

Vergleich mykologischer und chemisch-analytischer Labormethoden zum Nachweis von Schimmelpilzbefällen in Innenräumen

Aussagen über das Vorliegen oder Nichtvorliegen einer bestimmten Erkrankung, über Vorhandensein oder Fehlen eines Schadens, über Eintritt oder Ausbleiben eines Ereignisses werden meist mit Hilfe von Entscheidungsregeln getroffen. Diese Entscheidungsregeln sind selten so perfekt oder so genau, dass es mit ihnen nicht auch zu Fehlentscheidungen kommen könnte. Das Wissen um die prädiktiven Eigenschaften einer Methode ist jedoch die Voraussetzung dafür, dass die Qualität der damit getroffenen Entscheidungen beurteilt werden kann [1]. Diese hier genannten Problemstellungen spielen prinzipiell überall dort eine Rolle, wo es um die Einschätzung der prädiktiven Wertigkeit von diagnostischen Methoden geht. Solche Methodenbewertungen wurden und werden beispielsweise in den Bereichen der Diagnostik mit Hilfe bildgebender Verfahren [2, 3, 4], der Laboratoriumsmedizin [5, 6, 7, 8, 9, 10] und der Epidemiologie [11, 12, 13] unternommen.

Eine hohe analytische (technische) Güte oder Leistungsfähigkeit der eingesetzten Untersuchungsmethoden, die durch die Eigenschaften Richtigkeit, Präzision und Reproduzierbarkeit beschrieben werden können, ist eine unabdingbare Voraussetzung für die Anwendbarkeit des Untersuchungsverfahrens im Sinne eines „diagnostischen“ Tests. Damit lässt sich jedoch ihre prädiktive (diagnostische) Wertigkeit noch nicht ausreichend begründen [14, 15].

Hierfür müssen die diagnostischen Sensitivitäten und Spezifitäten dieser Methoden bekannt sein. Verfahren mit einer hohen Unterscheidungsfähigkeit zwischen „krank“ und „gesund“ besitzen sowohl eine hohe Sensitivität, d. h., es wird ein hoher Anteil richtig positiver Testergebnisse (RPF: richtig positive Fraktion) und ein geringer Anteil falsch negativer Testergebnisse (FNF: falsch negative Fraktion) unter den Erkrankten erzielt, als auch eine hohe Spezifität. Eine hohe Spezifität bedeutet, dass der Anteil richtig negativer Testergebnisse (RNF) unter den Gesunden hoch und der Anteil falsch positiver Testergebnisse (FPF) gering ist. Sensitivität (Se) und Spezifität (Sp) können somit ausgedrückt werden als:

Se=RP/(RP+FN) und Sp=RN/(RN+FP)
mit:

RP=Anzahl richtig positiver Testergebnisse

FN=Anzahl falsch negativer Testergebnisse

RN=Anzahl richtig negativer Testergebnisse und

FP=Anzahl falsch positiver Testergebnisse

Ähnliche Fragestellungen treten auch im Bereich der Umwelthygiene auf, wenn es beispielsweise darum geht, die Zuverlässigkeit von Methoden zu beurteilen, die zum Nachweis eines Schadens verwendet werden. Ergebnisse von ersten Untersuchungen zu dieser Fragestellung wurden kürzlich publiziert [16]. Auch beim Vergleich

der Gleichwertigkeit bereits etablierter Methoden oder beim Vergleich bewährter Testverfahren mit neu entwickelten Methoden spielen die prädiktiven Gütermerkmale der Methoden für die Entscheidungsfindung (Methodenwahl) eine bedeutsame Rolle.

Vor dem Problem der Methodenwahl steht man auch bei der Planung epidemiologischer Studien zu umweltbedingten gesundheitlichen Risiken, da diese Risiken eher klein sind. Für ihren Nachweis werden große Stichprobenumfänge benötigt, um sie als statistisch signifikant aufzudecken. Wollte man beispielsweise in einer Fall-Kontroll-Studie eine ausschließlich durch Schimmelpilzexposition bedingte Erkrankung mit einer Odds Ratio von 1,5 als statistisch signifikant nachweisen, wären bei einer Häufigkeit von 10% belasteter Wohnungen im Gesamtbestand etwa 900–1.000 Fälle (erkrankte Personen) und ebenso viele Kontrollen (Personen ohne diese Erkrankung) erforderlich, wenn man einen Fehler erster Art (α) von 0,05 und einen Fehler zweiter Art (β) von 0,2 zugrunde legt [17, 18]. Würde man eine solche Studie mit mykologischen Methoden begleiten, wären unter Einbeziehung von Außenluftmessungen mindestens 3.600–4.000 Probenahmen durchzuführen. Selbst bei einer Prävalenz von 50% belasteten Wohnungen im Bestand müssten noch mindestens 1.600–1.700 Probenahmen erfolgen. Vor diesem Hintergrund stellt sich schon

Zusammenfassung · Abstract

Bundesgesundheitsbl - Gesundheitsforsch - Gesundheitsschutz 2004 · 47:1078–1094
DOI 10.1007/s00103-004-0922-4
© Springer Medizin Verlag 2004

D. Laußmann · D. Eis · H. Schleibinger

Vergleich mykologischer und chemisch-analytischer Labormethoden zum Nachweis von Schimmelpilzbefällen in Innenräumen

Zusammenfassung

Für die Bewertung der prädiktiven Wertigkeit häufig angewandter Methoden, die zum Nachweis von Schimmelpilzbefällen in Innenräumen eingesetzt werden, wurden in 45 Schimmel- und in 47 Nichtschimmelwohnungen mykologische und chemisch-analytische Untersuchungen vorgenommen. Die Studie wurde laborverblindet in Bezug auf den durch Inspektion ermittelten Schimmelstatus der Wohnungen durchgeführt. Die Ergebnisse der einzelnen Bestimmungsmethoden wurden anhand ihrer Receiver Operating Characteristic- (ROC-)Kurven miteinander verglichen. Im Ergebnis dieser statistischen Analyse zeigte sich, dass die etablierten mykologischen Bestimmungsmethoden: Erfassung luftgetragener Schimmelpilze mit dem Andersen-Impaktor, sedimentierender Schimmelpilze auf Petri-Schalen und sedimentierter Schimmelpilze in Hausstaub unter den gewählten Studienbedin-

gungen eine hohe diskriminierende Fähigkeit zur Unterscheidung von Schimmel- und Nichtschimmelwohnungen besitzen, wenn ein Summenscore aus den Gattungen *Aspergillus* und *Penicillium* verwendet wurde. Die errechneten Flächen unter den jeweiligen ROC-Kurven (AUC) reichten von $AUC=0,992$ (95%-KI 0,942–0,997) für die Methode der Bestimmung sedimentierter Pilze im Hausstaub über $AUC=0,996$ (95%-KI 0,940–0,998) für das Sedimentationsverfahren bis zu $AUC=0,999$ (95%-KI 0,957–1,000) für die Methode der Erfassung luftgetragener Schimmelpilze mittels Andersen-Impaktor. Im paarweisen Vergleich erwiesen sich diese Flächen unter den ROC-Kurven als nicht statistisch signifikant von einander verschieden. Diese Ergebnisse wurden mit DG-18-Agar als Kulturmedium erzielt. Gleichwertige Ergebnisse ergaben sich für Malzextrakt-Agar. Im Vergleich dazu war die Methode der Bestimmung

von mikrobiell bedingten flüchtigen organischen Verbindungen (MVOC) mithilfe eines aus 8 Einzelverbindungen gebildeten Summenwertes den mykologischen Verfahren deutlich unterlegen: $AUC=0,620$ (95%-KI 0,509–0,723). Betrachtet man die untere Grenze des 95%-Konfidenzintervalls der Fläche unter der ROC-Kurve, so ist diese kaum von 0,5 verschieden. Dieses Ergebnis bedeutet, dass sich die Diskriminierfähigkeit dieser Methode nur geringfügig von der einer zufälligen Klassifizierung unterscheidet. Mögliche methodische Einflüsse, die zu dieser Einschätzung geführt haben, werden diskutiert.

Schlüsselwörter

Schimmel- und Nichtschimmelwohnungen · Nachweisverfahren · *Aspergillus* / *Penicillium* · MVOC · Methodenvergleich · ROC-Analyse

Comparison of mycological and chemical laboratory methods for detecting mold damage in indoor environments

Abstract

To evaluate frequently used methods that discriminate between moldy and nonmoldy indoor environments, 45 homes with visible mold growth and 47 definitely non-infested homes, both confirmed by inspection, were investigated by microbiological and chemical analytical methods. The study was laboratory blinded in relation to the confirmed mold status of the rooms. Statistical evaluation of the results of the applied mycological methods with the Receiver Operating Characteristic (ROC) curve analysis showed that these methods (impaction, open Petri dish method, and determination of mold spores in house dust samples) performed very well in discriminating between rooms with visible mold growth and nonmoldy rooms when the sum score

of the mold genera *Aspergillus* and *Penicillium* was used as an indicator. The calculated areas under the ROC curves (AUC) of the three mycological methods were: 0.992 (95% CI 0.942–0.997) for mold spores in house dust samples, 0.996 (95% CI 0.940–0.998) for the open Petri dish method, and 0.999 (95% CI 0.957–1.000) for the determination of airborne spores with the Andersen impactor, respectively. A perfect discrimination would lead to an AUC of 1. These results were obtained with DG 18-agar as well as with malt extract agar. In contrast to the results of the mycological methods, the chemical analytical method under the same study conditions showed a distinctly lower performance in discriminating rooms according to their mold status when a sum score (con-

centration of eight typical MVOC) was used as an indicator. The area under the ROC curve (AUC) had a value of 0.620 (95% CI 0.509–0.723). A completely useless test would have an AUC of 0.5. As the lower limit of the 95% confidence interval of the area under the ROC curve is close to 0.5, the results obtained with the MVOC method do not differ from the classification results which can be obtained simply by chance. Possible methodological biases which could have lead to this interpretation are discussed.

Keywords

Moldy and nonmoldy homes · Detection methods · *Aspergillus* / *Penicillium* · MVOC · Method comparison · ROC analysis

aus Praktikabilitäts- und Kostengründen die Frage nach der prädiktiven Wertigkeit der Methoden, die für solche Untersuchungen in Frage kämen.

Auf die unbekannte Spezifität und Sensitivität vieler in der Umweltmykologie eingesetzter Nachweisverfahren wurde erst kürzlich hingewiesen und dabei festgestellt, dass gerade in Bezug auf die Ermittlung der oben genannten Gütemerkmale noch erheblicher Forschungsbedarf besteht [19, 20]. Die prädiktiven Gütemerkmale (Sensitivität und Spezifität) der in der Umweltmykologie eingesetzten Nachweisverfahren sollten also ebenso bekannt sein, wie in der Medizin, wo Methodenbewertungen schon seit längerer Zeit vorgenommen werden [21].

Im vorliegenden Beitrag soll die oben dargestellte Problematik anhand der Ergebnisse einer Studie zum Vorkommen von Schimmelpilzen in Innenräumen näher erörtert werden. Anhand einiger Beispiele werden die möglichen prädiktiven Eigenschaften der verwendeten mikrobiologischen und chemisch-analytischen Methoden vorgestellt und diskutiert.

Zielstellung und Lösungsweg

Der vorliegende Beitrag befasst sich mit folgenden Fragestellungen:

- Welche prädiktiven Eigenschaften besitzen die in der Studie angewendeten mykologischen Bestimmungsmethoden, um Wohnungen mit sichtbarem Schimmelpilzbefall von Wohnungen ohne sichtbaren Schimmelpilzbefall zu unterscheiden?
- Besitzt das chemisch-analytische Verfahren eine ähnliche Leistungsfähigkeit, diese beiden Gruppen zu trennen?
- Bestehen statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Methoden in Bezug auf ihre Trennfähigkeit?

Lösungsweg

Auf dem Gebiet der medizinischen Diagnostik werden häufig Labormethoden zur Unterscheidung zwischen „gesund“ und „krank“ verwendet, deren Ergebnisse Messwerte sind, die sich auf einer kontinuierlichen Skala darstellen lassen (z. B. Stoff-

konzentrationen). Diese Messwerte weisen Häufigkeitsverteilungen auf, die eine mehr oder weniger stark ausgeprägte Streubreite besitzen. Dies führt dazu, dass sich die Häufigkeitsverteilungen der beiden Gruppen (Gesunde vs. Kranke) in der Regel überlappen. Die Zuordnung zu einer der beiden Gruppen anhand eines Laborwertes wird dann über einen so genannten Cut-off-Wert vorgenommen. Sensitivität und Spezifität von Labortests sind im gegenläufigen Sinn von der Lage des gewählten Cut-off-Wertes abhängig. Wird beispielsweise der Cut-off-Wert so festgelegt, dass alle Laborwerte von Gesunden unterhalb dieses Wertes liegen, dann beträgt der Anteil richtig negativer Testergebnisse (Spezifität) 1 oder 100%. Allerdings wird dann in der Regel in Kauf genommen, dass auch Kranke als gesund angesehen werden (FN > 0). Wird der Cut-off-Wert so gelegt, dass die Messwerte aller Kranken oberhalb dieses Wertes liegen, beträgt die Sensitivität 1 (100%). In diesem Fall ist damit zu rechnen, dass auch Gesunde als krank eingestuft werden (FP > 0). Verschiebt man den Cut-off-Wert über den gesamten Messwertbereich, dann erhält man jeweils unterschiedliche Wertepaare für die Sensitivität und Spezifität. Diese Wertepaare können in einem cartesischen Koordinatensystem grafisch dargestellt werden, wobei die Sensitivität auf der y-Achse und die Spezifität oder das Komplement der Spezifität (1-Sp) auf der x-Achse aufgetragen werden. Auf diese Weise erhält man eine Sensitivitäts-Spezifitäts-Kennlinie, die als Receiver (oder Relative) Operating Characteristic (ROC)-Kurve bezeichnet wird. Dieser Begriff stammt aus den Anfängen der Radartechnik und Signalanalyse [2] und bedeutet, dass die dargestellte Kurve den Zusammenhang zwischen „richtig“ (Sensitivität) und „falsch“ (1-Spezifität) erkannten Signalen widerspiegelt [14]. Mit diesen ROC-Kurven können nicht nur die Leistungsfähigkeit eines diagnostischen Systems über den gesamten Cut-off-Wertebereich veranschaulicht, sondern auch verschiedene Methoden, die unterschiedliche Messwertskalen aufweisen dürfen, über ihre ROC-Kurven direkt miteinander verglichen werden [4]. Vergleichende ROC-Kurvenanalysen stellen heute ein Basiswerkzeug zur Evaluierung diagnostischer Verfahren dar [9, 22].

Die ROC-Kurve eines perfekten Tests, der sowohl eine Sensitivität von 1 (100%) und damit eine falsch positive Rate (1-Spezifität) von 0 (0%) als auch eine Spezifität von 1 (100%) aufweist, würde am Koordinatenursprung (0,0) beginnend, entlang der y-Achse senkrecht bis zu einem Wert für die Sensitivität von 1 verlaufen und dann parallel zur x-Achse bis zur rechten oberen Ecke (1,1) führen. Die Fläche unter dieser Kurve hat den Wert 1. Bei einem wertlosen Test, der über den gesamten Cut-off-Wertebereich immer gleiche Anteile für richtig positive und falsch positive Testergebnisse liefert, würde die ROC-Kurve, ausgehend vom Koordinatenursprung, entlang der Diagonale bis zur rechten oberen Ecke verlaufen. Die Fläche unter dieser ROC-Kurve beträgt dann 0,5. Ein wertloser Test liefert somit Ergebnisse, die auch durch Münzwurf realisiert werden könnten. Die Fläche unter der ROC-Kurve entspricht also der Wahrscheinlichkeit dafür, dass eine zufällig ausgewählte Probe aus der Gruppe der Erkrankten ein höheres Testergebnis besitzt als eine zufällig ausgewählte Probe aus der Gruppe der Gesunden [4, 12]. Die Fläche unter der ROC-Kurve (AUC) stellt somit ein globales Maß für die prädiktive Wertigkeit einer diagnostischen Methode dar [9, 10, 12].

Dieser methodisch-statistische Ansatz wurde für die Lösung der oben beschriebenen Fragestellungen gewählt.

Material und Methoden

Studiendesign

Die Studie wurde vom Januar 2001 bis zum Dezember 2003 durchgeführt. MVOC-Bestimmungen¹ erfolgten im Zeitraum von Januar 2001 bis Mai 2003. Insgesamt umfasste die Stichprobe 92 Wohnungen; davon 45 Wohnungen mit sichtbarem Schimmelpilzbefall (Indexwohnungen) und 47 Wohnungen ohne sichtbaren Schimmelpilzbefall (Vergleichswohnungen). Die Indexwohnungen wurden von den Berliner Gesundheitsämtern an das Robert Koch-Institut (RKI) vermittelt. 37 Wohnungen befanden sich in Mehrfamilienhäusern und

¹ MVOC: mikrobiell bedingte flüchtige organische Stoffwechselprodukte (Microbial Volatile Organic Compounds)

8 Wohnungen in Einfamilien- bzw. Reihenhäusern. Diese Wohnungen waren bereits durch Mitarbeiter der Gesundheitsämter bei Ortsbegehungen als Wohnungen eingestuft worden, die einen sichtbaren Befall aufwiesen, oder die Mieter wandten sich aufgrund von sichtbaren Schimmelpilzzeichen an diese Einrichtungen mit der Bitte um Unterstützung bei juristischen Streitigkeiten. Alle Wohnungen wurden eine Woche vor der Probenahme noch einmal durch Mitarbeiter des RKI sorgfältig inspiziert und die Ergebnisse in standardisierten Begehungsprotokollen festgehalten [23]. Neben Angaben zum Wohnumfeld sowie zu Gebäude- und Wohnungsmerkmalen wurden in die Protokolle auch Angaben zur Personenbelegung, zum Wäsche-trocknen, zur Heizungsart, zum Raucherstatus sowie Merkmale der Untersuchungs-räume aufgenommen. Diese Merkmale umfassten: Nutzungsart, Möblierung, Größe, Fensterbauart, Bodenbeläge, Anzahl von Topf- und Kübelpflanzen, Vorhandensein und Anzahl von Haustieren mit oder ohne Käfighaltung. Anhand der Inspektionsergebnisse wurde der Schimmelstatus der Wohnung (sichtbarer/ auch versteckter Befall vorhanden: ja oder nein) festgelegt.

Der auf diese Weise festgelegte Schimmelstatus der Wohnungen diente als unabhängiger Referenzstandard (Gruppierungskriterium) für die Bewertung der eingesetzten mykologischen und chemisch-analytischen Bestimmungsmethoden.

Die Studie war als Labor-Blindstudie konzipiert. Alle Proben wurden so kodiert, dass aus der Art der Kodierung kein Rück-schluss auf die Herkunft der Probe mög-lich war. Dies sollte sicherstellen, dass so-wohl die Proben aus Index- als auch aus Vergleichswohnungen im Labor gleich be-handelt wurden.

Aufnahmekriterium für die Gruppe der Indexwohnungen

Eine Aufnahme der Wohnung in die Gruppe der Indexwohnungen erfolgte nur dann, wenn die bereits vorgenommene Einstufung als Wohnung mit Schimmelbefall durch die darauf folgende Inspektion bestätigt werden konnte. Um die Sensitivität der eingesetzten Nachweisverfahren da-bei möglichst unverzerrt zu erfassen, wurden in die Studie Indexwohnungen mit un-terschiedlich starken Befallen eingeschlos-

sen. Als Bewertungsmaß für die Stärke ei-nes Befalls diente die Fläche des sichtba-ren Bewuchses, die mit Hilfe eines Gliedermaßstabs (Zollstock) grob vermessen wurde. Zusätzlich wurden weitere Infor-mationen berücksichtigt, die sich aus den Gesprächen mit den Bewohnern, den Mit-arbeitern der Gesundheitsämter oder aus bereits vorhandenen gutachterlichen Unterlagen ergaben und Hinweise auf mög-liche Ursachen des Befalls lieferten. Dies betraf z. B. vorausgegangene Wasserschä-den durch Undichtigkeiten in Leitungs-systemen sowie Aufseneintritte von Feuch-te über Fundament-, Wand- oder Decken-schäden. Alle Schadensfälle wurden foto-graphisch dokumentiert.

Ausschlusskriterien für Indexwohnungen

Wohnungen, bei denen der Schimmelpilz-befall durch die zweite Ortsbegehung we-der bestätigt noch ausgeschlossen werden konnte, wurden nicht in die Studie aufge-nommen. Hierbei handelte es sich vorwie-gend um Wohnungen, deren Schimmelbe-fall durch die Bewohner bereits selbst ent-fernt wurde oder um sehr kleine Befälle mit einer Ausdehnung von wenigen Qua-dratzentimetern, die nicht eindeutig als Schimmelbewuchs erkennbar waren.

Aufnahmekriterien für die Gruppe der Vergleichswohnungen

Die Wohnungen ohne Schimmelpilzbefall stammten aus einer laufenden Innenraum-studie und einer Umweltambulanzstudie des RKI. Diese Gruppe umfasste 39 Woh-nungen aus Mehrfamilienhäusern, 8 Pro-benahmen wurden in Einfamilien- bzw. Reihenhäusern durchgeführt. In die Gruppe der Vergleichswohnungen wurden nur Wohnungen aufgenommen, wenn sie im Ergebnis der Ortsbegehung und Befra-gung der Bewohner folgende Einschluss-kriterien erfüllten:

- Bei den Bewohnern lagen keine ge-sundheitlichen Beschwerden vor, die in einen Zusammenhang mit den Wohnverhältnissen hätten gebracht werden können.
- In der Wohnung wurde während der bisherigen Wohndauer von den Be-wohnern niemals ein Schimmelbefall oder ein Wasserschaden festgestellt.

- Die Wohnungen wiesen keine Was-ser-/Stockflecken oder Verfärbungen unklarer Ursache an Decken, Wänden oder sonstigen Raumumschließungen auf.
- Keine Lage der Wohnung im Dachge-schoss oder Souterrain, da dort ver-deckte Befälle vorliegen können, die bei Inspektionen übersehen werden.
- Auf Topf- oder Kübelpflanzen war kein sichtbares Pilzwachstum feststell-bar.
- Die Räume, in denen die Probenah-men stattfanden, wiesen keine Einbau-möbel, Innenwand- und Deckenver-kleidungen auf.

Diese Auswahlkriterien stimmten in den meisten Punkten mit den Auswahlkrite-riern für unbelastete Wohnungen überein, die zur Ermittlung von MVOC-Hinter-grundwerten angewendet wurden [26], und sollten verhindern, dass Wohnungen mit evtl. vorhandenen verdeckten Schim-melpilzbefäßen in die Stichprobe aufge-nommen wurden. In Anbetracht dieser re-striktiven Auswahlkriterien erschien eine weiter gehende invasive Untersuchung der Räume nicht zweckmäig. Da es sich hier um Wohnungen ohne Schimmelproblematik handelte, wäre eine Einwilligung zu invasiven Maßnahmen von Seiten der Woh-nungsinhaber oder Vermieter in der Regel auch nicht erteilt worden. In anderen Stu-dien hat man ebenfalls auf invasive Bepro-bungsmethoden verzichtet [24, 25, 26].

Verwendete mykologische und chemisch-analytische Nachweisverfahren

Die in der Studie verwendeten Probenah-metechniken und Bestimmungsmetho-den sind ausführlich an anderer Stelle be-schrieben [27, 28, 29, 30, 31], sodass hier nur kurz darauf eingegangen wird.

Mykologische Methoden

Zur Erfassung und zum Nachweis von Schimmelpilzen wurden in dieser Studie Probenahmetechniken eingesetzt, die häu-fig bei Innenraumuntersuchungen zur An-wendung kommen. Hierzu zählen:

- Impaktionsverfahren: die Bestim-mung der Konzentration von lungen-

gängigen und nichtlungengängigen kultivierbaren mesophilen Schimmel pilzsporen in der Raumluft mittels aktiver Probenahme (2-stufiger Andersen-Sampler). Dauer der Probenahme je nach Stärke des Schimmelbefalls 2–3,5 min, bei einem Luftdurchsatz von 28,3 l/min.

- Sedimentationsmethode: die Bestimmung kultivierbarer sedimentierender mesophiler Schimmelpilze mittels passiver Probenahme auf Sedimentations schalen (Ø 90 mm). Dauer der Probenahme 8–24 Stunden.
- Hausstaubmethode: die Bestimmung kultivierbarer sedimentierter mesophiler Schimmelpilze aus Hausstaubproben (Alter des Hausstaubes: 7 Tage, gesaugte Fläche 1m² bei 3–5 min Saugdauer) mit Hilfe eines speziellen Staub sammlers.

Als Kulturmedien wurden sowohl Dichloran-Glycerin-Agar (DG 18) mit Zugabe von 0,1 g/l Chloramphenicol, der seit vielen Jahren in der Umweltmykologie als Standardmedium zur Kultivierung mesophiler Schimmelpilze dient [32], als auch Malzextrakt-Agar (MEA) verwendet. Die exponierten Nährböden wurden über einen Zeitraum von bis zu 7 Tagen bei einer Temperatur von 24±1°C im Dunkeln kultiviert, die gewachsenen Kolonien visuell gezählt und im Anschluss daran mikroskopisch differenziert.

Chemisch-analytische Methode zur MVOC-Bestimmung

Zur Bestimmung von flüchtigen organischen Verbindungen mikrobieller Herkunft wurden Raumluftproben mit Hilfe einer Handpumpe genommen. Die Probenahme erfolgte auf messinggekapselte Tenax-Röhrchen (250 mg Tenax/Rohr) im Doppelansatz bei einem Luftdurchsatz von etwa 0,1 l/min. Insgesamt wurden 2 l Raumluft je Probe gezogen. Ein drittes Tenax-Röhrchen wurde als Blindprobe mit geführt. In 10 Räumen wurden zeitgleich Proben für eine multizentrische Studie zur Ermittlung von Hintergrundwerten in unbelasteten Wohngebäuden genommen [26]. Die Aufarbeitung und Analyse der Raumluftproben mittels Thermodesorption und anschließender GC/MS wurde an ein externes Labor vergeben. Für die Ana

Tabelle 1

Befallsstärken von Indexwohnungen (Inspektionsergebnisse)

Kategorie	Fläche des Befalls	Anzahl der Wohnungen (n)	Davon mit Wasserschaden
Kategorie 1	<0,5 m ²	13	1
Kategorie 2	0,5–1 m ²	10	3
Kategorie 3	>1 m ²	13	5
Kategorie 4	>1 m ²	9	9
Gesamt		45	18

lyse wurde die Methode des externen Standards verwendet.

Begleituntersuchungen

Zusätzlich zu den mykologischen und chemisch-analytischen Methoden wurden in allen Räumen, in denen Probenahmen stattfanden, Begleituntersuchungen durchgeführt. Bei diesen Begleituntersuchungen handelte es sich um Bestimmungen der Luftwechselrate mit einer Tracer-gasmethode, um raumklimatische Aufzeichnungen von Temperatur und relativer Luftfeuchte über den Zeitraum der letzten 24 Stunden vor Beginn der Probenahme, um Messungen der Raumluftkonzentration von Aerosolen mit Hilfe eines 6-Kanal-Streulicht-Laser-Partikelzählers (Größenklassenbereich: >0,3 µm bis >5 µm) sowie um ein Formaldehydscreening. Bei einem Teil der Untersuchungsräume (n=40) wurden darüber hinaus VOC-Bestimmungen mittels Aktivkohleröhrchen vom Typ NIOSH und Ana-sorb 747 vorgenommen. Aus Gründen der vorgegebenen finanziellen Rahmenbedingungen konnten diese Messungen nicht in allen Räumen durchgeführt werden. Im Zuge der Außenluftprobenahmen erfolgten auch Außenklimatische Messungen über einen Zeitraum von ein bis zwei Stunden und Messungen der Außenluftkonzentration von Aerosolen. Weiterhin wurde auf meteorologische Daten Berliner Wetterstationen zurückgegriffen, um über Angaben zu den Außenluftverhältnissen der letzten 24 Stunden vor der Probenahme zu verfügen.

Indikatorgattungen und Indikator-MVOC

Für den Vergleich der mykologischen Probenahmeverfahren mit der MVOC-Me-

thode wurden jeweils die Summenwerte der Gattungen *Aspergillus* und *Penicillium* verwendet, da frühere Studien diesen beiden Gattungen eine gute Indikatorfunktion bescheinigten [33, 34, 35]. Eigene Untersuchungen haben gezeigt, dass der Summenparameter aus beiden Gattungen bei allen angewendeten mykologischen Nachweisverfahren eine hohe Fähigkeit besitzt, Index- von Vergleichswohnungen zu unterscheiden [29, 30, 31]. Diese Untersuchungen konnten damit die Ergebnisse anderer Untersuchungen bestätigen [33, 34]. Gründe für die guten prädiktiven Eigenschaften dieses Summenwertes sind in einem anderen Beitrag genannt [29].

Zum Vergleich des chemisch-analytischen Nachweisverfahrens (MVOC-Bestimmung) mit den mykologischen Methoden wurde ein Summenparameter aus 8 flüchtigen organischen Verbindungen gebildet, die als relevante Indikatorsubstanzen für eine mikrobiell bedingte Innenraumbelastung angesehen werden [24, 36, 37, 38, 39, 40, 41]. In diesen Summenparameter wurden folgende Verbindungen aufgenommen: 3-Methylfuran, Dimethyl-disulfid, 2-Pentanol, 3-Methyl-1-butanol, 1-Octen-3-ol, 2-Hexanon, 2-Heptanon und 3-Octanon.

Datenpräsentation und statistische Auswertung

Die Messwerte der einzelnen Methoden wurden in Form von Punktediagrammen (dotplots) gemäß bestehender Empfehlungen dargestellt [42]. Die Punktwolken spiegeln die Verteilung der Einzelwerte in der Gruppe der Vergleichswohnungen und in der Gruppe der Indexwohnungen wider. Bei der Gruppe der Indexwohnungen wurde zusätzlich eine Unterteilung nach

Tabelle 2

Medianwerte der Summenparameter der Gattungen *Aspergillus/Penicillium* bei Kultivierung auf Dichloran-Glycerin-Agar (DG 18) und Malzextrakt-Agar (MEA) mit ausgewählten Perzentilen für das Impaktionsverfahren (Andersen-Sammler), für die Sedimentationsmethode und für Hausstaubproben (ungesiebt) in Index- und Vergleichswohnungen sowie für den Summenwert aus 8 charakteristischen MVOC, bestimmt mit der Thermodesorptionsmethode. Ergebnisse des Gruppenvergleichs mit dem Test nach Mann-Whitney (p-Werte)

Methode	Nährmedium	Vergleichswohnungen			p-Wert	Indexwohnungen		
		n	Median	95. Perzentil		n	05. Perzentil	Median
Mykologie (<i>Aspergillus/Penicillium</i>)								
Andersen-Impaktor	KBE/m ³	DG 18	47	30	80	<0,0001	45	120
		MEA	47	20	90	<0,0001	45	110
Sedimentation	KBE/Platte und Tag	DG 18	46	1	9	<0,0001	44	10
		MEA	46	2	9	<0,0001	44	10
Hausstaub (ungesiebt)	KBE/g	DG 18	47	6.700	80.000	<0,0001	41	55.000
		MEA	47	6.700	57.000	<0,0001	41	55.000
MVOC-Bestimmung								
Thermodesorption								
Summe von 8 MVOC	µg/m ³		µg/m ³	45	2,8	7,51	<0,06	41
								0,35
								3,5

Tabelle 3

Cut-off-Werte, Klassifikationsergebnisse sowie Spezifität und Sensitivität am Cut-off-Wert mit 95%-Konfidenzintervallen (95%-KI) für die Summenparameter der Gattungen *Aspergillus/Penicillium* der mykologischen Bestimmungsmethoden auf Dichloran-Glycerin-Agar (DG 18) und Malzextrakt-Agar (MEA)

Methode	Nährmedium	Cut-off-Wert	Vergleichswohnungen		Indexwohnungen		Spezifität (95%-KI)	Sensitivität (95%-KI)				
			Falsch positiv	Richtig negativ	Falsch negativ	Richtig positiv						
Mykologie												
<i>Aspergillus/Penicillium</i>												
Impaktion	DG 18	110 KBE/m ³	1	46	1	44	0,979 (0,887–0,996)	0,977 (0,842–0,993)				
	MEA	110 KBE/m ³	1	46	3	42	0,979 (0,887–0,996)	0,933 (0,817–0,986)				
Sedimentation	DG 18	11 KBE/Platte und Tag	1	45	2	42	0,978 (0,882–0,996)	0,955 (0,845–0,994)				
	MEA	10 KBE/Platte und Tag	1	45	2	42	0,978 (0,882–0,999)	0,952 (0,838–0,994)				
Hausstaub (ungesiebt)	DG18	85.600 KBE/g	1	46	3	38	0,979 (0,887–0,996)	0,926 (0,791–0,983)				
	MEA	61.400 KBE/g	0	47	2	39	1,00 (0,924–1,0)	0,951 (0,835–0,994)				
Thermodesorption												
Summe von 8 MVOC ^a			45		41							

^a Die logistische Regression lieferte keine statistisch signifikanten Ergebnisse.

der Flächenausdehnung der Schimmelpilzbefäle vorgenommen, um die Variabilität der Messwerte in diesen Untergruppen zeigen zu können. Neben der Fläche des Schimmelbefalls als Gruppierungsmerkmal wurde eine zusätzliche Kategorie gebildet, die Indexräume mit großen Schä-

den infolge gravierender Wasserschäden umfasst.

Zur statistischen Auswertung der Ergebnisse wurde die ROC-Kurvenanalyse, wie oben beschrieben, angewendet, um die Trennfähigkeit der einzelnen Methoden (diagnostische Leistungsfähigkeit

bei der Unterscheidung von Index- und Vergleichswohnungen) über alle Sensitivitäts- und Spezifitätspaare zu ermitteln [6, 7, 8, 9]. Der Vergleich der Trennfähigkeit der angewendeten Bestimmungsverfahren erfolgte über die errechneten Flächen unter den jeweiligen ROC-Kurven

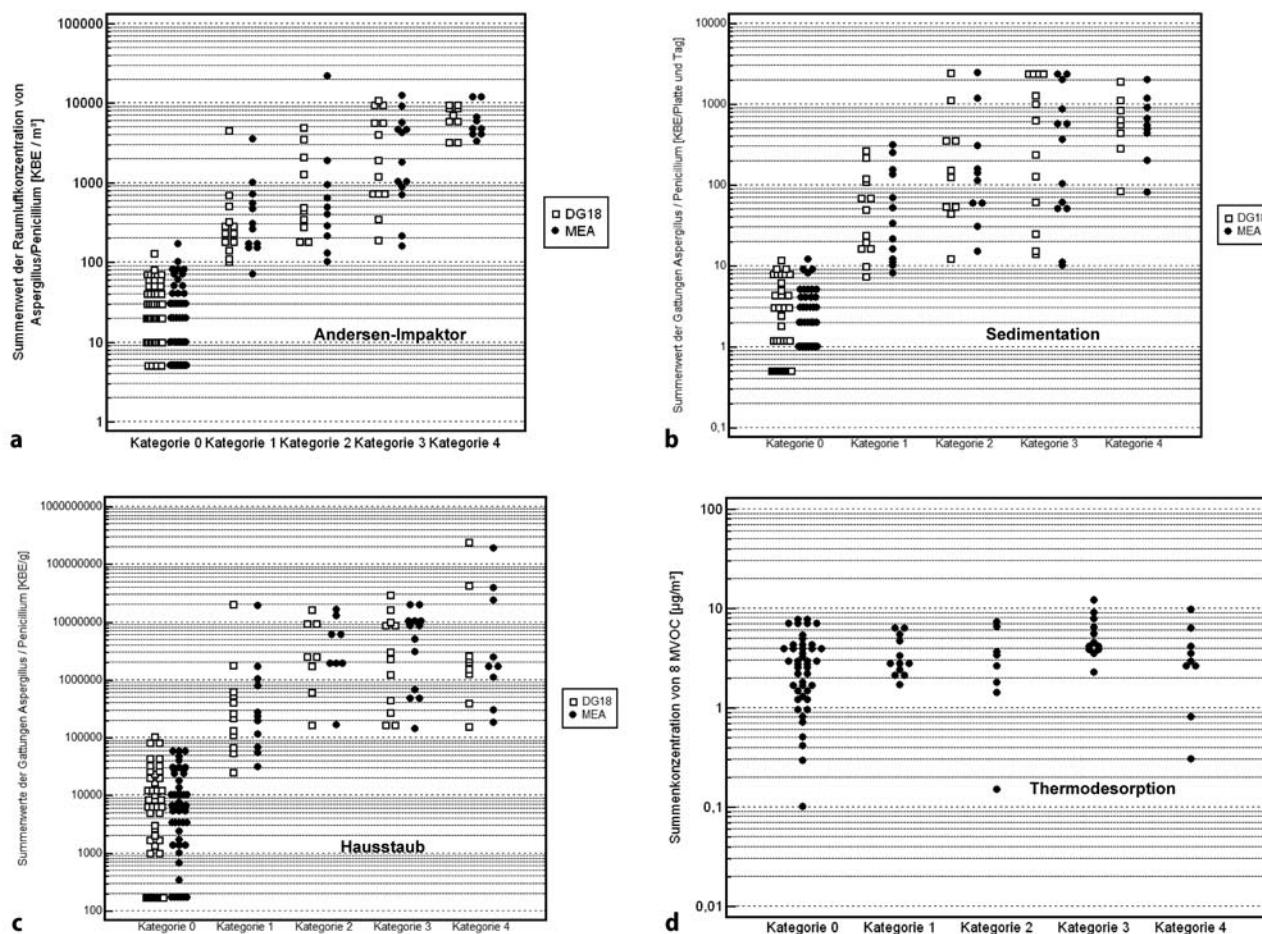


Abb. 1a–d ▲ Summenwerte der Gattungen *Aspergillus*+*Penicillium*, kultiviert auf Dichloran-Glycerin-Agar (DG 18) und Malzextrakt-Agar (MEA). Methoden: Impaktion, Sedimentation, Hausstaub sowie der Summenkonzentration von 8 MVOC, gruppiert nach Befallskategorien (Inspektionsergebnisse). Kategorie 0: Vergleichswohnungen, Kategorie 1: Fläche <0,5 m², Kategorie 2: Fläche: 0,5–1 m², Kategorie 3: Fläche >1 m², Kategorie 4: Fläche >1 m² mit starken Wasserschäden

und deren 95%-Konfidenzintervalle [43]. Alle statistischen Auswertungen wurden mit dem Programm MedCalc Vers. 7.4 durchgeführt, da sich dieses Programm als nutzerfreundlich, lauffähig und stabil unter Windows NT 4.0 erwiesen hatte. Darüber hinaus konnten bereits vorhandene SPSS-Dateien problemlos importiert werden. MedCalc wurde auf seine Eignung und Leistungsfähigkeit für ROC-Analysen hin erfolgreich evaluiert [44]. Cut-off-Werte zur Abgrenzung der Index- von Vergleichswohnungen anhand der Messwerte mykologischer Bestimmungsmethoden wurden mittels logistischer Regression (SPSS Vers. 12) bestimmt [11, 12, 45]. Diese Ergebnisse sind bereits an anderer Stelle publiziert oder zur Publikation angenommen worden [29, 30, 31].

Ergebnisse

Befallsstärken der Indexräume

Von den 45 Indexwohnungen dieser Untersuchung wiesen 13 Wohnungen Flächen mit sichtbarem Schimmelbefall bis 0,5 m² (Kategorie 1), 10 Wohnungen Flächen zwischen 0,5 und <1 m² (Kategorie 2) und 22 Wohnungen Flächen von 1 m² und größer auf (Tabelle 1). Diese Flächen-einteilung diente in erster Linie als Gruppierungsmerkmal, um die Variabilität der Messwerte in Abhängigkeit vom Ausmaß der Befälle darstellen zu können. Sie lässt keinen Schluss darauf zu, dass es sich bei diesen Befäßen um ausschließlich oberflächige Schäden handelt. Neben den Angaben zur Flächenausdehnung ist auch die Zahl der Wohnungen/Räume separat auf-

geführt, bei denen der sichtbare Schimmelbewuchs durch eindringende Feuchte aus Nachbarräumen, aus dem Baugrund oder durch Regenwasser mit hervorgerufen wurde (Tabelle 1). Als eigene Kategorie (Kategorie 4) wurden die Wohnungen (n=9) gewertet, in denen es aufgrund von Baumängeln zu erheblichen und zum Teil dauerhaften Durchfeuchtungen gekommen ist. Von diesen waren 6 Räume so stark geschädigt, dass ihre Nutzung durch Mitarbeiter der Gesundheitsämter untersagt wurde.

Summenwerte der Gattungen *Aspergillus*/*Penicillium* und von 8 MVOC in Index- und Vergleichsräumen

Medianwerte und ausgewählte Perzentilen, die die Überlappungsbereiche der Mess-

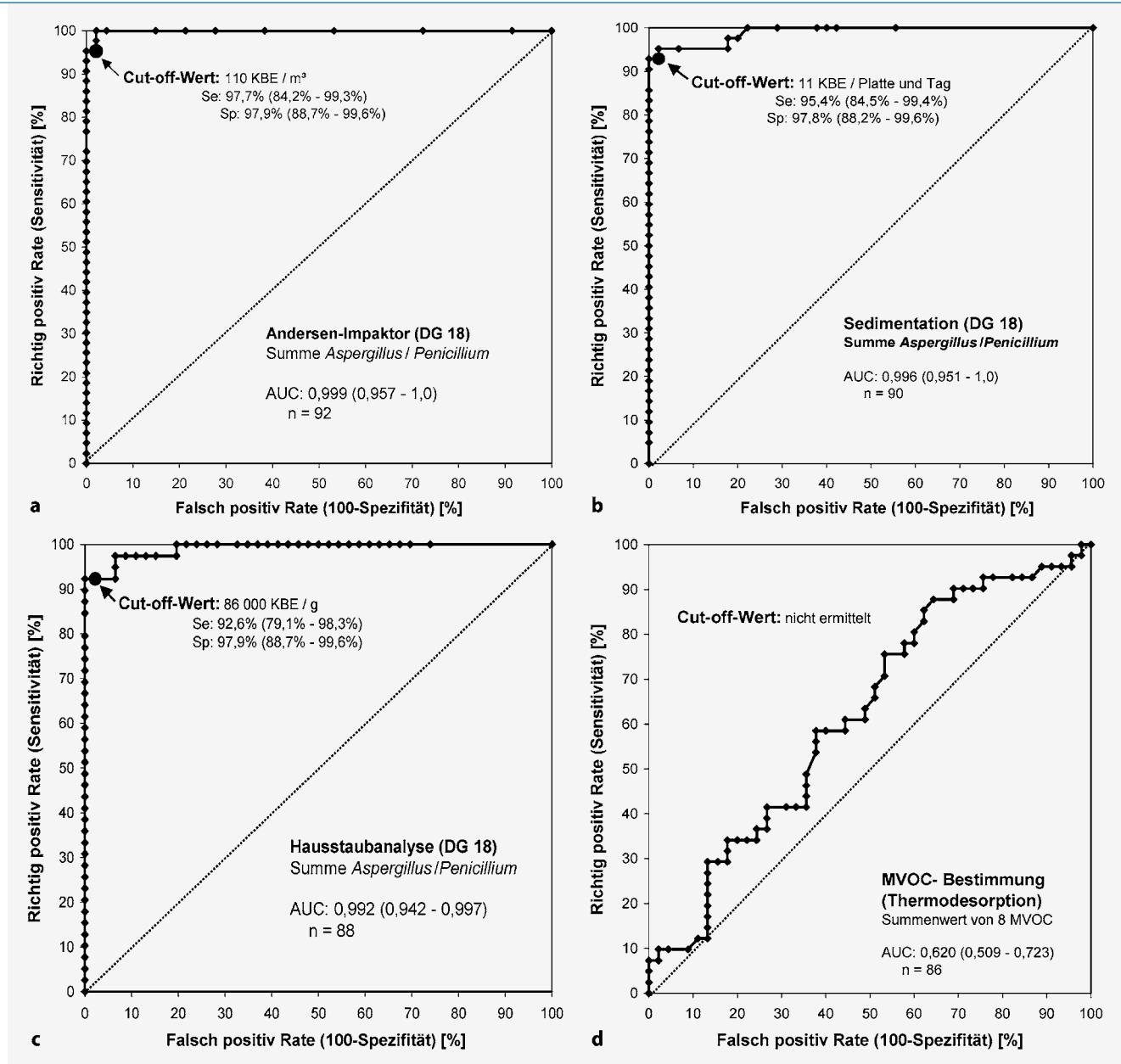


Abb. 2a-d ▲ ROC-Kurven, errechnete Flächen unter den Kurven (AUC) mit 95%-Konfidenzintervallen für die Summenwerte der Gattungen *Aspergillus*+*Penicillium* auf DG-18-Agar (Impaktion, Sedimentation und Hausstaubanalyse) sowie für den Summenwert aus 8 MVOC (Thermodesorption). Hervorgehobene Symbole: Cut-off-Werte, ermittelt mit der logistischen Regression und korrespondierende Angaben zu Sensitivität und Spezifität mit 95%-Konfidenzintervallen

werte zwischen Vergleichs- und Indexwohnungen kennzeichnen, sind für die Summenwerte aus den Gattungen *Aspergillus*/*Penicillium* für die einzelnen mykologischen Methoden und für den Summenscore aus 8 MVOC in **Abb. 2** aufgeführt. Bei allen 3 mykologischen Methoden weisen die gebildeten Summenwerte deutliche Unterschiede zwischen Index- und Vergleichswohnungen auf, die durchgängig hochsignifikant sind (Mann-Whitney-Test, $p < 0,0001$). Im Vergleich dazu sind

die Unterschiede der Gruppenmedianen des Summenwertes aus 8 MVOC aufgrund der sehr starken Streubreite der Messwerte innerhalb der Gruppen (**Abb. 1d**) nur grenzwertig signifikant ($p < 0,06$). Die Punktediagramme (**Abb. 1a-c**) zeigen bereits optisch die deutlich bessere Trennfähigkeit der mykologischen Bestimmungsmethoden im Vergleich zur MVOC-Methode (**Abb. 1d**) und ermöglichen auch eine grobe Abschätzung von Cut-off-Werten. Aus den Abbildungen können für die

Impaktionsmethode etwa 100 KBE/m³, für die Sedimentationsmethode etwa 10 KBE/Platte und Tag und für Proben aus ungesiebtem Hausstaub etwa 100.000 KBE/g als Cut-off-Werte abgelesen werden. Die mittels logistischer Regressionsrechnung ermittelten Cut-off-Werte liegen bei jeweils 110 KBE/m³ für DG-18-Agar und MEA (Impaktion), 11 KBE/Platte und Tag für DG-18-Agar bzw. 10 KBE/Platte und Tag für MEA (Sedimentation) sowie bei ca. 86.000 KBE/g (DG 18) und 62.000 KBE/g

Tabelle 4

Flächen unter den ROC-Kurven (AUC) mit den dazugehörigen 95%-Konfidenzintervallen für den mykologischen Summenparameter der Gattungen *Aspergillus+Penicillium*, kultiviert auf Dichloran-Glycerin-Agar (DG 18) und Malzextrakt-Agar (MEA). Methoden: Impaktion, Sedimentation, Hausstaub sowie für den Summenwert aus 8 typischen MVOC. Methode: Thermodesorption

Methode	Nährmedium	n ₁ /n ₀	Fläche unter der Kurve (AUC)	95%-Konfidenzintervall
<i>Mykologie</i>				
<i>Aspergillus/Penicillium</i>				
Impaktion	DG 18	45/47	0,999	0,957–1,0
	MEA	45/47	0,994	0,949–0,997
Sedimentation	DG 18	44/46	0,996	0,951–1,0
	MEA	44/46	0,996	0,951–1,0
Hausstaub	DG 18	41/47	0,992	0,942–0,997
	MEA	41/47	0,995	0,949–0,996
<i>Thermodesorption</i>				
Summe von 8 MVOC		41/45	0,602	0,509–0,723

n₁ Anzahl der Proben aus Indexwohnungen, n₀ Anzahl der Proben aus Vergleichswohnungen.

(MEA) für Proben aus ungesiebten Hausstaubproben (► Tabelle 3). Diese Werte unterscheiden sich nur unwesentlich von den rein visuell bestimmten Cut-off-Werten. Bei der Auswertung der Ergebnisse der MVOC-Methode führte die logistische Regression nicht zu einem statistisch signifikanten Cut-off-Wert.

Trennfähigkeit der untersuchten Methoden zur Unterscheidung von Index- und Vergleichswohnungen

Die Trennfähigkeit der einzelnen Methoden wurde – wie beschrieben – mit der ROC-Kurvenanalyse untersucht (► Abb. 2a–d). Die 3 mykologischen Verfahren besitzen eine hohe Fähigkeit, Index- von Vergleichswohnungen zu unterscheiden. Die Ergebnisse sind hochsignifikant ($p<0,0001$). Die Flächen unter den Kurven (AUC) liegen bei 0,999 bis 0,992 (► Tabelle 4). Im Vergleich dazu besitzt der Summenwert aus 8 MVOC eine deutlich schlechtere Trennfähigkeit. Die Fläche unter der ROC-Kurve beträgt nur 0,602 mit einem 95%-Konfidenzintervall von 0,509 bis 0,723. Die AUC ist nur grenzwertig von 0,5 verschieden ($p<0,06$).

Paarweiser Vergleich der Methoden

Die mykologischen Verfahren sind in ihrer Trennfähigkeit sehr ähnlich, wenn als Indi-

kator für einen Schimmelbefall der Summenwert aus den Gattungen *Aspergillus* und *Penicillium* verwendet wird. Die Flächen unter den ROC-Kurven unterscheiden sich kaum, was mit einer starken Überschneidung der 95%-Konfidenzintervalle einhergeht (► Tabelle 4). In diesen Summenparametern können andere Schimmel- pilzgattungen oder -arten mit aufgenommen werden, deren Indikatorfunktion für eine intramurale Belastung erwiesen ist. Typische in der Außenluft nachweisbare Schimmelpilzvertreter wie *Cladosporium*, *Alternaria* oder *Botrytis* scheinen dafür nicht geeignet zu sein, auch wenn eine Innenraumbelastung im Wesentlichen durch diese Gattungen bedingt sein sollte. In der durchgeführten Untersuchung waren jedoch erhöhte Werte von typischen Außenluftgattungen in den Indexwohnungen in nahezu allen Fällen auch mit *Aspergillus/Penicillium*-Scores verbunden, die über den Cut-off-Werten lagen. Bei Berücksichtigung der Außenluftwerte durch Differenzbildung der Summenparameter (*Aspergillus/Penicillium*) konnten praktisch gleichwertige Resultate erzielt werden. Eine Verbesserung der Klassifikationsgüte war damit jedoch nicht erreichbar [29]. Der mit dem Programm MedCalc durchgeführte paarweise Vergleich der Methoden über die jeweiligen AUC-Paare [43] führte zu dem Ergebnis, dass sich die mykologischen Methoden in ihrer Trennfähigkeit nicht sta-

tistisch signifikant unterscheiden. Der erreichte Stichprobenumfang der vorliegenden Studie war dafür zu klein, um solche geringfügigen Unterschiede als statistisch signifikant auszuweisen. Eine Schätzung der erforderlichen Fallzahlen ergab, dass etwa 1.400 Proben aus Indexwohnungen und ebenso viele Proben aus Vergleichswohnungen untersucht werden müssten, um einen Unterschied von 0,007 in den Flächen unter den Kurven (AUC) als signifikant aufzudecken, wenn die Flächen unter den ROC-Kurven der zu vergleichenden Methoden 0,992 und 0,999 betragen [Irrtumswahrscheinlichkeit, $\alpha=0,05$ bei 2-seitiger Fragestellung, Power ($1-\beta$)=0,9] [4]. Auf den statistischen Vergleich der Ergebnisse der MVOC-Methode mit den Ergebnissen der mykologischen Verfahren wurde verzichtet, da die Unterschiede hier offensichtlich sind.

Diskussion

Vergleich der ROC-Analyse mit anderen Konzepten zur Abgrenzung von Index- und Vergleichswohnungen

Die Anwendung der ROC-Analyse in dieser Studie ermöglichte einen standardisierten Vergleich der Leistungsfähigkeit von mykologischen und chemisch-analytischen Methoden zur Unterscheidung von Index- und Vergleichswohnungen in einer laborverblindeten Feldstudie unter einheitlichen Studienbedingungen. Die Auswertung der Studie und Darstellung der Ergebnisse erfolgte gemäß internationaler Empfehlungen zur Bewertung labordiagnostischer Methoden [46, 47, 48, 49].

In der Umweltmykologie häufig angewandte Verfahren waren bisher noch nicht mit diesem methodischen Ansatz in Bezug auf ihre „diagnostische“ Leistungsfähigkeit bewertet worden. Einer der Gründe dafür lag darin, dass viele Studien entweder nur an belasteten oder an unbelasteten Populationen unternommen wurden. Häufig wurden Erfahrungsbereiche oder Perzentilen zur Abgrenzung zwischen auffälligen und unauffälligen Befunden herangezogen [26, 39, 40, 50, 51, 52, 53]. Der gravierende Nachteil bei der Verwendung von Perzentilen aus „Hintergrundwerten“ zur Abgrenzung besteht

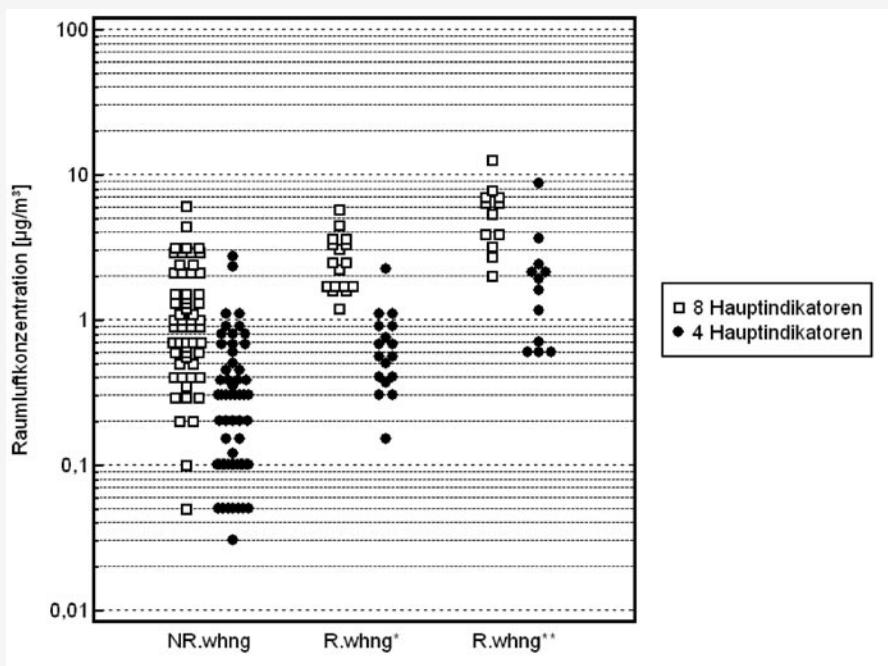


Abb. 3 **Zusammenhang zwischen dem Raucherstatus der untersuchten Wohnungen und Summenwerten von MVOC-Hauptindikatoren in der Raumluft von Untersuchungsräumen.**
NR.whng Nichtraucherwohnungen,
R.whng* Räume von Raucherhaushalten,
R.whng** Raucherwohnungen (während der Probenahme wurde in benachbarten Räumen geraucht)

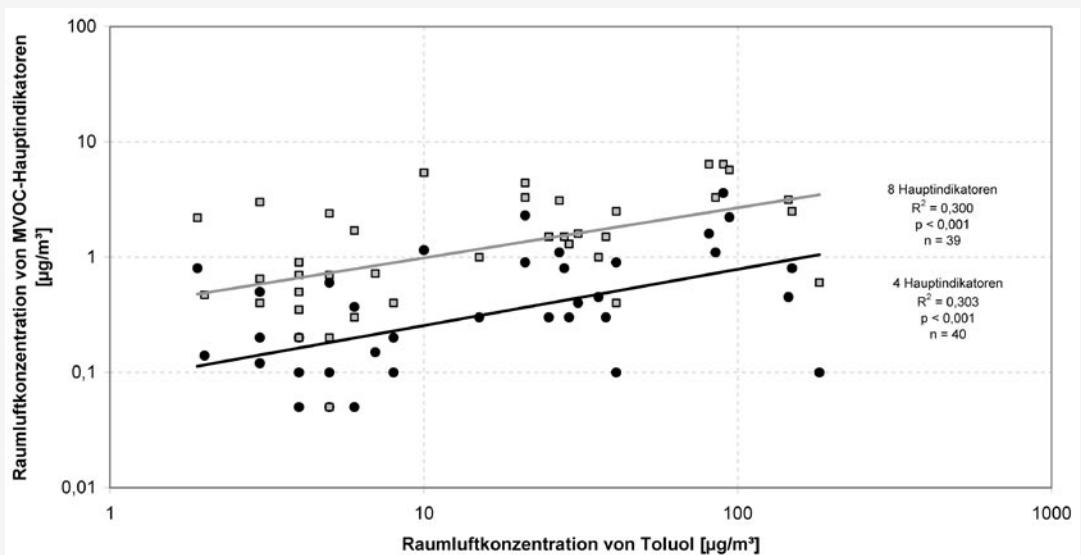


Abb. 4 **Zusammenhang zwischen der Raumluftkonzentration von Toluol in den untersuchten Räumen und der Summenkonzentration von Hauptindikatoren**

darin, dass die Sensitivität einer Bestimmungsmethode über „Hintergrundwerte“ nicht erfasst wird [12], da die Verteilung der Messwerte in der belasteten Population (Indexwohnungen) nicht bekannt ist. Werden Perzentilen aus belasteten Populationen zur Abgrenzung von „belastet“ und „unbelastet“ verwendet, können keine Aussagen zur Spezifität einer Methode getroffen werden.

Die Fähigkeit eines Tests, zwischen Vergleichs- und Indexwohnungen zu unterscheiden, hängt vom Überlappungsgrad der Messwertverteilungen beider Gruppen ab. Je größer der Überlappungsgrad, desto geringer ist seine „diagnostische“

Leistungsfähigkeit. Eine hohe analytische Variabilität des angewendeten Tests geht mit einer hohen Varianz der Messwerte einher und führt damit zu einer stärkeren Überlappung der Verteilungen. Der Überlappungsgrad der Messwertverteilungen hängt aber nicht nur von der analytischen Variabilität der Methode allein, sondern auch von externen Einflussgrößen in Form von systematischen und zufälligen Einflüssen ab, die nicht mit der Laboranalytik kontrollierbar sind (extraanalytische Variabilität) [5]. Die praktische Eignung eines Tests kann somit nicht ausschließlich aus analytischen Qualitätskenngrößen wie Präzision und Richtigkeit abgeleitet werden. Das Zusammenspiel von analytischer und extraanalytischer Variabilität muss dabei berücksichtigt werden. Bei Tests, deren analytische und extraanalytische Variabilität etwa gleich ausgeprägt sind, kann eine Verringerung der analytischen Variabilität (Verbesserung der analytischen Qualität) zu einer signifikant besseren Diskrimination der Gruppen führen [5]. Ist die analytische Variabilität im Vergleich zur extraanalytischen Variabilität jedoch bereits deutlich geringer, führt eine weitere Verkleinerung der analytisch bedingten Variationsbreite kaum noch zu einer Verbesserung der Trennfähigkeit der Methode [5].

Tabelle 5

Korrelationsstatistische Zusammenhänge zwischen ausgewählten MVOC sowie gebildeten Summenwerten verschiedener Hauptindikatoren [26] mit den Raumluftkonzentrationen von luftgetragenen Teilchen (Größenbereich <1 µm) und einigen aromatischen Kohlenwasserstoffen

MVOC	VOC-Statistik	Teilchenkonz. <1 µm	Benzol	Toluol	m/p-Xyol	Ethylbenzol	Styrol
2-Methylfuran	Korrelationskoeffizient	0,574	0,569	0,550	0,558	0,519	0,546
	p-Wert	<0,0001	<0,001	<0,001	<0,001	0,001	<0,001
	Anzahl der Messwertpaare	83	40	40	40	40	40
3-Methylfuran	Korrelationskoeffizient	0,610	0,683	0,593	0,660	0,642	0,652
	p-Wert	<0,0001	<0,0001	0,0001	<0,0001	0,0001	<0,0001
	Anzahl der Messwertpaare	83	40	40	40	40	40
Dimethyldisulfid	Korrelationskoeffizient	0,486	0,418	0,453	0,573	0,534	0,460
	p-Wert	<0,0001	<0,01	<0,01	<0,001	<0,001	<0,01
	Anzahl der Messwertpaare	83	40	40	40	40	40
4 Hauptindikatoren	Korrelationskoeffizient	0,563	0,622	0,544	0,655	0,467	0,552
	p-Wert	<0,0001	<0,0001	<0,001	<0,0001	<0,01	<0,001
	Anzahl der Messwertpaare	83	40	40	40	40	40
8 Hauptindikatoren	Korrelationskoeffizient	0,536	0,551	0,528	0,666	0,499	0,485
	p-Wert	<0,0001	<0,001	<0,001	P<0,0001	<0,01	<0,01
	Anzahl der Messwertpaare	83	39	39	39	39	39

Störeinflüsse auf die prädiktive Wertigkeit des chemisch-analytischen Nachweisverfahrens

In der vorliegenden Studie hat sich gezeigt, dass die Methode der MVOC-Bestimmung eine deutlich geringere Fähigkeit besitzt, Index- von Vergleichswohnungen anhand des Summenwertes aus 8 MVOC unter den hier gewählten Studienbedingungen zu unterscheiden. Da eine interlaborbedingte Variabilität für dieses Ergebnis nicht in Frage kommen kann, weil nur ein Labor mit der Aufarbeitung und Analyse der Proben betraut wurde, und auch der Einfluss unterschiedlicher Sammelmedien keine Rollen spielen dürfte, da für nahezu alle Raumluftproben Tenax als Sammelmedium verwendet wurde, scheint ein Grund für die geringe Leistungsfähigkeit in der hohen extraanalytischen Variabilität dieser Methode zu liegen. Die möglichen Ursachen dieser Variabilität werden nachfolgend diskutiert.

Systematische Fehlklassifikation von Wohnungen

Fehlklassifikationen können auftreten, wenn insbesondere verdeckte Schimmelpilzbefälle übersehen und damit fälschlicherweise bei den Inspektionen vor Ort als unbelastet und schimmelfrei einge-

stuft worden waren. Dies gilt vorrangig für verdeckte Schäden mit großer Biomasse und einer großvolumigen Ausdehnung, da bisher kein deutlicher Zusammenhang zwischen der Flächenausdehnung von verdeckten Befällen und der gemessenen MVOC-Belastung der Räume gefunden werden konnte [36]. Verdeckte Befälle mit einer flächenhaften Ausbreitung hinter Tapeten oder Wandverkleidungen könnten möglicherweise eher übersehen worden sein. Großvolumige Schäden hingegen, denen in der Regel eine Vorgeschichte vorausgeht, sollten den Bewohnern kaum verborgen bleiben, wenn sie bereits seit längerer Zeit solche Räume nutzen. Trotzdem ist ein solcher „differential misclassification bias“ auch in dieser Studie nicht völlig auszuschließen, obgleich dafür keine konkreten Anhaltspunkte bestanden. Darüber hinaus wurde die Auswahl der Wohnungen nach Kriterien vorgenommen, die auch bei anderen Studien die Auswahlgrundlage für unbelastete Wohnungen bildeten [26].

Räume mit verdeckten Schimmelpilzbefällen würden sowohl eine Vergrößerung der Variabilität der Messwertverteilung in der unbelasteten Gruppe (Vergleichswohnungen) als auch eine Verschiebung dieser Verteilung zu höheren Werten bewirken. Beides kann zu einer Erhöhung der

Rate falsch positiver und falsch negativer Befunde führen, da sich die Messwertverteilungen stärker überlappen.

Repräsentative Angaben zur Prävalenz von Wohnungen mit verdeckten Schimmelpilzbefällen (Anteil solcher Wohnungen am gesamten Wohnungsbestand), insbesondere für verdeckte Befälle mit großer Biomasse, liegen nicht vor, sodass auch keine Schätzungen zum Anteil dieser Wohnungen in der Studienstichprobe möglich sind. Schätzungen aus Statistiken, die auf der Auswertung von Verdachtsfällen beruhen, dürften zu hohe Prävalenzen liefern. Gegen einen gravierenden Einfluss von übersehenen verdeckten Befällen auf die Raumluftkonzentration von MVOC in der Vergleichsgruppe spricht einerseits die fehlende Abhängigkeit der MVOC-Konzentration von der Flächenausdehnung der Befälle in der Gruppe der Indexwohnungen und andererseits das Ergebnis, dass in den Wohnungen der Indexgruppe, die sowohl eine extrem hohe Schimmelbelastung als auch eine sehr starke und räumlich ausgedehnte Schädigung der Bausubstanz durch eindringende Feuchte aufwiesen, keine erhöhten MVOC-Konzentrationen gemessen werden konnten (Abb. 1d). Das Vorliegen bedeutsamer verdeckter Befälle in Wohnungen, die in dieser Hinsicht für Bewohner und fachkundige Begeher

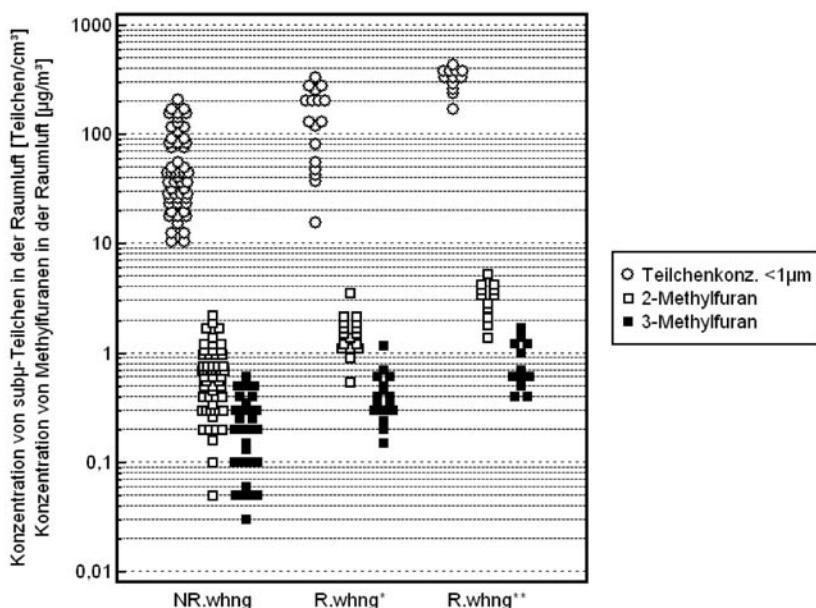


Abb. 5 ▲ Zusammenhang zwischen dem Raucherstatus der untersuchten Wohnungen und der Konzentration von Methylfuramen sowie der Konzentration von Teilchen (Größenbereich $<1\text{ }\mu\text{m}$) in der Raumluft. NR.whng Nichtraucherwohnungen, R.whng* Räume von Raucherhaushalten, R.whng** Raucherwohnungen (während der Probenahme wurde in benachbarten Räumen geraucht)

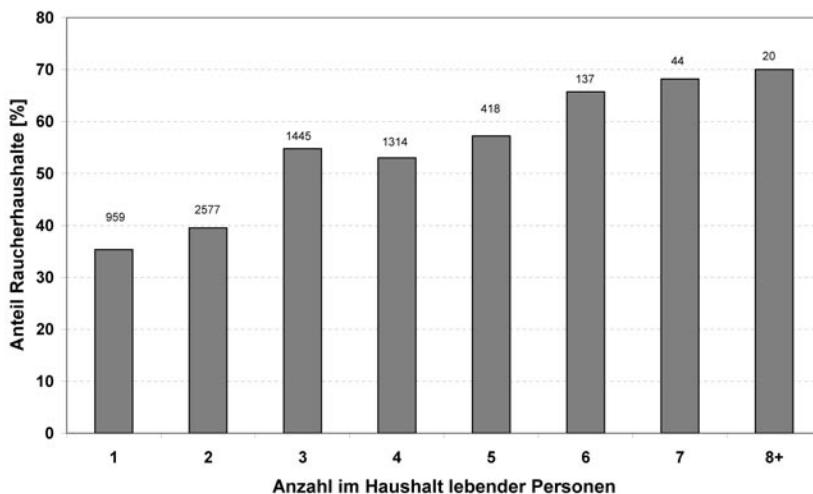


Abb. 6 ▲ Zusammenhang zwischen der Prävalenz von Raucherhaushalten und der Anzahl im Haushalt lebender Personen (Ergebnisse des Bundes-Gesundheitssurveys 1998). Die Zahlenangaben über den Säulen entsprechen der Gesamtzahl der Nennungen in der jeweiligen Gruppe

völlig unauffällig waren, ist aus Sicht der Untersucher extrem unwahrscheinlich.

Verzerrender Einfluss durch Primärquellen nichtmikrobiellen Ursprungs

Neben den systematischen Fehlklassifikationsmöglichkeiten gibt es noch eine Reihe weiterer Faktoren, die sowohl einen systematisch verzerrenden als auch einen un-

gerichteten Einfluss auf die extraanalytische Variabilität besitzen und dadurch die Leistungsfähigkeit dieser Methode beeinträchtigen. Hierzu zählen MVOC-Quellen nichtmikrobiellen Ursprungs, die bei entsprechender Quellstärke zusätzlich einen messbaren Beitrag zur Raumluftkonzentration solcher Verbindungen leisten und somit das Vorhandensein eines Schimmelbefalls vortäuschen können (Confoun-

der). Methylfurane sind nicht nur Produkte des mikrobiellen Stoffwechsels, sondern entstehen auch beim Verbrennen organischer Substanz [54]. In diesem Zusammenhang ist neben brennendem Holz oder Abbrand und Verkohlung von anderen zellulose- bzw. kohlehydrathaltigen Materialien in erster Linie Tabakrauch als Quelle zu nennen, der zur Erhöhung der Konzentrationen von Methylfuramen in der Raumluft beiträgt. Weiterführende diesbezügliche Literatur findet sich in [28]. So wurden beispielsweise bei Rauchversuchen in 40 ml Puff-Volumen zwischen 4 und 5 μg 2-Methylfuran gemessen [55]. Hauptquellen für Furane in Innenräumen stellen Holzrauche, Tabakrauch und Erhitzen von Fleischgerichten dar [56]. Die Verbindung 3-Methylfuran wurde auch im wash-out nach Smog-Episoden nachgewiesen [57]. Aus der Literatur ist weiterhin bekannt, dass auch die Verbindung Dimethyldisulfid, die neben 3-Methylfuran als eine der Hauptindikatoren für einen mikrobiellen Befall angesehen wird [26, 36, 37, 38, 39, 40, 41], ebenso Bestandteil des Tabakrauchs sein kann [58].

Der Faktor Tabakrauch als Confounder könnte sich in folgender Weise auf die prädiktiven Eigenschaften der MVOC-Methode auswirken: Bei gleicher Häufung von Raucherwohnungen und Rauchgewohnheiten der Bewohner in beiden Gruppen käme es durch den Beitrag dieser MVOC wiederum zu einer stärkeren Überlappung der Konzentrationsverteilungen und auf diese Weise zu einer Erhöhung der extraanalytischen Variabilität, was mit einer Verringerung von Sensitivität und Spezifität der Methode einhergeht. Im Fall einer ausschließlichen Häufung von Raucherwohnungen in der belasteten Gruppe (Indexwohnungen) könnte es zu einer scheinbaren Verbesserung der Diskriminationsfähigkeit der Methode kommen, da durch den Beitrag der MVOC aus dem Tabakrauch mit weniger falsch positiven Befunden zu rechnen ist. Damit würde der Eindruck einer höheren methodischen Spezifität entstehen.

Die Ergebnisse dieser Studie lieferten eine Reihe von Anhaltspunkten dafür, dass bei einigen bisher als Hauptindikatoren geltenden MVOC ein confounding bias auftritt. Zum Beispiel korrelieren die Summenscores, die entweder aus 4 Haupt-

indikatoren (3-Methylfuran, Dimethyldisulfid, 1-Octen-3-ol und 3-Octanon) oder aus 8 Hauptindikatoren (2-Methylfuran, 3-Methylfuran, Dimethylsulfid, Dimethyldisulfid, Dimethylsulfoxid, 1-Octen-3-ol, 2-Pentanol und 3-Octanon) gebildet wurden [26], deutlich mit dem Raucherstatus der Wohnung (Abb. 3), aber auch mit Toluol (Abb. 4) und einer Reihe anderer aromatischer Kohlenwasserstoffe (Tabelle 5). Der Summenscore aus 8 Hauptindikatoren ist nahezu identisch mit dem Summenscore, der an anderer Stelle vorgeschlagen wurde [26]. Die dort noch einbezogene Verbindung 2-Methylisoborneol konnte jedoch vom Analyselabor (aufgrund des fehlenden externen Standards) nicht bestimmt werden. Die Abhängigkeit dieser beiden Summenscores vom Raucherstatus ist vor allem durch den Beitrag der Methylfurane bedingt. Beide Verbindungen zeigen deutliche Zusammenhänge mit dem Raucherstatus der Wohnungen (Abb. 5). Die gleichläufige Abhängigkeit der Konzentrationen von luftgetragenen Teilchen (Größenbereich $<1 \mu\text{m}$) mit den Methylfuranwerten und dem Raucherstatus der Untersuchungsräume deutet darauf hin, dass dieser Zusammenhang nicht nur rein formaler Natur, sondern sehr wahrscheinlich kausal bedingt ist (Abb. 5). Der nicht geringe Beitrag von Tabakrauch an den Schwebstaubkonzentrationen von Innenräumen ist in zahlreichen Studien nachgewiesen worden.

Aber auch für Dimethyldisulfid wurden in dieser Studie Zusammenhänge beobachtet, aus denen sich Hinweise auf Confounding durch Tabakrauch, andere pyrolytische Vorgänge oder weitere Innenraumquellen ergeben. Zu diesen Indizien zählen wie bei den Methylfurancen die signifikante Korrelation mit den Partikelkonzentrationen (Größenbereich $<1 \mu\text{m}$), aber auch statistisch signifikante Zusammenhänge dieser Verbindung mit den Konzentrationen einiger VOC wie BTXE-Aromaten und Styrol (Tabelle 5). Diese Verbindungen stammen überwiegend aus nichtmikrobiellen Quellen und sind auch im Tabakrauch enthalten. Der Faktor Rauchen wirkt somit bei einigen MVOC als starker Confounder. Der Anteil von Raucherwohnungen im Wohnungsbestand dürfte nicht unbedeutlich sein. Nach Schätzungen aus den Daten des Bundes-Gesundheitssurveys von 1998

ist davon auszugehen, dass in nahezu 50% der Wohnungen mindestens ein Raucher zum Haushalt gehört. Dieser Anteil wächst mit der Zahl der im Haushalt lebenden Personen (Abb. 6). Der Faktor Rauchen ist bekanntlich auch mit dem Sozialstatus der Wohnungsbenutzer verbunden. In der vorliegenden Studie waren Raucherwohnungen in der Gruppe der Indexwohnungen zwar nicht signifikant überrepräsentiert, jedoch befanden sich gemäß der Angaben der Probanden, in deren Wohnungen MVOC-Bestimmungen mit Tenax-Röhrchen vorgenommen worden waren ($n=86$), unter 41 Indexwohnungen 20 Raucherwohnungen (21 Nichtraucherwohnungen). Im Vergleich dazu waren nach Probandenangaben unter den 45 Vergleichswohnungen nur 9 Raucherwohnungen (36 Nichtraucherwohnungen). Die sich daraus errechnende Odds Ratio $(20*36)/(9*21)=3,81$ hat ein 95%-Konfidenzintervall von 1,47–9,88 und ist statistisch signifikant mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p<0,01$. Somit war die Chance, dass Indexwohnungen auch Raucherwohnungen waren, im Vergleich zu Wohnungen ohne Schimmelbefall in dieser Studie etwa um den Faktor 4 höher. Dieses Ergebnis könnte darauf hinweisen, dass Schimmelbefall häufiger in Wohnungen auftritt, die ein geringeres Mietniveau besitzen und damit auch oft einen schlechteren Bauzustand aufweisen bzw. deren Bewohner zur Bevölkerungsgruppe mit einem eher niedrigeren Sozialstatus zählen. Auch Ergebnisse einer kürzlich veröffentlichten Studie zum Vorkommen, zu den Ursachen und zu den gesundheitlichen Aspekten von Feuchteschäden in Wohnungen weisen in diese Richtung [59]. In dieser Studie wiesen Mietwohnungen im Vergleich zu Eigentumswohnungen signifikant häufiger Feuchteschäden und Schimmelpilzbefall auf. Als protektiv für das Auftreten von Feuchteproblemen und Schimmel erwiesen sich die sozioökonomischen Variablen Zimmer-Kopf-Index (Anzahl Zimmer/Anzahl der Bewohner) und die Ausstattung der Wohnungsfenster in allen Räumen mit umlaufenden Dichtprofilen als Merkmal eines modernen Bauzustandes sowie das Vorhandensein von Abluftanlagen mit nutzerunabhängigem Betrieb und von Schachtlüftung [59].

Auch die als sehr spezifisch für einen mikrobiellen Befall angesehene Ver-

bindung Dimethylsulfid muss nicht ausschließlich aus intramuralen mikrobiellen Quellen stammen, wenn sie in der Innenraumluft nachgewiesen wird. Untersuchungen der Atemluft von Probanden haben zu dem Ergebnis geführt, dass diese Verbindung natürlicher Bestandteil der Atemluft ist und durch die bakterielle Flora des Zungengrundes gebildet wird. Bei gesunden Personen wurden Konzentrationen von 15–20 ng/l in der Exhalationsluft gemessen. Eine Zusammenstellung der diesbezüglichen Literatur findet sich bei [28].

Einflüsse durch weitere Konzentrationsmodifikatoren

Der Einfluss der Luftwechselrate. Ein weiterer Faktor, der einen Einfluss auf die Konzentration von MVOC in der Raumluft hat, ist die natürliche Luftdichtigkeit der Räume. MVOC-Bestimmungen werden meist nach mehrstündigem Verschluss der Räume durchgeführt. Da es sich bei den MVOC um flüchtige Verbindungen handelt, wird die Höhe der sich in dieser Zeit einstellenden Konzentration nicht nur von der vorhandenen Quellstärke, sondern auch von der Luftwechselrate beeinflusst. Der Einfluss der Luftwechselrate auf die Raumluftkonzentration konnte für eine Reihe von MVOC bestätigt werden [28]. Der Summenwert aus 8 MVOC ist ebenfalls vom Luftwechsel abhängig (Abb. 7). Unter den Bedingungen eines niedrigen natürlichen Luftwechsels (hohe Luftdichtigkeit der Räume) werden sich – bei sonst gleichen räumlichen Gegebenheiten und Probenahmebedingungen – höhere Konzentrationen eingestellt haben als im umgekehrten Fall (Räume mit hohem Luftwechsel). Diese Beziehung wirkt sich auf die Diskriminationsfähigkeit der chemisch-analytischen Methode aus.

Eine scheinbare Verbesserung der Trennfähigkeit der Methode würde sich ergeben, wenn Räume mit Schimmelbefall niedrige Luftwechselzahlen aufweisen, da dann mit höheren MVOC-Konzentrationen zu rechnen ist. Dieser Effekt ist aber nicht nur auf die mikrobielle Quelle, sondern auch auf die höhere Luftdichtigkeit der Räume zurückzuführen. Sind die Luftwechselzahlen in den schimmelfreien Wohnungen niedriger, verringert sich

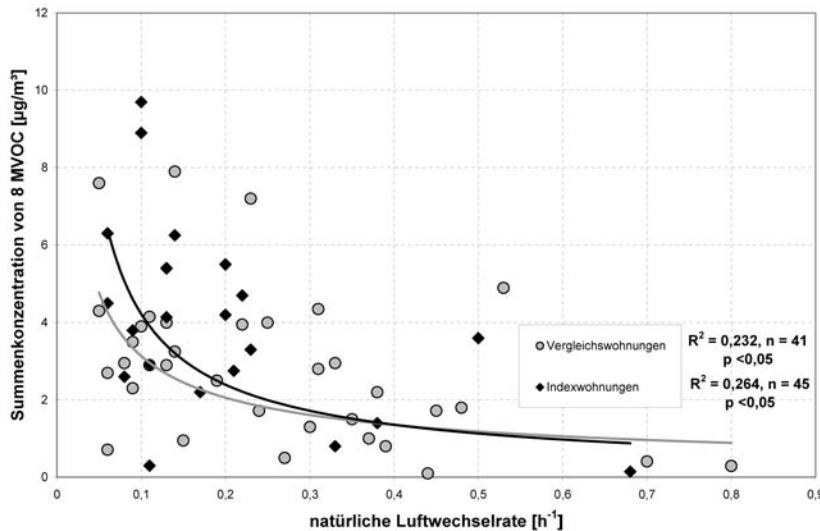


Abb. 7 ▲ Zusammenhang zwischen natürlicher Luftwechselrate (h^{-1}) und der Summenkonzentration von 8 MVOC ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) in Index- und Vergleichswohnungen

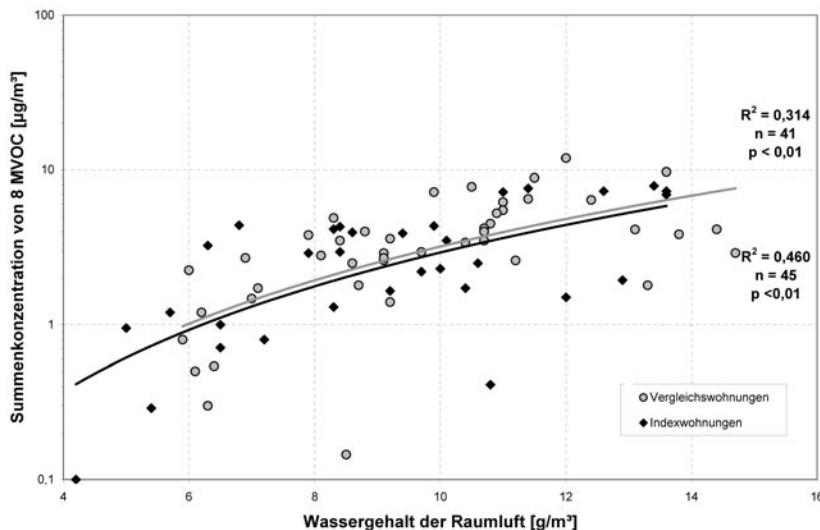


Abb. 8 ▲ Zusammenhang zwischen dem Wassergehalt der Raumluft (g/m^3) (24-Stunden-Durchschnittswert) und der Summenkonzentration von 8 MVOC ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) in Index- und Vergleichswohnungen

die Trennfähigkeit, da es zu einer stärkeren Überlappung der Messwertverteilungen kommt. Unterscheiden sich die Häufigkeitsverteilungen der gemessenen Luftwechselraten in beiden Untersuchungsgruppen nicht, kommt es zu einer Verbreiterung der Konzentrationsverteilungen der MVOC und damit zu einer Erhöhung der extraanalytischen Variabilität. Dies ist darauf zurückzuführen, dass Räume mit hohem und niedrigem Luftwechsel in beiden Gruppen gleich häufig vertreten sind. Die Trennfähigkeit der Methode verringert sich. In der vorliegenden Studie waren

keine statistisch signifikanten Unterschiede bezüglich der gemessenen Luftwechselraten zwischen beiden Untersuchungsgruppen (Index- und Vergleichswohnungen) nachweisbar. In 46 Vergleichswohnungen, in denen Luftwechselzahlen ermittelt wurden, lag der Medianwert für die Luftwechselrate bei $0,18 \text{ h}^{-1}$ (geometrischer Mittelwert $0,17 \text{ h}^{-1}$ und arithmetischer Mittelwert $0,24 \text{ h}^{-1}$). Die Spannweite der Luftwechselzahlen reichte von $0,05 \text{ h}^{-1}$ – $0,8 \text{ h}^{-1}$. In 45 Indexwohnungen lag der Medianwert bei $0,17 \text{ h}^{-1}$ (geometrischer Mittelwert $0,18 \text{ h}^{-1}$ und arithme-

tischer Mittelwert $0,22 \text{ h}^{-1}$). Die Spannweite der Luftwechselzahlen erstreckte sich in dieser Gruppe über $0,05 \text{ h}^{-1}$ – $0,7 \text{ h}^{-1}$. Über gleiche Ergebnisse wurde in einer kürzlich publizierten Studie berichtet [60]. In dieser Untersuchung, in die 80 Gebäude einbezogen waren, betrug der Median der gemessenen Luftwechselraten $0,18 \text{ h}^{-1}$ und der arithmetische Mittelwert $0,26 \text{ h}^{-1}$.

Die Abhängigkeit der MVOC-Konzentration von der Luftwechselzahl der Räume kann zu einem non differential misclassification bias (Fehlklassifikation durch zufallsbedingte Verzerrung) in beiden Gruppen führen.

Der Einfluss der Raumluftfeuchte. Konzentrationen einzelner MVOC sind nicht nur vom Luftwechsel der Räume abhängig, sondern auch mit dem Wassergehalt der Raumluft assoziiert [28]. Da eine erhöhte Raumluftfeuchte das Auftreten von Schimmelpilzwachstum fördert, könnte eine positive Assoziation zwischen der MVOC-Konzentration und der Raumluftfeuchte als Indiz für eine mikrobielle Herkunft dieser Verbindungen angesehen werden. In der vorliegenden Studie bestanden zwar statistisch signifikante, wenn auch geringe Unterschiede zwischen Index- und Vergleichswohnungen bezüglich des durchschnittlichen Wassergehaltes der Raumluft [Mann-Whitney-Test ($p < 0,05$)], jedoch waren diese Differenzen nur gering. In den Indexwohnungen ($n=45$) betrug der arithmetische Mittelwert $10 \text{ g}/\text{m}^3$ (Median $9,9 \text{ g}/\text{m}^3$). In den Vergleichswohnungen ($n=47$) lag der arithmetische Mittelwert bei $8,8 \text{ g}/\text{m}^3$ (Median $8,7 \text{ g}/\text{m}^3$). Die Differenz zwischen beiden Mittelwerten bzw. Medianen betrug nur $1 \text{ g}/\text{m}^3$. Die Spannweite der absoluten Raumluftfeuchte schwankte in den Indexwohnungen jedoch zwischen 6 und $15 \text{ g}/\text{m}^3$ und in den Vergleichswohnungen zwischen 4 und $15 \text{ g}/\text{m}^3$. Sie war damit deutlich größer als die Feuchtedifferenz zwischen beiden Gruppen. Der Einfluss der Raumluftfeuchte spiegelte sich in den MVOC-Summenwerten der beiden Gruppen wider (Abb. 8). Dieser Zusammenhang ist statistisch signifikant. Die Raumluftfeuchte scheint somit in gleicher Weise im Sinne eines non differential misclassification bias zu wirken, wie die Luftwechselrate.

Die große Variabilität der Raumluftfeuchte in Index- und Vergleichswohnungen ist im starken Maße vom Einfluss der Außenluftfeuchte abhängig (Abb. 9). Die Außenluftfeuchte zeigt einen starken Jahresgang. Höhere absolute Luftfeuchten werden in der wärmeren Jahreszeit und niedrigere Werte in der kälteren Jahreszeit beobachtet [61]. Bei gleicher Außenluftfeuchte können in den Indexwohnungen tendenziell höhere Raumluftfeuchten gemessen werden als in Vergleichswohnungen (Abb. 8). Der Differenzbetrag von absoluter Raumluftfeuchte und Außenluftfeuchte ist ein Parameter, der Indexwohnungen von Vergleichswohnungen offenbar deutlicher unterscheidet als der Summenwert aus 8 MVOC.

In dieser Studie hat sich gezeigt, dass einige MVOC, die bisher zu den Hauptindikatoren gezählt werden und als sehr quellenspezifisch gelten, offenbar auch aus Innenraumquellen stammen, die nicht mit mikrobiellen Schäden in Verbindung gebracht werden können. Diese geringe Quellenspezifität und die Abhängigkeit von raumklimatischen Faktoren führen zu einer so starken Erhöhung der Variabilität dieser MVOC-Konzentrationen in Innenräumen, dass ein Auffinden von verdeckten mikrobiellen Schäden in einer Vielzahl von Fällen erheblich erschwert sein dürfte. Ein Ausweg aus dieser Situation könnte in der Suche nach quellenspezifischeren Verbindungen bestehen, die den hier beschriebenen Einflüssen nicht unterliegen.

Faktoren, die einen Einfluss auf die prädiktive Wertigkeit der mykologischen Nachweisverfahren ausüben

Für die mykologischen Bestimmungsmethoden sollen mögliche Fehlerquellen ebenfalls angesprochen werden. Diese werden im Folgenden dargestellt.

Einfluss durch andere mikrobielle Quellen

Aufgrund des in der vorliegenden Studie gefundenen geringen Anteils falsch positiver Resultate waren keine Einflussfaktoren (wie z. B. Haustierhaltung, hoher Besatz mit Grünpflanzen oder unzureichende Wohnungshygiene) erkennbar,

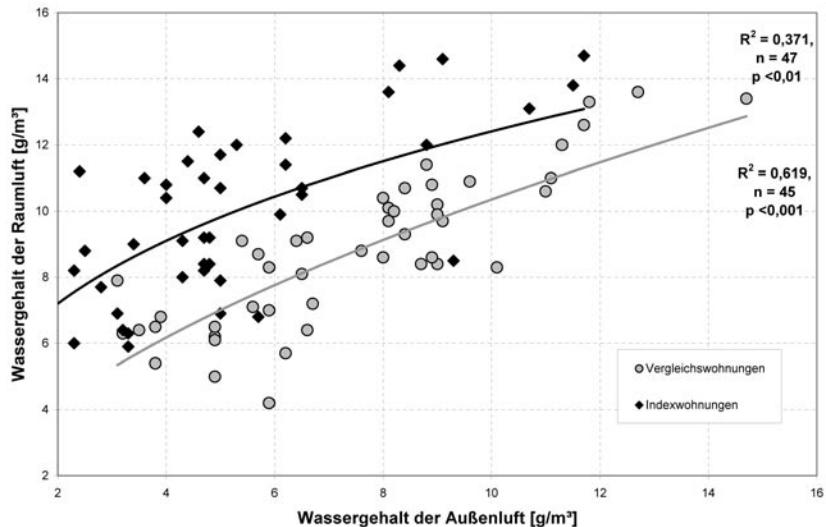


Abb. 9 ▲ Zusammenhang zwischen dem Wassergehalt der Außenluft (g/m^3) (24-Stunden-Durchschnittswerte meteorologischer Daten) und dem Wassergehalt der Raumluft (g/m^3) (24-Stunden-Durchschnitt von Messwerten) bei Index- und Vergleichswohnungen

die die Spezifität der hier verwendeten mykologischen Methoden ungünstig beeinflussten. Damit scheint ein Confounding durch den Beitrag anderer Schimmelpilzquellen keinen schwerwiegenden Einfluss auf die Klassifizierungsgüte zu haben. Jedoch sollte dabei bedacht werden, dass die Anzahl der Vergleichswohnungen zu klein war, um bereits aus diesem Ergebnis verallgemeinerungsfähige Schlussfolgerungen zu ziehen. Auf die gute Trennfähigkeit des Summenparameters *Aspergillus/Penicillium* für die Hausstaubmethode [33] und für die Impaktionsmethode wurde bereits von anderen Untersuchern hingewiesen [34]. *Aspergillus* und *Penicillium* waren die beiden Gattungen, die in der Raumluft stark belasteter Räume dominierten. Diese Studie wurde in 156 durch starke Regenfälle massiv geschädigten Räumen und in 38 intakten Büroräumen der US-amerikanischen EPA durchgeführt [34]. In den Raumluftproben (DG-18-Agar) der Räume mit Wasserschäden lag der Durchschnittswert des von den Untersuchern gebildeten Summenparameters *Aspergillus/Penicillium* ohne Berücksichtigung der Außenluftwerte bei $565 \text{ KBE}/\text{m}^3$, in den Proben aus den intakten Räumen lag er bei $91 \text{ KBE}/\text{m}^3$. Genau umgekehrte Verhältnisse ergaben sich für den Summenwert typischer Außenluftgattungen (*Cladosporium+Alternaria+Epicoccum*):

$92 \text{ KBE}/\text{m}^3$ vs. $532 \text{ KBE}/\text{m}^3$. Parallel dazu durchgeführte Probenahmen auf Zellulose-Agar führten zu gleichen Ergebnissen [34]. Mit diesem für zellulosezersetzende Schimmelpilze sensiblen Nährmedium, wurde in den geschädigten Räumen eine durchschnittliche Raumluftkonzentration von $0,5 \text{ KBE}/\text{m}^3$ für die Gattung *Stachybotrys* ermittelt. In den intakten Räumen konnte *Stachybotrys* in Raumluftproben nicht nachgewiesen werden.

Selektionseinflüsse: spectrum-bias oder Spektrumeffekt

Wahrscheinlicher ist das Auftreten eines spectrum-bias oder Spektrumeffekts. Dieser tritt auf, wenn Studienpopulationen zu stark selektiert werden, um Effekte deutlicher herauszustellen [62, 63]. Die Untersuchungsgruppen werden so gewählt, dass die Unterschiede zwischen den Gruppen besonders groß ausfallen müssen. Unter solchen Studienbedingungen werden zu hohe Testsensitivitäten und Testspezifitäten erzielt, die in der Praxis nicht erreicht werden. Die Auswahl der schimmelfreien Wohnungen anhand konservativer Kriterien, die verhindern sollten, dass verdeckte Schimmelpilzbefäle mit in die Referenzgruppe aufgenommen werden, könnte zu einem spectrum-bias geführt haben, da dann hygienisch saubere Wohnungen in der Vergleichsgruppe überrepräsentiert sein können. Einen Hinweis darauf gibt

der relativ geringe Raucheranteil in dieser Gruppe. In der Gruppe der Indexwohnungen könnte ein solcher Bias durch Untererfassung von Wohnungen mit kleinflächigen Befäden entstehen, da der Anteil solcher Befäden unter den Indexwohnungen überwiegen dürfte. Bei Schimmelpilzbefäden mit kleiner Flächenausdehnung kommt es zu einer geringeren Belastung von Raumluft und Hausstaub durch Schimmelpilzsporen (Abb. 1a-c) und damit zu einer stärkeren Überlappung mit der Gruppe der Vergleichswohnungen.

Zusätzliche Fehlermöglichkeiten bei beiden Nachweisverfahren: test-interpretation bias oder review bias

Die Bewertung einer Methode anhand von Statistiken aus Schadensfällen kann zur Fehleinschätzung ihrer Leistungsfähigkeit führen (test-interpretation bias), da der Anteil falsch positiver Fälle nicht ermittelt werden kann [19]. Mit einem test-interpretation bias ist auch in nicht verblindeten Studien zu rechnen, da die Gefahr besteht, dass (unbewusst) die Ergebnisse des zu evaluierenden Tests dazu benutzt werden, die Ergebnisse des unabhängigen Referenzstandards zu korrigieren oder die Ergebnisse des Tests dem Ergebnis des Referenzstandards, z. B. durch Aussondern scheinbar unplausibler Werte, angeglichen werden [64, 65]. Ein solcher Bias kann zustande kommen, wenn eine hohe/niedrige MVOC- oder Pilzsporenkonzentration im Untersuchungsraum als Beweis für einen vorhandenen/fehlenden Schimmelschaden angesehen wird, der aber durch den unabhängigen Referenzstandard nicht bestätigt wurde. Der durch den Referenzstandard definierte Schimmelstatus wird dann durch das Ergebnis der Methode revidiert. Dies führt zu einer Überschätzung von Sensitivität und Spezifität der zu evaluierenden Methode, da ein Abgleich zwischen Testergebnis und Referenzstandard erfolgte. In der hier durchgeföhrten Studie wurde der Schimmelstatus der untersuchten Wohnungen im Ergebnis der Inspektionen vor Ort vorab festgelegt und nach dem Vorliegen der Laborergebnisse nicht geändert, sodass ein test-interpretation bias ausgeschlossen sein dürfte.

Schlussfolgerungen

Unter den gewählten Studienbedingungen wiesen die traditionellen mykologischen Verfahren eine hohe Trennfähigkeit auf, Indexwohnungen von Vergleichswohnungen zu unterscheiden. Im Vergleich dazu konnte das chemisch-analytische Verfahren diese Trennfähigkeit nicht erreichen. Die Ergebnisse dieser Studie wurden an einer vergleichsweise kleinen Stichprobe erzielt und sollten durch unabhängige und größere Studien überprüft werden. Dabei sind folgende Gesichtspunkte zu berücksichtigen:

- **Studien sollten so angelegt sein, dass sowohl die Sensitivität als auch die Spezifität der zu prüfenden Methode bestimmt werden können,**
- **Studien sind als Blindstudie in Bezug auf einen unabhängigen Referenzstandard durchzuführen,**
- **Studien sollten mögliche Störeinflüsse aufdecken,**
- **die Ergebnisse der geprüften Methoden sollten mit den Ergebnissen des unabhängigen Referenzstandards verglichen werden,**
- **die Leistungsfähigkeit der Methode sollte über ihren gesamten Sensitivitäts- und Spezifitätsbereich (z. B. anhand ihrer ROC-Kurve) validiert werden.**

Korrespondierender Autor

D. Laußmann

Abteilung Epidemiologie und Gesundheitsberichterstattung/Bereich Umweltmedizin, Robert Koch-Institut, Nordufer 20, 13353 Berlin
E-Mail: LaußmannD@rki.de

Danksagung

Allen Berliner Gesundheitsämtern wird für die hervorragende Unterstützung bei der Vermittlung von Wohnungen mit Schimmelpilzbefäden gedankt. Ebenso gilt unser Dank Frau Nickelmann für die ausgezeichnete Leistung im mykologischen Labor und den Herren Dipl.-Ing. Menzel und Samwer für ihre große Hilfe bei den Messungen vor Ort.

Literatur

1. Swets JA (1988) Measuring the accuracy of diagnostic systems. *Science* 240:1285–1293
2. Metz CE (1978) Basic principles of ROC analysis. *Semin Nucl Med* 8:283–289
3. Metz CE (1986) ROC methodology in radiologic imaging. *Invest Radiol* 21:720–733
4. Hanley JA, McNeil BJ (1982) The meaning and the use of the area under the receiver operating characteristic curves. *Radiology* 143:29–36
5. Robertson EA, Zweig MH (1981) Use of receiver operating characteristic curves to evaluate the clinical performance of analytical systems. *Clin Chem* 27:1569–1574
6. Robertson AE, Zweig MH, van Steirteghem AC (1983) Evaluating the clinical efficacy of laboratory tests. *Am J Clin Pathol* 79:78–86
7. Beck JR, Shultz EK (1986) The use of relative operating characteristic (ROC) curves in test performance evaluation. *Arch Pathol Lab Med* 110:13–20
8. Zweig MH (1988) Evaluation of the clinical accuracy of laboratory tests. *Arch Pathol Lab Med* 112:383–386
9. Zweig MH, Campbell G (1993) Receiver-operating characteristic (ROC) plots – a fundamental tool in clinical medicine. *Clin Chem* 39:561–577
10. Henderson AR (1993) Assessing test accuracy and its clinical consequences – a primer for receiver operating characteristic curve analysis. *Ann Clin Biochem* 30:521–539
11. Erdreich LS, Lee ET (1981) Use of relative operating characteristic analysis in epidemiology. A method for dealing with subjective judgement. *Am J Epidemiol* 114:649–662
12. Greiner M, Pfeiffer D, Smith RD (2000) Principles and practical application of the receiver-operating characteristic analysis for diagnostic tests. *Prev Vet Med* 45:23–41
13. Greiner M, Gardner IA (2000) Application of diagnostic tests in veterinary epidemiologic studies. *Prev Vet Med* 45:43–59
14. Richter K, Lange S (1997) Methoden der Diagnoseevaluierung. *Internist* 38:325–336
15. Trenti T (2003) Evidence-based laboratory medicine as a tool for continuous professional improvement. *Clin Chim Acta* 333:155–167
16. Kauhanen E, Harri M, Nevalainen A, Nevalainen T (2002) Validity of detection of microbial growth in buildings by trained dogs. *Environ Int* 28:153–157
17. Schlesselmann JJ (1982) Case-control studies. Design, conduct, analysis. Oxford University Press, New York Oxford
18. Kramer MS (1988) Clinical epidemiology and biostatistics. A primer for clinical investigators and decision-makers. Springer, Berlin Heidelberg New York Tokyo
19. Wilkins K (2002) Microbial VOC (MVOC) in buildings, their properties and potential use. *Proc 9th International Conference on Indoor Air Quality and Climate 2002, Monterey California, June 30–July 5, 1:431–436*
20. Pasanen AL (2001) A review: fungal exposure assessment in indoor environments. *Indoor Air* 11:87–98
21. Griner PF, Mayewski RJ, Alvin I et al. (1981) Selection and interpretation of diagnostic tests and procedures. Principles and applications. *Ann Intern Med* 194:553–600

22. NCCLS (1995) National Committee for Clinical Laboratory Standards: Assessment of the clinical accuracy of laboratory tests using receiver operator characteristics (ROC) plots; approved guideline. NCCLS Document GP 10-A, NCCLS, Wayne Pennsylvania 19087
23. Beyer A, Braun P, Fromme H et al. (1997) Fragebogen zur Wohnraumbegehung (Begehungsprotokoll). In: Ärztekammer und Kassenärztliche Vereinigung Berlin (Hrsg) Qualitätssicherung in der Umweltmedizin. Standards zur Wohnraumbegehung, zum Biomonitoring und zu Innenraumuntersuchungen. S 12–32
24. Dewey S, Sagunski H, Palmgren U et al. (1995) Mikrobielle flüchtige organische Verbindungen in der Raumluft: Ein neuer diagnostischer Ansatz bei feuchten und verschimmelten Wohnräumen? *Zbl Hyg* 197:504–515
25. Elke K, Bergerow J, Oppermann H et al. (1999) Determination of selected microbial volatile organic compounds by diffusive sampling and dual-column capillary GC-FID – a new feasible approach for detection of an exposure to indoor mould fungi? *J Environ Monit* 1:445–452
26. Keller R, Reinhard-Benitez S, Döringer K et al. (2004) Hintergrundwerte von flüchtigen Schimmelpilzmetaboliten in unbelasteten Wohngebäuden. *Gefahrst Reinhaltung Luft* 64:187–190
27. Samwer H (2001) Untersuchung und Vergleich von chemisch-analytischen und mikrobiologischen Indikatoren für einen Schimmelpilzbefall in Privathaushalten. Diplomarbeit, Technische Universität Berlin, Fakultät III: Prozesswissenschaften
28. Schleibinger H, Laußmann D, Samwer H et al. (2004) Sind MVOC geeignete Indikatoren für einen verdeckten Schimmelpilzbefall? *Umweltmed Forsch Prax* 9:151–162
29. Schleibinger H, Laußmann D, Samwer H et al. (2004) Unterscheidung von Schimmel- und Nichtschimmelwohnungen anhand luftgetragener Sporen. Ergebnisse einer Feldstudie im Großraum Berlin. *Umweltmed Forsch Prax* 9:251–262
30. Schleibinger H, Laußmann D, Eis D et al. (2004) Unterscheidung von Schimmel- und Nichtschimmelwohnungen anhand sedimentierender Sporen. Ergebnisse einer Feldstudie im Großraum Berlin. *Umweltmed Forsch Prax* (im Druck)
31. Schleibinger H, Laußmann D, Eis D et al. (2004) Unterscheidung von Schimmel- und Nichtschimmelwohnungen anhand der Konzentrationen von Schimmelpilzen aus Hausstaubproben. Ergebnisse einer Feldstudie im Großraum Berlin. *Umweltmed Forsch Prax* (akzeptierter Beitrag)
32. Hocking AD, Pitt JI (1980) Dichloran-glycerol medium for enumeration of xerophilic fungi from low moisture foods. *Appl Environ Microbiol* 39:488–492
33. Dales RE, Miller D, McMullen E (1997) Indoor air quality and health: validity and determinants of reported home dampness and moulds. *Int J Epidemiol* 26:120–125
34. Morey PR, Hull MC, Andrew M (2003) El Niño water leaks identify rooms with concealed mould growth and degraded indoor air quality. *Intern Biodegrad* 52:197–202
35. Baudisch C, Sadek H, Stenglin M v (2001) Erste Ergebnisse eines modifizierten Hausstaubmessverfahrens zur quantitativen und qualitativen Bewertung von Schimmelpilzen. *Umweltmed Forsch Prax* 6:365–274
36. Lorenz W (2001) MVOC-Bestimmung zur Erkennung mikrobieller Schäden in Gebäuden. In: Moriske HJ, Turowski E (Hrsg) Handbuch für Bioklima und Lufthygiene, III-4.4.5. ecomed, Landsberg
37. Wessén B, Schoeps KO (1996) Microbial volatile organic compounds – what substances can be found in sick buildings? *Analyst* 121:1203–1205
38. Wessén B, Schoeps KO (2000) Location of emitting sources in buildings with IAQ problems. Proc 6th International Conference on Healthy Buildings, Healthy Buildings 2000, Helsinki August 6–10, Espoo, Finland, 1:591–596
39. LGA-BW (2001) Schimmelpilze in Innenräumen – Nachweis, Bewertung, Qualitätsmanagement. Abgestimmtes Arbeitsergebnis des Arbeitskreises „Qualitätssicherung, Schimmelpilze in Innenräumen“ am Landesgesundheitsamt Baden-Württemberg. Eigenverlag, Stuttgart
40. UBA (2002) Innenraumlufthygienekommission des Umweltbundesamtes (Hrsg) Leitfaden zur Vorbeugung, Untersuchung, Bewertung und Sanierung von Schimmelpilzwachstum in Innenräumen (Schimmelpilzleitfaden). Umweltbundesamt, Berlin
41. Lorenz W, Diederich T, Conrad M (2002) Practical experiences with MVOC as an indicator for microbial growth. Proc 9th International Conference on Indoor Air Quality and Climate 2002, Monterey California, June 30–July 5, 4:341–346
42. Krieg AF, Beck JR, Bongiovanni MB (1988) The dot plot: a starting point for evaluating test performance. *JAMA* 260:3309–3312
43. Hanley JA, McNeil BJ (1983) A method of comparing the areas under receiver operating characteristic curves derived from the same cases. *Radiology* 148:839–843
44. Stephan C, Wesseling S, Schink T et al. (2003) Comparison of eight computer programs for receiver-operating characteristic analysis. *Clin Chem* 49:433–439
45. Linnet K (1988) A review on the methodology for assessing diagnostic tests. *Clin Chem* 34:1379–1386
46. Henderson AR, Bhayana V (1995) A modest proposal for the consistent presentation of ROC plots in clinical chemistry. *Clin Chem* 41:1205–1206
47. Sasse EA (2002) Objective evaluation of data in screening for disease. *Clin Chim Acta* 315:17–30
48. Bossuyt PM, Reitsma JB, Bruns DE et al. (2003) Towards complete and accurate reporting of studies of diagnostic accuracy: the STARD initiative. *Clin Biochem* 36:2–7
49. Oosterhuis WP, Bruns DE, Watine J et al. (2004) Evidence-based guidelines in laboratory medicine: principles and methods. *Clin Chem* 50:806–818
50. Senkpiel K, Ohgke H (1992) Beurteilung der „Schimmelpilz“-Sporenkonzentration in der Innenraumluft und ihre gesundheitlichen Auswirkungen. Festlegung eines Erfahrungsrichtwertes. *Ges Ing* 113:42–45
51. Jovanovic S, Piechotowski I, Gabrio T et al. (2001) Abschätzung der Schimmelpilzbelastung in Wohnungen in Südwestdeutschland. *Gesundheitsw* 63:404–411
52. Koch KJ, Heilemann W, Bischof J et al. (2000) Indoor viable mold spores – a comparison between two cities, Erfurt (eastern Germany) and Hamburg (western Germany). *Allergy* 55:176–180
53. Keller R (2001) Möglichkeiten und Grenzen der MVOC-Analytik. In: Keller R, Sengpiel K (Hrsg) Gesundheitliche Aspekte toxinogener Schimmelpilze in Gebäuden, Mykotoxine, MVOCs. Vorträge der 5. Lübecker Fachtage für Umweltthygiene. Schriftenreihe des Instituts für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene der Medizinischen Universität zu Lübeck, 4:221–254
54. Bierbach A, Barnes I, Becker KH (1995) Product and kinetic study of the OH-initiated gas-phase oxidation of furan, 2-methylfuran and furanaldehydes at \approx 300 K. *Atmos Environ* 29:2651–2660
55. Newsome JR, Norman V, Keith CH (1965) Vapor phase analysis of tobacco smoke. *Tobacco Sci* 9:102–110
56. Anon (2000) Annual report of the National Environmental Respiratory Center. April 1 1999–March 31 2000. Lovelace Respiratory Research Institute, Albuquerque, NM, USA
57. Saunders RA, Griffith JR, Saalfeld FE (1974) Identification of some organic smog components based on rain water analysis. *Biomed Mass Spectrom* 1:192–194
58. Blomberg L, Widmark G (1975) Separation of fresh tobacco smoke on a packed polar gas chromatographic column prior to on-line analysis by gas chromatography-mass spectrometry using a non-polar capillary column. *J Chromatogr A* 106:59–71
59. Brasche S, Heinz E, Hartmann T et al. (2003) Vorkommen, Ursachen und gesundheitliche Aspekte von Feuchteschäden in Wohnungen. Ergebnisse einer repräsentativen Wohnungsstudie in Deutschland. *Bundesgesundheitsbl Gesundheitsforsch Gesundheitsschutz* 46:683–693
60. Münzenberg U (2004) Der natürliche Luftwechsel in Gebäuden und seine Bedeutung bei der Beurteilung von Schimmelpilzschäden. AGÖF – Arbeitsgemeinschaft Ökologischer Forschungsinstitute (Hrsg) Umwelt, Gebäude & Gesundheit: Innenraumhygiene, Raumluftqualität und Energieeinsparung, Ergebnisse des 7. Fachkongresses der Arbeitsgemeinschaft Ökologischer Forschungsinstitute (AGÖF) am 4. und 5. März 2004 in München. AGÖF, Springer-Elagsen, S 263–271
61. Lutz P, Jenisch R, Klopfer H et al. (1994) Lehrbuch der Bauphysik, Schall – Wärme – Feuchte – Licht – Brand – Klima, 3. Aufl. Teubner, Stuttgart
62. Ransohoff DF, Feinstein AR (1978) Problems of spectrum and bias in evaluating the efficacy of diagnostic tests. *N Engl J Med* 299:926–930
63. Mulherin SA, Miller WC (2002) Spectrum bias or spectrum effect? Subgroup variation in diagnostic test evaluation. *Ann Intern Med* 137:598–602
64. Bruns D, Huth EJ, Magid E et al. (2000) Toward a checklist for reporting of studies of diagnostic accuracy of medical tests. *Clin Chem* 46:893–895
65. Bravata DM, Sundaram V, McDonald KM et al. (2004) Evaluating detection and diagnostic decision support systems for bioterrorism response. *Emerg Infect Dis* 10:100–108