

Hoe schimmel, gisten en bacteriën meten?

Inleiding

Schimmels zijn zeer belangrijk in de natuur, ze bezitten de eigenschap om complexe structuren af te breken tot losse elementen die vervolgens opgenomen kunnen worden door planten en dieren. Een zeer belangrijke schakel in de kringlopen van de natuur. Kort gezegd, wat schimmels doen is dood organisch materiaal anorganisch maken. Maar schimmels horen niet in gebouwen thuis. Dat staat zelfs beschreven in het oude testament [Leviticus 14, 33-45]

Schimmelmetingen kunnen op vele manieren: materiaal analyse, contactmonsters met plakband of met voedingsbodemp, schimmelhonden, stofmonsters, luchtmonsters. Iedere meting heeft zijn voor- en nadelen.

De meest gebruikte methode om ontkiembare schimmelsporen in de lucht te onderzoeken is via luchtmetingen. Deze meting is altijd een vergelijkingsmeting tussen binnen en buiten. In iedere kubieke meterlucht zijn schimmelsporen aanwezig. Als er binnen meer en/of andere soorten voorkomen in vergelijking met buiten is dat een indicatie voor schimmelproblemen.

De bouwbiologie houdt zich al vele jaren bezig met schimmelproblemen. En dat heeft geresulteerd in samenwerking met officiële instanties zoals het Landesgesundheitsamt Baden-Württemberg [2001] en het Umweltbundesamt [2002].

<https://www.umweltbundesamt.de/www.umweltbundesamt.de/schimmelleitfaden> op blz 100 staat de methode uitgelegd, inclusief de DIN ISO normering.

De Umweltbundesamt heeft één op één de beoordelingscategorieën van de bouwbiologie overgenomen. In detail zijn de volgende aspecten belangrijk:

- Het doel van de beoordelingscategorieën is om vast te stellen of er een schimmelbron in de woning aanwezig is.
- Er worden geen absolute aantallen van schimmelconcentraties gegeven, behalve in relatie tussen binnen en buiten. Dat is de methode die bouwbiologen al vele jaren hanteren omdat de hoeveelheid schimmelsporen in de lucht niet constant is gedurende het jaar of de seizoenen. Door binnen en buiten tegelijkertijd te meten is er een goede duidelijke reverentie.
- Er wordt veel aandacht gegeven aan de verschillende soorten schimmels. Bij de schimmels wordt er onderscheid gemaakt tussen Cladosporium en andere typische buitenlucht schimmels en vochtchade schimmels zoals Aspergillus versicolor of Stachybotrys chartarum.

Algemeen

In binnenruimtes van woningen en gebouwen mogen er geen zichtbare of microscopisch zichtbare schimmelbesmettingen aanwezig zijn of belast met schimmelsporen of schimmelstofwisselingsproducten zoals mycotoxinen, MVOC, glucanen of allergene (proteïne). De hoeveelheid schimmels in de binnenlucht, op oppervlakken, in huisstof, in holle ruimtes, in materialen en dergelijke moeten duidelijk onder het niveau van buiten of van niet besmette vergelijkingsruimtes liggen.

De schimmelsoorten binnen mogen niet wezenlijk anders zijn dan de schimmel soorten buiten of van niet besmette vergelijkingsruimtes. Gevaarlijke en kritische schimmelsoorten die mycotoxinen produceren, bijvoorbeeld Stachybotrys, Aspergillus, Alternaria, Chaetomium, Paecilomyces, Penicillium,



Trichoderma soorten of soorten die hun ideale groeitemperatuur rond de 37°C hebben, zoals Aspergillus, Absidia, Acremonium, Fusarium, Mucor, Paecilomyces, Rhizopus, Trichoderma soorten, mogen niet of slechts minimaal aanwezig zijn.

Langdurige verhoogde materiaal- en luchtvochtigheid en koude oppervlakten moeten vermeden worden. Daar die goede uitgangsposities bieden voor schimmelgroei.

Iedere aanwijzing voor microbiologische groei moet worden uitgezocht. Verkleuringen, vlekken, typisch microbiologische geur, waterschade, bouwfouten, hygiëne. Besmetting die van buiten naar binnen wordt gebracht zoals vuilstort, recycling, komposthoppen, stof producerende werkzaamheden zoals bouw of tuin. Ziektebeeld van de bewoner, milieu van de omgeving.

Voor een solide beoordeling van microbiologische blootstelling aan schimmels, gisten en bacteriën zijn er vanzelfsprekend verschillende mogelijkheden tot onderzoek.

Let op; als gevolg van de vocht- of hygiëneproblemen zijn er naast schimmels meestal ook bacteriën aanwezig. De gezondheidsklachten van de bewoners kunnen met schimmels en bacteriën samenhangen. Daarom worden alle drie de microbiologische punten, schimmels, gisten en bacteriën gelijktijdig onderzocht.

Ondervraging

Vraag wat er aan de hand is met de gebruiker en het gebouw, visuele inspectie, algemene indrukken, geur, het gebruik van een endoscoop, vergrootglas, microscoop, geurdetector, fotodocumentatie en dergelijke.

Door de inspectie van de ruimte waar de zorgen over zijn, inclusief ondervraging van de bewoner of gebruiker over het gebouw, actuele of oudere bouw-, vocht-, of hygiëneschade, bouwfouten, geurproblemen, het gebruik of ziekteverschijnselen zijn aandachtmomenten voor microbiologische belasting in te winnen of de verifiëren.

En grondige visuele inspectie ook op verdeckte plekken zoals; achter kasten, holle ruimtes, spouwen, dakconstructie, wandafwerking, vloerbedekking, ventilatiekanalen, schachten etc.

Cultiveringsmethoden (op kweek zetten)

Uitkijken naar van micro-organismen voor het bepalen van de aantallen en soorten op voedingsbodems. Agar's, petrischaaltjes, rodac-platen (RODAC = Replicate Organism Detection And Counting), contact slides etc.

Voor binnenruimtes geschikte voedingsbodems voor schimmels en gisten zijn bijvoorbeeld; MEA, DG-18. Aan de hand van de situatie ook; Bengalrot-Chloramphenicol-Agar (RBC), Sabouraud dextrose agar (SDA). Voor bacteriën CASO – (TSA) voedingsbodems. Er zijn ook speciale voedingsbodems alleen voor gisten zoals Candida.

Bij luchtonderzoeken en oppervlakte monsters, minimaal twee verschillende voedingsbodems gebruiken met verschillende samenstellingen. En één voor bacteriën. Dat betekent per onderzoek minimaal drie verschillende voedingsbodems gebruiken.



De cultivering of het op kweek zetten gebeurt in de regel op 20 - 25°C [kamertemperatuur]. Voor thermotolerante soorten bijvoorbeeld *Aspergillus* en *Candida* op 37°C [lichaamstemperatuur]. Voor thermofiele soorten als Actinomyceten, legionella op nog hogere temperaturen op kweek zetten.

Of meerdere temperaturen en daarmee meerdere luchtonderzoeken nodig zijn hangt af van de situatie.

De hoeveelheid gevonden schimmels wordt aangegeven in Kolonie Bouwende Eenheden [KBE]

Tijdens het gebruik van de voedingsbodem en het meetgereedschap zoals luchtpompen moet er zo steriel en schoonmogelijk gewerkt worden. Zo moet de werkplek afgedekt zijn met nieuw aluminiumfolie, moeten de handen schoon zijn, de luchtpomp moet voor de meting gereinigd zijn en tussen alle metingen door schoongemaakt met alcohol.

Microscopisch onderzoek

Monsters van lucht, oppervlakken, materialen, stof en dergelijke worden met een lichtmicroscopie onderzocht. Een vergroting van 600 x is meestal voldoende om de soorten te kunnen bepalen.

Luchtonderzoek

Verzamelen van schimmels, schimmelsporen, gisten en bacteriën uit de binnenlucht met voedingsbodems om op kweek te zetten en/of microscopisch onderzoek.

Gereedschap: Luchtpomp, Air-sampler, Deeltjes verzamelaar, gelatinefilter etc.

Het luchtonderzoek is altijd een vergelijking met de binnen- en de buitenlucht of een schone referentieruimte.

De te meten ruimte minimaal 8 uur niet ventileren. Ramen, deuren en ventilatieroosters gesloten houden. Als er mechanische ventilatie is deze uitzetten.

Het is van belang te weten welke activiteiten er in de ruimte plaatsvinden. Is de ruimte veel in gebruik, of komt er slecht sporadisch iemand. Tijdens de meting het gebruik van de ruimte simuleren. Op stoelen zitten, gordijnen bewegen, kasten openen, rondlopen in de ruimte. Intensieve bewegingen, de zogenaamde agressieve meting is zinvol speciaal voor controlemetingen. Vooral voor onderzoek naar bacteriën is het wenselijk dat er in de uren voor de meting geen mensen in de ruimte zijn geweest.

Als de luchtbehandelingsinstallatie onderzocht moet worden. Eerst de ruimte meten met de installatie uit en vervolgens de installatie aanzetten en na enkele minuten nogmaals meten. Al naar gelang de situatie.

De plek voor het nemen van het luchtmonster moet representatief zijn voor de ruimte. Over het algemeen in het midden van de ruimte, plaats de luchtpomp op 1 à 1,5 meter hoogte. Als alternatief kan met de luchtpomp met gestrekte arm rond worden gelopen, zo kan een heterogeen luchtmengsel worden aangezogen. Aan de hand van de gestelde vragen kan direct gemeten worden bij de aangegeven verdachte plekken. Ook lucht uit spouwen of andere holle ruimtes kan worden aangezogen. Bij direct aanzuigen uit spouwruimtes en boorgaten opletten dat er geen materiaal de luchtpomp ingezogen wordt.



Luchtbemonstering

Monster nemen met; luchtbemonsteringspomp, gelatinefilter.

In de te onderzoeken ruimte tussen de 50 en 100 liter lucht aanzuigen. De aanzuigsnelheid van de luchtpomp is 100 liter per minuut. In de zomer, als er meer schimmels zijn, eerder 50 liter en in de winter eerder 100 liter. Dit al naargelang de situatie. Zijn er zeer hoge concentratie te verwachten minder lucht en in extreem schone ruimtes meer lucht. De voedingsbodem moeten kamertemperatuur hebben tijdens de meting.

De metingen met de luchtpomp zijn alle keren gelijk. De pomp is gekalibreerd, daarmee is de hoeveelheid aangezogen lucht bij iedere meting gelijk en reproduceerbaar. De uitkomsten van het aanvullende laboratoriumonderzoek zijn te gebruiken bij geschillen.

Bij gebruik van een passieve lucht bemonsteringsmethode als OPD (Open Petri Dish) moeten er meerdere voedingsbodems tegelijkertijd gebruikt worden op meerdere plaatsen in de te meten ruimte. Op de vloer, op de tafel, in de vensterbank, op de boekenkast. De voedingsbodems moeten minimaal 30 – 60 minuten open contact met de lucht in de te meten ruimte hebben. Hoe minder schimmelsporen te verwachten zijn hoe langer de petrischalen open moeten blijven. Deze methode heeft een grote foutmarge en geeft al naargelang de situatie te weinig aan. Vooral de kritische schimmels met zeer kleine sporen zoals Aspergillus en Penicillium worden moeilijk gevonden. Deze methode is slechts een grove indicatie voor eigen gebruik.

De hoeveelheid gevonden schimmels en bacteriën aantallen worden uitgedrukt in Kolonie Bouwende Eenheden per kubieke meter. [KBE/m³]. Bij de passieve meting in KBE/petrischaal.

Luchtdeeltjes bemonstering

Monster nemen met luchtpomp en kleef objectdragers.

Bij het verzamelen van luchtdeeltjes om te bepalen hoeveel schimmelsporen [ontkiembare en niet ontkiembare schimmelsporen] en andere deeltjes er in de lucht aanwezig zijn drie sporen kleef objectdragers te gebruiken. Door middel van lichtmicroscopie worden de aantallen en de soorten bepaald. Er wordt 100 – 200 liter lucht aangezogen met een snelheid van 100 liter per minuut. Is de verwachting dat er veel deeltjes in de lucht aanwezig zijn dan voor minder lucht kiezen. En voor meer lucht als er weinig deeltjes te verwachten zijn.

De gevonden sporen worden uitgedrukt in sporen per kubieke meter of in exacte aantallen. Over het algemeen geeft het laboratorium ook aan als er andere deeltjes gevonden worden zoals; vezels, huidschubben, huisstofmijt, insectendeeltjes, stof en dergelijke.

Oppervlaktebemonstering

Om te ontkiemen op voedingsbodems [petrischalen] of voor onderzoek met lichtmicroscopie. aandrukvoedingsbodems, petrischaaltjes, steriele wattenstaafjes, plakband.

Plakband

Voor onderzoek met lichtmicroscoop wordt er gebruik gemaakt van doorzichtig plakband. Het plakband wordt op de te onderzoeken oppervlakte geplakt, zachtjes aangedrukt en vervolgens op doorzichtig folie of objectdrager geplakt. Deze methode geeft snel inzicht en meestal is het ook mogelijk om de soorten te bepalen. Deze methode is ook goed geschikt voor controlemetingen na schoonmaakwerkzaamheden na schimmelsanering. Er mogen dan nauwelijks schimmelsporen gevonden worden.

Aandrukken

Bij aandrukvoedingsbodems wordt er gebruik gemaakt van Rodac platen, Contact Slides of steriele wattenstaafjes. De voedingsbodem wordt meerdere seconden op het te onderzoeken oppervlakte gedrukt. De schimmelbesmetting kan primair worden onderzocht. Ook is het mogelijk om secundaire besmetting te onderzoeken. Deze meting is een goede indicator voor omstandigheden in verband met (slechte) hygiëne.

Steriel wattenstaafje

Een vastgestelde afmeting van een oppervlak, bijvoorbeeld 10 dm² wordt met een steriel wattenstaafje “afgescand” of afgeveegd. De aanwezige schimmelsporen worden op die manier opgenomen door het steriele wattenstaafje. Vervolgens wordt het wattenstaafje aan de voedingsbodem afgerold zodat de schimmelsporen aan de voedingsbodem vast blijven zitten.

Met steriele wattenstaafjes zijn monsters te nemen op moeilijk bereikbare plaatsen zoals barsten, holle ruimtes, kieren, voegen, boorgaten en dergelijke. Na het nemen van het monster wordt het wattenstaafje afgerold over de voedingsbodem. Het voordeel van onderzoek met wattenstaafjes is ook dat de schimmelsporen niet direct over de voedingsbodem afgerold moeten worden. Het wattenstaafje kan steriel bewaard worden en desgewenst enkele weken of maanden later nog gebruikt worden.

Steriele wattenstaafjes en aandruk voedingsbodems zijn zeer geschikt voor het onderzoek naar gisten. Gisten vermeerderen zich hoofdzakelijk door celdeling en verplaatsen zich, zeker in vergelijking met schimmelsporen weinig door de lucht. Gisten komen veel voor in koelkasten, vaatwassers, stortbakken, afvoeren, douchekoppen, monddouche, inhaleer apparaten, babyflessen, graanmolens, voorraadblikken voor voeding.

Bij gebruik wattenstaafjes is er geen vaste eenheid waarin de gevonden schimmels of gisten kunnen worden aangeduid. Het is vooral een indruk.

Materiaalonderzoek

Voor cultivering op voedingsbodems of voor microscopisch onderzoek. Gebruik voedingsbodems, verdunmiddelen, plakband en steriele wattenstaafjes.

Met schimmel begroeide of verdachte materialen [behang, isolatiemateriaal, hout, tapijt, akten en dergelijke] worden voorzichtig weggehaald en in aluminiumfolie verpakt. Het is van belang om zo steriel mogelijk te werken en het materiaalmonster niet met schimmels van andere plekken te vervuilen.

Schoongereedschap en handschoenen dragen.

Het materiaal monster wordt in het laboratorium onderzocht. Daar wordt het bewerkt voor analyse. Analyse met microscoop en/of op kweek gezet.

Controle van bouwmaterialen, isolatiemateriaal, leem, verf is zinvol om schimmel en bacteriën besmetting te voorkomen. Vooral wandverf kan vervuild zijn met bacteriën en daardoor niet te gebruiken.

De hoeveelheid cultiveerbare schimmels wordt aangegeven in Kolonie Bouwende Eenheden per gram [KBE/g]. Bij microscopisch onderzoek wordt hoofdzakelijk het soort aangegeven.



Stofonderzoek

Voor cultivering op voedingsbodems of voor microscopisch onderzoek. Gebruik voedingsbodems, verdunmiddelen en plakband.

Huisstof wordt door middel van afzuigen van oppervlakten, vloerbedekking, tapijt, meubels en dergelijke gehaald naargelang de situatie. Bijvoorbeeld met een stofzuiger met ALK opzetstuk, cellulosefilter of direct uit de stofzuigerzak. Het type en de afmeting van de afgezogen oppervlakte moet worden vastgelegd.

Stofconcentraties kunnen een aanwijzing zijn voor secundaire vervuiling van schimmelgroei. Ook aandacht hebben voor bijkomende vondsten zoals huidschubben, haren, deeltjes, mijten, allergenen en mineraal vezels.

Oppervlakte stof opgenomen met plakband, zie onderwerp plakband.

De hoeveelheid gevonden schimmels of bacteriën aantallen per gram stof of per vierkante meter afgezogen oppervlak.

MVOC analyse [Microbial Volatile Organic Compounds]

Aantonen van door schimmels of bacteriën geproduceerd gassen. Met luchtpompen en actief koolstof of Tenax buisjes. Analyse in gespecialiseerd laboratorium.

Binnenluchtmonsters met behulp van actiefkoolstof of Tenax welke in het laboratorium door middel van gaschromatografie of massaspectrum onderzocht worden op concentratie van chemische-biologische gassen van micro-organismen. De volgende schimmel specifieke substanties kunnen dan gevonden worden; dimethylsulfide, dimethyldisulfide, dimethylsulfoxide, geosmin, 2-methylfuran, 3-methylfuran, 1-octen-2-ol, 2-pentanol, 1-decanol, 2-heptanon, 2-methyl-isoborneol, 3-octanol, 3-octanon.

MVOC monsters moeten in goede samenwerking met het laboratorium genomen worden daar het zeer gevoelige werkzaamheden zijn waar makkelijk fouten mee gemaakt kunnen worden door foute handelingen als; verkeerde monsternamen, verkeerde behandeling van het medium en dergelijke. MVOC analyses zijn een aanvulling op andere analyses zoals luchtbemonstering.

De concentratie MVOC wordt aangegeven in nanogram per kubieke meter lucht [ng/m^3]

Mycotoxinenanalyse

Aantonen van schimmel specifieke gifstoffen met materiaal- en stofmonsters, analyse in laboratorium.

Mycotoxinen kunnen als zwaar vluchtige substanties met behulp van materialen of huisstof aangetoond worden. Er is op dit moment slechts voor enkele mycotoxinen [ochratoxine A, Trichothecene] een goede methode om ze aan te tonen, terwijl er meerdere honderd van dergelijke mycotoxinen bestaan. Daardoor zijn er helaas nog weinig referentiewaarden.

De hoeveelheid mycotoxinen wordt aangegeven in nanogram per gram stof of materiaal. [ng/m^3]