

Ringversuch zur Gesamtsporenbestimmung

organisiert durch den Verband Deutscher Baubiologen VDB e.V.
unter Leitung von Uwe Münzenberg

Referenzlabore: Umweltmykologie GmbH, Wartig Nord Analytik GmbH,
Labor Richardson

Wissenschaftliche Begleitung: Beate Mattuschka und Thomas Gabrio

Vortragende: Dr.-Ing. Beate Mattuschka

Ordentliches Mitglied im VDB seit 2019

Selbständige Gutachterin seit 2018

Wissenschaftliche Mitarbeiterin der Umweltmykologie 2004 bis 2016

Ringversuch zur Gesamtsporenbestimmung

Grundlage DIN ISO 16000-20

Innenraumluchtverunreinigungen -

Teil 20: Nachweis und Zählung von Schimmelpilzen -

Bestimmung der Gesamtsporenanzahl (ISO 16000-20:2014)

(veröffentlicht Nov. 2015)

*Verfahren für die Probenahme von Schimmelpilzsporen in der Luft
und für die sich anschließende mikroskopische Analyse*



Ringversuch

Ringversuch zur Gesamtsporenbestimmung

Art des Ringversuches - Laborvergleich

Ziele des Ringversuches

- Angebot einer Qualitätssicherungsmaßnahme
- Steigerung der Qualität der Auswertung
- Erhöhung der Akzeptanz der Methode

Typische Einsatzgebiete der Methode

Gibt es Schimmelpilzquellen im Raum?

Bewertungskriterien nach UBA-Schimmelleitfaden

War die Schimmelsanierung / Feinreinigung erfolgreich?

Bewertungskriterien nach WTA-Merkblatt 4.12

Ziele und Kontrolle von Schimmelpilzschadensanierungen in Innenräumen. Ausgabe 05.2021/D

Andere Methoden der Schimmelbestimmung

Luftkeimsammlung - Kultivierung von Luftproben auf Nähragarschalen

Niedrige Konzentrationen erfassbar, Nachweis von Arten mit besonderem Gefährdungspotential

Filtration – Kultivierung von Filterproben nach Verdünnung auf Nähragarschalen

Hohe Konzentrationen bestimmbar - Arbeitsplatzmessung

Vorteile der Gesamtsporenbestimmung

Hohe Konzentrationen erfassbar

Sicherer Nachweis von Stachybotrys und Chaetomium
(eher schlecht kultivierbar)

Schnelle Auswertung möglich

Nachteile

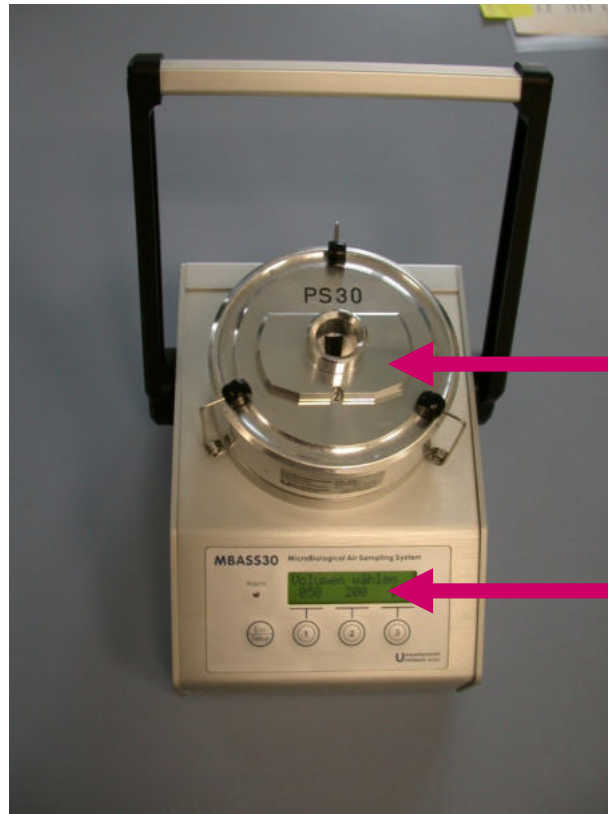
Keine Differenzierung der Arten bei Aspergillus, Penicillium
und anderen Gattungen

Hohe Partikelbelastung der Luft (Staub) behindert die
Fixierung der Sporen und die Auswertung

Gesamtsporenbestimmung

Wie entsteht die Probe?

Prinzip Impaktion auf einen beschichteten Objektträger



Luft wird über eine Schlitzdüse angesaugt

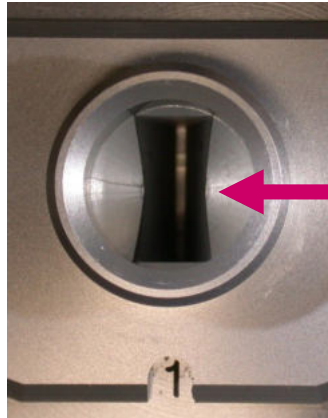
Definiertes Volumen einstellbar

Holbach – Luftsammler
MBASS 30

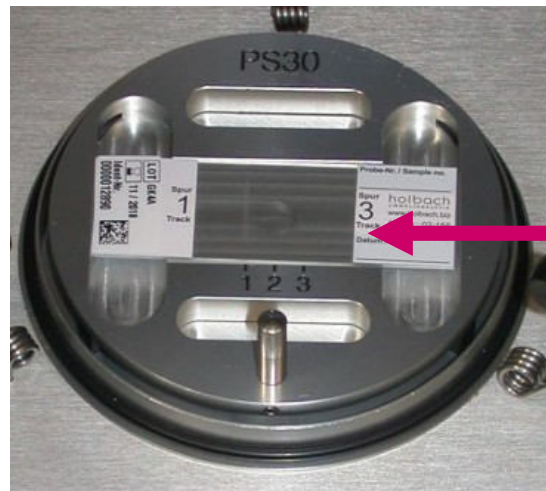
Gesamtsporenbestimmung

Wie entsteht die Probe?

Prinzip Impaktion auf einen beschichteten Objektträger



Luft wird über eine Schlitzdüse angesaugt

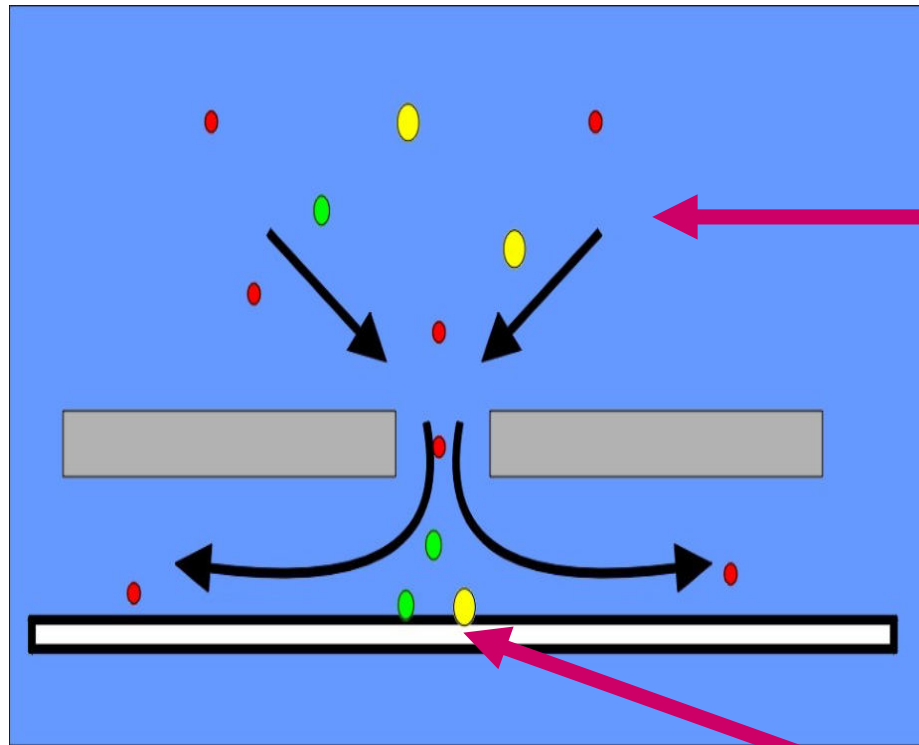


Objektträger mit Beschichtung unterhalb der Schlitzdüse

Gesamtsporenbestimmung

Wie entsteht die Probe?

Prinzip Impaktion auf einen beschichteten Objektträger

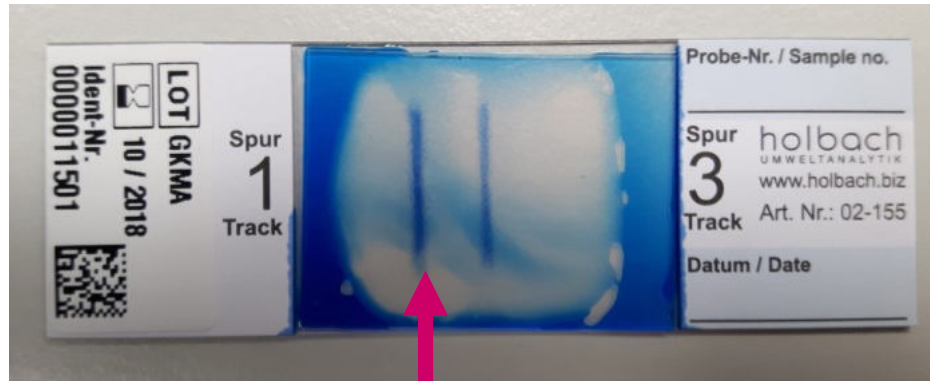


Partikel werden
angesaugt

Partikel bestimmter
Größenordnung
werden auf dem
Objektträger fixiert

Wie entsteht die Probe?

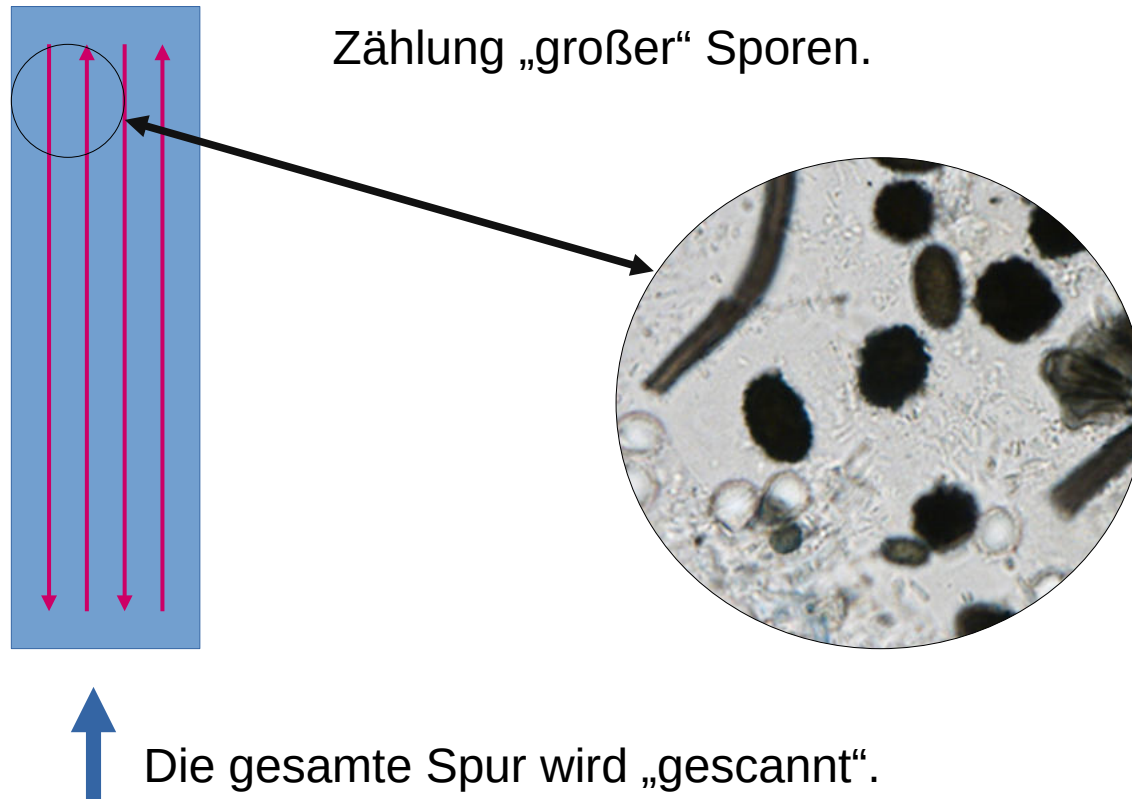
Prinzip Impaktion auf einen beschichteten Objektträger



Probe an Position 1 in Form einer „Spur“ auf Objektträger, hier bereits angefärbt

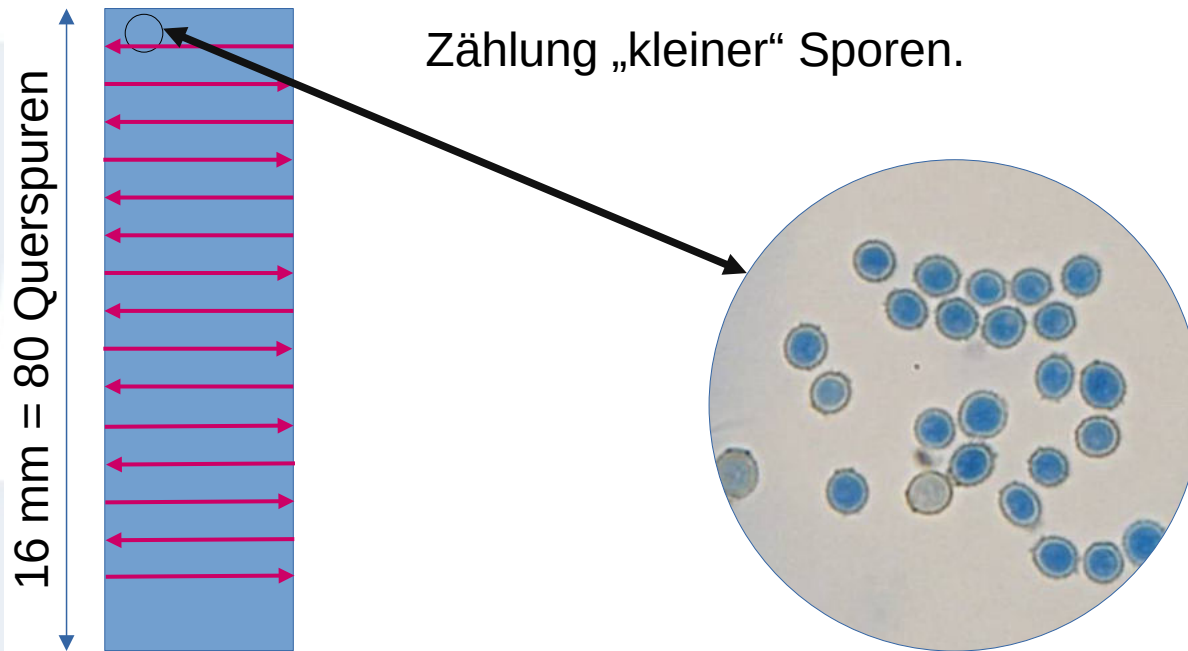
Wie wird am Mikroskop ausgewertet ?

1. Schritt: Übersichtsauswertung bei 400-facher Vergrößerung



Wie wird am Mikroskop ausgewertet ?

2. Schritt: Detailauswertung bei 1.000-facher Vergrößerung



30 Querspuren werden „gescannt“
= 37,5 % der gesamten Spurfläche

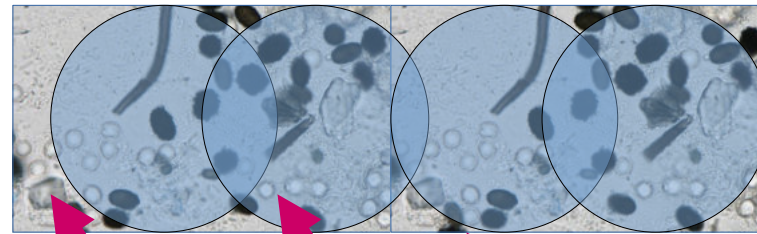
Was sind die Probleme bei der Analyse?



Heterogene Verteilung der Sporen
auf der Probenfläche /Spur

Was sind die Probleme bei der Analyse?

Auswertung einer Querspur



*Kontinuierliche
Verschiebung des
Gesichtsfeldes*

Spore oder
mineralischer
Partikel?

Welcher
Sporentyp?

Spore am Rand wird
ggf. „übersehen“

Zusammenfassung der methodischen Fehlerquellen

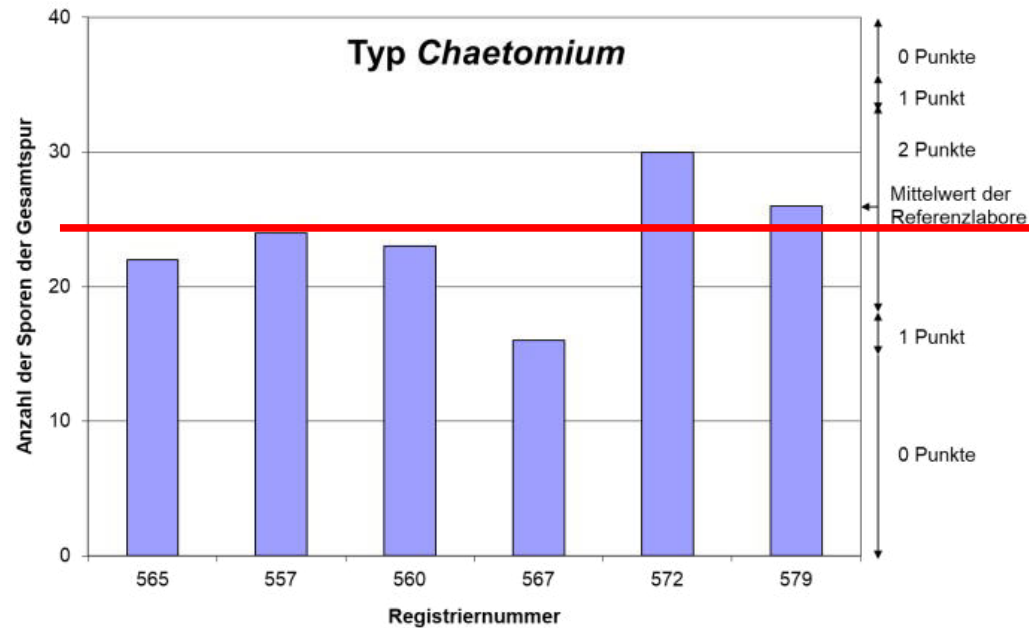
Die Teilauswertung (30 von 80 Querspuren) bei der Detailauswertung führt zu unterschiedlichen Analyseergebnissen.

Dabei ist die Abweichung umso größer, je inhomogener die Probe ist.

Die richtige Zuordnung zu einem Sporentyp erfordert viel Erfahrung auch aus dem Bereich der Kultivierung.

Auswertung des Ringversuches aus 2021

Beispiel: Vergleich von 6 Ergebnissen zu Chaetomium-Sporen

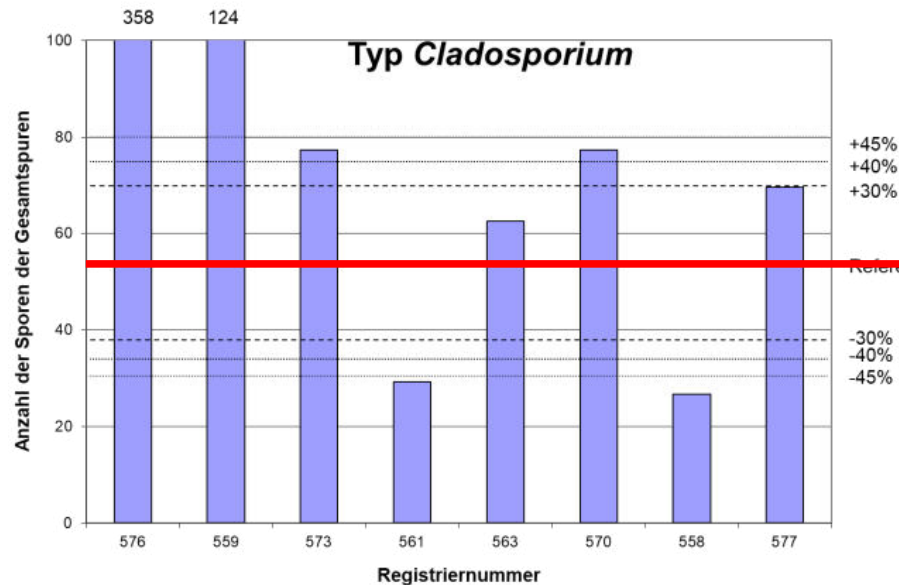


Ergebnisse zeigen gute Übereinstimmung mit dem Vergleichswert der Referenzlabore

Chaetomium-Sporen werden in der gesamten Probe gezählt.

Auswertung des Ringversuches aus 2021

Beispiel: Vergleich von 8 Ergebnissen zum Typ Cladosporium



Ergebnisse zeigen keine gute Übereinstimmung mit dem Vergleichswert der Referenzlabore

Cladosporium-Sporen werden „nur“ in einem Teil der gesamten Probe gezählt.

Vorbereitung des Ringversuches

- 1) Probenahme auf Objektträger
- 2) Präparation der Proben (Anzahl mindestens 10)
- 3) Vollständige Auswertung aller Proben von den 3 Referenzlaboren

Details zur Vorbereitung des Ringversuches

1. Probenherstellung

Ausreichende Anzahl möglichst gleichartiger Proben

- Art der Sporen
- Hintergrundmatrix

→ Ein geeignetes Objekt finden!

Neu: Alle Teilnehmer werten die gleiche Probenfläche aus, damit inhomogene Verteilung keine Rolle spielt.

→ Probenspur verkleinern – vollständige Auswertung.

2. Probenpräparation

Stabile Anfärbung – wenig Veränderung über die Zeit

→ Lactophenolblau einsetzen

Sicherung der Probe gegen Verschmutzung und mechanische Einwirkung: Verklebung Deckgläschen

→ elastischen Kleber finden, der Sporen und Färbemittel nicht verändert

2. Vorauswertung durch Referenzlabore

3 Referenzlabore: *Umweltmykologie GmbH*
Wartig Nord Analytik GmbH
Labor Richardson

Abgleich der Daten je Sporentyp, Auswahl der sinnvoll vergleichbaren Sporentypen



geringe Standardabweichung, dann wird Mittelwert zum Referenzwert

Festlegung der Bewertungskriterien
Ergebnis im Bereich des Mittelwertes der Referenz = maximale Punktzahl und 2 weitere Abstufungen





abhängig von der Konzentration je Sporentyp

Ablauf

- 1) Anmeldung – Kosten ca. ??
- 2) Versand einer Probe an Teilnehmer – Runde 1
- 3) Rücksendung an Referenzlabor
- 4) Prüfung der Qualität der Probe ggf. Reinigung
- 5) Versand an weiteren Teilnehmer – Runde 2 bis x

Auswertung

- 1) Teilnehmer senden eine vorgegebene Ergebnis-Datei ein
- 2) Abweichungen von Referenzwerten wird bestimmt
- 3) Punktevergabe
- 4) Zertifikat  Erfolgreiche Teilnahme
 Teilnahme
- 5) Vergleichende Auswertung der Daten (anonymisiert)
- 6) Auswertungsworkshop mit digitalisierten mikroskopischen Bildern aus den Proben

Ausblick

Aufruf zur Anmeldung auf der Internetseite des VDB e.V.

<https://baubiologie.net/>



Vielen Dank und schönen Feierabend!