

VEREIN  
DEUTSCHER  
INGENIEURE

Bioaerosole und biologische Agenzien  
Bestimmung der Gesamtzellzahl mittels  
Fluoreszenzanalyse nach Anfärbung mit DAPI

VDI 4253  
Blatt 4 / Part 4

Bioaerosols and biological agents  
Determination of total cell count by fluorescence  
analysis after staining with DAPI

Ausg. deutsch/englisch  
Issue German/English

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

*Die deutsche Version dieser Richtlinie ist verbindlich.*

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

*The German version of this guideline 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 Begriffe</b> .....   | 4     |
| <b>3 Grundlage des Verfahrens</b> .....                             | 6     |
| <b>4 Grenzen und Schwierigkeiten des Verfahrens</b> .....           | 7     |
| <b>5 Geräte, Verbrauchsmaterial, Chemikalien und Lösungen</b> ..... | 8     |
| 5.1 Reinigung .....   | 8     |
| 5.2 Geräte, Verbrauchsmaterial .....                                | 8     |
| 5.3 Chemikalien und Lösungen .....                                  | 9     |
| <b>6 Vorbereitung des Sammelguts</b> .....                          | 9     |
| 6.1 Impingerproben .....  | 9     |
| 6.2 Filterproben .....  | 10    |
| 6.3 Färbung der fixierten Probe .....                               | 11    |
| 6.4 Hinweise zu Transport und Lagerung .....                        | 12    |
| <b>7 Quantitativer Nachweis</b> .....                               | 12    |
| 7.1 Grundlegende Hinweise zur Vorgehensweise .....                  | 12    |
| 7.2 Durchführung der Auszählung .....                               | 13    |
| 7.3 Analytischer Blindwert .....                                    | 14    |
| <b>8 Berechnung und Angabe der Ergebnisse</b> .....                 | 14    |
| <b>9 Verfahrenskenngrößen</b> .....                                 | 17    |
| 9.1 Probenaustausch .....   | 17    |
| 9.2 Standardabweichung .....  | 17    |
| 9.3 Probenhomogenität und Zählunsicherheiten .....                  | 20    |
| 9.4 Bestimmungsgrenzen .....  | 20    |
| <b>Anhang A</b> Ermittlung des Mikroskopfaktors .....               | 21    |
| <b>Anhang B</b> Zählprotokoll und Ergebnisprotokoll .....           | 23    |
| Schrifttum .....  | 27    |



| Contents   | Page |
|--|------|
| Preliminary note .....   | 2    |
| Introduction .....   | 2    |
| <b>1 Scope</b> .....   | 3    |
| <b>2 Terms and definitions</b> .....                           | 4    |
| <b>3 Method basics</b> .....                                   | 6    |
| <b>4 Limits and difficulties of the method</b> .....           | 7    |
| <b>5 Apparatus, consumables, chemicals and solutions</b> ..... | 8    |
| 5.1 Clean-up .....   | 8    |
| 5.2 Apparatus, consumables .....                               | 8    |
| 5.3 Chemicals and solutions .....                              | 9    |
| <b>6 Sample preparation</b> .....                              | 9    |
| 6.1 Impinger samples .....                                     | 9    |
| 6.2 Filter samples .....                                       | 10   |
| 6.3 Dyeing of the fixed sample .....                           | 11   |
| 6.4 Directions regarding transport and storage .....           | 12   |
| <b>7 Quantitative detection</b> .....                          | 12   |
| 7.1 Basic information to the procedure .....                   | 12   |
| 7.2 Enumeration implementation .....                           | 13   |
| 7.3 Analytical blank .....                                     | 14   |
| <b>8 Calculation and presentation of the results</b> .....     | 14   |
| <b>9 Process parameters</b> .....                              | 17   |
| 9.1 Sample replacements .....                                  | 17   |
| 9.2 Standard deviation .....                                   | 17   |
| 9.3 Sample homogeneity and counting uncertainties .....        | 20   |
| 9.4 Limits of quantification .....                             | 20   |
| <b>Annex A</b> Establishment of the microscope factor .....    | 21   |
| <b>Annex B</b> Count record and summary minutes .....          | 25   |
| Bibliography .....   | 27   |

Kommission Reinhaltung der Luft im VDI und DIN – Normenausschuss KRdL  
Fachbereich Umweltmesstechnik

VDI/DIN-Handbuch Reinhaltung der Luft, Band 1a: Maximale Immissions-Werte  
VDI/DIN-Handbuch Reinhaltung der Luft, Band 4: Analysen- und Messverfahren I  
VDI-Handbuch Biotechnologie