

Auswertung des 14. VDB-Ringversuchs 2021

Probenaustausch von beladenen Objektträgern – Auswertung von Luftproben zur Bestimmung der Gesamtsporenanzahl [DIN ISO 16000-20 (2014)]

Am 14. VDB-Ringversuch 2021/22 (Probenaustausch von beladenen Objektträgern), nahmen 23 Labore teil. In dem Ringversuch wurden 4 vorab beladene Objektträger eingesetzt. Die Proben stammten aus 4 verschiedenen realen Schadensfällen. Von drei Proben (Objektträgern) wurde eine größere Anzahl von Paralleluntersuchungen durchgeführt. Im Gegensatz zum 13. musste beim 14. Ringversuch (Probenaustausch) sowohl eine Detailauswertung als auch eine Übersichtsauswertung der gesamten Spur durchgeführt werden. Mittels der Übersichtsauswertung waren *Alternaria/Ulocladium/Helminthosporium*, *Chaetomium*, *Epicoccum*, *Pyronema/Peziza/Chromelosporium* und *Stachybotrys* mit dem 40-er Objektiv zu bestimmen. Von o.g. Sporentypen kommt den *Chaetomium*- und den *Stachybotrys*-Typ bezüglich der Bewertungsrelevanz eine besondere Bedeutung zu. Falsch positive wie auch falsch negative Ergebnisse sind in diesem Zusammenhang besonders relevant. Hintergrund dafür ist, dass die bei der Kontrolle von Schimmelpilzschadenssanierungen gemäß WTA-Merkblatt 4-12 für beide Sporentypen die bewertungsrelevanten Konzentrationen im niederen Bereich liegen, z.B. für *Chaetomium* vor der Mobilisierung bei 50 Sporen/m³ und nach der Mobilisierung bei 100 Sporen/m³ und bei *Stachybotrys* bei 20 bzw. 50 Sporen/m³. 20 Sporen/m³ entsprechen bei 100 l Probevolumen 2 Sporen pro Gesamtspur auf dem Objektträger.

Statistische Auswertung der Einzelergebnisse

Detailauswertung

Tab 1: Anzahl der Sporentypen bezogen auf die Anzahl der Sporen auf die Gesamtspur und deren Streuung in der Detailauswertung

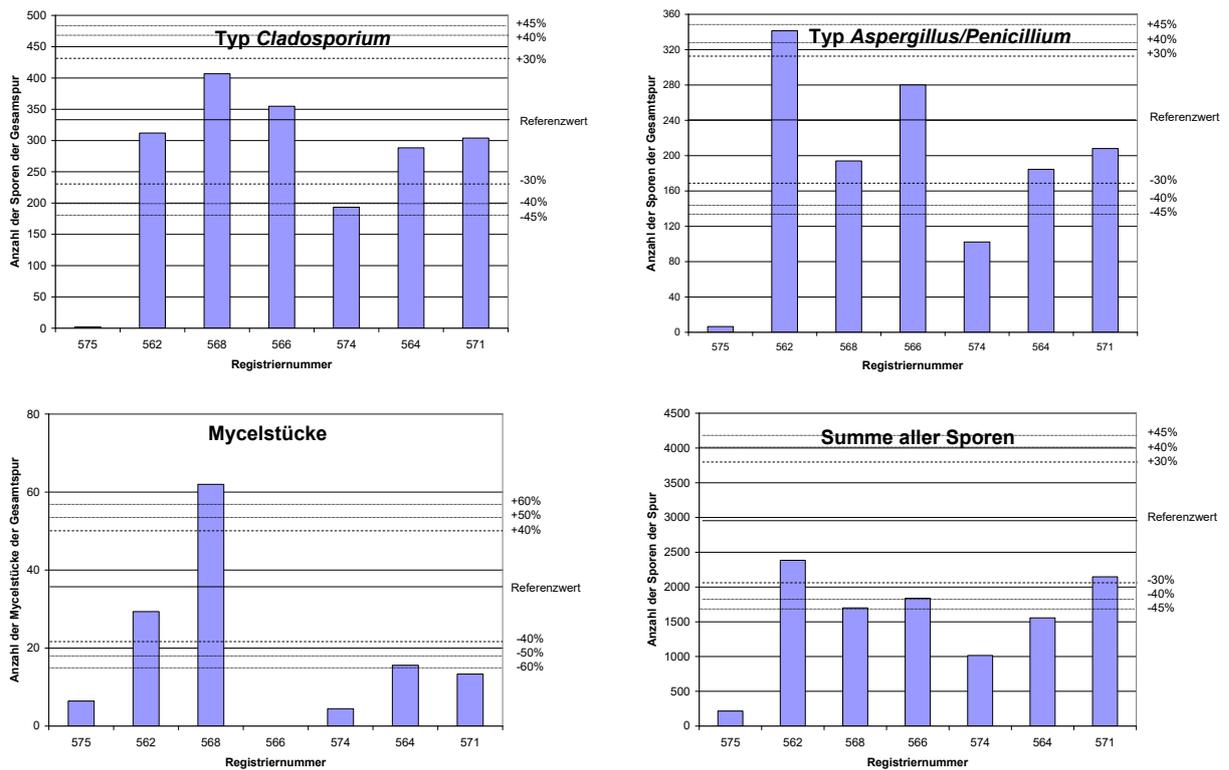
Sporentyp	Mittelwert der Ergebnisse der Referenzlabore	STABW-rel. der Ergebnisse der 3 Referenzlabore	Mittelwert der Ergebnisse der Teilnehmenden	STABW-rel. der Ergebnisse der Teilnehmenden	Mittelwert der erhaltenen Punkte
Probe E	n=3		n=8		
Typ <i>Cladosporium</i>	54	10	103	98	1,00
Typ <i>Aspergillus/Penicillium</i>	257	19	195	36	1,88
Agg. v. Typ <i>Asp./Pen.</i> 3-10 Sporen	129	71	25	34	
Mycelstücke	12	66	11	130	1,13
Summe aller Sporen	1183	19	688	51	1,50
Probe L	n=3		n=7		
Typ <i>Cladosporium</i>	332	19	266	46	2,29
Typ <i>Aspergillus/Penicillium</i>	241	19	188	54	1,86
Agg. v. Typ <i>Asp./Pen.</i> 3-10 Sporen	7	141	6	74	
Mycelstücke	36	14	19	105	0,57
Summe aller Sporen	2909	10	1551	44	1,29
Probe M	n=3		n=2		
Typ <i>Cladosporium</i>	80	40	81	40	1,5
Typ <i>Aspergillus/Penicillium</i>	210	15	262	0,19	3,0
Agg. v. Typ <i>Asp./Pen.</i> 3-10 Sporen	11	20	4	30	
Mycelstücke	21	41	9	11	0,5
Summe aller Sporen	690	25	608	0,79	3,0
Probe R	n=3		n=6		
Typ <i>Cladosporium</i>	49	20	42	44	2,17
Typ <i>Aspergillus/Penicillium</i>	227	13	166	27	2,17
Agg. v. Typ <i>Asp./Pen.</i> 3-10 Sporen	27	22	36	119	
Mycelstücke	35	33	27	43	2,17
Summe aller Sporen	396	17	359	16	3,00

Übersichtsauswertung

Tab 2: Anzahl der Sporentypen bezogen auf die Anzahl der Sporen auf die Gesamtpur und deren Streuung in der Übersichtsauswertung

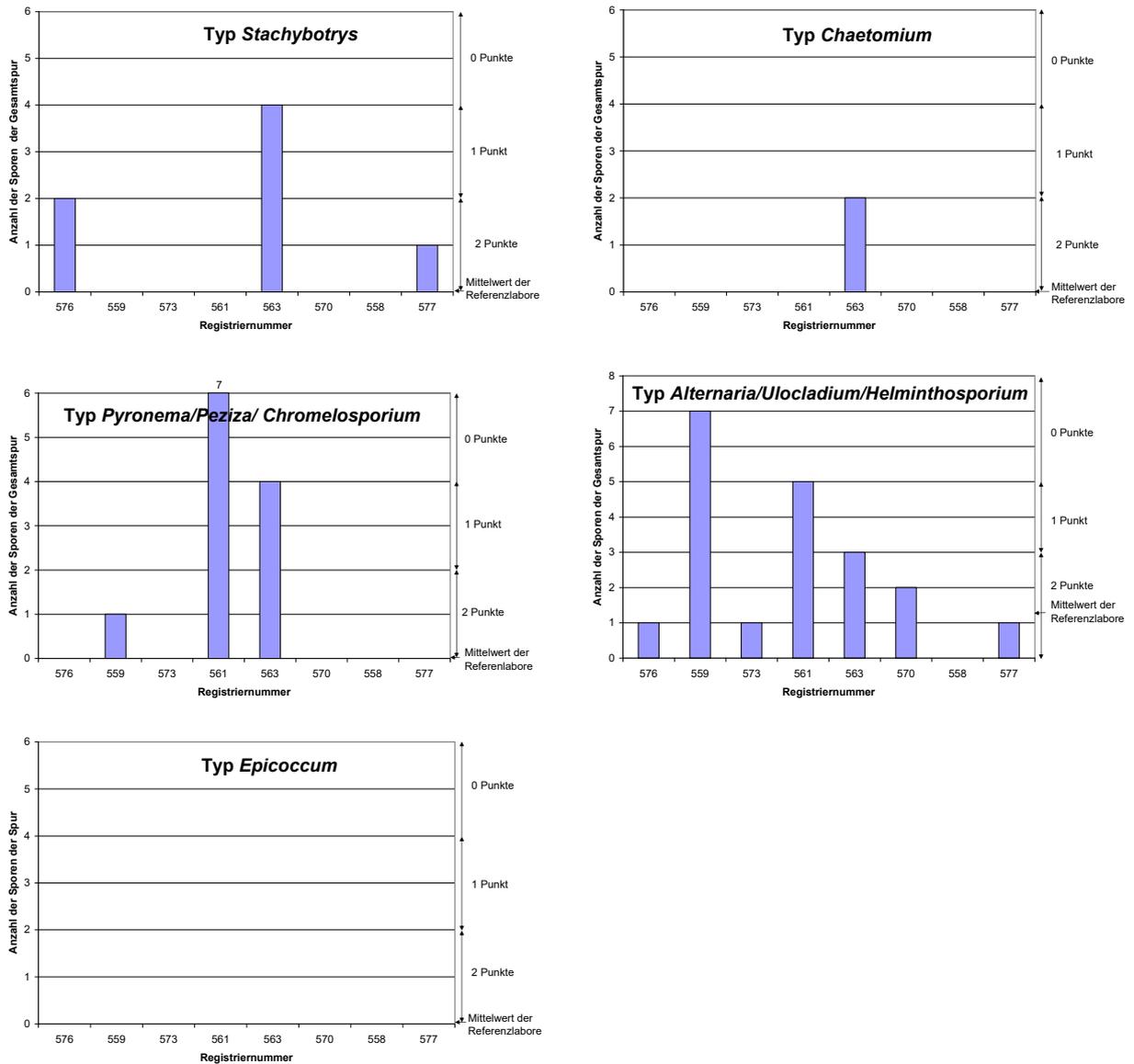
Sporentyp	Sporenanzahl der Referenzlabore	Mittelwert Sporenanzahl der Referenzlabore	STABW-rel. der Ergebnisse der 3 Referenzlabore	Mittelwert der Sporenanzahl der Teilnehmenden	STABW-rel. der Ergebnisse der Teilnehmenden	Mittelwert der erhaltenen Punkte
Probe E		3			8	
Typ <i>Stachybotrys</i>	0/0/0	0		0,88	156	1,88
Typ <i>Chaetomium</i>	0/0/0	0		0,25	265	2,00
Typ <i>Pyronema/Peziza/Chromelosporium</i>	0/0/0	0		1,38	158	1,63
Typ <i>Alternaria/Ulocladium/ Helminthosporium</i>	1/1/2	1,33	31	2,50	89	1,63
Typ <i>Epicoccum</i>	0/0/0	0		0		2,00
Probe L		3			7	
Typ <i>Stachybotrys</i>	1/0/1	0,67	61	16,43	240	1,71
Typ <i>Chaetomium</i>	3/4/3	3,33	12	2,86	78	1,29
Typ <i>Pyronema/Peziza/Chromelosporium</i>	0/0/0	0		3,71	202	1,71
Typ <i>Alternaria/Ulocladium/ Helminthosporium</i>	3/4/5	4,00	18	4,00	92	1,14
Typ <i>Epicoccum</i>	0/0/0	0		1,29	90	1,86
Probe M		3			2	
Typ <i>Stachybotrys</i>	0/0/0	0,00		0		2,00
Typ <i>Chaetomium</i>	0/1/1	0,67	61	2	50	1,50
Typ <i>Pyronema/Peziza/Chromelosporium</i>	0/0/0	0		1	100	2,00
Typ <i>Alternaria/Ulocladium/ Helminthosporium</i>	0/0/0	0		1	100	2,00
Typ <i>Epicoccum</i>	0/0/0	0		0,50	100	2,00
Probe R		3			5	
Typ <i>Stachybotrys</i>	14/18/18	17	10	16	13	2,00
Typ <i>Chaetomium</i>	31/24/22	26	13	24	18	1,83
Typ <i>Pyronema/Peziza/Chromelosporium</i>	0/0/0	0		1,17	115	1,83
Typ <i>Alternaria/Ulocladium/ Helminthosporium</i>	4/5/8	5,67	26	4,33	17	1,67
Typ <i>Epicoccum</i>	0/0/0	0		0		2,00

Abb. 1: Detailauswertung der einzelnen Teilnehmenden der Probe E



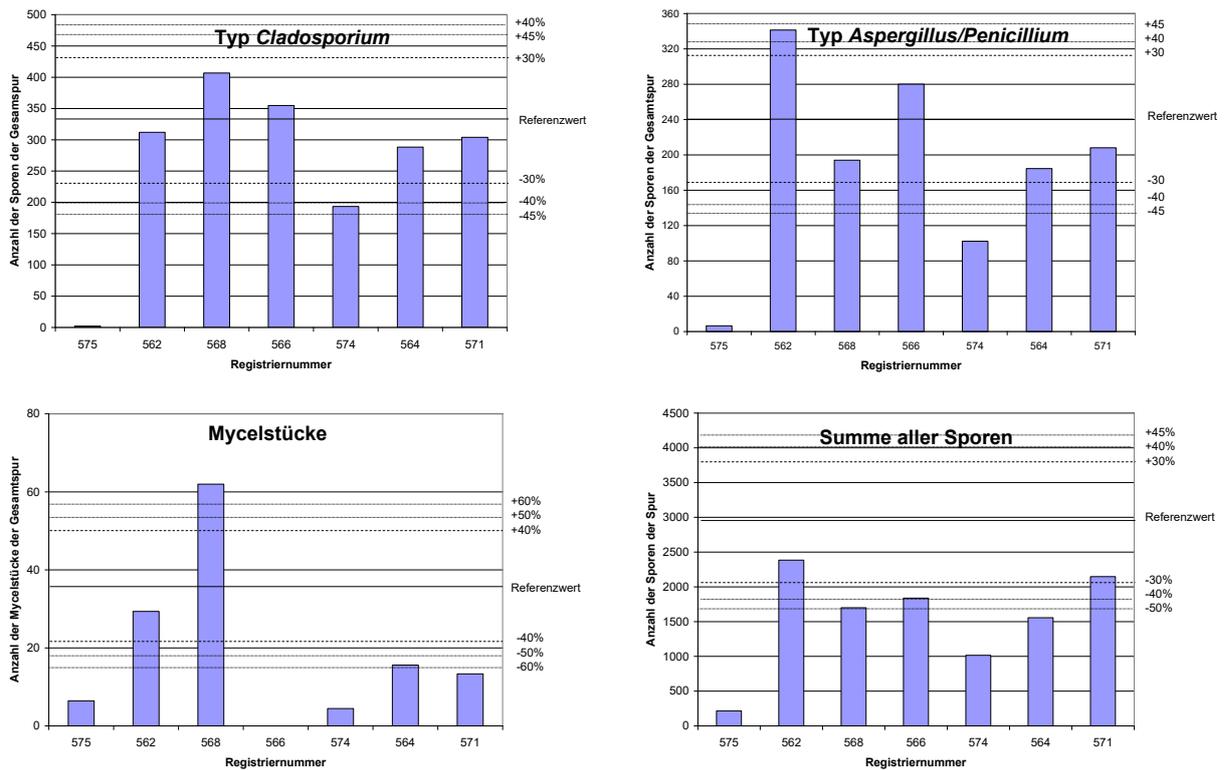
Legende: Die für die Punktevergabe der Teilnehmer relevante Bewertung im Verhältnis zur Abweichung vom Referenzwert sind durch Linien im Diagramm markiert.

Abb. 2: Übersichtsauswertung der einzelnen Teilnehmenden der Probe E



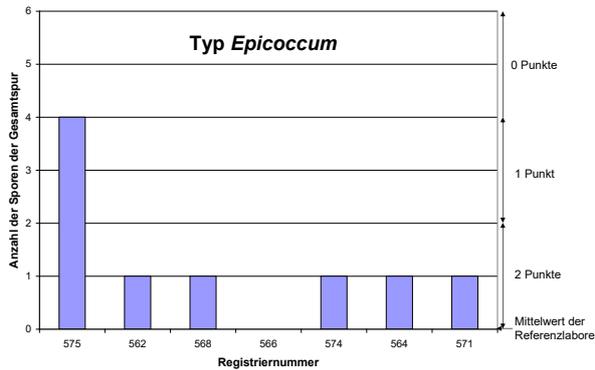
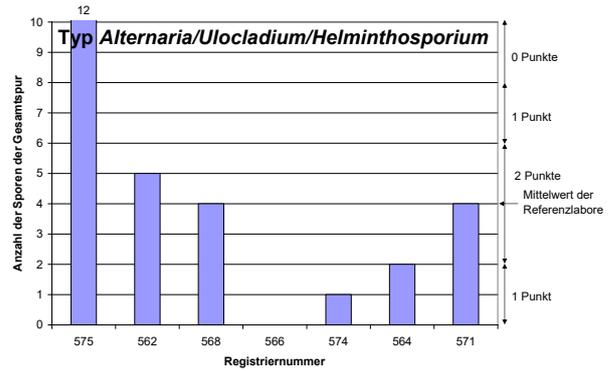
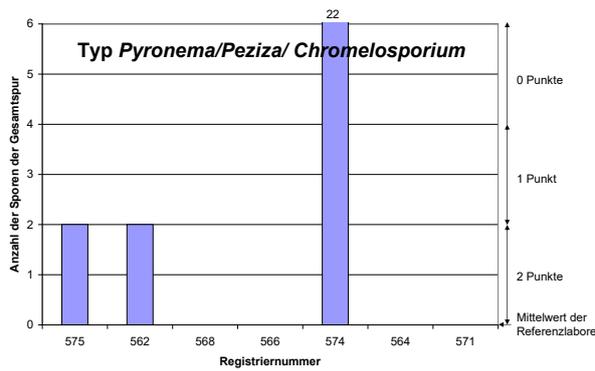
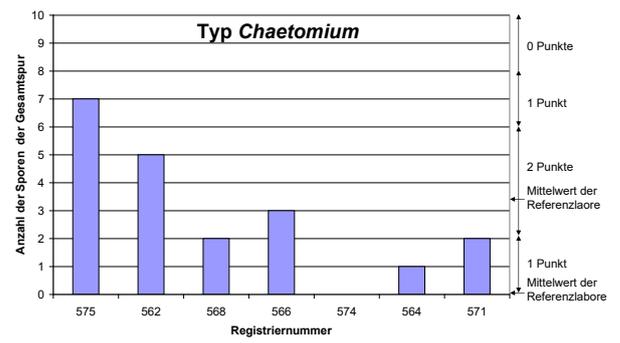
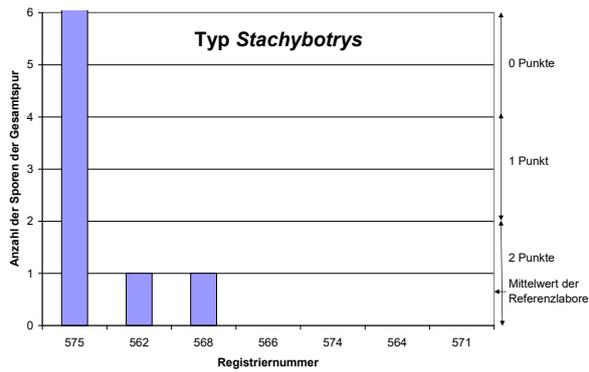
Legende: Die für die Punktevergabe der Teilnehmer relevante Bewertung im Verhältnis zur Abweichung vom Referenzwert sind durch Linien im Diagramm markiert.

Abb. 1: Detailauswertung der einzelnen Teilnehmenden der Probe L



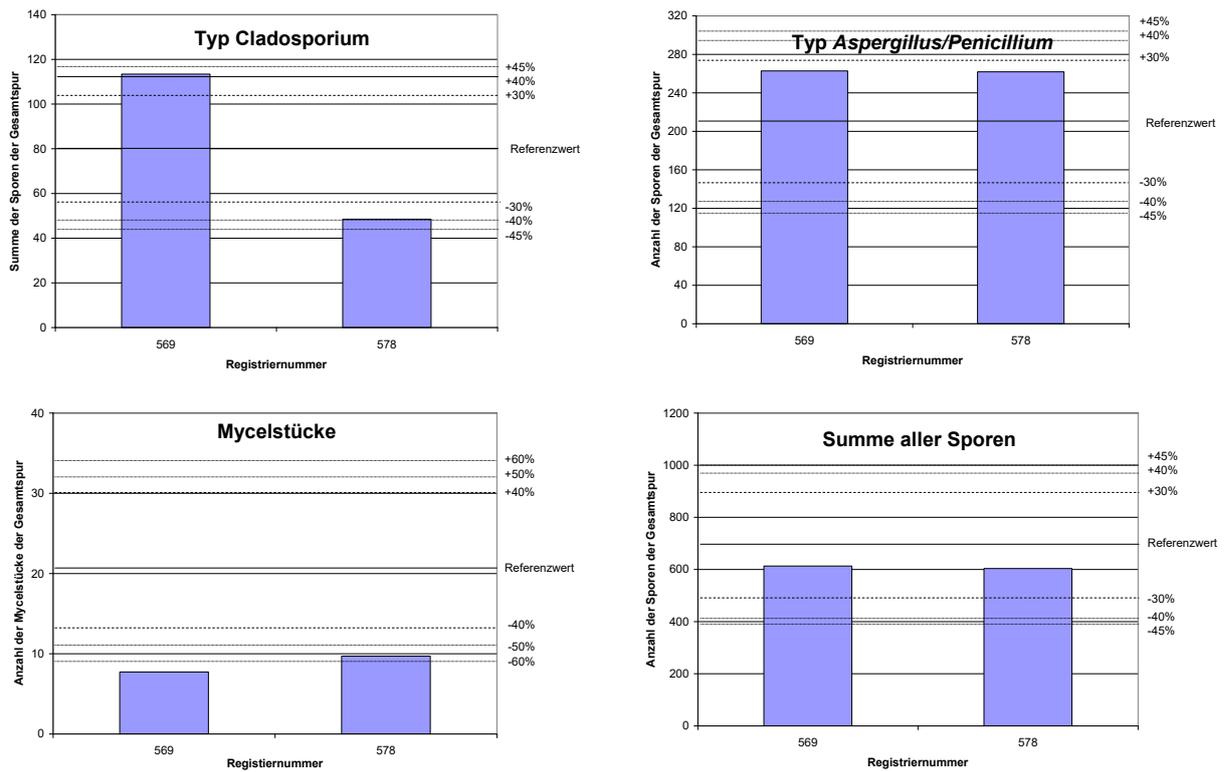
Legende: Die für die Punktevergabe der Teilnehmer relevante Bewertung im Verhältnis zur Abweichung vom Referenzwert sind durch Linien im Diagramm markiert.

Abb. 2: Übersichtsauswertung der einzelnen Teilnehmenden der Probe L



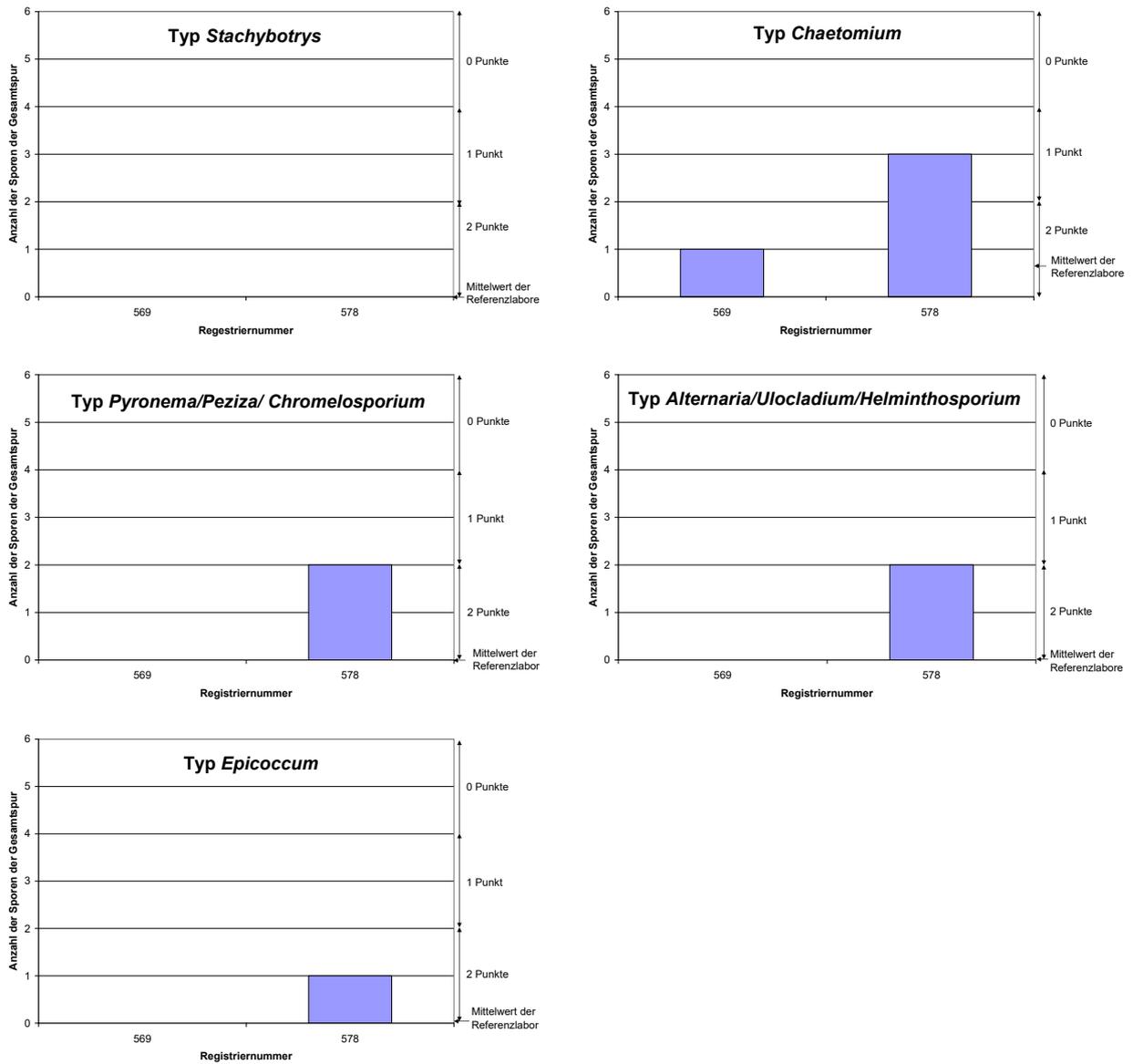
Legende: Die für die Punktevergabe der Teilnehmer relevante Bewertung im Verhältnis zur Abweichung vom Referenzwert sind durch Linien im Diagramm markiert.

Abb. 1: Detailauswertung der einzelnen Teilnehmenden der Probe M



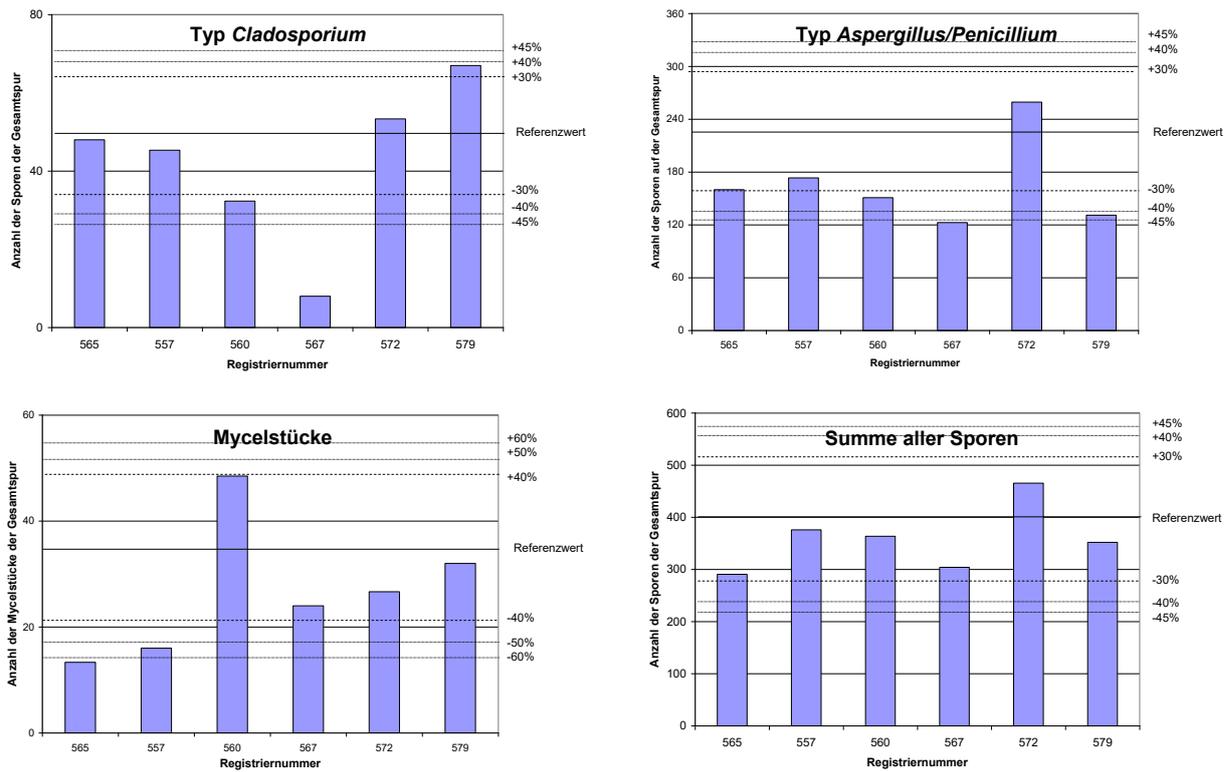
Legende: Die für die Punktevergabe der Teilnehmer relevante Bewertung im Verhältnis zur Abweichung vom Referenzwert sind durch Linien im Diagramm markiert.

Abb. 2: Übersichtsauswertung der einzelnen Teilnehmenden der Probe M



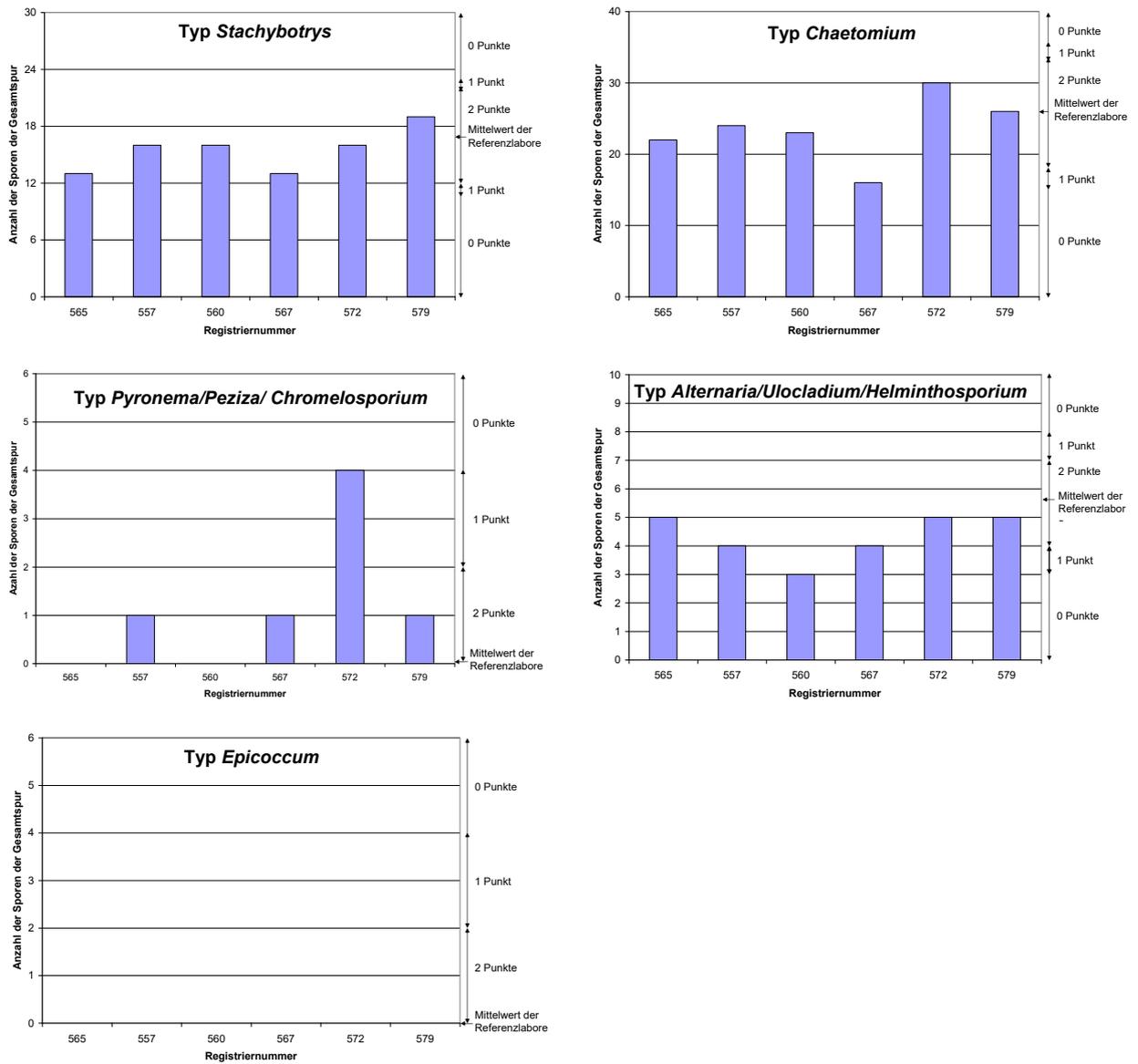
Legende: Die für die Punktevergabe der Teilnehmer relevante Bewertung im Verhältnis zur Abweichung vom Referenzwert sind durch Linien im Diagramm markiert.

Abb. 1: Detailauswertung der einzelnen Teilnehmenden der Probe R



Legende: Die für die Punktevergabe der Teilnehmer relevante Bewertung im Verhältnis zur Abweichung vom Referenzwert sind durch Linien im Diagramm markiert.

Abb. 2: Übersichtsauswertung der einzelnen Teilnehmenden der Probe R



Bewertungsgrundlage für den 14. Ringversuch

Die Tabelle 1 verdeutlicht, der Mittelwert der relativen Standardabweichung (STABW-rel.) auf der Gesamtspur der Referenzlabore ist abhängig vom Mittelwert der Sporenanzahl. Die relative Standardabweichung (STABW-rel.) ist in der Tendenz geringer, je größer die Anzahl der Sporen ist. In der Tendenz konnte festgestellt werden, dass je höher die gezählte Anzahl pro Sporentyp ist, desto geringer ist auch die relative Standardabweichung. Bezüglich der Ergebnisse der Referenzlabore wurden nachfolgende Bewertungskriterien (siehe Tabelle 3) abgeleitet.

Tabelle 3: Bewertung der Teilnahme am Ringversuch durch Punktevergabe bezüglich der Abweichung; Auswertung der Sporentypen mittels Detailauswertung

Sporentyp	+30% Abweichung vom Sollwert	+40% Abweichung vom Sollwert	+45% Abweichung vom Sollwert
Typ <i>Cladosporium</i>	3	2	1
Typ <i>Aspergillus/ Penicillium</i>	3	2	1
Summe aller Sporen	3	2	1

Die Aggregate von Typ *Aspergillus/Penicillium* 3-10 Sporen gingen in die Bewertung des Rindversuchs nicht mit ein. Bei Gutachten oder Laborbefunden sollte ihre Anzahl aber als Zusatzinformation mitgeteilt werden. Da die Konzentration der Mycelstücke in den vier Ringversuchsproben in einem niedrigeren Bereich lag, wurden bei der Punktevergabe bezüglich der Abweichung von dem von den Referenzlaboren ermittelten Sollwert höhere Abweichungen zugelassen (siehe Tabelle 4).

Tabelle 4: Bewertung der Teilnahme am Ringversuch durch Punktevergabe; Auswertung der Mycelstücke mittels Detailauswertung

Sporentyp	+40% Abweichung vom Sollwert	+50% Abweichung vom Sollwert	+60% Abweichung vom Sollwert
Mycelstücke	3	2	1

Bei der Übersichtsauswertung war zu berücksichtigen, dass die Anzahl der gezählten Sporen eines Typs z.T. in einem Bereich liegt, in dem keine Normalverteilung vorliegt, sondern eine Poissonverteilung. Liegt eine Poissonverteilung vor ist eine prozentuale Abweichung vom Mittelwert der Referenzlabore nicht sinnvoll. Dies traf für die Proben E, L und M zu.

Da den Sporentypen *Stachybotrys* und *Chaetomium* aber auch im niederen Konzentrationsbereich eine Bewertungsrelevanz zukommt, wurde ein Auswertungsschema erarbeitet, das in Tabelle 5 dargestellt ist. Dabei wird je nach Vergleichsgröße (Ergebnis der Referenzlabore) die maximale Punktzahl bei einer geringen Abweichung („größer als“ oder „kleiner als“) gegeben.

Falsch positive Ergebnisse können bei der Übersichtsauswertung zu falschen Schlüssen führen. Deshalb werden auch solche Ergebnisse abgewertet bzw. erhalten weniger Punkte.

**Tabelle 5: Bewertung der Teilnahme am Ringversuch durch Punktvergabe;
Auswertung der Sporentypen mittels Übersichtsauswertung**

Sporentyp	Anzahl	Punkte	Anzahl	Punkte	Anzahl	Punkte
Probe E						
Typ <i>Stachybotrys</i>	0-2	2	2-4	1	>4	0
Typ <i>Chaetomium</i>	0-2	2	2-4	1	>4	0
Typ <i>Pyronema/Peziza/Chromelosporium</i>	0-2	2	2-4	1	>4	0
Typ <i>Alternaria/ Ulocladium/Helminthosporium</i>	0-3	2	3-5	1	>5	0
Typ <i>Epicoccum</i>	0-2	2	2-4	1	>4	0
Probe L						
Typ <i>Stachybotrys</i>	0-2	2	2-4	1	>4	0
Typ <i>Chaetomium</i>	0-2	1	2-6	2	>6 >8	1 0
Typ <i>Pyronema/Peziza/Chromelosporium</i>	0-2	2	2-4	1	>4	0
Typ <i>Alternaria/ Ulocladium/Helminthosporium</i>	0-2	1	2-6	2	>6 >8	1 0
Typ <i>Epicoccum</i>	0-2	2	2-4	1	>4	0
Probe M						
Typ <i>Stachybotrys</i>	0-2	2	2-4	1	>4	0
Typ <i>Chaetomium</i>	0-2	2	2-4	1	>4	0
Typ <i>Pyronema/Peziza/Chromelosporium</i>	0-2	2	2-4	1	>4	0
Typ <i>Alternaria/ Ulocladium/Helminthosporium</i>	0-2	2	2-4	1	>4	0
Typ <i>Epicoccum</i>	0-2	2	2-4	1	>4	0
Probe R						
Typ <i>Stachybotrys</i>	>10 >17	0	10-12 22-24	1	12-22	2
Typ <i>Chaetomium</i>	0-15 >36	0	15-18 33-36	1	18-33	2
Typ <i>Pyronema/Peziza/ Chromelosporium</i>	0-2	2	2-4	1	>4	0
Typ <i>Alternaria/ Ulocladium/Helminthosporium</i>	0-3 >8	0	3-4 7-8	1	4-7	2
Typ <i>Epicoccum</i>	0-2	2	2-4	1	>4	0

Folgende Schlussfolgerungen ergeben sich aus dem 14. Ringversuch:

Um mit Erfolg am Ringversuch teilgenommen zu haben, mussten die Teilnehmer mindestens 66,67% der möglichen Gesamtpunktzahl erreichen, d.h. mindestens 15 von 22 Punkten. Mit Erfolg haben 17 (74 %) von 23 Teilnehmern den Ringversuch bestanden. Die Konzentration der Sporentypen Typ *Cladosporium* und Summe aller *Aspergillus* und *Penicillium* Conidien lagen in den vier Proben bei der Detailauswertung in einem ähnlichen Bereich. Aufgrund der Ergebnisse bezüglich der Messunsicherheit kann noch nicht beurteilt werden ob die festgestellten Unterschiede auf die Schwere der Probe u.a. Matrixeinflüsse, erschwerte Zuordenbarkeit der Sporen zu einem Sporentyp bedingt durch unterschiedliche Schädigung der Sporen, schlechte Anfärbung der Probe oder auf eine unterschiedliche Qualifikation der Labore zurückzuführen ist. Aufgrund der niedrigen Konzentration konnten Mycelstücke insgesamt nur mit einer großen Messunsicherheit bestimmt werden.

Die Zuordnung der Sporentypen *Stachybotrys*, *Chaetomium*, *Pyronema/Peziza/Chromelosporium*, *Alternaria/Ulocladium/Helminthosporium*, *Epicoccum*, die mittels der Übersichtsauswertung zu bestimmen waren, fiel den Laboren offensichtlich z.T. leichter. Dies trifft vor allem bei höheren Konzentrationen zu.

Wie die Auswertung des Ringversuches zeigt, ist die Messunsicherheit der verschiedenen Sporentypen abhängig von deren Konzentration. Einfluss auf die Messunsicherheit hat aber nicht nur die Konzentration der einzelnen Sporentypen, sondern auch die Zusammensetzung der Probe insgesamt. So hat u.a. die Anzahl organischer und anorganischer Bestandteile in der Probe einen Einfluss auf die Messunsicherheit. Es ist auch davon auszugehen, dass die einzelnen Sporen eines Sporentyps morphologisch nicht identisch sind. Beim Sporentyp *Aspergillus/Penicillium* ist z.B. davon auszugehen, dass eine Vielzahl unterschiedlicher Arten dieser Gattungen in der Probe vorliegt, die sich z.T. morphologisch nur geringfügig voneinander unterscheiden. Die Sporen können außerdem aufgrund unterschiedlicher Umwelteinflüsse, wie Feuchte oder Temperatur als auch durch mechanische Einflüsse, nicht mehr die ursprünglichen morphologischen Merkmale besitzen wie „ideale“ Sporen. Auch die unterschiedliche Anfärbung der einzelnen Proben und deren Alterung kann die Auswertung beeinflussen. Die morphologischen Erkennungsmerkmale wie Größe, Form, Oberfläche sind bei den verschiedenen Sporentypen unterschiedlich sicher erkennbar.

Auf Grund der genannten Einflussfaktoren ist es daher nicht möglich bei unterschiedlichen realen Proben von einem exakten linearen proportionalen Zusammenhang zwischen der Konzentration und der zu erwartenden Messunsicherheit auszugehen. Für den Probenaustausch des VDB werden geeignete Proben aus der Routine ausgewählt und folglich kann die Messunsicherheit bei den verschiedenen Sporentypen gleicher Konzentration nicht identisch sein.

Auf Grund der vorliegenden Daten ist eine Abschätzung der Messunsicherheit für die Detail- und Übersichtsauswertung wie in den Tabellen 6 und 7 ausgeführt möglich.

Tabelle 6: Abgeschätzte ungefähren Messunsicherheit bei der Detailauswertung

Summe der Sporen/30 Quer-spuren	Messunsicherheit [%]
<50	>50
50-100	30-50
100-200	20-30
>200	20

Tabelle 7: Abgeschätzte ungefähren Messunsicherheit bei der Übersichtsauswertung

Summe der Sporen/Gesamtspur	Messunsicherheit [%]
<4	Poisson-Verteilung >50
5-9	30
>10	20-30

Bei dem durchgeführten Ringversuch wurden leichte Veränderungen in den Proben festgestellt, die zum einen auf die Entscheidung „Routineproben zu verwenden“ (Routineproben werden mit dem für Mikroorganismen ungiftigen und nicht fixierenden Milchsäure-Anilinblau gefärbt) zurückzuführen sind und auf die sehr lange Durchführungszeit des Ringversuchs.

Die Proben für zukünftige Ringversuche werden daher mit Lactophenolblau (fixierende Eigenschaften) gefärbt und die Ringversuchsdauer wird verkürzt.