



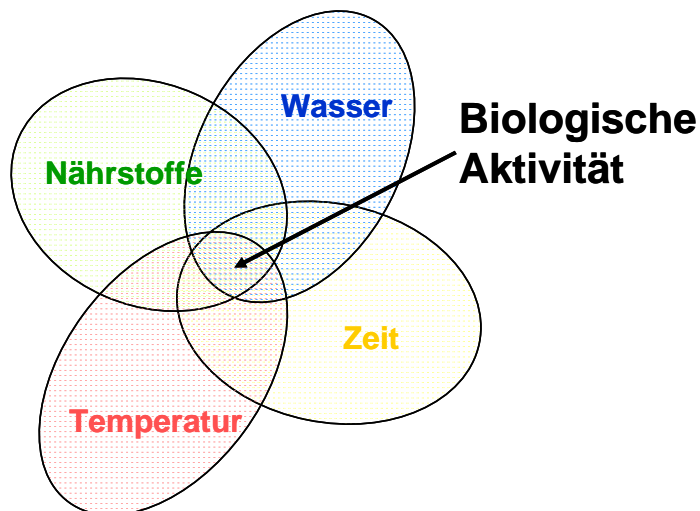
Bewertung der Methoden zur Schimmelpilzanalytik in der Praxis

Einleitung

Biologie der Schimmelpilze

Schimmelpilze sind Mikropilze, die überall in der Natur vorkommen. Es gibt tausende verschiedene Gattungen und Arten, die ihren Wachstumsansprüchen entsprechend in den unterschiedlichen geografischen Regionen und auf verschiedenen Substraten vorkommen. Im Innenraum ist ein Wachstum der Schimmelpilze aufgrund ihres Potentials, die menschliche Gesundheit zu beeinflussen, nicht erwünscht.

Schimmelpilze vermehren sich durch Sporen, die auf kleinen Fruchtkörpern, sogenannten Konidiophoren gebildet werden. Schimmelpilzsporen sind ubiquitär, d.h. überall vorhanden. Da die uns umgebende Luft jederzeit mikroskopisch kleine Schimmelpilzsporen enthält, ist der menschliche Organismus natürlich von Schimmelpilzsporen umgeben, wobei die Sporenmenge jahreszeitlichen Schwankungen unterworfen ist. Die Sporen lagern sich im Innenraum auf Materialoberflächen ab und keimen unter geeigneten Wachstumsbedingungen. Ausschlaggebend für das Wachstum der Schimmelpilze ist in erster Linie **Feuchtigkeit**.



Als Nahrung kann den Schimmelpilzen jede Kohlenstoffquelle und sogar Staub dienen. Daher ist es von ausschlaggebender Bedeutung, den Schwerpunkt bei der Beurteilung von Schimmelpilzschäden in Gebäuden auf das Wachstum der Pilze zu legen, das unter allen Umständen zu vermeiden ist. Das Schimmelpilzwachstum im Innenraum wird primär durch drei Faktoren bestimmt: Nährstoffangebot, Feuchtigkeit und Temperatur. Darüberhinaus spielen pH-Wert des Substrates, Licht und der Sauerstoffgehalt der Luft eine Rolle.

Ein Wachstum von Schimmelpilzen in Innenräumen kann nicht toleriert werden, da dies eine Produktion von einer grossen Anzahl von Sporen mit sich führt, die an die Innenraumluft abgegeben werden und dann über die Luftwege in den menschlichen Körper gelangen, wodurch eine Beeinträchtigung der Gesundheit hervorgerufen werden kann. Alle Schimmelpilzarten enthalten Allergene und β -Glucan, die auf die Gesundheit einwirken können. Beim Wachstum können bei entsprechenden Bedingungen artenabhängig Mykotoxine sowie gasförmige Abfallprodukte, sogenannte MVOC's produziert werden. Obwohl durch epidemiologische Studien keine eindeutig Dosis-Wirkungsbeziehung zwischen der Konzentration an Schimmelpilzen in der Luft und den gesundheitlichen Auswirkungen hergestellt werden kann, ist unumstritten, dass das Ausmass der Wirkung von der belastenden Schimmelpilzkonzentration abhängig ist.



Bewertung der Methoden zur Schimmelpilzanalytik in der Praxis

Schimmelpilzwachstum in Innenräumen

Am Anfang jeder Sanierung steht die Bestandsaufnahme. Ziel der Sanierungsmassnahmen ist es, das Wachstum von Schimmelpilzen dauerhaft zu unterbinden. Der Sanierungsaufwand hat sich nach UBA (Umweltbundesamt) am Ausmaß des Schadens zu orientieren, wobei folgende Kriterien einen Einfluss haben:

- Grösse der befallenen Fläche
- Stärke und Tiefe des Befalls (punktförmiges oder rasenartiges Wachstum)
- Vorkommende Pilzarten
- Alter des Befalls (aktiver Befall oder ausgetrockneter Altschaden)
- Art der befallenen Materialien
- Art der Raumnutzung

Die Beurteilung und Sanierung von durch Schimmelpilze verursachten Schäden wird nicht durch die Vorschriften einer DIN-Norm geregelt. Die Handlungsempfehlungen des Landesgesundheitsamtes Baden-Württemberg (LGA B.-W.) zur Vorbeugung, Untersuchung, Bewertung und Sanierung von Schimmelpilzwachstum in Innenräumen sowie der Leitfaden des Umweltbundesamtes (U.-BA.) sind als geltende Richtlinien in Deutschland anzusehen.

Um einen Befall durch Schimmelpilze nachhaltig beseitigen zu können, müssen die Ursachen, die zum Befall geführt haben, identifiziert und eliminiert werden. Wird ein Schimmelpilzbefall beseitigt ohne die verursachende Feuchtquelle auszuschalten, ist mit einem Wiederbefall zu rechnen.

Methoden zur Schimmelpilzanalytik

Zur Ermittlung des Befallsumfanges, der Schimmelpilzkonzentration und der Schimmelpilzarten stehen verschiedene Mess- und Labormethoden zur Verfügung, die den Anforderungen der Richtlinien entsprechen. Bei sichtbarem Befall können Materialproben, Klebefilmpräparatproben, Abklatschproben und MycoMeter-Tests zum Einsatz kommen, wogegen MVOC-Messung sowie Luftkeimmessung für Messungen bei vermutetem Befall vorgenommen werden können.

1. Bewertung von Luftproben

Um einen Anhaltspunkt für eine verdeckte Schimmelpilzquelle im Innenraum zu erhalten, kann eine Luftkeimsammlung durchgeführt werden. Dazu stehen verschiedene Geräte zur Verfügung, die alle eine definierte Menge Luft mit konstanter Geschwindigkeit ansaugen und an einem im Gerätekopf angebrachten Nährmedium vorbeiführen und dabei die Sporen auf dem Medium abscheiden. Nach Inkubation der Proben bei einer definierten Temperatur wird die Gesamt-KBE/m³ (Konzentration der koloniebildenden Einheiten) der keimfähigen Sporen durch Auszählen sowie die Artenzusammensetzung durch Mikroskopie bestimmt.

Die Durchführung der Messung sowie die Auswertung der Ergebnisse erfordern Fachkompetenz und mikrobiologische Erfahrung. Bei der Durchführung der Messung ist zu beachten, dass Ansaughöhe, Ansaugvolumen, Ansaugzeit, Art des Luftkeimsammlers, die mikrobiologische Bestimmungsmethode sowie die Raumnutzung einen Einfluss auf das Messergebnis haben können.



Bewertung der Methoden zur Schimmelpilzanalytik in der Praxis

Da die Luftkeimmessung eine "Momentaufnahme" darstellt, sind Fehlerquellen soweit wie möglich auszuschliessen bzw. als potentielle Einflussfaktoren in die Bewertung einzubeziehen.

Eine Luftkeimmessung darf daher nicht als alleiniger Beurteilungsparameter herangezogen werden, da die Ergebnisse der Messung durch verschiedene Faktoren beeinflusst werden können.

Entsprechend ist vor der Messung sicherzustellen, dass der zu beprobende Raum 12 Stunden vor der Messung nicht gelüftet wurde und Aktivitäten im Raum eingestellt werden.

Gleichzeitig ist eine Messung der Aussenluft vorzunehmen, um regionalen und jahreszeitlichen Schwankungen der Artenzusammensetzung und Sporenkonzentration Rechnung zu tragen und um einen Vergleich zwischen Innen- und Aussenluft zu ermöglichen.

Auch die Flugfähigkeit der einzelnen Schimmelpilzarten, die sehr unterschiedlich ist, kann das Messergebnis beeinflussen. Daher sind bei der Beurteilung der Innenraumquelle die einzelnen Schimmelpilzgattungen nach dem Typ ihrer Sporenverbreitung zu unterscheiden. Sporen vom Typ *Aspergillus*/ *Penicillium* sind beispielweise relativ klein und werden in grosser Anzahl gebildet. Bereits leichte Luftbewegungen können zu einer weiten Verbreitung und einer erhöhten Sporenkonzentration führen, die nicht unbedingt den tatsächlichen Schaden widerspiegeln. Gleichzeitig kann bei Schimmelpilzarten mit grossen Sporen, die in einer Schleimhülle gebildet werden und damit begrenzt flugfähig sind, das Ergebnis der Luftmessung negativ ausfallen, obwohl ein Schaden vorliegt. Dies ist besonders von schwerwiegender Bedeutung, wenn es sich um einen versteckten Befall von Schimmelpilzarten handelt, denen eine besondere gesundheitliche Bedeutung zugeordnet wird, wie beispielsweise *Stachybotrys chartarum*.

Entsprechend kommt bei der Luftkeimmessung der Erfassung der Artenzusammensetzung eine besondere Bedeutung zu, da diese einerseits Schimmelpilze, denen eine besondere gesundheitliche Bedeutung zugeordnet wird, identifiziert und andererseits einen Hinweis auf verdeckte Feuchteschäden und damit Schimmelpilzvorkommen zulässt.

Weiter ist zu berücksichtigen, dass das Nährmedium einen Einfluss auf das Messergebnis hat. Dem gewählten Nährmedium entsprechend werden beispielsweise schnellwachsende Schimmelpilzarten favourisiert, langsamwachsende unterdrückt oder bestimmte Arten erhalten aufgrund des gewählten Medium und der gewählten Temperatur optimalere Wachstumsbedingungen, was zu einer Verschiebung der Artenzusammensetzung auf der Platte führt.

Die Ergebnisse der Luftmessungen werden entsprechend der Wahrscheinlichkeit für eine Innenraumquelle in drei Kategorien eingeteilt. Die Bewertung ist aufgrund der aufgeführten Einflussfaktoren mit grösster Sorgfalt und Sachkenntnis auszuführen und darf nicht auf den Messergebnissen alleine beruhen.

2. Analytik von Schimmelpilzen auf Materialoberflächen

2.1 Direkte Analyse von Schimmelpilzen auf oder in Materialien

Die Analyse von befallenen Materialproben ist aus verschiedenen Gründen eine hilfreiche Methodik. Einerseits liefert diese Analyse einen direkten Hinweis auf die Lokalisation der Schimmelpilzquelle, andererseits kann eine Aussage über das Artenspektrum gemacht werden.



Bewertung der Methoden zur Schimmelpilzanalytik in der Praxis

Eine quantitative Aussage ist jedoch nicht möglich. Mittels Mikroskopie kann das Artenspektrum auf den befallenen Materialien ermittelt werden und damit die Dringlichkeit einer Sanierung bewertet werden. Die Feststellung ob sich nur Sporen, Mycelfragmente oder auch Konidieträger auf den befallenen Oberflächen identifizieren lassen, lässt eine begrenzte Aussage über die Konzentration des Befalls zu, ermöglicht aber gleichzeitig eine Aussage, ob es sich um Schimmelpilze mit einer gesundheitsgefährdendem Potential handelt.

Die Methode erfordert zwar mikrobiologisches Fachwissen, ist aber einfach durchzuführen und ermöglicht eine direkte Aussage über das Ausmass des Schadens auf den kontaminierten Flächen.

2.2 Analyse von Schimmelpilzen auf Oberflächen mittels Klebefilmpräparat.

Falls die befallenen Oberflächen identifiziert sind, die Entnahme einer Materialprobe unmöglich oder erschwert ist, kann die Probenentnahme mit Hilfe eines Klebefilmpräparates hilfreich sein. Bei dieser Methode werden die Schimmelpilze vor Ort auf einen Klebefilm überführt und anschliessend im Labor mikroskopisch untersucht. Der Vorteil, dass eine direkte Aussage über die Artenzusammensetzung auf der befallenen Oberfläche gemacht werden kann, ist hier ebenso gegeben wie bei der direkten Analyse einer Materialprobe. Auch hier ist eine Bewertung der Dringlichkeit der Sanierung aufgrund der Ergebnisse möglich. Die Bestimmung der Schimmelpilzartenzusammensetzung ermöglicht eine Identifikation der Arten mit besonderem gesundheitsgefährdendem Potential und diese können direkt der befallenen Oberfläche zugeordnet werden.

Bei dieser Probenentnahmemethodik ist jedoch zu beachten, dass das zur Analyse zur Verfügung stehende Probenmaterial in der Regel begrenzt ist und dass die Qualität und damit die Aussagefähigkeit stark von der Probenentnahme abhängig ist. Dies bedeutet, dass es von ausserordentlicher Wichtigkeit ist, dass das Probenmaterial repräsentativ entnommen wird, da das Personal im mikrobiologischen Labor keinen Eindruck der befallenen Materialoberfläche hat und da die Möglichkeit, mehrere Präparate zu erstellen nicht besteht.

2.3 Analyse von Schimmelpilzen auf Oberflächen mittels Abklatschproben

Diese Methode kommt häufig zum Einsatz, wenn entweder keine Materialprobe entnommen werden kann oder kein Schimmelpilzwachstum auf den zu untersuchenden Materialoberflächen sichtbar ist. Bei der Probenentnahme wird eine mit einem geeigneten Nährmedium gefüllte Petrischale mit dem Nährmedium auf die zu untersuchende Oberfläche gedrückt. Bei diesem "Abklatsch" werden vermeintlich auf der Oberfläche befindliche Sporen und Mycelbruchstücke auf das Nährmedium übertragen. Nach einer anschliessenden Bebrütung der Proben bei einer definierten Temperatur können die einzelnen Kolonien identifiziert werden. Die Artenzusammensetzung gibt einen Hinweis auf die Art der auf der Oberfläche vorhandenen, keimfähigen Sporen. Da die einzelnen Schimmelpilzarten unterschiedliche Feuchteansprüche haben, kann durch fachmännische Bewertung ein Rückschluss auf den tatsächlichen Befall gezogen werden.

Die Hauptproblematik dieser Methodik ergibt sich aus der Tatsache, dass bei der Analyse der Artenzusammensetzung nicht zwischen Anflugsporen, die entweder von aussen oder aus anderen Bereichen stammen und für eine eventuelle Kontamination verantwortlichen Sporen unterschieden werden kann. Eine direkte Zuordnung der Befunde der Abklatschplatte auf befallene Gebäudeoberflächen ist demnach nur bedingt möglich, obwohl die Probe direkt auf der Oberfläche entnommen wurde.

Ein Wachstum auf der Platte ist demnach nicht mit einem Wachstum vor Ort gleichzusetzen.



Bewertung der Methoden zur Schimmelpilzanalytik in der Praxis

Wie bereits unter dem Punkt „Luftkeimmessung“ beschrieben, kann die Wahl des Nährmediums einen Einfluss auf das Analyseresultat haben. Pilze, die einen hohen Feuchteanspruch haben, werden auf einem Medium, das für Pilze mit niedrigen Feuchteansprüche berechnet ist, schlecht wachsen und damit spiegelt das Analyseresultat nicht die wirklichen Verhältnisse vor Ort wieder.

Die Methode erlaubt keine qualitative Aussage, eine Angabe eines Meswswertes in KBE (koloniebildenden Einheiten) ist nicht sinnvoll.

2.4 Quantitativer Nachweis von Schimmelpilzvorkommen – MycoMeter - Test

Die Verfügbarkeit einer zuverlässigen Methode zum quantitativen Nachweis von Schimmelpilzen hat eine ausschlaggebende Bedeutung bei der Beurteilung des Schadensausmasses auf Gebäudeoberflächen. Die eindeutige, quantitative Bewertung von Schimmelpilzvorkommen vor Ort ermöglicht die gezielte Wahl geeigneter Sanierungsmassnahmen und kann zur Kontrolle der Wirksamkeit und Effektivität der ausgeführten Sanierungsmassnahmen eingesetzt werden.

Bei der Entwicklung des MycoMeter – Testes wurden einerseits den Anforderungen an eine wissenschaftlich dokumentierte Methode zur Quantifizierung der Biomasse als auch den Forderungen der Praxis an eine vor Ort durchführbare Messmethode mit einfacher Handhabung der Probenentnahme, die schnell eindeutige, vergleichbare Messergebnisse liefert, Rechnung getragen.

Der MycoMeter-Test ist eine Messmethode, die auf einem fluorometrischen Nachweis der Beta-N-Acetylhexosaminidase Aktivität basiert.

Die Anforderungen an einfach zu handhabende Probenentnahme sowie Durchführung der Analysen vor Ort wurden entsprechend gestaltet. Die Probenentnahme erfolgt mit Hilfe eines sterilen Wattestäbchens, das mit einem sterilen Buffer angefeuchtet wird, von einer definierten Beprobungsoberfläche (9 cm²). Die zu untersuchende Oberfläche wird gründlich abgewaschen, um die auf dem Material befindliche Biomasse auf die Wattestäbchenoberfläche zu übertragen. Bei aktivem Schimmelpilzbefall enthält diese Biomasse eine messbare Enzymmenge. Das Wattestäbchen wird dann auf eine ein synthetisches Enzymsubstrat enthaltende Pufferlösung übertragen und je nach Umgebungstemperatur 20-40 Minuten inkubiert.



Analyse vor Ort

Die Zusammenstellung einer mobilen Analyseeinheit in robuster Ausführung ermöglicht die Durchführung der Quantifizierung vor Ort. Probenentnahme und Analyse können innerhalb einer Stunde durchgeführt werden und ermöglichen eine sofortige Qualitätskontrolle vor Ort und damit Kosteneinsparung.



Bewertung der Methoden zur Schimmelpilzanalytik in der Praxis

Die mit Hilfe des MycoMeter-Tests gewonnenen Ergebnisse werden in drei Kategorien (A,B und C) eingeordnet. Zur Einteilung in die drei Kategorien wurden die Oberflächen auf aktives Pilzwachstum und abgelagerte Sporen untersucht. Als Hintergrundniveau oder Normalniveau wird die Schimmelpilz- und Sporenmenge definiert, die in Gebäuden ohne Feuchte - und schimmelpilzbelastung auf staubfreien, reinen Oberflächen gemessen wird. Dieses Niveau wird als Kategorie A bezeichnet. Über dem Normalniveau definieren sich die Kategorie B durch Akkumulation von Sporen auf Oberflächen und die Kategorie C durch direktes Wachstum von Schimmelpilzen.

Der MycoMeter-test kann zur schnellen Quantifizierung von Schimmelpilzen auf Oberflächen in Gebäuden eingesetzt werden. Eine Bestimmung der Artenzusammensetzung ist nicht möglich, Hinweise auf Arten mit einem gesundheitsgefährdenden Potential müssen durch andere Methoden erzielt werden.

Eine Unterscheidung zwischen Schimmelpilzvorkommen aufgrund einer Sporenakkumulation im Staub und aktivem Wachstum ist möglich. Die einfache Handhabung der Probenentnahme und die kurzen Analysezeiten ermöglichen eine schnelle und präzise Schadensaufnahme auf der Grundlage von standardisierten Ergebniskategorien.

3 . Abschliessende Bemerkungen

Alle genannten Methoden haben Vor- und Nachteile, die Wahl der einzelnen Methode hängt daher von den Gegebenheiten vor Ort und der Aufgabenstellung ab. Oft ist es sinnvoll, einzelne Methoden zu kombinieren, um eine Gesamtbeurteilung erzielen zu können.

Weiter ist zu beachten, dass die Analyseergebnisse, ungeachtet der gewählten Methode nicht allein stehen können.

Die Ergebnisse sind immer in einen Gesamtzusammenhang zu stellen und als Teil einer Gesamtbeurteilung anzusehen, wobei die Informationen, die sich aus dem Begehungsprotokoll ergeben sowie die Ergebnisse der bauphysikalischen Untersuchungen in die Beurteilung einfließen sollten. Die einzelnen Ergebnisse der verschiedenen Analysemethoden können nicht direkt miteinander verglichen werden, da diese eine unterschiedliche Aussagekraft haben und jeweils einzeln relevante Informationen über das Befallsbild geben.