

Auswertung

9. VDB-Ringversuch 2014

Probenvergleichsmessungen zu Schimmelpilzen aus Raumluft - Partikelsammlung sowie Kultivierung nach VDI 4300 Blatt 10

am Dienstag, 27. Mai im Atrium des Umweltbundesamt Dessau-Roßlau

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

Beschreibung des Ringversuchs

Der 9. VDB-Ringversuch fand am 27. Mai von 8:15 bis ca. 12:30 Uhr im Atrium des Umweltbundesamt Dessau-Roßlau statt.

Es sollten Proben zur Kultivierung (Luftproben zur Filtersammlung und direkte Impaktion auf Nährmedien) und zur mikroskopischen Bestimmung der Gesamtsporenzahl entnommen werden.

Ziel des 9. VDB-Ringversuchs ist, den beteiligten Laboren und Sachverständigen die Möglichkeit zu geben, die Qualität ihrer Ergebnisse zu prüfen. Die Teilnehmer sollen überprüfen können, ob sie richtige Ergebnisse produzieren. Die eingesandten Ergebnisse werden dahin beurteilt.

Die Ergebnisdarstellung der Teilnehmer erfolgt (ausschließlich) mittels eines zur Verfügung gestellten Erfassungsbogens (Excel-Tabellenblatt). Individuelle Ergebnisdarstellungen können nicht berücksichtigt werden.

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.

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.

Es 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.

Um die Ergebnisse der verschiedenen Teilnehmer miteinander vergleichen zu können, ist es notwendig, gleiche Probenaufarbeitungen durchzuführen. Es wurde daher verabredet, die Auswertung der Proben nach VDI 4300 Blatt 10 bzw. der DIN/ISO 16000-16, 17, 18, 20 durchzuführen.

An dem 9. VDB-Ringversuch beteiligten sich 33 Teilnehmer. Einige Teilnehmer führten mehrere Probenahmen, stellenweise mit mehreren Geräten, durch. Drei Teilnehmer haben keine Ergebnisse eingereicht.

Ablauf des Ringversuchs

Jeder Teilnehmer bekam eine Teilnehmernummer und mit der Teilnehmernummer einen Probenahmeplatz zugeteilt. Teilnehmernummer und Platznummer sind identisch.

Mit dieser Nummer bekam der Teilnehmer die Objektträger, DG-18 Nährböden und die Gelatinefilter ausgehändigt. Die Proben und die Ergebnisse werden anonym unter der Probennummer verwaltet.

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

Folgende Angaben und Hinweise sollten beachtet werden:

Auswertung der Gesamtsporen

- Auswertung des Probenahmevolumens von 200 l.
- Übersichtsauswertung, bei der große Sporen wie z. B. die der Gattungen *Alternaria*, *Chaetomium*, *Stachybotrys*, *Epicoccum* o.ä. auf der gesamten Probenspur mit dem 40fach Objektiv ausgezählt werden. Eintragen der Ergebnisse in die Tabelle Übersichtsauswertung.
- Bei der detaillierten Sporenzählung sollten nicht die ersten und letzten 3 mm der Probenspur (in diesem Bereich werden in der Regel aufgrund des Kanteneffektes der Sammlerdüse zu geringe Sporenkonzentrationen erfasst) ausgewertet werden.
- Bei der Detailauswertung wird die Probenspur (200 l) im rechten Winkel durchfahren. Eine derartige Durchfahrt der Probenspur wird im Folgenden als „Querauswertung“ bezeichnet. Bei der Durchfahrt der Probenspur (z. B. von rechts nach links) werden alle Sporen, die im Gesichtsfeld auftauchen, gezählt.
- Die Anzahl der Querauswertungen ist davon abhängig, wie groß der Bereich ist, der bei einer Querauswertung erfasst wird. Es sind so viele Querauswertungen durchzuführen, dass ca. 4.000 µm der gesamten Probenspur ausgewertet werden. Anmerkungen: bei Zeiss-Mikroskopen mit 10fach-Okular mit 20er Gesichtsfeld und 100er Objektiv entsprechen 4.000 µm ca. 20 Querauswertungen, wenn das gesamte Gesichtsfeld ausgewertet wird.
- Angabe des Durchmesser des Gesichtsfelds, wenn das gesamte Gesichtsfeld bei jeder Querauswertung ausgewertet wird oder die Höhe des Zählfeldes, wenn mit einem Zählfeld gearbeitet wird.
- Die einzelnen Querauswertungen über die Probenspur sollten verteilt liegen, so dass sich die einzelnen Querauswertungen nicht überschneiden.
- Sporen von Basidiomyceten, Ascomyceten sowie sonstige uncharakteristische Sporen sind in der Tabelle unter der Kategorie „Außenlufttypen“ einzutragen. Sporen der Gattung *Cladosporium* in der Kategorie „Cladosporium“. Keine, runde bis ovale Sporen, die denen der Gattung *Aspergillus* oder *Penicillium* entsprechen, in der Kategorie „Aspergillus/Penicillium“. Myzelstücke in die Kategorie „Myzel“ ein. Sofern weitere charakteristische Sporentypen festgestellt werden, die in feuchten Innenräumen auftreten, sollten zusätzliche Kategorien in den freien Zeilen angelegt werden.
- Anzugeben sind Sporenaggregate bzw. Sporencluster separat. Als Sporenaggregat bzw. Sporencluster zählen Sporen, die in kleinen Klumpen vorliegen sowie solche, die offensichtlich zusammen auf den Objektträger aufgeschlagen sind und daher dicht nebeneinander liegen. Die Anzahl der Sporencluster soll - wenn möglich - mit erfasst werden. Hintergrund: Das Auftreten von einzelnen Clustern kann auf das Ergebnis eines bestimmten Sporentyps einen großen Einfluss haben, wenn von diesem Sporentyp insgesamt nur relativ wenige Sporen gefunden werden.
- Zu verwenden ist für die Erfassung die Tabelle Gesamtsporen in der gestellten Excel-Datei „Ringversuch_2014“. Anzugeben sind die Rohdaten für die verschiedenen Querauswertungen und die berechneten Ergebnisse für einen Kubikmeter Probenluft.

Impaktionsplatten

- Auszuwerten sind die Luftkeimplatten mit 50 l und 100 l Probenvolumen und die Ergebnisse in die Tabelle Luftkeimsammlung der Datei Ringversuch_2014 einzutragen.
- Die Rohdaten (Koloniezahlen der verschiedenen Gattungen auf den einzelnen Petrischalen) sollen angegeben werden und zusätzlich der gewichtete Mittelwert aus den 50 l und 100 l Platten entsprechend der VDI 4300 Blatt 10 berechnet werden.
- Es sollten - soweit möglich - die Gattungen der Pilze angegeben werden. Eine Artbestimmung ist nicht zwingend notwendig. Das Datum der abschließenden Kolonieerfassung und die Inkubationstemperatur soll mit angegeben werden.

Gelatinefilter:

- Der Pilzgehalt der Gelatinefilter soll ausschließlich mit der Suspensionsmethode bestimmt werden. Andere Verfahren sind nicht zulässig.
- Anzugeben sind die Rohdaten (Koloniezahlen der verschiedenen Gattungen in einzelnen Parallelen einer Verdünnungsstufe, ohne eine weitere Verrechnung) sowie die Konzentrationen der Pilze pro Kubikmeter.
- In der zur Verfügung gestellte Tabelle „Filterauswertung“ sollen die folgenden zusätzlichen Angaben eingetragen werden:
 1. das Datum der Filteraufarbeitung
 2. die Zusammensetzung des Suspensionspuffers
 3. die Temperatur der Filtersuspension
 4. das Puffervolumen in ml, das zur Suspendierung des Filters verwendet wurde
 5. der Verdünnungsschritt der Suspension (üblich sind 10fach Schritte)
 6. welcher Nähragar (Typ und Hersteller) verwendet wurde
 7. das Volumen der Aliquoten, mit dem die einzelnen Verdünnungsplatten beschickt wurden
 8. das Datum der abschließenden Kolonieerfassung und die Inkubationstemperatur

(Hinweis: Im Informationsblatt zum Ringversuch wurde bereits hingewiesen, den Gelatinefilter in 5 ml bei 35 °C unter Schütteln aufzulösen und je Verdünnungsstufe mindestens 3 Parallelen (DG-18) anzulegen. Die einzelnen Parallelen sollten mit 0,3 ml Suspension einer Verdünnungsstufe beschickt werden.)

Die Forderung der Rohdaten ist notwendig, um Fehler in der Ergebnisermittlung ausschließen zu können bzw. abweichende Ergebnisse ggf. besser erklären zu können.

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

Der Name des auswertenden Labors wird nicht veröffentlicht. Der Name des Labors wird auch nicht an die Mitglieder des Ringversuchsqualitätsausschusses weitergeleitet.

Foto 1: Blick auf den Bereich im Atrium des UBA, in welchem der Ringversuch durchgeführt wurde.



Foto 2: Blick auf die Probenahmesituation während des Ringversuches



Ergebnisdarstellung

Die Datenmenge des VDB-Ringversuchs ist 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 als E-Mail, um eine individuelle Aufarbeitung für die jeweilige eigene Qualitätssicherung zu erleichtern.

Die Excel-Datei enthält mehrere Seiten mit Daten.

Blatt 1: Originaldaten der Impaktionsplatten (LKS original). Rot markierte Zahlen sind Zahlen, welche ergänzt werden mussten, weil diese fehlten.

Blatt 2: In diesem Tabellenblatt (LKS P95) wurde die obere und untere Grenze des P95 des Konfidenzintervall sowie die obere und untere Grenze des P90 – Konfidenzintervall berechnet und in der Tabelle farbig hervorgehoben (rot = P95, gelb = P90).

Blatt 3: In diesem Tabellenblatt (LKS korrigiert) wurden mutmaßliche fehlerhafte Angaben (rot markiert) ergänzt oder korrigiert, um eine sinnvolle statistische Auswertung durchzuführen.

Blatt 4: Originaldaten der Gelatinefilter (Gelatinefilter original). Rot markierte Zahlen sind Zahlen, welche ergänzt werden mussten, weil diese fehlten.

Blatt 5: In diesem Tabellenblatt (Gelatinefilter P95) wurde die obere und untere Grenze des P95 des Konfidenzintervall sowie die obere und untere Grenze des P90 – Konfidenzintervall berechnet und in der Tabelle farbig hervorgehoben (rot = P95, gelb = P90).

Blatt 6: In diesem Tabellenblatt (Gelatinefilter korrigiert) wurden mutmaßliche fehlerhafte Angaben (rot markiert) ergänzt oder korrigiert, um eine sinnvolle statistische Auswertung durchzuführen.

Blatt 7: in diesem Tabellenblatt sind die Ergebnisse der Gesamtsporenauswertung wiedergegeben.

Blatt 8: In diesem Tabellenblatt (Gesamtsporen P95) wurde die obere und untere Grenze des P95 des Konfidenzintervall sowie die obere und untere Grenze des P90 – Konfidenzintervall berechnet und in der Tabelle farbig hervorgehoben (rot = P95, gelb = P90).

Hinweis: Die Konfidenzintervalle wurden unter der Annahme einer Standardnormalverteilung berechnet. Die gelb hinterlegten Werte stellen dabei die Werte dar, die außerhalb des zweiseitigen Konfidenzintervalls mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha = 10\%$ liegen. Die rot hinterlegten Werte stellen dabei die Werte dar, die außerhalb des zweiseitigen Konfidenzintervalls mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha = 5\%$ liegen.

Eine Irrtumswahrscheinlichkeit von 10% bedeutet, dass statistisch 10% der Messwerte außerhalb des Konfidenzintervalls liegen. Die gelb markierten Werte sind deshalb als mögliche Ausreißer und die rot markierte Werte als wahrscheinliche Ausreißer der jeweiligen Messreihe anzusehen. Die untere Grenze des Konfidenzintervalls liegt stellenweise bei „0“. Dies erscheint verwirrend, ist jedoch bei der vorliegenden Streuung unter der Annahme einer Standardnormverteilung mathematisch korrekt.

Für den Probenvergleich bedeutet dies, dass im Sinne der ausgeschriebenen Bedingungen, Werte, welche als ein wahrscheinlicher Ausreißer anzusehen sind (P95-Konfidenzintervall), **die Anforderungen nicht erfüllt haben.**

Bewertung der Einzelergebnisse

In der nachfolgenden Übersicht sind die Einzelergebnisse der Teilnehmer in Bezug auf die Teilnahmebedingungen bewertet und Besonderheiten der Ergebnisse aufgeführt.

Teilweise haben die Teilnehmer keinen gewichteten Mittelwert gebildet, obwohl die Norm dies vorschreibt. Wir haben in der Bewertung, dies als formale Abweichung benannt, jedoch nicht negativ bewertet.

Nr.	Impaktion auf Nährböden	Gelatine Filter	Gesamtsporen
1	Es wurde der gewichtete Mittelwert berechnet. Die Berechnung ist korrekt. Anforderung erfüllt.	Die Berechnung ist fehlerhaft. Anforderung nicht erfüllt.	Die Berechnung ist korrekt. Anforderung erfüllt.
2	Es wurde der gewichtete Mittelwert berechnet. Die Berechnung ist korrekt. Anforderung erfüllt.	Nicht teilgenommen.	Die Berechnung ist korrekt. Anforderung erfüllt.
3	Es wurde der gewichtete Mittelwert berechnet. Die Berechnung ist korrekt. Anforderung erfüllt.	Nicht teilgenommen.	Die Berechnung ist korrekt. Anforderung erfüllt.
4	Es wurde der gewichtete Mittelwert berechnet. Die Berechnung ist korrekt. Anforderung erfüllt.	Die Konzentration wird aus der Originalsuspension berechnet. Die Berechnung ist korrekt. Anforderung erfüllt.	Die Berechnung ist korrekt. Anforderung erfüllt.
5	Die Berechnung der Einzelkonzentrationen ist korrekt, aber die Summe (KBE/m ³) wurde nicht zusammengesamt. Anforderung erfüllt.	Nicht teilgenommen.	Die Berechnung ist korrekt. Anforderung erfüllt.
6	Es wurde der gewichtete Mittelwert berechnet. Die Berechnung ist korrekt. Anforderung erfüllt.	Angaben von Verdünnungspuffer und Aliquot sind nicht nachvollziehbar. Konzentrationen liegen im richtigen Bereich. Anforderung erfüllt.	Nicht teilgenommen.
7	Mittelwert von 50 Liter-Platten ist in diesem Fall richtig, da die 100-Liter-Platten überladen waren. Berechnung ist korrekt. Anforderung erfüllt.	Die Konzentrationsberechnung ist nicht nachvollziehbar. Anforderung teilweise erfüllt.	Die Berechnung ist korrekt, allerdings liegt die Konzentration mit > 29.000 Sporen/m ³ mehr als doppelt so hoch wie die der übrigen Proben. Anforderung teilweise erfüllt.
8	Nicht teilgenommen.	Nicht teilgenommen.	Nicht teilgenommen.

9	Es wurde der gewichtete Mittelwert berechnet. Die Berechnung ist korrekt. Anforderung erfüllt.	Nicht teilgenommen.	Die Berechnung ist korrekt. Allerdings wurde ein Gesichtsfeld von 20 μ angegeben (normal um 200 μ). Die Gesamtsporenkonzentration liegt im Rahmen, es wurden aber relativ viele P/A festgestellt. Anforderung teilweise erfüllt.
10	Nicht teilgenommen.	Nicht teilgenommen.	Nicht teilgenommen.
11	Es wurde der gewichtete Mittelwert berechnet. Die Berechnung ist korrekt. Anforderung erfüllt.	Nicht teilgenommen.	Die Berechnung ist korrekt. Anforderung erfüllt.
12	Es wurde der gewichtete Mittelwert für einzelne Arten berechnet, aber keine Gesamtsumme gebildet. Anforderung erfüllt.	2 Proben, Konzentrationsberechnung mutmaßlich fehlerhaft, die Konzentrationen liegen ca. um Faktor 4 zu hoch. Anforderung nicht erfüllt.	In dem Feld „Gesichtsfeld in μm :“ steht 0,156 (ohne Einheit). Die Angabe von 146 Helminthosporium-Sporen (Einzelart in der Übersicht) in der Übersichtsauswertung erscheint zu hoch. Anforderung erfüllt.
13	Es wurde kein gewichteter Mittelwert verwendet sondern es wurden die Konzentrationen für 50 l und 100 l getrennt berechnet. Die Berechnungen sind korrekt. Anforderung erfüllt.	Das Ergebnis wird als gewichteter Mittelwert bezeichnet. Allerdings wurde kein gewichteter Mittelwert sondern der Mittelwert der Originalsuspension mit entsprechendem Faktor verwendet. Das Ergebnis ist korrekt. Anforderung erfüllt.	Berechnung ist korrekt. Anforderung erfüllt.
14	Es wurde der gewichtete Mittelwert berechnet. Die Berechnung ist korrekt. Anforderung erfüllt.	Nicht teilgenommen.	Die Berechnung ist korrekt. Anforderung erfüllt.
15	Es wurden die Konzentration Pilzsporen / m^3 für jede einzelne Platte berechnet und außerdem wurden die Koloniezahlen entsprechend der wahrscheinlichsten Koloniezahl „korrigiert“. Die Vorgehensweise entspricht daher nicht der VDI 4300 Blatt 10. Anforderung teilweise erfüllt.	Nicht teilgenommen.	Es wurde nur die Endkonzentration der Pilztypen angegeben. Es fehlen die Basisdaten zur Konzentrationsberechnung. Die Konzentration liegt mit ca. 14.000 im Rahmen. Insgesamt kann das Ergebnis nicht bewertet werden, weil die Einzeldaten fehlen. Anforderung teilweise erfüllt.

16	Es wurden keine Basisdaten abgegeben. Es sind keine Koloniezahlen sondern die Konzentrationen pro m ³ für die einzelnen Petrischalen angegeben. Ein Mittelwert oder gewichteter Mittelwert wurde nicht errechnet. Anforderung nicht erfüllt.	Nicht teilgenommen.	Es wurde nur die Endkonzentration der Pilztypen angegeben. Es fehlen die Basisdaten zur Konzentrationsberechnung. Die ermittelten Konzentrationen pro m ³ sind mit ca. 3.000 Sporen pro m ³ sehr niedrig. Anforderung nicht erfüllt.
17	Es wurde der gewichtete Mittelwert berechnet. Die Berechnung ist korrekt. Die Ergebnisse liegen leider nur als PDF vor. Anforderung erfüllt.	Nicht teilgenommen.	Nicht teilgenommen.
18	Es wurde der gewichtete Mittelwert berechnet. Die Berechnung ist korrekt. Anforderung erfüllt.	Nicht teilgenommen.	Es ist nicht nachvollziehbar ob die Aggregate mitgezählt wurden. Anforderung erfüllt.
19	Die Berechnung ist korrekt. Anforderung erfüllt.	Nicht teilgenommen.	Es ist nicht nachvollziehbar ob die Aggregate mitgezählt wurden. Anforderung erfüllt.
20	Es wurde der gewichtete Mittelwert berechnet. Die Berechnung ist korrekt. Anforderung erfüllt.	Nicht teilgenommen.	Die Berechnung ist korrekt. Anforderung erfüllt.
21	Es wurde der gewichtete Mittelwert berechnet. Die Berechnung ist korrekt. Anforderung erfüllt.	Nicht teilgenommen.	Die Berechnung ist korrekt. Anforderung erfüllt.
22	Nicht teilgenommen.	Die Berechnung ist korrekt. Anforderung erfüllt.	Nicht teilgenommen.
23	Es wurde der gewichtete Mittelwert berechnet. Die Berechnung ist korrekt. Anforderung erfüllt	Nicht teilgenommen	Die Berechnung ist korrekt. Anforderung erfüllt
24	Nicht teilgenommen	Nicht teilgenommen.	Nicht teilgenommen.
25	Es wurde der gewichtete Mittelwert berechnet. Die Berechnung ist korrekt. Anforderung erfüllt.	Nicht teilgenommen.	Berechnung ist korrekt. Anforderung erfüllt.
26	Es wurde der gewichtete Mittelwert berechnet. Die Berechnung ist korrekt. Anforderung erfüllt.	Nicht teilgenommen.	Die Berechnung ist korrekt. Anforderung erfüllt.

27	Die Berechnung ist korrekt. Anforderung erfüllt.	Die Konzentrationsberechnung ist nicht nachvollziehbar. Anforderung teilweise erfüllt.	Die Berechnung ist korrekt. Die Konzentrationen liegen mit ca. 20.000 doppelt so hoch wie die übrigen Proben. Anforderung teilweise erfüllt.
28	Es wurde der gewichtete Mittelwert berechnet. Die Berechnung ist korrekt. Anforderung erfüllt.	Nicht teilgenommen.	Nicht teilgenommen.
29	Es wurde der gewichtete Mittelwert berechnet. Die Berechnung ist korrekt. Anforderung erfüllt.	Die Berechnung ist korrekt. Anforderung erfüllt.	Die Berechnung ist korrekt. Anforderung erfüllt.
30	Es wurde der gewichtete Mittelwert berechnet. Die Berechnung ist korrekt. Anforderung erfüllt.	Die Berechnung ist korrekt. Anforderung erfüllt.	Die Berechnung ist korrekt. Anforderung erfüllt.
31	Gewichteter Mittelwert. Berechnung der Einzelkonzentrationen ist korrekt, aber die Summe (KBE/m^3) wurde nicht zusammengerechnet. Anforderung erfüllt.	Nicht teilgenommen.	Nicht teilgenommen.
32	Es wurde der gewichtete Mittelwert berechnet. Die Berechnung ist korrekt. Anforderung erfüllt.	Nicht teilgenommen.	Die Berechnung ist korrekt. Anforderung erfüllt.
33	Es wurde der gewichtete Mittelwert berechnet. Die Berechnung ist korrekt. Anforderung erfüllt.	Nicht teilgenommen.	Die Konzentrationsberechnung ist nicht nachvollziehbar. Die ermittelte Gesamtkonzentration erreicht nur ca. 50 % der anderen Proben. Anforderung nicht erfüllt.

Wir bedanken uns für die wissenschaftliche Begleitung des Probenvergleiches bei der AGÖF, vertreten durch Dr. Lothar Grün (eco-Luftqualität + Raumklima) und Michael Köhler (Bremer Umweltinstitut GmbH).

Dr. Christoph Trautmann und
Uwe Münzenberg
Leiter des VDB-Ringversuchs