

Ist eine Altersbestimmung von Schimmelpilzschäden möglich ?

9. Grazer Pilztagung
Judith Meider

Graz, 14.03.2017

Sind Altersbestimmungen möglich?

- Um die Frage zu beantworten benötigen wir:
 - Hintergrundwissen Analytik:
 - Gesamtzellzahl
 - Biochemische Aktivität
 - KBE
 - Hintergrundwissen Morphologie, Lebenszyklen und Wachstumskurven von Schimmelpilzen und Bakterien

Analytik einer Materialprobe

- Registrierung der Probe



Analytik einer Materialprobe

- Nach der Einwaage der Probe Überführung in einen sterile Waschflüssigkeit



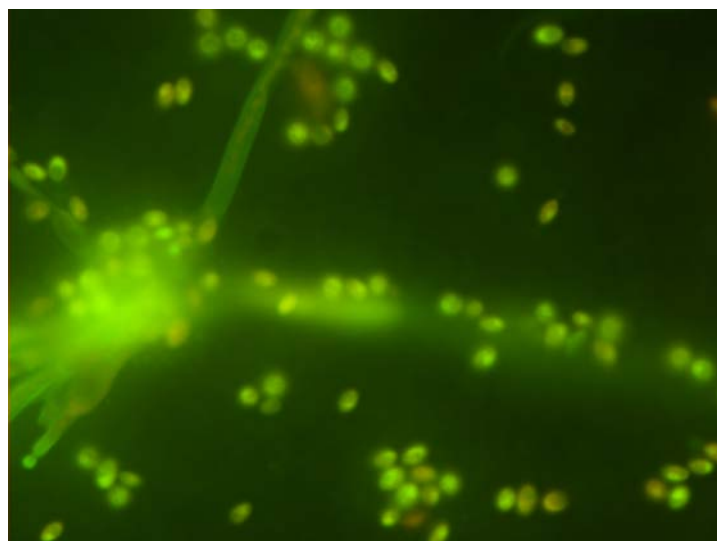
Analytik einer Materialprobe

- 1. Färbung - Gesamtzellzahl



Analytik einer Materialprobe

- Mikroskopische Zählung der Gesamtzellzahl



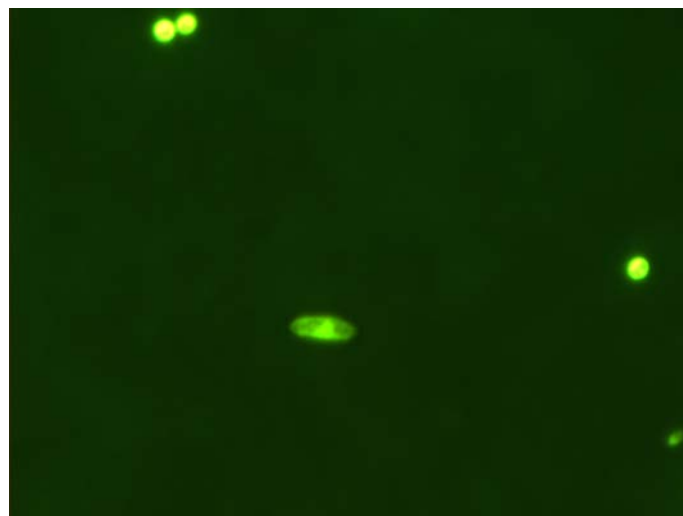
Analytik einer Materialprobe

- 2. Färbung – biochemische Aktivität



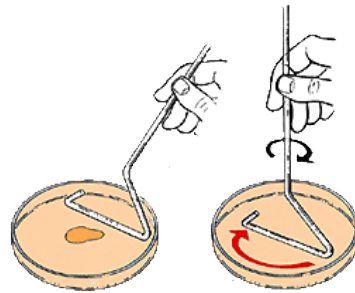
Analytik einer Materialprobe

- Mikroskopische Zählung der Gesamtzellzahl



Analytik einer Materialprobe

- Ausplattieren der Probe



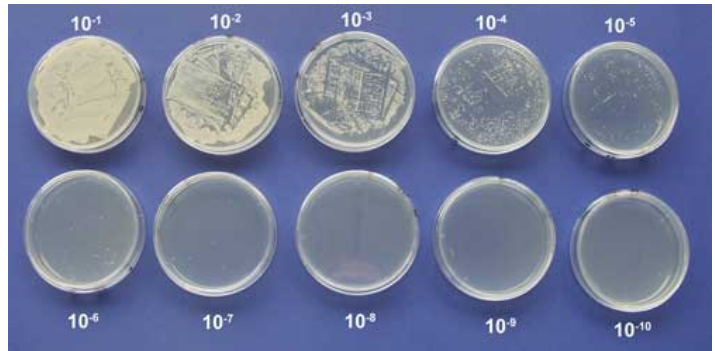
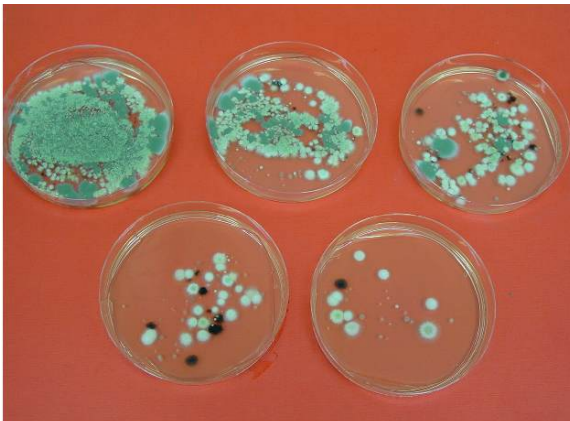
Analytik einer Materialprobe

- Bebrütung der Probe



Analyse koloniebildenden Einheiten (KBE)

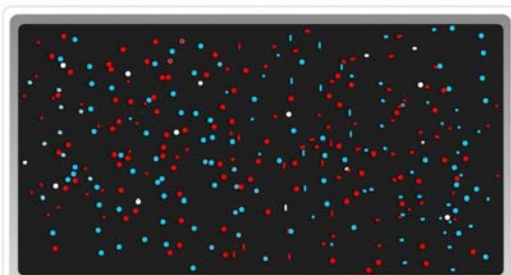
- Bestimmung der Anzahl der anzüchtbaren Schimmelpilze und Artendifferenzierung



Judith Meider

11

Einführung mikrobiologische Analytik

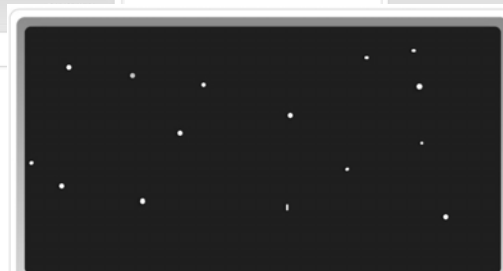


Gesamtzellzahl



Biochemische Aktivität

Dr. Palmgren
Labor Urbanus



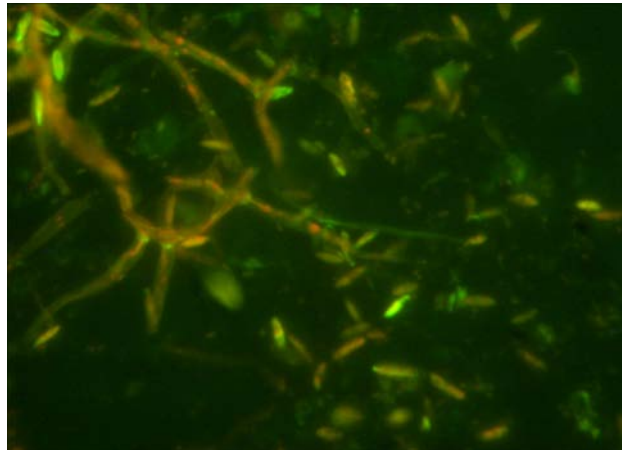
Kolonie bildende Einheiten

Dr. Palmgren
Labor Urbanus

12

Analyse Gesamtzellzahl

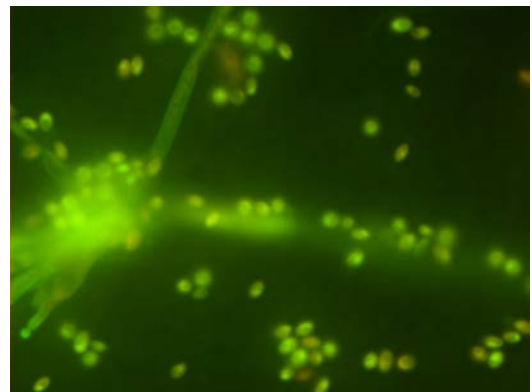
- Die Gesamtzellzahl ist die Summe lebender und toter Schimmelpilze in einer Probe



13

Analyse Gesamtzellzahl

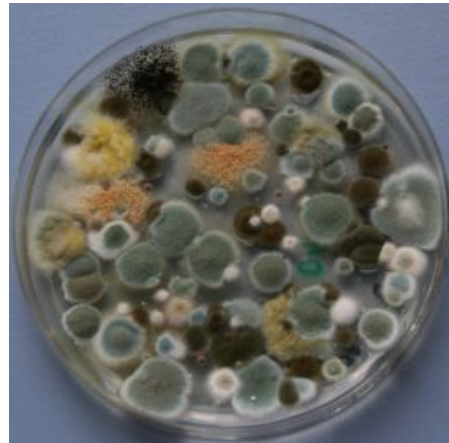
- Gründe für eine Analyse der Gesamtzellzahl
 - Schadensbeurteilung auch bei Alt- und chemisch behandelten Schäden
 - Schadensgröße bzw. Konzentration vom mikrobiologischen Befall genau bestimmbar
 - Schnelle Analysezeit (1-2 Werktage)
 - Basis für Altersbestimmung



14

Analyse KBE

- Gründe für eine Analyse der KBE
 - Artenbestimmung
 - Beweissicherung
 - Altersbestimmung
 - Abgrenzung von Schäden



Judith Meider

15

Analysenvergleich

Analyseart	Vorteil	Nachteil
Gesamtzellzahl	<ul style="list-style-type: none"> • Schnelle Analytik • Gesamtkonzentration • Unabhängig von Desinfektion und Trocknung • Hohe Sensivität (Gesamtbiomasse) 	<ul style="list-style-type: none"> • Geringe Spezifität - keine Artenbestimmung • anspruchsvolle Analytik (Fluoreszenzm.)
KBE	<ul style="list-style-type: none"> • Artenbestimmung • Technisch einfach • Zusammensetzung Mikroflora 	<ul style="list-style-type: none"> • Dauer der Analytik • Falsch negative Ergebnisse durch Desinfektion und Trocknung, Altschäden

Analytik einer Materialprobe

- Hintergrundwerte (Normalwerte)

Normalwerte Schimmelpilze und Bakterien Bezugsgröße Gramm

	Schimmelpilze	Bakterien
GZ	< 100.000	< 1.000.000
KBE	< 10.000	< 100.000
BA	< 10.000	< 100.000
Quote GZ/KBE	< 1%	< 1%
Quote BA/KBE	< 1%	< 1%

Normalwerte Schimmelpilze und Bakterien Bezugsgröße cm²

	Schimmelpilze	Bakterien
GZ	< 10.000	< 100.000
KBE	< 1.000	< 10.000
BA	< 1.000	< 10.000
Quote GZ/KBE	< 1%	< 1%
Quote BA/KBE	< 1%	< 1%

Analytik einer Materialprobe

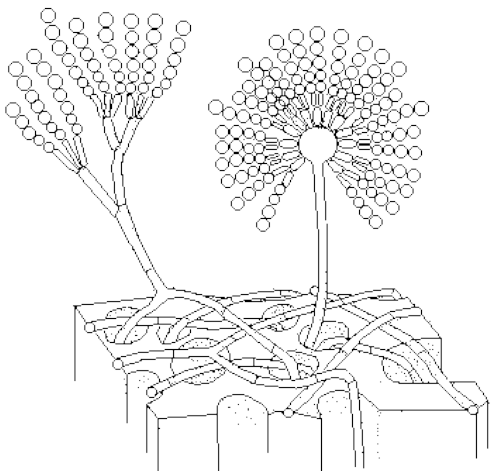
- Beurteilung

- Etwas erhöht < 10-fach über Normalwert
- Erhöht < 100-fach über Normalwert
- Stark erhöht < 1000-fach über Normalwert

Einführung in die Mikrobiologie

- Schimmelpilze:
 - sind eine heterogene Gruppe von Pilzen
 - mehrzellige, sporenbildende Mikroorganismen
 - leben vom Abbau von organischem Material
 - bestehen aus Myzel, Sporenträger und Sporen
 - Biomasse besteht aus biologisch aktiver und inaktiver Zellen
 - sind mit dem menschlichen Auge nicht sichtbar

Einführung in die Mikrobiologie

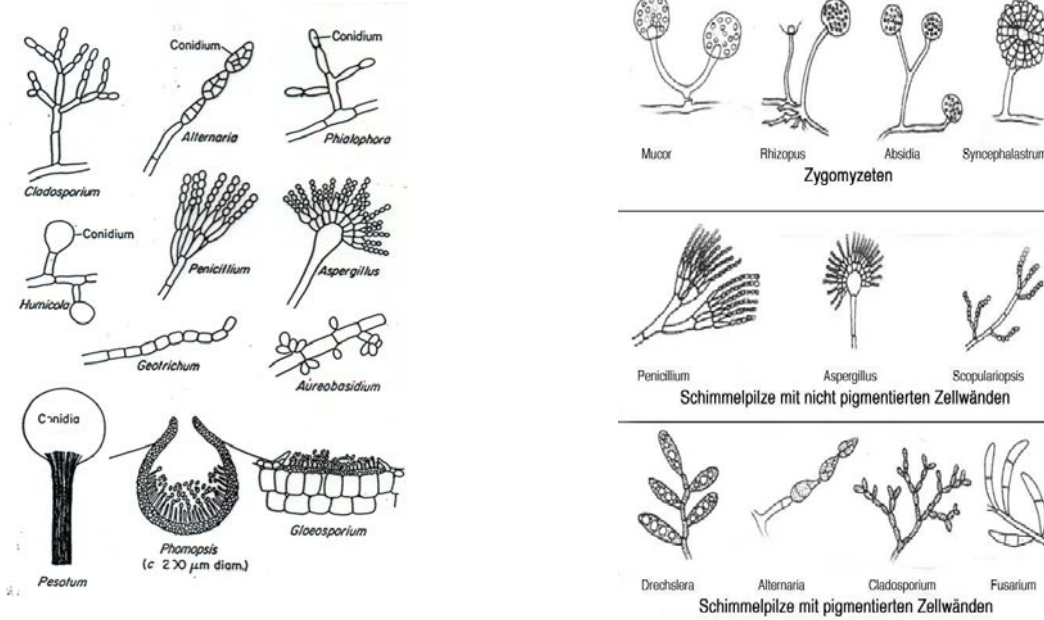


Schimmelpilze Aufbau:

- Myzel
- Sporenträger
- Sporen

Quelle: <http://www.mallq.edwinet.de/bio/Pilze/shpil.htm>

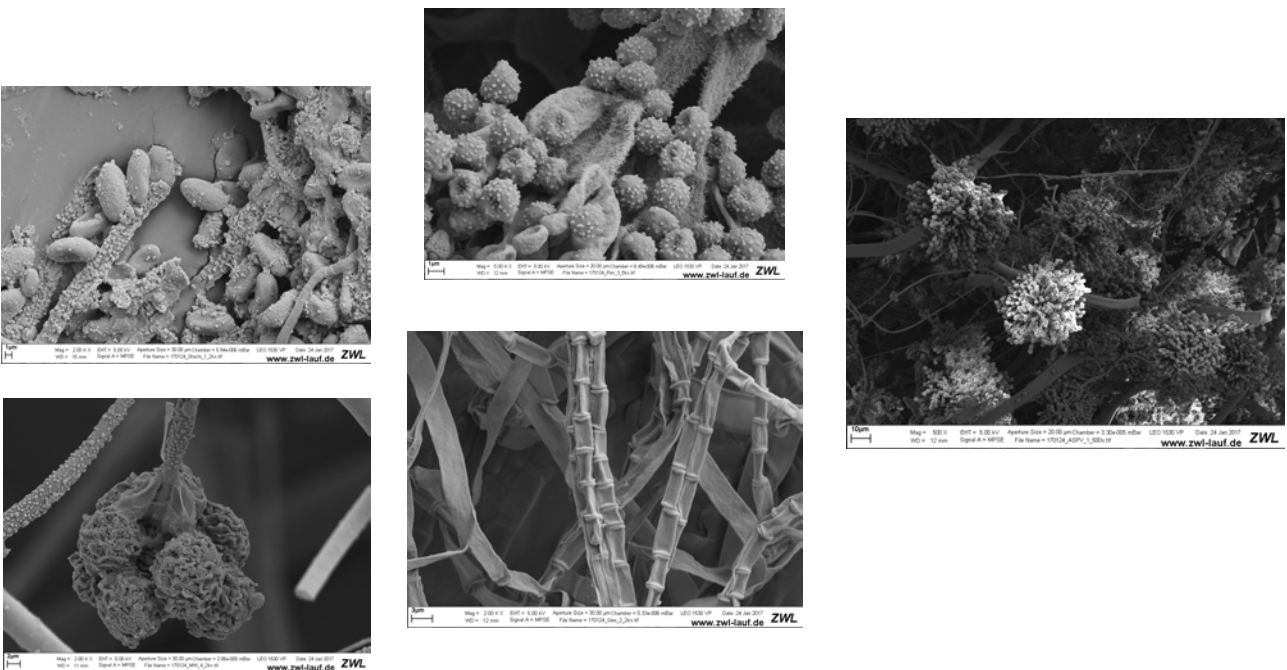
Morphologie Schimmelpilze



Judith Meider

21

Morphologie Schimmelpilze

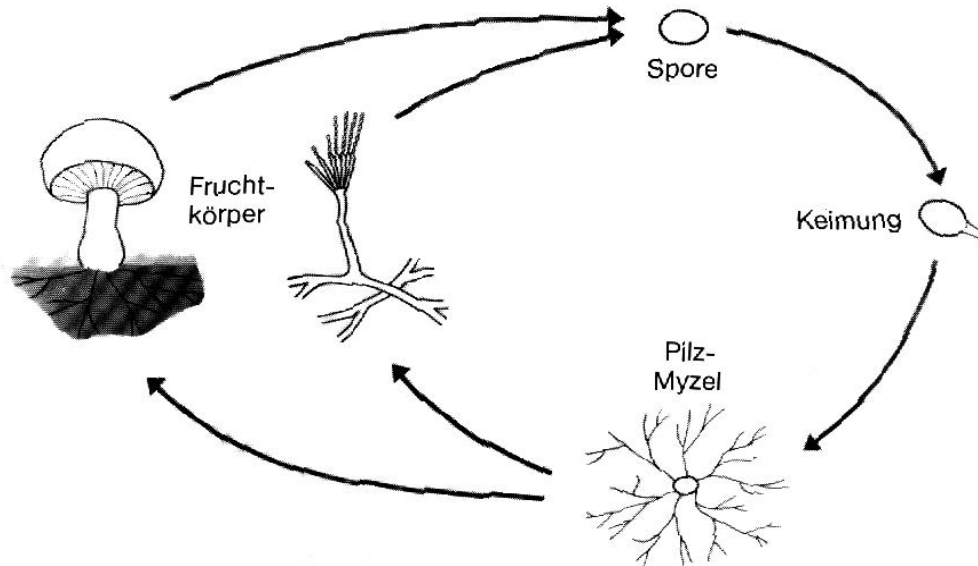


24.09.2013

Judith Meider

22

Lebenszyklus Schimmelpilze



Judith Meider

23

Wachstumsfaktoren Schimmelpilze

- Wachstumsfaktoren:
 - Feuchtigkeit: > 75 % rel. Feuchte
 - Nährstoffe: organischer Kohlenstoff
 - Temperatur: Optimum ca. 20 – 35 °C
- Mikroorganismen sind sehr anpassungsfähig, auch in extremen Temperaturen oder Feuchtigkeitsbedingung können einige Arten wachsen

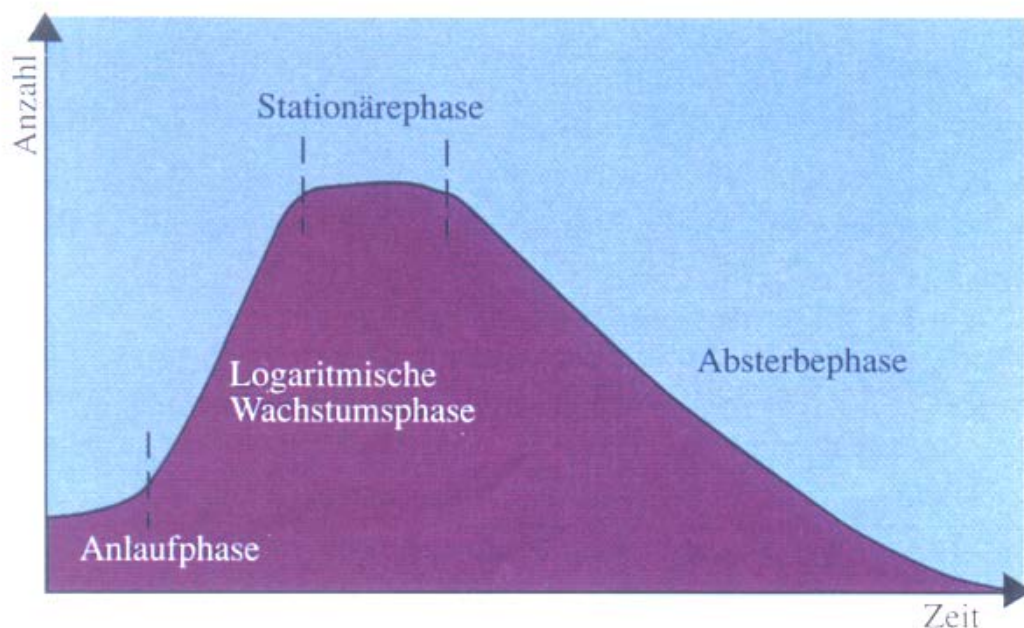
Judith Meider

24

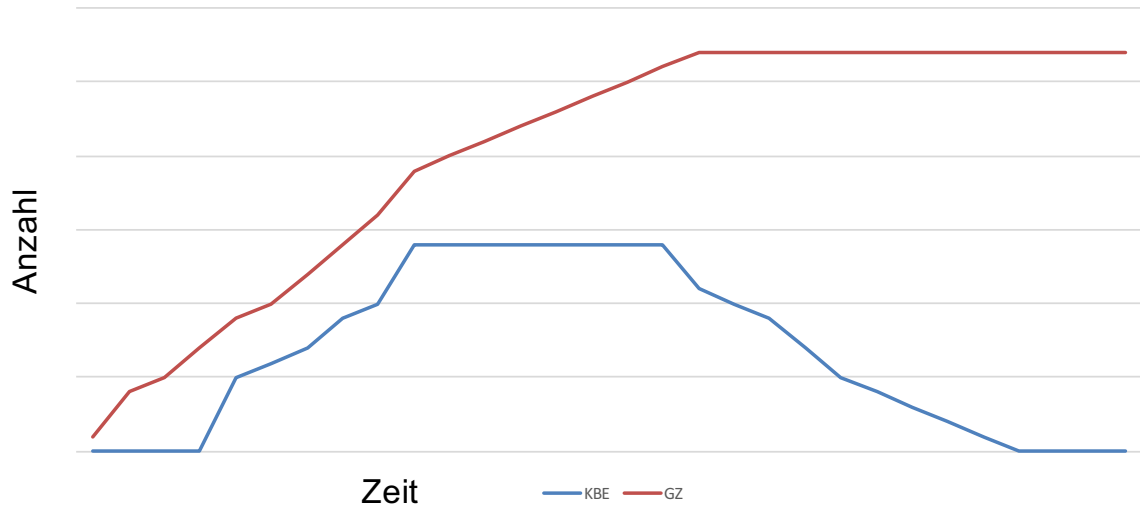
Wachstumsphasen Schimmelpilze

- Transport und Ansiedelungsphase
 - Spore und Myzelstück wird zum Substrat durch Luftbewegung oder Vektoren übertragen
- Anlaufphase
 - Keine äußerlichen Veränderungen, Zelle bereitet sich das Auskeimen vor (Stoffwechselaktivität)
- Zuwachphase
 - Wenn Bedingungen stimmen, entstehen schlauchartige Fäden (Hyphe) Mehrfachverzweigte Hyphen = Myzel

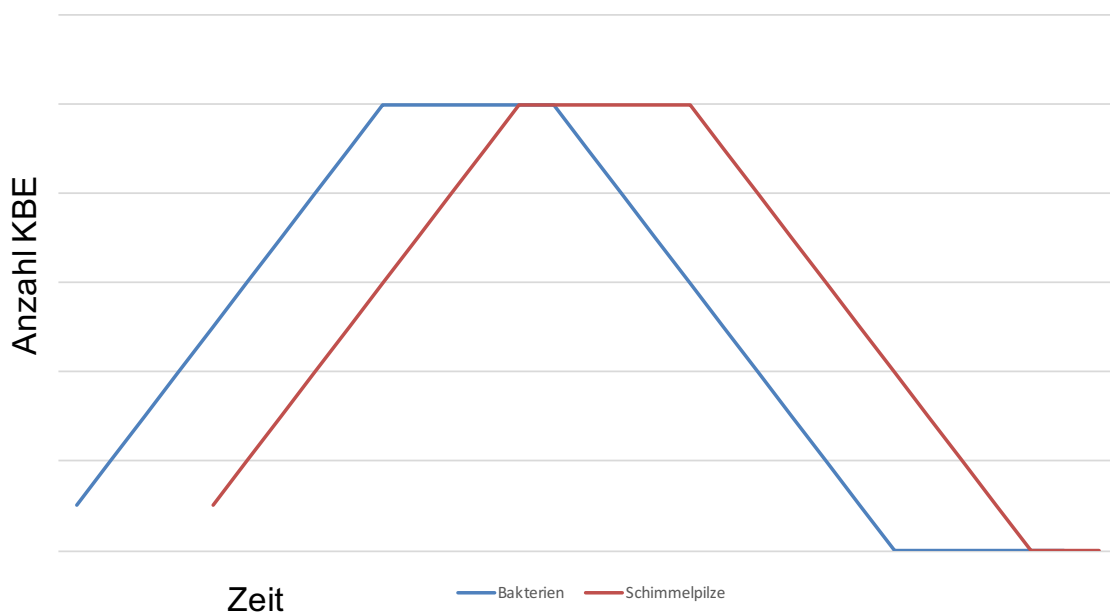
Wachstumsphase Schimmelpilze



Vergleich Anzahl GZ / KBE



Vergleich Wachstumskurven Bakterien / Schimmelpilze



Altersbestimmung

- Basiert auf der Grundlage der Wachstumskurven der Schimmelpilze und Bakterien
- Voraussetzung
 - unbehandelten Schäden - keine Trocknung oder Desinfektion o.ä.
 - Einmaliges Schadensereignis
 - Innerhalb des ersten Jahres bzw. älter als 1 Jahr

Altersbestimmung

- Wichtige Informationen:
 - Verhältnis KBE zu Gesamtzellzahl
 - Verhältnis Gesamtzellzahl zu Aktivität
 - Nachgewiesene Arten
 - ... Und viel Erfahrung....

Altersbestimmung

- Altersabstufungen:
 - Jünger 3 Monate
 - Ca. 3 Monate
 - 3-6 Monate
 - Ca. 6 Monate
 - 6-12 Monate
 - Ca. 12 Monate
 - Älter 1 Jahr

Beispiele Altersbestimmung

KBE - Schimmelpilze		(24°C, 4 + 7 Tage)	
DG18	Arten	Anzahl	
	Cladosporium spp.	5,2*10 ⁵	
	Penicillium spp.	3,4*10 ⁴	
Malz	Arten	Anzahl	
	Summe	5,5*10 ⁵	stark erhöht
KBE - Bakterien		(24°C, 4 + 7 Tage)	
TGE	Arten	Anzahl	
	Sonstige Bakterien	1,0*10 ¹	
	Summe	1,0*10 ¹	normal
Gesamtzellzahl (GZ)		Anzahl	
	Schimmelpilze	1,3*10 ⁶	stark erhöht
	Bakterien	3,2*10 ³	normal
Biochemische Aktivität (BA)		Anzahl	
	Schimmelpilze	1,9*10 ⁵	stark erhöht
	Bakterien	-	unter Nachweisgrenze
Quotient KBE/BA im Verhältnis zur GZ		%	
Schimmelpilze	KBE/GZ	43,12	sehr hoch
	BA/GZ	14,74	sehr hoch
Bakterien	KBE/GZ	0,32	niedrig
	BA/GZ	-	nicht feststellbar

Beispiele Altersbestimmung

KBE - Schimmelpilze		(24°C, 4 + 7 Tage)	
DG18	Arten	Anzahl	
	Penicillium spp.	3,2*10 ²	
Malz	Arten	Anzahl	
	Summe	3,2*10 ²	normal
KBE - Bakterien		(24°C, 4 + 7 Tage)	
TGE	Arten	Anzahl	
	Sonstige Bakterien	1,3*10 ⁵	
	Bacillus spp.	2,1*10 ⁴	
	Summe	1,6*10 ⁵	etwas erhöht
Gesamtzellzahl (GZ)		Anzahl	
	Schimmelpilze	1,4*10 ⁷	stark erhöht
	Bakterien	2,6*10 ⁸	stark erhöht
Biochemische Aktivität (BA)		Anzahl	
	Schimmelpilze	3,2*10 ⁵	erhöht
	Bakterien	4,8*10 ⁶	erhöht
Quotient KBE/BA im Verhältnis zur GZ		%	
Schimmelpilze	KBE/GZ	0,00	niedrig
	BA/GZ	2,37	etwas erhöht
Bakterien	KBE/GZ	0,06	niedrig
	BA/GZ	1,84	etwas erhöht

Beispiele Altersbestimmung

KBE - Schimmelpilze		(24°C, 4 + 7 Tage .T1)	
DG18	Arten	Anzahl	
	Penicillium spp.	8,1*10 ³	
Malz	Arten	Anzahl	
	Stachybotrys chartarum	1,7*10 ⁵	
	Summe	1,8*10 ⁵	stark erhöht
KBE - Bakterien		(24°C, 4 + 7 Tage)	
TGE	Arten	Anzahl	
	Sonstige Bakterien	1,1*10 ⁴	
	Actinomyceten	1,9*10 ³	
	Bacillus spp.	2,4*10 ¹	
	Summe	1,3*10 ⁴	etwas erhöht
Gesamtzellzahl (GZ)		Anzahl	
	Schimmelpilze	1,9*10 ⁶	stark erhöht
	Bakterien	1,2*10 ⁷	stark erhöht
Biochemische Aktivität (BA)		Anzahl	
	Schimmelpilze	1,0*10 ⁵	stark erhöht
	Bakterien	1,3*10 ⁴	etwas erhöht
Quotient KBE/BA im Verhältnis zur GZ		%	
Schimmelpilze	KBE/GZ	9,64	erhöht
	BA/GZ	5,62	erhöht
Bakterien	KBE/GZ	0,11	niedrig
	BA/GZ	0,11	niedrig

Beispiele Altersbestimmung

KBE - Schimmelpilze (24°C, 4 + 7 Ta .r)		
DG18	Arten	Anzahl
	Aspergillus restrictus	2,5*10 ³
Malz	Arten	Anzahl
	Summe	2,5*10 ³ etwas erhöht
KBE - Bakterien (24°C, 4 + 7 Tage)		
TGE	Arten	Anzahl
	Sonstige Bakterien	1,6*10 ⁰
	Summe	1,6*10 ⁰ normal
Gesamtzellzahl (GZ)		
		Anzahl
Schimmelpilze		6,4*10 ³ normal
Bakterien		2,9*10 ³ normal
Biochemische Aktivität (BA)		
		Anzahl
Schimmelpilze		- unter Nachweisgrenze
Bakterien		- unter Nachweisgrenze
Quotient KBE/BA im Verhältnis zur GZ		
		%
Schimmelpilze	KBE/GZ	39,38 sehr hoch
	BA/GZ	- nicht feststellbar
Bakterien	KBE/GZ	0,05 niedrig
	BA/GZ	- nicht feststellbar

Judith Meider

35

Beispiele Altersbestimmung

KBE - Schimmelpilze (24°C, 4 + 7 Ta .r)		
DG18	Arten	Anzahl
Malz	Arten	Anzahl
	Summe	0,0*10 ⁰ kein Zuwachs
KBE - Bakterien (24°C, 4 + 7 Tage)		
TGE	Arten	Anzahl
	Summe	0,0*10 ⁰ kein Zuwachs
Gesamtzellzahl (GZ)		
		Anzahl
Schimmelpilze		2,1*10 ⁸ stark erhöht
Bakterien		5,0*10 ⁹ stark erhöht
Biochemische Aktivität (BA)		
		Anzahl
Schimmelpilze		- unter Nachweisgrenze
Bakterien		1,8*10 ⁷ stark erhöht
Quotient KBE/BA im Verhältnis zur GZ		
		%
Schimmelpilze	KBE/GZ	0,00 nicht feststellbar
	BA/GZ	- nicht feststellbar
Bakterien	KBE/GZ	0,00 nicht feststellbar
	BA/GZ	0,35 niedrig

Judith Meider

36

Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit



Judith Meider