

DIN ISO 16000-17

Diese Norm ist Bestandteil des VDI/DIN-Handbuches Reinhaltung der Luft, Band 5.

ICS 13.040.20

Ersatz für
DIN ISO 16000-17:2010-01

**Innenraumluftverunreinigungen –
Teil 17: Nachweis und Zählung von Schimmelpilzen –
Kultivierungsverfahren (ISO 16000-17:2008)**

Indoor air –

Part 17: Detection and enumeration of moulds –
Culture-based method (ISO 16000-17:2008)

Air intérieur –

Partie 17: Détection et dénombrement des moisissures –
Méthode par culture (ISO 16000-17:2008)

Gesamtumfang 31 Seiten

Kommission Reinhaltung der Luft im VDI und DIN - Normenausschuss KRdL

Inhalt

	Seite
Nationales Vorwort	3
Nationaler Anhang NA (informativ) Literaturhinweise	6
Einleitung	8
1 Anwendungsbereich	9
2 Normative Verweisungen	9
3 Begriffe	9
4 Kurzbeschreibung	11
5 Geräte und Materialien	11
6 Nährmedien und Lösungen	12
6.1 Dichloran-18-%-Glyzerin-Agar (DG-18-Agar)	12
6.2 Malzextrakt-Agar	13
6.3 Kartoffelglukose-Agar	13
6.4 Kochsalzlösung	14
6.5 Kochsalzlösung mit Polysorbat 80	14
7 Verfahren	14
7.1 Allgemeines.....	14
7.2 Aufarbeitung der Filter	15
7.3 Bebrütung.....	15
7.4 Auswertung und Zählung	16
7.5 Identifizierung der Schimmelpilzarten	16
7.6 Berechnung und Angabe der Ergebnisse.....	17
8 Prüfprotokoll	20
Anhang A (informativ) Besondere Eigenschaften von Schimmelpilzsporen	21
Anhang B (informativ) Probenaustausch zur Validierung des Kultivierungsverfahrens	25
Literaturhinweise	30

Nationales Vorwort

Internationale Technische Regelsetzung zum Innenraumluftbereich

ISO 16000-17 wurde vom Unterkomitee SC 6 „Indoor air“ in der Arbeitsgruppe 10 „Fungi“ des Technischen Komitees ISO/TC 146 „Air quality“ erarbeitet. Obmannschaft und Sekretariat liegen bei Deutschland. An der Erstellung dieser Norm war der Gemeinschaftsausschuss „Bioaerosole und biologische Agenzien“ der Kommission Reinhaltung der Luft (KRdL) im VDI und DIN — Normenausschuss maßgeblich beteiligt.

Das in der vorliegenden Norm beschriebene Kultivierungsverfahren basiert auf der VDI 4253 Blatt 2, die für den Immissionsbereich erarbeitet wurde. Das in der DIN ISO beschriebene Verfahren wurde für den Innenraumluftbereich adaptiert und anhand umfangreicher Untersuchungen validiert.

Die Probenahme, die Teil des vollständigen Messverfahrens ist, wird in DIN ISO 16000-16 mit der Filtration oder alternativ in DIN ISO 16000-18 mit der Impaktion beschrieben.

Allgemeine und stoffspezifische Aspekte für die Messplanung, die vor oder während der Messung beachtet werden sollten, sowie Messverfahren für einzelne Stoffe bzw. Stoffgruppen und Mikroorganismen in der Innenraumluft sind in den einzelnen Teilen der ISO 16000 beschrieben.

Für die im Abschnitt 2 zitierten Internationalen Normen wird im Folgenden auf die entsprechenden Deutschen Normen hingewiesen:

ISO 8199 siehe DIN EN ISO 8199

ISO 16000-16 siehe DIN ISO 16000-16

ISO 16000-18 siehe DIN ISO 16000-18

Das Corrigendum zur ISO 16000-17:2008-12-15 ist in diesem Teil der DIN ISO 16000 einbezogen. Die Änderungen beziehen sich auf die Aufnahme der Literaturstellen [1] bis [3] im Vorwort und die Ordinate-bezeichnungen der Bilder B.1 und B.2 sowie der Bildunterschriften des Bildes B.3a und B.3b.

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. Das DIN ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

Änderungen

Gegenüber DIN ISO 16000-17:2010-01 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) In den Tabellen 4 und 5 ist die Massenangabe für Natriumchlorid (NaCl) falsch. Statt 90,0 g muss es 8,5 g heißen.

Frühere Ausgaben

DIN ISO 16000-17:2010-01

Nationale Technische Regelsetzung zum Innenraumluftbereich

Messplanerische Aspekte von Innenraumluftmessungen für einzelne Stoffe bzw. Stoffgruppen werden in den einzelnen Blättern der Richtlinie VDI 4300 (siehe auch Abschnitt „Nationaler Anhang NA“) behandelt. Zum Teil dienen sie als alleinige Basisdokumente für die Erstellung einzelner Teile der ISO 16000 (z. B. bei der ISO 16000-1, ISO 16000-2, ISO 16000-5, ISO 16000-7, ISO 16000-12, ISO 16000-15, ISO 16000-16, ISO 16000-17 und ISO 16000-18). Die Messtechniken (Probenahme und Analysentechnik) zur Bestimmung der jeweiligen Stoffe bzw. Stoffgruppen in der Innenraumluft werden in den Blättern der Richtlinie VDI 4301 dargestellt. Messverfahren, die sowohl im Innenraumluft- als auch im Immissionsbereich eingesetzt werden können, sind in weiteren VDI-Richtlinien beschrieben.

DIN ISO 16000 bzw. DIN EN ISO 16000 mit dem allgemeinen Titel *Innenraumluftverunreinigungen* besteht aus folgenden Teilen:

- DIN EN ISO 16000-1, *Allgemeine Aspekte der Probenahmestrategie*
- DIN EN ISO 16000-2, *Probenahmestrategie für Formaldehyd*
- DIN ISO 16000-3, *Messen von Formaldehyd und anderen Carbonylverbindungen — Probenahme mit einer Pumpe*
- DIN ISO 16000-4, *Bestimmung von Formaldehyd — Probenahme mit Passivsammlern*
- DIN EN ISO 16000-5, *Probenahmestrategie für flüchtige organische Verbindungen (VOC)*
- DIN ISO 16000-6, *Bestimmung von VOC in der Innenraumluft und in Prüfkammern, Probenahme auf TENAX TA[®], thermische Desorption und Gaschromatographie mittels MS/FID*
- DIN EN ISO 16000-7, *Probenahmestrategie zur Bestimmung luftgetragener Asbestfaserkonzentrationen*
- DIN ISO 16000-8, *Bestimmung des lokalen Alters der Luft in Gebäuden zur Charakterisierung der Lüftungsbedingungen*
- DIN EN ISO 16000-9, *Bestimmung der Emission von flüchtigen organischen Verbindungen aus Bauprodukten und Einrichtungsgegenständen — Emissionsprüfkammer-Verfahren*
- DIN EN ISO 16000-10, *Bestimmung der Emission von flüchtigen organischen Verbindungen aus Bauprodukten und Einrichtungsgegenständen — Emissionsprüfzellen-Verfahren*
- DIN EN ISO 16000-11, *Bestimmung der Emission von flüchtigen organischen Verbindungen aus Bauprodukten und Einrichtungsgegenständen — Probenahme, Lagerung der Proben und Vorbereitung der Prüfstücke*
- DIN EN ISO 16000-12, *Probenahmestrategie für polychlorierte Biphenyle (PCB), polychlorierte Dibenzop-dioxine (PCDD), polychlorierte Dibenzofurane (PCDF) und polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAH)*
- DIN ISO 16000-13, *Bestimmung der Summe gasförmiger und partikelgebundener dioxin-ähnlicher polychlorierter Biphenyle (PCB) und polychlorierter Dibenzop-dioxine/Dibenzofurane (PCDD/PCDF) — Probenahme auf Filtern mit nachgeschalteten Sorbenzien*
- DIN ISO 16000-14, *Bestimmung der Summe gasförmiger und partikelgebundener polychlorierter dioxin-ähnlicher Biphenyle (PCB) und polychlorierter Dibenzop-dioxine/Dibenzofurane (PCDD/PCDF) — Extraktion, Reinigung und Analyse mit hochauflösender Gaschromatographie und Massenspektrometrie*
- DIN EN ISO 16000-15, *Probenahmestrategie für Stickstoffdioxid (NO₂)*
- DIN ISO 16000-16, *Nachweis und Zählung von Schimmelpilzen — Probenahme durch Filtration*
- DIN ISO 16000-17, *Nachweis und Zählung von Schimmelpilzen — Kultivierungsverfahren*
- DIN ISO 16000-18, *Nachweis und Zählung von Schimmelpilzen — Probenahme durch Impaktion*

- DIN ISO 16000-23, *Leistungsprüfung zur Beurteilung der Konzentrationsminderung von Formaldehyd durch sorbierende Baumaterialien*
- DIN ISO 16000-24, *Leistungsprüfung zur Beurteilung der Konzentrationsminderung von flüchtigen organischen und Carbonylverbindungen ohne Formaldehyd durch sorbierende Baumaterialien*
- DIN ISO 16000-25, *Bestimmung der Emission von schwerflüchtigen organischen Verbindungen aus Bauprodukten — Mikro-Prüfkammerverfahren*

Folgende Teile sind in Vorbereitung:

- DIN ISO 16000-19, *Probenahmestrategie für Schimmelpilze*
- DIN ISO 16000-26, *Probenahmestrategie für Kohlendioxid (CO₂)*
- DIN ISO 16000-27, *Standardverfahren für die quantitative Analyse von Asbestfasern in abgelagertem Staub*
- DIN ISO 16000-28, *Sensorische Prüfung von Baumaterialien und -produkten*

Folgende Teile sind geplant:

- DIN ISO 16000-20, *Nachweis und Zählung von Schimmelpilzen — Bestimmung der Gesamtsporenanzahl*
- DIN ISO 16000-21, *Nachweis und Zählung von Schimmelpilzen — Probenahme von Materialien*
- DIN ISO 16000-22, *Nachweis und Zählung von Schimmelpilzen — Molekularbiologische Verfahren*

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN 50014, *Klimate und ihre technische Anwendung — Normalklimate*

DIN EN ISO 8199, *Wasserbeschaffenheit — Allgemeine Anleitung zur Zählung von Mikroorganismen durch Kulturverfahren*

DIN EN ISO 9169, *Luftbeschaffenheit — Definition und Ermittlung von Verfahrenskenngrößen einer automatischen Messeinrichtung*

DIN ISO 12219-1, *Innenraumluft, Straßenfahrzeuge — Teil 1: Prüfkabine für Straßenfahrzeuge — Spezifikation und Verfahren zur Bestimmung von flüchtigen organischen Verbindungen im Fahrgastinnenraum (in Vorbereitung)* [1]

DIN ISO 12884, *Außenluft — Bestimmung der Summe gasförmiger und partikelgebundener polycyclischer aromatischer Kohlenwasserstoffe — Probenahme auf Filtern mit nachgeschalteten Sorbenzien und anschließender gaschromatographischer/massenspektrometrischer Analyse*

DIN V EN V 13005, *Leitfaden zur Angabe der Unsicherheit beim Messen*

DIN EN 14412, *Innenraumluftqualität — Passivsammler zur Bestimmung der Konzentrationen von Gasen und Dämpfen — Anleitung zur Auswahl, Anwendung und Handhabung*

DIN EN ISO 16017-1, *Innenraumluft, Außenluft und Luft am Arbeitsplatz — Probenahme und Analyse flüchtiger organischer Verbindungen durch Sorptionsröhrchen/thermische Desorption/Kapillar-Gaschromatographie — Teil 1: Probenahme mit einer Pumpe* [2]

DIN EN ISO 16017-2, *Innenraumluft, Außenluft und Luft am Arbeitsplatz — Probenahme und Analyse flüchtiger organischer Verbindungen durch Sorptionsröhrchen/thermische Desorption/Kapillar-Gaschromatographie — Teil 2: Probenahme mit Passivsammlern* [3]

DIN ISO 16362, *Außenluft — Bestimmung partikelgebundener aromatischer Kohlenwasserstoffe mit Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie*

DIN EN ISO/IEC 17025, *Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien*

VDI 2464 Blatt 1, *Messen von Immissionen — Messen von Innenraumluft — Messen von polychlorierten Biphenylen (PCB) — GC/MS-Verfahren für PCB 28, 52, 101, 138, 153, 180*

VDI 2464 Blatt 2, *Messen von Immissionen — Messen von Innenraumluft — Messen von polychlorierten Biphenylen (PCB) — HR-GC/HR-MS-Verfahren für coplanare PCB*

VDI 3484 Blatt 1, *Messen von gasförmigen Immissionen — Messen von Innenraumluftverunreinigungen — Messen von Prüfgasen — Bestimmung der Formaldehydkonzentration nach dem Sulfit-Pararosanilin-Verfahren*

VDI 3484 Blatt 2, *Messen von gasförmigen Immissionen — Messen von Innenraumluftverunreinigungen — Bestimmung der Formaldehydkonzentration nach der Acetylaceton-Methode*

VDI 3498 Blatt 1, *Messen von Immissionen — Messen von Innenraumluft — Messen von polychlorierten Dibenzo-p-dioxinen und Dibenzofuranen — Verfahren mit großem Filter*

VDI 3498 Blatt 2, *Messen von Immissionen — Messen von Innenraumluf — Messen von polychlorierten Dibenzo-p-dioxinen und Dibenzofuranen — Verfahren mit kleinem Filter*

VDI 4300 Blatt 1, *Messen von Innenraumlufverunreinigungen — Allgemeine Aspekte der Messstrategie*

VDI 4300 Blatt 2, *Messen von Innenraumlufverunreinigungen — Messstrategie für polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAH), polychlorierte Dibenzo-p-dioxine (PCDD), polychlorierte Dibenzofurane (PCDF) und polychlorierte Biphenyle (PCB)*

VDI 4300 Blatt 4, *Messen von Innenraumlufverunreinigungen — Messstrategie für Pentachlorphenol (PCP) und γ -Hexachlorcyclohexan (Lindan) in der Innenraumluf*

VDI 4300 Blatt 5, *Messen von Innenraumlufverunreinigungen — Messstrategie für Stickstoffdioxid (NO₂)*

VDI 4300 Blatt 6, *Messen von Innenraumlufverunreinigungen — Messstrategie für flüchtige organische Verbindungen (VOC)*

VDI 4300 Blatt 7, *Messen von Innenraumlufverunreinigungen — Bestimmung der Luftwechselzahl in Innenräumen*

VDI 4300 Blatt 8, *Messen von Innenraumlufverunreinigungen — Probenahme von Hausstaub*

VDI 4300 Blatt 9, *Messen von Innenraumlufverunreinigungen — Messstrategie für Kohlendioxid (CO₂)*

VDI 4300 Blatt 10, *Messen von Innenraumlufverunreinigungen — Messstrategie zum Nachweis von Schimmelpilzen im Innenraum*

VDI 4301 Blatt 1, *Messen von Innenraumlufverunreinigungen — Messen der Stickstoffdioxidkonzentration — Manuelles photometrisches Verfahren (Saltzman)*

VDI 4301 Blatt 2, *Messen von Innenraumlufverunreinigungen — Messen von Pentachlorphenol (PCP) und γ -Hexachlorcyclohexan (Lindan) — GC/MS-Verfahren*

VDI 4301 Blatt 3, *Messen von Innenraumlufverunreinigungen — Messen von Pentachlorphenol (PCP) und γ -Hexachlorcyclohexan (Lindan) — GC/ECD-Verfahren*

VDI 4301 Blatt 4, *Messen von Innenraumlufverunreinigungen — Messen von Pyrethroiden und Piperonylbutoxid in Luft, Hausstaub und Lösemittel-Wischproben*

VDI 4301 Blatt 5, *Messen von Innenraumlufverunreinigungen — Messen von Flammschutzmitteln und Weichmachern auf Basis phosphororganischer Verbindungen — Phosphorsäureester*

Folgende VDI-Richtlinien sind in Vorbereitung:

VDI 2464 Blatt 3, *Messen von Immissionen — Messen von Innenraumluf — Messen von polybromierten Flammschutzmitteln*

VDI 4300 Blatt 11, *Messen von Innenraumlufverunreinigungen — Messstrategie für Feinstaub*

VDI 4301 Blatt 6, *Messen von Innenraumlufverunreinigungen — Messen von Phthalaten*

Innenraumluftverunreinigungen — Teil 17: Nachweis und Zählung von Schimmelpilzen — Kultivierungsverfahren

Einleitung

Schimmelpilze ist ein allgemein gebräuchlicher Name für Fadenpilze aus unterschiedlichen taxonomischen Gruppen (Zygomyceten, Ascomyceten, Deuteromyceten). Sie bilden ein Myzel (Hyphen) und Sporen — Konidiosporen, Sporangiosporen oder Ascosporen — durch die sie makroskopisch sichtbar werden. Die meisten Sporen liegen im Größenbereich von 2 µm bis 10 µm; einige sind bis zu 30 µm und nur einige wenige bis zu 100 µm groß. Die Sporen einiger Schimmelpilzgattungen sind sehr klein und werden leicht aufgewirbelt (z. B. *Aspergillus*, *Penicillium*); andere hingegen sind größer und/oder in einer Schleimmatrix (*Stachybotrys*, *Fusarium*) eingebettet und damit weniger mobil.

Schimmelpilzsporen sind im Außenluftbereich weit verbreitet und kommen daher auch im Innenraum in unterschiedlichen Konzentrationen vor. Das Wachstum von Schimmelpilzen im Innenraumbereich sollte aber als hygienisches Problem angesehen werden, da epidemiologische Studien deutlich machen, dass Feuchtigkeit und/oder das Wachstum von Schimmelpilzen in Häusern eng mit gesundheitlichen Problemen bei Bewohnern zusammenhängen.

Standardisierte Verfahren für Probenahme, Nachweis und Zählung von Schimmelpilzen sowie für die Probenahmestrategie sind wichtig für eine vergleichende Bewertung von Schimmelpilzschäden im Innenraumbereich.

Das in diesem Teil der ISO 16000 beschriebene Verfahren basiert auf der Richtlinie VDI 4253 Teil 2 [5] und VDI 4300 Teil 10 [6].

WARNUNG — Die Verwendung dieses Teils der ISO 16000 kann den Umgang mit gefährlichen Materialien und deren Handhabungen sowie mit der entsprechenden Ausrüstung beinhalten. Dieser Teil der ISO 16000 gibt nicht vor, irgendwelche Sicherheitsaspekte in Verbindung mit der Anwendung der Norm anzusprechen. Es liegt in der Verantwortung des Anwenders dieses Teils der ISO 16000, geeignete Sicherheits- und Gesundheitsvorkehrungen zu ergreifen und die Anwendbarkeit behördlicher Einschränkungen vor dem Einsatz zu eruieren.

1 Anwendungsbereich

Dieser Teil der ISO 16000 legt Anforderungen für den Nachweis und die Zählung von Schimmelpilzen durch Kultivierung nach erfolgter Probenahme mittels Impaktion nach ISO 16000-18 oder Filtration nach ISO 16000-16 fest. Das Verfahren ist auch für die Kultivierung von Schimmelpilzen aus Materialsuspensionen oder von Abklatschplatten und Direktausspatelungen geeignet.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden zitierten Dokumente sind für die Anwendung dieses Dokuments erforderlich. Bei datierten Verweisungen gilt nur die in Bezug genommene Ausgabe. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen Dokuments (einschließlich aller Änderungen).

ISO 8199, *Water quality — General guidance on the enumeration of micro-organisms by culture*

ISO 16000-16, *Indoor air — Part 16: Detection and enumeration of moulds — Sampling by filtration*

ISO 16000-18, *Indoor air — Part 18: Detection and enumeration of moulds — Sampling by impaction*¹⁾

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Teils der ISO 16000 gelten die folgenden Begriffe.

3.1

Fadenpilz

Pilz, der in Form von Zellfäden, den so genannten Hyphen, wächst

ANMERKUNG 1 Die Gesamtheit der Hyphen bezeichnet man als Myzel.

ANMERKUNG 2 Der Begriff „Fadenpilze“ grenzt die hyphenbildenden Pilze gegen die Hefen ab.

[ISO 16000-16:2008]

3.2

Filtration

Abscheidung von Teilchen — in einem Gas oder einer Flüssigkeit suspendiert — aufgrund der Durchströmung eines porösen Mediums

[EN 13098:2000 [4]]

ANMERKUNG Die Filtration ist in diesem Teil der ISO 16000 als die Abscheidung von Mikroorganismen bzw. Schimmelpilzen aus einem definierten Luftvolumen mit Hilfe von Filtern definiert.

1) Im Druck

3.3

indirektes Verfahren

⟨Luftbeschaffenheit⟩ Resuspension von abgeschiedenen Mikroorganismen mit anschließenden Ausspätungen von Aliquoten auf geeignete Nährböden, Anzucht der Mikroorganismen und Zählung der unter den gewählten Bedingungen gewachsenen Kolonien

3.4

koloniebildende Einheit

KBE

Einheit, in der die Anzahl der anzüchtbaren Mikroorganismen ausgedrückt wird

[EN 13098:2000 [4]]

ANMERKUNG 1 Eine koloniebildende Einheit kann sowohl aus einem einzigen Mikroorganismus, einem Aggregat mehrerer Mikroorganismen oder einem bzw. mehreren Mikroorganismen, die an einem Partikel anhaften, entstehen.

ANMERKUNG 2 Die Anzahl der Kolonien hängt von den Anzuchtbedingungen ab.

3.5

Kultivierung

⟨Luftbeschaffenheit⟩ Anzucht von Mikroorganismen auf Nährmedien

[ISO 16000-16:2008]

3.6

Mikroorganismus

jegliche zelluläre oder nichtzelluläre mikrobiologische Einheit, die befähigt ist, sich zu vermehren oder genetisches Material zu übertragen, oder eine Einheit, die diese Eigenschaft verloren hat

[EN 13098:2000 [4]]

3.7

Feuchteindikator

⟨Luftbeschaffenheit⟩ Schimmelpilz, der zum Wachstum eine recht hohe Luftfeuchte benötigt und daher durch das Vorkommen Feuchteschäden anzeigt

3.8

Sekundärkolonie

Kolonie, die nicht primär von der Probenahme der luftgetragenen Sporen herrührt, sondern von Sporen, die von den auf den Agarplatten gewachsenen Kolonien freigesetzt wurden

3.9

Schimmelpilz

⟨Luftbeschaffenheit⟩ Fadenpilz aus mehreren taxonomischen Gruppen: Zygomycetes, Ascomycetes und Deuteromycetes (Fungi imperfecti)

ANMERKUNG Schimmelpilze bilden je nach taxonomischer Gruppe, zu der sie gehören, unterschiedliche Arten von Sporen aus und zwar Konidiosporen (Konidien), Sporangiosporen oder Ascosporen.

[ISO 16000-16:2008]