

# Analyse von luftgetragenen Schimmelpilzen in 11 kontaminierte Häusern mit der Hilfe von einer neuen Beurteilungsmethode

*Dr. Urban Palmgren, B.Sc. (hons.) Judith Müller*

*Labor Urbanus GmbH*

*Wagnerstr. 15, 40212 Düsseldorf*

*Tel: 0211-378070*

*Fax: 0211-378071*

*mueller@labor-urbanus.de, www.labor-urbanus.de*

## Einleitung/Überschrift

---

### Abstract

In 11 kontaminierten Häusern wurden luftgetragene Schimmelpilzbelastungen untersucht und mit einer neuen Evaluationsmethode beurteilt. Mikrobiologische Luftproben wurden mittels der Filtrationsmethode genommen und auf koloniebildenden Einheiten (KBE) und Gesamtzellzahl (Gzz) analysiert. Das Verhältnis von KBE zu Gzz variierte in den einzelnen Proben zwischen <1 bis > 90 %. Die Ergebnisse zeigten weiter, dass die mikrobiologische Belastung in den Außenluftproben höher war als in den dazugehörigen Innenraumluftproben.

Luftbewegungen die mit Schimmelpilzbefall in Kontakt kommen, bringen Sporen und Myzelteile in die Umgebungsluft. Diese sogenannten luftgetragenen Mikroorganismen werden die gleiche Quote zwischen KBE/Gzz aufweisen, wie die an den kontaminierten Flächen verbleibenden Mikroorganismen. Mittels der Quote KBE/Gzz kann eine Aussage über das Alter des Schimmelwachstums und deren Herkunft getroffen werden. Auf der Grundlage der Messeinheiten KBE und Gzz konnten in dieser Untersuchung fünf Kernaussagen getroffen werden:

Ein älterer mikrobiologischer Befall zeichnet sich durch eine niedrige Quote zwischen KBE und Gzz aus, da sich die Anzüchtbarkeit der Schimmelpilze über die Zeit stark reduziert. Daher ist ein Schadensnachweis bei älteren Schimmelpilzschäden durch die Messung der KBE nicht erfolgsversprechend.

Ältere Schimmelschäden emittieren mehr Sporen und Myzelstücke als jüngere und feuchtere Schäden.

Außen- und Innenluftproben haben selten die gleiche Quote bzw. Alter und dies zeigt, dass die Außenluftbelastung und die aus der Innenraumluft von unterschiedlichen Standorten emittieren. Daraus folgt, dass Außenluftproben nur bedingt als Vergleichswerte für Innenraumproben fungieren können.

Wären die Objekte mit der herkömmlichen Methode der KBE-Messung beurteilt worden, hätte es in den 29 untersuchten Häusern keinen Hinweis auf eine Innenraumquelle gegeben. Wenn die Quote KBE/Gzz mit in die Beurteilung einbezogen wird, zeigten 19 Objekte eine mikrobielle Auffälligkeit.

Das toxische und allergene Potential der Schimmelpilze ist von der Biomasse respektive der Gesamtzellzahl abhängig und unabhängig von der KBE.

Zusammenfassend zeigt die Untersuchung, dass eine Korrelationen zwischen luftgetragene KBE und einer Gesundheitsbeeinflussung sowie zwischen KBE und dem Vorhandensein von Schimmelschäden irrelevant sind. Demnach sollten für solche Korrelationen aussagekräftigere Methoden verwendet werden.

## Einleitung

Das verstärkte Bewusstsein für Gesundheitsbelastungen durch Schimmelpilze in Gebäuden hat Diskussionen über die Zuverlässigkeit der Nachweis- und Beurteilungsmethoden von Schimmelschäden mittels Luftproben entfacht. In vielen Publikationen ist eine Korrelation zwischen dem Aufenthalt in feuchten Häuser und negativen Gesundheitsreaktionen belegt (Bornehag et al., 2001, Bornehag et al., 2004, Fisk, Lei-Gomez and Mendell, 2007, Institute of Medicine, 2004, Mudarri and Fisk, 2007, WHO Guidelines for Indoor Air Quality, 2009, Tischer, Chen and Heinrich, 2011, Norbäck, 2001). Jedoch konnten keine Korrelationen zwischen KBE/m<sup>3</sup> von Schimmelpilzen und Gesundheitsstörungen bestimmt werden (WHO Guidelines for Indoor Air Quality, 2009, Malmberg et al. 1986, Malmberg et al., Norbäck et al, 1993). Die Standardmethode für die Risikobeurteilung einer Gesundheitsbelastung oder die Beurteilung einer Gesundheitsstörung bleibt bis heute die Messung von luftgetragene KBE/m<sup>3</sup>.

Schimmelpilze wachsen solange die relative Luftfeuchtigkeit (rH) ein Wachstum unterstützt (> 70%). Nachdem die Ursache der erhöhte rH behoben ist, wird sich die rH minimieren und die Baumaterialien austrocknen bzw. das Wachstum der Schimmelpilze beenden. Je länger die Baumaterialien trocken bleiben desto mehr Schimmelpilze verlieren die Fähigkeit als KBE anzuwachsen. In dieser Phase können die Schimmelpilze mittels Labormethoden, die auf KBE basieren, nicht nachgewiesen werden. Für einen sicheren Nachweis werden mikroskopische Zählmethoden benötigt, die auch nicht anzüchtbare Mikroorganismen anzeigen. Die reduzierte Fähigkeit der Mikroorganismen bei längerer Trockenheit anzuwachsen ist bedingt durch physiologische und morphologische Beschaffenheit der Schimmelpilze. Diese Gegebenheit bietet Mikrobiologen die Möglichkeit das Alter eines Schimmelpilzschadens zu bestimmen.

Das Ziel dieser Untersuchung war zu bewerten, ob Schimmelpilze von verschiedenen Quellen z.B. Außenluft und Innenraumluft unterschiedliche Altersmuster aufzeigen und ob Schimmelschäden in Innenräumen mit erweiterten Analysemethoden effizienter nachgewiesen werden können.

## Methode

Die Luftproben für diese Untersuchung wurden in Häusern mit Feuchtigkeitsproblemen genommen, in denen der Schimmelpilzbefall mit Materialproben und Klebefilmanalysen bereits bestätigt worden ist. Am Abend vor der Probenentnahme wurden die untersuchten Räume ausgiebig (> 30 min.) gelüftet, geschlossen und die Messung hat am nächsten Morgen durchgeführt.

Die durchgeführten Luftproben wurden mit dem Filtrationsverfahren entnommen und untersucht (Camnea Methode). In diesem Verfahren wird die Luft mittels einer Pumpe (SKC) einem Luftfluss von 2l/min über 4 Stunden in eine sterile Filterkassette gesaugt. In dieser Kassette befand sich ein weißer Polycarbonatfilter mit einer Porengröße von 0,4 µm auf einer Stützscheibe aus Cellulose.

Nach der Messung wurde der Filter mit einer sterilen Waschflüssigkeit abgespült und in ein Reagenzglas überführt. 100 µl von der Probensuspension wurde mit Acridin-Orange (Fluoreszenzfarbstoff) gefärbt und durch einen schwarzen Polycarbonatfilter mit der Porengröße von 0,4 µm filtriert. Anschließend wurde die Filteroberfläche mit einem Fluoreszenzmikroskop untersucht und die Gesamtzellzahl bestimmt (Camnea-Methode). Im nächsten Schritt wurde die Suspension auf den Standardmedien DG18 und Malz ausplattiert und nach einer Woche Inkubation bei 26°C gezählt und differenziert.

Die fluorchrome Färbung mit Acridin-Orange für die Bestimmung der Gesamtzellzahl wurde in verschiedenen Bereichen verwendet, z.B. marine Untersuchungen von Mikroorganismen (Zimmerman & Meier-Reil 1974; Jones & Simon 1975), mikrobiologische Kontamination von Lebensmittels (Pettipher et al. 1980; Pettipher & Rodrigues 1982) und mit luftgetragene Mikroorganismen (Palmgren et al. 1986).

Die durchgeführte Altersbestimmung basiert auf dem Lebenszyklus und der Stoffwechselaktivität von Mikroorganismen. Die Analytik von Gesamtzellzahl, biochemischer Aktivität und koloniebildende Einheiten und deren Quoten bilden die Grundlage für die Altersbestimmung. In Tabelle 1 wird vereinfacht die Altersbestimmung dargestellt. Diese Daten bilden die Grundlagen, jedoch muss auch die Zusammensetzung der Mikroflora berücksichtigt werden. Sollte der Schaden chemisch behandelt oder getrocknet worden sein, verschieben sich die Ergebnisse und Quoten und eine Altersbestimmung ist kaum noch möglich. Auch eine periodische Auffeuchtung von Schäden lassen die Werte abweichen. Daher bedarf die Altersbestimmung von Schimmelpilzschäden einer großen Erfahrung und eventuell weitere Informationen über die Schadensbehandlung.

Quote KBE/Gzz	Ungefähres Schadensalter
~ 1%	> 1 Jahr
~10%	> 6 Monate
~25%-50%	Ca. 3 Monate
>50%	< 3 Monate

Table 1: Vereinfachte Grundlage für die Altersbestimmung von Schimmelpilzschäden

## Ergebnisse und Diskussion

In den untersuchten Gebäuden lag die Anzahl der KBE/m<sup>3</sup> von luftgetragenen Schimmelpilzen zwischen <1 und >90 % von den in den Proben nachgewiesenen Gesamtzellzahlen (Abb. 1).

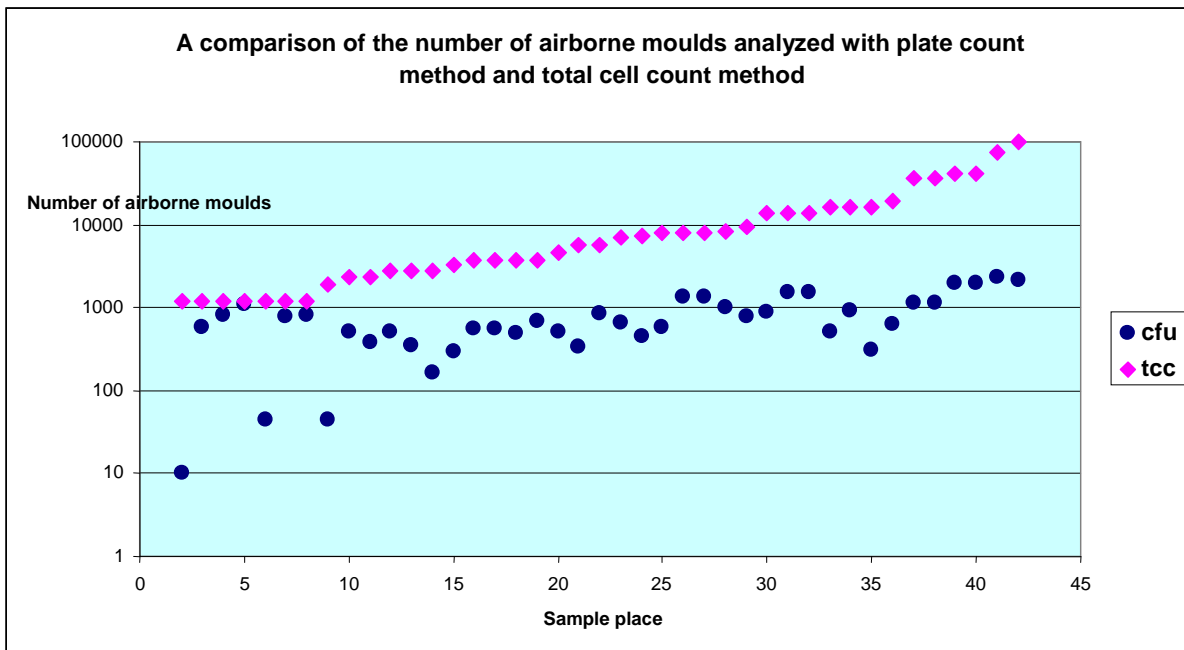


Abb. 1 Vergleich KBE (cfu) und Gzz (tcc) von luftgetragenen Schimmelpilzen Millionen pro m<sup>3</sup>

Die nachgewiesenen Konzentrationen der luftgetragene Schimmelpilze weichen zwischen den unterschiedlichen Analysemethoden stark voneinander ab ohne dabei eine Regelmäßigkeit zu zeigen, die einen Umrechnungsfaktor ermöglicht hätte. Dies bedeutet, dass von einer allein stehenden KBE Messung kein Rückschluss auf die Gesamtkonzentration der luftgetragenen Schimmelpilze gezogen werden kann.

Die Resultate zeigen, dass luftgetragene KBE- und Gzz-Werte verglichen mit der Außenluft niedrig sein können, obwohl hohe Anzahlen von Schimmelpilzen an den Oberflächen der Baumaterialien vorhanden sind. In Abbildung 2 ist zu erkennen, dass die Innenraumbelastung mit beiden Messmethoden der Innenraumluft verglichen mit der Außenluft nicht erkannt worden wäre, da die Innenraumwerte geringer waren als die Referenzmessungen. Es ist anzumerken, dass in Abbildung 2 die Resultate von KBE und Gzz ähnlich aussehen, jedoch liegt dies an der logarithmischen Darstellungsweise der Werte. Es ist wichtig hervorzuheben dass eine Innenraumkontamination entweder mit der Außenluft in den Innenraum herein transportiert oder von bewachsenen bzw. kontaminierten Oberflächen in den Räumlichkeiten emittiert wird. Luft selbst ist kein Medium dass ein Wachstum von Schimmelpilze unterstützt.

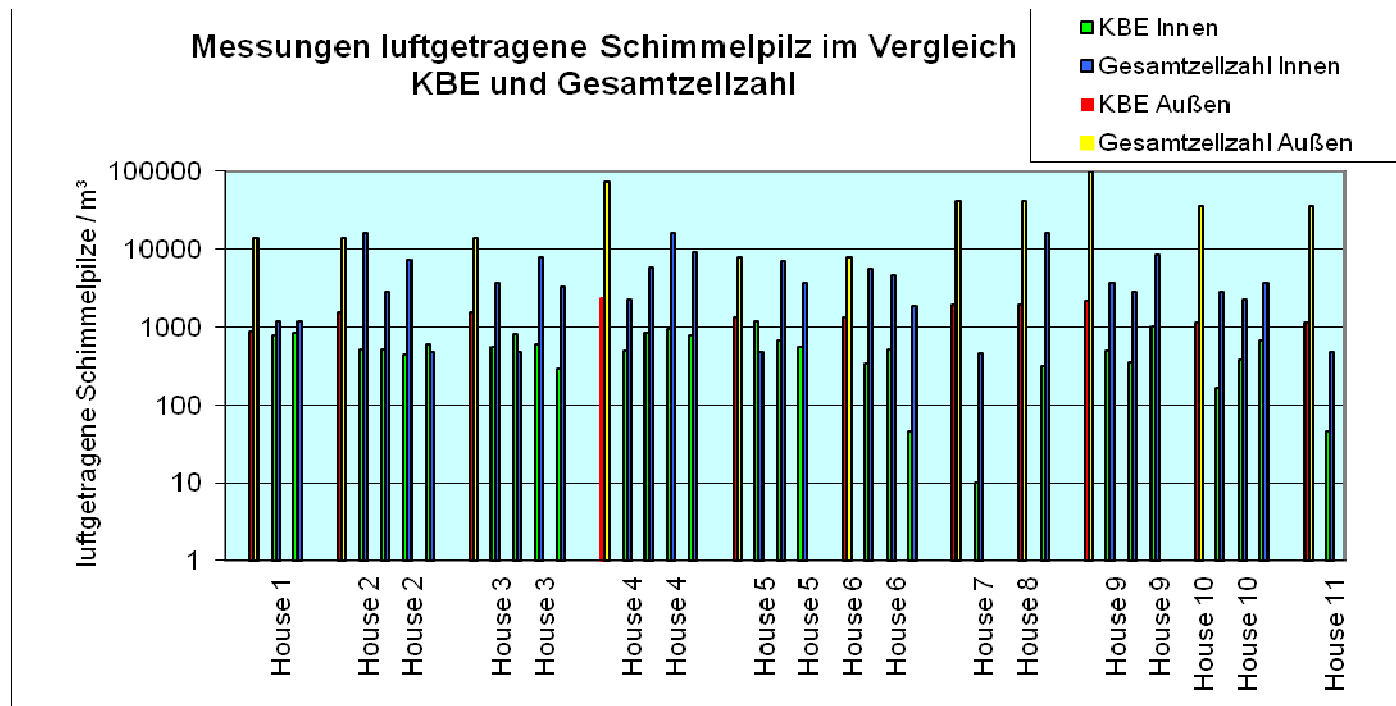


Abb. 2 Messungen luftgetragene Schimmelpilze im Vergleich KBE und Gzz

Die graphische Darstellung in Abbildung 3 zeigt nicht nur die Unterschiede zwischen KBE und Gzz, sondern auch die Quote zwischen KBE/Gzz, welche als Altersindikator des mikrobiellen Wachstums verwendet werden kann. Die höheren Quotenwerte auf der linken Seite der Abbildung 3 stellen die Aufwirbelung von jüngeren schimmelpilzbewachsene Oberflächen, verglichen mit der Emission von älteren Ursprungsorten auf der rechte Seite dar. Zusätzlich wird verdeutlicht, dass bei älteren Schäden viele Schimmelpilze gestorben oder so geschwächt sind, sodass sie nicht mehr auf Nährmedien im Labor wachsen und somit als KBE nicht nachgewiesen werden können.

Diese Resultate zeigen weiter, dass das Schadensalter einen erheblichen Einfluss auf das Emissionsverhalten der Schimmelpilze hat. Je älter ein Schaden ist, was durch eine niedrige Quote KBE/Gzz angezeigt wird, desto höhere Werte erreicht die Gesamtzellzahl der Luftprobe. Dies bedeutet im Umkehrschluss, dass jüngere Schäden niedrigere Konzentrationen von luftgetragenen Schimmelpilze generieren können.

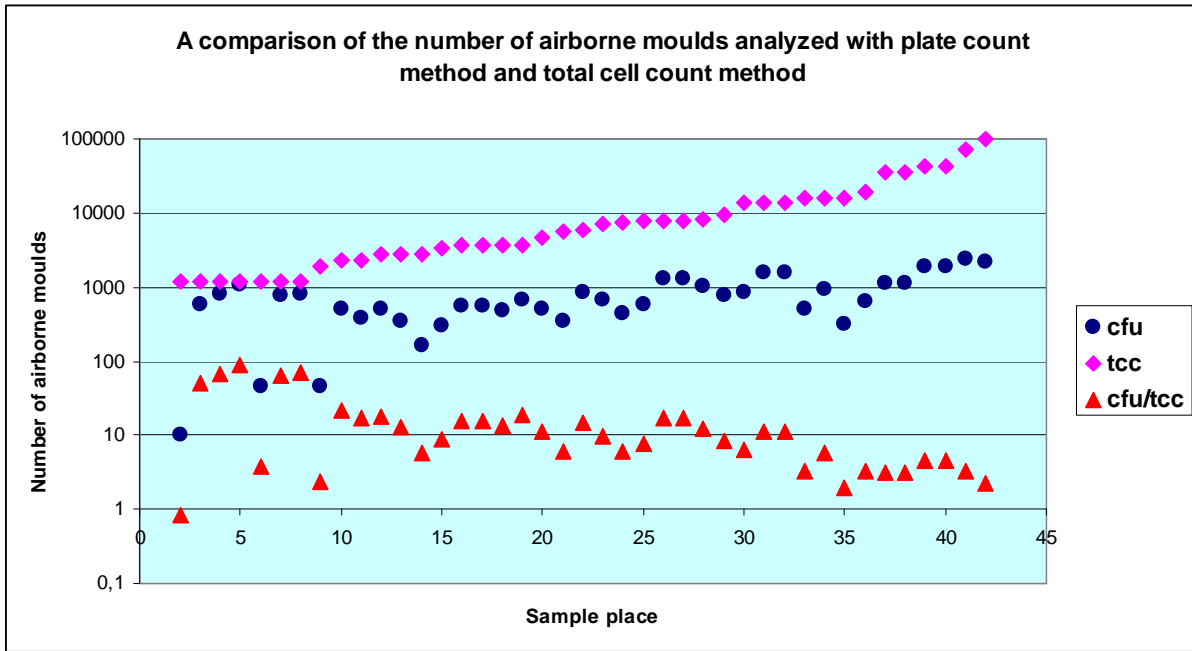


Abb. 3. Unterschiede zwischen luftgetragenen KBE (cfu) und Gzz (tcc) von Schimmelpilzen, sowie die dazu gehörige Quote KBE/Gzz Millionen pro m<sup>3</sup> Quote KBE (cfu)/ Gzz (tcc) in %

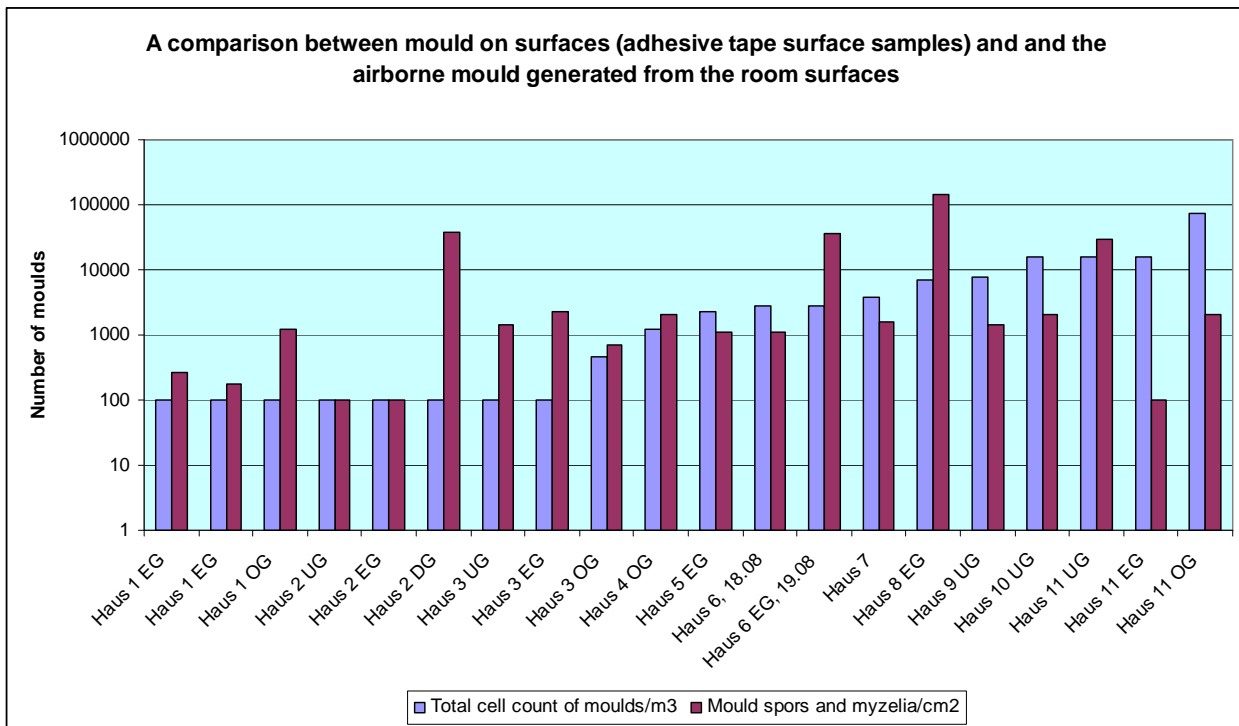


Abb. 4. Ein Vergleich zwischen der Schimmelpilze/cm<sup>2</sup> von Schimmelpilze auf Wandoberflächen (Klebefilmproben) und luftgetragene Schimmelpilze/m<sup>3</sup> Gzz

Abbildung 4 beschreibt einen Vergleich zwischen Wandkontamination und die daraus resultierende Anzahl von luftgetragenen Schimmelpilze (Gzz). Auch wenn in einigen Proben Abweichungen überwiegen die Übereinstimmungen dieser beiden Messmethoden.

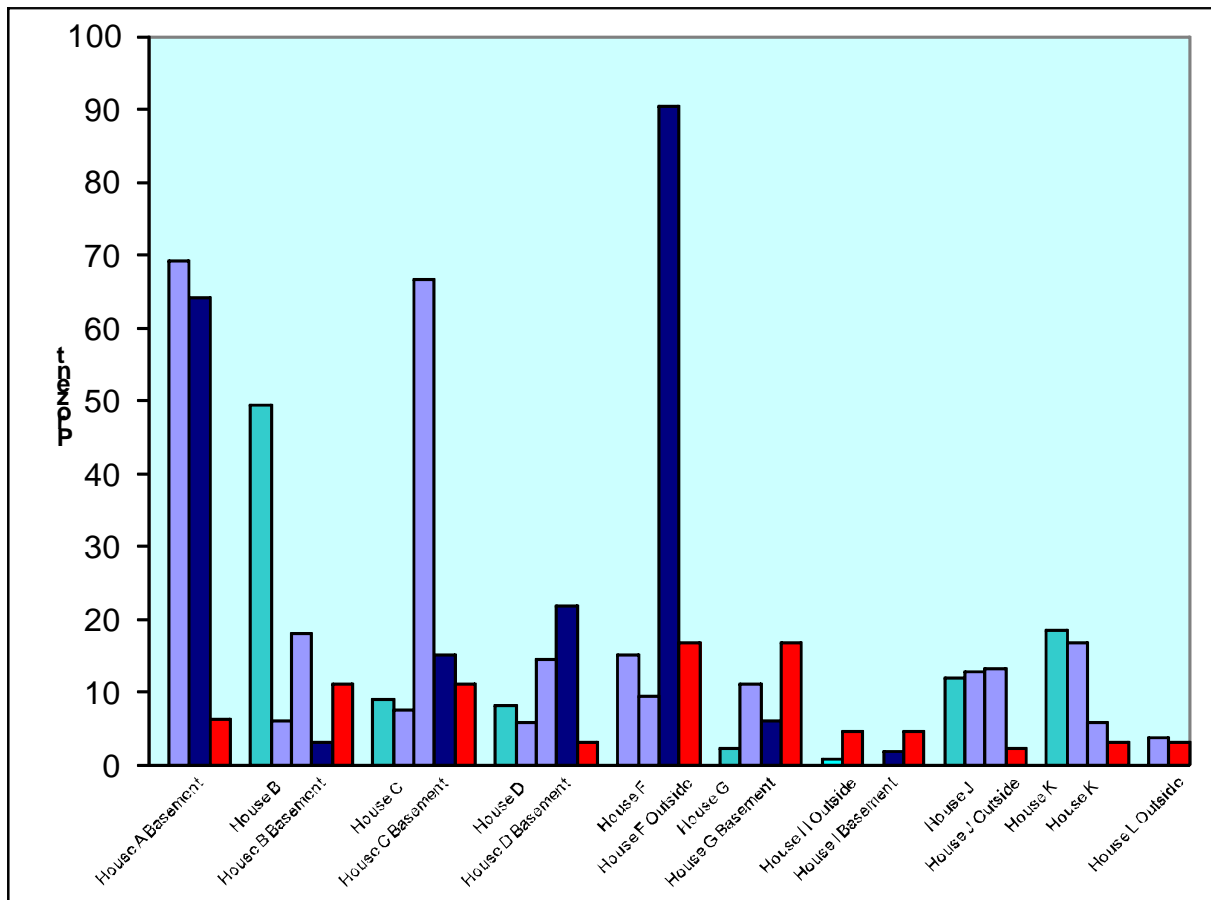


Abb. 5 Altersunterschiede zwischen Innenraum und Außenluftproben (rot)

Durch Luftbewegungen gelangen Schimmelpilzbestandteile und Sporen in die Innenraumluft. Diese luftgetragenen Innenraumbelastungen haben dasselbe Verhältnis KBE/ Gzz wie in den untersuchten Materialproben. Eine geringere Quote kann auch entstehen, wenn die Mikroorganismen im Staub austrocknen bevor Sie aufgewirbelt werden. In Abbildung 5 werden die Altersstrukturen der Außenluftproben mit den Innenluftproben verglichen und zeigen wenig Übereinstimmungen. Dies bedeutet, dass der Ursprung der Proben von unterschiedlichen Quellen stammen muss. Dies führt zu dem Schluss, dass die Innenraumproben nicht von der Außenluft beeinflusst wird und stellt die bisherige Beurteilungsmethode, die Innenraumluftbewertung mittels KBE im Vergleich zur Außenluft zu sehen, in Frage.

Abbildung 6 führt diesen Gedanken weiter und vergleicht die nachgewiesenen KBE mit den Gesamtzellzahlen. Von den 29 untersuchten Proben konnte mit der KBE Methode keine Innenraumquelle nachgewiesen werden (gemäß Beurteilung Leitfadens Umweltweltbundesamt). Mit der neuen Beurteilungsmethode (KBE/Gzz) zeigten jedoch 19 Häuser Auffälligkeiten in der Innenraumluft (In Abb. 6 gekennzeichnet durch rote Punkte in der Abbildung).

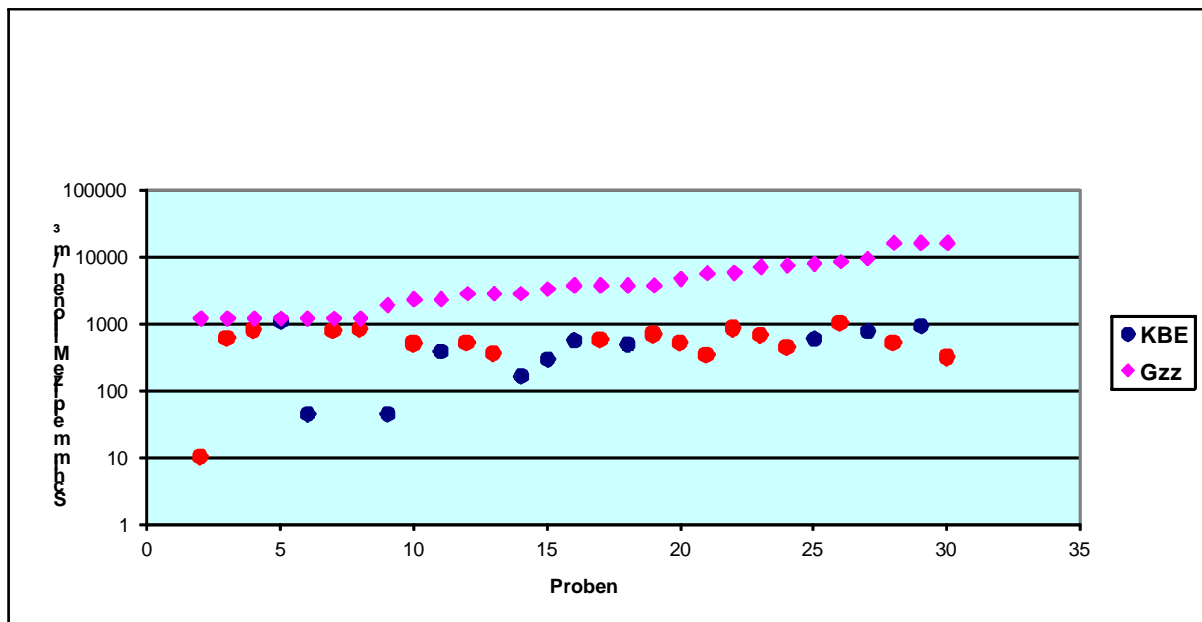


Abb. 6 Vergleich KBE- und Gzz- Methoden

In der Vergangenheit wurden Gesundheitsbeschwerden wie Allergien korreliert mit der Anzuchtbarkeit (KBE) der Schimmelpilze. Das allergene und toxische Potential der Schimmelpilze besteht jedoch durch Ihre Präsenz und ist abhängig von der Gesamtzellzahl pro  $m^3$  und unabhängig von den nachweisbaren KBE/ $m^3$ .

Zusammenfassend hat die Untersuchung gezeigt, dass die Messung der luftgetragenen KBE weder eine geeignete Methode ist um gesundheitliche Beschwerden durch Schimmelpilze zu belegen noch um Innenraumquellen nachzuweisen. Die gesundheitlichen Beschwerden wurden auch in anderen Studien untersucht und diese zeigten, dass es eine Korrelation zwischen Biomasse pro  $m^3$  und allergische Alevolitis gibt (Palmgren et al., 1986).

Aufgrund der Ergebnisse dieser Studie sollte die Innenraumluft mittels Gesamtzellzahl und KBE untersucht werden, um eine Innenraumquelle und die damit verbundenen Gesundheitsgefährdung sicher einschätzen zu können.



## Literatur

---

Bornehag CG, Blomquist G, Gyntelberg F, Jarvholm B, Malmberg P, Nordwall L, et al. (2001). Dampness in buildings and health. Nordic interdisciplinary review of scientific evidence on associations between exposure to "dampness" in buildings and health effects (NORDDAMP). *IndoorAir2001* Jun; 11 (2):72-86.

Bornehag CG, Sundell J, Bonini S, Custovic A, Malmberg P, Skerfving S, et al. (2004). Dampness in buildings as a risk factor for health effects, EUROEXPO: a multidisciplinary review of the literature (1998-2000) on dampness and mite exposure in buildings and health effects. *IndoorAir2004*;14(4):243-57.

Fisk WJ, Lei-Gomez Q and Mendell MJ, (2007). Meta-analyses of the associations of respiratory health effects with dampness and mold in homes. *IndoorAir2007*;17(4):284-96.

Holah, R.P. Betts, R.H. Thorpe. 1988. The use of direct epifluorescent microscopy (DEM) and the direct epifluorescent filter technique (DEFT) to assess microbial populations on food contact surfaces. *J. Appl.*1988 Vol.65. 61, p. 215-221.

Institute of Medicine, (2004). *Damp Indoor Spaces and Health*

Malmberg P, Rask-Andersen A, Palmgren U, Höglund S, Kolmodin-Hedman B and Stalenheim G. (1985). Exposure to microorganisms, Febril and airway-obstructive symptoms, immune status and lung function of Swedish farmers. *Scand. J. Work. Environ. Health* 11, 287-293.

Malmberg P, Palmgren U, Rask-Andersen A. (1986). Relationship Between Symptoms and Exposure to Mould Dust in Swedish Farmers. *American Journal of Industrial Medicine* 10:316-317.

Mudarri and Fisk. (2007). Public health and economic impact of dampness and mould. *IndoorAir2007*.17(3):p. 226-235.

Norbäck D, Björnsson E, Widström J, Ström G, Edling C, Palmgren U, et al. (1993). Asthmatic and the home environment. Proceedings from The Conference on Building Design. Technology and Occupant Well Being in Temperate Climates, Brussels 17-19

Norbäck D, Björnsson E, Janson C, Palmgren U, Boman G. (1999). Current asthma and biochemical signs of inflammation in relation to building dampness in dwellings. *Int J Tuberc Lung Dis.* May;3(5):368-76.

Palmgren U, Ström G, Blomquist G and Malmberg P. (1986), Collection of airborne microorganisms on Nuclepore filters, estimation and analysis, CAMNEA-Method. *J. Appl. Bact.* 61, 401-406.

Palmgren U. Gesamtzellzahl, KBE und biochemische Aktivität von Bakterien und Schimmelpilzen in "Baumaterialien". VIII Lübecker Fachtagung für Umwelthygiene. Verlag: Schmidt-Römhild, Lübeck, 69-93. 5. ... Environments", In: *Indoor Air* 11:87-98. 15 2004

Tischer, Chen and Heinrich, 2011 in Press. Association between Domestic Mould and Mould Components, and Asthma and Allergy in Children: a systematic Review.

WHO (2009). *Dampness and Mould. WHO Guidelines for Indoor Air Quality*,

Zimmerman, R., and L. Meyer-Reil. 1974. A new method for fluorescence staining of bacterial populations on membrane filters. *Kiel. Meeresforsch.* 30:24- 27.

