

Auswertung

14. VDB-Probenvergleichsmessung 2022

Probenahme von Schimmelpilzen aus der Raumluft - Kultivierung auf Nährmedien

Ziel der Probenvergleichsmessung

Ziel des 14. 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 für eine Zertifizierung oder Akkreditierung notwendige Teilnahme an Ringversuchen nachweisen zu können.

Bei der durchgeführten Probenvergleichsmessung liegt der alleinige Fokus auf der Probenahme, nicht auf der Auswertung. Diese Probenvergleichsmessung diene somit ausschließlich der **Qualitätssicherung der Probenahme**. Die Proben wurden daher von einem Labor (Umweltmykologie Berlin) ausgewertet, um die Messunsicherheit der labormäßigen Bestimmung der Schimmelpilze zu minimieren.

Der Ringversuch fand am 21. Juni 2022 von 17:00 Uhr bis ca. 18:30 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. Der Nachweis und die Zählung der Schimmelpilze aller Proben erfolgte durch ein beauftragtes Labor nach DIN ISO 16000-17 (2008) Nachweis und Zählung von Schimmelpilzen – Kultivierungsverfahren. Die Probenahmemedien, DG-18 Standard-Petrischalen und die Gelatinefilter wurden gestellt.

Ablauf der Probenvergleichsmessung

Jeder Teilnehmer bekam eine Teilnehmernummer zugeteilt. Mit dieser Nummer wurde dem Teilnehmer ein fester Messplatz zugewiesen und die DG 18 Nährböden und die Gelatinefilter ausgehändigt. Die Proben und die Ergebnisse werden anonym unter dieser Teilnehmernummer verwaltet. Für die direkte Impaktion werden jeweils Doppelproben mit 2 verschiedenen Volumina (20 und 50 Liter) auf DG18 gezogen. Die Gelatinefilter wurden mit 1000 Liter beladen.

Die Vorbeprobungen zeigten, dass eine Mobilisierung der Oberflächen in der Tiefgarage oder eine Konditionierung der Luftführung nicht zielführend ist. Es erfolgte daher keine gesonderte Präparation des Raumes.

Die Probenvergleichsmessungen startete mit den anwesenden Teilnehmern zeitgleich. Zuerst erfolgte die Probenahme auf Nährböden und im Anschluss zeitgleich die Probenahme auf Gelatinefilter.

27 Teilnehmer beteiligten sich an der Probenahme mit direkter Impaktion auf Nährböden, 9 Teilnehmer beteiligten sich an der Probenahme auf Gelatinefilter.

Ergebnisdarstellung

Bei der direkten Impaktion auf DG18 Nährmedien konnte nur die Probenahme mit 20 L ausgewertet werden und auch diese war nach den Kriterien der DIN ISO 16000-18: Nachweis und Zählung von Schimmelpilzen - Probenahme durch Impaktion (Standardnährböden) deutlich überladen. Der ideale Arbeitsbereich der Kultivierung liegt bei >10 KBE einer Schimmelpilzart und <100 KBE Σ aller Schimmelpilzarten pro Nährmedienplatte. Das entspricht beispielsweise bei 50 l Probevolumen 200 KBE/m³ einer Art und 2000 KBE/m³ Σ aller Schimmelpilzarten.

Bei der Filtration auf Gelatinefilter wurde 1000 l Probenahmevolumen 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, wie sie typischerweise in den Sommermonaten auftreten, erweitern. Die Proben auf Gelatinefilter waren daher gut auswertbar.

Im direkten Vergleich der Ergebnisse fällt zunächst auf, dass im Gegensatz zur Auswertung auf Gelatinefilter bei der direkten Impaktion auf Nährmedien *Aspergillus restrictus* nicht nachgewiesen werden konnte. Dies ist erklärbar, da *Aspergillus restrictus* gegenüber anderen Pilzen langsamer wächst und deshalb bei der Überbelegung der Nährmedien keine Chance bestand *Aspergillus restrictus* nachzuweisen. In diesen Situationen besteht die Gefahr einer Unterbewertung der Ergebnisse bei der direkten Impaktion auf Nährmedien für langsam wachsende Pilze. Dies zeigt einen methodischen Nachteil der Probenahme mittels direkter Impaktion auf Nährmedien bei sommerlichen Verhältnissen oder bei Probenahmen, in denen aufgrund von Schimmelfall, mit erhöhten Schimmelpilzkonzentrationen gerechnet werden muss.

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.

Bei der Betrachtung der Messunsicherheit zwischen der direkten Impaktion und der Filtersammlung fällt auf, dass die Messunsicherheit bei der Filtersammlung leicht höher ist. Dies suggeriert auf den ersten Blick eine „höhere Genauigkeit“ der direkten Impaktion gegenüber der Filtersammlung. Der Effekt ist einfach erklärbar, da bei den (überladenen) Nährmedien mehr Sporen gezählt werden als bei den Nährmedien welche über Suspension mit nach DIN idealen Belegung von 100 KBE/Platte.

Tabelle 1: Ergebnisse der direkten Impaktion auf Nährmedien. Ausgewertet wurde nur die Probenahme von 20l

Art/Gattung	Mittelwert	Sr	Mittelwert
	KBE/m ³	%	KBE/Platte
Aspergillus candidus	1	510	0
Aspergillus glaucus-Komplex	239	38	5
Aspergillus niger-Komplex	3	283	0
Aspergillus ochraceus-Komplex	9	130	0
Aspergillus versicolor-Komplex	58	79	1
Aureobasidium pullulans	8	163	0
Botrytis cinerea	9	182	0
Cladosporium spp.	7015	11	140
Hefen	3	374	0
Hefen (Rhodotorula sp.)	628	42	13
Mucor sp.	1	510	0
Penicillium spp.	6294	10	126
Wallemia sebi	995	32	20
sonstige Pilze	31	133	1
sterile Kolonien	0		0
Summe	15295	8	306

Tabelle 2: Ergebnisse der Sammlung auf Gelatinefilter mit einem Probenahmevolumen von 1000l.

Art/Gattung	Mittelwert	Sr
	KBE/m ³	%
Aspergillus candidus	0	0
Aspergillus glaucus-Komplex	86	41
Aspergillus niger-Komplex	0	0
Aspergillus ochraceus-Komplex	50	0
Aspergillus restrictus-Komplex	13167	24
Aspergillus versicolor-Komplex	117	31
Aureobasidium pullulans	0	0
Botrytis cinerea	0	0
Cladosporium spp.	1253	37
Hefen	0	0
Hefen (Rhodotorula sp.)	0	0
Mucor sp.	0	0
Penicillium spp.	4256	26
Wallemia sebi	679	68
sonstige Pilze	0	0
sterile Kolonien	0	0
Summe	19492	18

Hinweis: Die gesamte Auswertung liegt aufgrund der großen Anzahl der Daten als Excel-Tabelle zu Information bei.

Bewertungskonzept der Teilnehmer

Für die Bewertung der Teilnehmer, ob deren Probenahme erfolgreich war wurde jeweils nur die Ergebnisse der *Penicillium* spp, der *Cladosporium* spp und die Summe auf den Nährmedien herangezogen. Der Mittelwert aller Teilnehmer wurde als Bezugswert für die Bewertung herangezogen. Bei der Impaktion wurde eine zulässige Messunsicherheit von +20% angenommen bei der Filtration eine von +30%. Lag das Ergebnis des Teilnehmers innerhalb der Messunsicherheit, wurde dies mit einem Punkt bewertet.

- Erfolgreich hat am Ringversuch teilgenommen, wer mindestens 2 Gattungen innerhalb der Messunsicherheit richtig bestimmt hat.
- Eine fehlerhafte Probenahme war bei keinem der Teilnehmer zu erkennen.
- Dieser Auswertung liegt ein Zertifikat über die Teilnahme am Ringversuch bei.

Wir bedanken uns für die wissenschaftliche Begleitung des Ringversuchs bei Dr. Thomas Gabrio.

Uwe Münzenberg, Leiter des VDB-Ringversuchs