

VDB-Ringversuch zur Ermittlung der Gesamtsporen – Erkenntnisse und Schlussfolgerungen für den Sachverständigen

T. Gabrio, U. Münzenberg, C. Trautmann



Warum stehe ich hier (1)

- Chemiestudium an der Humboldt-Universität, Berlin 1963-70
- Postgradualstudium „Analytik und Spektroskopie“ 1979-81 an der Universität Leipzig
- Kurs „Statistik in der analytischen Chemie“ an der Technischen Hochschule Carl Schorlemmer in Merseburg 1985
- Institut für Milchforschung, Oranienburg 1970-1979
- Instituts für Arzneimittelwesen, Berlin 1980 - 1990
- **Landesgesundheitsamt Baden-Württemberg , Stuttgart 1992 – 2009**
 - Bestimmung von Umweltschadstoffen in Humanmaterial sowie Untersuchungen im Bereich „Umweltmedizinische Feuerwehr“
 - Arbeitsgebiete waren die Analytische Qualitätssicherung in den Bereichen „Chemische Schadstoffe im Human-Biomonitoring und Innenraumluft“ sowie „Nachweis von innenraumrelevanten Schimmelpilzen“
 - Weitere Arbeitsgebiete waren: Feinstaub in Innenräumen und Umweltallergene

Warum stehe ich hier (2)

- 1997 - Das Landesgesundheitsamt BW untersucht im Auftrag des Sozialministerium BW innerhalb des Projektes Beobachtungsgesundheitsämter die Belastung von 4-Klässlern mit Schimmelpilzen.
- 1998 - Das LGA führt eine Informationsveranstaltung zum Thema Schimmelpilze durch.
- 2000 - Herr Münzenberg lädt uns zur 4. Pilztagung nach Düren ein, dort lernen wir viele KollegInnen kennen und es entsteht eine fruchtbare Zusammenarbeit.
- 2000 - Das LGA führt den 1. Ringversuch und den 1. Kurs „Identifizierung von Innenraum- und Lebensmittelschimmelpilzen“ durch.
- 2001 - Der Leitfaden „Schimmelpilze“ wird erarbeitet.
- 2003 - Der Leitfaden zur Schimmelpilzsanierung wird erstellt.
- 2007 - Das Netzwerk Schimmelpilzberatung BW wird etabliert.

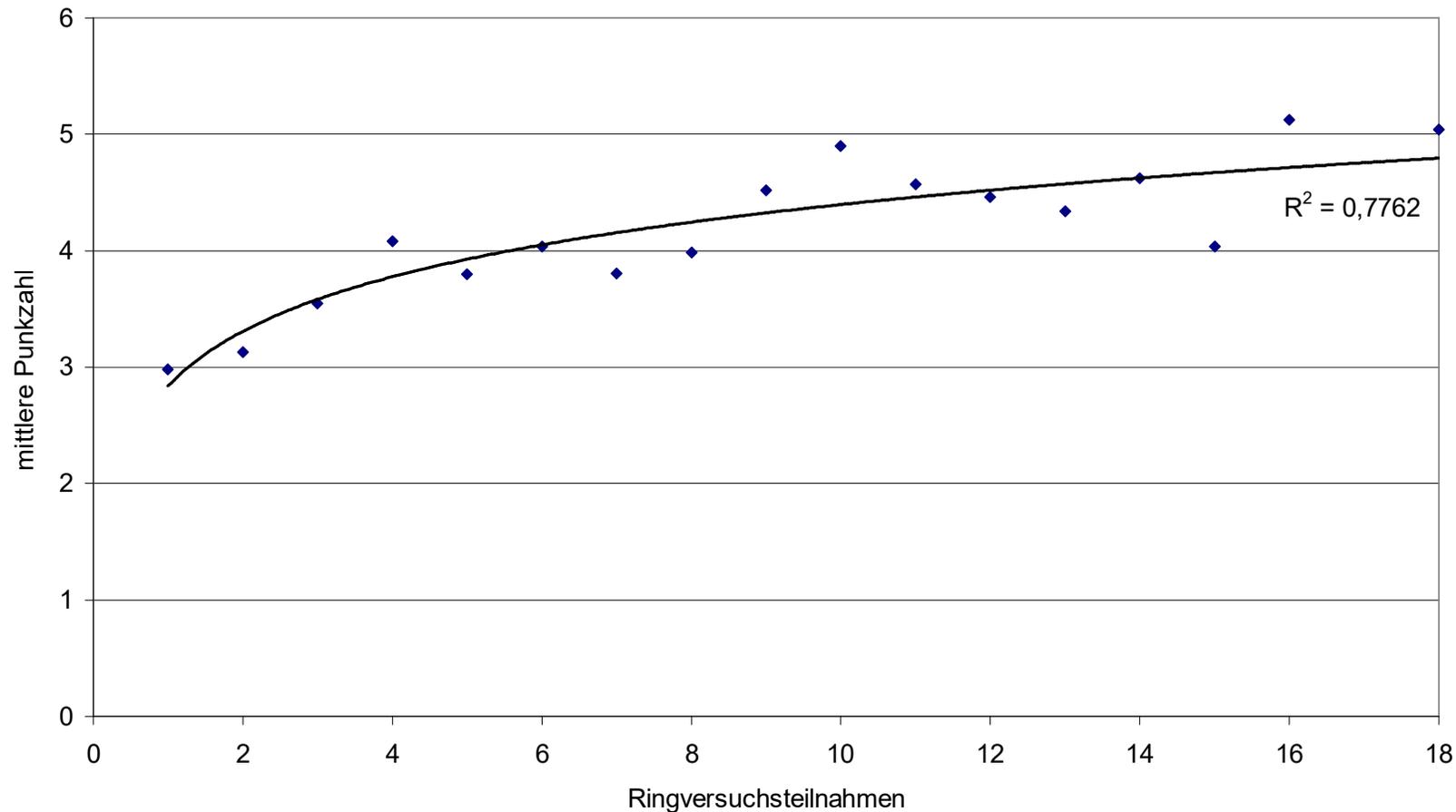
Warum werden Ringversuche durchgeführt?

Sie dienen:

- der externen Qualitätssicherung
- der Fortbildung
- als Qualitätskriterium für die Güte eines Labors
- der Validierung einer Methode bezüglich
 - ✓ der quantitativen und qualitativen Wiederfindung einzelner Bestandteile
 - ✓ der Abschätzung der **Messunsicherheit** einer Methode
 - ✓ der Erkennung von systematischen Fehlern einer Methode
 - ✓ der Erkennung von Störeinflüssen auf eine Methode

Je öfter, desto besser

Zusammenhang zwischen der Häufigkeit der Beteiligung am Ringversuch und der Wahrscheinlichkeit einer erfolgreichen Teilnahme am Beispiel des Ringversuchs „Reinkulturen“ des LGA



Organisation eines Ringversuchs

- Der Schwierigkeitsgrad eines Ringversuchs ist den Fähigkeiten bzw. dem Wissensstand der Teilnehmer anzupassen.
- Bezüglich der Anforderungen an die Teilnehmer ist der Ringversuch stetig weiter zu entwickeln.
- Der Ringversuch sollte sich an den allgemeinen Anforderungen der Praxis orientieren.
- Der Ringversuch ist durch ein Team von Referenzlaboren vorzubereiten und auszuwerten.
- Der finanzielle und personelle Aufwand für den Ringversuch sollte nicht zu hoch sein, Prüfinstitutionen müssen an den unterschiedlichsten Ringversuchen teilnehmen.
- Der Ringversuch ist mit allen Teilnehmern gemeinsam zu besprechen.

Wie sollte die „Ringversuchsprobe“ beschaffen sein?

Die Probe sollte:

- der quantitativen und qualitativen Zusammensetzung **einer realen Probe** entsprechen, insbesondere bezüglich der beurteilungsrelevanten Komponenten.
- die Matrixkomponenten enthalten, **die in realen Proben vorhanden sind.**
- homogen sein.
- stabil sein.
- bezüglich der Konzentration und Zusammensetzung möglichst bekannt sein.

Anforderungen an den Probenahmeraum (1)

- **Die 10-%-Regel** hinsichtlich der Filterung der Luft durch die Probenahme ist einzuhalten. Dementsprechend muss ein „Probenahmeraum“ für ca. 40 Teilnehmer eine Mindestgröße von 250m² und ein Luftvolumen von **>750 m³** haben, da 40 Teilnehmer z.B. bei einem Probenahmevervolumen von 3 x 200l = **24 m³** „verbrauchen“
- **Der Sporengehalt der Luft darf nicht zu niedrig, nicht ungleich im Raum verteilt sein** oder aufgrund der Thermik bzw. der aktuellen Nutzung nicht zu stark schwanken
- Die Sporenkonzentrationen sollten in einem Bereich liegen, in dem **die ermittelten Ergebnisse normalverteilt vorliegen**

Anforderungen an den Probenahmeraum (2)

Da sich die notwendige Sporenkonzentration für statistisch „sinnvoll“ auswertbare Proben bei der Luftkeimsammlung

(500 bis 1.000 KBE/m³)

und bei der Gesamtsporenbestimmung

(1.000 bis 50.000 Sporen/m³)

erheblich unterscheidet, ist davon abzusehen, beide Ringversuche gemeinsam in einem Raum durchzuführen.

Zur Auswertung der Ergebnisse ist zu überprüfen:

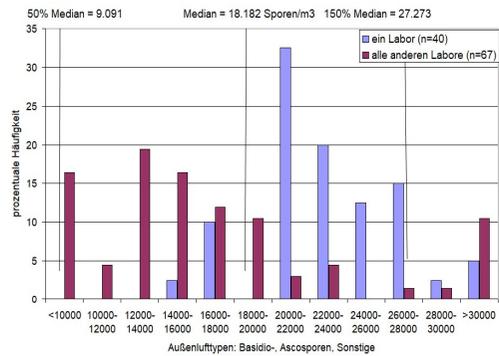
- Ob die Ergebnisse einer **Normalverteilung** entsprechen
- Ob der **Messplatz** einen Einfluss auf die Ergebnisse hat
- Ob ein **zeitlicher Einfluss** auf die Ergebnisse vorliegt

Die Auswertung des Ringversuchs beinhaltet:

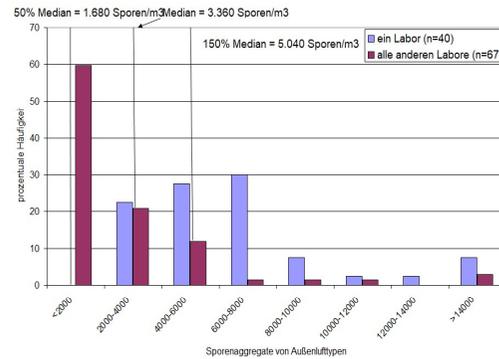
- Vergleich der statistischen Größen (Median, Mittelwert, Standardabweichung und Häufigkeitsverteilung) eines Labors, das für viele Ringversuchsteilnehmer die Laborauswertung durchgeführt hat, mit allen anderen Laboren.
- Prüfung, ob eine Abweichung von $\pm 50\%$ vom Median aller Labore für die Beurteilung der erfolgreichen Teilnahme eines Labors genutzt werden kann.
- Auswertung des Ringversuch in Textform für die Ringversuchsteilnehmer.
- Erstellung eines Zertifikates über die Teilnahme bzw. erfolgreiche Teilnahme am Ringversuch.

Häufigkeitsverteilung anhand der Einzelauswertung der Sporen, Sporenaggregate bzw. Mycelbruchstücke vom Typ

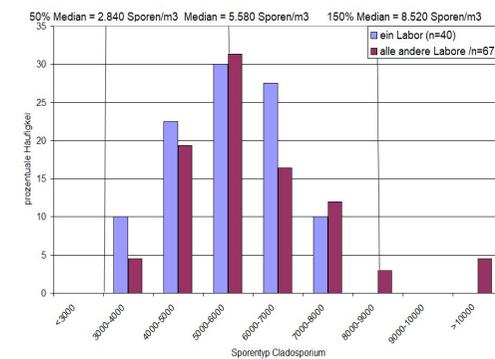
Basidiomyceten, Ascosporen, Sonstige



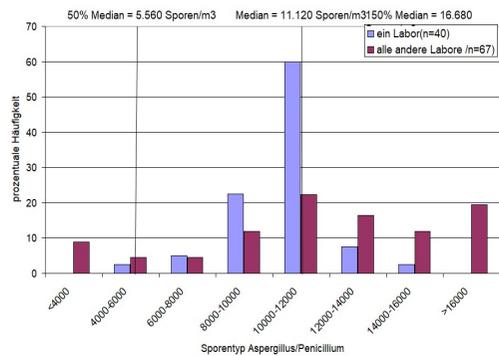
Sporenaggregate Außenluft



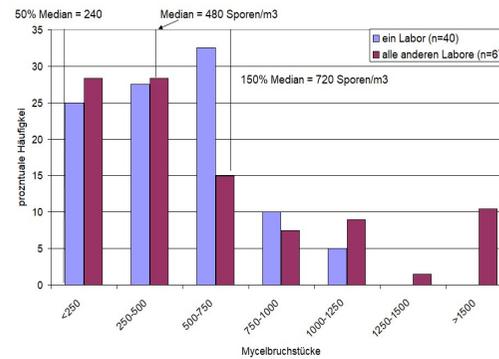
Cladosporium



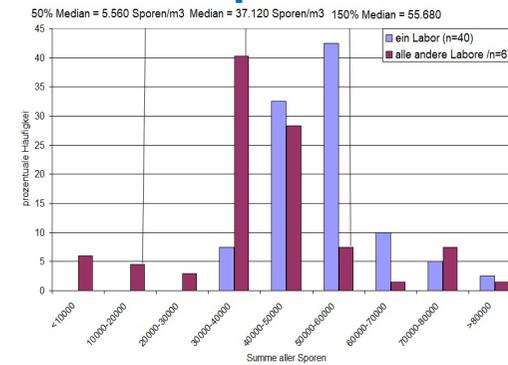
Aspergillus / Penicillium



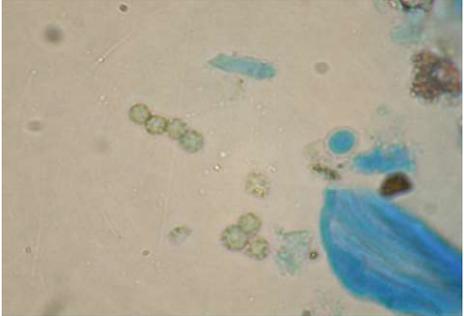
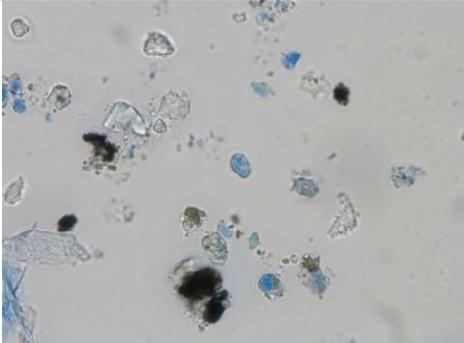
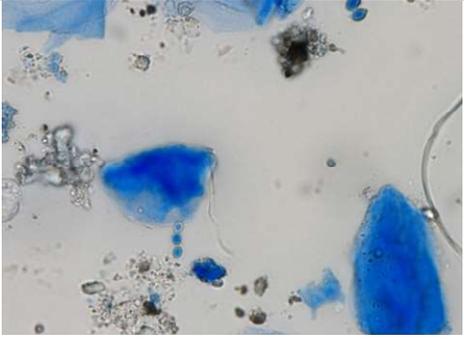
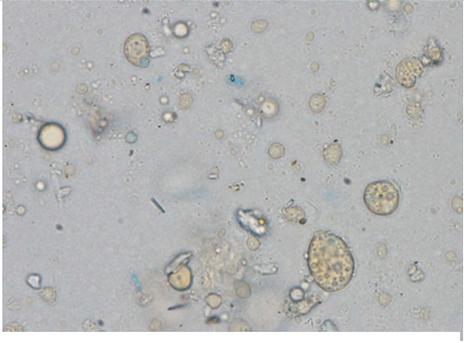
Mycelbruchstücke



Summe aller Sporen

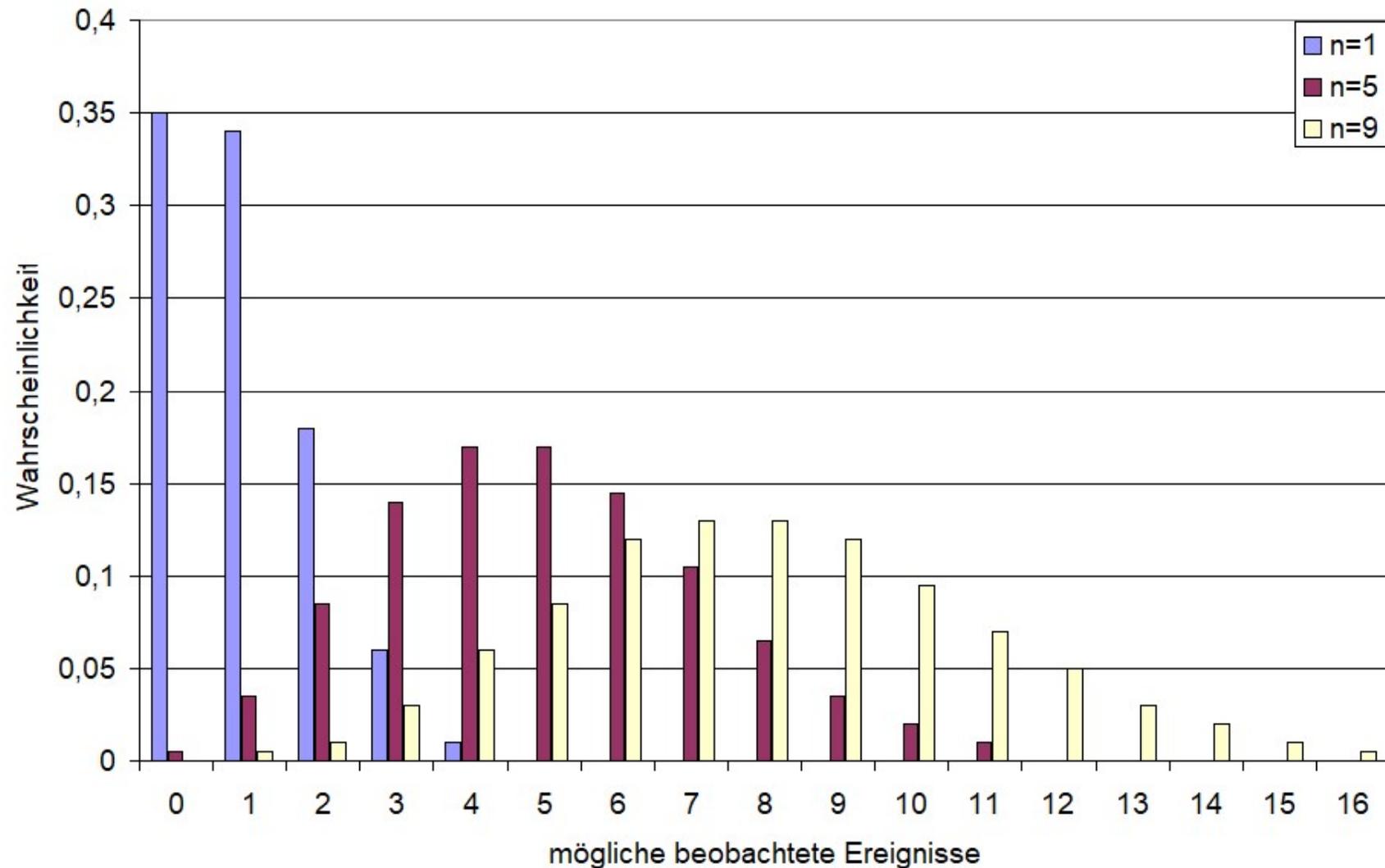


Mikroskopische Bilder einer Partikelbewertung

Beispiele von Proben aus der Routine		
		
Ascosporen	Sporentyp <i>Asp.-Pen.</i>	Sporentyp <i>Cladosporium</i>
Beispiele von Proben des 11. Ringversuch Wiesbaden		
		
Keine Sporen	Sporentyp <i>Asp.- Pen.</i>	Sporentyp <i>Asp.-Pen.</i> + Artefakt

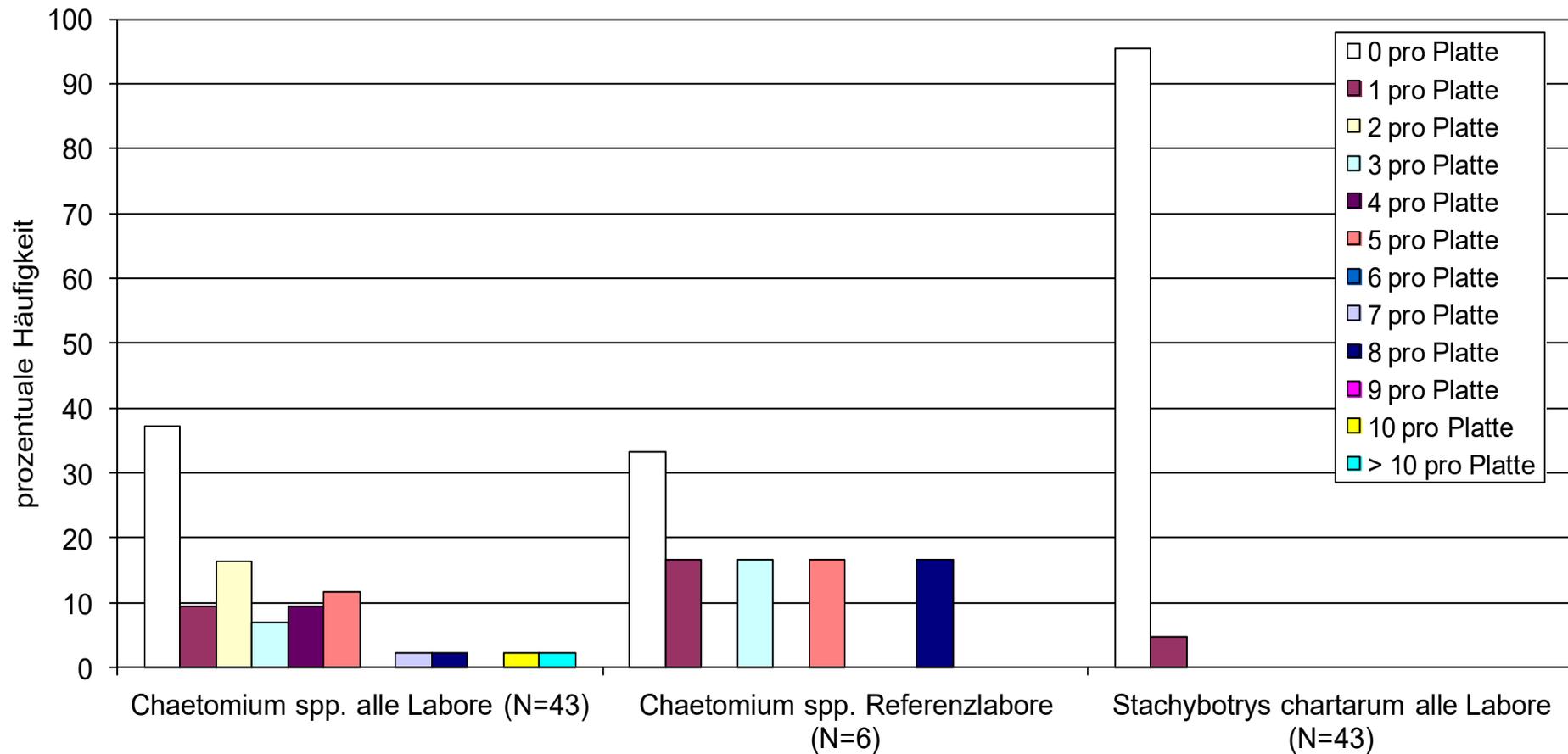
C. Trautmann Umweltmykologie GmbH, Berlin

Häufigkeitsverteilung bei einer Poisson-Verteilung bei n=1, 5 oder 9 Ereignissen



Häufigkeitsverteilung

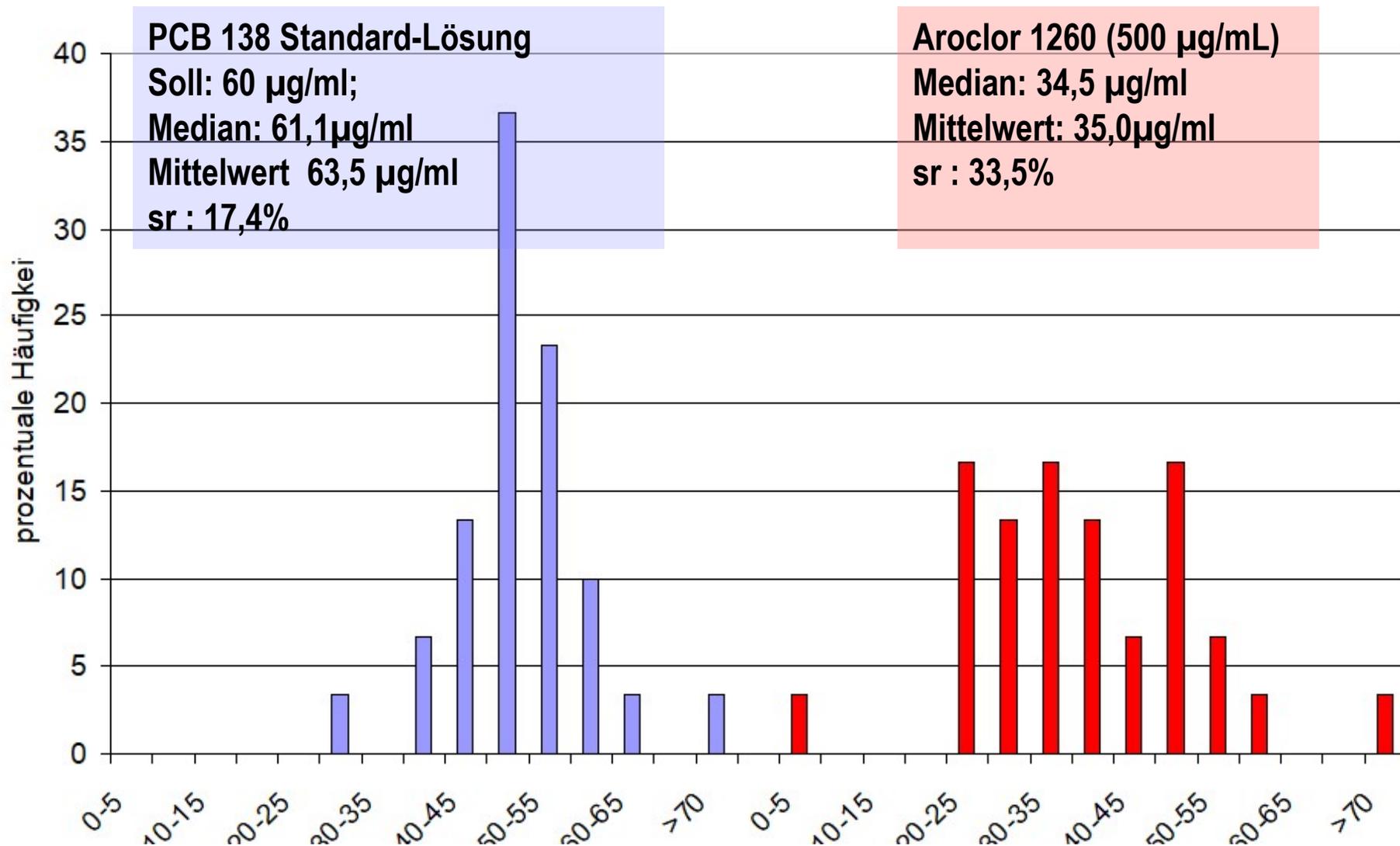
der Ergebnisse aller Labore und der Referenzlabore von *Chaetomium* sp. und *Stachybotrys chartarum* auf den untersuchten Malzextrakt-Nährmedienplatten (7.Ringversuch „Reale Probe“ LGA)



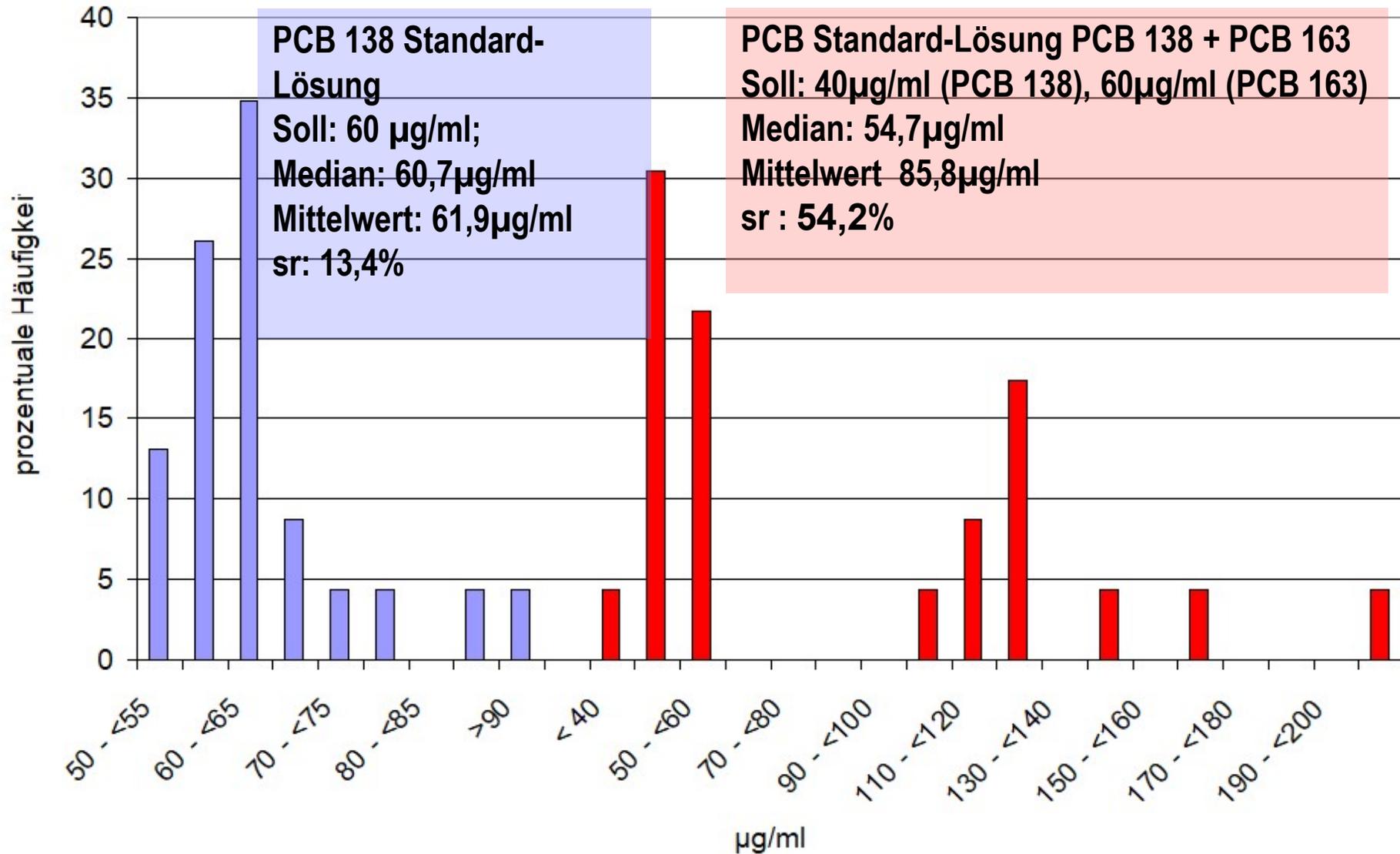
Häufigkeitsverteilung

der Konzentration von PCB 138

im 2. Ringversuch in Lösung 1 und 2 (n=28)

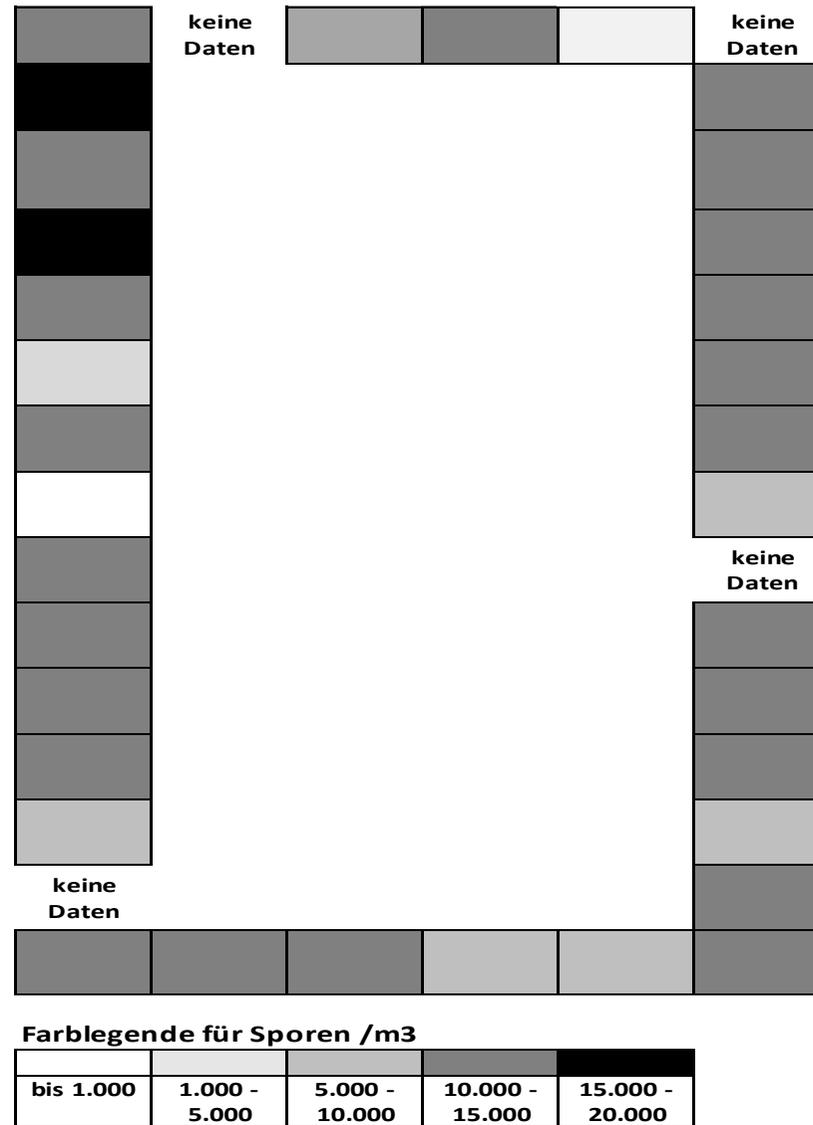


Häufigkeitsverteilung der Konzentration von PCB 138 im 3. Ringversuch in Lösung 1 und 2 (n=23)



Mittelwert aus drei Sammlungen

Typ Aspergillus/Penicillium pro Messplatz 11. VDB-Ringversuchs



Prozentuale Standardabweichung drei Messreihen (Median)

Sporentyp	Median 1. Spur [Sporen/m ³]	Median 2. Spur [Sporen/m ³]	Median 3. Spur [Sporen/m ³]	Standard- abweichung [%]
Außenlufttypen: Basidio-, Ascosporen, Sonstige	18.291	20.720	17.680	6,9
Cladosporium	5.886	5.600	5.600	2,4
Aspergillus/Penicillium	11.400	11.120	10.640	2,8
Mycelstücke	462	400	400	7,0
Summe aller Sporen	46.520	46.320	43.020	3,5

Mittelwert, Median und Standardabweichung

Sporentyp	Mittelwert ein Labor (n = 40) [Sporen/m ³]	Mittelwert a. a. Labore (n = 67) [Sporen/m ³]	Median ein Labor [Sporen/m ³]	Median a. a. Labore [Sporen/m ³]	s% ein Labor [%]	s% a. a. Labore [%]
Außenlufttypen: Basidio-, Ascosporen, Sonstige	23.318	16.175	22.720	15.000	18	53
Sporenaggregate von Außenlufttypen	7.384	2.316	5.960	1.200	76	138
<i>Cladosporium</i>	5.574	5.564	5.640	5.680	20	38
Sporenaggregate von <i>Cladosporium</i>	1.414	847	1.120	533	85	122
<i>Aspergillus/Penicillium</i>	10.472	11.609	10.640	11.694	16	43
Sporenaggregate von <i>Aspergillus/Penicillium</i>	3.474	2.349	3.440	2.255	44	75
Myzelstücke	500	659	480	400	55	112
Summe aller Sporen	52.188	40.000	50.640	38.766	19	41

Kriterien für die Bewertung der Teilnehmer

Kriterium 1:

Von vier Einzelergebnissen (Basidio-, Ascosporen, Sonstige; Typ *Cladosporium*; Typ *Asp./ Pen* und der Summe Basidio-, Ascosporen, Sonstige + *Cladosporium* + *Asp./ Pen*) **müssen drei innerhalb der abgeschätzten Messunsicherheit** (plus / minus 50 % des Medians, aller von den Teilnehmern eingereichten Messergebnisse) **liegen.**

Kriterium 2:

Die drei Ergebnisse der jeweiligen Messreihen eines Teilnehmers werden getrennt betrachtet. **Von den drei Messreihen müssen zwei dem Kriterium 1 entsprechen.**

Kriterium 3:

Die übermittelten Basisdaten dürfen **keine relevanten Rechenfehler enthalten.**

Auswertung 5. – 11. VDB Ringversuchs [Sporen/m³]

Sporentyp Ringversuch		Außenlufttypen: Basidio-, Ascosporen, Sonstige	Cladosporium	Aspergillus/ Penicillium	Summe aller Sporen
11. Ringversuch bestanden 86% Tiefgarage, Wiesbaden Bestimmung durch verschiedene Labore	Mittelwert	18799	5572	11233	44463
	sr	42	31	36	34
10. Ringversuch bestanden 47% Gewächshaus, Bamberg, Bestimmung durch verschiedene Labore	Mittelwert	2783	780	993	5408
	sr	56	56	86	44
9. Ringversuch bestanden 64% Foyer Dessau	Mittelwert	7710	1537	469	10038
	sr	70	109	154	52
8. Ringversuch ein Labor bestanden 100% Foyer Dessau	Mittelwert	43704	475	146	44765
	sr	9	26	53	8
8. Ringversuch alle anderen Labor bestanden 6% Foyer Dessau	Mittelwert	24664	1255	695	26747
	sr	52	71	99	47
7. Ringversuch bestanden 12% präparierter Raum Bad Staffelstein Teilnehmer werten die Proben selbst aus	Mittelwert	6266	4345	3018	14384
	sr	126	59	83	62
6. Ringversuch bestanden 100% Schimmelschaden, Nürnberg Bestimmung durch ein Labor	Mittelwert	13799	4567	34436	57507
	sr	17	27	12	13
5. Ringversuch Außenluft bestanden 96% Stuttgart Bestimmung durch ein Labor	Mittelwert	27111	7835	176	37307
	sr	24	20	57	12
5. Ringversuch Innenraumluft bestanden 100% Hörsaal Stuttgart Bestimmung durch ein Labor	Mittelwert	8867	2552	403	12251
	sr	21	29	31	20

Bewertungshilfe für Gesamtsporen (Sporen/m³) [nach UBA-Leitfaden 2017]

	Kategorie 1 Innenraumquelle unwahrscheinlich	Kategorie 2 Innenraumquelle auszuschließen	Kategorie 3 Innenraumquelle wahrscheinlich
Summe Asp./Pen. (gute Flugfähigkeit)	$RL \leq AL + 300$	$< RL \leq AL + 800$	$< RL > AL + 800$
einzelne typische Sporen aus Feuchteschäden Typ <i>Scopulariopsis</i> Typ <i>Acremonium</i> . <i>murorum</i> Typ <i>Paecilomyces</i> Typ <i>Microascus</i> Typ <i>Ascotricha</i> (Typ <i>Alternaria</i> , Typ <i>Ulocladium</i>)	$RL \leq AL + 100$	$< RL \leq AL + 300$	$< RL > AL + 300$
Sporen mit schlechter luftgetragener Verbreitung z.B. Typ <i>Chaetomium</i> Typ <i>Stachybotrys</i>	$RL \leq AL$	$< RL \leq AL + 20$	$< RL > AL + 20$
Myzelbruchstücke	$RL \leq AL + 150$	$< RL \leq AL + 300$	$< RL > AL + 300$

Bewertungskriterien zur Beurteilung einer Feinreinigung (WTA Merkblatt 4-12 2016)

Pilztyp	
	Nach Mobilisierung [Sporen/m ³]
Typ Aspergillus/Penicillium	800
Chaetomium	100
Hyphenstücke (Mycelbruchstücke)	200
Typ Stachybotrys	50
Typ Scopulariopsis/Doratomyces	200

Ergebnisse des VDB Ringversuchs (1)

1. Die **Streuung der Ergebnisse** ist von der Konzentration der Sporentypen bzw. Mycelbruchstücke und vom **Schwierigkeit ihrer Identifizierung abhängig**.
2. Die Häufigkeitsverteilung und **die Streuung der Ergebnisse** eines Labors, das für viele Probenehmer die Laborauswertung durchgeführt hat, unterscheidet sich deutlich von anderen Laboren.
3. Der **zeitliche Einfluss der Probenahme** auf die Ergebnisse des Ringversuchs kann als gering betrachtet werden. **Die Auswertung anhand der räumlichen Verteilung** zeigt, dass kein relevanter Einfluss des Messplatzes auf die Ergebnisse der Teilnehmer vorlag.

Ergebnisse des VDB Ringversuchs (2)

5. Die Erkennung von Sporentypen und die Abgrenzung der Sporen gegenüber andere Luftpartikel erfordert ein ausgedehntes Studium der Sporenviefalt von Pilzen sowie der Zusammensetzung von Luftproben. Die Methode kann nur von sehr erfahrenen Laborpersonal durchgeführt werden.
6. Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse zur Bestimmung der Gesamtsporenanzahl muss verbessert werden.
7. Die Ergebnisse des Ringversuchs ermöglichen eine Abschätzung der Messunsicherheit der Gesamtsporenbestimmung.
8. **Zukünftig sollte der VDB aus dem Teilnehmerkreis Referenzlabore berufen**, die eine mehrjährige Erfahrung bei der Bestimmung der Gesamtsporenanzahl in der Raumluft besitzen und an den vorangegangenen Ringversuchen erfolgreich teilgenommen haben.

Aufgaben und Funktion der Referenzlabore in Abstimmung mit dem VDB als Ringversuchsausrichter

- Auswahl eines geeigneten Ringversuchsmaterials bzw. Probenahmerraums für den Ringversuch.
- 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 Ringversuches.
- Der Ringversuch ist mit allen Teilnehmern gemeinsam zu besprechen.

Kriterien für die Berufung von Referenzlaboren

- Praktische Erfahrungen mit der Methode.
- Bisherige persönliche erfolgreiche Teilnahme an Ringversuchen.
- Gewährleistung der erforderlichen Anonymität.
- Mitarbeit bei der Verbesserung des Ringversuches und seiner Auswertung.
- Bereitschaft Verantwortung zu übernehmen.

Fazit für den Sachverständigen

1. Der Sachverständige muss die Grenzen und die Messunsicherheit des Verfahrens kennen.
Eine Bewertung der Ergebnisse anhand von Richtlinien oder Leitfäden ist sonst nicht möglich.
Ringversuchen geben hierzu die Antwort.
2. **Der Sachverständige hat zu prüfen**, ob das beauftragte Labor vergleichbare Ergebnisse liefert.
Die erfolgreiche Teilnahme an Ringversuchen liefert die Antwort.

Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit