

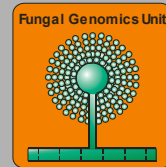
Kommissar – DNA

...dem gesamten (Gefahren)-Potential des Schimmels auf der Spur



Joseph Strauss

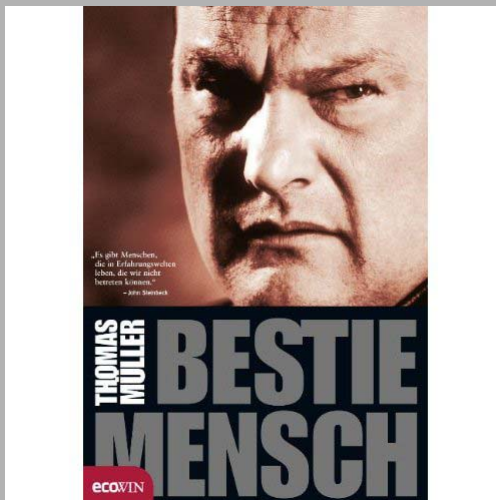
Professor für Genetik und Genomforschung
Universität für Bodenkultur Wien
und
Leiter der Forschungseinheit
Pilzgenetik und Funktionelle Genomik



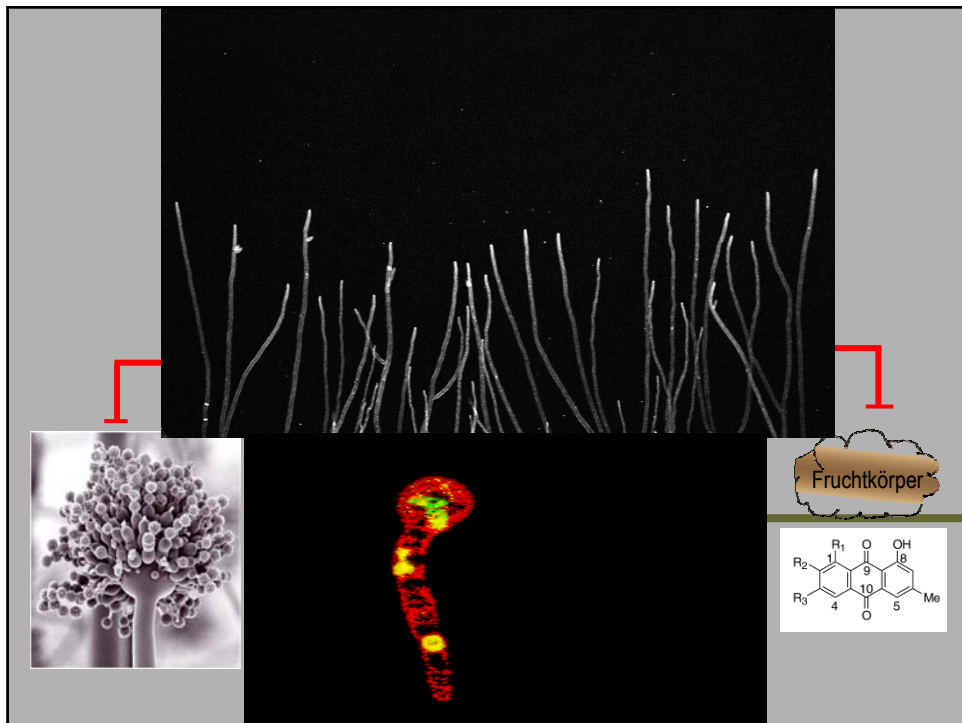
In Zusammenarbeit mit



...der Kommissar geht um!



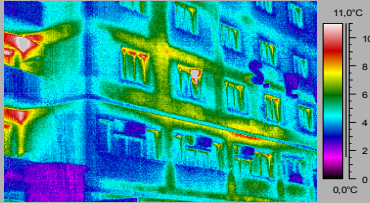
Arbeitet mit der
„Operativen
Fallanalyse“
versucht das
„Warum“ zu klären,
nicht das „Wie“. Sie
sucht die Stärken
und Schwächen
des Täters
heraus.....



Die Erfolgsgeschichte der Pilze

- > verwerten, was andere nicht schaffen
- > produzieren (giftige) Abwehrstoffe
- > vermehren sich extrem gut und schnell

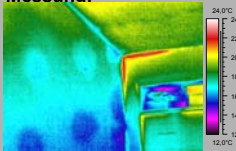
Wasser + etwas Nährstoffe = Schimmel



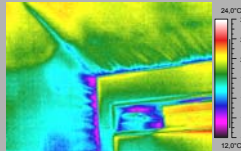
Bereiche hoher Wärmeverluste bedeuten niedrige Innenwand- bzw. Glasoberflächentemperaturen und sind daher potentielle Kondensationsbereiche je nach der relativen Innenraumfeuchte

Beispiel einer Luftundichtheit im Rahmen einer Blower Door

Messung:



Thermographische Aufnahme vor Unterdruck



Thermographische Aufnahme bei Unterdruck

Auch massive lokale Luftundichtheiten können zu Schimmelbildung an Kondensationsbereichen führen

v.a. bei längere Zeit gekippten Fenstern od. bei ungedämmten Mauerdurchführungen

Dankenswerterweise zur Verfügung gestellt
Energieberatung Roland Cornelius

Was wir von der enormen Pilzdiversität haben....

Naturstoff-Gruppe - Organismus	Verwendung
Vitamine, Enzyme, Zusatzstoffe...(div. Pilze)	Nahrungsmittel; techn. Verw.
Alkohole (Hefen)	Genussmittel; techn. Verw.
Giberelline (Fusarium)	Pflanzenhormone
GEFAHRENPOTENTIAL	
Mycotoxine (Aspergillus, Fusarium, Hutpilze)	Gifte in Nahrungs- u. FM
MEDIZINISCHE ANWENDUNGEN	
Cyclosporine (Trichoderma)	Immunsuppressor
Statine (Aspergillus)	Cholesterin-senkend
Penicilline und Cephalosporine (Penicillium, CS)	Antibiotika
„biologicals“ Interferone, Antikörper (Pichia, Aspergillus)	3rd-generation Medikamente

Schimmel im Innen- u. Lebensraum

Gattung (Genus)	Art (Species)	Vorkommen
Alternaria	ssp.	v.a. in chronisch feuchter Bausubstanz (Zellulosehaltig)
Aspergillus	fumigatus	sehr kleine lungengängige Sporen, Wachstum auch noch: >55°C
	flavus	v.a. auf Lebensmittel
	niger	Wichtiger Innenraumpilz
	ochraceus	v.a. in Nahrungsmitteln, meist an Hausstaub gebunden
Cladosporium	ssp.	sogar in Flugzeugtanks, wächst sogar noch <0°C
Fusarium	ssp.	Besiedelt v.a. Pflanzen bzw. Erde
Serpula, Coniophora	ssp.	Holzerstörer, Echter Kellerschwamm
Penicillium	ssp.	Wichtiger Innenraumvertreter; Antibiotika
Rhizopus	ssp.	Rasches Wachstum mit extremer Sporenzahl Bes. auch auf zuckerhaltigen Nahrungsmitteln (Obst)
Stachybotrytis		Besonders nach Wasserschäden (im Bereich v. verbaute Holz u. Tapeten); besonders starkes Mycotoxin
Trichoderma	ssp.	Bodenpilze, Holz
Candida	ssp.	Pathogener Hefevertreter

Hausstaub



- Hausstaub:
- * Hausstaubmilben(partikel, -kot)
 - * Pilzsporen/-mycel(partikel): bis zu 10^6 / g
 - * **Milbe benützt Pilze zur externen Verdauung**
 - * Epithelien
 - * Fasern
 - * assoziierte Pestizide u. Bauchchemie (z.B. u.a. Pyrethroide, Terephthalate)

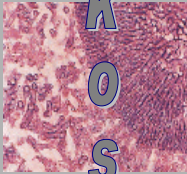
Pilzsporen und -hyphen

besitzen sog. **Hydrophobine**.

Wasser-/Feuchtigkeitsassoziation wird verhindert und ein Transport durch Luftströmung und Wärmekonvektion gefördert.

Schimmelpilzpartikel kleben so nicht auf (rest)feuchten glatten Oberflächen.

Mykosen



Allergien:

Grundsätzlich durch alle Typen von Schimmelpilzen
Durch Kontakt mit Oberflächenstrukturen von der Sporen bzw. **Myzel- und Sporenpartikel (egal ob tot oder lebend !)** entsteht allergische Immunantwort.
Sofort-Typ (Typ I): bei veranlagten Personen (IgE vermittelt)
Chronischer-Typ (Typ III): nach Langzeitbelastung (IgG u. T-Zellen vermittelt)
Spättyp Allergien (Typ IV): über T-Zellen

Infektionen

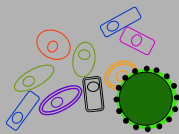
V.a. durch **lebende** Aspergillus- und Stachybotrysarten aber auch durch Hefen (typ. Mykosen) bei immungeschwächten Personen, Säuglingen
Aufnahme von Sporen über den **Respirationstrakt** u.möglicher Weitertransport über die Blutbahn bis zum Ort des Auskeimens: Mycel wandert in Zellen ein
z.B. durch *Aspergillus fumigatus*, *Candida ssp. St*

Giftschäden

Durch Stoffwechselprodukte spezieller Pilzarten über Nahrungsmittel oder durch **Inhalation** (Pneumonitis, Leberkrebs, Nierenschäden, z.B. *Penicillium ssp.*), Blutungen, Eingriffe ins Immunsystem, Atrophie der Ovarien (z.B. *Fusarium ssp.*)

BIOAEROSOL-ANALYTIK

Beispiel Ringversuch Deutschland (Kompostwerk)



BIO-AEROSOLE

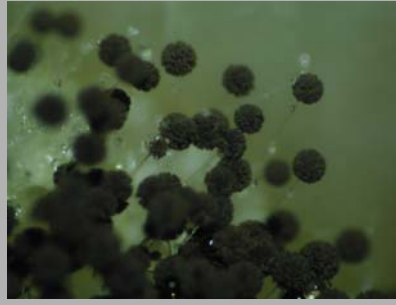
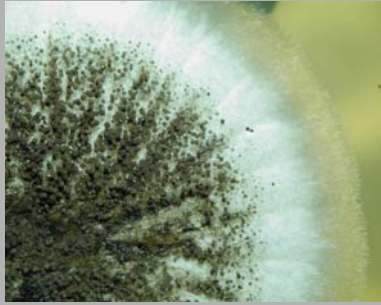
- Bakterien
- Pilze
- Hausstaub-Milben
- Viren
- Pollen

Tabelle 7: Ergebnisse der Keimzahlbestimmung einer gesplitteten Luftkeimprobe in unterschiedlichen Labors

			TÜV	Priv	BIA	Uni	Uni	Hohenheim	
			Eschborn	Essen	Sankt Augustin	Gießen	Hohenheim	Tag der Probenahme	Veränderung
Nr.	Nährboden	Temperatur	KBE/m ³	KBE/m ³	KBE/m ³	KBE/m ³	KBE/m ³	KBE/m ³	(%)
1	GA	30 °C	8,9×10 ⁵	4,9×10 ⁵	2,4×10 ⁵	6,1×10 ⁵	6,4×10 ⁵	8,2×10 ⁵	- 22
2	GA	50 °C	7,1×10 ⁵	1,8×10 ⁵	4,4×10 ⁵	3,6×10 ⁵	4,1×10 ⁵	5,7×10 ⁵	- 28
3	GA	55 °C	kein Wachst.	1,0×10 ⁵	kein Wachst.	5,8×10 ⁴	5,6×10 ⁴	1,7×10 ⁴	+ 229

BIOAEROSOL – KALIBRIERKAMMER IN ENTWICKLUNG UND VALIDIERUNG

Wir messen was lebt



Cultivation vs. cultivation-independent analysis

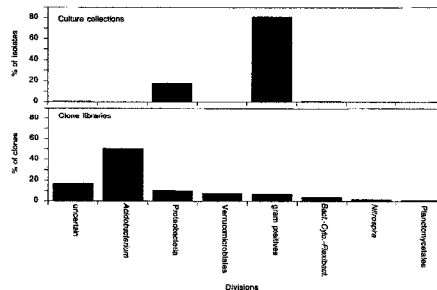


FIG. 1. Division level phylogenetic diversity identified in 16S rDNA clone libraries and culture collections. Division level affiliations were determined by phylogenetic analysis of partial or nearly full-length 16S rDNA sequences from: 168 cloned 16S rDNA obtained primarily from the 50 and CD clone libraries and from 35 bacterial isolates from the four culture collections. *Bact.-Cyto.-Flexibact.*, *Bacteroidetes-Cytophaga-Flexibacter*.

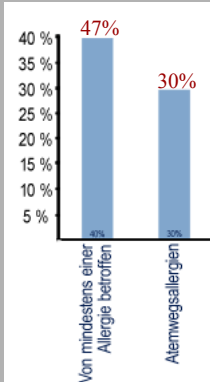
Dunbar et al. 1999. Levels of bacterial community diversity in four arid soils compared by cultivation and 16S rRNA cloning. Appl. Environ. Microbiol. 65: 1662-1669.

BIOAEROSOLE - RELEVANZ

Krankenstandsfälle¹⁾ auf 1.000 Erwerbstätige nach Krankheitsgruppen seit 2000²⁾

Krankheitsgruppe	2000	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009
Alle Krankheitsgruppen	1.116,2	1.054,8	1.057,6	1.002,2	1.053,3	1.017,9	1.077,6	1.125,7	1.142,9
Darminfektionen	82,4	93,0	91,5	88,1	83,3	100,0	109,5	117,4	107,7
Tuberkulose	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Sonstige Kreislauferkrankungen	7,4	6,7	6,6	5,3	5,1	5,8	6,7	6,6	6,0
Krankheiten der oberen Luftwege	358,8	320,8	345,8	315,3	365,4	310,8	344,0	373,2	412,5
Sonstige Krankheiten der Atmungsorgane	86,3	67,9	72,2	63,3	80,7	62,7	72,1	71,2	83,9
Krankheiten der Mundhöhle, Speicheldrüse, Kiefer	17,0	17,7	17,1	17,5	17,3	18,5	19,6	20,2	19,7
Krankheiten des Magen-Darm-Traktes	39,8	40,6	35,6	32,2	31,2	34,2	33,4	31,8	28,6

Quelle: Statistik Austria



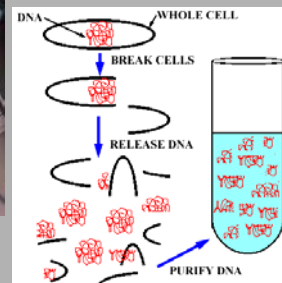
Anteil der von allergischen Erkrankungen Betroffenen an der Gesamtbevölkerung (Quelle: UBA, D)

BIOAEROSOLE – MOLEKULARE ANALYTIK

Luftkeimsammlung mit verschiedenen Filtersystemen
0,5 – 50 µm



Isolierung von Mikroben-DNA
direkt aus den Filtern

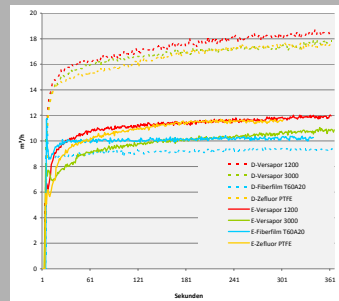


FILTERTESTS

Filterreinigung für DNA-Extraktion
(Filter mit bekannten Konzentrationen
dotiert)

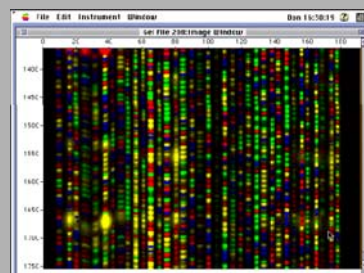
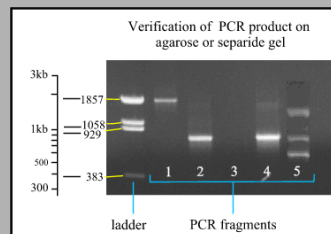
Durchfluss-
und Unterdruck

	Direkt-Methode		Wasch-Methode		t-Test
	MW	STAB	MW	STAB	
ohne Filter	100	±30.0			
Fa. 1	111	±33.3	67	±34.0	n.s.
Fa. 2	102	±5.6	85	±13.1	*
Fa. 3	97	±20.4	41	±32.0	**
Fa. 4	146	±8.4	86	±31.6	***



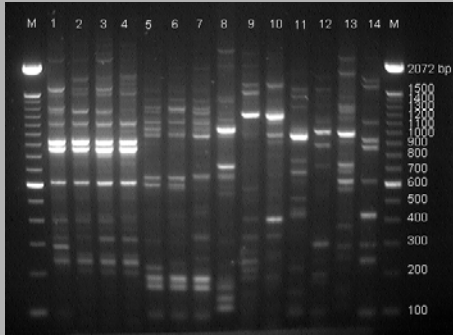
Filtermaterialien beeinflussen die
Ergebnisse der extrahierten Genom-
äquivalente wesentlich

BIOAEROSOLE – MOLEKULARE ANALYTIK



FESTSTOFFE UND FLÜSSIGKEITEN

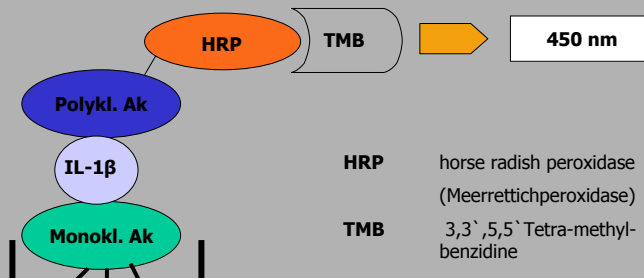
MOLEKULARES PROFILING



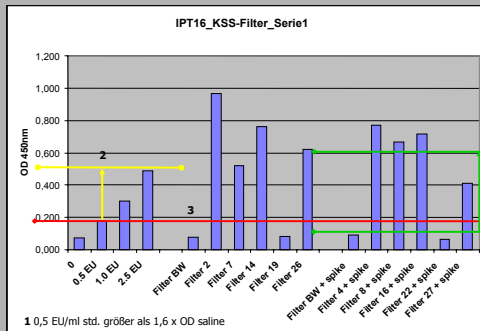
- + Filter
- + Holz
- + Baustoffe
- + Verarbeitung (Silikon)
- + Reinigungstücher
- + Schäume/Kunststoffe
- + organische Materialien
- + Wasser/Waschlösungen

PROFILING AUF GIFTSTOFFE

- Zugabe einer chromogenen Substanz (TMB) → entsprechende Farbreaktion wird vermessen



PROFILING BIOAKTIVE STOFFE



- + Allergene (Milben, Pilze)
- + östrogen-wirksame Gifte
- + Entzündungsauslöser
- + Mycotoxine (IFA)

aus

- + organische Materialien
- + Textil, Kunststoff, Holz
- + Wasser/Waschlösungen

Welche Pyrogene detektiert der IPT-Test ?

Pyrogen Detection: Application Suitability

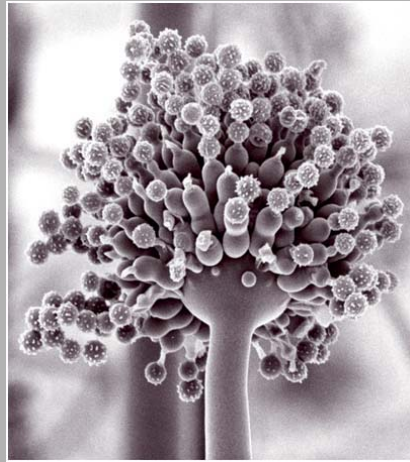
	Principle of Test	Rabbit Test	LAL	IPT
		fever reaction mammal	defense mechanism arthropoda	fever reaction human
Detectable Pyrogens	Gram-negative	+	+	+
	Gram-positive	+	-	+
	Fungi	+	-	+
	Virus	+/- ¹	-	+
Applications	Pharmaceuticals	+	+	+
	Biologicals	+	+/- ²	+
	Medical devices	+ ³	+/- ³	+
	Cellular therapies	-	+/-	+
	Air pollutants	+ ³	+/- ³	+

¹ Variable pyrogenic responses

² Rabbit testing often still required

³ Can only be tested indirectly by extracting device or filter with pyrogen free water or saline

.....verstehen, um sie zu finden



23

Universitäts- und Forschungszentrum Tulln



Analytik-Anfragen an Pilzgenetik Büro
01-47654-6357 oder claudia.puck@boku.ac.at
<http://www.dagz.boku.ac.at/11136.html>