

Christoph Trautmann, Michael Mehring, Chris Gundlach, Thomas Gabrio, Uwe Münzenberg

Ringversuche zur Gesamtsporenauswertung des VDB

Warum Ringversuche zur Raumluftuntersuchung wichtig sind und welche Erkenntnisse sich für die gutachterliche Tätigkeit ergeben

Einführung

Bei der Gesamtsporenauswertung werden die Sporen anhand ihrer morphologischen Merkmale (Größe und Form sowie ihrer Färbung) direktmikroskopisch beurteilt. Die mikroskopische Auswertung von Gesamtsporenproben setzt eine große Erfahrung in der Formenvielfalt von Pilzsporen voraus. Zugeordnet werden hierbei in der Regel nicht die Sporen einzelner Arten, sondern Sporentypen.

Der Gesamtsporenauswertung kommt bei der Beurteilung von Schimmelschäden eine besondere Bedeutung zu, da mit dieser Methode nicht nur die kultivierbaren Schimmelpilzsporen, sondern auch die nicht mehr oder schwer kultivierbaren Sporen erfasst werden. Dies kann unterschiedliche Gründe haben: Zum einen wird beispielsweise durch Klimaeinflüsse (Temperatur und Trockenheit), Alter, mechanische Einflüsse und Desinfektionsmaßnahmen die Kultivierbarkeit von Schimmelpilzsporen erheblich gestört. Zum anderen haben einzelne Pilzarten sehr spezifische Wachstumsansprüche, die mit Standardnährböden nur unzureichend abgedeckt werden. Weiterhin unterliegt die Zusammensetzung von komplexen Nährmedien wie Malzextraktagar (MEA), aufgrund des Einsatzes von Naturstoffen, Konzentrationschwankungen für einzelne Inhaltsstoffe, die sich auf das Wachstum allgemein bzw. auf die Ausprägung von Differenzierungsmerkmalen auswirken können.

Fazit: Ist das primäre Ziel von Raumluftuntersuchungen, den Erfolg von Sanierungsmaßnahmen zu überprüfen, ist die mikroskopische Auswertung der Ge-

samtsporen der KBE-Auswertung vorzuziehen. Beurteilungsrelevant sind vor allem die Sporentypen, die sehr häufig in Feuchteschäden gebildet werden und in einem ausreichenden Ausmaß in die Luft freigesetzt werden. Zu diesen zählen in erster Linie kleine Sporen wie z. B. die der Gattungen *Aspergillus* und *Penicillium*, die aufgrund ihrer ähnlichen Form zu dem Sporentyp *Aspergillus/Penicillium* zusammengefasst werden. Darüber hinaus werden noch weitere charakteristische Sporentypen wie z. B. die vom Typ *Scopulario-*

psis/Doratomyces in einem kleineren Anteil der Gesamtsporenproben festgestellt.

Größere Sporen werden in der Regel in einem geringeren Umfang gebildet und werden auch seltener in die Raumluft übertragen. Obwohl ihr Vorkommen in der Luft entsprechend weniger wahrscheinlich ist, werden bei bestimmten Materialschäden einzelne, sehr charakteristische Sporen wie die von *Chaetomium*, oder *Stachybotrys* festgestellt [1]. Raumluftproben spiegeln allerdings nicht nur die Sporen wider, die in Feuchteschäden enthalten sind, sondern können auch Sporen aus sehr unterschiedlichen Quellen enthalten. Einige Sporentypen können nur im Vergleich mit entsprechenden Referenzproben (z. B. Außenluft) bewertet werden. Insbesondere Sporen, die häufig in hohen Konzentrationen in der Außenluft vorkommen (z. B. *Cladosporium* und *Basidiomyceten*) haben für die Interpretation von Innenraumproben nur eine untergeordnete Bedeutung.



Abb. 1: MBASS30 mit PS 30 der Firma Holbach

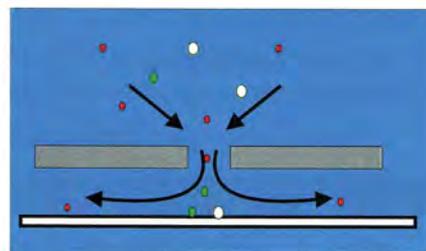


Abb. 2: Schema der Gesamtsporensammlung Impaktion mittels Schlitzimpaktor auf adhäsiver Oberfläche

Methode

Bei der Gesamtsporenauswertung werden die Partikel aus der Raumluft mit einem Schlitzimpaktor (Abb. 1) auf einem adhäsiv beschichteten Objektträger impaktiert und anschließend mikroskopisch ausgewertet.

Die Sammelspur auf dem beschichteten Objektträger beträgt 1,1 x 16 mm. Abhängig von der Größe der Sporen und deren Anzahl, erfolgt bei der mikroskopischen Auswertung entweder die Auswertung der Gesamtspur mit dem 40er-Objektiv (Übersichtsauswertung) oder eines Teils der Probenspur mit dem 100er-Objektiv (Detailauswertung). Die Sporentypen *Chaetomium* (9-11 x 7-8,5 µm) und *Stachybotrys* (7-12 x 4-6 µm) können aufgrund ihrer großen und sehr charakteristischen Sporen bereits mit einem 40er-Objektiv sicher erkannt werden. Da diese Sporen oft nur in geringen Konzentrationen in der Raumluft vorliegen, muss für eine aussagekräftige Auswertung die gesamte Probenspur ausgewertet werden. Kleinere Sporen wie die vom Sporentyp *Aspergillus/Penicillium* (Ø 2,5-6 µm) müssen mit einem 100er-Objektiv ausgezählt werden. Da dieser Sporentyp in der Regel



Abb. 3: Systematische Darstellung der Auswertung einer Gesamtsporensammlung. a) Übersichtsauswertung: Auswertung großer Conidien auf der gesamten Probenspur mit einem 40er Objektiv b) Detailauswertung: Auswertung aller und insbesondere auch kleiner Sporentypen mit einem 100er Objektiv.

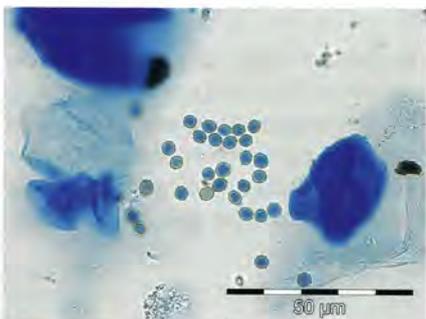


Abb. 4: Mikroskopisches Bild der Sporentypen *Aspergillus/Penicillium* mit dem 100er Objektiv

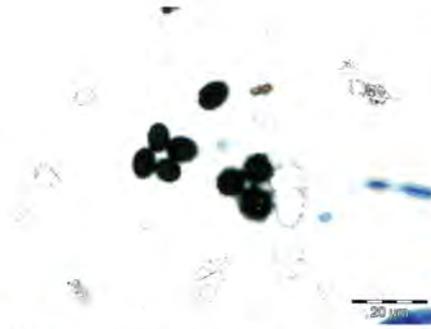


Abb. 5: Mikroskopisches Bild Typ *Stachybotrys*

in höherer Konzentration vorliegt, braucht nur ein Anteil der Sammelspur ausgewertet werden. Für diese Auswertung muss die Probenspur, aufgrund von Ungleichverteilungen der Sporen zwischen Spurmitte und den Randbereichen, quer durchfahren werden. Je nach Sporenkonzentration werden 12,5 % (ca. 10 Querspuren) bis 37,5 % (ca. 30 Querspuren) der gesamten Probenspur ausgewertet.

Historie des Ringversuchs Gesamtsporensammlung

Der Berufsverband Deutscher Baubiologen – VDB e.V. bemüht sich seit Jahren darum, die Aussagekraft umwelthygienischer Untersuchungsmethoden zu verbessern und organisiert seit 2003 auf seiner Jahrestagung neben Messgerätevergleichen auch Ringversuche zu Luftwechselbestimmungen und Innenraumschadstoffen. Auf der 9. Pilztagung 2005 in Hamburg wurden Ringversuche für die Luftkeimsammlung [2,3] und die Gesamtsporensammlung [2,4] durchgeführt. Dabei bestand das Interesse des VDB ursprünglich darin, eine externe Qualitätssicherung für die Probenahme anzubieten. Daher erfolgte die labormäßige Auswertung jeweils durch ein Labor [5]. Da von den Teilnehmenden an diesen Ringversuchen einige die routinemäßige Auswertung der beaufschlagten Proben durchführen, hatten diese ein Interesse daran, ihre Proben selbst zu untersuchen. Andere Teilnehmende bekundeten ihr Interesse, in das Labor in den Ringversuch mit einzubeziehen, das in der Routine ihre Proben untersucht. So kam es dazu, dass anfänglich neben der Untersuchung durch ein Labor, die Teilnehmenden die Probe auch durch das »eigene« Labor untersuchen lassen konnten. Bei der Luftkeimsammlung zeigte sich, dass die Unterschiede zwischen den Ergebnissen des vom Ringversuchsausrichter beauftragten Labors und denen des »eigenen« Labors im Bereich der üblichen Streuung lagen.

Weniger Übereinstimmungen konnten dagegen beim Vergleich der Gesamtsporenauswertungen festgestellt werden. Hier wurde bei der Häufigkeitsverteilung einzelner Sporentypen und der Streuung der Ergebnisse für die Mehrzahl der Labore eine erhebliche Abweichung gegenüber dem vom Ringversuchsausrichter beauftragten Labor festgestellt. Dies fiel besonders bei den Sporentypen *Aspergillus/Penicillium*, Basidio-, Ascosporen, Sporenaggregaten, Mycelbruchstücken und der Summe aller Sporen auf [6].

Bei der Gesamtsporenauswertung des 11. Ringversuchs des VDB liegt sowohl beim Sporentyp *Cladosporium* (Konzentration ≈ 5500 Sporen pro m^3), das bei dem Labor, das für viele Teilnehmende die Proben untersucht hat, als auch bei allen anderen Laboren eine Normalverteilung vor. Betrachtet man hingegen z. B. den Sporentyp *Aspergillus/Penicillium* (Konzentration ≈ 11000 Sporen pro m^3), so trifft dies für das vom Ringversuchsausrichter beauftragte Labor immer noch zu, bei der Gruppe aller anderen Labore ist eine Normalverteilung weniger deutlich ausgeprägt.

12. Ringversuch

Anlässlich der Pilztagung 2018 entschied sich der VDB als Ringversuchsausrichter, die Strategie zur Ausführung des Ringversuchs Gesamtsporenauswertung zu ändern und nur die labormäßige Auswertung zum Gegenstand des Ringversuchs zu machen. Der VDB entschied, künftig versiegelte, beladene Objektträger an die am Ringversuch Teilnehmenden zu versenden. Dazu wurde vom Ringversuchsausrichter (VDB), vertreten durch Herrn Uwe Münzenberg, ein Ringversuchsteam zusammengestellt. Für dieses Team wurden drei Referenzlabore mit erfahrenen Analytikern – Herr Dr. Christoph Trautmann, Herr Michael Mehring und Herr Chris Gundlach sowie Herr Dr. Gabrio als wissenschaftlicher Beirat – beauftragt. Der VDB wählte die Referenzlabore aufgrund ihrer Qualifikation bei den vorangegangenen Ringversuchen der Gesamtsporenauswertung aus. Das Ringversuchsteam hatte folgende Aufgaben:

- Auswahl eines geeigneten Ringversuchsmaterials,
- Festlegung der einzuhaltenden Bedingungen für die Durchführung des Ringversuchs,
- Festlegung der Kriterien für eine erfolgreiche Teilnahme am Ringversuch,

- Auswertung des Ringversuchs und Bestätigung der erfolgreichen Teilnahme,
- Dokumentation des Ringversuchs,
- Der Ringversuch ist mit allen Teilnehmenden gemeinsam zu besprechen.

Die Beaufschlagung der Objektträger wurde in charakteristischen Schadensräumen vorgenommen. Um eine statistische Auswertung des Ringversuchs vornehmen zu können, sollte ein versiegelter Objektträger von möglichst vielen Teilnehmenden untersucht werden. Der Gedanke, dass ein Objektträger von allen am Ringversuch Teilnehmenden untersucht werden kann, wurde aber als unrealistisch eingeschätzt. Daher wurden mehrere Objektträger beaufschlagt. Von den Referenzlaboren wurde die Konzentration der verschiedenen Sporentypen auf den im Ringversuch verwendeten Objektträgern ermittelt und statistisch ausgewertet. Für die Auswertung des Ringversuchs wurde als »wahre« Konzentration der verschiedenen Sporentypen auf den Objektträgern der Mittelwert der drei Referenzlabore festgelegt.

Untersuchungsdesign

2019 wurde zum ersten Mal ein Ringversuch für Gesamtsporen mit versiegelten Objektträgern [7] durchgeführt, die von mehreren Laboren nacheinander ausgewertet wurden. Bezüglich der Bewertung des Ringversuchs mussten erste Erfahrungen gesammelt werden. Daher sollten u. a. die häufiger vorkommenden und gut zu identifizierenden Sporentypen *Chaetomium*, *Scopulariopsis*, *Stachybotrys* in der Übersichtsauswertung neben den Sporentypen Basidiosporen + Ascosporen, *Cladosporium*, *Aspergillus/Penicillium* und der Summe aller Sporen in der Detailauswertung bestimmt werden. Es wurde vorgegeben, dass für die Übersichtsauswertung die gesamte Probe mit einem 40er-Objektiv und für die Detailauswertung ein definierter Anteil der Probe ausgewertet wird. Hierzu sollten die teilnehmenden Labore mit einem 100er-Objektiv die Probenspur vielfach in Querrichtung überfahren und die enthaltenen Sporen zählen. Idealerweise sollten 30 Querspuren mit einem 100er-Objektiv ausgewertet werden, welches ein Gesichtsfelddurchmesser von 200 µm hat, sodass insgesamt 6 mm der Probenspur komplett ausgewertet wurden. Hierzu war es für jedes Labor erforderlich, für das verwendete Objektiv den exakten Gesichtsfelddurchmesser zu ermitteln und ggf. die Anzahl der Querspuren so anzupassen, dass eine vergleichbare Teilfläche der Probenspur ausgewertet wurde. Die einzelnen Querspurauswertungen sollten bestmöglich über die gesamte Probenspur verteilt angeordnet werden. Die ersten sowie die letzten 2 mm der Probenspur sollten jedoch ausgespart werden, da hier erfahrungsgemäß die Belegungsdichte geringer sein kann. Für eine erfolgreiche Teilnahme am 12. Ringversuch waren [7] von den Ringversuchsteilnehmenden mindestens sechs der neun Ergebnisse mit einer Abweichung vom Mittelwert der Referenzlabore von höchstens $\pm 30\%$ richtig zu ermitteln.

Von den 22 Ringversuch-Teilnehmenden haben 9 (41 %) mit Erfolg teilgenommen. Insgesamt kamen vier Objektträger mit unterschiedlicher Konzentration der einzelnen Sporentypen zur Anwendung. Da ab dem 12. Ringversuch unterschiedlich beaufschlagte Objektträger an die Teilnehmenden versandt wurden und in der Regel ein bis sechs Labore denselben Objektträger untersucht haben, war es nur möglich, die Häufigkeitsverteilung des prozentualen Verhältnisses der Ergebnisse der Teilnehmenden zum Mittelwert der Ergebnisse der Referenzlabore zu ermitteln. Da die Anzahl der Labore, die an dem Ringversuch

teilgenommen haben, nur gering war, geben die erhaltenen Ergebnisse nur Hinweise auf die vorliegenden Häufigkeitsverteilungen. Bei den Sporentypen, bei denen nur 30 Querspuren ausgewertet wurden, war davon auszugehen, dass die Teilnehmenden nicht dieselben Querspuren ausgewertet haben.

Die Häufigkeitsverteilung beim Sporentyp *Chaetomium*/Längspur (Mittelwert der Konzentration ≈ 4000 Sporen pro m^3) ist bei den Laboren, die mit Erfolg teilgenommen haben, annähernd normalverteilt. Bei den Laboren, die nicht mit Erfolg teilgenommen haben, liegt keine eindeutige Normalverteilung vor. Beim Sporentyp *Aspergillus/Penicillium* – 30 Querspuren (Mittelwert der Konzentration ≈ 2000 Sporen pro m^3) liegen bei den Laboren, die am Ringversuch mit Erfolg teilgenommen haben, zwei Grundgesamtheiten der Ergebnisse vor: zum einen die, bei denen der Sporentyp richtig bestimmt wurde, zum anderen die, bei denen der Sporentyp nicht richtig bestimmt wurde. Bei den Laboren, die den Ringversuch nicht bestanden haben, ist zu erkennen, dass ein großer Anteil der Labore entweder falsch positive oder falsch negative Ergebnisse ermittelt hat.

Ergebnisdiskussion

Folgende Probleme der Teilnehmenden konnten nach der Auswertung des Ringversuchs benannt und auf einem Online-Meeting am 30.06.2020 mit den Ringversuchsteilnehmenden besprochen werden:

- Der 12. Ringversuch des VDB e.V. war eine erste Bestandsaufnahme bezüglich der direkten Vergleichbarkeit der Ergebnisse der Teilnehmenden untereinander, ohne die zusätzliche Unsicherheit durch die Probenahme. Durch diese Art der externen Qualitätssicherung erhalten die Teilnehmenden die Möglichkeit, sich bei wiederholter Teilnahme zu qualifizieren, um die Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu erhöhen.
- Es hat sich gezeigt, dass eine Detailauswertung mit dem 40er-Objektiv, wie sie von einigen Teilnehmenden vorgenommen wurde, nicht sinnvoll ist.
- Die Zuordnung der Sporen, insbesondere des Typs *Aspergillus/Penicillium* und des Typs *Cladosporium*, bereitete vielen Teilnehmenden große Probleme. Dies trifft besonders auf die Teilnehmenden zu, die den Ringversuch nicht bestanden haben.
- Die Bewertung der Ergebnisse muss qualifiziert werden. Voraussichtlich sollte die Bewertungsrelevanz und die Konzentration der einzelnen Sporentypen bei der Auswertung des Ringversuchs berücksichtigt werden. Außerdem sollten die Kriterien für ein erfolgreiches Bestehen des Ringversuchs keiner starren Festlegung der Punktvorgabe der zulässigen prozentualen Abweichung von den Ergebnissen der Referenzlabore folgen, sondern einer Staffelung in abgestufte Konzentrationsbereiche.
- Die Auswertung des Ringversuchs zeigt, dass die Mehrzahl der Teilnehmenden gegenwärtig nicht in der Lage ist, eine quantitative Auswertung der Gesamtsporenauswertung mit einer akzeptablen Messunsicherheit routiniert einzusetzen. Die Methode setzt umfassende theoretische und praktische Erfahrungen voraus, die offensichtlich nicht bei allen Teilnehmenden in gleicher Weise vorhanden ist.

13. Ringversuch

Untersuchungsdesign

Aufbauend auf der Erfahrung aus dem 12. VDB-Ringversuch Gesamtsporenauswertung hat das Ringversuchsteam das Untersuchungsdesign für den 13. Ringversuch verändert. Da die Teilnehmenden am 12. Ringversuch besondere Probleme mit der Bestimmung des bewertungsrelevanten Sporentyps *Aspergillus/Penicillium* hatten, entschied sich das Vorbereitungsteam dazu, im 13. Ringversuch schwerpunktmäßig diesen Sporentyp zu untersuchen. Im Ringversuch waren die folgenden drei Kategorien zu bestimmen:

- 1) Typ *Aspergillus glaucus*-Komplex und *restrictus*-Komplex,
- 2) Typ *Aspergillus/Penicillium* außer Typ *Aspergillus glaucus*-Komplex und *restrictus*-Komplex sowie
- 3) Summe aller *Aspergillus* und *Penicillium* Conidien.

Der 12. Ringversuch hatte außerdem gezeigt, dass eine gestaffelte Auswertematrix für die Bewertung der Ergebnisse der Teilnehmenden sinnvoller ist, als die starre Festlegung einer Prozentzahl, um die das Ergebnis der Teilnehmenden vom Mittelwert der Ergebnisse der Referenzlabore abweichen darf, um den Ringversuch mit Erfolg zu bestehen. Diese Auswertematrix ist voraussichtlich von Ringversuch zu Ringversuch unter Beachtung der vorliegenden Sporenkonzentration und der Bewertungsrelevanz der zu bestimmenden Sporentypen festzulegen.

Ein weiteres Ziel des Ringversuchs war auch, die Kenntnisse bezüglich der Messunsicherheit der Gesamtsporenauswertung zu vertiefen. Um diese Messunsicherheit besser beurteilen zu können, wurde vor Beginn des Ringversuchs geprüft, in welcher Form die Verteilung der Sporen auf dem Objektträger vorliegt. Es war davon auszugehen, dass die Sporen auf dem Objektträger teilweise poissonverteilt sind. Es war daher zu prüfen, wie stark die Abweichungen der Ergebnisse innerhalb eines Labors und zwischen den einzelnen Teilnehmenden des Ringversuchs sein können. In Anlehnung an die Erfahrungen aus einem UFO-PLAN-Projekt des Bundesministeriums für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit Innenraum 2004 [8, 9] wurde die gesamte Spur (76 bzw. 80 Querspuren) von zwei Objektträgern durch ein Referenzlabor ausgewertet. Im Folgenden wird der Objektträger, bei dem 80 Querspuren ausgewertet wurden, betrachtet.

Abb. 6 verdeutlicht die relativ große Streuung der ermittelten Sporenanzahl der verschiedenen Schimmelpilztypen zwischen den einzelnen Querspuren. Die Streuung ist bei den verschiedenen Sporentypen unterschiedlich. Beim Sporentyp *Cladosporium* ist zu erkennen, dass eine quantitative Ermittlung der Sporen-

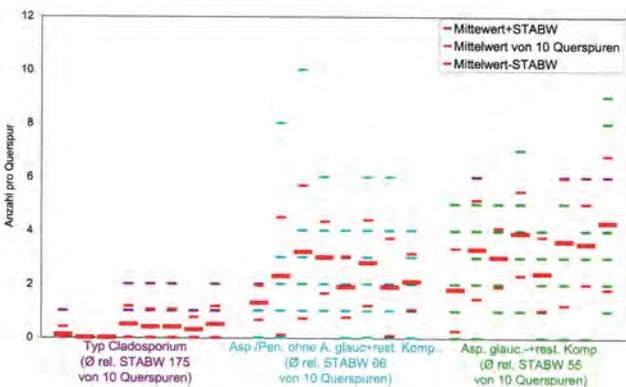


Abb. 6: Streuung (Variation) der Anzahl der ermittelten Sporen der einzelnen Schimmelpilztypen je 80 Querspuren und der Mittelwert von je 10 aufeinander folgenden Querspuren.

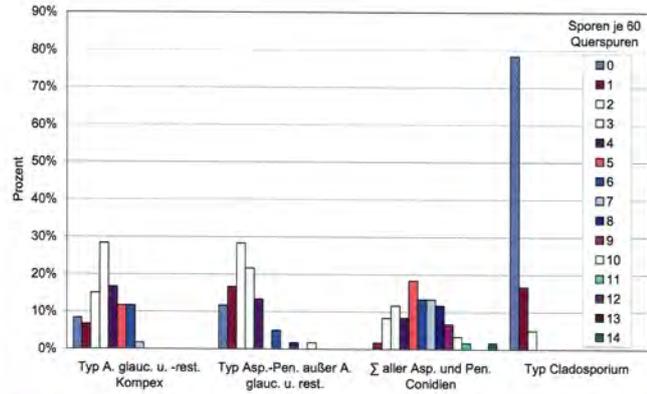


Abb. 7: Häufigkeitsverteilung vom Typ *Aspergillus glaucus*- und *restrictus*-Komplex, vom Typ *Aspergillus/Penicillium* außer *Aspergillus glaucus* und *restrictus*-Komplex, von Summe aller *Aspergillus* und *Penicillium* Conidien und vom Typ *Cladosporium* (60 Querspuren)

anzahl praktisch nicht sinnvoll ist, da die Sporen in einem sehr niedrigen Konzentrationsbereich vorliegen und die Streuung folglich sehr hoch ist. Es ist auch zu erkennen, dass an den Rändern der Probenspur die Anzahl der Sporen etwas anders verteilt ist als im mittleren Bereich. Dies zeigt sich auch bei den Werten von jeweils 10 zusammengefassten und gemittelten Einzelspuren.

Prüfung auf Normalverteilung

Um Randeffekte zu vermeiden, wurden die mittleren 60 Querspuren der insgesamt 80 Querspuren für die weiteren Betrachtungen herangezogen. Zur Beurteilung, ob die verschiedenen Schimmelpilztypen in Form einer symmetrischen Normalverteilung oder eher schief verteilt auf dem damit beaufschlagten Objektträger vorliegen, wurde die Häufigkeitsverteilung der Sporen vom Typ *Aspergillus glaucus*- und *restrictus*-Komplex, vom Typ *Aspergillus/Penicillium* außer *Aspergillus glaucus* und *restrictus*-Komplex, von der Summe aller *Aspergillus* und *Penicillium* Conidien und vom Typ *Cladosporium* untersucht. Die Häufigkeitsverteilung in Abb. 7 zeigt, dass beim Sporentyp *Cladosporium* keine (symmetrische) Normalverteilung, sondern eine schiefe Verteilung vorliegt. Bei den drei anderen Schimmelpilztypen liegt dagegen annähernd eine Normalverteilung vor. Aus diesem Grunde erschien es nicht sinnvoll, den Sporentyp *Cladosporium* im Ringversuch mit auszuwerten.

Untersuchungen zur Abschätzung der Messunsicherheit

Um die Messunsicherheit der Gesamtsporenauswertung besser beurteilen zu können, wurden durch Zufallszahlen die zur weiteren Berechnung verwendeten Querspuren ermittelt. Hierzu wur-

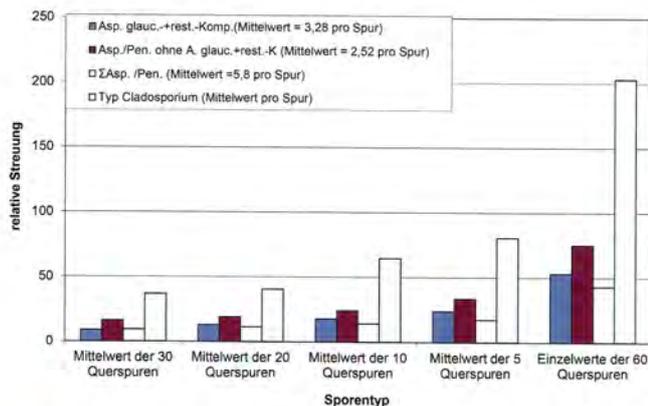


Abb. 8: Abhängigkeit der Streuung von der Anzahl der ausgewerteten Querspuren und von der gemittelten Anzahl der Sporen pro Querspur

Tab. 1: Abhängigkeit der STABW.rel von der Anzahl der ausgewerteten Querspuren, der gemittelten Anzahl der Sporen pro Querspur und der mittleren Sporen-Konzentration

	Asp. glauc.-+ rest.-Komp. (3,28)	Asp./Pen. ohne A. glauc. +rest.-K. (2,57)	Σ Asp. / Pen. (5,80)	Typ Clado- sporium (0,27)
Mittelwerte der 30 Querspuren	9	16	9	37
Mittelwerte der 20 Querspuren	13	19	11	41
Mittelwerte der 10 Querspuren	18	24	14	65
Mittelwerte der 5 Querspuren	24	34	17	81
Einzelwerte der 60 Querspuren	53	75	43	203

de 60-mal der Mittelwert von 30, 20, 10 und 5 Querspuren ermittelt (siehe auch [8]).

Um die Abhängigkeit der STABW.rel. und damit die Messunsicherheit der Gesamtporenauswertung von der Anzahl der ausgewerteten Querspuren, der gemittelten Anzahl der Sporen pro Querspur und der mittleren Sporenkonzentration zu verdeutlichen, werden in Tab. 3 die erhaltenen Ergebnisse zusammengeführt dargestellt. Die Ergebnisse zeigen: Bei einer geringeren gemittelten Anzahl der Sporen pro Querspur ist es erforderlich, mehr Querspuren auszuwerten, um eine akzeptable Messunsicherheit abzusichern. Die Tabelle verdeutlicht auch, ab welcher gemittelten Anzahl der Sporen pro Querspur das Ergebnis nur semiquantitativ ist.

Schlussfolgerung

Aus diesen Ergebnissen kann für die routinemäßige Untersuchung abgeschätzt werden, dass sich bei einer fachgerechten Auswertung von 30 Querspuren, bei einer Konzentration von 2–5 Sporen je Querspur diese mit einer Messunsicherheit von $< \pm 30\%$ bestimmen lässt. Sollen 100 Sporen/m³ nachgewiesen werden, entspräche das einem Mittelwert von 0,25 (s. *Cladosporium* – mittlere Sporenanzahl je Querspur 0,27 Sporen je Querspur, Tab. 3). Dies entspräche einer Messunsicherheit von ca. 50 %.

Die Anzahl der erforderlichen Querspuren ist also abhängig von der vorliegenden Sporenkonzentration. Ein mikrobiologisches Labor sollte daher überschlammäßig den Mittelwert der auswertungsrelevanten Sporentypen von 10 Spuren ermitteln. Liegt dieser Wert unter 0,5 pro Sporentyp, sollten 30 Querspuren ausgewertet werden. Weiterhin sollte kenntlich gemacht werden, dass das Ergebnis semiquantitativ ist. Liegt der Mittelwert der auswertungsrelevanten Sporentypen im Bereich zwischen 0,5–1 pro Sporentyp, sollten 30 Querspuren ausgewertet werden. Bei einer Anzahl von >1 Spore je auswertungsrelevanten Typen kann die Auswertung von 20 Spuren ausreichen. Diese Werte sollten in den zukünftigen Ringversuchen verifiziert werden.

Die Bewertungshilfe u.a. von Luftproben für die Gesamtporenauswertung des Schimmelleitfadens des Umweltbundesamts 2017 [10] oder der WTA [11] sieht vor, dass Sporen und/oder

Tab. 2: Bewertung der Teilnahme am Ringversuch durch Punktevergabe

Sporentyp	+ 30 % Abweichung vom Sollwert	+ 40 % Abweichung vom Sollwert	+ 45 % Abweichung vom Sollwert
Typ <i>Aspergillus</i> / <i>Penicillium</i> außer Typ <i>Aspergillus glaucus</i> - Komplex und <i>restrictus</i> -Komplex	5	3	1
Typ <i>Aspergillus</i> <i>glaucus</i> -Komplex und <i>restrictus</i> -Komplex	5	3	1
Summe aller <i>Aspergillus</i> und <i>Penicillium</i> Conidien	5	3	2

Myzelstücke in diesem Konzentrationsbereich bewertungsrelevant bestimmt werden. Dabei sollte berücksichtigt werden, dass bei einer Konzentration von 100 Sporen/m³ die exemplarisch ermittelte Messunsicherheit im Bereich von $\pm 50\%$ liegt.

Vorversuche der Referenzlabore haben gezeigt, dass *Cladosporium* in den verwendeten Objektträgern in sehr geringer Anzahl vorlag. Da es in diesem Ringversuch darum gehen sollte, die Probleme des letzten Ringversuchs zu vermeiden (*Aspergillus*/*Penicillium*-Bestimmung), wurde dieses Mal darauf verzichtet, sich der Problematik geringer Sporenkonzentrationen zu widmen. In folgenden Ringversuchen wird es aber notwendig sein, auch Konzentrationen in diesem Bereich auszuwerten. Die mittels Zufallszahlen ermittelten Konzentrationen und relativen Streuungen von zwei Proben des Ringversuchs legen nahe, dass die Bewertung des Ringversuchs der Realität der zu erwartenden Messunsicherheit entspricht. Bei den in diesem Ringversuch zu bestimmenden drei Sporentypen (siehe oben) lag die relative Standardabweichung bei der Auswertung von 30 Querspuren unter $\pm 20\%$.

Bewertung der Teilnahme am Ringversuch durch Punktevergabe

Bezüglich der Ergebnisse der Teilnehmenden im 13. Ringversuch wurde ein entsprechendes Bewertungskriterium abgeleitet (s. Tab. 3). Bis zu einer maximalen Abweichung zweier Sporentypen von $\pm 40\%$ und eines Sporentyps von $\pm 45\%$ vom Sollwert hat einer der Teilnehmenden am Ringversuch mit Erfolg teilgenommen. Teilnehmer mit mindestens 7 Punkten haben am Ringversuch mit Erfolg teilgenommen.

Auswertung des 13. Ringversuchs

Am 13. VDB-Ringversuch 2020 – Probenaustausch von beladenen Objektträgern, nahmen 17 Labore teil. In dem Ringversuch wurden 5 Objektträger eingesetzt. Mit Erfolg haben 13 (ca. 76,5 %) von 17 Teilnehmenden den Ringversuch bestanden. Wie bei den Untersuchungen zur Messunsicherheit lag die Streuung der Teilnehmenden beim Sporentyp *Aspergillus*/*Penicillium* außer *A. glaucus* und *restrictus*-Komplex am höchsten.

Abb. 9 zeigt, für den Sporentyp *Aspergillus glaucus*- und *restrictus*-Komplex (Konzentration ≈ 400 Sporen pro m³) bzw. für den Sporentyp *Aspergillus*/*Penicillium*, außer *A. glaucus* und *restrictus*-Komplex, dass die Ergebnisse der Gruppe, die den Ringversuch bestanden haben, auf beiden Seiten vom Mittelwert der Referenzlabore (Wert 100 auf der x-Achse) mit ähnlichen Anteilen verstreut liegen. Für die, die »bestanden« haben,

Tab. 3: Durchschnittliche prozentuale Abweichung von den Ergebnissen der Referenzlabore

Sporentyp	Durchschnittliche prozentuale Abweichung von den Ergebnissen der Referenzlabore	
	Labore, die den Ringversuch bestanden haben	Labore, die den Ringversuch nicht bestanden haben
Typ <i>Aspergillus glaucus</i> - und <i>restrictus</i> -Komplex	± 20,09	± 54,86
<i>Aspergillus/Penicillium</i> außer <i>A. glaucus</i> und <i>restrictus</i> -Komplex	± 22,31	± 85,33
Summe aller <i>Aspergillus</i> und <i>Penicillium</i> Konidien	± 18,30	± 56,10

liegt zwar keine ideale Normalverteilung um den Mittelwert der Referenzlabore vor, aber die gewichtete mittlere Lage um den Mittelwert der Referenzlabore verdeutlicht, dass grundsätzlich der erwartete Zusammenhang vorliegt.

In der Abbildung wird auch deutlich, dass für beide Sporentypen unter den »Bestandenen« auch solche Labore sind, deren Ergebnis unter 70 % bzw. über 130 % vom Mittelwert der Referenzlabore abweicht. Es erscheint wahrscheinlich, dass die Zuordnung dieser Labore in die Gruppe der »Bestandenen« vor allem durch Punkte für die anderen Kategorien zustande gekommen ist. Abb. 9 verdeutlicht andererseits für beide Sporenkategorien, dass die Gruppe der »nicht Bestandenen« besonders häufig deutlich niedrigere Werte und noch häufiger deutlich höhere Werte als die Referenzlabore ermittelt haben. Durch die Zuordnung der Labore in die Gruppe der »nicht Bestandenen« ist klar, dass diese Labore nicht nur für einen Sporentyp stärker abweichende Ergebnisse ermittelt haben.

Ergebnisdiskussion

- Das neue Konzept der Durchführung des Ringversuchs Gesamtsporenauswertung hat sich bewährt. Der Ringversuch dient der externen Qualitätssicherung und der Qualifikation der teilnehmenden Labore.
- Es ist klarer festzulegen, wie bestimmte Sporentypen z. B. Sporenaggregate im Ringversuch auszuwerten und wie sie in der Routine anzugeben sind. Aggregate sind Konidienansammlungen in Ketten oder Haufen, die aus mehr als zwei Konidien bestehen. Die einzelnen Konidien in dem Aggregat

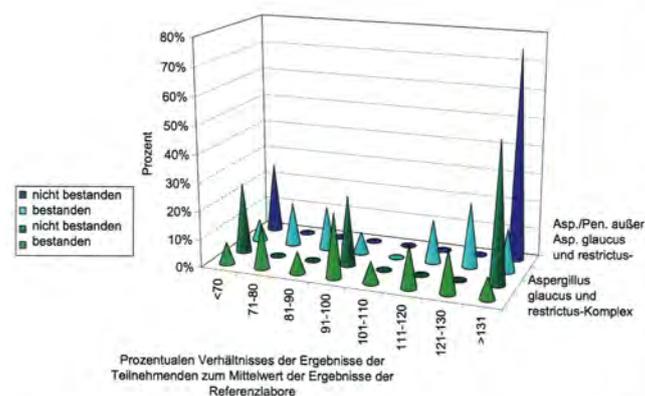


Abb. 9: Häufigkeitsverteilung des prozentualen Verhältnisses der Ergebnisse der Teilnehmenden zum Mittelwert der Ergebnisse der Referenzlabore von den Sporentypen *Aspergillus glaucus*- und *restrictus*-Komplex und *Aspergillus/Penicillium*, außer *A. glaucus* und *restrictus*-Komplex

dürfen außerdem nicht weiter als zwei Konidienbreiten voneinander entfernt liegen. Sporenaggregate treten in der Regel auf den Sammelspuren des Objektträgers als seltene Ereignisse auf. Sie liegen folglich nicht normalverteilt vor. Eine Auszählung der in einem Aggregat vorhandenen Sporen ist zumindest bei größeren Aggregaten nur semiquantitativ möglich. Das Vorkommen von Sporenaggregaten kann bei der Bewertung einer Probe mitunter eine größere Bedeutung haben. Die Anzahl der Aggregate und ihre geschätzte Größe (<10 und >10 Sporen je Aggregat) sollte daher als Zusatzinformation angegeben werden.

- Die Aussagen zur Abschätzung der Messunsicherheit der Gesamtsporenauswertung haben sich verbessert.
- Die Bewertung der Teilnehmenden bezüglich der erfolgreichen Teilnahme am Ringversuch hat sich bewährt.
- Am 13. VDB-Ringversuch haben prozentual mehr Teilnehmende mit Erfolg teilgenommen als beim 12. VDB-Ringversuch, obwohl die beiden Sporentypen *Aspergillus glaucus*- und *restrictus*-Komplex und *Aspergillus/Penicillium*, außer *A. glaucus* und *restrictus*-Komplex in geringerer Konzentration als im 12. Ringversuch vorlagen. Daraus kann geschlossen werden, dass eine regelmäßige Teilnahme an Ringversuchen eine Qualifikation der Teilnehmenden mit sich bringt.
- Der nächste Ringversuch zur Gesamtsporenauswertung sollte möglichst in einem niedrigeren Konzentrationsbereich durchgeführt werden, um auch in diesem Bereich Kenntnisse über die Messunsicherheit der Gesamtsporenauswertung zu erhalten.

Folgende Schlussfolgerungen ergeben sich aus dem 12. und 13. Ringversuch

Die Teilnahme an Ringversuchen dient nicht nur der Bestätigung der analytischen Qualität eines Labors, sondern ermöglicht den Teilnehmenden eine stetige Weiterbildung [12, 13]. Dies ist bei der Gesamtsporenauswertung besonders wichtig, da es in diesem Bereich nur wenig Spezialliteratur und Angebote an speziellen Fortbildungskursen gibt. Der eigenen Fortbildung kommt eine besondere Bedeutung zu, da die Sporen allein wesentlich weniger morphologische Zuordnungsmerkmale besitzen als kultivierte Schimmelpilzsporen. Diese morphologischen Merkmale können außerdem noch vom Alter der Sporen und ihrer möglichen thermischen, chemischen oder mechanischen Schädigung beeinträchtigt werden.

Die Bewertung der Ringversuchsergebnisse »Gesamtsporenauswertung« muss an der vorliegenden Konzentration und der Bewertungsrelevanz der auszuwertenden Sporentypen angepasst sein. Die Messunsicherheit der verschiedenen Sporentypen ist bei der Gesamtsporenauswertung abhängig von deren Konzentration und deren typischen morphologischen Erkennungsmerkmalen.

Folgende Schlussfolgerungen ergeben sich für den Sachverständigen

Sachverständige, die Untersuchungen der Raumluft auf Schimmelpilze mit dem Ziel durchführen, die ermittelten Gesamtsporen mit Zielwerten aus der Literatur [10, 11] zu vergleichen, müssen sich mit der Qualität des beauftragten Labors und den jeweiligen Messunsicherheiten der Methode auseinandersetzen, sofern sie nicht falsche Schlüsse aus den Zahlen in Laborbefunden ziehen und somit Fehlentscheidungen treffen wollen.

Der Sachverständige haftet für die richtige Interpretation der in seinem Auftrag vergebenen Laboraufträge. Es ist für den Sachverständigen daher von Interesse, ob bei Untersuchungen

zur Überprüfung eines vorgegebenen Zielwerts die Unsicherheiten im Bereich von 30 % liegen oder wegen eines möglicherweise fehlenden Kompetenznachweises nicht bestimmbar sind.

Um ein erhaltenes Analysenergebnis sachverständig bewerten und interpretieren zu können, sollte der Sachverständige beim Untersuchungslabor anfragen, ob dieses regelmäßig mit Erfolg an einem entsprechenden Ringversuch teilnimmt, in welchem Arbeitsbereich das angewandte Analysenverfahren genutzt werden kann und mit welcher Messunsicherheit die Ergebnisse behaftet sind. Dies hat sich nicht nur bei chemischen [14] und bei physikalischen [15–17] Untersuchungen bewährt und ist inzwischen in Qualitätssicherungssystemen eingeführt, sondern ist auch, wie die Ringversuche zeigen, bei mikrobiologischen Untersuchungen unerlässlich.

Literatur

- [1] Trautmann, C.: Wo und wie Sporen fliegen gehen. B+B Bauen im Bestand, Nr. 5 (2017), S. 72–75
- [2] VDI 4300 Blatt 10:2008-07: Messen von Innenraumluftverunreinigungen – Messstrategien zum Nachweis von Schimmelpilzen im Innenraum
- [3] DIN ISO 16000-18:2012-01 Innenraumluftverunreinigungen – Teil 18: Nachweis und Zählung von Schimmelpilzen – Probenahme durch Impaktion (ISO 16000-18:2011)
- [4] DIN ISO 16000-20:2015-11 Innenraumluftverunreinigungen – Teil 20: Nachweis und Zählung von Schimmelpilzen – Bestimmung der Gesamtsporenanzahl (ISO 16000-20:2014)
- [5] Richardson N., Szabo, E.: Ergebnisse von Ringversuchen zur Validierung des Impaktionsverfahrens bei Schimmelpilzmessungen. Gefahrstoffe – Reinhaltung der Luft, Nr. 67 (2007), S. 425–428
- [6] Gabrio T., Münzenberg U., Trautmann C.: Erkenntnisse aus dem 11. VDB-Ringversuch zur Ermittlung der Gesamtsporen. Gefahrstoffe – Reinhaltung der Luft, Nr. 78 (2018), S. 265–272
- [7] Gabrio, T., Gundlach, Ch., Mehring, M., Münzenberg, U., Trautmann, Ch.: 12. VDB-Ringversuch 2019 Partikelbewertung mittels belasteter Objektträger. Gefahrstoffe – Reinhaltung der Luft, Nr. 80 (2020), S. 201–206
- [8] Umweltforschungsplan des Bundesministeriums für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit Innenraum – Förderkennzeichen (UFOPLAN) 201 61 218/03 – Standardisierung von Nachweismethoden für Schimmelpilze im Innenraum zur Vorbereitung von bundesweiten Ringversuchen
- [9] Gabrio T.; Dill I.; Trautmann C.; Weidner U.: Schimmelpilze in der Luft – Probenahme und Bestimmung, Validierung von Probenahmeverfahren zur Bestimmung von Schimmelpilzen in der Luft. Bundesgesundheitsblatt, Nr. 48 (2005), S. 3–11
- [10] Umweltbundesamt: Leitfaden zur Vorbeugung, Erfassung und Sanierung von Schimmelbefall in Gebäuden («Schimmel-Leitfaden»). Dessau-Roßlau, 2017
- [11] WTA Merkblatt 4-12:2016-11 – Ziele und Kontrolle von Schimmelpilzschadensanierungen in Innenräumen
- [12] Weidner, U., Gabrio, T.: Identifizierung von innenraum- und lebensmittlerelevanten Schimmelpilzen. MTA Dialog 12 (2011), S. 194–199
- [13] Gabrio, T.: Woran erkenne ich ein qualifiziertes Schimmelpilzlabor? Der Bausachverständige, Nr. 3 (2020), S. 33–39
- [14] Gabrio, T., Amend, R., Blessing, R., Feurer, J., Friedle, A., Goes, R., Hummel, A., Jovanovic, S., Link, B., Schweinsberg, F., Volland, G., Wacker, S., Zöltzer, D.: Qualitätssicherung von innenraumrelevanten Stoffen: Polychlorierte Biphenyle und Aldehyde. Gefahrstoffe – Reinhaltung der Luft, Nr. 66 (2006), S. 79–86
- [15] VDI 3866 Blatt 5 Bestimmung von Asbest in technischen Produkten – Rasterelektronenmikroskopisches Verfahren
- [16] VDI 6202 Blatt 3 – Entwurf. Schadstoffbelastete bauliche und technischen Anlagen – Asbest – Erkundung und Bewertung
- [17] Deutsche Gesetzliche Unfallversicherung DGUV: BGI/GUV-I 505-46 (DGUV Information 213-546) Verfahren zur getrennten Bestimmung der Konzentrationen von lungengängigen anorganischen Fasern. Berlin, 2014

Die Autoren

Dr. rer. nat. Christoph Trautmann

Dr. rer. nat. Christoph Trautmann ist als Geschäftsführer der Umweltmykologie GmbH tätig. Ein Schwerpunkt seiner Tätigkeit ist der Nachweis und die Beurteilung von mikrobiellen Belastungen, insbesondere durch Schimmelpilze und Holz zerstörende Pilze. Ein weiterer Schwerpunkt seiner Arbeit sind Vorträge auf Fachtagungen sowie die Durchführung von Weiterbildungen zur Probenahme, Auswertung und Interpretation von Mikroorganismen in Innenräumen. Herr Trautmann hat bei der Erstellung des Schimmelleitfadens sowie des Leitfadens zur Sanierung von Schimmelpilzschäden vom Bundesumweltamt mitgearbeitet und ist Autor von zahlreichen Fachbeiträgen in Büchern und Zeitschriften. Er ist aktives Mitglied in verschiedenen Arbeitsgruppen des Vereins Deutscher Ingenieure (VDI), im Bundesverband Schimmelpilzsanierung (BSS), im Verband der deutschen Baubiologen (VDB) sowie im Deutschen Holz- und Bautenschutzverband (DHBV).

Michael Mehring

Michael Mehring, Chemisch-technischer Assistent, beschäftigt sich seit mehr als 20 Jahren mit der Schimmelpilzdifferenzierung. Seit 2008 ist er im Labor Richardson (zuvor Sachverständigenbüro Richardson) u. a. im Bereich der Schimmelpilzdiagnostik tätig.

Chris Gundlach M. Sc.

Mikrobiologe, Gutachter bei Wartig Nord GmbH Hamburg für den Geschäftsbereich Feuchteschäden und Baubiologie. Seit 2019 berufenes, aktives Mitglied im Normenausschuss »Erfassung von Mikroorganismen« (VDI 4300 Blatt 13) und Mitarbeit in der Arbeitsgruppe des VdB zur Gesamtsporenanalytik (Referenzlabor). Masterarbeit zum Thema Infektions- und Populationsdynamiken am Max-Planck-Institut für Evolutionsbiologie in Plön. Seit 2017 zunächst bei Wartig Nord Analytik GmbH als Teamleiter im Bereich Schimmelpilzanalytik, Etablierung und Administration eines LIMS-Systems. 2021 Wechsel als Gutachter in den Geschäftsbereich Feuchteschäden und Baubiologie.

Dr. Thomas Gabrio, Dipl.-Chemiker

Dr. rer. nat. Thomas Gabrio (Diplom-Chemiker), hat in seinem Berufsleben vor allem auf dem Gebiet der Analytik gearbeitet, u. a. von 1992–2009 im Landesgesundheitsamt Baden-Württemberg. Schwerpunktmäßig hat er sich in den letzten Berufsjahren vor allem mit der Schimmelpilzproblematik beschäftigt, z. B. mit der Etablierung eines Ringversuchs »Identifizierung von innenraum- und lebensmittlerelevanten Schimmelpilzen«, Mitarbeit an der Erstellung von Schimmelpilzleitfäden und VDI-Vorschriften sowie Durchführung von Fortbildungsveranstaltungen.

Uwe Münzenberg

Uwe Münzenberg ist zertifizierter Sachverständiger für Baubiologie (VDB). Außerdem ist er Vorstand im Berufsverband Deutscher Baubiologen VDB e.V. und Initiator und Organisator der Pilztagung, die gemeinsame Fachtagung für biogene Schadstoffe des VDB und BSS in Kooperation mit dem Umweltbundesamt sowie der VDB Ringversuche »Probenvergleichsmessungen zu Schimmelpilzen aus Raumluft – Partikelsammlung sowie Kultivierung«. Er ist Beigordneter des Vorstandes im Bundesverband Schimmelpilzsanierung e.V., Bereich Innenraumdiagnostik und Mitglied im DIN EN 160000 Ausschuss Erfassung von Mikroorganismen sowie WTA Arbeitsgruppen.