

Ergebnisse von Ringversuchen zur Validierung des Impaktionsverfahrens bei Schimmelpilzmessungen

N. Richardson, E. Szabo

Zusammenfassung Die Impaktion ist ein verbreitetes Probenahmeverfahren zur Erfassung von Schimmelpilzsporen in der Raumluft. Ringversuche haben gezeigt, dass das Ausmaß der Streuung der Einzelergebnisse – neben weiteren Randbedingungen – wesentlich von der Belegungsdichte der Nährmedien abhängt. Aus diesem Grund ist es wichtig, das Probenahmeverfahren an die Umgebungsbedingungen und Raumgegebenheiten anzupassen. Liegt die Belegungsdichte der Nährmedien in einem Bereich zwischen 30 und 100 KBE/m³, kann auf Grundlage der Ringversuchsergebnisse eine Standardabweichung von 15 % – bezogen auf die Summe der KBE – erreicht werden.

Results of round-robin tests to proof impaction as a sampling method for collecting mould fungi spores

Abstract Impaction is a well known sampling method for collecting mould fungi spores in indoor air. Round-robin tests have shown that the degree of variance of single results – besides further basis conditions – is considerably dependant on the covering density of the culture medium. Therefore, it is important to adjust the sampling volumes according to the environmental and indoor air conditions. If the covering density of the culture medium is within the range of 30 to 100 CFU (colony forming units), based on the interlaboratory tests, a standard deviation of 15 % – based on the sum of CFU – can be attained.

1 Einleitung

Das Impaktionsverfahren wird neben dem Filtrationsverfahren im Bereich von Innenraummessungen von vielen Sachverständigen seit Jahren eingesetzt [1; 2]. Bislang wurden in Veröffentlichungen widersprüchliche Angaben zur Messunsicherheit dieses Verfahrens gemacht [3; 4]. Hierbei wurde z. T. nicht zwischen den Unsicherheiten der Methode, Störungen durch die Probenehmer und den Auswertefehlern der Labore differenziert.

Das Ergebnis der Raumluftbeprobung auf Schimmelpilzsporen wird von mehreren Faktoren beeinflusst [5]. Wird zwischen Einflussfaktoren und Störungen unterschieden, ergeben sich folgende Aspekte:

● Einflussgrößen

- physikalische und biologische Sammeleffizienz der Probenahmeinrichtung,
- Probenvolumen, Durchflussrate,
- Ort der Probenahme, z. B. Ansaughöhe und Umgebung,
- Nutzungssimulation, Luftwechselrate

● Störungen

- Überladung von Nährböden bei hohen Sporenkonzentrationen (Mehrfachbelegung von Sammelbereichen, Ineinanderwachsen und gegenseitige Wachstumshemmung von Kolonien,

- Unterbelegung von Nährböden bei zu niedrigen Sporenkonzentration (zu hohe statistische Streuung),
- Sporenverschleppung durch kontaminierte Probenahmeinrichtungen (inkl. Probenehmer),
- Lagerung der Proben und Probenversand.

Ein vom Umweltbundesamt gefördertes Projekt zur Erhebung der Hintergrundwerte von „Schimmelpilzen in der Luft“ [3] basiert ebenfalls auf dem Impaktionsverfahren, wie auch die in den Schimmelpilzleitfäden veröffentlichten Bewertungshilfen [1].

Eine zu beachtende Größe bei der Anwendung dieser Bewertungshilfen ist die zu erwartende Unsicherheit der Probenahme; diese wurde bislang nicht ausreichend beschrieben. Die Ringversuche wurden mit der Zielsetzung durchgeführt, diese Unsicherheit als wichtige Kenngröße des Impaktionsverfahrens für die Probenahme von kultivierbaren Schimmelpilzen in der Innenraumluft zu ermitteln.

Beim Impaktionsverfahren wird die zu untersuchende Luft mit konstanter Strömungsgeschwindigkeit über nebeneinander angeordneten runden Düsenbohrungen angesaugt. Die Anzahl und der Querschnitt der Runddüsen variiert von Fabrikat und Typ. So hat z. B. der „Andersen Sampler N6“ 400 Runddüsen und der Luftkeimsammler „LKS 30“ 324 Runddüsen. Die Summe aller Düsenquerschnitte ist erheblich geringer als der Querschnitt der Probelufteinlassöffnung des Sammlers. Dadurch werden die in der Luft befindlichen Partikeln beschleunigt. Aufgrund der Trägheit werden diese Teilchen auf dem kurz hinter den Düsen angeordneten Nährmedium abgeschieden. Danach findet die Kultivierung, Identifizierung und Auszählung der gewachsenen Schimmelpilzkolonien statt (s. Prinzip in **Bild 1**).

Um den Einfluss des Probenahmeverfahrens auf die Schwankungen der Ergebnisse zu untersuchen, hat der Berufsverband Deutscher Baubiologen (VDB e. V.) in Zusammenarbeit mit dem Regierungspräsidium Stuttgart – Landesgesundheitsamt (LGA) 2005 und 2006 jeweils einen Ringversuch organisiert. Die Auswertung aller beaufschlagten Nährmedien wurde vom LGA Stuttgart durchgeführt. Die nachfolgenden Aussagen beziehen sich immer auf die Gesamtsumme der Sporen pro Nährmedium und nicht auf die Konzentration einzelner Spezies.

2 Material und Methoden

Die Probenahmen wurden jeweils in einem Seminarraum zweier Hotels moderner Bauart ohne Schimmelpilzbefall durchgeführt. Die Räume wurden ca. 8 h vor der Probenahme von einer Reinigungsfirma gereinigt.

Mit dem Gebläse eines Blower-Door-Gerätes wurde die Luft während des Ringversuchs gleichmäßig in Bewegung gehalten. Die Probenehmer beaufschlagten je zweimal 50, 100 und 200 l Luft auf DG18-Nährmedienplatten (90 mm Durchmesser). Zusätzlich war es den Laboren freigestellt, einen weiteren Plattensatz für die eigene Bestimmung bzw. für die

Dipl.-Biol. Nicole Richardson, Dipl.-Biol. Elke Szabo,

Qualitätssicherungsausschuss des Berufsverbandes Deutscher Baubiologen, VDB e.V., Jesteburg.

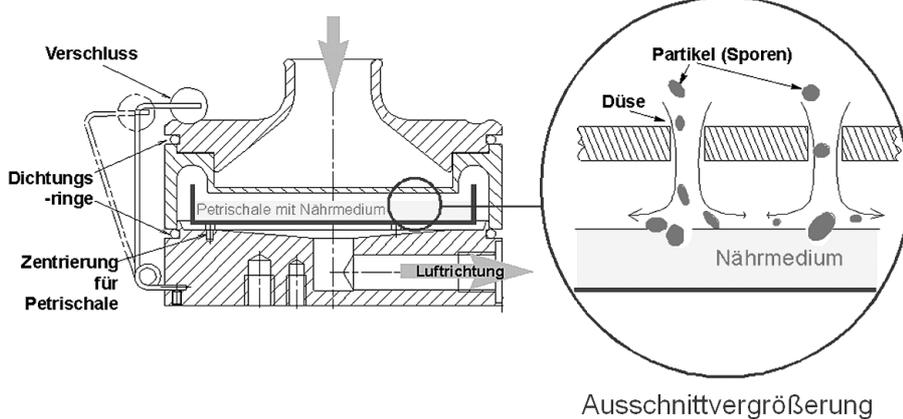


Bild 1. Impaktionsverfahren.
Quelle: www.umweltanalytik-holbach.de

Bestimmung durch ein Auftragslabor zu beaufschlagen. Die Probenahme dauerte insgesamt ca. 2 h. Den Teilnehmern wurden alle zu beaufschlagenden Nährmedienplatten (jeweils aus einer Charge stammend) vom LGA zur Verfügung gestellt. Nach den Probenahmen wurden die Nährmedienplatten bei ca. 20 °C gelagert, am nächsten Tag gekühlt ins LGA transportiert und dort ausgewertet. Die Bearbeitung der vom LGA erhaltenen Rohdaten und die statistische Auswertung der Ringversuche erfolgte mit dem Tabellenkalkulationsprogramm Microsoft® Excel. **Tabelle 1** beschreibt die Randbedingungen der Probenahme.

3 Ergebnisse und Diskussion

Der Ringversuch 2005 zeigte bei 164 ausgewerteten Einzelmessungen vier Ausreißer (nach *Grubbs* berechnet) und bei unterschiedlichen Probenahmenvolumina eine Schwankungsbreite von 20 bis 280 KBE^{1)/m⁵. Im beprobten Raum wurde mit 118 KBE/m⁵ (Mittelwert) eine für die Jahreszeit vergleichsweise geringe Sporenkonzentration gemessen. Die damit verbundene geringe Belegungsichte der Nährmedienplatten führte zu einer großen Streuung der Einzelergebnisse.}

¹⁾ KBE = Kolonie bildende Einheiten

Tabelle 1. Randbedingungen der Ringversuche 2005 und 2006.

Die mit einem Sternchen gekennzeichneten Impaktoren wurden bei der Auswertung aufgrund geringer Teilnehmeranzahl nicht berücksichtigt

	Ringversuch 2005	Ringversuch 2006
Datum	9. Juni 2005	19. Juni 2006
Raumvolumen in m ³	225	522
Probenahmenvolumen in m ³ insgesamt	22,4	81,6
Fenster geschlossen	4 h vor Probenahme	1 h vor Probenahme
Anzahl Probenehmer	33	32
Einsatz Impaktoren	11 x MBASS 30 15 x Holbach LKS 30 4 x RCS* 2 x MAS 100 1 x Spin Air* 1 x FH 2 Loreco*	12 x MBASS 30 11 x Holbach LKS 30 4 x MAS 100 1 x Zinsser Analytic pbi* 1 x Spin Air* 1 x DESAGA* 1 x MAS100 Eco 1 x Monty LS15* 1 x FH 2 Loreco*

Tabelle 2. Standardabweichung in Abhängigkeit vom Probenahmenvolumen aus den Ringversuchen 2005 und 2006. Plattenbelegung jeweils Mittelwert

	2005	2006
Standardabweichung in % bei 50 l Probenahmenvolumen	43 (Plattenbelegung 7 KBE)	15 (Plattenbelegung 47 KBE)
Standardabweichung in % bei 100 l Probenahmenvolumen	27 (Plattenbelegung 12 KBE)	12 (Plattenbelegung 73 KBE)
Standardabweichung in % bei 200 l Probenahmenvolumen	23 (Plattenbelegung 18 KBE)	14 (Plattenbelegung 104 KBE)

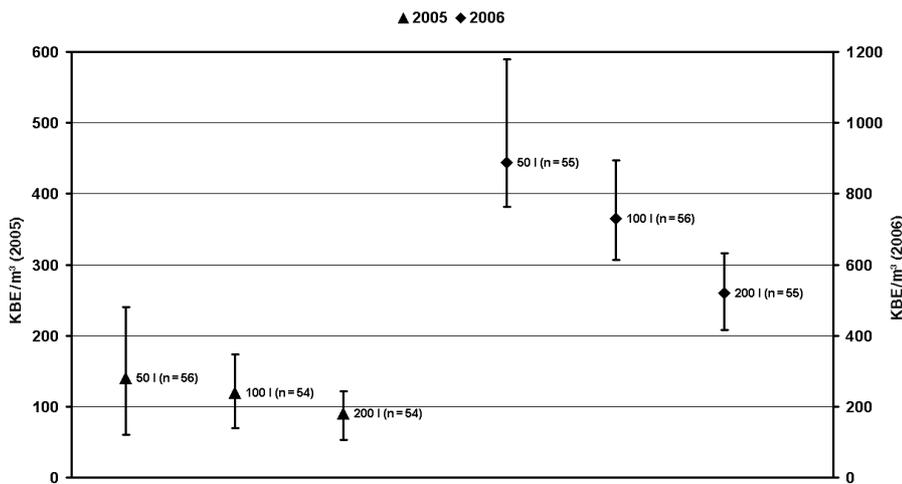


Bild 2. Vergleich Probenahmevolumen mit Median, 5- und 95-Perzentile.
n = Stichprobengröße

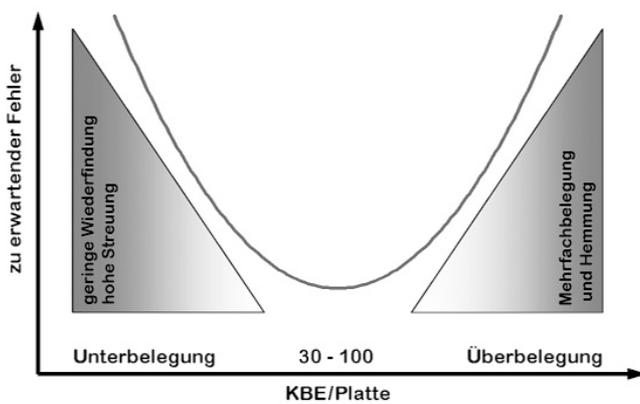


Bild 3. Empfohlene Belegdichte KBE/Nährmedium.

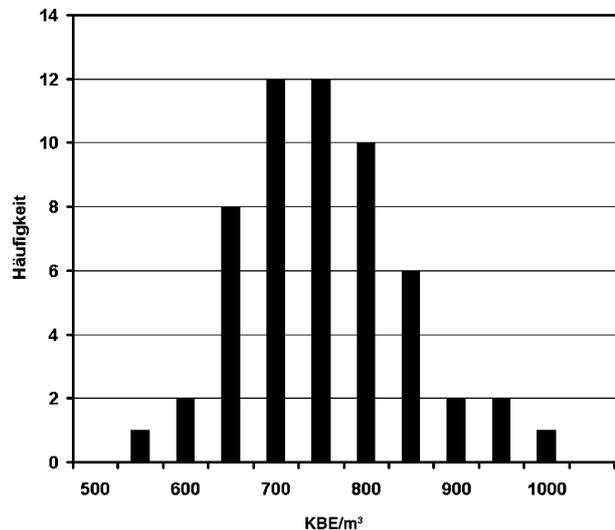


Bild 4. Verteilung bei 100 l Probenahmevolumen (2006)
Stichprobenumfang n = 56

Die relative Standardabweichung ist mit 45 % bei geringem Probenahmevolumen (50 l) ziemlich hoch. Bei Zugrundelegung des Mittelwerts von 141 KBE/m³ liegt die Belegungs-dichte der Nährmedien nur bei ca. 7 KBE.

Bei einem höheren Probenahmevolumen von 200 l war bei einer Belegungs-dichte von ca. 18 KBE eine geringere Streuung der Einzelergebnisse zu beobachten (relative Standardabweichung: 25 %).

In **Bild 2** ist die Streuung der Gesamtstichprobe grafisch dargestellt. Die Belegungs-dichte der Nährmedien mit der berechneten Standardabweichung für die einzelnen Probe-nahmevolumina zeigt **Tabelle 2**.

Der Ringversuch 2006 zeigte bei 198 ausgewerteten Einzelmessungen mit zwei Ausreißern und bei unterschiedlichen Probenahmevolumina eine Schwankungsbreite von 340 bis 1 340 KBE/m³. Im Vergleich zum Sommer 2005 wurden höhere Sporenkonzentrationen gemessen; der Mittelwert betrug 729 KBE/m³. Die relative Standardabweichung unterscheidet sich für alle Probenahmevolumina nicht signifikant, ist aber mit 12 bis 15 % deutlich geringer als im Ringversuch 2005.

Aus **Tabelle 2** geht ebenfalls hervor, dass der Messfehler durch Streuung bei zu geringer Plattenbelegung vergleichsweise groß ist. Bei zu hoher Belegungs-dichte der Nährmedien wirkt sich dagegen die gegenseitige Wachstums-

hemmung der Kolonien und die zunehmende Wahrscheinlichkeit für Mehrfachbelegungen unterhalb der Sammeldüsen als Effekt aus, der zu Minderbefunden führt. Daraus leitet sich ab, dass es einen optimalen, durch Unter- und Obergrenze definierten Bereich für die Belegungs-dichte der Nährmedien gibt, der durch Variation des Probenahmevolumens erreicht werden kann.

Im Richtlinienentwurf VDI 4500 Blatt 10 [2] wird beschrieben, dass 10 bis 100 KBE/Platte als optimal betrachtet werden. Aus den Ringversuchen ist abzuleiten, dass die Untergrenze von 10 KBE/Nährmedium eher zu gering bemessen ist. Bei einer Plattenbelegung von 12 KBE beträgt die relative Standardabweichung noch 27 %; bei 47 KBE/Platte nur noch 15 %. Durch Anhebung der Untergrenze auf 30 KBE/Platte erhöht sich demnach die Zuverlässigkeit der Messergebnisse deutlich (s. **Bild 5**).

Die Auswertung der Ringversuche zeigt, dass die Ergebnisse der Proben, die eine optimale Plattenbelegung aufweisen, annähernd normalverteilt sind (s. **Bild 4**).

Ist dagegen die Belegungs-dichte der Platte zu gering, nimmt der Einfluss der Streuung zu. Die Häufigkeitsverteilung der

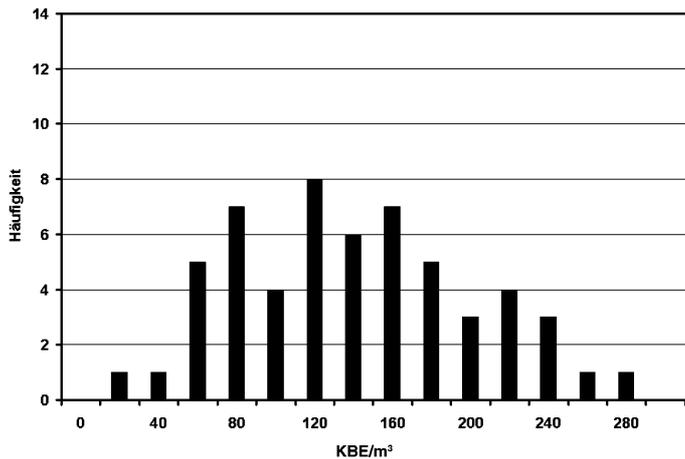


Bild 5. Verteilung bei 50 l Probenahmevolumen (2005).

Stichprobenumfang $n = 56$

Ergebnisse lässt in diesem Fall keine Normalverteilung erkennen (s. Bild 5).

Die Messunsicherheit für das Impaktionsverfahren ist somit abhängig von der Belegungsdichte, die durch Wahl des geeigneten Probenahmevolumens beeinflusst werden kann.

In der Praxis ist bei Untersuchungen vor Ort die Konzentration der Schimmelpilzsporen in der Luft nicht immer einschätzbar. Aus diesem Grund wird die Beprobung der Raumluft mit nur einem Volumen ggf. zu einer ungünstigen Belegungsdichte der Nährmedien und damit zu einem größeren Messfehler führen.

Die Möglichkeit, durch umfangreiche Probenahmen optimal auswertbare Nährmedien zu erhalten, wird in der Praxis häufig z. B. durch wirtschaftliche Aspekte limitiert. Es wird jedoch dringend empfohlen, zumindest zwei Proben mit unterschiedlichen Volumina zu entnehmen. Der wirtschaftliche Schaden für eine erneute Probenahme ist bei Nichtauswertbarkeit der Nährmedien deutlich höher. Liegt kein Ver-

dacht auf eine Quelle oder Sporenbelastung im Innenraum vor, so sollten Probenahmevolumina im Bereich von 100 bis 200 l entnommen werden. Bei erkennbaren Schäden oder Verdacht auf eine Sporenbelastung sind geringere Probenahmevolumina im Bereich von 50 bis 100 l zu empfehlen.

4 Fazit

Die Auswertung der Ringversuche zeigt, dass das Impaktionsverfahren als zuverlässige Methode geeignet ist, um die Konzentration von Schimmelpilzsporen in der Raumluft zu bestimmen. Dabei sollte der empfohlene Auswertebereich von 50 bis 100 KBE/Platte erreicht werden, um die durch das Probenahmeverfahren bedingten Messfehler möglichst gering zu halten. Dies ist insbesondere deshalb wichtig, da bei der Probenahme unter realen Bedingungen von zusätzlichen Unsicherheiten auszugehen ist.

Literatur

- [1] Leitfaden zur Ursachensuche und Sanierung bei Schimmelpilzwachstum in Innenräumen. Hrsg.: Umweltbundesamt. Berlin 2005.
- [2] VDI 4300 Blatt 10 (Entwurf): Messen von Innenraumluftverunreinigungen – Messstrategie bei der Untersuchung von Schimmelpilzen im Innenraum. Berlin: Beuth 2006.
- [3] Trautmann, C.; Gabrio, T.; Dill, I.; Weidner, U.; Baudisch, C.: Hintergrundkonzentrationen von Schimmelpilzen in der Luft – Erhebung von Schimmelpilzkonzentrationen in Wohnungen ohne bekannte Schimmelpilzschäden in 3 Regionen Deutschlands. Bundesgesundheitsbl. 48 (2005), S. 12-20.
- [4] Gabrio, T.: Auswertung des 1. VDB-Ringversuchs 2005 – Probenahme für die Luftkeimsammlung. 10. Pilztagung des VDB, 19.-20. Juni 2006 Dessau.
- [5] VDB-Richtlinien Band 2: Chemische und mikrobiologische Untersuchungen, Kap. II C1.1.: Raumluftuntersuchungen auf kultivierbare und nicht kultivierbare Schimmelpilzsporen. Hrsg.: Berufsverband deutscher Baubiologen. Jesteburg, 2. Aufl. 2004.