

Ber. nat.-med. Verein Innsbruck	Band 84	S. 45 – 51	Innsbruck, Okt. 1997
---------------------------------	---------	------------	----------------------

Immissionen von Mikroorganismen (Bakterien und Pilze) durch Schneekanonen. Ein Fallbeispiel

von

Ursula PEINTNER, Wolfram RIENECK & Reinhold PÖDER *)

Immissions of Microorganisms (Bacteria and Fungi) by Snow Guns. A Case Report

Synopsis: Do snow guns emit living microorganisms, and, if so, what quantities of what kind of microorganisms are emitted? In February 1996, in the course of a civil action, the authors were commissioned with the investigation of such questions by the court. The snow-making facility concerned is operated in very close proximity of a residential area in Tirol, Austria. For the detection and identification of microorganisms samples of the artificial snow were taken directly at the nozzle of the running snow gun. The results of analysis revealed relatively high bacterial and fungal germ counts (colony forming units) in the freshly produced snow: the dominant bacterial species was *Pseudomonas fluorescens*, the most abundant fungal species was the mould *Cladosporium cladosporioides*. Bacterial germ counts were 10fold higher compared with reference values from the "ÖAWV-Richtlinien", an Austrian guideline that also regulates the water quality needed for the production of artificial snow. At this moment, however, no legal provisions are available for dealing with fungal contaminants. Because of the increasing importance of ubiquitous environmental moulds as the cause of human infections and allergies the authors recommend both the development and the quick implementation of official guiding rules on fungal contaminations.

1. Einleitung:

Das Institut für Mikrobiologie der Universität Innsbruck (Naturwissenschaftliche Fakultät) wurde im Jahr 1995 im Rahmen eines Zivilverfahrens gerichtlich beauftragt, den von einer Beschneiungsanlage produzierten Kunstschnee auf eine eventuelle Belastung durch Mikroorganismen zu untersuchen, da sich ein Anrainer durch den Betrieb der Anlage in unmittelbarer Nähe seines Wohnhauses belästigt bzw. gefährdet fühlte.

Im Gegensatz zu herkömmlichen Untersuchungen dieser Art wurde nicht das zur Produktion des Kunstschnees verwendete Wasser, sondern der frisch produzierte Kunstschnee selbst untersucht. Die Probennahme erfolgte direkt an den Abstrahldüsen der Schneekanone, nachdem das Wasser bereits einen mechanischen Vorfilter, eine UV-Desinfektionsanlage sowie die Zuleitungen und die Anlage selbst passiert hatte.

Aufgrund der zu hohen Umgebungstemperaturen, die einen weiteren Betrieb der Beschneiungsanlage nicht ermöglichten (der Betrieb ist nur bei Außentemperaturen von weniger als 4° C

*) Anschrift der Verfasser: Mag. U. Peintner, Mag. W. Rieneck und UD Dr. R. Pöder, Institut für Mikrobiologie der Leopold Franzens Universität Innsbruck, Technikerstraße 25, A-6020 Innsbruck, Österreich.

möglich), mußte bei dieser Untersuchung auf weitere Probennahmen verzichtet werden. Die vorgestellten Ergebnisse stellen somit lediglich eine Momentaufnahme dar.

Die untersuchte Anlage befindet sich in Tirol (Österreich) auf einer Seehöhe von ca. 900 m in unmittelbarer Nähe eines Dorfes. Durch diese bis September 2000 wasserrechtlich bewilligte Beschneiungsanlage (zwei Schneekanonen vom Typ SUFAG Super Silent, Doppelaufbau) wird eine flache Schipiste für Kinder und Anfänger beschneit. Der Wasserdurchsatz beträgt je Kanone zwischen 9 und 18 m³/h bei einem Wasserdruck zwischen 10 und 15 Bar. Die Wurfweite dieses Schneekanonentyps ist bei Windstille und 14 Bar Druck ca. 20 m, wobei sich das Hauptschneigebiet im Abstand von 5 - 15 m um die Kanone erstreckt. Das Wasser für die Produktion des Kunstschnees stammt aus einem angrenzenden Bach, welcher für die Entnahme in einem kleinen Becken (ca. 4 m³) aufgestaut wird.

2. Material und Methoden:

Die Probennahme fand am 27. Februar 1996 zwischen 7.00 und 8.00 Uhr früh bei einer Außentemperatur von -3.5°C statt. Von der mindestens seit 15 Minuten arbeitenden Anlage wurden zwei Schneeproben direkt gezogen: dabei wurde der Kunstschnee in etwa 10 cm von den Düsen entfernten Probebehältern (sterile 1 Liter Weckgläser) aufgefangen (Abb. 1). Die Gefäße wurden sofort nach der Probennahme luftdicht verschlossen. Mit der Untersuchung der geschmolzenen Schneeproben wurde unmittelbar nach der Probennahme begonnen. Der pH-Wert der Proben lag bei pH 7. Für die Bestimmung der Keimzahl wurden 3 Methoden angewendet: die Membranfiltermethode, die Verdünnungsmethode und der Direktausstrich des geschmolzenen Kunstschnees auf Agarplatten. Bei der Membranfiltermethode wurden verschiedene Probevolumina mit Hilfe einer Vakuumpumpe (TYP Millipore Microfil System MIAC 006) durch sterile Membranfilter (Porendurchmesser 0.45 µm) (Millipore Type HA WGO72) gesaugt. Diese wur-

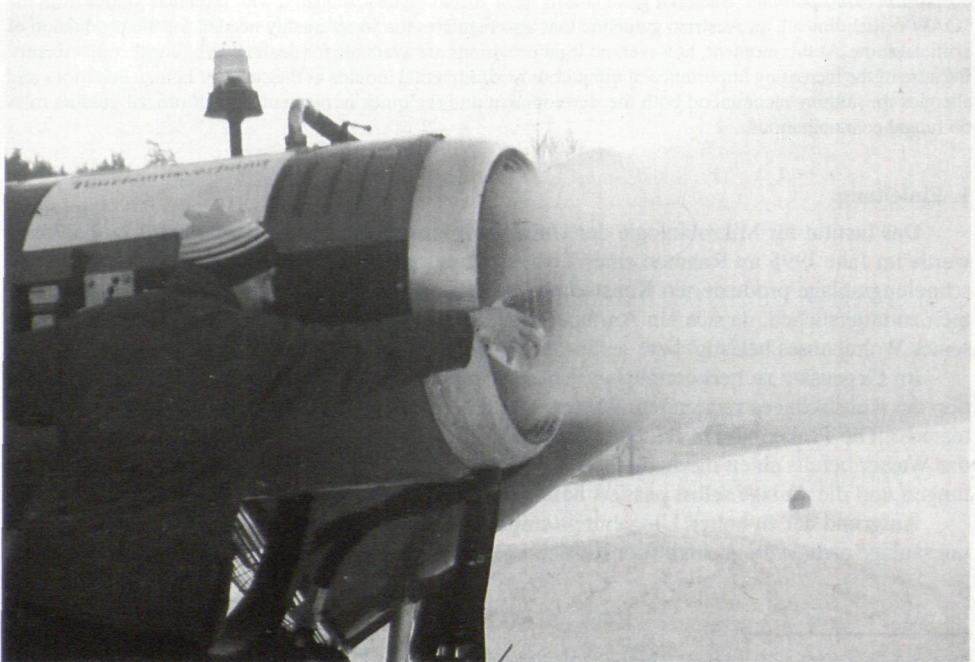


Abb. 1: Probennahme direkt an den Abstrahldüsen der Schneekanone.

den nach der Filtration auf verschiedene Nähragarplatten gelegt, und bei 18°C bebrütet. Als Nährmedien wurden 3%iger Malzextrakt-Agar (MEA, pH = 5,4) für das pilzliche Wachstum und Nutrient-Broth-Agar (NB, pH = 7,0) zur Isolierung von Bakterien verwendet.

Für die Verdünnungsmethode wurde zusätzlich je 1 ml Probe in 10er-Schritten in steriler physiologischer NaCl-Lösung bis zur Verdünnungsstufe 10^{-3} verdünnt. 0,1 ml der jeweiligen Verdünnungsstufen werden auf je 6 Petrischalen mit MEA und NB-Agar ausgestrichen und bei 18°C bebrütet. Nach 24 h, 48 h und 72 h wurden die Kolonien auf den Platten ausgezählt. Dabei wurde auch eine Abschätzung der Artenvielfalt und Artenverteilung vorgenommen. Um auch sehr langsam wachsende Arten zu erfassen, wurden die Platten weitere 2 Wochen bebrütet. Von allen entstandenen Kolonien wurden Reinkulturen angelegt.

Die Identifikation der isolierten Mikroorganismen erfolgte mittels zytomorphologischer Untersuchungen im Lichtmikroskop (Nikon Optiphot-2 mit SONY Multiscan Videoprinter), aufgrund von Kulturmerkmalen und physiologisch-biochemischen Eigenschaften (z.B. Wachstum bei verschiedenen Temperaturen, Enzymsausstattung, Fähigkeit zum Abbau verschiedener Kohlenstoff- und Stickstoffquellen etc.). Die Nomenklatur der Bakterien folgt KRIEG & HOLT (1984), jene der Pilze DOMSCH et al. (1993). Als Bestimmungsliteratur wurden weiters BALOWS et al. (1986), GAMS (1971), LODDER (1970) und SCHOL-SCHWARZ (1970) verwendet.

3. Ergebnisse:

Im untersuchten Kunstschnee befanden sich lebende Mikroorganismen, und zwar 11 Bakterienarten, 3 Hefe- und 12 Schimmelpilzarten.

Die bakterielle Keimzahl des Kunstschnees betrug 93.800 vitale Bakterien pro Milliliter geschmolzenen Schnees ($= 9,38 \cdot 10^4$ KBE/ml).

Die pilzliche Keimzahl betrug 21,8 KBE/ml. Neben drei sogenannten Mycelia Sterilia (= Agonomycetales = "nichtsporenbildende Pilze") konnten 9 "Schimmelpilzarten" und 3 Hefen isoliert werden.

Tab. 1: Im Kunstschnee ermittelte Keimzahlen (KBE/ml = koloniebildende Einheiten pro Milliliter; n.d. = aufgrund zu hoher Keimzahlen nicht auswertbar).

	Bakterien	Pilze
Membranfiltermethode	n.d.	12,4 KBE/ml
Verdünnungsplatten	93.800 KBE/ml	10,0 KBE/ml
Direktausstrich	n.d.	43,0 KBE/ml

Die meisten der 11 isolierten Bakterienarten sind psychrophil (kälteliebend). Nahezu 50% der Keime ($4,3 \cdot 10^4$ KBE/ml) wurden als *Pseudomonas fluorescens* (TERVISAN) MIGULA identifiziert; diese psychrophile Pseudomonaden-Art ist im Kunstschnee dominant.

Arthrobacter sp. CONN & DIMMICK bildete ein Drittel aller entstandenen Kolonien ($2,8 \cdot 10^4$ KBE/ml). Von *Phyllobacterium rubiacearum* (ex KNÖSEL) nom. rev. konnten $7,8 \cdot 10^3$ koloniebildende Einheiten (KBE/ml) isoliert werden. Die Bakterien *Cytophaga johnsonae* STANIER, *Chromobacterium fluviale* MOSS, RYLL & LOGAN (= *Iodobacterium fluviale*), *Micrococcus agilis* ALI-COHEN, *Staphylococcus xylosus* SCHLEIFER & KLOOS, *Pseudomonas maltophilia* (HUGH & RYSCHEKOW) HUGH und *Micrococcus luteus* (SCHROETER) COHN traten mit Keimzahlen unter 100 KBE/ml auf. Die beiden nicht identifizierten Arten traten nur vereinzelt auf (Abb. 2).

Die durchschnittliche Keimzahl der Pilze betrug 21,8 KBE pro Milliliter geschmolzenem Schnee. Dominierend waren *Cladosporium herbarum* (PERS) LINK ex GRAY mit 7,14 KBE/ml,

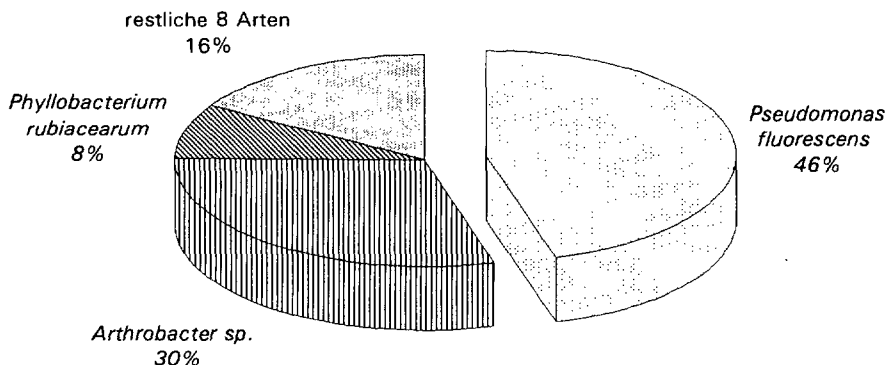


Abb. 2: Quantitative Verteilung der isolierten Bakterienarten (gesamt $9,38 \cdot 10^4$ KBE/ml).

sowie *Cladosporium cladosporioides* (FRIES.) DE VRIES und *Lecythophora hoffmanii* (VAN BEYMA) GAMS & MCGINNS mit je 3,22 KBE/ml. Die Keimzahl von *Phoma sp.* SACC. betrug 1,4 KBE/ml; *Cladosporium cucumerinum* ELL. et ARTH., *Hypocrea sulphurea* (SCHW.) FR., *Mucor hiemalis* WEHMER forma *hiemalis*, *Phialophora fastigiata* (LAGERB. & MELIN) CO-NANT, *Acremonium strictum* GAMS, *Dioszegia hungarica* (ZSOLT) PHAFF et FELL und *Candida humicola* (DASZEWSKA) DIDDENS & LODDER traten nur vereinzelt auf (Keimzahlen unter 1 KBE/ml) (Abb. 3).

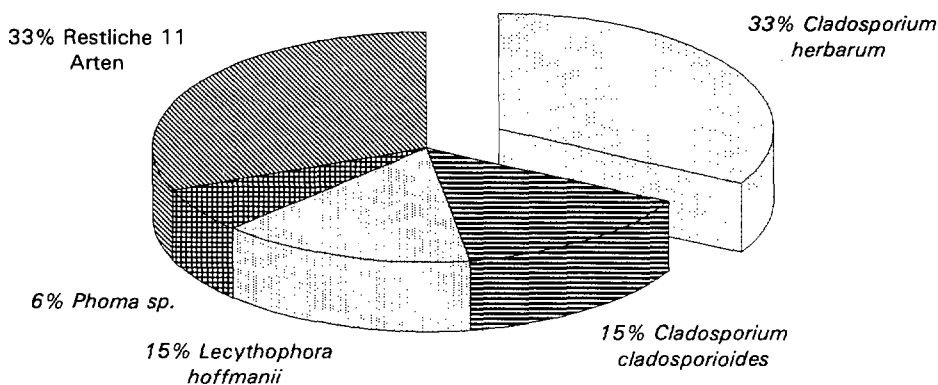


Abb. 3: Quantitative Verteilung der isolierten Pilzarten (gesamt: 21,8 KBE/ml).

4. Diskussion:

Aus dem untersuchten Kunstschnee konnten 26 Arten vitaler Mikroorganismen, und zwar 11 Bakterien, 3 Hefen und 12 Schimmelpilze isoliert wurden. Die bakterielle Keimzahl betrug 93.800 KBE/ml. Bei den isolierten Keimen handelte es sich nicht um sogenannte "Coliforme Keime", welche im allgemeinen bei der Beurteilung der Wassergüte als Indikatoren für Verunreinigung durch Fäkalien dienen. Die im Kunstschnee vorherrschende Bakterienart war *Pseudomonas fluorescens* (Pseudomonadaceae), ein psychrophiler Organismus der hauptsächlich in Feuchtestellen, Wasser und an Pflanzenmaterial vorkommt. *Pseudomonas fluorescens* ist ein häufiger Spitalskeim, der allerdings nur selten bei abwehrgeschwächten Patienten als Erreger von Eiterungen und Sepsis festgestellt wurde. *Arthrobacter sp.* ist die häufigste und aktivste Bakterien-

gattung im Boden, *Phyllobacterium rubiacearum* ist pflanzenpathogen. Für die beiden letzteren Arten gibt es keinerlei Hinweise auf humanpathogene Eigenschaften. Abgesehen von *Micrococcus luteus* — diese Art wurde nur selten aus Blutkulturen bei Septikämien isoliert — sind auch die übrigen, in vergleichsweise geringen Keimzahlen vorliegenden Bakterien, nicht als Krankheitserreger bekannt.

Die Keimzahl der 15 isolierten Pilzarten betrug 21,8 KBE/ml. Die im Kunstschnee vorherrschende Art ist *Cladosporium herbarum*. *Cladosporium* Arten sind strahlungsresistent und wurden deshalb unter Umständen durch die vorgeschaltete UV-Filteranlage nicht inaktiviert. Dieser ubiquitär vorkommende Pilz kann in seltenen Fällen als opportunistischer Erreger von Mykosen auftreten. Pilze der Gattung *Cladosporium* sind jedoch häufige Allergene (LARSEN 1994), wobei die Symptome u.a. bronchiales Asthma, allergische Rhinoconjunctivitis und atopische Dermatitis sind. Während verschiedene *Phoma*-Arten in seltenen Fällen ebenfalls als opportunistische Erreger von Mykosen auftreten können, konnten für *Lecytophora hoffmanii* keine Hinweise auf humanpathogene Wirkungen gefunden werden. Unter den übrigen, in geringen Keimzahlen auftretenden Pilzarten befinden sich sowohl opportunistische Erreger von Mykosen als auch saprophytische Arten, von denen keine gesundheitsbeeinträchtigende Wirkung bekannt ist (DE HOOG & GUARRO 1995).

Interessant ist ein Vergleich der aus dem Kunstschnee isolierten Pilzarten mit der natürlichen Artenverteilung von Pilzsporen in der Luft: EBNER et al. (1989, 1992) untersuchten die jahreszeitliche Fluktuation von Pilzsporen in Tallagen und alpinen Lagen. Die Untersuchungen wurden in der Umgebung Innsbrucks durchgeführt. Die häufigsten, in der Tallagen-Luft vorkommenden Pilzsporen waren der Gattung *Cladosporium* zuzuordnen. Weiters sehr häufig waren Vertreter der Gattung *Epicoccum*, verschiedene nicht identifizierte Hefen, *Mycelia Sterilia* und *Aureobasidium* sp. Die Pilzkeimzahlen zeigten deutliche saisonale Maxima und Minima; im Winter sind die Keimzahlen normalerweise sehr niedrig (weniger als 400 KBE/m³ Luft). Außer *Cladosporium* spp. und *Phoma* spp. konnte keine der aus dem Kunstschnee isolierten Pilzarten bei diesem einjährigen Monitoring (zweiwöchentliche Probenintervalle) als "normale" Luftkeime festgestellt werden.

Angeregt durch die vorliegende Fragestellung haben wir im Spätherbst 1996 stichprobenartige Untersuchungen an Naturschnee durchgeführt (Peintner, unveröffentlichte Daten). An 5 verschiedenen Probeorten (Hirschbichl bei Inzing, 2000 m; Hermelekkopf bei Seefeld, 2040 m; Axamer Kögele bei Axams, Vordere Grubenwand, Lüsens, 3175 m, Naviser Kreuzjöchl, Navis, 2000 m) wurden abseits von eventuell durch touristische Aktivitäten kontaminierten Zonen ca. 10 cm unter der Schneeoberfläche Neuschnee Proben gezogen. Die festgestellten Keimzahlen waren hochsignifikant niedriger als jene des in der vorliegenden Arbeit untersuchten Kunstschnees: die bakterielle Keimzahl war mit durchschnittlich $27,7 \pm 14,4$ KBE ($n = 15$) pro Milliliter Neuschnee mehr als 3000 mal geringer! Die Keimzahlen der Pilze lagen ebenso um einen Faktor 1000 niedriger ($0,21 \pm 0,21$ KBE/ml; $n = 15$).

Eine Abschätzung der zusätzlichen Belastung der Luft durch die von der Schneekanone ausgehenden Immissionen ist aus verschiedenen Gründen schwierig: Für die Berechnung der während einer Stunde Betriebszeit in die Umgebung eingebrachten Keime kann ein mittlerer Wasserdurchsatz der Schneekanone von 13,5 m³/h angenommen werden. In einer Stunde Betriebszeit werden somit im vorliegenden Fall je Schneekanone $9,48 \cdot 10^{10}$ KBE Bakterien und $2,18 \cdot 10^7$ KBE Pilze in die Umgebung eingebracht. Die mit dem Kunstschnee eingebrachten Keime sinken z.T. mit dem Schnee ab, werden aber auch je nach Größe, Form und Oberflächenbeschaffenheit sowie aufgrund vieler weiterer Faktoren, welche die Sedimentation bzw. Verfrachtung von Sporen beeinflussen, unterschiedlich weit transportiert. Die Art der Verteilung bzw. Sedimentation der nachgewiesenen Immissionen von Mikroorganismen kann in der Praxis kaum nachgewiesen werden.

Mikrobiologische Untersuchungen von Kunstschnee werden sehr selten durchgeführt, wobei meistens nur der Zufluß der Beschneigungsanlage auf Keimzahl, fäkalcoliforme Bakterien, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* und sulfatreduzierende Clostridien untersucht wird. Für Österreich hat der Österreichische Wasser- und Abfallwirtschaftsverband Richtlinien für Beschneigungsanlagen (ÖAWV-Regelblatt 210) erlassen: "Hinsichtlich der hygienischen Aspekte, die sich im Zuge einer Beschneigungsanlage ergeben, ist die Eignung des verwendeten Wassers gem. ÖNORM M 6230 (Anforderungen an die Beschaffenheit von Badegewässern) als Mindestanforderung nachzuweisen."

Die bakteriellen Keimzahlen des produzierten Kunstschnees liegen trotz vorgeschalteter UV-Filteranlage gerade noch im Bereich der Wassergüteklasse III (= kleiner als 100.000 KBE/ml) und nicht, wie für den Zufluß vorgeschrieben, in Güteklasse II (= kleiner als 10.000 KBE/ml). Mögliche Ursachen für die sehr hohen Keimzahlen können sowohl im Zufluß, als auch innerhalb des Leitungssystems bzw. der Schneekanone selbst liegen. In der vorliegenden Untersuchung wurde die Kausalität der Kontamination des Kunstschnees nicht untersucht. Anhand eines Fallbeispiels sollten nur die effektiven mikrobiologischen Immissionen durch den Kunstschnee erfaßt werden. Unsere Ergebnisse unterstreichen die Notwendigkeit, mikrobiologische Untersuchungen am Ende, und nicht mitten in der Kausalitätskette durchzuführen: künftig sollte auch das Endprodukt der Beschneigungsanlagen – also der Schnee – und nicht nur das Ausgangsprodukt Wasser auf seinen einwandfreien hygienischen Zustand hin überprüft werden.

Außerdem muß den Pilzen auch in Routineuntersuchungen mehr Aufmerksamkeit gewidmet werden: Für maximale Pilzkeimzahlen von Wasser und Luft existieren keine gesetzlichen Richtlinien oder Bestimmungen. Einschlägige Untersuchungen beziehen sich normalerweise nur auf die bakterielle Keimzahl, wobei Pilze meist völlig unberücksichtigt bleiben. In Anbetracht der zunehmenden Bedeutung von Pilzen als Allergene, als Erreger von Mykosen und als Produzenten von toxischen Substanzen sollten Pilzkeimzahlen in Zukunft vermehrt – und zwar in quantitativer und in qualitativer Hinsicht – überwacht und berücksichtigt werden. Entsprechende Untersuchungen sollten nach einer offenen Diskussion der jeweils erzielten Ergebnisse sowie der hygienischen und ökologischen Konsequenzen von Immissionen von Pilzkeimen, zur Festlegung von sinnvollen Grenzwerten führen.

5. Zusammenfassung:

Im Februar 1996 wurde eine mikrobiologische Untersuchung von frisch produziertem Kunstschnee durchgeführt. Die betreffende Beschneigungsanlage befindet sich in Tirol/Österreich in unmittelbarer Nähe zu bewohntem Gebiet. Für die Bestimmung der bakteriellen und pilzlichen "Kolonie bildenden Einheiten" (KBE) wurde der Schnee direkt am Austritt der Beschneigungsanlage entnommen. Die dominanten Arten wurden identifiziert. Als häufigster Vertreter der bakteriellen Flora konnte *Pseudomonas fluorescens* festgestellt werden, der häufigste pilzliche Kontaminant war *Cladosporium herbarum*. Die bakteriellen Keimzahlen des geschmolzenen Kunstschnees lagen etwa um den Faktor 10 höher als jene, die nach den ÖWAV-Richtlinien für das zur Schneebereitung verwendete Wasser zulässig sind. Für das zulässige Ausmaß pilzlicher Kontamination existieren bisher noch keinerlei nationale oder internationale Richtlinien. Aufgrund der – wenn auch häufig unterschätzten – Bedeutung von Pilzen als Allergene und opportunistischen Krankheitserregern sollte diesem Bereich bei zukünftigen Untersuchungen verstärkte Aufmerksamkeit gewidmet werden.

6. Literatur:

- BALOWS, A., H.G. TRÜPER, M. DWORKIN, W. HARDER & K.H. SCHLEIFER (1986): The Prokaryotes. Second Edition. — A Handbook on the Biology of Bacteria Vol. I-IV, 4126 pp. Springer Verlag Stuttgart.
- DE HOOG, G.S. & J. Guarro (1995): Atlas of Clinical Fungi. — CBS Baarn, The Netherlands, 720 pp.
- DOMSCH, K.H., W. GAMS & T.H. ANDERSON (1993): Compendium of soil Fungi. — Vol. I and Vol. II, 859 bzw. 407 pp.
- EBNER, M.R., K. HASELWANDTER & A. FRANK (1989): Seasonal fluctuations of airborne fungal allergens. — Mycological Research **92**(2): 170 - 176.
- (1992): Indoor and outdoor fungal allergens. — Mycological Research **96**(2): 17 - 124.
- GAMS, W. (1971): Cephalosporium-artige Schimmelpilze (Hyphomycetes). — Gustav Fischer Verlag Stuttgart, 262 pp.
- KRIEG, N.R. & J.G. HOLT (1984): Bergeys Manual of Systematic Bacteriology Vol. I-IV. — Williams & Wilkins Baltimore/London, 2648 pp.
- LARSEN, L. (1994): Fungal Allergens in Health implications of Fungi; in Indoor Environments. — Air quality monographs vol. 2: 215 - 220. Edited by Samson R.A., Flannigan W.E., Verhoeff A.P., Adan O.C.G., Hoekstra E.S. 1994. Elsevier Amsterdam.
- LODDER, J. (1970): The Yeasts. — North Holland Publishing Company, Amsterdam, London. 2nd Edition, 1385 pp.
- ÖNORM M 6230: Anforderungen an die Beschaffenheit von Badegewässern. 1. Okt. 1980. — Österreichisches Normungsinstitut Wien, 1980, 8 pp.
- ÖWAV-Regelblatt 210 (1995): Beschneiungsanlagen. — Schriftenreihe der Österreichischen Wasser- und Abfallwirtschaftsverbandes, Wien 1995, 14 pp.
- SCHOL-SCHWARZ, M.B. (1970): Revision of the genus *Phialophora*. — Persoonia Vol. 6, Part I: 59 - 94.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Berichte des naturwissenschaftlichen-medizinischen Verein Innsbruck](#)

Jahr/Year: 1997

Band/Volume: [84](#)

Autor(en)/Author(s): Pöder Reinhold, Peintner Ursula, Rieneck Wolfram

Artikel/Article: [Immissionen von Mikroorganismen \(Bakterien und Pilze\) durch Schneekanonen. Ein Fallbeispiel. 45-51](#)