

**Auswertung des
8. VDB-Ringversuchs 2012
Schimmelpilze aus Raumluft -
Partikelsammlung und Kultivierung
am Mittwoch, 20. Juni um 15:00 Uhr
in den Räumen des Umweltbundesamtes Dessau**

In Kooperation mit der Arbeitsgemeinschaft ökologischer Forschungsinstitute (AGÖF) e.V. und dem Landesgesundheitsamt Baden-Württemberg im Regierungspräsidium Stuttgart.

Beschreibung des Ringversuchs

Der 8. VDB-Ringversuch fand am 20. Juni 2012 um 15:00 Uhr im Anschluss an die 16. Pilztagung im Atrium des Umweltbundesamtes in Dessau-Roßlau statt.

Es sollten Proben zur Kultivierung (Luftproben zur Filtersammlung und direkte Impaktion auf Nährmedien) und zur mikroskopischen Bestimmung der Gesamtsporenzahl entnommen werden. Im Vorfeld fanden hierzu Untersuchungen durch das Umweltbundesamt statt.

Die Auswertung erfolgt ausschließlich nach VDI 4300 Blatt 10, andere Verfahren werden nicht berücksichtigt. Entgegen der VDI sollten jedoch für die Kultivierung nur DG 18 Nährmedien verwendet werden, um den finanziellen Gesamtaufwand vertretbar zu gestalten.

Der 8. VDB Ringversuch gliedert sich in zwei Teile:

1. Einem Ringversuch zur Probenahme. Dieser Ringversuch dient der Qualitätssicherung der Probenahme. Die Proben werden von einem Labor (Umweltmykologie Berlin) ausgewertet, um den Anteil des Laborfehlers zu ermitteln.
2. Einem Laborvergleichstest. Dieser Laborvergleichstest soll den beteiligten Laboren die Möglichkeit geben, die Qualität ihrer Auswertung zu prüfen. Hierzu werden neben den Proben für die Auswertung im Vergleichslabor weitere Proben für die Auswertung im eigenen Labor gezogen.

Für die Auswertung der Gesamtsporen erfolgten nach einer Vorauswertung der Objektträger ergänzende Vorgaben zur Auswertung der Proben nach VDI-4300 Blatt 10.

⇒ zum auszuwertenden Volumen und

⇒ welche Sporentypen erfasst werden sollen.

Die Labore bekamen eine standardisierte Auswertetabelle, in der die relevanten Daten der Auswertung einzutragen sind. 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.

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

Ablauf des Ringversuchs

Jeder Teilnehmer bekommt eine Teilnehmernummer zugeteilt. Mit dieser Nummer bekommt der Teilnehmer die Objektträger, DG 18 Nährböden und die Gelatinefilter ausgehändigt. Die Proben und die Ergebnisse werden anonym unter dieser Probennummer verwaltet. Für die Impaktion werden jeweils Doppelproben mit 2 verschiedenen Volumina (50 l und 100 l) auf DG18 gezogen. Bei der Impaktion auf Objektträger und bei den Filtersammlungen wird auf Doppelproben verzichtet.

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

An dem 8. VDB-Ringversuch beteiligten sich 52 Teilnehmer. Einige Teilnehmer führten mehrere Probenahmen, stellenweise mit mehreren Geräten, durch.

Im Gegensatz zu den Ringversuchen in den früheren Jahren erfolgte keine Konditionierung des Raumes, da es sich beim beprobten Raum, dem Atrium des UBA, um ein sehr großes Volumen handelt. Es wird daher davon ausgegangen, dass es durch den Ablauf des Ringversuches zu keinen relevanten lokalen Störungen an den Probenahmeplätzen kommt.



Foto 1: Blick in das Atrium des UBA. Auf dem Boden sind die vorbereiteten gekennzeichneten Messplätze mit Teilnehmernummern zu erkennen.

Abhängigkeit des Ergebnisses vom Messplatz

Pilzbestandteile sind in der Luft nicht gleichmäßig verteilt. Für die Bewertung der Auswertung des Ringversuches ist es daher entscheidend, ob unterschiedliche Ergebnisse mit der Lage der Messplätze zusammenhängen oder ob dies durch die Luftführung verhindert werden konnte. Eine grafische Betrachtung der Ergebnisse in Abhängigkeit zum Messplatz ergibt jedoch keinen Hinweis, dass es eine Abhängigkeit der Ergebnisse mit dem Messplatz gab.

Übersicht Ergebnisse Gesamtscoren der Teilnehmerplätze

Agenda: Schwarz = Platznummer, Rot = Cladosporium, Grün = Typ Aspergillus / Penicillium.
Grüne Felder = niedrige Werte / gelbe Felder = hohe Werte

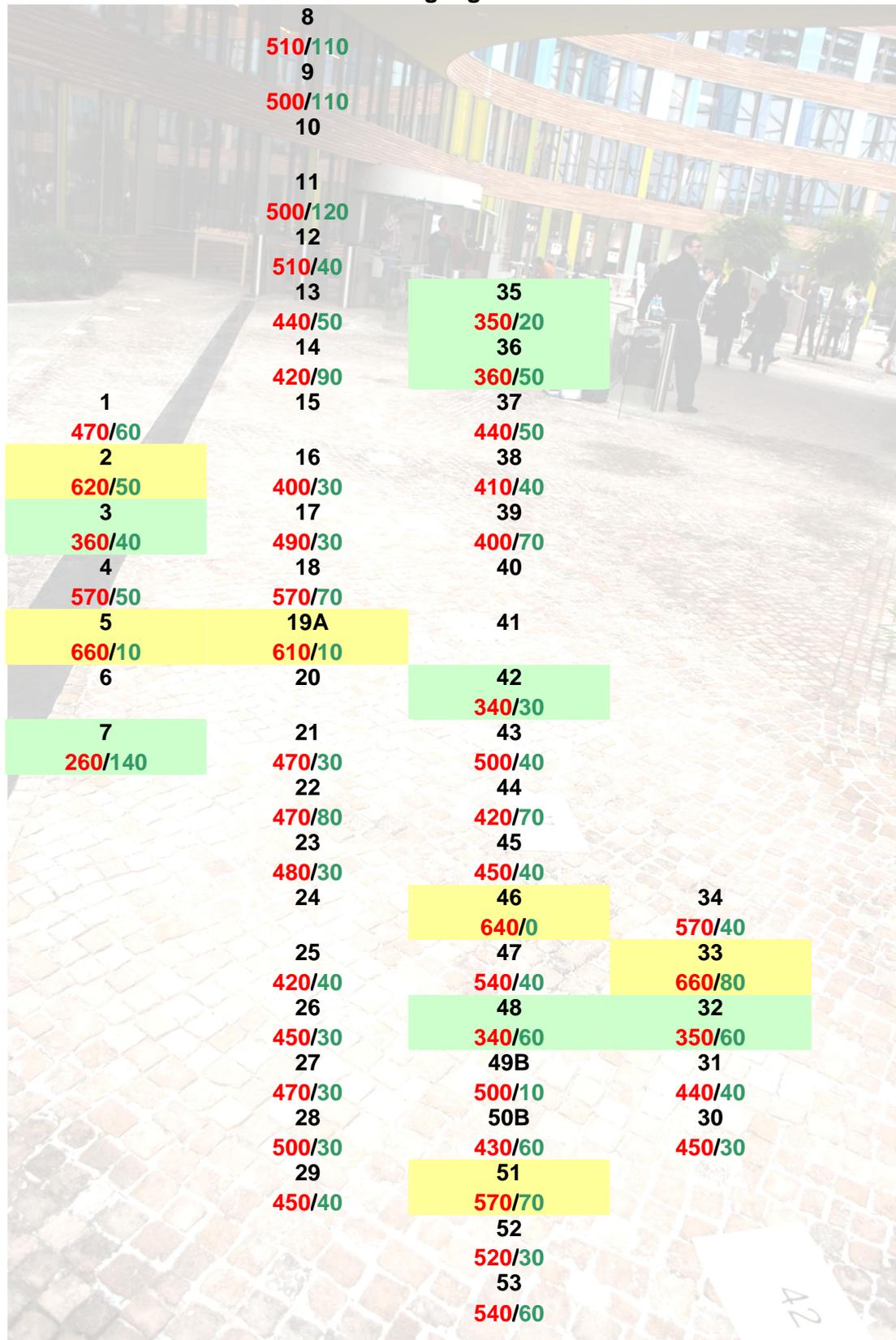
Zugang / Schranke

	8		
	620/80		
	9		
	1000/140		
	10		
	11		
	620/120		
	12		
	820/140		
	13	35	
	800/160	980/120	
	14	36	
	1060/140	1140/220	
1	15	37	
		1300/120	
2	16	38	
	1140/140	880/60	
3	17	39	
800/160	540/160	100/80	
4	18	40	
1140/180	960/120		
5	19A	41	
	940/360		
6	20	42	
700/160		1040/140	
7	21	43	
920/520	860/80	580/120	
	22	44	
	740/140		
	23	45	
	1240/160	920/140	
	24	46	34
	820/140	1340/80	620/160
	25	47	33
	780/120		820/120
	26	48	32
	600/80	1200/140	1040/120
	27	49	31
	780/140		780/80
	28	50A	30
		1160/100	440/180
	29	51	
	740/100	1000/220	
		52	
		540/140	
		53	
		480/120	

Übersicht Ergebnisse Impaktion auf Nährböden der Teilnehmerplätze

Agenda: Schwarz = Platznummer, Rot = Cladosporium, Grün = Typ Aspergillus / Penicillium.
Grüne Felder = niedrige Werte / gelbe Felder = hohe Werte

Zugang / Schranke



Ergebnisdarstellung

Es wurden zum Ringversuch 70 Objektträger, 310 DG18-Petrischalen und 21 Gelatinefilter verteilt. 42 Gesamtsporenproben, 50 Impaktionsproben (200 Platten) und 16 Gelatinefilterproben wurden zurückgegeben und vom Vergleichslabor ausgewertet. Die Datenmenge des VDB-Ringversuchs ist daher so umfangreich, dass diese in gedruckter Form nicht mehr händelbar für die teilnehmenden Labore erscheint. Daher erfolgt die Ergebnisdarstellung in elektronischer Form als EXCEL-Datei separat in einer E-Mail, um eine individuelle Aufarbeitung für die jeweilige eigene Qualitätssicherung zu erleichtern.

Die Excel-Datei enthält mehrere Seiten mit Daten. Blatt 1 Gesamtsporen, Blatt 2 Impaktionsplatten und Blatt 3 Gelatinefilter. Wobei auf jedem Blatt zuerst die Einzelergebnisse bezogen auf den Kubikmeter angegeben sind und unten eine Zusammenfassung zur besseren Übersicht wiedergegeben ist.

Die Teilnehmer, welche eigene Ergebnisse lieferten, erhalten zusätzlich zu den Ergebnissen des Vergleichslabors die Ergebnisse der anderen Labore.

Wie angekündigt, wurden die Gesamtsporenproben mit einem Probenahmenvolumen von 200 Litern und die Impaktionsplatten mit 50 Litern Probevolumen ausgewertet. Die Impaktionsplatten mit 100 Litern Probevolumen enthielten zu viele Kolonien und konnten nicht für eine ordnungsgemäße Auswertung verwendet werden. Trotzdem wurde vom Vergleichslabor die Konzentration der Cladosporium-Kolonien, Hefekolonien und der Gesamt-KBE auch auf den mit 100 Litern beaufschlagten DG18-Närmedien ermittelt, um abzuschätzen zu können, welchen Einfluss die Überbelegung in der konkreten Messsituation auf das Ergebnis hat. Im Ergebnis lagen die Konzentrationen der 50 Liter-Impaktionsplatten im Mittel um Faktor 1,2 – 1,7 höher als die der 100 Liter Impaktionsplatten.

Die Cladosporium- und die Penicillium-Kolonien der Impaktionsplatten und der Gelatinefilter wurden nicht alle differenziert. Die Differenzierung der Cladosporium-Kolonien wurde dadurch erschwert, dass die Cladosporium-Kolonien auf dem DG18-Agar schlecht sporulierten (typisch für *C. herbarum*) und außerdem z.T. sehr viele sterile Kolonien und Hefen zur Entwicklung kamen und eine Differenzierung zu einem späteren Zeitpunkt immer schwieriger wurde, da die Kulturen überwachsen wurden. Allerdings wurden von verschiedenen Proben Cladosporium-Kolonien exemplarisch abgeimpft und differenziert. Hierbei wurde deutlich, dass mindestens 80 % der Kolonien zum Artenkomplex *Cladosporium herbarum* gehören und wenige Kolonien zu *C. sphaerospermum*, *C. cladosporioides* und *Cladosporium. sp.* Eine Differenzierung der Penicillium-Kolonien auf den Primärplatten war nicht in allen Fällen möglich. Die häufigste Penicilliumart war *Penicillium brevicompactum*. Keine der Penicillium-Art erreichte eine relevante Konzentration, sodass eine Differenzierung nach VDI 4300 BI 10 nicht notwendig ist und auch aus ökonomischen Gründen nicht angemessen erscheint.

Weiterhin mussten folgende Besonderheiten berücksichtigt werden:

- ⇒ Die Gesamtsporenprobe von Platz 15 war nicht „beprobt“ und wurde im Gesamtmittelwert nicht berücksichtigt.
- ⇒ Die 50 Liter-Impaktionsplatten von Platz 15 und 40 enthielten praktisch keine KBE und wurden bei der Berechnung des Gesamtmittelwerts der Proben nicht berücksichtigt. Weiterhin war eine Parallelplatte des Platzes 46 nicht beschickt. Diese Proben wurden als Einfachproben im Gesamtmittelwert berücksichtigt.
- ⇒ Der Gelatinefilter von Platz 15 enthielt keine KBE und wurde im Gesamtmittelwert nicht berücksichtigt.

Verteilung der Pilze im Atrium:

Es ist kein großer Unterschied in Abhängigkeit von der Lage der Messorte (vorne, Mitte und hinten) erkennbar. Die Ergebnisse sind etwas widersprüchlich. Während die Ergebnisse der Impaktionsplatten im mittleren und hinteren Bereich etwas höher liegen als im vorderen Bereich, haben die Ergebnisse der Gelatinefilter eine andere Tendenz und die Gesamtsporenkonzentrationen sind im mittleren Bereich am höchsten, im vorderen Bereich am zweithöchsten und im hinteren Bereich am geringsten. Allerdings liegen alle Konzentrationen auf einem vergleichbaren Niveau.

Ergebnis Gesamtsporen:

Eine stabile Auswertung liegt für die Gruppe „Basidio, Asco u. sonstige“ vor, deren Mittelwert und Median nahe beieinander liegen und deren prozentuale Standardabweichung bei nur 9 % liegt.

Der Mittelwert und der Median der Gruppe der Cladosporium-Sporen liegen ebenfalls noch ausreichend nahe beieinander, allerdings ergibt die prozentuale Standardabweichung bereits 26 %. Die Konzentrationen können noch als ausreichend stabil angesehen werden, wenngleich im Vergleich zur Gruppe „Basidio, Asco u. sonstige“ eine deutlich geringere statistische Sicherheit vorliegt. Die Ergebnisschwankungen der übrigen Sporen-Typen sind aufgrund ihrer geringen Zahl sehr stark, sodass damit gerechnet werden muss, dass in einzelnen Proben stark abweichende Ergebnisse ermittelt werden.

Ergebnis Impaktionsplatten:

Die Häufigkeit von Cladosporium, Hefen und sterilen Kolonien ist in den Impaktionsplatten ausreichend hoch (> 9 KBE/Nährmedium), sodass statistisch abgesicherte Konzentrationen für diese Pilzgruppen angenommen werden können. Die Mittelwerte und Mediane der verschiedenen Gruppen liegen relativ nahe beieinander und der prozentuale Standardfehler liegt für alle Gruppen unter 25 %. Vergleichbare stabile Ergebnisse konnten nicht für die Gattungen der Aspergillen oder Penicillien und erst recht nicht für Einzelarten festgestellt werden.

Ergebnis Gelatinefilter:

Im Gegensatz zu den Impaktionsplatten wurde für die Gelatinefilter pro Nährmedium nur eine geringere Häufigkeit der beiden Gruppen „Cladosporium“ und „sterile Kolonien“ festgestellt (>3 KBE, aber <10 KBE/Nährmedium), sodass für die ermittelte Konzentration nur eine mäßige statistische Sicherheit angenommen werden kann. Die Hefen wurden im Gegensatz zur Impaktionsuntersuchung auf den Gelatinefiltern mit einer so geringen Häufigkeit festgestellt, dass keine statistisch „halbwegs“ abgesicherte Konzentration angegeben werden kann. Die Häufigkeit der übrigen Gruppen war ebenfalls zu gering.

Anmerkung: Am Platz 19 wurde die Probe 19A mit einem 8 cm Gelatinefilter und die Probe 19B mit einem 3,7cm Gelatinefilter gezogen. Beide Proben ergeben deutlich unterschiedliche Konzentrationen (kleiner Filter höhere Konzentrationen als großer Filter). Insgesamt wurden mit dem kleinen Filter von Platz 19B im Vergleich zu allen anderen Filterergebnissen die höchsten Konzentrationen für Cladosporium, Hefen und sterile Kolonien ermittelt. Allerdings wurden die beiden Proben auch nicht zur gleichen Zeit gezogen. Kleiner Filter 60 Minuten Probenahmedauer und großer Filter 10 Minuten Probenahmedauer (nach kleinem Filter). Da einzelne Filtersammlungen an anderen Plätzen ähnlich hohe Konzentrationen erreichten wurde der Mittelwert über alle Ergebnisse berechnet.

Vergleich Gesamtsporen vs. Impaktionsplatten

Der Vergleich zwischen Gesamtsporenproben und Impaktionsplatten ergibt im Mittel über alle Proben für Cladosporium den Faktor 2 und für die Gruppe der Aspergillus- und Penicillium-Arten den Faktor 4. D.h. mit den Gesamtsporensammlungen wurden ca. doppelt so hohe Cladosporium-Konzentrationen und vierfach höhere Asp/Pen-Konzentrationen im Vergleich zur Impaktionsplatten-Methode festgestellt. Erwartungsgemäß wurden mit der Gesamtsporensammlung höhere Konzentrationen ermittelt, da hierbei sowohl kultivierbare als auch nichtkultivierbare erfasst wurden.

Vergleich LKS vs. Gelatinefilter

Im Mittel über die wenigen miteinander verglichenen Proben erscheint es so, dass Vertreter der Gattungen Aspergillus und Penicillium vergleichbar gut mit beiden Methoden erfasst werden, während insbesondere „Hefen“ offensichtlich mit Impaktionsplatten um ein Vielfaches besser erfasst werden.

Hierbei wird der Sammelstress eine Rolle gespielt haben. Die Probenahme auf Filtern führt zu einer stärkeren Austrocknung des Bioaerosols auf dem Sammelmedium. Bei Hefen und anderen sehr hydrophilen Schimmelpilzspezies kann das bei anschließender Kultivierung zu reduzierten Anzahlen führen.

Dr. Christoph Trautmann und Uwe Münzenberg

Leiter des VDB-Ringversuchs

in Vertretung



Sabine Müller-Dietrich
Geschäftsführung VDB e.V.