



Schimmelpilze in Staubproben (abgesaugte Wände) und Wandmaterial (Tapeten, Putz, Farbreste)

## Schimmelpilze in Innenräumen

### Neues IPA-Messverfahren zum Nachweis des Feuchteindikators *Aspergillus versicolor*

Eva Zahradnik, Monika Raulf

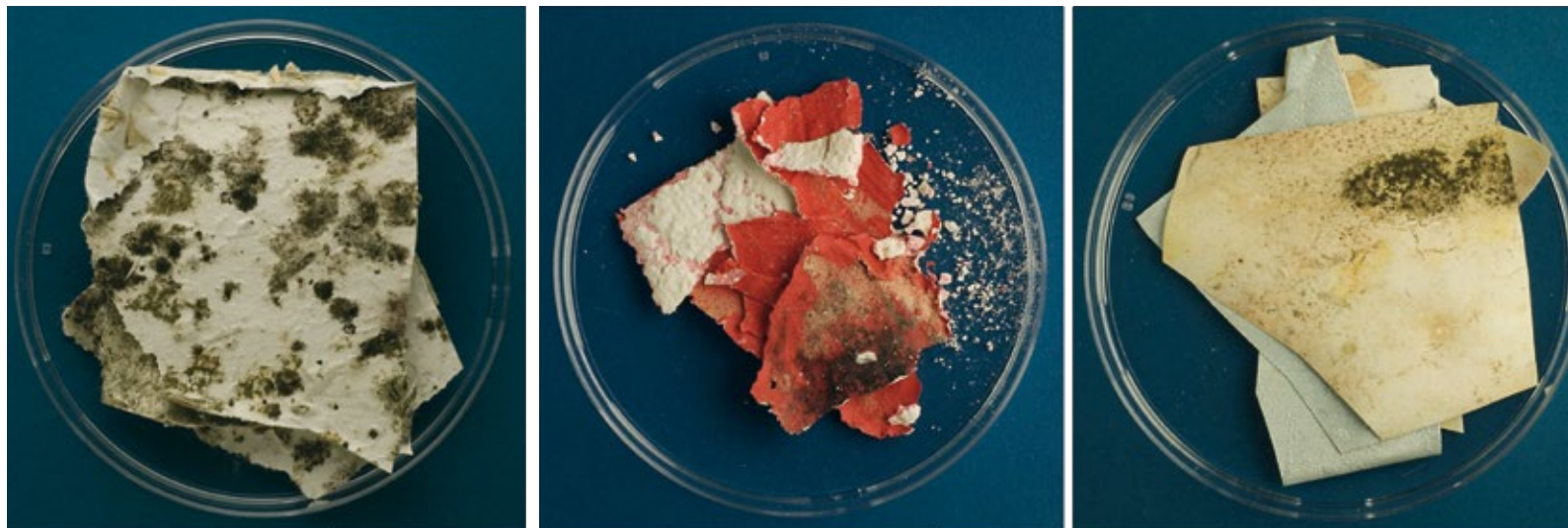
Schimmelpilze sind ubiquitär und ihre Exposition kann zu unterschiedlichen Erkrankungen führen. In den letzten Jahren werden Schimmelpilze immer häufiger als Problem in Innenräumen beschrieben. Insbesondere hohe Luftfeuchte oder feuchte Bauteile sind die Hauptfaktoren für Schimmelpilzbefall von Arbeits- und Wohnräumen, aber auch in Kindergärten und Schulen. Erhöhte Schimmelpilzexpositionen können zu gesundheitlichen Beschwerden führen. *Aspergillus versicolor* gehört zu den Schimmelpilzarten, die man häufig in Räumen mit Feuchtschäden findet. Um die Belastung in verschimmelten Gebäuden bestimmen zu können, entwickelte und etablierte das IPA zusammen mit verschiedenen Kooperationspartnern insbesondere in enger Zusammenarbeit mit der BG BAU ein sensitives Testverfahren zum Nachweis des Innenraum-relevanten *A. versicolor*.

Schimmelpilze sind natürliche Bestandteile unserer Umwelt und kommen überall vor. Zusammen mit anderen Mikroorganismen sind sie an der Zersetzung von organischem Material beteiligt und spielen damit eine große Rolle im Kohlenstoffkreislauf der Natur. Ohne bestimmte Schimmelpilze würden wir weder Penicillin und Camembert kennen. Bisher sind über 100.000 Schimmelpilzarten beschrieben. Zu den weltweit am häufigsten vorkommenden Gattungen in der Luft gehören Cladosporium, Penicilium, Aspergillus und Alternaria. Eine erhöhte Schimmelpilzexposition kann beim Menschen vielfältige gesundheitliche Auswirkungen hervorrufen. Neben Infektionen (z.B. Mykosen), Irritationen (z.B. „Mucosa membrane irritation syndrome“ (MMIS)), Intoxikationen (z.B. „Organic dust toxic syndrome“ (ODTS)) und Befindlichkeitsstörungen (z.B. „Sick building syndrome“ (SBS)) können auch Sensibilisierungen und allergische Erkrankungen ausgelöst werden [1]. Die Häufigkeit von Schimmelpilzallergien lag bei Personen mit Atemwegssymptomen in verschiedenen Studien zwischen ein und zehn Prozent, bei Atopikern bei bis zu rund 30 Prozent. Nach aktuellen Sensibilisierungszahlen in Deutschland konnte bei 2,3 Prozent der Erwachsenen spezifisches IgE gegen den Schimmelpilz *Aspergillus fumigatus*

und bei 1,3 Prozent gegen *Cladosporium herbarum* nachgewiesen werden [2]. Das Schimmelpilzwachstum im Innenraum wird hauptsächlich durch Feuchtigkeit, Nährstoffangebot und Temperatur bestimmt und kann ein gesundheitliches Risiko darstellen.

#### Schimmelpilzbefall durch Feuchteschäden

Schimmelpilze benötigen eine relative Luftfeuchte von über 65 Prozent, um sich vermehren zu können. Ausreichende Nährstoffe, passende Temperaturen und alle sonstigen Bedingungen sind in Innenräumen sehr häufig gegeben. Wasserschäden und erhöhte Feuchte (z.B. mangelnde Lüftung, Kondensatbildung durch Kältebrücken oder bauliche Mängel wie z.B. schlechte Dämmung) können oft innerhalb kurzer Zeit zu einem massiven Schimmelpilzbefall führen. *Aspergillus versicolor* ist einer der häufigsten Innenraumschimmelpilze, der vorrangig bei Feuchteschäden auftritt und gilt daher auch als Feuchteindikator [3]. Man findet ihn überwiegend auf Putz, Tapeten und Holz und die Sporen lassen sich im Hausstaub nachweisen. Wie der Name schon sagt, kommt *A. versicolor* in verschiedenen Farbvarianten vor, die vom befallenen Untergrund abhängig sind. Außerdem produziert *A. versicolor* das



Mykotoxin Sterigmatocystin, das unter anderem ein kanzerogenes Potenzial besitzt.

Die bisherigen epidemiologischen Studien weisen darauf hin, dass ein Zusammenhang zwischen Feuchte, Schimmelpilzexposition und gesundheitlichen Beschwerden besteht [4]. In keiner dieser Studien konnte jedoch bislang festgestellt werden, ab welcher Schimmelpilz-Konzentration in der Luft mit gesundheitlich negativen Auswirkungen gerechnet werden muss. Neben den Bewohnern von Feuchte-geschädigten Wohnungen, können auch Beschäftigte in Bereich der Gebäudesanierungen regelmäßig von der erhöhten Schimmelpilzbelastung betroffen sein. Feuchte und Schimmelpilzbefall stellen auch Probleme für Beschäftigte in Archiven und Bibliotheken dar.

#### Nachweismethoden von Schimmelpilzen

Um zu beurteilen, ob in einem Innenraum eine Schimmelpilzquelle vorliegt, werden häufig die Konzentrationen der verschiedenen Schimmelpilze sowohl in der Luft als auch im Hausstaub und in Materialproben bestimmt. Das klassische Standardverfahren ist die Kultivierung von Schimmelpilzen auf entsprechenden Nährmedien und die anschließende Bestimmung der Gesamtkeimzahl. Darüber hinaus ist auch eine Identifizierung der einzelnen Gattungen bzw. Spezies der vorhandenen Schimmelpilze möglich. Nachteil dieses Verfahrens ist allerdings, dass nur kultivierbare Schimmel-

pilzbestandteile erfasst werden, obwohl auch andere nicht vermehrbare Fragmente als Allergenquelle fungieren können. Eine andere Nachweismethode ist die mikroskopische Untersuchung der Proben, bei der sowohl kultivierbare als auch sterile oder abgestorbene Bestandteile berücksichtigt werden. Als wesentliche Einschränkungen dieser Methodik gelten: hoher Arbeitsaufwand, geringere Empfindlichkeit als bei der Kultivierung und limitierte Speziesidentifizierung. Eine gute Alternative oder Ergänzung zu diesen konventionellen Bestimmungen können immunologische Testsysteme darstellen, die auf spezifischen Antikörpern beruhen. Kommerziell sind bereits Immunoassays gegen Schimmelpilze *Alternaria alternata* (ein eher typischer Schimmelpilz des Außenbereichs), *Aspergillus fumigatus*, *Stachybotrys chartarum* und auch mittlerweile *Aspergillus versicolor* erhältlich. Sie sind hochspezifisch, da sie auf monoklonalen Antikörpern gegen ein einzelnes Allergen oder Antigen basieren. In der Praxis haben sie sich bei Expositionsmessungen als nicht sensitiv genug erwiesen, da die Expression von einzelnen Proteinen bei Schimmelpilzen von Umweltbedingungen extrem variieren kann. Konkret bedeutet dieses, dass das Fehlen des Proteins nicht zwangsläufig auf die Abwesenheit des Schimmelpilzes in der Probe hinweist.

#### Neuer *Aspergillus versicolor*-Assay

Durch das IPA wurde in einem von der BG BAU mitinitiierten Kooperationsprojekt eine neue Nachweismethode für *Aspergillus versicolor*-

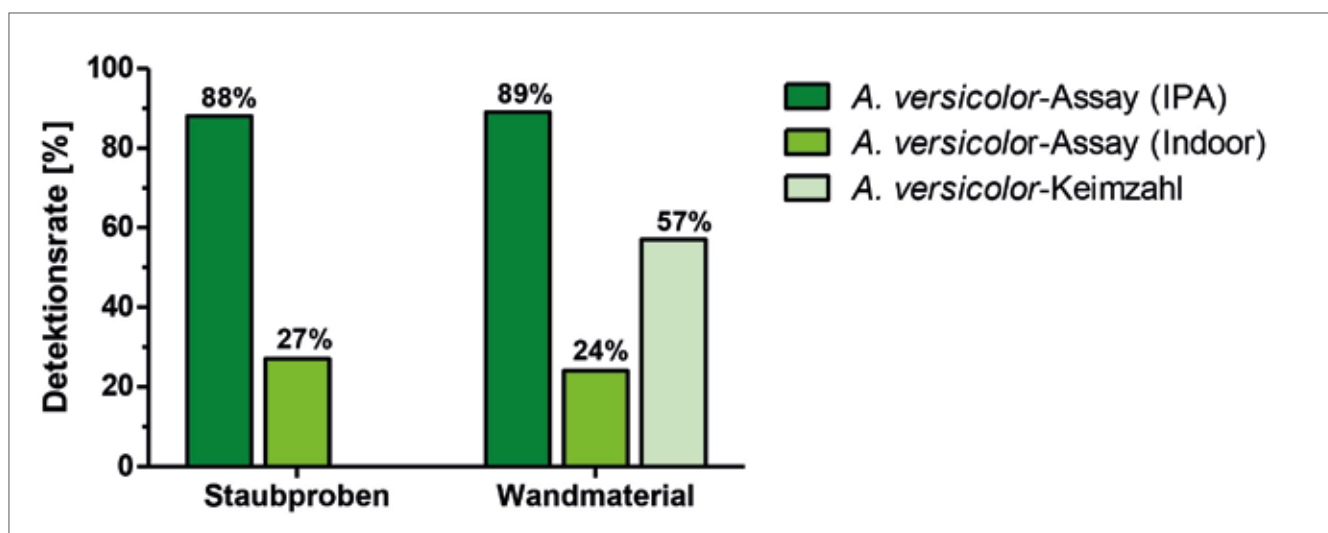


Abb. 1: Detektionsrate von *A. versicolor* mit drei verschiedenen Nachweismethoden





Abb. 2: Mikroskopische Aufnahme von *A. versicolor* bei 400-facher Vergrößerung

lor entwickelt, die im Gegensatz zu den kommerziellen Assays auf polyklonalen Antikörpern gegen ein breites Antigenspektrum basiert [5]. Die Antikörper erkennen eine Reihe von *A. versicolor* Proteinen, die sowohl in Mycelien (Pilzfäden) als auch in Sporen (Verbreitungseinheiten) vorhanden sind. Das neue Messverfahren in Form eines Sandwich-ELISA besitzt mit einer Nachweisgrenze von 120 pg/ml eine hohe Sensitivität und zeigt nur geringe Kreuzreaktionen zu anderen Aspergillus Arten. Zur Validierung des Assays wurden *A. versicolor* Antigene in Proben aus 50 verschimmelten Sanierungsobjekten quantifiziert. An Stellen mit sichtbarem Schimmelpilzbefall wurden durch einen Kooperationspartner sowohl Materialproben (Tapeten, Putz, Farbreste) gesammelt als auch Wandflächen (jeweils 1m<sup>2</sup>) abgesaugt. In den Materialproben wurden deutlich niedrigere Antigengehalte (Median 48 ng/g) als in den abgesaugten Staubproben (Median 2257 ng/g) bestimmt. Gemessene Antigenkonzentrationen wurden mit den Ergebnissen des kommerziellen *A. versicolor* Assays (AveX ELISA, Indoor Biotechnologies) und der spezifischen *A. versicolor* Keimzahlbestimmung verglichen (nur für Materialproben durchgeführt). Der neue IPA-Sandwich ELISA wies eine viel höhere Detektionsrate von *A. versicolor* in den Proben als die beiden anderen Methoden auf. Zum Beispiel waren 89 Prozent der Wandmaterialien im IPA-Assay und nur 24 Prozent im kommerziellen Assay positiv. *A. versicolor* Kolonien konnten in 57 Prozent der Materialproben identifiziert werden. Tapeten waren insgesamt stärker mit *A. versicolor* belastet als Putz oder Farbreste. Der Vergleich der Antigenkonzentrationen mit den Keimzahlen in den Materialproben ergab eine gute und signifikante Korrelation (Spearman  $r=0,67$ ,  $p<0,0001$ ).

#### Fazit

Durch das IPA wurde ein neues Nachweisverfahren für Innenraumrelevanten Schimmelpilz *A. versicolor* entwickelt und etabliert. Basierend auf seiner niedrigen Nachweisgrenze, ausreichenden Spezifität und guten Korrelation mit den Keimzahlen, kann der neue Immunoassay zur Bestimmung von *A. versicolor* in allen Innenräu-

men eingesetzt werden und stellt eine zuverlässige Ergänzung zu den bisherigen Techniken wie Kultivierung oder Mikroskopie dar. Das Verfahren kann helfen, die Notwendigkeit von zusätzlichen Präventionsmaßnahmen zu begründen und die Effektivität entsprechender Maßnahmen zu überwachen.

Die Autorinnen  
Prof. Dr. Monika Raulf, Eva Zahradnik  
IPA

Beitrag als PDF



#### Literatur

1. Raulf-Heimsoth M, Gabrio T, Lorenz W, Radon K. Vorkommen und gesundheitliche sowie allergologische Relevanz von Schimmelpilzen aus der Sicht der Umwelt- und Arbeitsmedizin, der Innenraumhygiene und der Epidemiologie Allergo J 2010; 19:464–476
2. Haftenberger M, Laussmann D, Ellert U, Kalcklosch M, Langen U, Schlaud M, Schmitz R, Thamm M: Prävalenz von Sensibilisierungen gegen Inhalations- und Nahrungsmittelallergene. Bundesgesundheitsbl 2013;56:687-697
3. Landesgesundheitsamt Baden-Württemberg . Schimmelpilze in Innenräumen – Nachweis, Bewertung, Qualitätsmanagement. Abgestimmtes Arbeitsergebnis des Arbeitskreises „Qualitätssicherung – Schimmelpilze in Innenräumen am Landesgesundheitsamt Baden-Württemberg 14.12.2001 (überarbeitet Dezember 2004), Eigenverlag, Stuttgart
4. Bornehag CG, Blomquist G, Gyntelberg F, Järholm B, Malmberg P, Nordvall L, Nielsen A, Pershagen G, Sundell J. Dampness in buildings and health. Nordic interdisciplinary review of the scientific evidence on associations between exposure to „dampness“ in buildings and health effects (NORDDAMP). Indoor Air 2001;11(2):72-86
5. Zahradnik E, Kesphol S, Sander I, Schies U, Khosravie-Hohn J, Lorenz W, Engelhart S, Kolk A, Schneider G, Brüning T, Raulf-Heimsoth M. A new immunoassay to quantify fungal antigens from the indoor mould *Aspergillus versicolor*. Environ Sci Process Impacts 2013;15:1162-71