.07.2003	33	38.632	4900000	6910000	7180
02.07.2003	33	38.632	4790000	7340000	8120
08.07.2003	39	29.504	146000	157000	10700
08.07.2003	39	29.504	102000	160000	13200
12.08.2003	28	38.468	1520000	1430000	55900
12.08.2003	28	38.468	1570000	1850000	61900
19.08.2003	35	38.324	1790000	1890000	17500
19.08.2003	35	38.324	1550000	1430000	15300
16.09.2003	20	39.340	1220000	963000	48900
16.09.2003	20	39.340	914000	985000	73900
24.09.2003	28	39.164	9660000	11000000	47300
24.09.2003	28	39.164	6710000	7780000	62000



**Tab. 5: Keimzahlen im Abluftstrom des zwangsbelüfteten Stalles (Stall B)**

Datum der Probenahme	Alter der Tiere [t]	Anzahl der Tiere	Staphylokokken KBE/m <sup>3</sup>	mesophile Bakterien KBE/m <sup>3</sup>	Schimmelpilze und Hefen KBE/m <sup>3</sup>
06.07.2004	14	29.317	3365609	4101261	116478
15.07.2004	23	29.089	9644091	8396818	28955
22.07.2004	29	28.990	1853435	1818696	5517
22.07.2004	29	28.990	2034302	2080415	13657
28.07.2004	35	21.000	1661191	1767652	10043
29.07.2004	36	21.000	549909	570818	6900
29.07.2004	36	21.000	570818	495545	5645
12.08.2004	1	31.400	2662	614	6143
12.08.2004	1	31.400	14886	27935	4078
19.08.2004	8	31.200	2029174	2343870	54561
19.08.2004	8	31.200	2926413	2616630	48122
25.08.2004	14	31.000	3304304	3739565	69478
25.08.2004	14	31.000	3132652	3616957	98700
26.08.2004	15	30.984	2656696	2671304	68243
01.09.2004	21	30.800	1032000	1174760	n. a.
01.09.2004	21	30.800	1611304	1651217	n. a.
09.09.2004	29	30.780	1740000	2274000	4000
09.09.2004	29	30.780	2880248	3227000	6613
15.09.2004	35	22500	1274000	1133533	n. a.
15.09.2004	35	22500	1749188	1810563	2150
16.09.2004	36	22.493	1144030	1178400	n. a.
16.09.2004	36	22.493	1041621	866264	1050

n. a. = nicht auswertbar

**Tab. 6: Immissionen von Schimmelpilzen + Hefen am Stall A. HW = Hauptwindrichtung, P = Messort, ES = Emissionsschwerpunkt des Stalles**

Datum, Messort (P), Messzeit	Alter der Tiere [t]	Mittlere Windgeschwindigkeit [m/s]	HW [°]	Entf. P zum ES [m]	Abweichung zur HW [°]	KBE/m <sup>3</sup> , in Messhöhe [m]
18.03.2003 P0 11:15-12:45	27	1,8	140	40	40	144 [1,5] n. n. [4,0] n. n. [9,5]
18.03.2003 P2 12:47-14:17	27	2,1	145	234	142	n. n. [1,5] n. n. [4,0] 228 [9,5]
19.03.2003 P0 9:58-11:28	28	4,1	300	40	160	319 [1,5] n. n. [4,0] n. n. [9,5]
19.03.2003 P1 9:58-11:28	28	4,1	300	60	24	107 [1,5] 322 [4,0] n. n. [9,5]
19.03.2003 P2 9:58-11:28	28	4,1	300	232	13	n. n. [1,5] 107 [4,0] 125 [9,5]
19.03.2003 P1 11:33-13:03	28	3,6	290	60	14	448 [1,5] 2533 [4,0] n. n. [9,5]
19.03.2003 P2 11:33-13:03	28	3,6	290	232	3	217 [1,5] 122 [4,0] n. n. [9,5]
25.03.2003 P1 12:00-13:30	34	2,6	330	60	54	308 [1,5] 342 [4,0] 342 [9,5]

Datum, Messort (P), Messzeit	Alter der Tiere [t]	Mittlere Windgeschwindigkeit [m/s]	HW [°]	Entf. P zum ES [m]	Abweichung zur HW [°]	KBE/m <sup>3</sup> , in Messhöhe [m]
25.03.2003 P3 12:00-13:30	34	2,6	330	178	58	317 [1,5] n. n. [4,0] n. n. [9,5]
25.03.2003 P1 12:00-13:30	34	2,6	320	60	44	n. n. [1,5] 333 [4,0] 758 [9,5]
07.05.2003 P0 13:11-14:41	28	1,1	214	40	114	587 [1,5] 465 [4,0] 541 [9,5]
07.05.2003 P1 13:11-14:41	28	1,1	214	60	62	933 [1,5] 340 [4,0] 897 [9,5]
07.05.2003 P4 13:11-14:41	28	1,1	214	198	62	698 [1,5] 575 [4,0] 383 [9,5]
07.05.2003 P0 14:52-16:22	28	1,0	224	40	124	618 [1,5] 446 [4,0] 372 [9,5]
07.05.2003 P1 14:52-16:22	28	1,0	224	60	52	578 [1,5] 1288 [4,0] 1228 [9,5]
07.05.2003 P4 14:52-16:22	28	1,0	224	198	52	1148 [1,5] 1144 [4,0] 841 [9,5]
27.05.2003 P0 14:00-15:30	0	1,5	291	40	100	1056 [1,5] 716 [4,0] 448 [9,5]
27.05.2003 P1 14:00-15:30	0	1,5	291	60	15	1400 [1,5] 704 [4,0] 404 [9,5]
27.05.2003 P4 14:00-15:30	0	1,5	291	198	15	788 [1,5] 583 [4,0] 336 [9,5]
27.05.2003 P0 15:30-17:00	0	1,2	71	40	29	529 [1,5] 576 [4,0] 467 [9,5]
27.05.2003 P1 15:30-17:00	0	1,2	71	60	95	2208 [1,5] 704 [4,0] 473 [9,5]
27.05.2003 P4 15:30-17:00	0	1,2	71	198	95	633 [1,5] 535 [4,0] 514 [9,5]
12.06.2003 P0 11:30-13:00	12	1,1	181	40	81	1222 [1,5] 2424 [4,0] 1069 [9,5]
12.06.2003 P1 11:30-13:00	12	1,1	181	60	95	3148 [1,5] 1574 [4,0] 1268 [9,5]
12.06.2003 P10 11:30-13:00	12	1,1	181	236	4	1570 [1,5] 3259 [4,0] 1669 [9,5]
12.06.2003 P0 13:00-14:30	12	1,4	219	40	119	4880 [1,5] 1985 [4,0] 1234 [9,5]
12.06.2003 P1 13:00-14:30	12	1,4	219	60	57	1523 [1,5] 2333 [4,0] 2981 [9,5]
12.06.2003 P10 13:00-14:30	12	1,4	219	236	59	4187 [1,5] 2928 [4,0] 2042 [9,5]
17.06.2003 P0 12:36-14:11	17	2,4	124	40	24	2578 [1,5] 3269 [4,0] 1528 [9,5]

Datum, Messort (P), Messzeit	Alter der Tiere [t]	Mittlere Windgeschwindigkeit [m/s]	HW [°]	Entf. P zum ES [m]	Abweichung zur HW [°]	KBE/m <sup>3</sup> , in Messhöhe [m]
17.06.2003 P1 12:36-14:11	17	2,4	124	60	152	1062 [1,5] 850 [4,0] 1222 [9,5]
17.06.2003 P10 12:36-14:11	17	2,4	124	236	53	5194 [1,5] 1833 [4,0] 1222 [9,5]
17.06.2003 P0 14:11-15:51	17	1,8	128	40	28	3575 [1,5] 3575 [4,0] 2424 [9,5]
17.06.2003 P1 14:11-15:51	17	1,8	128	60	148	1274 [1,5] 800 [4,0] 306 [9,5]
17.06.2003 P10 14:11-15:51	17	1,8	128	236	49	1354 [1,5] 1165 [4,0] 1165 [9,5]
02.07.2003 P0 11:50-13:20	33	2,3	223	40	123	2460 [1,5] 1884 [4,0] 2901 [9,5]
02.07.2003 P5 11:50-13:20	33	2,3	223	221	5	4367 [1,5] 3047 [4,0] 1946 [9,5]
02.07.2003 P0 13:27-14:57	33	2,6	221	40	121	3100 [1,5] 1654 [4,0] 3972 [9,5]
02.07.2003 P5 13:27-14:57	33	2,6	221	221	7	2295 [1,5] 3765 [4,0] 2000 [9,5]
08.07.2003 P0 12:51-14:21	39	1,5	267	40	167	8769 [1,5] 4958 [4,0] 6060 [9,5]
08.07.2003 P1 12:51-14:21	39	1,5	267	60	9	1808 [1,5] 5500 [4,0] 5103 [9,5]
08.07.2003 P6 12:51-14:21	39	1,5	267	333	38	14560 [1,5] 9148 [4,0] ausg. [9,5]
08.07.2003 P0 14:24-15:54	39	1,5	253	40	153	11333 [1,5] 7356 [4,0] 6203 [9,5]
08.07.2003 P1 14:24-15:54	39	1,5	253	60	23	2231 [1,5] 3269 [4,0] 4187 [9,5]
08.07.2003 P6 14:24-15:54	39	1,5	253	333	52	6327 [1,5] 5580 [4,0] 4592 [9,5]
12.08.2003 P0 12:00-13:45	28	1,1	161	40	61	n. n. [1,5] n. n. [4,0] 296 [9,5]
12.08.2003 P10 12:00-13:45	28	1,1	161	236	16	587 [1,5] n. n. [4,0] n. n. [9,5]
12.08.2003 P0 13:45-15:15	28	1,6	195	40	95	n. n. [1,5] 196 [4,0] n. n. [9,5]
12.08.2003 P10 13:45-15:15	28	1,6	195	236	18	361 [1,5] n. n. [4,0] n. n. [9,5]
19.08.2003 P7 13:29-14:49	35	2,2	246	264	7	8701 [1,5] 7637 [4,0] 6499 [9,5]
19.08.2003 P8 13:29-14:49	35	2,2	246	96	122	9986 [1,5] 6866 [4,0] 7710 [9,5]

Datum, Messort (P), Messzeit	Alter der Tiere [t]	Mittlere Windgeschwindigkeit [m/s]	HW [°]	Entf. P zum ES [m]	Abweichung zur HW [°]	KBE/m <sup>3</sup> , in Messhöhe [m]
19.08.2003 P7 14:59-16:29	35	2,5	255	264	2	7227 [1,5] 7498 [4,0] 7614 [9,5]
19.08.2003 P8 14:59-16:29	35	2,5	255	96	142	6540 [1,5] 6615 [4,0] 5758 [9,5]
16.09.2003 P0 12:45-14:25	20	2,1	269	40	169	2861 [1,5] 3627 [4,0] 1696 [9,5]
16.09.2003 P1 12:45-14:25	20	2,1	269	60	7	3422 [1,5] 4020 [4,0] 3415 [9,5]
16.09.2003 P9 12:45-14:25	20	2,1	269	333	5	2233 [1,5] 2920 [4,0] 2900 [9,5]
16.09.2003 P0 14:25-15:55	20	2,3	266	40	166	1244 [1,5] 2116 [4,0] 2206 [9,5]
16.09.2003 P1 14:25-15:55	20	2,3	266	60	10	3328 [1,5] 4449 [4,0] 2435 [9,5]
16.09.2003 P9 14:25-15:55	20	2,3	266	333	2	2741 [1,5] 3565 [4,0] 2357 [9,5]
24.09.2003 P11 13:27-14:57	28	2,2	275	130	11	818 [1,5] 1040 [4,0] 338 [9,5]
24.09.2003 P0 15:08-16:43	28	1,6	266	40	166	864 [1,5] n. n. [4,0] 640 [9,5]
24.09.2003 P11 15:08-16:43	28	1,6	266	130	2	1695 [1,5] 1056 [4,0] 427 [9,5]
24.09.2003 P9 15:08-16:43	28	1,6	266	333	2	n. n. [1,5] 1079 [4,0] 702 [9,5]

n. n. = nicht nachgewiesen, ausg. = Messung ausgefallen

**Tab. 7: Immissionen von Schimmelpilzen + Hefen am Stall B. HW = Hauptwindrichtung, P = Messort, ES = Emissionsschwerpunkt des Stalles**

Datum, Messort (P), Messzeit	Alter der Tiere [t]	Mittlere Windgeschwindigkeit [m/s]	HW [°]	Entf. P zum ES [m]	Abweichung zur HW [°]	KBE/m <sup>3</sup> , in Messhöhe [m]
29.04.2004 P1 15:40-17:10	0	3,1	123	126	164	556 [1,5]
06.07.2004 P2Lee 14:22-15:52	14	3,1	289	401	13	3486 [1,5] 4817 [1,5]
06.07.2004 P2Luv 14:32-16:02	14	3,1	289	82	76	7652 [1,5] 5439 [1,5]
15.07.2004 P3Lee 12:45-14:15	23	2,7	271	478	17	19788 [1,5]
15.07.2004 P3Luv 12:55-14:20	23	2,7	271	66	106	25455 [1,5]
28.07.2004 P6 15:57-17:17	35	2,1	75	132	116	1008 [1,5] 442 [4,0] 1645 [9,5]

Datum, Messort (P), Messzeit	Alter der Tiere [t]	Mittlere Windgeschwindigkeit [m/s]	HW [°]	Entf. P zum ES [m]	Abweichung zur HW [°]	KBE/m <sup>3</sup> , in Messhöhe [m]
28.07.2004 P7 15:57-17:17	35	2,1	75	107	64	1017 [1,5]
28.07.2004 P8 15:57-17:17	35	2,1	75	83	49	889 [1,5]
28.07.2004 P9 15:57-17:17	35	2,1	75	116	35	1950 [1,5] 945 [4,0] 433 [9,5]
28.07.2004 P10 15:57-17:17	35	2,1	75	107	13	511 [1,5]
28.07.2004 P11 15:57-17:17	35	2,1	75	111	2	360 [1,5]
29.07.2004 P12 11:03-12:33	36	3,3	132	132	173	1517 [1,5] 1123 [4,0] 927 [9,5]
29.07.2004 P13 11:03-12:33	36	3,3	132	116	92	2229 [1,5]
29.07.2004 P14 11:03-12:33	36	3,3	132	107	74	19565 [1,5]
29.07.2004 P15 11:03-12:33	36	3,3	132	125	40	1897 [1,5] 1403 [4,0] 5901 [9,5]
29.07.2004 P16 11:03-12:33	36	3,3	132	101	31	2947 [1,5]
29.07.2004 P17 11:03-12:33	36	3,3	132	73	12	4914 [1,5]
12.08.2004 P18 14:58-16:28	1	4,1	89	92	163	2232 [1,5] 2978 [4,0] 3660 [9,5]
12.08.2004 P19 14:58-16:28	1	4,1	89	119	4	5290 [1,5] 3483 [4,0] 2560 [9,5]
12.08.2004 P20 14:58-16:28	1	4,1	89	108	20	4883 [1,5]
12.08.2004 P21 14:58-16:28	1	4,1	89	113	8	2912 [1,5]
12.08.2004 P22 14:58-16:28	1	4,1	89	101	12	6195 [1,5]
12.08.2004 P23 14:58-16:28	1	4,1	89	87	21	3546 [1,5]
19.08.2004 P24 13:49-15:19	8	10,8	216	92	161	11440 [1,5] 8316 [4,0] 12480 [9,5]
19.08.2004 P25 13:49-15:19	8	10,8	216	83	5	8877 [1,5] 3057 [4,0] 5617 [9,5]
19.08.2004 P26 13:49-15:19	8	10,8	216	69	26	13362 [1,5]

Datum, Messort (P), Messzeit	Alter der Tiere [t]	Mittlere Windgeschwindigkeit [m/s]	HW [°]	Entf. P zum ES [m]	Abweichung zur HW [°]	KBE/m <sup>3</sup> , in Messhöhe [m]
19.08.2004 P27 13:49-15:19	8	10,8	216	73	19	13589 [1,5]
19.08.2004 P28 13:49-15:19	8	10,8	216	88	1	225 [1,5]
19.08.2004 P29 13:49-15:19	8	10,8	216	87	14	16178 [1,5]
25.08.2004 P30 13:49-15:19	14	6,3	226	97	169	106 [1,5] 243 [4,0] n. n. [9,5]
25.08.2004 P31 13:49-15:19	14	6,3	226	137	3	1094 [1,5] ausg. [4,0] 439 [9,5]
25.08.2004 P32 13:49-15:19	14	6,3	226	121	8	1546 [1,5]
25.08.2004 P33 13:49-15:19	14	6,3	226	135	14	494 [1,5]
26.08.2004 P34 11:35-13:05	15	3,4	297	401	42	1995 [1,5]
09.09.2004 P41 12:25-13:55	29	2,8	108	125	172	745 [1,5] 745 [4,0] 635 [9,5]
09.09.2004 P42 12:25-13:55	29	2,8	108	125	15	767 [1,5] 1370 [4,0] 1699 [9,5]
09.09.2004 43 12:25-13:55	29	2,8	108	113	27	982 [1,5]
09.09.2004 P44 12:25-13:55	29	2,8	108	108	39	778 [1,5]
09.09.2004 45 12:25-13:55	29	2,8	108	117	5	2904 [1,5]
09.09.2004 46 12:25-13:55	29	2,8	108	114	10	1124 [1,5]
15.09.2004 P47	35	5,7	245	49	144	244 [1,5] 267 [4,0] 114 [9,5]
15.09.2004 P48 9:55-11:25	35	5,7	245	273	0	1024 [1,5] 1496 [4,0] 680 [9,5]
15.09.2004 P49 9:55-11:25	35	5,7	245	248	13	489 [1,5]
15.09.2004 P50 9:55-11:25	35	5,7	245	272	8	126 [1,5]
15.09.2004 P51 9:55-11:25	35	5,7	245	280	8	507 [1,5]
16.09.2004 P52 10:07-11:37	36	1,7	258	101	151	502 [1,5] n. n. [4,0] 267 [9,5]

Datum, Messort (P), Messzeit	Alter der Tiere [t]	Mittlere Windgeschwindigkeit [m/s]	HW [°]	Entf. P zum ES [m]	Abweichung zur HW [°]	KBE/m <sup>3</sup> , in Messhöhe [m]
16.09.2004 P53 10:07-11:37	36	1,7	258	356	7	284 [1,5] 296 [4,0] 128 [9,5]
16.09.2004 P54 10:07-11:37	36	1,7	258	324	7	255 [1,5]
16.09.2004 P53 12:05-13:35	36	2,2	257	324	8	n. n. [1,5]
16.09.2004 P54 12:05-13:35	36	2,2	257	324	6	588 [1,5]

n. n. = nicht nachgewiesen, ausg. = Messung ausgefallen

**Tab. 8: Immissionen von mesophilen Bakterien am Stall A. HW = Hauptwindrichtung, P = Messort, ES = Emissionsschwerpunkt des Stalles**

Datum, Messort (P), Messzeit	Alter der Tiere [t]	Mittlere Windgeschwindigkeit [m/s]	HW [°]	Entf. P zum ES [m]	Abweichung zur HW [°]	KBE/m <sup>3</sup> , in Messhöhe [m]
18.03.2003 P1 12:47-14:17	27	2,1	145	60	131	n. n. [1,5] n. n. [4,0] 1094 [9,5]
19.03.2003 P1 9:58-11:28	28	4,1	300	60	24	6971 [1,5] 4826 [4,0] 6971 [9,5]
19.03.2003 P1 11:33-13:03	28	3,6	290	60	14	55952 [1,5] 242000 [4,0] 17810 [9,5]
19.03.2003 P2 11:33-13:03	28	3,6	290	232	3	1078 [1,5] 1217 [4,0] 2493 [9,5]
25.03.2003 P1 12:00-13:30	34	2,6	330	60	54	1336 [1,5] 1936 [4,0] 1481 [9,5]
25.03.2003 P3 13:30-15:00	34	2,6	330	178	58	1372 [1,5] n. n. [4,0] n. n. [9,5]
25.03.2003 P1 12:00-13:30	34	2,6	320	60	44	n. n. [1,5] n. n. [4,0] 1083 [9,5]
25.03.2003 P3 13:30-15:00	34	2,6	320	178	48	670 [1,5] n. n. [4,0] n. n. [9,5]
07.05.2003 P0 13:11-14:41	28	1,1	214	40	114	16479 [1,5] 5112 [4,0] 6324 [9,5]
07.05.2003 P0 14:52-16:22	28	1,0	224	40	124	3244 [1,5] 1028 [4,0] 504 [9,5]
07.05.2003 P1 13:11-14:41	28	1,1	214	60	62	4058 [1,5] 1828 [4,0] 3494 [9,5]
07.05.2003 P4 13:11-14:41	28	1,1	214	198	62	477 [1,5] 676 [4,0] 1371 [9,5]
07.05.2003 P1 14:52-16:22	28	1,0	224	60	52	3244 [1,5] 13568 [4,0] 13388 [9,5]

Datum, Messort (P), Messzeit	Alter der Tiere [t]	Mittlere Windgeschwindigkeit [m/s]	HW [°]	Entf. P zum ES [m]	Abweichung zur HW [°]	KBE/m <sup>3</sup> , in Messhöhe [m]
07.05.2003 P4 14:52-16:22	28	1,0	224	198	52	978 [1,5] 618 [4,0] 1246 [9,5]
12.06.2003 P0 13:00-14:30	12	1,4	219	40	119	947 [1,5] n. n. [4,0] n. n. [9,5]
17.06.2003 P0 12:36-14:11	17	2,4	124	40	24	5281 [1,5] 3361 [4,0] 3972 [9,5]
17.06.2003 P10 12:36-14:11	17	2,4	124	236	53	397 [1,5] n. n. [4,0] 315 [9,5]
02.07.2003 P0 11:50-13:20	33	2,3	223	40	123	n. n. [1,5] n. n. [4,0] 1620 [9,5]
02.07.2003 P0 13:27-14:57	33	2,6	221	40	121	n. n. [1,5] 4046 [4,0] 469 [9,5]
17.06.2003 P0 14:11-15:51	17	1,8	128	40	28	5408 [1,5] 3667 [4,0] 4093 [9,5]
02.07.2003 P5 11:50-13:20	33	2,3	223	221	5	7072 [1,5] 5507 [4,0] 4039 [9,5]
02.07.2003 P5 13:27-14:57	33	2,6	221	221	7	5379 [1,5] 11365 [4,0] 3233 [9,5]
08.07.2003 P1 12:51-14:21	39	1,5	267	60	9	n. n. [1,5] 4369 [4,0] 11703 [9,5]
08.07.2003 P1 14:24-15:54	39	1,5	253	60	23	n. n. [1,5] 6417 [4,0] 8500 [9,5]
08.07.2003 P6 14:24-15:54	39	1,5	253	333	58	n. n. [1,5] 376 [4,0] n. n. [9,5]
12.08.2003 P0 12:00-13:45	28	1,1	161	40	61	1619 [1,5] 639 [4,0] 800 [9,5]
12.08.2003 P0 13:45-15:15	28	1,6	195	40	95	4283 [1,5] 5688 [4,0] 5481 [9,5]
12.08.2003 P0 12:00-13:45	28	1,1	161	40	61	1619 [1,5] 639 [4,0] 800 [9,5]
12.08.2003 P10 12:00-13:45	28	1,1	161	236	16	690 [1,5] 1333 [4,0] n. n. [9,5]
12.08.2003 P10 13:45-15:15	28	1,6	195	236	18	833 [1,5] n. n. [4,0] 296 [9,5]
19.08.2003 P8 13:29-14:49	35	2,2	246	96	122	n. n. [1,5] 844 [4,0] 367 [9,5]
19.08.2003 P8 14:59-16:29	35	2,5	255	96	113	635 [1,5] n. n. [4,0] n. n. [9,5]
19.08.2003 P7 13:29-14:49	35	2,2	246	264	7	3561 [1,5] 4119 [4,0] 2570 [9,5]
19.08.2003 P7 14:59-16:29	35	2,5	255	264	2	15072 [1,5] 8502 [4,0] 18164 [9,5]



Datum, Messort (P), Messzeit	Alter der Tiere [t]	Mittlere Windgeschwindigkeit [m/s]	HW [°]	Entf. P zum ES [m]	Abweichung zur HW [°]	KBE/m <sup>3</sup> , in Messhöhe [m]
16.09.2003 P1 12:45-14:25	20	2,1	269	60	5	23644 [1,5] 23060 [4,0] 14809 [9,5]
16.09.2003 P9 12:45-14:25	20	2,1	269	333	5	5333 [1,5] 5102 [4,0] 1333 [9,5]
16.09.2003 P1 14:25-15:55	20	2,3	266	60	10	17550 [1,5] 18262 [4,0] 9181 [9,5]
16.09.2003 P9 14:25-15:55	20	2,3	266	333	2	3186 [1,5] 1745 [4,0] 1759 [9,5]
24.09.2003 P11 13:27-14:57	28	2,2	275	130	11	17316 [1,5] 14907 [4,0] 14288 [9,5]
24.09.2003 P9 13:27-14:57	28	2,2	275	333	11	3691 [1,5] 2545 [4,0] 3605 [9,5]
24.09.2003 P11 15:08-16:43	28	1,6	266	130	2	27604 [1,5] 36785 [4,0] 24523 [9,5]
24.09.2003 P9 15:08-16:43	28	1,6	266	333	2	3848 [1,5] 3596 [4,0] 3860 [9,5]

n. n. = nicht nachgewiesen

**Tab. 9: Immissionen von mesophilen Bakterien am Stall B. HW = Hauptwindrichtung, P = Messort, ES = Emissionsschwerpunkt des Stalles**

Datum, Messort (P), Messzeit	Alter der Tiere [t]	Mittlere Windgeschwindigkeit [m/s]	HW [°]	Entf. P zum ES [m]	Abweichung zur HW [°]	KBE/m <sup>3</sup> , in Messhöhe [m]
29.04.2004 P1 15:40-17:10	0	3,1	123	126	164	975 [1,5]
06.07.2004 P2Lee 14:22-15:52	14	3,1	289	401	13	932 [1,5] 801 [1,5]
15.07.2004 P3Lee 12:54-14:15	23	2,7	271	478	17	4499 [1,5]
15.07.2004 P3Luv 12:55-14:25	23	2,7	271	66	106	473 [1,5]
28.07.2004 P7 15:57-17:17	35	2,1	75	107	64	1884 [1,5]
28.07.2004 P8 15:57-17:17	35	2,1	75	83	49	1333 [1,5]
28.07.2004 P9 15:57-17:17	35	2,1	75	116	35	3672 [1,5] 5705 [4,0] 2333 [9,5]
28.07.2004 P10 15:57-17:17	35	2,1	75	107	17	10222 [1,5]
29.07.2004 P17 11:03-12:33	36	3,3	132	73	12	49524 [1,5]

Datum, Messort (P), Messzeit	Alter der Tiere [t]	Mittlere Windgeschwindigkeit [m/s]	HW [°]	Entf. P zum ES [m]	Abweichung zur HW [°]	KBE/m <sup>3</sup> , in Messhöhe [m]
29.07.2004 P15 11:03-12:33	36	3,3	132	125	40	441 [1,5] 795 [4,0] 612 [9,5]
12.08.2004 P18 14:58-16:28	1	4,1	89	92	163	744 [1,5] 1030 [4,0] 387 [9,5]
12.08.2004 P19 14:58-16:28	1	4,1	89	119	5	458 [1,5] n. n. [4,0] 246 [9,5]
12.08.2004 P22 14:58-16:28	1	4,1	89	101	12	341 [1,5]
19.08.2004 P24 13:45-15:15	8	10,8	216	92	161	2184 [1,5] 684 [4,0] 1387 [9,5]
19.08.2004 P25 13:45-15:15	8	10,8	216	83	5	4777 [1,5] 2354 [4,0] 2460 [9,5]
19.08.2004 P26 13:45-15:15	8	10,8	216	69	26	1971 [1,5]
19.08.2004 P27 13:45-15:15	8	10,8	216	73	19	1220 [1,5]
19.08.2004 P28 13:45-15:15	8	10,8	216	88	1	418 [1,5]
19.08.2004 P29 13:45-15:15	8	10,8	216	87	14	3733 [1,5]
25.08.2004 P31 13:49-15:19	14	6,3	226	137	3	14157 [1,5] ausg. [4,0] 9356 [9,5]
25.08.2004 P32 13:49-15:19	14	6,3	226	121	8	14029 [1,5]
25.08.2004 P30 13:49-15:19	14	6,3	226	97	168	1064 [1,5] n. n. [4,0] n. n. [9,5]
25.08.2004 P33 13:49-15:19	14	6,3	226	135	14	4821 [1,5]
01.09.2004 P35 14:17-14:57	21	2,7	271	97	124	493 [1,5] n. n. [4,0] 448 [9,5]
01.09.2004 P36 14:17-14:57	21	2,7	271	354	23	n. n. [1,5] 382 [4,0] 654 [9,5]
01.09.2004 P37 14:17-14:57	21	2,7	271	347	30	792 [1,5]
01.09.2004 P38 14:17-14:57	21	2,7	271	355	14	446 [1,5]
01.09.2004 P39 14:17-14:57	21	2,7	271	352	6	1396 [1,5]
01.09.2004 P40 14:17-14:57	21	2,7	271	351	2	748 [1,5]
09.09.2004 P42 12:25-13:55	29	2,8	108	125	15	20667 [1,5] 14834 [4,0] 17670 [9,5]

Datum, Messort (P), Messzeit	Alter der Tiere [t]	Mittlere Windgeschwindigkeit [m/s]	HW [°]	Entf. P zum ES [m]	Abweichung zur HW [°]	KBE/m <sup>3</sup> , in Messhöhe [m]
09.09.2004 45 12:25-13:55	29	2,8	108	117	5	26024 [1,5]
09.09.2004 43 12:25-13:55	29	2,8	108	113	27	4695 [1,5]
09.09.2004 46 12:25-13:55	29	2,8	108	114	10	21853 [1,5]
15.09.2004 P50 9:55-11:25	35	5,7	245	272	8	7434 [1,5]
15.09.2004 P47 9:55-11:25	35	5,7	245	49	144	453 [1,5] 647 [4,0] n. n. [9,5]
15.09.2004 P48 9:55-11:25	35	5,7	245	273	0	10750 [1,5] 10122 [4,0] ausg. [9,5]
15.09.2004 P49 9:55-11:25	35	5,7	245	248	13	5008 [1,5]
15.09.2004 P51 9:55-11:25	35	5,7	245	280	8	3237 [1,5]
16.09.2004 P53 10:07-11:37	36	1,7	258	356	7	1624 [1,5] 423 [4,0] 426 [9,5]
16.09.2004 P54 10:07-11:37	36	1,7	258	324	7	473 [1,5]
16.09.2004 P53 12:05-13:35	36	2,2	257	356	6	3860 [1,5]
16.09.2004 P54 12:05-13:35	36	2,2	257	324	8	5083 [1,5]

n. n. = nicht nachgewiesen, ausg. = Messung ausgefallen

**Tab. 10: Staphylokokkenimmissionen am Stall A. P = Messort, ES = Emissionsschwerpunkt**

Datum, Messort (P), Messzeit	Alter der Tiere [t]	Mittlere Windgeschwindigkeit [m/s]	HW [°]	Entf. P zum ES [m]	Abweichung zur HW [°]	KBE/m <sup>3</sup> , in Messhöhe [m]
19.03.2003 P1 9:58-11:28	28	4,1	300	60	24	2681 [1,5] 2145 [4,0] 3754 [9,5]
19.03.2003 P1 11:33-13:03	28	3,6	290	60	14	41032 [1,5] 198000 [4,0] 17810 [9,5]
07.05.2003 P0 13:11-14:41	28	1,1	214	40	114	13820 [1,5] 2395 [4,0] 4159 [9,5]
07.05.2003 P1 13:11-14:41	28	1,1	214	60	62	4464 [1,5] 1275 [4,0] 2690 [9,5]
07.05.2003 P4 13:11-14:41	28	1,1	214	198	62	477 [1,5] 575 [4,0] 383 [9,5]

Datum, Messort (P), Messzeit	Alter der Tiere [t]	Mittlere Windgeschwindigkeit [m/s]	HW [°]	Entf. P zum ES [m]	Abweichung zur HW [°]	KBE/m <sup>3</sup> , in Messhöhe [m]
07.05.2003 P0 14:52-16:22	28	1,0	224	40	124	2449 [1,5] 143 [4,0] 372 [9,5]
07.05.2003 P1 14:52-16:22	28	1,0	224	60	52	4311 [1,5] 7578 [4,0] 5691 [9,5]
07.05.2003 P4 14:52-16:22	28	1,0	224	198	52	723 [1,5] 309 [4,0] 956 [9,5]
12.06.2003 P1 11:30-13:00	12	1,1	181	60	95	n. n. [1,5] 535 [4,0] n. n. [9,5]
12.06.2003 P1 13:00-14:30	12	1,4	219	60	57	n. n. [1,5] n. n. [4,0] 685 [9,5]
17.06.2003 P0 12:36-14:11	17	2,4	124	40	24	1185 [1,5] 2842 [4,0] 1528 [9,5]
17.06.2003 P0 14:11-15:51	17	1,8	128	40	28	4797 [1,5] 3881 [4,0] 3778 [9,5]
02.07.2003 P5 11:50-13:20	33	2,3	223	221	5	5913 [1,5] 3304 [4,0] 3047 [9,5]
02.07.2003 P5 13:27-14:57	33	2,6	221	221	7	4351 [1,5] 9043 [4,0] 3233 [9,5]
08.07.2003 P1 12:51-14:21	39	1,5	267	60	9	n. n. [1,5] 2750 [4,0] 7547 [9,5]
08.07.2003 P6 12:51-14:21	39	1,5	267	333	38	192 [1,5] 33 [4,0] ausg. [9,5]
08.07.2003 P1 14:24-15:54	39	1,5	253	60	23	n. n. [1,5] 5194 [4,0] 5572 [9,5]
08.07.2003 P6 14:24-15:54	39	1,5	253	333	52	105 [1,5] 33 [4,0] 332 [9,5]
12.08.2003 P0 13:45-15:15	28	1,6	195	40	95	2306 [1,5] 3446 [4,0] 2786 [9,5]
19.08.2003 P7 13:29-14:49	35	2,2	246	264	7	3304 [1,5] 1469 [4,0] 2313 [9,5]
19.08.2003 P7 14:59-16:29	35	2,5	255	264	2	8618 [1,5] 8618 [4,0] 12754 [9,5]
16.09.2003 P1 12:45-14:25	20	2,1	269	60	8	14933 [1,5] 17317 [4,0] 12391 [9,5]
16.09.2003 P9 12:45-14:25	20	2,1	269	333	5	5920 [1,5] 2357 [4,0] 1767 [9,5]
16.09.2003 P1 14:25-15:55	20	2,3	266	60	10	10155 [1,5] 15867 [4,0] 6952 [9,5]
16.09.2003 P9 14:25-15:55	20	2,3	266	333	3	1935 [1,5] 1199 [4,0] 1407 [9,5]

Datum, Messort (P), Messzeit	Alter der Tiere [t]	Mittlere Windgeschwindigkeit [m/s]	HW [°]	Entf. P zum ES [m]	Abweichung zur HW [°]	KBE/m <sup>3</sup> , in Messhöhe [m]
24.09.2003 P11 13:27-14:57	28	2,2	275	130	11	14933 [1,5] 13277 [4,0] 12937 [9,5]
24.09.2003 P9 13:27-14:57	28	2,2	275	333	11	1824 [1,5] 2248 [4,0] 3344 [9,5]
24.09.2003 P11 15:08-16:43	28	1,6	266	130	2	24726 [1,5] 33042 [4,0] 21338 [9,5]
24.09.2003 P9 15:08-16:43	28	1,6	266	333	2	2985 [1,5] 2266 [4,0] 2105 [9,5]

n. n. = nicht nachgewiesen, ausg. = Messung ausgefallen

**Tab. 11: Staphylokokkenimmissionen am Stall B. P = Messort, ES = Emissionsschwerpunkt**

Datum, Messort (P), Messzeit	Alter der Tiere [d]	Mittlere Windgeschwindigkeit [m/s]	HW [°]	Entf. P zum ES [m]	Abweichung zur HW [°]	KBE/m <sup>3</sup> , in Messhöhe [m]
06.07.2004 P2Lee 14:22-15:52	14	3,1	289	401	13	331 [1,5] 502 [1,5]
15.07.2004 P3Lee 12:54-14:15	23	2,7	271	478	17	4260 [1,5]
28.07.2004 P7 15:57-17:17	35	2,1	75	107	64	1771 [1,5]
28.07.2004 P8 15:57-17:17	35	2,1	75	83	49	311 [1,5]
28.07.2004 P9 15:57-17:17	35	2,1	75	116	35	3478 [1,5] 3605 [4,0] 1667 [9,5]
28.07.2004 P10 15:57-17:17	35	2,1	75	107	17	5778 [1,5]
28.07.2004 P11 15:57-17:17	35	2,1	75	111	2	19342 [1,5]
29.07.2004 P15 11:03-12:33	36	3,3	132	125	40	n. n. [1,5] n. n. [4,0] 360 [9,5]
29.07.2004 P16 11:03-12:33	36	3,3	132	101	31	1621 [1,5]
29.07.2004 P17 11:03-12:33	36	3,3	132	73	12	41638 [1,5]
12.08.2004 P22 14:58-16:28	1	4,1	89	101	12	341 [1,5]
19.08.2004 P24 13:45-15:15	8	10,8	216	92	161	589 [1,5]
19.08.2004 P25 13:45-15:15	8	10,8	216	83	5	3463 [1,5] 541 [4,0] 734 [9,5]

Datum, Messort (P), Messzeit	Alter der Tiere [d]	Mittlere Windgeschwindigkeit [m/s]	HW [°]	Entf. P zum ES [m]	Abweichung zur HW [°]	KBE/m <sup>3</sup> , in Messhöhe [m]
19.08.2004 P29 13:45-15:15	8	10,8	216	87	14	1600 [1,5]
25.08.2004 P31 13:49-15:19	14	6,3	226	137	3	10278 [1,5] ausg. [4,0] 11147 [9,5]
25.08.2004 P32 13:49-15:19	14	6,3	226	121	8	8502 [1,5]
25.08.2004 P33 13:49-15:19	14	6,3	226	135	14	3682 [1,5]
01.09.2004 P38 14:17-14:57	21	2,7	271	355	14	893 [1,5]
09.09.2004 P42 12:25-13:55	29	2,8	108	125	15	18500 [1,5] 9250 [4,0] 10534 [9,5]
09.09.2004 43 12:25-13:55	29	2,8	108	113	27	3842 [1,5]
09.09.2004 45 12:25-13:55	29	2,8	108	117	5	23339 [1,5]
09.09.2004 46 12:25-13:55	29	2,8	108	114	10	20680 [1,5]
15.09.2004 P48 9:55-11:25	35	5,7	245	273	0	9214 [1,5] 9972 [4,0] ausg. [9,5]
15.09.2004 P49 9:55-11:25	35	5,7	245	248	13	4782 [1,5]
15.09.2004 P50 9:55-11:25	35	5,7	245	272	8	5460 [1,5]
15.09.2004 P51 9:55-11:25	35	5,7	245	280	8	4017 [1,5]
16.09.2004 P53 10:07-11:37	36	1,7	258	356	7	528 [1,5] 296 [4,0] n. n. [9,5]
16.09.2004 P54 10:07-11:37	36	1,7	258	324	7	295 [1,5]
16.09.2004 P53 12:05-13:35	36	2,2	257	356	8	3748 [1,5]
16.09.2004 P54 12:05-13:35	36	2,2	257	324	6	3700 [1,5]

n. n. = nicht nachgewiesen, ausg. = Messung ausgefallen

**Tab. 12: Mit einer Wetterstation vor Ort gemessene Temperaturen, Luftfeuchten und UV-Strahlungsstärken (290nm - 400nm) während der Messkampagnen am Stall A. Messintervall eine Minute**

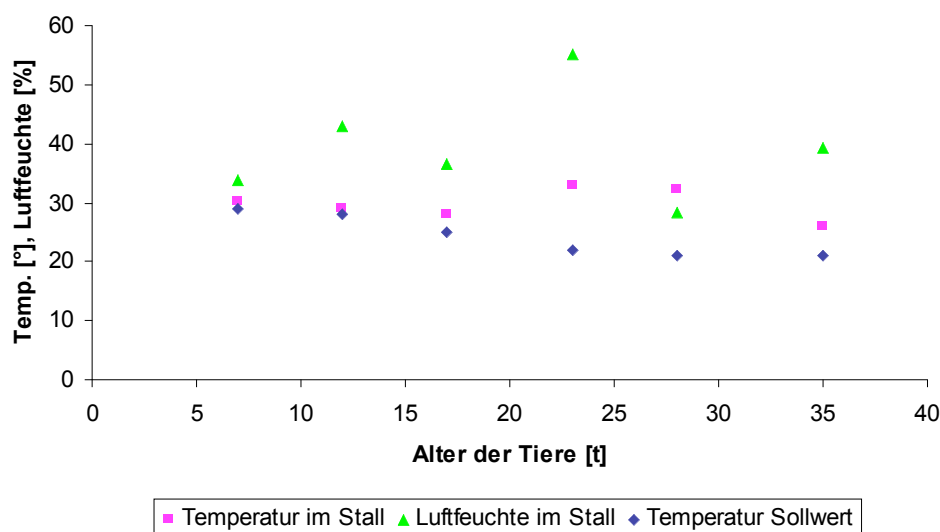
Datum, Messzeitraum	Temperatur [°C] Mittelwert / Standardabweichung	Luftfeuchte [%] Mittelwert / Standardabweichung	UV [W/m <sup>2</sup> ] Mittelwert / Standardabweichung
19.03.03, 9:58-11:28	3,4 / 0,2	79,1 / 2,3	n. g.
19.03.03 11:33-13:03	3,4 / 0,2	79,0 / 2,2	n. g.
25.03.03 12:00-13:30	16,1 / 0,7	77,0 / 1,4	n. g.
25.03.03 13:30-15:00	16,1 / 0,8	77,0 / 1,3	n. g.
07.05.03 13:11-14:41	18,1 / 0,5	44,8 / 3,0	32,6 / 1,6
07.05.03 14:52-16:22	19,0 / 0,8	39,9 / 4,0	27,4 / 5,5
27.05.03 14:00-15:30	22,2 / 0,1	47,8 / 1,8	29,8 / 3,5
27.05.03 15:30-17:00	22,0 / 0,4	46,6 / 0,5	20,7 / 9,1
12.06.03 11:30-13:00	25,6 / 0,6	49,8 / 2,1	31,8 / 4,3
12.06.03 13:00-14:30	26,6 / 0,3	47,5 / 1,5	32,5 / 3,1
17.06.03 12:36-14:11	25,0 / 0,5	41,1 / 2,3	32,5 / 3,1
17.06.03 14:11-15:51	25,5 / 0,6	41,3 / 1,8	27,8 / 6,4
02.07.03 11:50-13:20	18,8 / 0,7	72,3 / 3,3	22,5 / 5,9
02.07.03 13:27-14:57	20,2 / 0,8	66,7 / 4,4	28,5 / 8,8
08.07.03 12:51-14:21	24,0 / 0,4	41,3 / 1,2	27,0 / 6,0
08.07.03 14:24-15:54	24,1 / 0,5	42,3 / 1,5	22,2 / 4,2
12.08.03 12:00-13:45	34,6 / 0,8	24,7 / 0,8	29,0 / 2,5
12.08.03 13:45-15:15	36,2 / 0,4	23,2 / 0,8	28,3 / 1,9
19.08.03 13:29-14:49	22,5 / 0,5	69,0 / 2,8	17,9 / 6,5
19.08.03 14:59-16:29	23,3 / 0,3	64,8 / 1,7	17,4 / 3,3
16.09.03 12:45-14:25	23,0 / 0,3	55,5 / 3,3	23,7 / 1,3
16.09.03 14:25-15:55	23,8 / 0,2	49,9 / 2,1	20,3 / 1,8
24.09.03 13:27-14:57	15,1 / 0,5	56,8 / 2,7	16,0 / 5,5
24.09.03 15:08-16:43	14,9 / 0,1	57,0 / 1,8	9,6 / 2,2

n. g. = nicht gemessen

**Tab. 13: Mit einer Wetterstation vor Ort gemessene Temperaturen, Luftfeuchten und UV-Strahlungsstärken (290nm - 400nm) während der Messkampagnen am Stall B. Messintervall eine Minute**

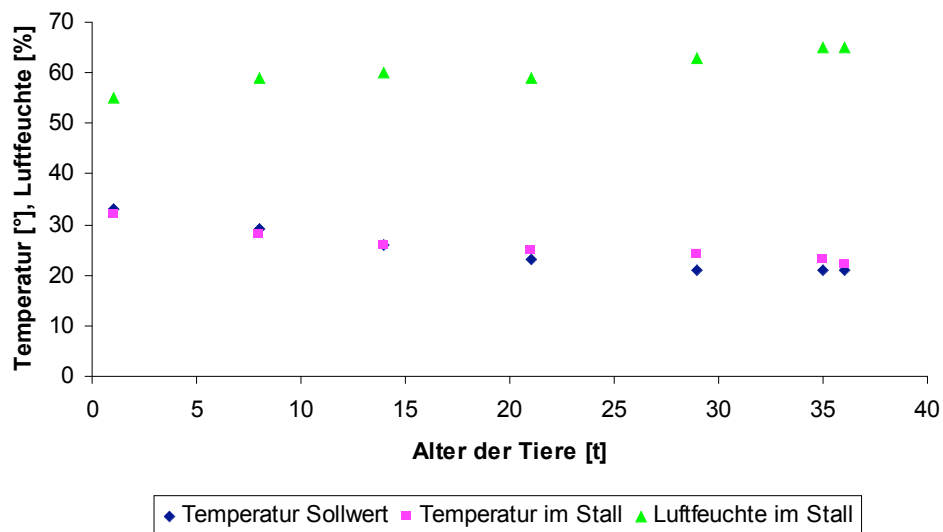
Datum, Messzeitraum	Temperatur [°C] Mittelwert / Standardabweichung	Luftfeuchten [%] Mittelwert / Standardabweichung	UV [W/m <sup>2</sup> ] Mittelwert / Standardabweichung
15.07.04 12:45-12:15	19,3 / 0,6	68,2 / 3,7	15,6 / 4,8
22.07.04 11:36-13:06	24,7 / 0,8	64,3 / 2,9	19,5 / 3,2
28.07.04 15:57-17:17	20,7 / 0,6	59,8 / 2,8	21,4 / 6,8
29.07.04 11:03-12:33	24,2 / 1,3	49,0 / 6,0	31,5 / 3,9
12.08.04 14:58-16:28	27,1 / 0,6	56,8 / 2,4	21,5 / 5,4
19.08.2004 13:45-15:15	20,1 / 0,6	68,0 / 3,4	12,1 / 6,7
25.08.2004 13:49-15:19	18,5 / 0,5	73,7 / 1,8	20,3 / 6,5
01.09.2004 14:17-14:57	17,6 / 0,3	64,2 / 2,7	17,1 / 3,8
09.09.04 12:25-13:55	20,2 / 0,4	43,4 / 1,9	27,8 / 0,7
15.09.04 9:55-11:25	16,1 / 0,8	73,2 / 2,9	18,8 / 5,0
16.09.04 10:07-11:37	15,0 / 0,8	71,6 / 4,5	18,5 / 3,9

Simultan zu den Immissionsmessungen im Sommer am Stall A und Stall B wurden mit Datenloggern der Firma rotronic Messgeräte GmbH (Ettlingen) die Temperaturen und Luftfeuchten in den Ställen gemessen. Die Abbildungen 1 und 2 zeigen jeweils die Messdaten über den Verlauf einer Mastperiode.

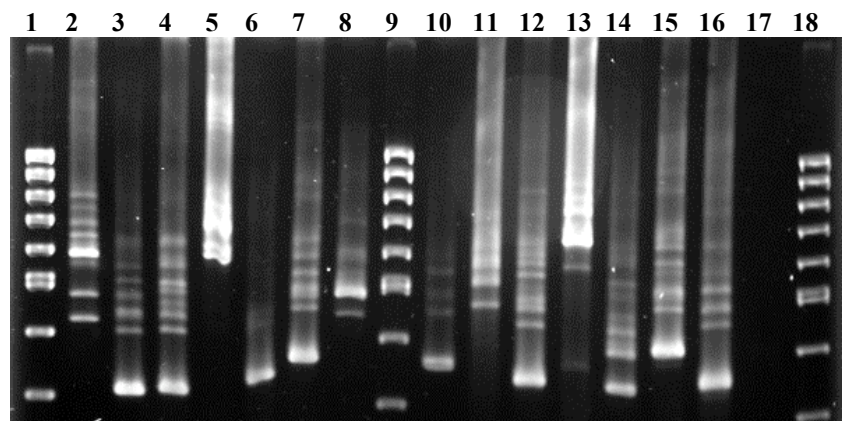


**Abb. 1: Mittelwerte der Temperaturen und Luftfeuchten aus n = 3 Parallelmessungen im Stall A sowie die Darstellung des Temperatursollwertes. Die Abweichungen der Einzelmessungen vom Mittelwert betrugen weniger als 5%.**





**Abb. 2:** Mittelwerte der Temperaturen und Feuchten aus  $n = 3$  Parallelmessungen im Stall B sowie die Darstellung des Temperatursollwertes. Die Abweichungen der Einzelmessungen vom Mittelwert betragen weniger als 5%.



**Abb. 3:** 16S-23S ITS- Regionen von *Staphylococcus* Stämmen der DSMZ. Spuren: 1, 9 und 18 Längenstandard; 2, *S. muscae*; 3, *S. caseolyticus*; 4, *S. auricularis*; 5, *S. lugdunensis*; 6, *S. schleiferi* subsp. *schleiferi*; 7, *S. chromogenes*; 8, *S. pasteurii*; 10, *S. epidermidis*; 11, *S. aureus*; 12, *S. sciuri*; 13, *S. delphini*; 14, *S. capitis* subsp. *capitis*; 15 *S. equorum*; 16, *S. simulans*; 17, neg. Kontrolle;

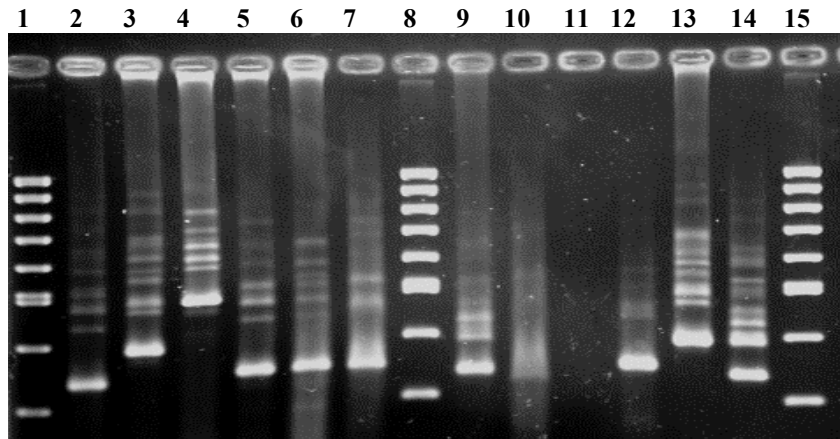


Abb. 4: 16S-23S IST-Regionen von *Staphylococcus* Stämmen.  
Spuren: 1, 8 und 15 Längenstandard; 2, *S. piscifermentans*; 3, *S. cohnii* subsp. *cohnii*; 4, *S. felis*; 5, *S. vitulinus*; 6, *S. pulveri*; 7, *S. schleiferi* subsp. *coagulans*; 9, *S. capitis* subsp. *urealyticus*; 10, *S. lutrae*; 11, neg. Kontrolle; 12 *S. schleiferi* subsp. *schleiferi*; 13, *S. cohnii* subsp. *urealyticus*; 14, *S. capitis* subsp. *capitis*;

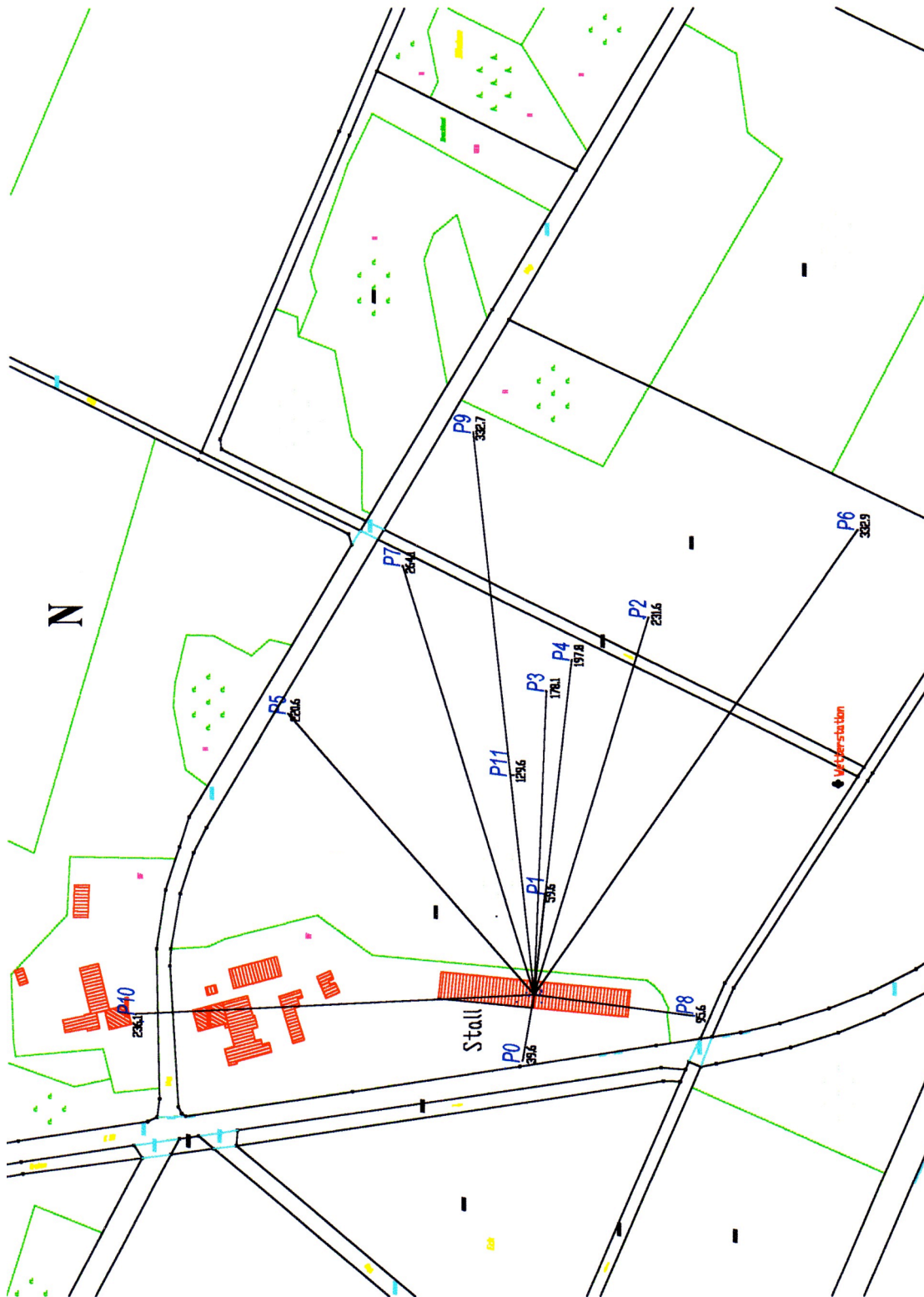


Abb. 5: Messorte P0 bis P11 mit Entfernungangaben zum Emissionsschwerpunkt des Stalles A in [m]. Rote Flächen = landwirtschaftlich genutzte Wohn- und Wirtschaftsgebäude; Schwarze Doppellinien = Straßen und Feldwege die Ackerflächen eingrenzen; grüne Punkte deuten Baumbestände an.

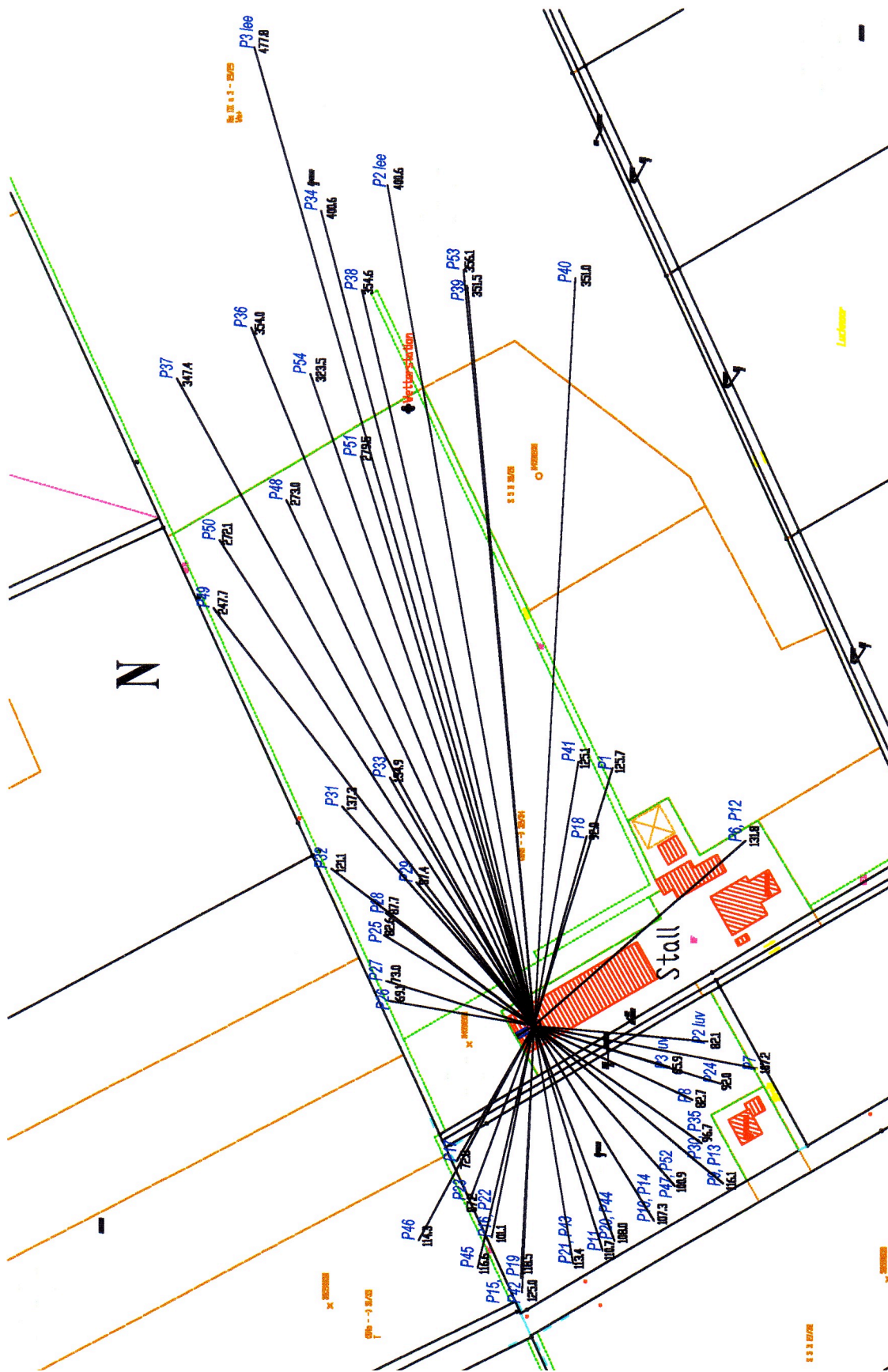


Abb. 6: Messorte P0 bis P54 mit Entfernungangaben zum Emissionsschwerpunkt des Stalles B in [m]. Rote Flächen = landwirtschaftlich genutzte Wohn- und Wirtschaftsgebäude; Schwarze Doppellinien = Straßen und Feldwege; Schwarze Dreifachlinie = Gräben; Grüne und braune Linien = Begrenzungen von Ackerflächen. Schwarze Einzellinien ohne Messortangabe stellen Abgrenzungen zu Grundbesitzern dar.

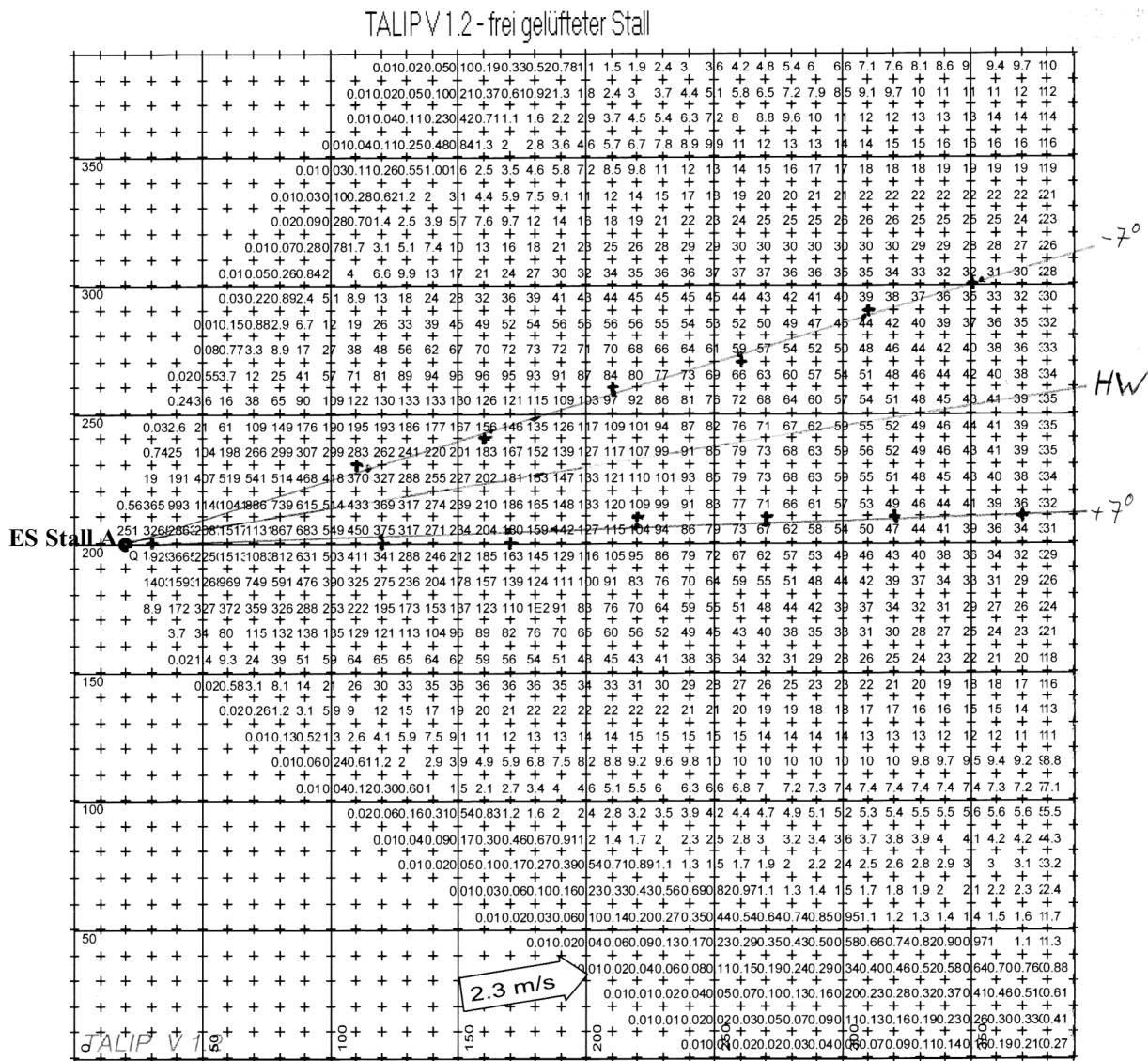


Abb.7: Zahlenwertgrafik aus dem Ausbreitungsmodell (50 x 50 m Raster) zur zeichnerischen Ermittlung der mittleren Modellwerte bei ± 7° Abweichung von der Hauptwindrichtung (HW) am Stall A. Zahlenwerte der Ausbreitungsfahne x 100 entsprechen der Anzahl KBE/m<sup>3</sup>. ES = Emissionsschwerpunkt

Tab. 14: Aus Abbildung 7 ermittelte mittlere Keimzahlen in definierten Abständen zum Emissionsschwerpunkt des Stalles A.

Abstand (m)	100	150	200	250	300	350
KBE/m <sup>3</sup> , -7°	37 000	18 300	9 700	6 600	4 400	3 500
KBE/m <sup>3</sup> , +7°	34 100	16 300	10 400	6 700	4 700	3 400
Mittelwert KBE/m <sup>3</sup>	35 550	17 300	10 050	6 650	4 550	3 450

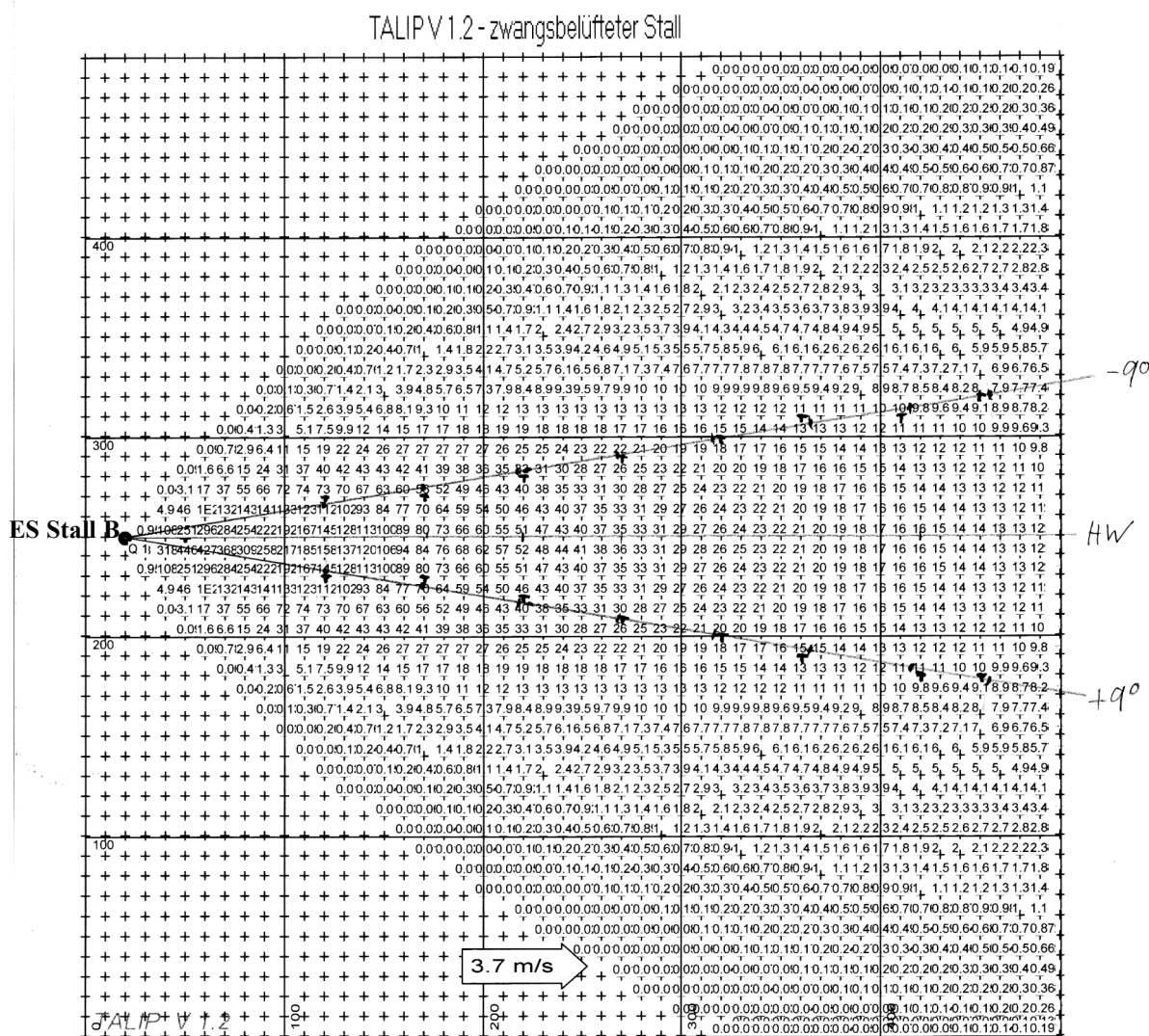


Abb. 8: Zahlenwertgrafik aus dem Ausbreitungsmodell (100 x 100 m Raster) zur zeichnerischen Ermittlung der mittleren Modellwerte bei ± 9° Abweichung von der Hauptwindrichtung (HW) am Stall B. Zahlenwerte der Ausbreitungsfahne x 100 entsprechen der Anzahl KBE/m<sup>3</sup>. ES = Emissionsschwerpunkt

Tab. 15: Aus Abbildung 8 ermittelte mittlere Keimzahlen in definierten Abständen zum Emissionsschwerpunkt des Stalles B.

Abstand (m)	100	150	200	250	300	350	400	450
KBE/m <sup>3</sup> - 9°	11 200	7 000	4 000	2 600	1 800	1 300	1 100	910
KBE/m <sup>3</sup> + 9°	11 200	7 000	4 000	2 600	1 800	1 300	1 100	910
Mittelwert KBE/m <sup>3</sup>	11 200	7 000	4 000	2 600	1 800	1 300	1 100	910

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. R. Mannesmann und Herrn Prof. Dr. J. Hartung für die Betreuung dieser Arbeit und für die ständige Bereitschaft zur fachlichen Diskussion. Ebenso möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. R. Eichenlaub für die Bereitschaft zur Begutachtung dieser Arbeit bedanken.

Meinem ehemaligen Kollegen Charles Luke Formosa danke ich für die Unterstützung bei der Durchführung der Feldmessungen. Ebenfalls möchte ich mich beim Laborpersonal des ITTN für die Hilfe bei den Vorbereitungen zu den Feldmessungen bedanken.

Herrn Dipl. Physiker Thomas Lung danke ich für die Bereitstellung und Einführung in die Anwendung des Gaußschen Ausbreitungsmodells.

Frau Dipl. Biologin Annette Springorum danke ich für die zusätzliche Unterstützung bei der alltäglichen Arbeit im ITTN, wodurch die eine oder andere Stunde mehr für die Dissertationsschrift abfiel.

Mein besonderer Dank gilt meiner Frau Katrin für die anhaltende Geduld und Unterstützung sowie meinen drei Kindern Christof, Jurek und Marleen, die Papa an so manchem Wochenende entbehren mussten.

## **Erklärung**

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt habe und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet habe.

Bielefeld, im Dezember 2007

Jochen Schulz