

VEREIN  
DEUTSCHER  
INGENIEURE

Bioaerosole und biologische Agenzien  
Emissionsmessung von Endotoxinen  
Bioaerosols and biological agents  
Emission measurement of endotoxins

VDI 4254  
Blatt 2 / Part 2

Ausg. deutsch/englisch  
Issue German/English

*Der Entwurf dieser Richtlinie wurde mit Ankündigung im Bundesanzeiger einem öffentlichen Einspruchsverfahren unterworfen.*

*The draft of this standard has been subject to public scrutiny after announcement in the Bundesanzeiger (Federal Gazette).*

*Die deutsche Version dieser Richtlinie ist verbindlich.*

*The German version of this standard shall be taken as authoritative. No guarantee can be given with respect to the English translation.*

Inhalt	Seite
Vorbemerkung .....	2
Einleitung .....	2
<b>1 Anwendungsbereich</b> .....	3
<b>2 Normative Verweise</b> .....	4
<b>3 Begriffe</b> .....	4
<b>4 Vorkommen und Eigenschaften von Endotoxinen</b> .....	5
<b>5 Nachweisverfahren</b> .....	6
5.1 Entwicklungsstand .....	6
5.2 Verfahren zur Endotoxinmessung von Luftproben .....	6
5.3 Grundprinzip des Analyseverfahrens .....	8
5.4 Störfaktoren .....	10
<b>6 Umweltmedizinische Relevanz von Endotoxinen</b> .....	10
<b>7 Emissionsprobenahme von Endotoxinen</b> .....	12
7.1 Grundlegende Anforderungen .....	12
7.2 Reinigung der Probenahmegeräte .....	13
7.3 Sammel- und Spülflüssigkeit .....	14
7.4 Vorbereitung des Emissionsimpingers .....	14
7.5 Probenahme .....	15
7.6 Feldblindwertproben .....	15
7.7 Transport, Aufbereitung und Lagerung der Proben .....	15
7.8 Vorbereitung der Proben .....	16
7.9 Durchführung der Tests .....	16
7.10 Berechnung und Angabe der Ergebnisse .....	19
<b>Anhang A</b> Mit dem Emissionsimpinger-Verfahren ermittelte Endotoxin-Konzentrationen .....	20
<b>Anhang B</b> Ermittlung der Unsicherheit von Emissionsmessungen von Endotoxinen .....	24
Schrifttum .....	34

Contents	Page
Preliminary note .....	2
Introduction .....	2
<b>1 Scope</b> .....	3
<b>2 Normative references</b> .....	4
<b>3 Terms and definitions</b> .....	4
<b>4 Occurrence and properties of endotoxins</b> .....	5
<b>5 Detection method</b> .....	6
5.1 Development status .....	6
5.2 Method for endotoxin measurement of air samples .....	6
5.3 Basic principle of the analysis procedure .....	8
5.4 Interfering factors .....	10
<b>6 Environmental medical relevance of endotoxins</b> .....	10
<b>7 Emission sampling of endotoxins</b> .....	12
7.1 Basic requirements .....	12
7.2 Cleaning the sampling equipment .....	13
7.3 Collection and rinsing liquid .....	14
7.4 Preparation of the emission impinger .....	14
7.5 Sampling .....	15
7.6 Field blank samples .....	15
7.7 Transport, preparation, and storage of the samples .....	15
7.8 Preparation of the rehearsals .....	16
7.9 Carrying out the tests .....	16
7.10 Calculation and indication of results .....	19
<b>Annex A</b> Endotoxin concentrations determined with the emission impinger method .....	22
<b>Annex B</b> Determination of the uncertainty of emission measurements of endotoxins .....	24
Bibliography .....	34

VDI/DIN-Kommission Reinhaltung der Luft (KRdL) – Normenausschuss  
Fachbereich Umweltmesstechnik

VDI/DIN-Handbuch Reinhaltung der Luft, Band 4: Analysen- und Messverfahren I  
VDI-Handbuch Biotechnologie  
VDI/DIN-Handbuch Reinhaltung der Luft, Band 1b: Umweltmeteorologie

## Vorbemerkung

Der Inhalt dieser Richtlinie ist entstanden unter Beachtung der Vorgaben und Empfehlungen der Richtlinie VDI 1000.

Alle Rechte, insbesondere die des Nachdrucks, der Fotokopie, der elektronischen Verwendung und der Übersetzung, jeweils auszugsweise oder vollständig, sind vorbehalten.

Die Nutzung dieser Richtlinie ist unter Wahrung des Urheberrechts und unter Beachtung der Lizenzbedingungen ([www.vdi.de/richtlinien](http://www.vdi.de/richtlinien)), die in den VDI-Merkblättern geregelt sind, möglich.

Allen, die ehrenamtlich an der Erarbeitung dieser Richtlinie mitgewirkt haben, sei gedankt.

Eine Liste der aktuell verfügbaren und in Bearbeitung befindlichen Blätter dieser Richtlinienreihe sowie gegebenenfalls zusätzliche Informationen sind im Internet abrufbar unter [www.vdi.de/4254](http://www.vdi.de/4254).

## Einleitung

Die Ermittlung und Bewertung der Emissionen und Immissionen von Partikeln und gasförmigen Stoffen sind im Bundes-Immissionsschutzgesetz (BImSchG) und seinen Verordnungen sowie in der Technischen Anleitung zur Reinhaltung der Luft (TA Luft, Stand 2021) geregelt.

Ziel dieser Regelungen ist es, Menschen, Tiere und Pflanzen, den Boden, das Wasser, die Atmosphäre sowie Kultur- und sonstige Sachgüter vor schädlichen Umwelteinwirkungen zu schützen und dem Entstehen schädlicher Umwelteinwirkungen vorzubeugen.

Die gesetzlichen Vorgaben zur Begrenzung mikrobieller Emissionen sind bislang nur allgemein formuliert. Die TA Luft schreibt für bestimmte Anlagen vor: „Die Möglichkeiten, die Emissionen an Keimen und Endotoxinen durch den Stand der Technik entsprechende Maßnahmen zu vermindern, sind zu prüfen“.

Darüber hinaus bestehen im Arbeitsschutz technische Regeln, die sich mit der Einwirkung von Bioaerosolen auf den Menschen befassen. Weiterführende Informationen finden sich in der Schriftenreihe der Kommission Reinhaltung der Luft (KRdL) Band 30 [1], Band 35 [2], Band 39 [3], Band 44 [4] und Band 48 [5].

Der Themenbereich „Bioaerosole und biologische Agenzien“ ist aufgrund seiner Komplexität in mehrere Richtlinienreihen unterteilt. Die Richtlinienreihe VDI 4250 beschreibt die Wirkung mikrobieller Luftverunreinigungen auf den Menschen.

Die Richtlinienreihe VDI 4251 legt die Bedingungen fest, die bei der Planung von Immissionsmes-

## Preliminary note

The content of this standard has been developed in strict accordance with the requirements and recommendations of the standard VDI 1000.

All rights are reserved, including those of reprinting, reproduction (photocopying, micro copying), storage in data processing systems and translation, either of the full text or of extracts.

The use of this standard without infringement of copyright is permitted subject to the licensing conditions ([www.vdi.de/richtlinien](http://www.vdi.de/richtlinien)) specified in the VDI Notices.

We wish to express our gratitude to all honorary contributors to this standard.

A catalogue of all available parts of this series of standards and those in preparation as well as further information, if applicable, can be accessed on the Internet at [www.vdi.de/4254](http://www.vdi.de/4254).

## Introduction

The determination and assessment of emissions and immissions of particles and gaseous substances are regulated in the Federal Immission Control Act (BImSchG) and its ordinances as well as in the Technical Instructions on Air Quality Control (TA Luft, 2021).

The aim of these regulations is to protect humans, animals and plants, the soil, water, the atmosphere as well as cultural and other material assets from harmful effects on the environment and to prevent the occurrence of harmful effects on the environment.

The legal requirements for limiting microbial emissions have so far only been formulated in general terms. The TA Luft stipulates for certain installations: “The possibilities to reduce emissions of germs and endotoxins by state-of-the-art measures shall be examined.”

In addition, there are technical rules in occupational health and safety dealing with the effects of bioaerosols on humans. Further information can be found in the series of publications of the Commission on Air Quality Control (KRdL) Volume 30 [1], Volume 35 [2], Volume 39 [3], Volume 44 [4] and Volume 48 [5].

Due to its complexity, the subject area “Bioaerosols and biological agents” is divided into several series of directives. The series of standards VDI 4250 describes the effect of microbial air pollutants on humans.

The series of standards VDI 4251 specifies the conditions that are to be taken into account in the

sungen mikrobieller Luftverunreinigungen und bei der Ausbreitungsmodellierung berücksichtigt werden müssen.

In der Richtlinienreihe VDI 4252 werden die verschiedenen Verfahren zur Probenahme von Bioaerosolen beschrieben und die Anforderungen an die Durchführung der Immissionsmessungen festgelegt.

Die Richtlinienreihe VDI 4253 legt die Bedingungen für die Anzucht und Detektion von Mikroorganismen sowie für die Analyse von Viren fest und baut auf den in VDI 4252 und VDI 4257 beschriebenen Probenahmeverfahren auf.

Die Richtlinienreihe VDI 4254 beschäftigt sich mit der Analyse von gasförmigen Luftverunreinigungen, Zellwandbestandteilen und Stoffwechselprodukten mikrobieller Herkunft wie MVOC (Microbial Volatile Organic Compounds), Endotoxinen, Mykotoxinen und Glucanen.

Die Richtlinienreihe VDI 4255 beschreibt unterschiedliche Quellen mikrobieller Luftverunreinigungen, beschreibt Verfahren zur Minderung dieser Emissionen und legt Konventionenwerte für Emissionsfaktoren für ausgewählte Mikroorganismen fest.

In der Richtlinienreihe VDI 4256 werden die statistischen Kenngrößen, die für die Beschreibung und Vergleichbarkeit der Verfahren notwendig sind, festgelegt.

Die Richtlinienreihe VDI 4257 beschreibt die Planung und Durchführung der Emissionsmessung von mikrobiellen Luftverunreinigungen.

Die Richtlinienreihe VDI 4258 beschreibt die Herstellung von Prüfbioaerosolen zur Validierung von Messverfahren.

Die Richtlinienreihe VDI 4259 beschreibt Maßnahmen, um relevante Infektionsquellen schnellstmöglich zu identifizieren und somit eine weitere Ausbreitung zu vermeiden.

Eine Übersicht der aktuellen Richtlinien zum Thema „Bioaerosole und biologische Agenzien“ ist im Internet unter [www.vdi.de/bioaerosole](http://www.vdi.de/bioaerosole) abrufbar.

## 1 Anwendungsbereich

Die Richtlinie beschreibt die Probenahme und den analytischen Nachweis von Endotoxinen in der Abluft von Anlagen. Die Probenahme wird mit dem Emissionsimpinger auf Grundlage der VDI 4257 Blatt 2 durchgeführt. Der analytische Nachweis der Endotoxine erfolgt mithilfe des rFC-Tests (rFC: rekombinanter Faktor C).

Anlagenarten, bei denen Endotoxine als spezielle Messparameter beschrieben sind, sind in VDI 4250 Blatt 3 aufgeführt.

planning of immission measurements of microbial air pollutants and in dispersion modelling.

The series of standards VDI 4252 describes the various methods for sampling bioaerosols and specifies the requirements for carrying out the immission measurements.

The series of standards VDI 4253 specifies the conditions for the cultivation and detection of microorganisms and for the analysis of viruses and builds on the sampling procedures described in VDI 4252 and VDI 4257.

The series of standards VDI 4254 deals with the analysis of gaseous air contaminants, cell wall components and metabolic products of microbial origin such as MVOC (Microbial Volatile Organic Compounds), endotoxins, mycotoxins, and glucans.

The series of standards VDI 4255 describes different sources of microbial air pollution, describes procedures to reduce these emissions and specifies convention values for emission factors for selected microorganisms.

The series of standards VDI 4256 specifies the statistical parameters that are necessary for the description and comparability of the procedures.

The series of standards VDI 4257 describes the planning and implementation of emission measurement of microbial air pollutants.

The series of standards VDI 4258 describes the production of test bioaerosols for the validation of measurement procedures.

The series of standards VDI 4259 describes measures to identify relevant sources of infection as quickly as possible and thus prevent further spread.

An overview of the current directives on the subject of “Bioaerosols and biological agents” is available on the Internet at [www.vdi.de/bioaerosole](http://www.vdi.de/bioaerosole).

## 1 Scope

This standard describes the sampling and analytical detection of endotoxins in the exhaust air of plants. Sampling is carried out with the emission impinger on the basis of VDI 4257 Part 2. Analytical detection of endotoxins is carried out using the rFC test (rFC: recombinant factor C).

Plant types for which endotoxins are described as special measurement parameters are listed in VDI 4250 Part 3.