

# Auswertung

## 10. VDB-Ringversuch 2016

### Probenvergleichsmessungen zu Schimmelpilzen aus Raumluf - Partikelsammlung und Kultivierung

am Montag, 11. April 21016

in der Bayerischen Landesanstalt für Weinbau und Gartenbau in Bamberg

In Kooperation mit der Arbeitsgemeinschaft ökologischer Forschungsinstitute (AGÖF) e.V.

### Beschreibung des Ringversuchs

---

Ziel des 10. VDB-Ringversuchs ist, den beteiligten Laboren und Sachverständigen die Möglichkeit zu geben, die Qualität ihrer Ergebnisse zu prüfen. Die Teilnehmer sollen überprüfen können, ob sie richtige Ergebnisse produzieren.

Der Ringversuch fand am 11. April 2016 von 10:00 Uhr bis ca. 12:30 Uhr in einem Gewächshaus der Bayerischen Landesanstalt für Weinbau und Gartenbau in Bamberg statt.

Es sollten Proben zur Kultivierung (Luftproben zur Filtersammlung und direkte Impaktion auf Nährmedien) und zur mikroskopischen Bestimmung der Gesamtsporenzahl entnommen werden.

Die Ergebnisdarstellung der Teilnehmer erfolgte (ausschließlich) mittels eines zur Verfügung gestellten Erfassungsbogens (Excel-Tabellenblatt). Individuelle Ergebnisdarstellungen konnten nicht berücksichtigt werden.

Die Auswertung erfolgte in Anlehnung an der DIN/ISO 16000-16, -17, -18 und -20. Die Kultivierungen sollten nur auf DG 18 Nährmedien durchgeführt werden, um den finanziellen Gesamtaufwand vertretbar zu gestalten.

Die Labore bekamen eine standardisierte Auswertetabelle, in der die relevanten Daten der Auswertung einzutragen waren. Die Ergebnisse wurden dann jeweils in dem Auswertebogen im XLS-Format per Email zugesandt.

Die Probennahmemedien, DG-18 (90 mm Standard Petrischalen), Objektträger (Holbach) und Gelatinefilter (8 cm, ohne Stützfilter) wurden gestellt.

Im Vorfeld wurden im Gewächshaus, welches nicht bepflanzt oder anderweitig genutzt wurde, mehrmals Raumlufproben mit und ohne Ventilation entnommen und ausgewertet. Ziel war es, das Gewächshaus so zu konditionieren, dass das Messfenster der Pilzsporen in der Raumluf für die Gesamtsporenanalyse, für die direkte Impaktion auf Nährböden und für die Sammlung auf Gelatinefilter geeignet ist. Geeignete Ergebnisse wurden jeweils erzielt, wenn keine zusätzliche Ventilation im Gewächshaus durchgeführt wurde.

An dem VDB-Ringversuch beteiligten sich 38 Teilnehmer. Einige Teilnehmer führten mehrere Probenahmen, teilweise mit mehreren Geräten, durch.

## Teilnehmer am VDB-Ringversuch (alphabetische Reihenfolge)

- AUVA-Hauptstelle, Wien
- BASF SE
- Baubiologie Blöbaum
- Baubiologie Jockel
- Baubiologie Lohmann
- Baubiologie Lutz
- Baubiologie Nürnberg
- Baubiologie Plauen
- Baubiologie Steinki
- Baubiologie Streil
- Baubiologie Thiesen
- Baufritz GmbH & Co. KG
- "BGN-Berufsgenossenschaft Nahrungsmittel + Gastgewerbe Prävention Gesundheitsschutz"
- Biotec Umwelt-Analytik-Beratung-Service GmbH
- Bremer Umweltinstitut GmbH
- eco Luftqualität + Raumklima GmbH
- Erdell + Ummenhofer GmbH
- Gebäuediagnostik Wesselmann
- Hygiene-Institut des Ruhrgebiets
- IFA - Institut für Arbeitsschutz der Deutschen Unfallversicherung
- Ingenieurbüro Baubiologie Müller
- Ingenieurbüro fuer Baubiologie und Umweltanalytik
- Labor Friedle GmbH
- Landesamt für Gesundheit und Soziales Mecklenburg-Vorpommern
- Landesuntersuchungsanstalt für das Gesundheits- und Veterinärwesen Sachsen
- LBW-Bioconsult
- PMA Peri Medizinische Analytik Sindelfingen GmbH
- Sachverständigenbüro für Innenraumanalytik und Gebäuediagnostik
- Sachverständigenbüro Münzenberg
- Sachverständigenbüro Richardson
- TÜV Rheinland LGA Products GmbH
- Umweltbundesamt Fachgebiet II 1.4
- Umweltlabor ACB GmbH
- Umweltmykologie GmbH
- Universitätsklinikum Freiberg - Institut f. Umweltmedizin u. Krankenhaushygiene
- WESSLING GmbH
- Zentrum für Mykologie Köln

## Ablauf des Ringversuchs

---

Jeder Teilnehmer bekam eine Teilnehmernummer und mit der Teilnehmernummer einen Probenahmeplatz zugeteilt. Teilnehmernummer und Platznummer waren identisch.

Mit dieser Nummer bekam der Teilnehmer die Objektträger, DG 18-Nährböden und die Gelatinefilter ausgehändigt. Die Proben und die Ergebnisse wurden anonym unter dieser Probennummer verwaltet.

Die jeweiligen Probenahmen auf Nährböden und Objektträger erfolgten zeitgleich. Die Probenahme auf Gelatinefilter wurde im Anschluss an die Probenahme auf Objektträger durchgeführt.

Folgende Angaben und Hinweise sollten beachtet werden:

### Auswertung der Gesamtsporen

- Auswertung des Probenahmevolumen von 100 l.
- Übersichtsauswertung, bei der große Sporen wie z. B. die der Gattungen *Alternaria*, *Chaetomium*, *Stachybotrys*, *Epicoccum* o.ä. auf der gesamten Probenspur mit dem 40fachen Objektiv ausgezählt werden. Eintragen der Ergebnisse in die Tabelle Übersichtsauswertung.
- Bei der detaillierten Sporenzählung sollen die ersten und letzten 3 mm der Probenspur (in diesem Bereich werden in der Regel aufgrund des Kanteneffektes der Sammlerdüse zu geringe Sporenkonzentrationen erfasst) nicht ausgewertet werden.
- Bei der Detailauswertung wird die Probenspur (100 l) im rechten Winkel durchfahren. Eine derartige Durchfahrt der Probenspur wird im Folgenden als „Querauswertung“ bezeichnet. Bei der Durchfahrt der Probenspur (z. B. von rechts nach links) werden alle Sporen, die im Gesichtsfeld auftauchen, gezählt.
- Die Anzahl der Querauswertungen ist davon abhängig, wie groß der Bereich ist, der bei einer „Querauswertung“ erfasst wird. Es sind so viele Querauswertungen durchzuführen, dass ca. 4.000  $\mu\text{m}$  der gesamten Probenspur ausgewertet werden. **Anmerkungen:** Bei Zeiss-Mikroskopen mit 10fach-Okular mit 20er Gesichtsfeld und 100er Objektiv entsprechen 4.000  $\mu\text{m}$  ca. 20 Querauswertungen, wenn das gesamte Gesichtsfeld ausgewertet wird.
- Angabe des Durchmesser des Gesichtsfelds, wenn das gesamte Gesichtsfeld bei jeder Querauswertung ausgewertet wird, oder die Höhe des Zählfeldes, wenn mit einem Zählfeld gearbeitet wird.
- Die einzelnen Querauswertungen über die Probenspur sollen verteilt liegen, so dass sich die einzelnen Querauswertungen nicht überschneiden.
- Sporen von Basidiomyceten, Ascomyceten sowie sonstige uncharakteristische Sporen sind in der Tabelle unter der Kategorie „Außenlufttypen“ einzutragen. Sporen der Gattung *Cladosporium* in der Kategorie „Cladosporium“. Keine, runde bis ovale Sporen, die denen der Gattung *Aspergillus* oder *Penicillium* entsprechen, in der Kategorie „Aspergillus/Penicillium“. Myzelstücke in die Kategorie „Myzel“ ein. Sofern weitere charakteristische Sporentypen festgestellt werden, die in feuchten Innenräumen auftreten, sollen zusätzliche Kategorien in den freien Zeilen angelegt werden.
- Anzugeben sind Sporenaggregate bzw. Sporencluster separat. Als Sporenaggregat bzw. Sporencluster zählen Sporen, die in kleinen Klumpen vorliegen sowie solche, die offensichtlich zusammen auf den Objektträger aufgeschlagen sind und daher dicht nebeneinander liegen. Die Anzahl der Sporencluster soll - wenn möglich - mit erfasst werden. Hintergrund: Das Auftreten von einzelnen Clustern kann auf das Ergebnis eines bestimmten Sporentyps einen großen Einfluss haben, wenn von diesem Sporentyp insgesamt nur relativ wenige Sporen gefunden werden.
- Zu verwenden ist für die Erfassung die Tabelle Gesamtsporen in der gestellten Excel-Datei „Excel-Datei „Ringversuch\_2016“. Anzugeben sind die Rohdaten für die verschiedenen Querauswertungen und die berechneten Ergebnisse für einen Kubikmeter Probenluft.

## Impaktionsplatten

- Auszuwerten sind die Luftkeimplatten nach den Vorgaben der DIN/ISO 16000-17 und -18 mit 30 l Probenvolumen und die Ergebnisse in die Tabelle Luftkeimsammlung der Datei „Luftkeimsammlung“ der Datei Ringversuch\_2016. Das zur Auswertung am besten geeignete Probenahmevolumen muss entsprechend den Vorgaben der DIN/ISO selbst gewählt werden.
- In der Excel-Tabelle müssen die Rohdaten (Koloniezahlen der verschiedenen Gattungen auf den einzelnen Petrischalen) eingetragen werden. Außerdem müssen die Konzentrationen der erfassten Pilze pro Kubikmeter berechnet werden. Es sollen, soweit möglich, die Gattungen der Pilze angegeben werden. Eine Artbestimmung ist nicht zwingend notwendig. Das Datum der abschließenden Kolonieerfassung und die Inkubationstemperatur müssen angegeben werden.

## Gelatinefilter:

- Der Pilzgehalt der Gelatinefilter soll ausschließlich mit der Suspensionsmethode (DIN/ISO 16000 -16 und -17) bestimmt werden.
- Anzugeben sind die Rohdaten (Koloniezahlen der verschiedenen Gattungen in einzelnen Parallelen einer Verdünnungsstufe, ohne eine weitere Verrechnung) sowie die Konzentrationen der Pilze pro Kubikmeter.
- In der zur Verfügung gestellte Tabelle „Filterauswertung“ sollen die folgenden zusätzlichen Angaben eingetragen werden:
  - 1) Das Datum der Filteraufarbeitung.
  - 2) Die Zusammensetzung des Suspensionspuffers.
  - 3) Die Temperatur der Filtersuspension.
  - 4) Das Puffervolumen in ml, das zur Suspendierung des Filters verwendet wurde.
  - 5) Der Verdünnungsschritt der Suspension (üblich sind 10-fach-Schritte).
  - 6) Welcher Nähragar (Typ und Hersteller) verwendet wurde.
  - 7) Das Volumen der Aliquots, mit denen die einzelnen Verdünnungsplatten beschickt wurden.
  - 8) Das Datum der abschließenden Kolonieerfassung und die Inkubationstemperatur.

Die einzelnen Verdünnungsstufen sollen mit mindestens 3 Parallelen (DG18) angelegt werden. Die einzelnen Parallelen sollen mit 0,3 ml Suspension einer Verdünnungsstufe beschickt werden. 0,3 ml Probensuspension sind eine erhöhte Flüssigkeitsmenge, die allerdings von einer Standard-DG18-Platte nach wenigen Minuten aufgenommen werden kann. Diese erhöhte Flüssigkeitsmenge ermöglicht auch bei relativ geringen Sporenkonzentrationen in der Ausgangssuspension, dass eine ausreichend hohe Koloniezahl pro Agarplatte festgestellt wird. Die Forderung der Rohdaten ist notwendig, um Fehler in der Ergebnisermittlung ausschließen zu können bzw. abweichende Ergebnisse ggf. besser erklären zu können.

Die Auswertung des Ringversuchs wurde von einem Expertenkreis, dem Dr. Lothar Grün, Michael Köhler und Dr. Regine Szewzyk angehören, begleitet.

Der Name des auswertenden Labors wird nicht veröffentlicht. Der Name des Labors wird auch nicht an die Mitglieder des Ringversuchsqualitätsausschusses weitergeleitet.



**Abbildung 1: Blick auf das Gewächshaus**

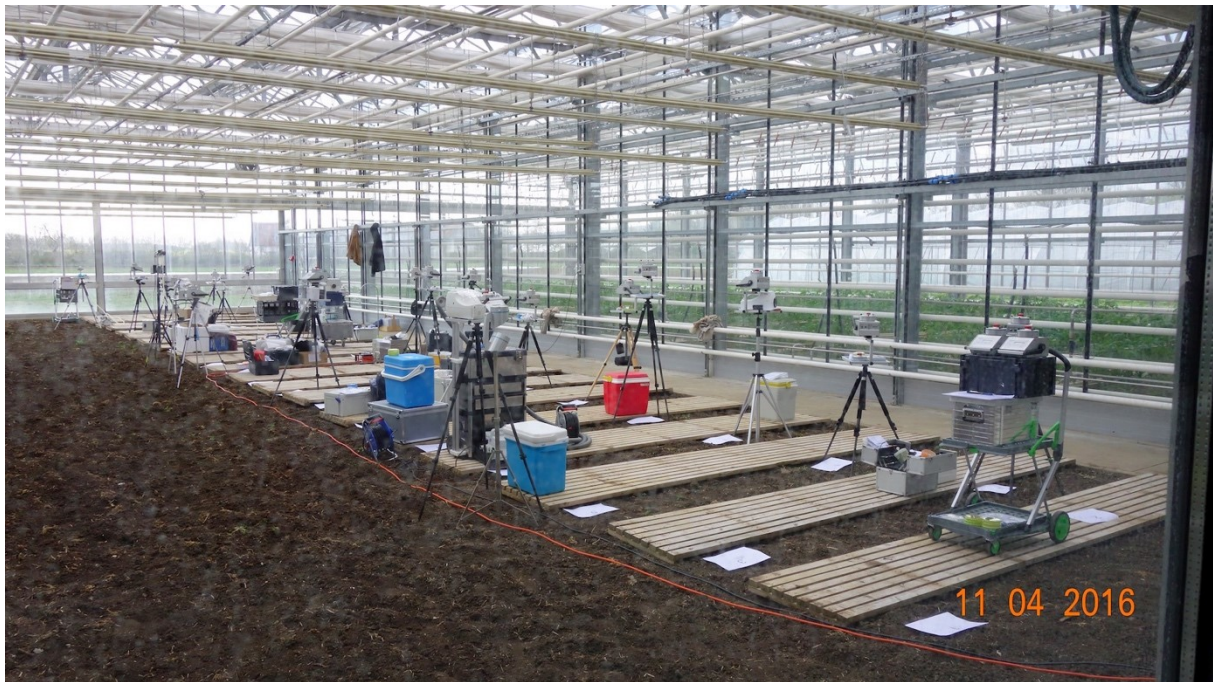


**Foto 1: Blick auf die zugeteilten Messplätze im Gewächshaus**





**Foto 2: Blick auf die teilweise aufgebauten Probenahmeeinrichtungen**



## Auswertung der Ergebnisse

### Zusammenfassung:

Die Auswertung der Ergebnisse des diesjährigen VDB-Ringversuches ergab, dass diese Ergebnisse nicht geeignet sind; mit statistischen Methoden systematischen Abweichungen zu erkennen, da die Gesamtheit der Proben nicht Normalverteilt war. Die Streuung der Daten im Verhältnis zum Mittelwert ist in allen Fällen zu groß, um signifikante Ausreißer sicher zu identifizieren. Es sind Einflüsse des Messplatzes auf das Ergebnis und bei den Gelatinefilter auch Einflüsse, wann die Proben genommen wurden, erkennbar.

Daher beschränkt sich die Auswertung des 10. VDB-Ringversuches auf eine nicht bewertete Ergebnisdarstellung und überlässt es den Teilnehmern, aus dem Vergleich ihrer Ergebnisse mit den anderen Teilnehmern, geeignete Schlüsse bezüglich der eigenen Qualitätssicherung zu ziehen. Wir sind der Meinung, dass mit dem „unbewaffneten Auge“ durchaus Auffälligkeiten in den Ergebnissen erkennbar sind (z. B. durch Berechnungsfehler), welche sich jedoch mit mathematischen Methoden nicht sicher darstellen lassen.

Anmerkung: Im Hinblick auf erkennbare Unstimmigkeiten in der Berechnung aus den Rohdaten wurden die einzelnen Labore angeschrieben und gebeten die Ergebnisse zu überprüfen.

### Auswertung der Gesamtsproten:

Die Auswertungen haben ergeben, dass eine Abhängigkeit der Ergebnisse vom Messplatz besteht, da die Anzahl der Pilzsporen mit ansteigender Teilnehmernummer ansteigt. Es sind jedoch mit dem „unbewaffneten Auge“ Auffälligkeiten in den Ergebnissen erkennbar, welche nicht ausschließlich mit einer Abhängigkeit vom Messplatz erklärt werden können. So wurden beispielsweise an einem Messpunkt doppelte Probenahmen durchgeführt, jedoch von verschiedenen Laboren mit deutlich unterschiedlichen Ergebnissen ausgewertet oder ein auffällig niedriger Wert liegt zwischen zwei Ergebnissen im oberen Bereich.

### Auswertung der Impaktionsplatten:

Ausgewertet wurde entweder das Probenahmenvolumen mit 30 l oder mit 50 l. Die DG 18 Nährgarschalen waren jedoch in der Mehrzahl der Ergebnisse überbelegt. Eine statistische Auswertung der Ergebnisse kann daher nur orientierend erfolgen.

Auch bei den Impaktionsplatten ist ein Anstieg der Summe mit ansteigender Platznummer erkennbar. Auffällige Abweichungen nach unten sind erkennbar, welche durch einen Einfluss am Messplatz allein nicht direkt erklärt werden können.

### **Auswertung Gelatinefilter**

Beim Vergleich der Ergebnisse sind einzelne große Unterschiede erkennbar, auch bei Doppelproben an ein und demselben Messplatz. Stellenweise können abweichende Ergebnisse durch eine zeitlich versetzte Probenahme erklärt werden.

### **Ergebnisdarstellung**

Die Ergebnisse des VDB-Ringversuchs sind in gedruckter Form nicht mehr übersichtlich darstellbar. Daher erfolgt die Ergebnisdarstellung in elektronischer Form als EXCEL-Datei separat per E-Mail, um eine individuelle Aufarbeitung für die jeweilige eigene Qualitätssicherung zu erleichtern.

Die Excel-Datei enthält mehrere Seiten mit Daten.

**Blatt 1:** Ergebnisse Impaktionsplatten der einzelnen Teilnehmer.

**Blatt 2:** Ergebnisse Gelatinefilter der einzelnen Teilnehmer.

**Blatt 3:** Ergebnisse Gesamtsproren der einzelnen Teilnehmer.

Wir bedanken uns für die wissenschaftliche Begleitung des Probenvergleiches bei der AGÖF, vertreten durch Dr. Lothar Grün (eco-Luftqualität + Raumklima) und bei Dr. Thomas Gabrio, sowie für die Unterstützung zur statistischen Datenauswertung bei Dr. Werner Linsler.

### **Ausblick:**

Mit Rückblick auf die Ergebnisse dieses Ringversuches sowie der vergangenen Ringversuche sind wir auf der Suche nach alternativen Möglichkeiten zur Durchführung eines Ringversuches. Es gestaltet sich immer schwieriger, geeignete Räumlichkeiten zu finden. Ein möglicherweise geeigneter Raum müsste ein sehr großer Raum mit einer Quelle sein, in welchem über einen Zeitraum von mehr als einem halben Jahr keiner Veränderung durchgeführt werden und der auch nicht genutzt wird. Selbst, wenn ein solcher Raum zur Verfügung gestellt werden könnte und im Vorfeld Messungen über einen längeren Zeitraum durchgeführt wurden, verbleiben bei einem realen Objekt immer Risiken, dass zum Zeitpunkt des Ringversuches die Raumluftkonzentrationen nicht geeignet sind.

Eine Alternative für die Probenahme in Gebäuden könnte aus Wien kommen. Die Allgemeine Unfallversicherungsanstalt (AUVA) hat dort eine Emissionskammer mit definierten Sporenkonzentrationen entwickelt, welche nun von der Universität für Bodenkultur in Wien betrieben wird. Herr Hinker von der AUVA-Hauptstelle in Wien wird freundlicherweise für uns in der Universität nachfragen, ob wir diese Emissionskammer zur Beladung der Proben für einen Ringversuch nutzen können. Sollte diese Anfrage positiv beantwortet werden, können wir uns Gedanken zur konkreten Durchführung des nächsten Ringversuches machen.

Dr. Christoph Trautmann und  
Uwe Münzenberg

Leiter des VDB-Ringversuchs