

Luftkeimzahlen und Partikel bei Runddüsenimpaktoren

Dieser Beitrag zeigt Gründe und Korrekturmöglichkeiten für die Abweichungen zwischen der Anzahl der koloniebildenden Einheiten (KBE) und Partikelzahlen bei Luftprobenahmen mit Luftkeimsammlern nach dem Runddüsenimpaktionsverfahren auf.

Runddüsenimpaktoren [*impact. Zusammenprall, Anprall m; Aufprall m; mil. Aufschlag, Einschlag*] haben sich als Luftkeimsammler bei mikrobiologischen Luftuntersuchungen bestens bewährt. Die meisten der auf dem Markt befindlichen Modelle erlauben die Verwendung von kostengünstigen Nährmedien in Standardpetrischalen, sind robust, und einfach zu bedienen.

Funktionsweise von Runddüsenimpaktoren

Zum besseren Verständnis noch einmal die Funktionsweise von Runddüsenimpaktoren:

Ein definiertes Volumen an Probeluft, meist 50 bis 400 Liter je Probe, wird mittels Luftfördereinrichtung (Pumpe oder Lüfter) mit einem definierten Volumenstrom, je nach Typ von 28,8 Liter/min bis 100 Liter/min, durch eine Vielzahl von nebeneinander angeordneten runden Düsen gezogen.

Die Anzahl und der Querschnitt der Runddüsen variiert von Fabrikat und Typ. So hat z.B. der "Andersen Sampler N6" 400 Runddüsen, der Luftkeimsammler "LKS 30" hat 324 Runddüsen und der „LKS100“ verfügt über 500 Runddüsen. Die Probeluft wird von oben nach unten durch den Luftkeimsammelkopf gefördert. Die Strömungsgeschwindigkeit wird im Düsenbereich erheblich erhöht und die zu sammelnden Partikel in der Luft in Richtung Nährmedium in der Petrischale beschleunigt. Unterhalb der Düsenplatte reduziert sich die Strömungsgeschwindigkeit durch den erhöhten

Querschnitt soweit, dass die meisten Partikel aufgrund ihrer Massenträgheit auf das Nährmedium in der Petrischale auftreffen und dort bleiben. (Bild 1).

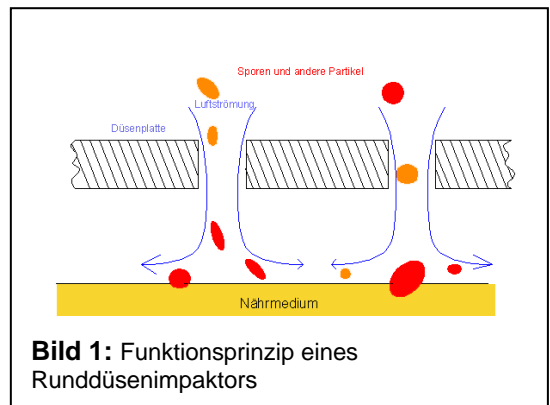


Bild 1: Funktionsprinzip eines Runddüsenimpaktors

Je nach Viskosität des Nährmediums hinterlassen die Luftströmungen sichtbare Dellen auf der Agaroberfläche (Bild 2).



Bild 2: Beladenes Nährmedium

Und genau an diesen Stellen, den Keimplätzen, sind nach der Kultivierung die als koloniebildende Einheiten (KBE) gewachsenen Mikroorganismen sichtbar (Bild 3).

Luftkeimzahlen und Partikel bei Runddüsenimpaktoren

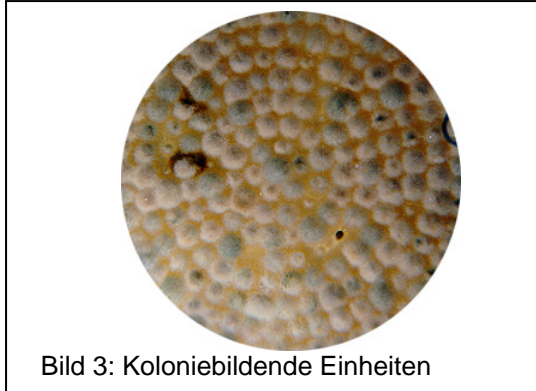


Bild 3: Koloniebildende Einheiten

Die Auswertung

Die Auswertung der Luftprobe hängt von der jeweiligen Aufgabenstellung ab. Die Gesamtkeimzahl kann durch Zählen der KBE auf dem Nährmedium und anschließendes Normieren auf 1000 l (1 m³) Luft errechnet werden

$$\text{Keimzahl[KBE]} = \frac{1000l * \text{GezählteKBE}}{\text{Probenvolumen[l]}}$$

Zur qualitativen Auswertung werden die Gattungen der KBE identifiziert. Bei Gattungen, die fakultativ pathogene Arten beheimaten (z.B. Aspergillus), werden diese KBE auf die Arten dieser Gattungen (z.B. A. fumigatus), weiter identifiziert, bzw. diese Arten werden ausgeschlossen. Die gezählten Gattungen und Arten, normiert auf ein Volumen von 1000 Liter, spiegeln das Gattungsspektrum wider.

Die vorgenannten Auswerteverfahren entsprechen genau dann der Realität in der Probeluft wenn:

1. bei der Probenahme jeweils durch eine Runddüse auch nur eine Spore in Richtung Nährmedium beschleunigt wird,
2. diese Spore das Nährmedium erreicht und
3. diese Spore auch keimt und somit als KBE sichtbar wird.

Problematik

In der Realität werden diese Bedingungen nicht immer eingehalten, denn:

Zu 3: Ob eine Spore keimt, hängt einmal von der Keimfähigkeit der Spore selbst ab. Gründe für den Verlust der Keimfähigkeit können z.B. das Alter der Sporen oder eine Schädigung durch Anwendung fungizider Mittel vor der Probenahme sein. Aber auch das Nährmedium muss für die Keimung einer Spore hinsichtlich Wasseraktivität, Substrat usw. geeignet sein.

Nicht zuletzt kann die Keimung dieser Spore durch das Wachstum von anderen Mikroorganismen in der Nachbarschaft behindert oder gar unterdrückt werden (z.B. durch Trichoderma).

Zu 2: Ob jede Spore auf dem Nährmedium „landet“, also aus der Probeluft abgeschieden wird, hängt vom Abscheidegrad des verwendeten Luftkeimsammlers ab.

Es ist leicht vorstellbar: je kleiner eine Spore und je geringer die Masse dieser Spore ist, um so eher wird die Spore mit der über dem Nährmedium abgezogenen Probeluft weggetragen.

Die **Leistungsfähigkeit** eines Luftkeimsammlers liegt also darin, möglichst auch die kleinsten Sporen (Partikel) in der Probeluft auf das Nährmedium abzuscheiden. Der Abscheidegrad, auch Cut-Off-Wert genannt, eines Luftkeimsammlers gibt den kleinsten aerodynamischen Durchmesser kugelförmiger Partikel mit der Einheitsdichte 1000 kg/m³ an, die mit einer Wahrscheinlichkeit von 50 % von dem Sammler aus der Probeluft abgeschieden werden [2]. Natürlich gilt der vom Hersteller angegebene Abscheidegrad nur bei Betrieb mit den Nennbetriebsdaten, z.B. Volumenstrom. Der Abscheidegrad verschlechtert sich

Luftkeimzahlen und Partikel bei Runddüsenimpaktoren

mit abnehmendem Volumenstrom. So können bei Betrieb eines Luftkeimsammlers mit einem Volumenstrom von 5 l/min statt der im Datenblatt angegebenen 30 l/min zwar ähnliche KBE-Zahlen bei überwiegend großen Sporen (z.B. Cladosporium) gesammelt werden. Bei zu geringem Volumenstrom besteht jedoch die Gefahr dass die kleinen Sporen (z.B. Aspergillus), die oft aufgrund ihrer geringen Größe lungengängig und dadurch biologisch besonders relevant sind, nicht mehr auf dem Agar abgeschieden werden.

Zu 1: Während der Probenahme werden je nach Sporenkonzentration und der Düsenanzahl mehr als eine Spore in der Probeluft in einer Düse beschleunigt und auf dem Keimplatz auftreffen. Diese Tatsache, im Folgenden Mehrfachbelegung (des Keimplatzes) genannt, wurde bereits 1950 von Feller [1] veröffentlicht. Je mehr Keimplätze belegt sind, desto geringer wird die Wahrscheinlichkeit für eine Spore einen noch bis dahin unbelegten (freien) Keimplatz zu belegen. So ist bei einer Belegung von 90 % der möglichen Keimplätze die Chance für eine Spore einen freien Keimplatz zu belegen, nur noch 1 zu 10. Die Sporen auf einem mehrfach belegten Keimplatz bilden nach Auskeimung nur eine KBE und sind mit dem Auge nicht mehr als mehrere einzelne Kolonien sichtbar. Die Zahl der KBE nach Kultivierung wird also geringer sein als die tatsächlich "gesammelten" (impaktierten) Sporen.

Aber wieviel?

Einen **Ansatz zur Ermittlung der tatsächlich gesammelten Sporen** liefert die Statistik. Bei der Annahme einer gleichmäßigen Verteilung der Probeluft über der Düsenplatte ist über folgendem statistischen Ansatz eine Berechnung der tatsächlichen

gesammelten Partikeln aus der Anzahl der KBE möglich.

Die Berechnung erfolgt hierbei über die Verteilung der belegten Löcher bei gegebener Partikelzahl (n) und bekannter Düsenanzahl (N). Unter Kenntnis der Verteilung der belegten Löcher von (n - 1) Partikel auf die Anzahl der Düsen (N) lässt sich die Verteilung von n Partikel berechnen (bedingte Wahrscheinlichkeit). Hierdurch berechnen sich die Verteilungen für jeweils 1, 2, .., n Partikel rekursiv. Die Erwartungswerte dieser Verteilung berechnen sich nach der Gleichung:

$$En = N \left(1 - \left[\frac{N-1}{N} \right]^n \right)$$

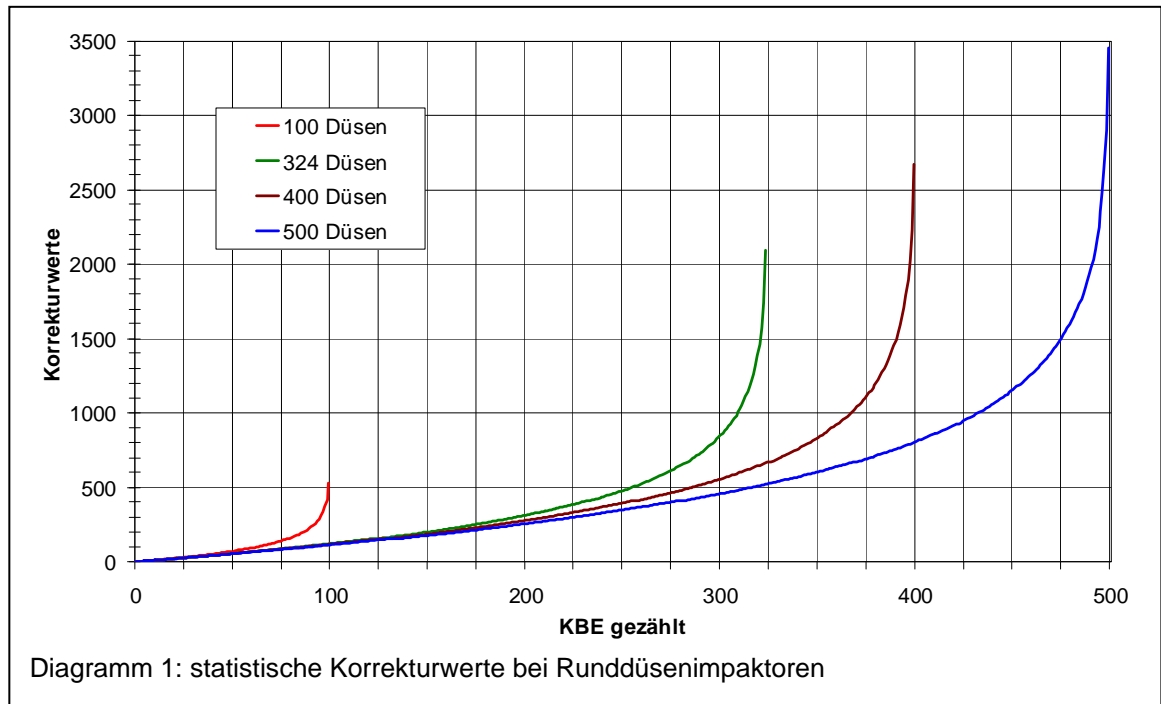
En gibt die KBE-Zahl bei n gesammelten Partikeln an. Die Funktion der statistisch ermittelten Partikelzahl über die KBE-Zahl ist in Diagramm 1 für verschiedene Düsenzahlen grafisch dargestellt.

Eine Korrektur der KBE-Zahl mit dem statistisch ermittelten Partikelzahlwert ist jedoch nur auf die Gesamtkeimzahl möglich. Hochrechnungen der KBE-Zahlen der einzelnen identifizierten Gattungen der KBE sind mit diesem statistischem Verfahren nicht möglich.

Bei diesem Verfahren bleiben unberücksichtigt:

Sporencuster (Gruppen von zusammenhängenden Sporen) bilden nur eine KBE, werden auch von der Statistik nur als ein 'Partikel' berücksichtigt. Die Summe der Einzelsporen kann bei einer Probe jedoch um ein vielfaches höher sein. Diese Tatsache konnte mit Partikelsammlern (z.B PS 30) schon mehrfach beobachtet werden.

Luftkeimzahlen und Partikel bei Runddüsenimpaktoren



Neben Sporen werden auch andere Partikel (Hautschuppen, Staubpartikel usw.) auf das Nährmedium abgeschieden. Das Verhältnis von Sporen und anderen Partikeln in der Probeluft muss jedoch nicht gleich sein.

Auffällig bei der Grafik ist die früh ansteigende Mehrfachbelegung bei Impaktoren mit weniger als 300 Düsen. Je mehr Düsen ein Impaktor hat um so größer ist der lineare Bereich und um so geringer ist die zu erwartende Mehrfachbelegung.

Trotz der vorgenannten Unsicherheiten kann die statistische Berechnung bei der Interpretation des Probenergebnisses eine Hilfe sein.

Mit dem erstellten Programm 'Korrektur', lauffähig unter MS-Windows, kann die Berechnung einfach durchgeführt werden. Im Internet steht das Programm bei der URL: <http://www.holbach.biz> im Downloadbereich zur Verfügung.

Die Gesamtanzahl der Düsen ist im Programm frei einstellbar, so dass die

Berechnung für alle gängigen Luftkeimsammler durchgeführt werden kann.

Quellen:

Operating Manual for the single stage viable particle sizing sampler, ANDERSEN Sampler Incorporated

Gutachten über den Luftkeimsammler LKS 30, Fraunhofer Institut für Toxikologie und Aerosolforschung, Hannover