

Auswertung

13. VDB-Ringversuch 2020

Probenvergleichsmessungen von Schimmelpilzen aus der Raumluft - Kultivierung auf Nährmedien am 23. Juni 2020 in Niedernhausen



Ziel des Ringversuchs

Ziel des 13. VDB-Ringversuchs, Probenvergleichsmessungen von Schimmelpilzen aus der Raumluft - Kultivierung auf Nährmedien, ist, den Teilnehmern die Möglichkeit zu geben, die Qualität ihrer Probenahme zu kontrollieren und die für eine Zertifizierung oder Akkreditierung notwendige Teilnahme an Ringversuchen nachweisen zu können.

Bei dem angebotenen Ringversuch liegt der Fokus auf der Probenahme, nicht auf der Auswertung. Dieser Ringversuch diente somit ausschließlich der Qualitätssicherung der Probenahme. Die Proben wurden daher von einem Labor (Umweltmykologie GmbH, Berlin) ausgewertet, um die Messunsicherheit der labormäßigen Bestimmung der Schimmelpilze zu minimieren.

Der Ringversuch fand am 23. Juni 2020 von 16:00 Uhr bis ca. 17:30 Uhr in der untersten Ebene der Tiefgarage des Rhein-Main-Theaters in Niedernhausen statt.

Es wurden Luftproben zur direkten Impaktion auf Nährmedien 16000-18 (2012) Probenahme durch Impaktion und Probenahme auf Gelatinefilter (8 cm Filter von Satorius) mit anschließender Kultivierung gemäß DIN ISO 16000-16 Probenahme durch Filtration gezogen. Die Probenahmemedien, DG-18 Standard-Petrischalen und die Gelatinefilter wurden gestellt.

Ablauf des Ringversuchs

Jeder Teilnehmer bekam eine Teilnehmernummer zugeteilt. Mit dieser Nummer bekam der Teilnehmer seinen Messplatz zugewiesen und die DG 18 Nährböden und die Gelatinefilter ausgehändigt. Die Proben und die Ergebnisse wurden anonym unter dieser Teilnehmernummer verwaltet. Für die direkte Impaktion wurden jeweils Doppelproben mit 2 verschiedenen Volumina (50 Liter und 100 Liter) auf DG18 gezogen. Die Gelatinefilter wurden mit 1.000 Liter beladen.

Die Vorbeprobungen zeigten, dass eine Mobilisierung der Oberflächen in der Tiefgarage oder eine Konditionierung der Luftführung nicht zielführend war.

Der VDB-Ringversuch startete mit allen Teilnehmern zeitgleich. Zuerst erfolgte die Probenahme auf Nährböden und im Anschluss zeitgleich die Probenahme auf Gelatinefilter.

29 Teilnehmer beteiligten sich an der Probenahme mit direkter Impaktion auf Nährböden, 7 Teilnehmer beteiligten sich an der Probenahme auf Gelatinefilter.

Foto 1: Blick in den Bereich der Tiefgarage, in der die Probenahme durchgeführt wurde.



Foto 2: Blick auf den Start des Ringversuches mit den Teilnehmern



Abhängigkeit des Ergebnisses vom Messplatz

Pilzbestandteile sind in der Luft nicht gleichmäßig verteilt. Für die Bewertung der Auswertung des Ringversuches ist es jedoch entscheidend, ob abweichende Ergebnisse signifikant mit Lage der Messplätze zusammenhängen. Eine grafische Betrachtung der Ergebnisse in Abhängigkeit zum Messplatz lässt keine systematischen Abhängigkeiten des Ergebnisses vom Messplatz erkennen (siehe Abbildung 1 und 2).

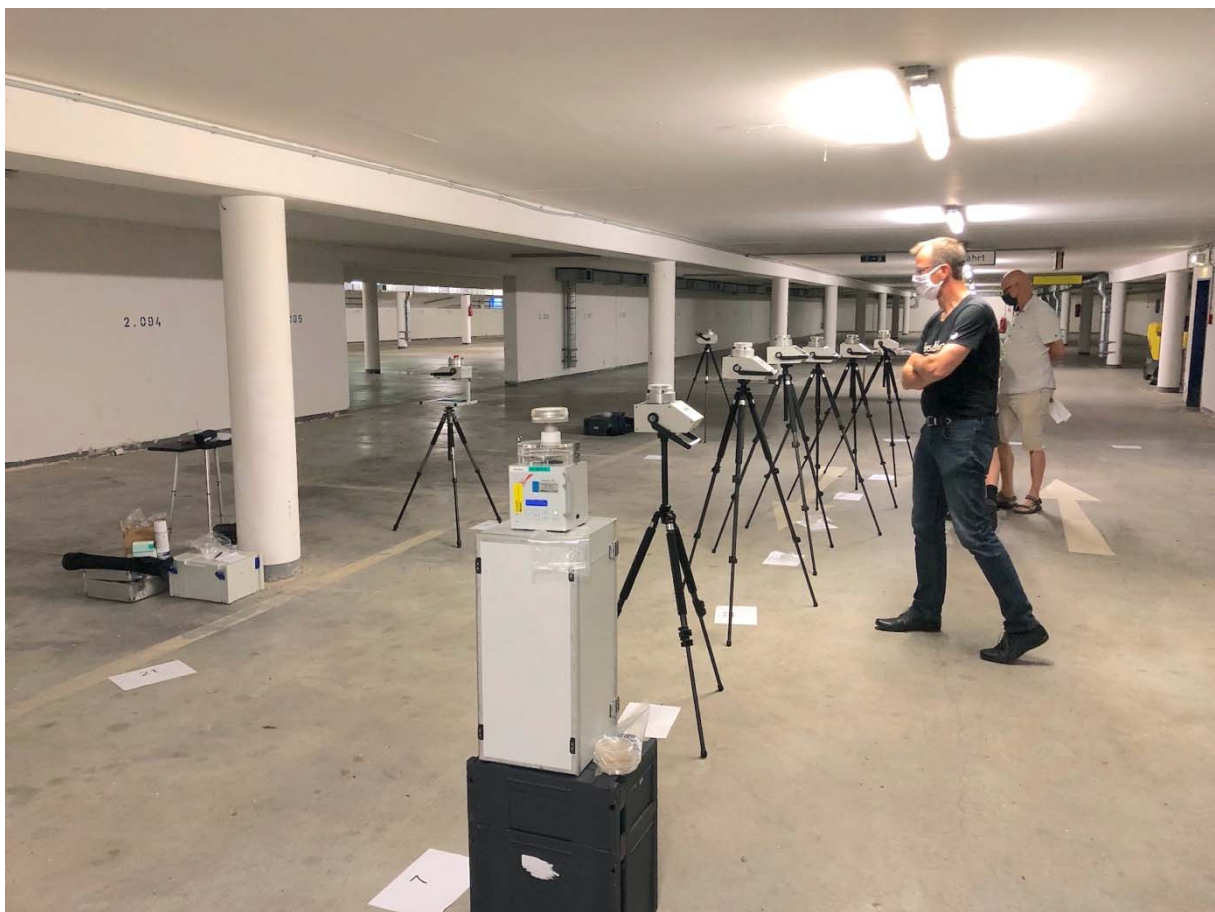
Abbildung 1: Lage der Messplätze in der Tiefgarage, direkte Impaktion auf Nährmedien. Verglichen wird jeweils die Summe der KBE/m³ an den Teilnehmerplätzen.

	Zufahrt		3770	3330	4420	4640			Ausgang zum Treppenhaus	
			28	29	30	31				
	2810	27						1	keine Teilnahme	
	3920	26						2	4060	
	3620	25						3	3840	
	3190	24						4	4170	
	3590	23						5	3930	
	4150	22						6	3810	
	3840	21						7	3010	
	5620	20						8	3220	
	3455	19						9	3990	
	3740	18						10	4440	
	4608	17						11	keine Teilnahme	
			16	15	14	13	12			
			3630	4019	4908	4190	4400			

Abbildung 2: Lage der Messplätze in der Tiefgarage, Probenahme auf Gelatinefilter. Verglichen wird jeweils die Summe der KBE/m³ und die Summe Penicillium /m³ an den Teilnehmerplätzen.

	Zufahrt ←	Platz	Summe KBE/m ³	Summe Penicillium /m ³	Ausgang zum Treppenhaus →
		28	5100	3060	
		27	4012	2720	
		25	5185	3400	
		24	5100	3060	
		22	5185	3570	
		20	5270	3400	
		7	5049	2550	

Foto 3: Blick auf die Anordnung der Probenahme mit Gelatinefilter



Ergebnisdarstellung

Bei der direkten Impaktion auf DG18 Nährmedien konnte nur die Probenahme mit 50 l ausgewertet werden und auch diese war nach den Kriterien der DIN ISO 16000-18 „Nachweis und Zählung von Schimmelpilzen - Probenahme durch Impaktion (Standardnährböden)“ überladen. Der ideale Arbeitsbereich der Kultivierung liegt bei >10 KBE einer Schimmelpilzart und <100 KBE Σ aller Schimmelpilzarten pro Nährmedienplatte, das entspricht bei 50 l Probevolumen 200 KBE/m³ einer Art und 2.000 KBE/m³ Σ aller Schimmelpilzarten. Bei der Filtration auf Gelatinefilter werden in der Regel 1.000 l Probe gezogen. Der Filter wird anschließend in 5 ml Puffer gelöst und 200 μ l Probe werden auf die Nährmedienplatte ausplattiert 10 KBE pro Platte entsprechen dann 250 KBE/m³ und 100 KBE pro Platte 2500 KBE/m³. Mittels Verdünnungsreihe lässt sich der Arbeitsbereich der Methode zu höheren Konzentrationen hin erweitern. Die Proben auf Gelatinefilter waren daher bei Schimmelpilzarten, die in hohen Konzentrationen vorlagen, gut auswertbar.

Im direkten Vergleich der Ergebnisse ergaben die Proben auf Gelatinefilter signifikant höhere KBE/m³ Zahlen im Vergleich zur direkten Impaktion. Hierfür können grundsätzlich zwei Faktoren verantwortlich sein. Zum einen werden bei der Suspension der Gelatinefilter anhaftende Sporenaggregate aufgelöst, was zu einer höheren Koloniezahl auf den Nährmedien führt. Zum anderen muss aufgrund der erhöhten Koloniezahlen auf den Impaktionsplatten angenommen werden, dass dies zu einer Unterdrückung bestimmter Pilzspezies wie z. B. der langsam wachsenden *Wallemia sebi* Kolonien geführt haben kann. Dies zeigt einen methodischen Nachteil der Probenahme mittels direkter Impaktion auf Nährmedien bei sommerlichen Verhältnissen oder bei Probenahmen, in denen aufgrund von Schimmelbefall, mit erhöhten Schimmelpilzkonzentrationen gerechnet werden muss. In diesen Situationen besteht die Gefahr einer Unterbewertung der Ergebnisse bei der direkten Impaktion auf Nährmedien. Insbesondere die für Innenraumuntersuchungen relevante Art *Wallemia sebi* wurden bei der Probenahme über Gelatinefilter in deutlich höheren Konzentrationen KBE/m³ (siehe Tabelle 1 und 2) nachgewiesen, da die Schimmelpilze in der Probe in verdünnter Konzentration vorlagen. Die Bestimmung von *Wallemia sebi* wurde zudem mit deutlich geringeren Schwankungen nachgewiesen.

Im Gegensatz hierzu wurden bei der direkten Impaktion auf Nährböden Cladosporium in deutlich höheren Konzentrationen KBE/m³ nachgewiesen als bei der Sammlung auf Gelatinefilter. Dieser Effekt wurde schon bei früheren Ringversuchen beobachtet und bestätigt sich erneut. Erklärt werden kann dies durch einen höheren sogenannten biologischen Sammelstress der Cladosporium Sporen auf Gelatinefilter. Dies reagieren empfindlich auf Austrocknung in der Zeit zwischen Probenahme und der Kultivierung im Labor. Dies muss jedoch keinen prinzipiellen Nachteil der Sammlung auf Gelatinefilter darstellen, da gerade in den Sommermonaten die große Anzahl an Cladosporium bei der Aufgabenstellung einen Schimmelpilzbefall in Innenräumen nachzuweisen eher als ein Störfaktor betrachtet werden kann. Eine Aussage darüber, ob es auch bei anderen Schimmelpilzarten aufgrund des biologischen Sammelstresses zu einem Minderbefund kommen kann, ist aufgrund der Ergebnisse des Ringversuchs abschließend nicht möglich. Eine gravierende Erhöhung des Probevolumens erscheint jedoch aufgrund des nachgewiesenen biologischen Sammelstresses nicht angeraten.

Tabelle 1: Übersicht über Ergebnisse der direkten Impaktion auf Nährmedien nach Teilnehmer. Die besonders Interessanten Ergebnisse für Penicillien und *Wallemia sebi* wurden rot markiert. Ausgeblendet wurden zur besseren Übersichtlichkeit die Ergebnisse von Pilzen, welche nur in geringen Zahlen nachgewiesen wurden.

Platz-Nummer	Aspergillus glaucus-Komplex	Cladosporium spp.	Penicillium sp. (Typ A)	Penicillium sp. (Typ B)	Penicillium spp.	Summe Penicillium	Wallemia sebi	Summe KBE/m3
2	20	810	560	1950	30	2540	630	4060
3	10	1190	480	1520	40	2040	480	3840
4	30	1160	470	1870	50	2390	550	4170
5	30	1220	590	1380	70	2040	590	3930
6	20	1200	550	1620	20	2190	360	3810
7	20	1360	430	700	50	1180	360	3010
8	30	1270	440	1070	50	1560	300	3220
9	10	1320	620	1530	50	2200	430	3990
10	20	1250	490	1930	80	2500	550	4440
12	10	1090	720	1710	80	2510	660	4400
13	20	1060	710	1770	20	2500	550	4190
14	30	1230	840	1950	40	2830	840	4980
15	20	1510	700	1270	90	2060	370	4010
16	40	1490	470	1270	90	1830	210	3630
17	30	1340	740	1940	70	2750	500	4680
18	40	1470	700	1120	30	1850	340	3740
19	30	1890	460	700	10	1170	300	3455
20	20	2210	980	1790	30	2800	570	5620
21	10	1520	530	1370	40	1940	330	3840
22		1610	620	1370	100	2090	420	4150
23	30	1280	490	1310	50	1850	350	3590
24		1240	520	1060	50	1630	250	3190
25	20	1370	560	1270	90	1920	260	3620
26	60	1350	510	1560	80	2150	300	3920
27	20	1210	290	870	30	1190	360	2810
28	50	1210	460	1530	80	2070	410	3770
29	50	1200	430	1080	50	1560	500	3330
30	10	1440	580	1940	80	2600	310	4420
31	40	1350	610	1990	40	2640	580	4640
Mittelwert [KBE/m3]	27	1340	571	1463	55	2089	437	3947
Standardabweichung [%]	50	19	25	26	45	23	34	15
Median	20	1280	550	1520	50	2070	410	3920
Min	10	810	290	700	10	1170	210	2810
Max	60	2210	980	1990	100	2830	840	5620
Mittelwert + 30 %						2716	568	5131
Mittelwert - 30 %						1462	306	2763

Tabelle 2: Übersicht über Ergebnisse der Sammlung auf Gelatinefilter nach Teilnehmer. Die besonders Interessanten Ergebnisse für Penicillien und *Wallemia sebi* wurden rot markiert. Ausgeblendet wurden zur besseren Übersichtlichkeit die Ergebnisse von Pilzen.

Platz-Nummer	Cladosporium spp.	Penicillium A	Penicillium B	Penicillium spp.	Summe Penicillium	Walemia sebi	Summe
7	850	714	1598	238	2550	1445	4845
20	680	1054	2210	136	3400	1190	5270
22	510	884	2499	187	3570	1020	5100
24	510	799	1904	357	3060	1530	5100
25	850	1088	2210	102	3400	850	5100
27	510	663	1853	204	2720	680	3910
28	765	884	2074	102	3060	1275	5100
Mittelwert [KBE/m3]	668	869	2050	189	3109	1141	4918
Standardabweichung [%]	23,7	18,4	14,3	47,6	12,1	27,1	9,4
Median	680	884	2074	187	3060	1190	5100
Min	510	663	1598	102	2550	680	3910
Max	850	1088	2499	357	3570	1530	5270
Mittelwert + 30 %					4041	1484	6393
Mittelwert - 30 %					2176	799	3443

Abbildung 3: Direkte Impaktion, grafische Darstellung der wesentlichen Ergebnisse.

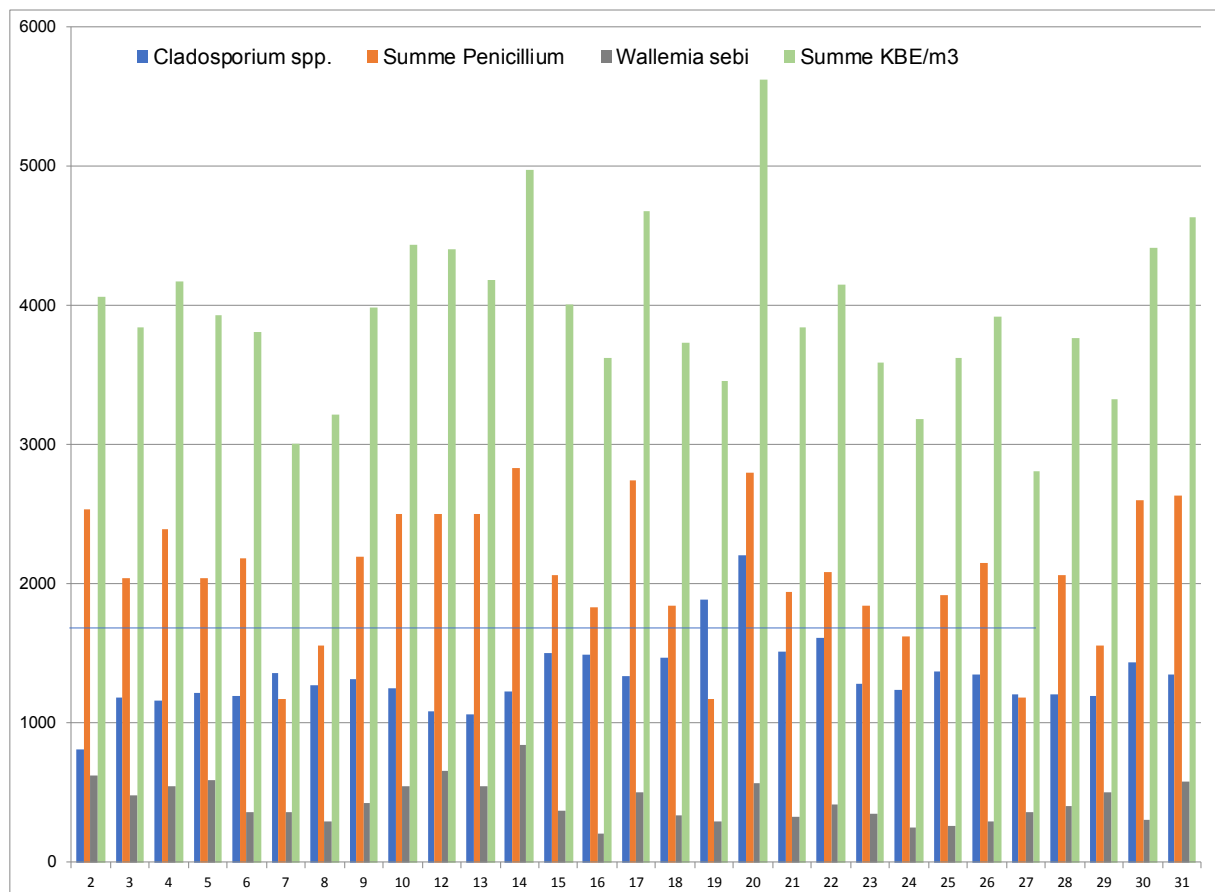
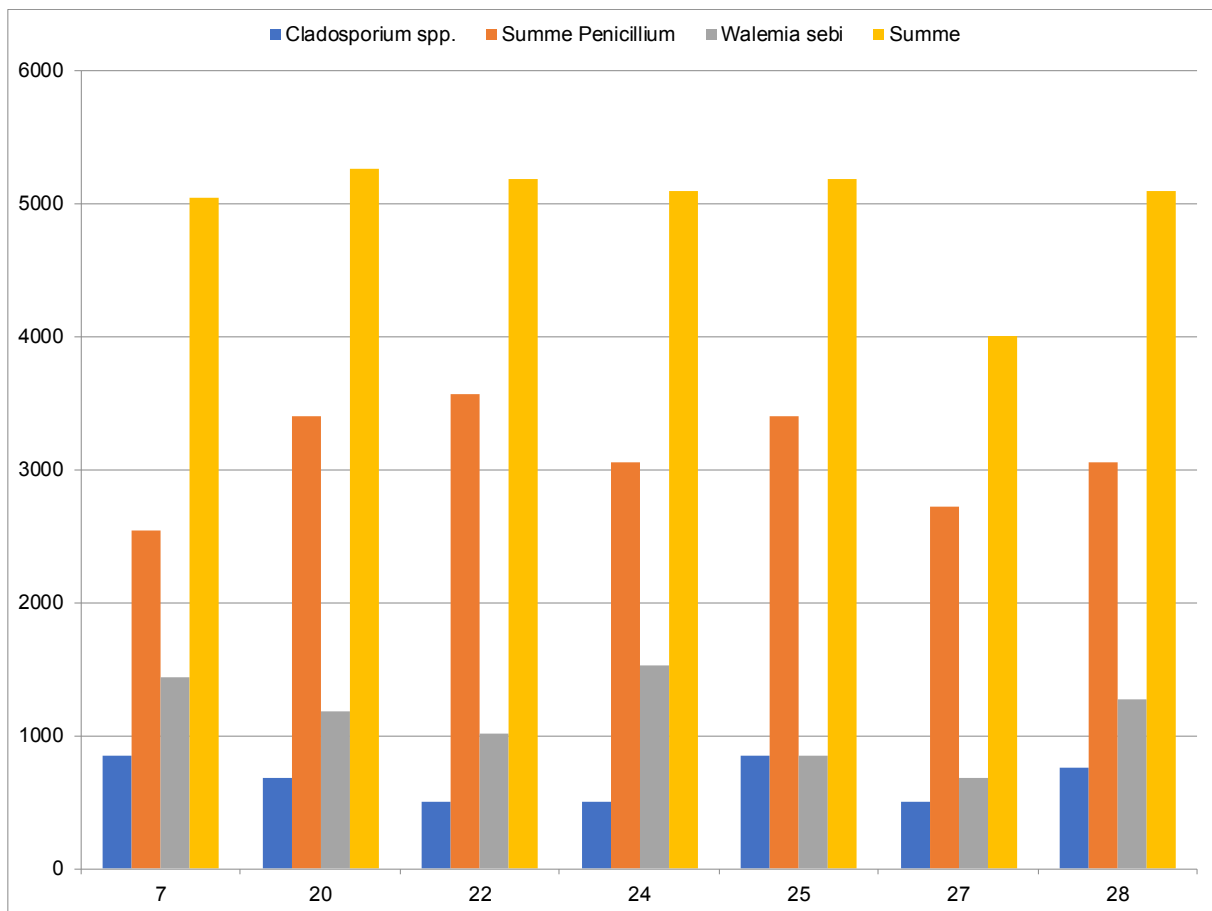


Abbildung 4: Sammlung auf Gelatinefilter, grafische Darstellung der wesentlichen Ergebnisse



Fazit

Die Ergebnisse zeigen im Vergleich zu den früheren Ringversuchen, dass die Qualität der Ergebnisse verbessert werden konnte.

Die Schimmelpilzkonzentration der Luft lag nicht im idealen Arbeitsbereich der Impaktion, sie war mit ca. 3.900 KBE/m³ Σ aller Sporen hoch. Bei der Sammlung auf Gelatinefilter konnte die Schimmelpilzkonzentration aufgrund von Verdünnungsschritten genauer erfasst werden. Die Bestimmungsgrenze dieser Methode lag bei 250 KBE/m³, Geringen Konzentrationen wie z. B. die vom Aspergillus-glaucus-Komplex (Mittelwert 27 KBE/m³) lassen sich mit dieser Methode dagegen nicht nachweisen. Der Probenehmer muss in der täglichen Routine folglich immer abschätzen, welche Schimmelpilzkonzentration er erwartet, um das geeignetste Probenahmeverfahren oder Probenvolumen auszuwählen.

Eine fehlerhafte Probenahme war bei keinem der Teilnehmer zu erkennen.

Dieser Auswertung liegt ein Zertifikat über die Teilnahme am Ringversuch bei.

Wir bedanken uns bei Dr. Christoph Trautmann für die Durchführung des Ringversuchs und bei Dr. Thomas Gabrio für die wissenschaftliche Begleitung.



Uwe Münzenberg,
Leiter des VDB-Ringversuchs