

BUILD

RAPPORT



2022:12

Anvendelse af støv fra støvsugerposer

– som mål til vurdering af skimmelsvampevækst i boliger

Birgitte Andersen



Birgitte Andersen

BUILD Rapport 2022:12
Institut for Byggeri, By og Miljø, Aalborg Universitet
2022

TITEL	Anvendelse af støv fra støvsugerposer som mål til vurdering af skimmelsvampevækst i boliger
SERIETITEL	BUILD Rapport 2022:12
FORMAT	Digital
UDGIVELSEÅR	2022
UDGIVET DIGITALT	April 2022
FORFATTER	Birgitte Andersen
SPROG	Dansk
SIDETAL	48
LITTERATURHENVISNINGER	Side 36-37
EMNEORD	Skimmelsvampe, identifikation, fugt, boliger
ISBN	978-87-563-2035-1
ISSN	2597-3118
FOTO	Birgitte Andersen
OMSLAGSILLUSTRATION	Mika Baumeister
UDGIVER	Institut for Byggeri, By og Miljø (BUILD), Aalborg Universitet A.C. Meyers Vænge 15, 2450 København SV E-post: build@build.aau.dk www.build.dk

Der gøres opmærksom på, at denne publikation er omfattet af ophavsretsloven.

INDHOLD

FORORD	4
SUMMARY	5
1 INTRODUKTION	8
1.1 Problemformulering	8
1.2 Formål	8
1.3 Afgrænsninger	8
2 BAGGRUND	10
2.1 Skimmelsvampe i indeklimaet	10
2.2 Detektionsmetoder	11
2.3 Det amerikanske ERMI	11
3 MATERIALER & METODER	14
3.1 Respondenter og spørgeskema	14
3.2 Støvsugerstøv	14
3.3 Ekstraktion og DNA-sekvensering af støv	15
3.4 Databehandling	16
4 RESULTATER	18
4.1 Husstandene	18
4.2 Støvprøver	20
4.3 Skimmelsvampesammensætning og -belastning	20
5 DISKUSSION	26
5.1 Boligens beskaffenhed og husstandens vaner	26
5.2 Støvopsamling	27
5.3 Skimmelsvampesammensætningen og -belastning	27
5.4 Kategorisering af husstandene	29
5.5 Respondenter og spørgeskemaundersøgelse	30
6 KONKLUSION	32
7 REFERENCER	34
8 BILAG	38
Bilag A – Spørgeskema	38
Bilag B – Skimmelliste	43
Bilag C – Forslag til et Dansk Skimmel-indeks	44

FORORD

Påvisning af skimmelsvampevækst i boliger er let, når væksten er massiv og tydeligt ses på overflader, men ofte vokser skimmelsvampene skjult inde i konstruktioner bag tapetet eller under gulvbrædderne. Luftprøver giver kun et øjebliksbillede af boligens tilstand, og støvprøver tages kun på et meget lille område sammenlignet med boligens areal.

Dette projekts formål er at undersøge, om støv fra støvsugerposer kan anvendes som screeningsværktøj til at identificere boliger, der er mistænkt for at være inficeret med skimmelsvampevækst.

Resultaterne viser, at støv kan bruges, når der analyseres specifikt for gær- og skimmelsvampe, der vides at kunne vokse på byggematerialer og bygningskonstruktioner. Det er også muligt at kategorisere prøverne ved hjælp af et skimmel-indeks baseret på enten *DNA reads/m²* bolig eller *DNA reads/mg støv*. Resultaterne tyder på, at beboere i husstande med mange DNA reads (mulig skjult vækst) hverken kan se eller lugte noget mistænkeligt, og at lejelejligheder kan have større problemer med fugt- og skimmelvækst end ejerboliger. Det har dog ikke været muligt at fastlægge kategori-niveauerne, da corona-epidemien ikke gjorde det muligt at validere prøveresultaterne.

Forskningsprojektet er udført på BUILD, Aalborg Universitet i København med økonomisk støtte fra Grundejernes Investeringsfond og Landsbyggefonden.

En stor tak rettes til Jesper Kragh, BUILD, Aalborg Universitet for udtræk fra BBR, Teis Søndergaard og Manja Mølgaard Severinsen, Institut for Kemi og Biovidenskab, Aalborg Universitet for DNA-ekstraktion og sekvensering og til Helle V. Andersen, BUILD, Aalborg Universitet, Ulf Thrane, Teknologisk Institut og Jens C. Frisvad, Danmarks Tekniske Universitet for gode faglige diskussioner og input. Også tak til ØSTERGAARD bygge- og indeklimateknik A/S for kontakt til husstande med skimmelvækst. Sidst, men ikke mindst, en stor tak til alle respondenterne, der deltog i undersøgelsen.

BUILD – Institut for Byggeri, By og Miljø, Aalborg Universitet
Sektion for bæredygtighed, energi og indeklimateknik
Marts 2022

Tine Steen Larsen
Sektionsleder

SUMMARY

Fungal growth in private homes are problematic on several levels. Liberation of fungal spores, bioactive metabolites and volatile organic compounds can cause negative health effects and aggravation of existing health problems. Hidden fungal growth is inherently difficult to detect and often result in destructive sampling of the building envelope, which can be very expensive and disruptive for homeowners and occupants.

The purpose of the project was to investigate if dust collected from vacuum cleaners could be used as a screening tool to identify homes with suspected fungal growth.

Dust from 70 vacuum cleaner bags from private homes were analysed for the presence of fungal spores. DNA was extracted from the dust and sequenced using primers from the ITS-region. Sequences were blasted against sequences in GenBank (NCBI) and the 100 sequences with the highest DNA reads were checked manually to ensure correct identity. The fungal species were then divided into 3 groups based on their associations to 1) building materials, 2) food products and 3) the outdoor environment. An indoor fungal index was calculated using only the fungal species associated to building materials and reported either as DNA reads/m² living space or DNA reads/mg dust. The homes were then divided into 3 categories based on numbers of DNA reads: Red (fungal problems), Yellow (potential fungal problems) and Green (no fungal problems).

The results showed that 21 % of the homes fell in the Red category, 27 % in the Yellow and 52 % in the Green category. The results also showed that *Cladosporium sphaerospermum*, *Debaryomyces* spp., *Tausonia pullulans* and *Wallemia muriae* were the most common fungi in the Red category and that the DNA reads of fungal species originating from the outside environment, such as *Alternaria infectoria* and *Cladosporium cladosporioides*, were similar in all 3 categories. Furthermore, *Aspergillus versicolor* and *Penicillium chrysogenum*, which are the most common fungal species in water damaged buildings, were not detected in large numbers in this study.

The questionnaire accompanying the vacuum cleaner bags showed that the majority of occupants in homes in the Red category could neither smell nor see any fungal growth. None of the homes had ongoing water damage issues. The results also indicate that occupants in older flats are more likely to have fungal problems than occupants detached houses.

More research is needed to validate the categories and the exact numbers of DNA reads separating the 3 categories, since it was only possible to do a physical evaluation of 3 homes due to the lock down during the Corona pandemic.



1

INTRODUKTION

1 INTRODUKTION

1.1 Problemformulering

De to mest anvendte metoder, der bruges til at undersøge, om der er skimmelsvampevækst i en bolig, er enten at tage prøver af gammelt støv på fx billedrammer og dørkarme eller at tage luftprøver i forskellige rum. Ulempen ved at tage støvprøver er, at et areal på ca. 10 cm² skal repræsentere hele boligen, mens ulempen ved luftprøver er, at de kun giver et øjebliksbillede. Når støv- eller luftprøver er taget, findes der også flere metoder til at bestemme om de indeholder skimmelsvampesporer. Det kan være dyrkning på agarplader, enzymbestemmelse og DNA-bestemmelse (SBI-anvisning 274). Ulempen ved dyrkning er, at kun de levedygtige skimmelsvampesporer kan vokse på den valgte agar og derved identificeres, mens ulempen ved enzymmetoden er, at skimmelsvampene slet ikke identificeres. Ulempen ved den DNA-metode, der bruges i Danmark, er, at antal af skimmelsvampearter, der screenes for, er begrænset, og at eksponeringsniveauet udregnes efter forhold, der ikke nødvendigvis er "skræddersyet" til Skandinaviske forhold (Nevalainen et al. 2015; Täubel et al. 2016; Andersen et al. 2021).

1.2 Formål

Projektets formål er at undersøge om støv fra indsamlede støvsugerposer fra boliger kan anvendes som screeningsværktøj til identifikation af de boliger, der er mistænkt for at være inficeret med skimmelsvampevækst.

1.3 Afgrænsninger

På grund af Corona-epidemien har det ikke været muligt at gennemføre kontrolbesøg hos respondenterne, for at verificere om der var fugt og skimmelvækst i boligerne. I samarbejde med et rådgivende firma er der blevet indsamlet støvsugerposestøv fra fire boliger, hvor der var blevet konstateret skimmelsvampevækst. Disse er blevet brugt som kontrolprøver.



2

BAGGRUND

2 BAGGRUND

Skimmelsvampevækst i boligen er problematisk på mange måder. Der kan frigives skimmelsvampesporer og flygtige forbindelser til indeklimaet, som kan være årsag til en række helbredsgener, såsom hovedpine og slimhindeirritationer (SBI-anvisning 274). Derudover kan skimmelsvampevækst også være årsag til forværring af eksisterende tilstande, såsom astma og allergi (Thrane et al. 2001; Bjørnsson 2018) og i sjældne tilfælde forårsage invasiv infektion, hvis en beboer fx har nedsat immunforsvar (Pathakumari et al. 2020).

2.1 Skimmelsvampe i indeklimaet

Der er tre kilder til skimmelsvampesporer i boligens indeklima. De kan komme ude fra det omgivende miljø og komme ind fx med udeluften, når der luftes ud eller med jord, skidt og møg under sko og poter (Andersen et al. 2021). Skimmelsvampesporerne kan også blive bragt ind med vores fødevarer og senere frigives, hvis fx frugt eller brød mugner inden det bliver spist (Samson et al. 2019; Andersen et al. 2021). Den tredje kilde er boligen selv, hvor skimmelsvampesporerne kan frigives fra vækst fx bag tapetet eller under gulvbrædderne (Samson et al. 2019; Andersen et al. 2011). Tabel 1 giver eksempler på de mest almindelige skimmelsvampearter, hvis sporer man finder indendørs, og hvor de kommer fra. Tabellen er baseret på 15 års prøvetagning, indsamling og identifikation (Andersen et al. 2011; Samson et al. 2019; Andersen et al. 2021; SBI anvisning 274) og viser, at hver skimmelsvampeart har sine egne foretrukne levesteder og sjældent vokser i andre miljøer.

I slægterne *Aspergillus* og *Penicillium* er de enkelte arter meget specialiserede i forhold til, hvilke miljøer, produkter eller materialer de kan vokse på. Nogle arter, såsom *Penicillium chrysogenum*, findes ofte i vandskadede bygninger, men sjældent på fødevarer, mens *P. expansum* ødelægger frugt, men ikke vokser på byggematerialer (Andersen et al. 2011). Enkelte arter kan som *P. brevicompactum* dog vokse på både træværk, champignoner og kartofler (Samson et al. 2019). Andre arter som for eksempel *Alternaria infectoria* og *Aspergillus fumigatus* vokser hverken på fødevarer eller bygningsdele, men findes henholdsvis i kornmarker og kompostbunker (Samson et al. 2019). Derfor er det nødvendigt at identificere skimmelsvampene til artsniveau, når det skal vurderes, om der er skimmelsvampevækst i en bolig, eller om sporerne kommer udefra.

De flygtige forbindelser, der somme tider kan lugtes i en bolig med skimmelsvampevækst, dannes kun, når skimmelsvampene er i aktiv vækst – fx under gulvbrædderne eller på fødevarerne. Det er ikke alle flygtige forbindelser der lugter, og en bolig kan være meget inficeret, uden at det kan lugtes eller ses.

TABEL 1. Kilder til de mest almindelige skimmelsvampearter i indeklimaet med materiale-præferencer. Arter, der er associeret med alvorlige vandskader, er fremhævet i fed.

Skimmelsvampeart	Fra bygningen	Fra fødevarer	Fra miljøet
<i>Acremonium strictum</i>	Puds, beton		
<i>Alternaria infectoria</i> kompleks			Kornmarker
<i>Aspergillus fumigatus</i>			Kompostbunker
<i>Aspergillus glaucus</i>		Hvedebrød	
<i>Aspergillus penicillioides</i>	Papir, læder		
<i>Aspergillus versicolor</i>	De fleste materialer		
<i>Botrytis cinerea</i>		Vindruer, jordbær	
<i>Chaetomium globosum</i>	Gips, pap, OSB, X-finér		
<i>Cladosporium herbarum</i> kompleks			Døde plantedele
<i>Cladosporium sphaerospermum</i> kompleks	Fuger, træværk		
<i>Penicillium chrysogenum</i>	De fleste materialer		
<i>Penicillium glabrum</i>		Løg	
<i>Penicillium digitatum</i>		Citroner, klementiner	
<i>Penicillium expansum</i>		Æbler, pærer	
<i>Penicillium roqueforti</i>		Rugbrød, blåskimmelost	
<i>Stachybotrys chartarum</i>	Gips, tapet, pap		
<i>Trichoderma harzianum</i>	OSB, træværk		
<i>Trichothecium roseum</i>			Jord
<i>Wallemia sebi</i>	Puds		

2.2 Detektionsmetoder

Den mest almindelige metode til detektion af skimmelsvampevækst i bygninger er at tage en prøve af det angrebne område, tage tapeprøver, bruge en kvantitativ enzymtest og/eller foretage en kvalitativ dyrkning. Det kræver specialviden at tage prøverne på de rigtige steder, og det kan ofte være forbundet med store omkostninger at undersøge lukkede konstruktioner for at kvalificere og kvantificere eventuel skimmelsvampevækst, da man kun kan gøre det ved at bruge destruktive indgreb. Hvis der ikke er synlig skimmelsvampevækst, tages der enten en støvprøve eller en luftprøve, som så sendes til dyrkning, DNA- eller enzymanalyse.

Der er både fordele og ulemper ved alle metoder. Med tapeprøver ses, om der er vækst, men arterne kan ikke bestemmes. I enzymtesten beregnes væksten som et tal, men giver ikke nogen artsbestemmelse, og dermed er der ikke mulighed for at finde kilden. Ved dyrkning kan alle levende arter bestemmes, mens mængden og arterne af døde sporer ikke bestemmes. I DNA-analysen, der er baseret på et amerikansk patent, bestemmes arterne af både levende og døde sporer, men kun for et begrænset antal af de flere hundrede skimmelsvampearter, der kan findes i indeklimaet.

2.3 Det amerikanske ERMI

Tolkningen af prøveresultaterne er ofte den vanskeligste del af en bygningsundersøgelse, og mange forsøg er blevet gjort for at kvantificere og forenkle prøveresultater, så ikke-specialister kan konkludere på analyserne. Den mest kendte metode, *Environmental Relative*

Moldiness Index (ERMI), blev udviklet i USA af Vesper et al. i 2007 og bruges i modificeret udgave rundt om i verden. ERMI fokuserer på skimmelsvampe, der kan forværre astmatiske tilstande hos børn og ikke specifikt på skimmelsvampe fra fugt- og vandskadede bygninger. Metoden er baseret på, at DNA er unikt for hver svampeart, og dermed kan art og mængde af specifikke svampe bestemmes efter DNA ekstraktion og identifikation. Indekset blev beregnet ud fra skimmelsvampe i støvprøver fra gulve i boliger med astmatiske børn sammenlignet med en kontrolgruppe. Vesper et al. (2006; 2007) udvalgte 36 indikative skimmelsvampearter, der blev delt i to grupper, og hvor antallet i gruppe 2 bliver trukket fra antallet i gruppe 1. Begge grupper indeholder skimmelsvampearter, der under danske forhold kan komme fra både skimmelinficerede byggematerialer, fødevarer og det omgivende miljø. Metoden har været brugt som reference i en undersøgelse af støvsugerposer som screeningsværktøj til at estimere risiko for skimmelsvampevækst i boliger med astmatiske børn (Vesper et al., 2009). I Vespers studie blev kun 4 m² af boligens areal støvsuget og resultaterne viste, at man kunne reducere antallet af analyserede arter og stadig få et rimeligt godt mål for, hvorvidt boligen hørte til den høje eller lave halvdel af ERMI-skalaen. Nevalainen et al. (2015) skriver, at metoden skal anvendes med stor forsigtighed, og US EPA (2013; 2021) understreger, at metoden kun er til videnskabelig brug.

En udfordring ved ERMI er, at man på forhånd har målrettet metoden til udelukkende at omfatte et endeligt antal specifikke skimmelsvampearter (Nevalainen et al., 2015). En anden udfordring er måden indekset beregnes, idet nogle skimmelsvampearter grupperes og fratrækkes en anden gruppe skimmelsvampearter og dermed indikerer, at tilstedeværelsen af nogle svampearter udligner tilstedeværelsen af andre.



3

MATERIALER & METODER

3 MATERIALER & METODER

3.1 Respondenter og spørgeskema

250 enfamiliehuse og 250 lejligheder blev tilfældigt udtrukket fra BBR den 20. november 2020. Yderligere 22 adresser blandt kollegaer og deltagere i et pilotprojekt (Andersen et al, 2021) blev inviteret til at deltage i projektet. Da BBR-registret ikke indeholder navne på boligejerne, blev invitationsbrevene stilet til "husstanden". Hvert brev indeholdt et introduktionsbrev, en samtykkeerklæring, en vejledning til prøvetagning, et spørgeskema (Bilag 1) samt en svarkuvert til spørgeskema, samtykkeerklæring og husstandens støvsugerpose. I alt blev 522 invitationsbreve udsendt 8. marts 2021. Svarkuverter, der indløb i perioden fra den 20. marts til den 31. maj, blev kontrolleret for korrekt udfyldt samtykkeerklæring, udfyldt spørgeskema og medsendt støvsugerpose. Af de 522 udsendte invitationer opfyldte 68 respondenter alle krav. Da det i sommerens løb stod klart, at det ikke var muligt at gennemføre besøg i udvalgte husstande til verificering af skimmelsvampevækst, blev ØSTERGAARD bygge- & indeklimateknik A/S kontaktet angående skimmelramte boliger, der kunne bruges som kontrolprøver. Fire husstande, som havde kendt skimmelsvampevækst, blev inviteret med i forsøget på samme vilkår som de ordinære husstande. Disse fire benævnes i rapporten som "kontrolprøver". Derudover blev der taget ekstra prøver (2 støvsugninger og 2 prøver af sedimenteret støv) i en husstand til test af reproducerbarhed af metoden og DNA-analyserne.

3.2 Støvsugerstøv

I vejledningen blev respondenterne bedt om at sætte en ny støvsugerpose i deres støvsuger eller tømme og rengøre deres poseløse støvsuger. Derefter blev respondenterne bedt om at støvsuge hele det beboede areal i boligen inklusive køkken og badeværelse(r) på samme måde som de plejede, og om at placere støv eller pose i den medfølgende plasticpose og returnere prøve og papirer til AAU.

De fleste ordinære støvprøver (49) kom fra støvsugere med pose, mens der var 17 prøver fra poseløse støvsugere. Alle 4 kontrolprøver var fra støvsugere med pose. Alle støvprøver blev efter ankomst til laboratoriet, vejret og pakket om i Rilsanposer og lagt i fryseren i minimum 7 dage inden videre behandling for at slå mider og andre insekter ihjel.

3.2.1 Fraktionering af støv

Støv fra poseløse støvsugere blev tørt op og overført til en Vibratory Sieve Shaker (AS 200 basic, Retsch GmbH, Haan, Tyskland). To fraktionssolde/sier med hulstørrelse 2000-500 μm (2,0- 0,5 mm) og 500-150 μm (0,5-0,15 mm) blev anvendt. Støvet blev vibreret gennem soldene med en amplitude på 45 i 60 minutter. Støvfractionen < 150 μm (< 0,15 mm) blev overført til 50 ml glas med skruelåg, vejret og anbragt i fryser indtil videre behandling.

Støvsugerposer med støv (Fig. 1A) blev tørt op, hvorefter det løse indhold blev overført til Shakeren (Fig. 1B). Indersiderne af støvsugerposen blev derefter støvsuget med en håndholdt støvsuger (Cecotec Conga RockStar Micro 12000) for at få så meget fint støv som muligt med, og den tomme støvsugerpose blev vejret igen. Den håndholdte støvsuger blev skilt

ad, og det opsamlede støv overført til shakeren og behandlet som overfor. Fraktionssolde og støvsuger blev rensset med trykluft og ethanol efter hver prøve.



FIGUR 1. Returnering af spørgeskema, samtykkeerklæring og støvsugerpose (A). Støvsugerposens indhold i den grove fraktionssold (B). Det resulterende støv efter 60 min i Shakeren (C), som sendes til DNA-analyse.

3.3 Ekstraktion og DNA-sekvensering af støv

Ca. 2 g fint homogent støv (< 0,5 mm) (Fig. 1C) blev afvejnet og overført til 20 ml glas med skruelåg og sendt til Functional Genomics-gruppen på Aalborg Universitet (Aalborg) den 11. juni 2021 sammen med de to prøver af sedimenteret støv, hvor ekstraktion og sekvensering blev udført. Prøverne blev først ekstraheret og analyseret 9. november 2021, da Covid-19 prøver havde forrang til de PCR-maskiner, der bruges til at sekvensere med.

DNA-ekstraktion blev udført på 50 mg materiale fra de respektive støvprøver ved brug af QIAGEN® DNeasy® PowerSoil Pro sættet, hvor producentens protokol blev fulgt med enkelte modificeringer, heriblandt en forlænget lyseringstid ved højere temperatur. Det oprensede DNA blev kvalitetstestet, hvorefter det blev klargjort til sekventering med Nextera Amplicon Sequencing v.1.6 protokollen, der resulterede i mærkede (barcodede) ampliconer. Ekstraheret DNA blev amplificeret i en to-trins PCR-måltrettet hyper-variabel *internal transcribed spacer 2* (ITS2) -regioner fra svampe-ribosomer. Ampliconerne blev sekvenseret på Illumina Mi-Seq, og data blev bearbejdet med AmpProc pipeline.

Primerne målrettet mod ITS2-regioner var:

ITS2AF: GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGCATCGATGAAGAACG-CAGC

ITS2AR: TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGTCCCTCCGCTTATTGATATGC

3.3.1 Skimmelsvampeidentifikation af OTUer

Resultatet af sekvenseringerne blev sendt tilbage i form af en datamatrice bestående af 7.341 forskellige DNA-sekvenser, de såkaldte OTUer. En OTU (**O**perational **T**axonomic **U**nit) repræsenterer en svampeart eller -slægt. Med OTUerne fulgte deres korrespondende *DNA-reads*, der angiver hvor mange ens sekvenser, der var af den enkelte OTU. Hver OTU havde også en foreløbig arts-identifikation, der var automatisk genereret ud fra to forskellige offentligt tilgængelige DNA-sekvens databaser (UNITE (<https://unite.ut.ee/>) og GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>)). Der er ofte fejl i sekvenserne eller manglende arter i disse databaser, så det er nødvendigt at foretage manuel identifikationsanalyse ved hjælp af en BLAST-algoritme (**B**asic **L**ocal **A**lignment **S**earch **T**ool) i GenBank. Der er ofte også flere OTUer, der giver samme skimmelsvampeidentifikation efter manuel BLAST (se Fig. 2).

En DNA-sekvens består af en række bogstaver, som vist i Fig. 2, der repræsenterer de fire forskellige aminosyrer, som al DNA er opbygget af. De fire aminosyrer er adenin (A), cytosin (C), guanin (G) og thymin (T).

```
C. herbarum   CGGACCGCGTTGCCCAATACCAAGCGAGGCTTGAGTGGTCAAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCCCGGAATA
OTU-3: 7.869  CGGACCGCGTTGCCCAATACCAAGCGAGGCTTGAGTGGTCAAATGACGCTCGAA
OTU-45: 276   CAAGCGAGGCTTGAGTGGTCAAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCCCGGAATA
OTU-117: 28   TGCCCAATACCAAGCGAGGCTTGAGTGGTCAAATGACGCTCGAACAGGCATGCC
```

FIGUR 2. Den øverste DNA-sekvens (blå) er identificeret i GenBank og de tre forskellige OTUer (brun og orange) matcher på forskellig vis den samme sekvens. Derfor skal alle 3 *reads* (7.869+276+28) lægges sammen, hvilket giver et total *DNA-read* for skimmelsvampearten *Cladosporium herbarum* (*C. herbarum*) på 8.173.

3.4 Databehandling

Svarene fra spørgeskemaerne blev indtastet i en matrice som reelle tal (fx antal beboere og størrelse på bolig) og som 1/0 data (fx 1 for "ja" og 0 for "nej"). Dette resulterede i en data-matrice på 68 prøver og 58 spørgsmål (68 x 58 matrice).

De 10 OTUer med det højeste *DNA-reads* i hver prøve analyseres manuelt i GenBank sammen med alle OTUer, der automatisk er blevet identificeret som tilhørende skimmelsvampearter, der kan vokse på byggematerialer eller på fødevarer. *DNA-reads* fra OTUer med samme identitet lægges sammen. Dette resulterede i en matrice på 66 prøver og 82 svampearter eller -slægter (66 x 82 matrice). Alle 82 svampe-identifikationer (OTUer) med habitat og gennemsnitlige antal *DNA-reads* per prøve er givet i Bilag 2.



4

RESULTATER

4 RESULTATER

4.1 Husstandene

Af de 522 invitationer, der blev sendt ud til hele landet, var 68 brugbare (alle krav opfyldt), hvilket er en meget lav svarandel (13 %). Der var en overvægt af respondenter fra hovedstadsområdet og øvrige Sjælland (55 %) målt ud fra befolkningstætheden i hele landet. Der var også en overrepræsentation af husejere (65 %) og af par og enlige uden børn (79 %), der i gennemsnit havde boet i deres bolig i 22 år. Tabel 2 viser sammensætningen af husstandene på boligtype og gennemsnitlig antal voksne, hjemmeboende børn og kæledyr. Der var en husstand med 4 voksne, en husstand med 3 børn, mens resten typisk bestod af 1-2 voksne. 19 husstande havde et eller flere husdyr. Boligernes størrelse varierede fra 52 til 300 m² og den længste tid i boligen var 54 år.

TABEL 2. Husstandens gennemsnitlige sammensætning, størrelse og antal år i boligen.

Boligtype	Beboere (permanente)		Husdyr			Størrelse og tid i boligen	
	Voksne	Børn	Hund	Kat	Gnaver	m ²	År
Total (68)	1,9	0,3	0,2	0,1	0,1	130	19
Hus (43)	2,0	0,3	0,2	0,2	0,1	156	25
Ejerlejlighed (16)	1,6	0,1	0,2	0,0	0,0	85	9
Lejelejlighed (9)	1,8	0,2	0,0	0,0	0,0	80	5

4.1.1 Husstandens mad- og rengøringsvaner

Tabel 3 viser, at de fleste husstande (74 %) havde en kompostbeholder til madrester i huset. Over 90 % af husstandene havde altid kartofler, gulerødder, æbler, løg og/eller rugbrød i boligen. Et mindre antal havde altid franskbrød og citrusfrugter i boligen.

Tabel 4 viser, at dobbelt så mange huse har væv-til-væg tæpper som lejligheder. 24 husstande (35 %) har en støvsuger med HEPA-filter, der holder skimmelsvampesporer tilbage, mens 7 husstande (10 %) ikke har HEPA-filter. De resterende 37 husstande (54 %) ved ikke, om der er HEPA-filter i deres støvsuger og er derfor ikke medregnet i Tabel 4.

TABEL 3. Husstandens udvalgte madvaner, der altid findes i huset (% af positive svar).

Boligtype	Løg/hvidløg	Citrusfrugter	Hvidt brød	Rugbrød	Skimmelost	Kompostspand
Total (68)	92	47	62	93	13	74
Hus (43)	88	47	65	98	19	77
Ejerlejlighed (16)	94	63	63	88	6	69
Lejelejlighed (9)	100	22	44	78	0	67

TABEL 4. Husstandens rengøringsrutiner (% af positive svar).

Boligtype	Tæpper	HEPA	Støvsugning (tæpper og gulve)			Afstøvning (vandrette flader)		
			1/7 dage	1/14 dage	1/21 dage	1/7 dage	1/14 dage	1/21 dage
Total (68)	36	35	67	28	4	45	39	16
Hus (43)	44	44	63	33	5	42	44	14
Ejerlejlighed (16)	19	13	75	19	13	50	38	13
Lejelejlighed (9)	22	33	78	22	0	44	22	33

4.1.2 Boligens indretning og indeklima

Tabel 5 viser, at langt de fleste husstande havde emhætte med aftræk til det fri (81 %), mens et fåtal havde mekanisk ventilation (12 %). En del respondenter har svaret "ved ikke" til emhætter og mekanisk ventilation, og disse er ikke medregnet i Tabel 5. Tabel 5 viser også, at de fleste husstande havde termoruder (93 %) og at det oftest er i lejelejlighederne, der er kolde gulve og ydervægge, og hvor der sommetider er dug på ruderne selv om det ikke er frostvejr. Ens for alle boligtyper er, at 12 % af husstandene synes, der sommetider lugter muggent i deres bolig.

TABEL 5. Boligens indretning og indeklima (% af positive svar).

Boligtype	Emhætte	Mekanisk	Termoruder	Dug på vinduer		Kolde		Muggen
		ventilation		Ofte	Sommetider	gulve	ydervægge	lugt
Total (68)	81	12	93	6	19	54	45	12
Hus (43)	91	15	99	2	14	56	35	12
Ejerlejlighed (16)	63	0	100	13	25	38	56	13
Lejelejlighed (9)	56	22	86	13	38	63	75	11

4.1.3 Husstandens daglige vaner og indeklima

I tabel 6 ses, at der er flere, der lufter ud dagligt i lejlighederne (80 %) end i husene (51 %), mens der er flere, der dagligt tørrer tøj indendørs i lejlighederne (28 %) end i husene (14 %). Der er også konstateret skimmelvækst af et professionelt indeklimafirma i flere lejligheder (12 %) end i huse (2 %), men at dobbelt så mange husstande har mistanke om, at der er skimmelvækst i deres bolig. Det ses også at 2/3 af respondenterne i lejelejlighederne er utilfredse med det generelle indeklima, mens dette kun er tilfældet for henholdsvis 2 % af hus-ejerne og 13 % af lejlighedsejerne.

TABEL 6. Husstandens vaner og indeklima (% positive svar).

Boligtype	Daglig		Konstateret*	Synlig**		Mistanke om**		Utilfreds med indeklimaet
	Udluftning	Tøjtørring	skimmel	Fugt	skimmel	Fugt	skimmel	
Total (68)	61	18	6	15	13	15	10	13
Hus (43)	51	14	2	14	15	8	8	2
Ejerlejlighed (16)	75	25	13	14	0	25	8	13
Lejelejlighed (9)	89	33	11	22	25	33	22	67

* Vurderet af professionelle rådgivere. ** Vurderet af beboerne selv

4.2 Støvprøver

De fleste husstande havde støvsugere med pose (49), mens 17 havde poseløse støvsugere. Der var stor forskel på mængden af støv de to forskellige støvsugertyper opsamlede. Den gennemsnitlige mængde støv pr. m² for støvsugerposer var 0,50 g/m², mens der kun var 0,27 g/m² i prøverne fra poseløse støvsugere. Der sad meget fint støv tilbage i de tømte støvsugerposer. Mængden af fraktioneret støv til DNA-analyse kunne øges med ca. 30 %, når støvet fra indersiden af posen blev støvsuget med en håndholdt støvsuger og lagt til det "løse" støv fra posen. Det var ikke muligt at fraktionere prøverne så al fint støv kunne opsamles.

4.3 Skimmelsvampesammensætning og -belastning

Den samlede belastning for en husstand beregnes ved at lægge alle *DNA-reads* for alle skimmelsvampe sammen (jf. afsnit 3.3.1). Et *DNA-read* er et tal for hvor mange gange den samme DNA-sekvens (= samme skimmelsvampeart) forekommer i prøven og dermed en approksimation for mængden af en bestemt skimmelsvampeart i en prøve. Jo højere tal, jo større skimmelsvampemængde. To ud af de 68 ordinære prøver gav ingen *DNA-reads*, enten fordi ekstraktionen eller sekvenseringen fejlede.

4.3.1 Identifikation af skimmelsvampenes DNA-sekvenser

DNA-analyserne for de 66 ordinære prøver og de 4 kontrolprøver resulterede i 7.341 forskellige DNA-sekvenser eller OTUer, der svarer til svampearter eller -slægter. De manuelle BLAST-sammenligninger af DNA-sekvenserne med sekvenser i GenBank viste, at flere sekvenser tilhørte den samme skimmelsvampeart (jf. Fig 2 i afsnit 3.3.1) og blev efterfølgende lagt sammen. De manuelle BLAST-sammenligninger viste også, at nogle sekvenser ikke tilhørte svampe men andre organismer som fx hvidkløver, persille og regnorm. Disse sekvenser samt sekvenser for hatsvampe/paddehatte, lav og obligate plantepestogene svampe, der aldrig vokser indendørs, blev sorteret fra. Endvidere blev også OTUer med *DNA-reads* under 10, der kun forekom i én prøve, også sorteret fra. Dette resulterede i en matrice bestående af 82 OTUer identificeret til enten arts- eller slægtsniveau for de 66 ordinære prøver og de 4 kontrolprøver. Alle disse prøver havde *DNA-reads* mellem 5.240 og 107.792 for de 82 svampearter og -slægter (Bilag 2).

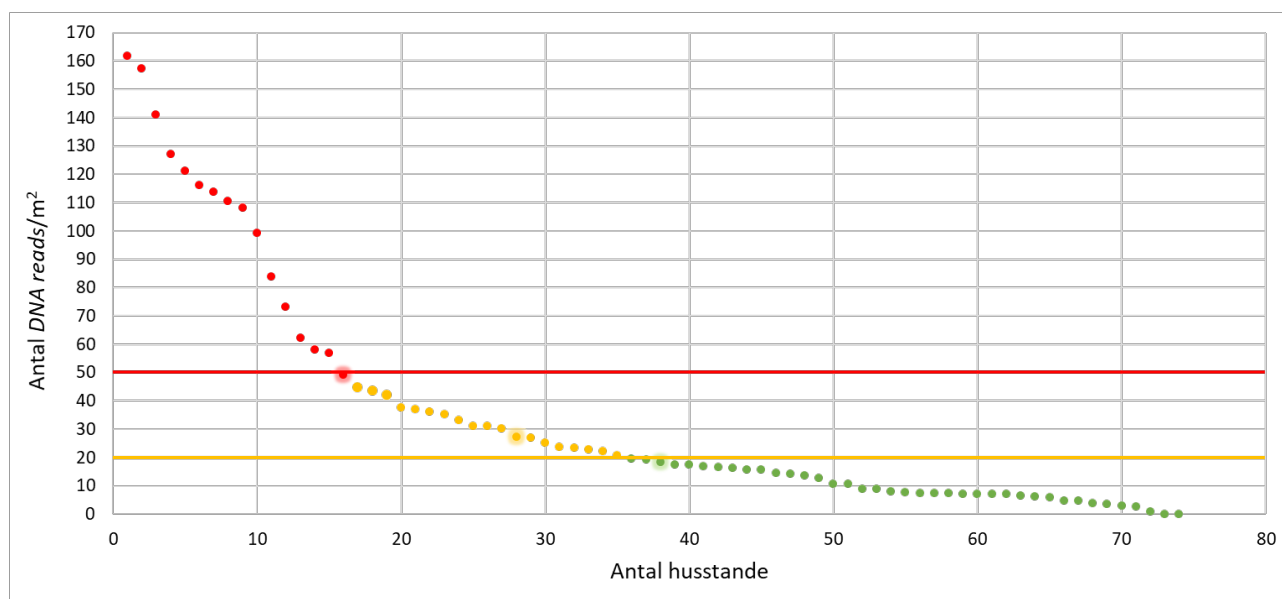
4.3.2 Opdeling af skimmelsvampearter i grupper og husstande i kategorier

Baseret på resultater fra tidligere studier (Andersen et al. 2011, Samson et al. 2019, Andersen et al. 2021) og DNA-resultaterne i dette studium, blev gær- og skimmelsvampearterne fra støvsugerstøvet delt op i tre grupper alt efter deres forekomst (deres naturlige habitat eller miljø). Gruppe 1 bestod af alle de svampearter og -slægter, der er vist i litteraturen at kunne vokse på bygningsdele og interiør, "B" (fx gips, fuger og tekstiler). Gruppe 2 bestod af svampearter og -slægter som kun kan vokse på fødevarer, "F" (fx brød, løg og æbler) og Gruppe 3 bestod af svampearter og -slægter, der er kendt fra det omgivende miljø, "M" (fx epifyt- og jordsvampe).

Da formålet med projektet er at vurdere, om der er skimmelsvampevækst i en bolig, medregnes kun de skimmelsvampearter og -slægter, der indgår i Gruppe 1 (22 arter, komplekser og slægter mærket med **B** i Bilag 2). Efter grupperingen summeres der op over alle *DNA-reads* for de 22 forskellige arter og slægter i Gruppe 1, og til sidst divideres der med det antal kvadratmeter, der er blevet støvsuget, hvilket giver et tal med enheden *DNA-reads/m²*.

Da det ikke var muligt at verificere om der var skimmelsvampevækst i den enkelte bolig eller ej, blev der udregnet et **teoretisk** indeks for boligens skimmeltilstand, hvor resultaterne af alle prøver blev rangordnet og inddelt i 3 kategorier. Inddelingen og skæringsgrænserne er baseret på forfatterens kendskab til kun tre husstande, hvor det var muligt at få en sikker vurdering af tilstanden. De tre husstande havde henholdsvis 18,3 *DNA-reads/m²* (aldrig fugt- eller vandskade), 27,4 *DNA-reads/m²* (mistanke om skimmelvækst) og 49,4 *DNA-reads/m²* (kendt skimmelvækst) for skimmelsvampe i Gruppe 1. Baseret på disse tre husstande, blev prøverne inddelt i 3 kategorier: "Ingen fugtproblemer eller svampevækst i boligen" (< 20 *DNA-reads/m²*), "Mulige fugt- og skimmelproblemer" (20-50 *DNA-reads/m²*) og "Fugtproblemer eller svampevækst et eller andet sted i boligen" (> 50 *DNA-reads/m²*). Fig. 3 viser opdelingen af støvprøverne i de 3 kategorier.

Alle ordinære prøver (66) og kontrol prøver (4) blev "sat fri", da det ikke kunne verificeres hvilke husstande, der havde skimmelvækst og hvilke, der ikke havde, da prøverne blev taget. Kategoriseringen viste at 14 husstande (20 %) kom i den røde kategori (> 50 *DNA-reads/m²*), 19 husstande (27 %) kom i den gule kategori (20-50 *DNA-reads/m²*) og 37 husstande (53 %) kom i den grønne kategori (< 20 *DNA-reads/m²*). Kategoriseringen viste også at den røde kategori omfattede 5 huse svarende til 11 %, og 9 lejligheder (ejer og lejer) hvilket svarer til 34 %. Overraskende havnede 3 af kontrolprøverne i den grønne kategori, mens kun én kontrolprøve faldt i den gule kategori. De 4 prøver er inkluderet i Fig. 3, men taget ud af de efterfølgende analyser.



FIGUR 3. Fordelingen af husstande baseret på antal DNA-reads fra udvalgte indeklimasvampe og gær per kvadratmeter. Grupperingerne er baseret på 3 husstande (fremhævet med rød, gul og grøn halo), hvor det har været muligt at vurdere tilstanden.

4.3.3 Skimmelsvampesammensætning i støv

BLAST-identifikationerne af de enkelte OTU'er i GenBank viste, at nogle af de mest almindelige skimmelsvampearter i indeklimaet (Tabel 1) ikke blev detekteret i dette studium, nemlig *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus versicolor* og *Penicillium digitatum*. Til gengæld blev der fundet andre arter, sektioner og slægter, der kan associeres til fugt- og vandskadede bygninger: *Aspergillus* sektion *restricti*, *Debaryomyces* spp., *Tausonia pullulans* og *Gibellulopsis nigrescens*. Tabel 7 viser de hyppigst forekommende arter og slægter fordelt på røde, gule og grønne prøver fra husstande.

TABEL 7. De mest almindelige skimmelsvampearter og -slægter i de 66 ordinære støvprøver med gruppe-præferencer (B: byggematerialer, F: fødevarer, M: omgivende miljø). *DNA-reads* i absolutte tal er givet for den enkelte art eller slægt som et gennemsnit (gen), mindste (min) og største (max) for prøver opdelt i rød, gul og grøn kategori. Arter og slægter i fed var dominerende i dette studium.

Art/slægt		Røde (n=14)			Gule (n=18)			Grønne (n=34)		
		Gen	min	max	Gen	min	max	Gen	min	max
<i>Akanthomyces</i> spp.	B	10	0	62	7	0	80	2	0	30
<i>Aspergillus</i> sektion <i>restricti</i>	B	168	0	1.042	61	0	326	58	0	698
<i>Candida parapsilosis</i>	B	79	0	796	155	0	1.292	28	0	326
<i>Chaetomium globosum</i> *	B	10	0	46	3	0	16	19	0	446
Clado. sphaerospermum kompleks	B	2.074	112	6.522	1.659	76	4.808	574	18	1.818
Debaryomyces spp.	B	4.631	626	16.072	865	26	3.956	251	18	1.546
<i>Didymella macrostoma</i>	B	123	18	396	166	4	954	169	2	1.076
<i>Exophiala</i> spp.	B	189	38	358	144	0	404	126	0	456
<i>Gibellulopsis nigrescens</i>	B	19	0	210	16	0	76	7	0	36
<i>Penicillium chrysogenum</i>	B	1	0	16	1	0	6	1	0	26
<i>Penicillium brevicompactum</i>	B	89	6	518	116	18	788	68	0	478
<i>Stachybotrys chartarum</i> *	B	0	0	0	1	0	12	1	0	6
Tausonia pullulans	B	803	42	3.104	529	4	4.178	190	6	798
<i>Trichoderma harzianum</i> *	B	20	0	80	25	0	248	20	0	150
Wallemia muriae	B	2.470	8	15.568	249	0	2.412	243	0	1.378
Wallemia sebi	B	111	0	1.358	11	0	170	10	0	102
<i>Aspergillus</i> sektion <i>Aspergillus</i>	F	672	8	3.284	210	0	1.344	90	2	432
<i>Botrytis cinerea</i>	F	373	54	1.374	466	34	1.848	714	2	4.988
<i>Penicillium expansum</i>	F	5	0	26	2	0	16	5	0	70
<i>Penicillium glabrum</i>	F	4	0	20	4	0	22	3	0	24
<i>Penicillium roqueforti</i>	F	7	0	24	25	0	384	13	0	332
<i>Alternaria infectoria</i> kompleks	M	1.057	174	2.954	1.084	184	4.328	999	32	6.724
<i>Clado. cladosporioides</i> kompleks	M	2.418	764	4.610	3.331	188	15.826	2.216	100	10.882
<i>Clado. herbarum</i> kompleks	M	3.326	834	14.112	2.982	188	9.010	2.932	68	14.932
<i>Epicoccum nigrum</i>	M	487	114	1.234	947	6	6.120	736	16	5.426
<i>Pseudophthomyces chartarum</i>	M	162	44	264	1.296	6	10.618	348	0	2.132

* Arter og slægter, der kræver *decideret* vandskade for at kunne vokse.

Tabel 7 viser, at der ikke er markant forskel i antallet af *DNA-reads* for de fødevarerassocierede svampe (F) og for de svampe, der kommer fra det omgivne miljø (M) med undtagelse af *Aspergillus* sektion *Aspergillus*, hvilket betyder at arter i denne sektion bør undersøges nærmere for, om de skulle være fugt- eller vandskadeassocierede. Derudover kan man se store forskelle mellem det mindste og det største antal *DNA-reads* for en art eller et arts-kompleks, hvilket afspejler forskelle i husstandenes beliggenhed i by eller på land.

For fugt- og vandskade-associerede arter og slægter (Gruppe 1: **B** i Tabel 7) ses derimod høje gennemsnitstal for *DNA-reads* for prøverne i rød kategori sammenlignet med gul og grøn kategori. For mange af arterne ses en stor spredning mellem mindste og største *DNA-reads*. Dette skyldes, at skimmelsvampevækst sjældent består af kun én skimmelsvampeart, men normalt udgøres af flere arter og at artssammensætningen kan variere fra husstand til husstand. I dette studium er især *Cladosporium sphaerospermum* komplekset og *Wallemia* slægten samt gærsvampeslægterne *Debaryomyces* og *Tausonia* de hyppigst forekommende i rød kategori, men langt mindre talrig i gul og grøn kategori. Tabel 7 viser også, at

antallet af *DNA-reads* for de kendte vandskadeskimmelsvampe (*Chaetomium globosum*, *Stachybotrys chartarum* og *Trichoderma harzianum*) var lave, hvilket indikerer at ingen af de undersøgte husstande så ud til at have decideret vandskader på det tidspunkt, hvor prøverne blev taget.

4.3.4 Skimmelsvampebelastningen

Tabel 8 viser den samlede belastning af alle typer af svampe og gær fra fødevarer, det omgivne miljø og den skimmelsvampevækst, der måtte være i husstanden. Det ses af tabellen, at prøver i rød kategori har et højere gennemsnitlig antal *DNA-reads/m²* sammenlignet med både gul og grøn kategori. Det ses også, at gennemsnittet for lejeboliger generelt er højere end det totale gennemsnit i alle 3 kategorier.

TABEL 8. Den samlede svampebelastning af alle 82 svampe (total *DNA-reads/m²*) for alle 66 ordinære prøver. Gennemsnit (gen), mindste (min) og største (max) værdi af prøverne er opdelt i rød, gul og grøn kategori.

Bolittype (antal prøver)	Røde (n=14)			Gule (n=18)			Grønne (n=34)		
	Gen	min	max	Gen	min	max	Gen	min	max
Total (14, 19, 37)	36.537	18.894	107.792	22.922	11.004	52.406	19.676	5.240	90.134
Hus (5, 13, 26)	29.584	13.756	48.574	24.287	11.004	52.406	19.191	5.614	90.134
Ejerlejlighed (6, 3, 8)	34.266	19.762	70.910	15.403	13.122	18.102	16.470	5.240	30.408
Lejelejlighed (3, 3, 3)	52.669	18.894	107.792	24.527	15.782	35.288	32.436	5.302	64.740

Det fremgik af spørgeskemaerne at 4 prøver ud af de 66 ordinære havde fået konstateret skimmelsvampevækst af professionelle sagkyndige. Tre af disse husstande lå i den røde kategori, mens den sidste lå i den grønne kategori. Tabel 9 viser svarene fra spørgeskemaet på spørgsmål om skimmelvækst og fugt i husstanden. Hovedparten af husstande i rød kategori kan hverken lugte, se eller har mistanke om fugt og skimmelsvampevækst, og 11 ud af 14 husstande (79 %) i rød kategori er tilfreds med deres indeklima. Det samme gælder de to andre kategorier, hvor henholdsvis 14 ud af 18 husstande (78 %) i gul kategori og 31 ud af 34 husstande (91 %) i grøn kategori er tilfredse med deres generelle indeklima. Dette indikerer, at der er husstande blandt de 66 ordinære prøver, der kan have skimmelsvampevækstproblemer, som ikke er opdaget eller indset af beboerne.

TABEL 9. De 66 ordinære husstande opdelt på kategori og svar på spørgsmål. #: spørgsmålsnummer i spørgeskemaet om fugt, lugt og skimmelsvampe i indeklimaet.

Spørgsmål (#) / svar	Røde (n=14)			Gule (n=18)			Grønne (n=34)		
	Ja	Ved ikke	Nej	Ja	Ved ikke	Nej	Ja	Ved ikke	Nej
Mistanke om fugt (52)	4	3	7	1	1	16	4	3	27
Synlige fugtskjolder (49)	4	0	10	2	1	15	4	1	29
Mistanke om skimmel (56)	2	3	9	3	0	15	1	3	30
Synlig skimmelvækst (53)	2	3	9	1	1	16	5	2	27
Jordslåen lugt i boligen (47)	3	0	11	2	0	16	3	1	30
Jordslåen lugt på tøj (48)	0	0	14	1	0	17	1	1	32
Tilfreds med indeklimaet (57)	11	0	3	14	1	3	31	0	3

4.3.5 Reproducerbarhed af støvsugerstøv og sedimenteret støv

I én husstand blev der taget flere støvsugninger gennem forsøgsperioden. Husstanden består af 2 voksne og 1 hund og har aldrig været vandskadede eller haft fugtproblemer. Der er blevet taget støvprøver fra 3 støvsugninger i løbet af forsøgsperioden og ved

prøvetagningen i oktober 2021 blev der også taget 2 støvprøver med sterile vatpinde; én på en billedramme, som støves af ca. hver 3. måned og én på en dørkarm, som meget sjældent bliver støvet af. Tabel 10 viser et udvalg af de skimmelsvampearter, der blev fundet, samt om de kommer fra fødevarer (F), det omgivende miljø (M) eller er fra bygningen selv (B). Der er god reproducerbarhed mellem både de detekterede skimmelsvampearter og antallet af DNA-reads for den enkelte art. Tabel 10 viser, at nogle svampesporer fra udeluften og fødevarer ophobes i gammelt støv (fx *Alternaria infectoria* kompleks *Aspergillus* sektion *Aspergillus* og *Botrytis* spp.), mens andre svampesporer går til grunde med tiden (fx *Didymella macrostoma* og *Knufia* spp.). Årstiden spiller også en rolle for sammensætningen af især skimmelsvampe fra det omgivende miljø. Nogle skimmelsvampe (fx *Knufia* spp. og *Cladosporium herbarum* komplekserne) opformerer i naturen i foråret og deres DNA-reads er derfor meget højere i forårs- og sommermånederne, hvilket også gælder for det totale antal DNA-reads. Endvidere ses det at *Knufia* sporerne nedbrydes hurtigere, og derfor ikke ophobes i støv i samme mængde, som sporerne fra de to *Cladosporium*-komplekser gør. Tabel 10 viser også, at boligens antal DNA-reads for bygnings-associerede skimmelsvampearter (mærket med B i Tabel 10) er lave, men at de samlede DNA-reads for alle 82 svampe er høje og svinger med årstiden.

TABEL 10. Støvsugerposestøv og sedimenteret støv taget på forskellige tidspunkter i den samme husstand. Antal DNA-reads er givet for udvalgte skimmelsvampearter og -slægter sammen med deres oprindelse. Bygning (B), fødevarer (F) og omgivende miljø (M) samt det totale antal DNA-reads for hele prøven.

Skimmelsvampeart	Dato	Støvsugerposestøv			Støv billede	Støv dørkarm
		nov-2020	mar-2021	okt-2021	okt-2021	okt-2021
<i>Aspergillus</i> sektion <i>Restricti</i>	B	12	2	0	2	6
<i>Chaetomium</i> spp.	B	0	0	0	0	24
<i>Cladosporium sphaerospermum</i> kompleks	B	54	116	114	64	172
<i>Debaryomyces</i> spp.	B	30	336	4	2	2
<i>Didymella macrostoma</i>	B	128	324	72	12	6
<i>Monocillium tenue</i>	B	0	0	0	0	0
<i>Penicillium chrysogenum</i>	B	0	0	0	0	0
<i>Stachybotrys</i> spp.	B	0	0	0	0	0
<i>Tausonia pullulans</i>	B	16	798	24	10	0
<i>Wallemia muriae</i>	B	4	8	2	10	8
<i>Aspergillus</i> Sektion <i>Nigri</i>	F	0	0	0	12	50
<i>Aspergillus</i> Sektion <i>Aspergillus</i>	F	28	122	110	718	4.236
<i>Botrytis</i> spp.	F	262	726	454	554	1.302
<i>Alternaria infectoria</i> kompleks	M	226	294	550	584	2.626
<i>Cladosporium cladosporioides</i> kompleks	M	2.264	5.558	3.342	2.290	3.216
<i>Cladosporium herbarum</i> kompleks	M	1.106	2.684	3.692	4.066	6.502
<i>Epicoccum nigrum</i>	M	512	810	1.612	1.988	1.486
<i>Knufia</i> spp.	M	72	2.414	202	44	78
<i>Pseudopithomyces chartarum</i>	M	564	284	3.966	4.778	5.678
Total DNA-reads for alle 82 svampe		7.446	28.012	19.288	17.222	28.456



5

DISKUSSION

5 DISKUSSION

5.1 Boligens beskaffenhed og husstandens vaner

5.1.1 Husstandens sammensætning

Svarprocenten på spørgeskemaerne i dette studium var lidt under 14 %, hvilket er lavere end en tilsvarende undersøgelse fra 2001 (Gunnarsen 2001), hvor svarprocenten var på 28 %. Da svarprocenten er så lav, giver det ikke nogen mening at lave statistik på tallene, men kun give mindste og største værdier og pege på mulige tendenser i resultaterne.

Undersøgelsen fra 2001 omhandlede kun lejligheder, så følgende sammenligninger er baseret på de 25 lejligheder, der deltog i dette studium. Der var gennemsnitlig 1,6 voksne og 0,2 børn per lejlighed (1,9 voksne og 0,3 børn totalt) sammenlignet med 1,4 voksne og 0,4 børn i 2001. En nærliggende forklaring er corona-epidemien, at forældre med børn har haft mindre overskud til at deltage i forsøgene i forhold til at få en hverdag til at hænge sammen.

5.1.2 Boligens indeklime

Undersøgelsen fra 2001 (Gunnarsen 2001) viste, at 22 % rapporterede om fugt og skimmel-svampevækst i deres lejligheder. I dette studium var det 16 %, der rapporterede, at der var fugt og skimmelvækst i deres lejligheder, men fordeling på ejer- og lejelejligheder var iøjne-faldende med henholdsvis 0 % og 25 % (Tabel 6). Derudover var der henholdsvis 8 og 22 %, der havde mistanke om skimmelsvampevækst et eller andet sted i boligen. Sammenlignet med undersøgelsen i 2001, hvor der blev luftet ud dagligt i 74 % af lejlighederne, er tallet på 80 % for lejligheder i denne undersøgelse. Resultaterne viser endda, at beboerne i 89 % af lejeboligerne lufter ud dagligt sammenlignet med 75 og 51 % for henholdsvis ejerlejligheder og huse. Til gengæld tørrer flere lejere tøj indendørs (33 %) sammenholdt med ejere af lejligheder (25 %) og huse (14 %).

Resultaterne viser også, at der er forskel på indretningen i de undersøgte boliger. Hvor næsten alle ejerboliger havde termoruder, så var dette kun tilfældet i 86 % af lejelejlighederne (Tabel 5). Resultaterne viser også, at færre lejelejligheder (56 %) og ejerlejligheder (63 %) havde emhætte end husene (91 %). Det lader også til, at en højere andel af lejelejligheder har problemer med kolde gulve og ydervægge end andelen af ejerboliger.

Resultaterne indikerer, at der kan være større problemer med kuldebroer, fugt og skimmelsvampevækst i lejelejligheder end i ejerboliger. Årsagerne kan være mange. Vedligeholdelsesstandarder kan være lavere i lejeboliger end i ejerboliger, da ejeren selv har mulighed for at handle hurtigt på et fugt- eller skimmelsvampeproblem, mens en lejer måske først skal kontakte en vicevært, som så skal have "OK" fra en bestyrelse, til at undersøge evt. problemer. Andre årsager kan være, at husejere som regel har mulighed for at tørre tøj udendørs og lettere kan installere emhætter og skifte vinduer, mens beboere i lejligheder ofte ikke har disse muligheder.

5.2 Støvopsamling

Metoden med at støvsuge hele boligen fremfor at tage en støvprøve på et afgrænset areal, virker brugbar, når man ikke ved om eller hvor, der er skimmelsvampevækst. Det har ikke været muligt at finde tilsvarende forsøg beskrevet i den internationale litteratur. I de få studier, hvor der bruges støvsuger, støvsuges kun 1 m² tæppe eller 4 m² bart gulv i dagligstuen, og der anvendes modificerede udgaver af ERMI til at vurdere og kategorisere resultatet (Täubel et al. 2016; Adams et al. 2020).

Nærværende studium tyder på, at det mest pålidelige resultat opnås, når der bruges en støvsuger med pose, og posen derefter støvsuges for det fine støv. De 17 husstande, hvor der er støvsuget med en poseløs støvsuger, ligger alle på nær én, i den grønne kategori og indeholder en mindre mængde fint støv sammenlignet med støvmængden fra en støvsugerpose. Om dette er et validt resultat, eller om skimmelsvampesporerne sidder i HEPA-filtret på de poseløse støvsugere, og derfor ikke kommer med i prøverne, bør undersøges nærmere. Yderligere bør det undersøges, hvor i støvsugerposen skimmelsporerne deponeres. Hvis de sidder på indersiden af posen og kan opsamles med en håndholdt støvsuger, kan en omstændelig og tidskrævende fraktionering undgås.

Resultaterne viser også, at støvet ikke behøver at være ældre end maksimalt 3 uger og at selv ugegammelt støv vil indeholde fugt-skimmelsvampe, hvis der er kilder til dem i boliger. Fordelen ved at bruge støvsugerposestøv er, at prøverne kan tages uden invasive indgreb i boligen og endda uden at sagkyndige eller andre udefrakommende personer involveres. Det er dog nødvendigt at validere metoden på boliger, hvor der er vandskader, der endnu ikke er blevet renoveret.

Fraværet og den ringe mængde af henholdsvis *Aspergillus versicolor* og *Penicillium chrysogenum*, som er de to mest almindelige skimmelsvampearter i indeklimaet (Andersen et al. 2011), bør også undersøges nærmere. Nogle skimmelsvampesporer er mere elektrisk ladet end andre, når luftfugtigheden er høj (Górny et al. 2018) og en mulighed er, at sporerne kan klæbe til indersiden af støvsugerslagen eller klæber til hår og andre fibre i posen og derfor ikke havner i det fine støv, som analyseres. En anden mulighed er at disse sporer er så lette, at de deponeres på andre overflader og kun i ringe omfang havner på gulvet. En tredje mulighed er at de ikke forekom i de boliger, der blev undersøgt i dette studium.

5.3 Skimmelsvampesammensætningen og -belastning

5.3.1 Sekvensering og identifikation af skimmelsvampe fra støvprøver

Fordelene ved DNA-sekvensering er, at man får både levende og døde sporer identificeret, og at man kommer ud over problemet med den selektion af arter, som sker, når man dyrker svampene på agarplader. Der kan bruges to forskellige metoder til DNA-sekvensering, hvor man enten bruger én uspecifik/universal primer og få alle svampe med eller bruger flere specifikke primere og kun få det antal svampe som man har primere for.

Den metode, som bruges i EMRI studierne (Vesper et al. 2013; Täubel et al. 2016), er baseret på specifikke primere, som er unikke for hver svamp. Dette medfører at man kun får DNA-sekvenser for det antal af svampe man har primere for. Fordelen er, at man ikke skal identificere yderligere, mens ulempen er, at analyserne ikke kan udvides med nye svampe uden at man skal udvikles nye primere.

Den metode, der er brugt i dette studium, er baseret på én universal primer (ITS-primer), der binder til en DNA-sekvens, som alle svampe har. Ulemperne er, at det ikke er muligt at udføre en automatisk identifikation af hver DNA-sekvens til artsniveau, da databaserne indeholder mindst 30 % fejlidentificerede sekvenser (Ouellette 2001; Hofstetter et al. 2019; Andersen et al. 2021), og at der mangler registrerede typekulturer for mange indeklimasvampe. En løsning på dette problem er, at man manuelt matcher hver enkelt DNA-sekvens, men dette er enormt tidskrævende, og derfor blev kun ca. 500 relevante OTU'er undersøgt manuelt. Sikker identifikation af en DNA-sekvens kræver desuden et stort kendskab til stammesamlinger og den nyeste taksonomi på området. En anden løsning er, at man opretter en dansk database bestående af kuraterede DNA-sekvenser af relevante fugt- og vandskadesvampe, der forekommer i danske bygninger.

Resultaterne af den manuelle sekvensering viser stor variation i det samlede antal af *DNA-reads* fra husstand til husstand og især mellem lejelejligheder og ejerboliger (Tabel 8). Dette behøver ikke at skyldes skimmelsvampevækst i boligen, men kan lige så godt være udtryk for hyppig udluftning (ophobning af fx jord- og planteassocierede skimmelsvampe fra miljø omkring boligen) og/eller lav rengøringsniveau (ophobning af fx jord- og fødevareassocierede skimmelsvampe). Husstande omgivet af skov og marker vil have højere *DNA-reads* af *Alternaria* og *Cladosporium* arter end husstande i bymæssig bebyggelse.

Derudover kan fødevareassocierede skimmelsvampe som fx *Botrytis* spp., som det ses af Tabel 10, give et stor bidrag til det samlede antal *DNA-reads*, hvis frugt eller grønt mugner inden det er blevet spist. Forfatterens egen husstand (Tabel 10) ligger tæt på både marker og skov og har derfor et stort antal *DNA-reads* af *Knufia* spp., *Cladosporium cladosporioides* og *herbarum* komplekser i det tidlige forår, hvor disse svampe begynder at formere sig. Tabel 10 viser også at der er et vist baggrunds niveau af Gruppe 1 svampe (fugt- og vandskade skimmelsvampe) selv i tørre boliger (Andersen et al. 2021). Især skimmelsvampe, som *Didymella macrostoma* og *Cladosporium sphaerospermum*, findes i de fleste boliger, da de vokser i den elastiske fugemasse i badeværelser og vinduer (ikke publicerede resultater), tilsyneladende uden store påvirkning af indeklimaet.

5.3.2 Opdeling af skimmelsvampearter i grupper

Skimmel- og gærsvampe er ligesom planter og dyr associeret til forskellige habitater og nicher. *Knufia* arter findes fx ofte på stensætninger og klipper (Tsuneda et al. 2011), mens *Alternaria infectoria* komplekset er tæt knyttet til græsser og cerealier (Hertz et al. 2016), og forskellige *Botrytis* arter ødelægger jordbær, vindruer og anden blød frugt (Samson et al. 2019).

Fugtige og våde byggematerialer og interiør har også deres egne associerede skimmel- og gærsvampe. Nogle slægter som *Chaetomium* og *Stachybotrys* er tæt knyttet til våd gips og pap (Andersen et al. 2017), mens fx *Trichoderma* ofte angriber vådt træ, krydsfiner og OSB (Andersen et al. 2011; Samson et al. 2019). Det er især disse skimmelsvampeslægter, man ser i bygninger efter vandskader sammen med *Aspergillus versicolor* og *Penicillium chrysogenum*. Andre skimmelsvampearter og -slægter behøver ikke vandskader, men vokser hvor luftfugtigheden er forhøjet (> 65 % RF) (Adan et al. 2011). Arter i *Cladosporium sphaerospermum* komplekset er især almindelige hvor fugtigheden er høj eller svingende (Bensch et al. 2018; Samson et al. 2019), mens *Wallemia* arter trives ved luftfugtigheder < 85 % RF (Díaz-Valderrama et al. 2017; Zajc & Gunde-Cimerman 2018).

Nogle skimmelsvampeslægter og -sektioner kan dog rumme arter, der anses for at tilhøre fødevaregruppen, men hvor der ses en forhøjet forekomst i husstande i rød kategori. I Tabel

7 falder antallet af *DNA-reads* for *Aspergillus* sektion *Aspergillus* (tidligere benævnt *Eurotium*) på samme måde som fugt- og vandskade-svampene i Gruppe 1. Det bør derfor undersøges, om nogle af disse arter også er associeret til fugtige byggematerialer. Andre gær- og skimmelsvampeslægter forbindes traditionelt kun med fødevarer, som fx *Debaryomyces hansenii*, der bruges i fremstillingen af ost. Men denne gærsvamp er også isoleret fra jord og er blevet detekteret på malet murværk i bygninger (Andersen et al. 2021). Det er derfor nødvendigt at revidere den traditionelle opfattelse af, at fødevaressvampe og -gær også kan finde voksesteder i fugtige og vandskadede bygninger.

5.3.3 Beregning af et dansk skimmel-indeks

Det amerikanske ERMI, som var inspirationen til dette studium (Vesper et al. 2006; 2007; 2009; 2013) har fokus på skimmelsvampe, der giver allergi og astma, hvilket ikke nødvendigvis kun er de skimmelsvampe, der findes i fugt- og vandskadede boliger. Derudover opdeler Vesper et al. skimmelsvampene i to grupper (der er forskellige fra grupperne i dette studium), hvorefter antallet fra hver gruppe transformeres logaritmisk og trækkes fra hinanden. Trods det at hverken fødevaressvampe eller svampe fra det omgivne miljø kan betragtes som noget positivt for indeklimaet, vil ERMI-metoden trække disse arter, slægter eller grupper fra i beregningerne, hvilket ikke vil give mening i dette studium, når fokus er udelukkende på fugt- og vandskadede boliger og bygninger.

I dette studium bruges i stedet alle de relevante skimmelsvampe tilhørende Gruppe 1 uden fratrækning og uden log-transformation. Ved at lægge alle *DNA-reads* sammen og dividere med boligens størrelse i kvadratmeter, fået et tal/værdi (*DNA-reads/m²*), der muliggør at boliger kan sammenlignes uanset størrelse. Gruppe 1 kan revideres efter behov, hvis der skulle vise sig andre arter og slægter, der er relevante for fugtige og våde bygninger.

En anden måde at udregne et indeks på er igen at bruge det samlede DNA read for Gruppe 1, men i stedet for at dividere med boligens størrelse, så divideres der med gram støv til DNA-analyseret; i dette tilfælde 50 mg. Resultaterne af de to udregningsmetoder er næsten ens (Se bilag 3). Forskellen ligger i de gule husstande, der er tæt på enten rød eller grøn kategori og derfor skifter kategori alt efter hvor grænseniveauerne lægges. SBI-anvisning 274 betragter skimmelsvampebelastningen som lav ved mindre end 1.000 CFU/g ikke-fraktioneret gulvstøv ved dyrkning på agarplader (CFU: Colony Forming Unit (kolonidannende enhed)). Dette svarer til 1 CFU/mg, som igen svarer til en levedygtig svampesporer/mg støv i laveste kategori. I dette studium var grænseniveauet for lavest, grøn kategori 50 *DNA reads/mg*, men de to værdier kan ikke helt sammenlignes, da dyrkningen ikke finder døde svampesporer, som DNA-metoden gør og at 1 CFU kan dække over en klump af sporer, som DNA-metoden ville angive som mere end 1 *DNA read*. Regnes der på de totale tal i Andersen et al. (2021) er der ca. 400 gange så mange *DNA reads* pr. CFU, men de to metoder er heller ikke fuldstændig sammenlignelige.

5.4 Kategorisering af husstandene

Grænseniveauerne mellem de 3 kategorier (rød-gul-grøn i Fig. 3) er baseret på kun 3 boliger, og der er behov for at undersøge om niveauerne er sat korrekt. De 4 kontrolprøver, hvor der var konstateret skimmelsvampevækst af en sagkyndig, faldt i grøn og gul kategori. Dette kan skyldes, at skaderne var konstateret inden beboerne blev inviteret med i forsøget. Beboerne kan derfor have ændret adfærd inden støvsugning til dette studium fandt sted. Skærpet rengøring og hyppigere udluftning kan i sig selv virke udtørrende og inaktiverende på skimmelvæksten, hvorved produktionen af nye sporer til indeklimaet ophører. Niveauerne

kan revurderes ved at støvsuge og gennemgå boliger samtidig, så støvprøven og boligens tilstand kan vurderes samlet.

For at kunne sætte bedre og sikre græsniveauer – uanset hvilken beregningsmetode, der anvendes – er det nødvendigt også at inkludere decideret vandskadede boliger i nye forsøg. Ingen af de kendte vandskade-arter (fremhævet med fed i Tabel 1) blev fundet i nævneværdige antal i dette studium, hvilket indikerer at kun boliger med forhøjede fugtniveauer deltog.

5.5 Respondenter og spørgeskemaundersøgelse

Respondenterne til dette studium blev udvalgt via et tilfældigt udtræk af husstande fra BBR. Ulemperne ved denne metode er, at respondenterne kun kan kontaktes eller evt. mindes om deltagelse i undersøgelsen via et ekstra brev med porto. Invitation gennem E-Boks vil gøre det muligt at svare elektronisk på spørgeskemaet og sende remindere og dermed måske opnå en større tilslutning til fremtidige undersøgelser. En anden mulighed er at "annoncere" forsøg og undersøgelser på de sociale medier og få respondenter til at "melde sig frivilligt".

5.5.1 Spørgeskemaet

Da mange fugt- og vandskade-svampe har præferencer for enten organiske (fx gips og OSB) eller uorganiske (fx fuger og puds) byggemateriale, vil det være nærliggende at udvide spørgeskemaet med spørgsmål om boligens materialevalg. Nye, ombyggede eller renoverede boliger er ofte udført med gips/OSB-konstruktioner (organiske), mens ældre boliger ofte er mursten/tegl-konstruktioner (uorganiske), hvilket kan have stor indflydelse på de gær- og skimmelsvampearter, der kan vokse i de pågældende boliger (Andersen et al. 2021).

5.5.2 Husstandenes opfattelse af deres indeklima

Tabel 9 viser beboernes egne observationer og egen opfattelse af deres indeklima fordelt på kategorier. Det er lidt overraskende, at der er så relativt få i rød kategori, der er utilfredse med deres indeklima, og at der til gengæld er nogle, der er utilfredse i grøn kategori. Spørgeskemaet bør derfor udvides med spørgsmål, der er mere specifikke omkring hvad utilfredsheden handler om; om det fx er de termiske forhold eller nabogener, der er utilfredsstillende.

Med hensyn til mulig skimmelsvampevækst i boligen ser det ud til at være svært for den enkelte beboer at vurdere om skimmelsvampe er et problem eller ej, da fx 9 ud af 14 boliger i rød kategori ikke har mistanke om skjult skimmelsvampevækst. Ud fra Tabel 5, 6 og 8 kunne noget tyde på at det især er lejelejligheder, der kan være sårbare overfor fugt- og skimmelp problemer, men dog skal det begrænsede antal besvarelser tages i betragtning.



6

KONKLUSION

6 KONKLUSION

Resultaterne i dette studium indikerer, at støv fra en støvsugerpose opsamlet fra hele boligen kan bruges som screeningsredskab til vurdering af, om en bolig har skimmelsvampevækst forårsaget af høj fugtighed eller uopdaget vandskade. Resultaterne er dog ikke blevet valideret ved besøg hos respondenterne på grund af corona-epidemien.

Anvendelse af én uspecifik DNA-primer (ITS) og efterfølgende sekvensering synes at være en god metode til detektion af alle gær- og skimmelsvampearter i indeklimaet. Metoden giver fleksibilitet, men kræver også mere manuelt arbejde. Derfor bør der oprettes en database med kuraterede (korrekt identificerede) DNA-sekvenser for alle Gruppe 1 svampe.

Ved at bruge danske studier om skimmelsvampevækst på våde byggematerialer, på traditionelle danske fødevarer og i den danske natur, er der blevet lavet en bruttoliste (Gruppe 1 svampe) over de gær- og skimmelsvampearter, der er relevante for et dansk skimmelindeks. Resultaterne viser også, at det er muligt at beregne et skimmelindeks, enten som *DNA reads/m²* støvsuget boligareal eller som *DNA reads/mg støv* analyseret, når baggrundsniveauet for Gruppe 1 svampe er fundet ved validering.

Dette studium har resulteret i følgende erfaringer:

- Der skal bruges en traditionel støvsuger med pose.
- Det fine støv fra posesiderne skal opsamles og inkluderes.
- Gruppe 1 med fugt- og vandskadeskimmelsvampe er ikke ultimativ, men dynamisk og nye arter bør evalueres og inkluderes efterhånden, som vores viden om de enkelte arter øges.
- Grænseniveauerne for de 3 kategorier kan først fastlægges, når det er muligt at validere resultaterne ved en fysisk gennemgang af boligen sammenholdt med en standardiseret støvsugning taget på samme tidspunkt.

REFERENCER

7 REFERENCER

- Adams, R. I., Sylvain, I., Spilak, M. P., Taylor, J. W., Waring, M. S. & Mendell, M. J. (2020). Fungal signature of moisture damage in buildings: identification by targeted and untargeted approaches with mycobiome data. *Applied and environmental microbiology*, 86 (17), e01047-20.
- Adan, O. C., Huinink, H. P., & Bekker, M. (2011). Water relations of fungi in indoor environments. In *Fundamentals of mold growth in indoor environments and strategies for healthy living* (pp. 41-65). Wageningen Academic Publishers, Wageningen.
- Andersen, B., Dosen, I., Lewinska, A. M. & Nielsen, K. F. (2017). Pre-contamination of new gypsum wallboard with potentially harmful fungal species. *Indoor Air*, 27 (1), 6-12.
- Andersen, B., Frisvad, J. C., Dunn, R. R., & Thrane, U. (2021). A pilot study on baseline fungi and moisture indicator fungi in Danish homes. *Journal of Fungi*, 7 (2), 71.
- Andersen, B., Frisvad, J. C., Søndergaard, I., Rasmussen, I. S. & Larsen, L. S. (2011). Associations between fungal species and water-damaged building materials. *Applied and environmental microbiology*, 77 (12), 4180-4188.
- Bensch, K., Groenewald, J. Z., Meijer, M., Dijksterhuis, J., Jurjević, Ž., Andersen, B., Houbraken, J., Crous, P.W. & Samson, R. A. (2018). *Cladosporium* species in indoor environments. *Studies in Mycology*, 89, 177-301.
- Díaz-Valderrama, J. R., Nguyen, H. D. & Aime, M. C. (2017). *Wallemia peruviansis* sp. nov., a new xerophilic fungus from an agricultural setting in South America. *Extremophiles*, 21 (6), 1017-1025.
- EPA (2021). https://www.epa.gov/system/files/documents/2021-09/updated-fact-sheet.ermi-9.9.21.final_new-template_508-compliant_0.pdf
- Górny, R. L., Gołofit-Szymczak, M., Cyprowski, M., Stobnicka, A. & Ławniczek-Wałczyk, A. (2018). Effect of electrical charges on potential of fibers for transport of microbial particles in dry and humid air. *Journal of Aerosol Science*, 116, 66-82.
- Gunnarsen, L. B. (2001). Fugt, ventilation, skimmelsvampe og husstøvmider: En tværsnitundersøgelse i lejligheder. Statens Byggeforskningsinstitut
- Hertz, M., Jensen, I. R., Jensen, L. Ø., Thomsen, S. N., Winde, J., Dueholm, M. S., Sørensen, L. H., Wollenberg, R. D., Sørensen, H. O., Søndergaard, T. E. & Sørensen, J. L. (2016). The fungal community changes over time in developing wheat heads. *International journal of food microbiology*, 222, 30-39.
- Hofstetter, V., Buyck, B., Eyssartier, G., Schnee, S. & Gindro, K. (2019). The unbearable lightness of sequenced-based identification. *Fungal Diversity*, 96 (1), 243-284.
- Nevalainen, A., Täubel, M. & Hyvärinen, A. (2015) Indoor fungi: companions and contaminants. *Invited Review, Indoor Air* 25, 125-156.
- Ouellette, F. (2001). Users must help to keep public databases correct. *Nature*, 409 (6819), 452-452.
- Pathakumari, B., Liang, G. & Liu, W. (2020). Immune defence to invasive fungal infections: a comprehensive review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 130, 110550.
- Samson, R. A., Houbraken, J., Thrane, U., Frisvad, J. C. & Andersen, B. (2019). *Food and indoor fungi*. Westerdijk Fungal Biodiversity Institute.
- SBi anvisning 274. Thrane, U., Olsen, K. C., Brandt, E., Ebbenhøj, N. E. & Gunnarsen, L. (2020). Skimmelsvampe i bygninger – undersøgelse og vurdering. BUILD, Aalborg Universitet
- Täubel, M., Karvonen, A. M., Reponen, T., Hyvärinen, A., Vesper, S. & Pekkanen, J. (2016). Application of the environmental relative moldiness index in Finland. *Applied and environmental microbiology*, 82 (2), 578-584.
- Thrane, U., Andersen, B. & Nielsen, K. F. (2001). Skimmelsvampe og indeklimakvalitet. *Dansk Kemi*, 82 (2), 33-35.

- Tsuneda, A., Hambleton, S., & Currah, R. S. (2011). The anamorph genus *Knufia* and its phylogenetically allied species in *Coniosporium*, *Sarcinomyces*, and *Phaeococcomyces*. *Botany*, 89 (8), 523-536.
- US EPA (2013). Report No 13-P-0356, Washington, DC, U.S. Environmental Protection Agency, Office of Inspector General.
- Vesper, S. J., McKinstry, C., Ashley, P., Cox, D., DeWalt, G. & Lin K-T (2009) Screening tools to estimate mould burdens in homes. *Journal of occupational and environmental medicine*, 51, 80-86.
- Vesper, S. J., McKinstry, C., Haugland, R. A., Wymer, L., Ashley, P., Cox, D., DeWalt, G. & Friedman W (2007). Development of an environmental relative mouldiness index for homes in the US. *Journal of occupational and environmental medicine*, 49 (8), 829-833.
- Vesper, S. J., McKinstry, C., Yang, C., Haugland, R. A., Kerckmar, C. M., Yike, I., Schluchter, M. D., Kirchner, H. L., Sobolewski, J., Allan, T. M. & Dearborn, D. G. (2006). Specific molds associated with asthma in water-damaged homes. *Journal of occupational and environmental medicine*, 48 (8), 852-858.
- Vesper, S., Barnes, C., Ciaccio, C. E., Johanns, A., Kennedy, K., Murphy, J. S., Nunez-Alvarez, A., Sandel, M. T., Cox, D. & Ashley, P. J. (2013). Higher environmental relative moldiness index (ERMI) values measured in homes of asthmatic children in Boston, Kansas City, and San Diego. *Journal of Asthma*, 50 (2), 155-161.
- Zajc, J., & Gunde-Cimerman, N. (2018). The genus *Wallemia*—from contamination of food to health threat. *Microorganisms*, 6 (2), 46.



8

BILAG

8 BILAG

Bilag A – Spørgeskema

Spørgeskema til FORSKNINGSPROJEKT OM SKIMMELSVAMPE I BOLIGEN

AAU løbnummer (udfyldes af AAU)	
---	--

1. Boligens adresse

Gade/vej	Nummer	Etage	Postnummer og by

2. Fysisk besøg

	Ja	Nej
Hvis din bolig er blandt de 20, vi udvælger til at teste vores foreløbige resultater, må vi komme på besøg og udføre supplerende målinger?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Hvis "ja", skriv venligst kontaktoplysninger (navn og e-mail/telefon):		

AAU løbnummer (udfyldes af AAU)	
---	--

Baggrund for undersøgelsen.

Skimmelsvampevækst kan være en årsag til et dårligt indeklima. Vores forskningsprojekt går ud på, at undersøge om vi kan bruge støvet fra støvsugeren til at påvise skimmelsvampevækst uden fysisk besøg og uden at ødelægge boligen.

Der er tre hovedkilder til skimmelsvampesporer i indeklimaet: 1) udeluften, 2) vores madvarer og 3) skimmelsvampevækst et eller andet sted i boligen. For at kunne skelne mellem de forskellige kilder i vores analyser, vil vi gerne vide noget om boligen, husstanden og dine/jeres vaner.

3. Husstandens størrelse og sammensætning.

Skriv 0 eller antal i hvert felt

	Permanent	Delebasis
Antal voksne		
Antal børn under 18 år		
Antal hunde		
Antal katte		
Antal gnavere		
Antal potteplanter		
Hvor stort er boligens areal (i kvadratmeter)?	Antal m ² :	
Hvor mange år har du/I boet i boligen?	Antal år:	

1. Boligens udluftnings/ventilationsmuligheder.

Sæt ét X i hver linje

	Ja	Nej	Ved ikke
Er der udluftnings-ventiler/spalter i vinduesrammerne?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Er der oplukkeligt vindue(r) i badeværelset?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Er der en aftræks-åbninger/kanal i badeværelset?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Er der mekanisk udsugningsventilator i badeværelse?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Er der en aftræks-åbninger/kanal i køkkenet?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Er der mekanisk udsugningsventilator i køkkenet?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Er der emhætte med aftræk til det fri i køkkenet?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Er der mekanisk ventilationssystem med både indblæsning og udsugning der dækker hele boligen?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

2. Husstandens fugtproduktion og udluftningsrutiner.

Sæt ét X i hver linje

	Dagligt/ hver gang	En gang i mellem	Aldrig/ sjældent
Hvor ofte tørres der større mængder vasketøj indendørs?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Hvor ofte tørres/skrabes bruse-området/kabinen af efter bad?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Hvor ofte bruges gaskomfur/gasovn (hvis ingen gas, skriv "aldrig")?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Hvor ofte er der dug på vinduerne selv om det ikke er frostvejr?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Hvor ofte luftes boligen ud med gennemtræk på 3-5 min.?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Oplever du/I andre problemer med fugt eller udluftning i boligen?

3. Fødevarer, der ofte findes i køkkenet/boligen.

Vi vil gerne vide hvilke råvarer, der har været i boligen inden for den sidste måned.

Sæt ét X i hver linje

	Altid/ ofte	En gang i mellem	Aldrig/ sjældent
Løg eller hvidløg?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Kartofler, gulerødder eller andre rodfrugter?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Æbler, pærer eller anden blød frugt?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Appelsiner, klementiner eller andre citrusfrugter?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Franskbrød eller grovbrød?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Rugbrød?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Blå- eller hvidskimmelost?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Ja	Nej	Ved ikke
Er der en kompostspand/holder til madaffald indendørs?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

1. Husstandens rengøringsrutiner.

Vi vil gerne vide hvor ofte, der er gjort rent inden for den sidste måned.

Sæt ét X i hver linje

	Ja	Nej	Ved ikke
Tørres støv af vandrette overflader 1 eller flere gange om ugen?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Tørres støv af vandrette overflader 1 gang hver 14. dag?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Tørres støv af vandrette overflader 1 gang hver 3. uge eller mindre?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Støvsuges gulve og tæpper 1 eller flere gange om ugen?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Støvsuges gulve og tæpper 1 gang hver 14. dag?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Støvsuges gulve og tæpper 1 gang hver 3. uge eller mindre?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Er der HEPA filter i støvsugeren?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Er der væg-til-væg tæpper nogen steder i boligen?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

2. Boligens renoverings- og fugtskadehistorie.

Vi vil gerne vide om boligen er blevet renoveret, bygget om eller har været fugt- eller vandskadet inden for det sidste år.

Sæt ét X i hver linje

	Ja	Nej	Ved ikke
Er boligen blevet renoveret inden for det sidste år (f.eks. nyt køkken eller bad)?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Er boligen blevet bygget om/til inden for det sidste år (f.eks. loft eller kælder til beboelse)?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Har boligen været fugt- eller vandskadet i større omfang inden for det sidste år?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Gik der mere end en måned inden skaden blev udbedret?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Blev der konstateret skimmelsvampevækst på vægge, under gulve eller i lofter af professionelle rådgivere?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Var fugt- eller vandskaden så stor, at der skulle renoveres af professionelle håndværkere?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Er der termoruder/vinduer i boligen?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

3. Husstandens opfattelse af boligens nuværende indeklima.

Vi vil gerne vide om du/I har observeret kulde, fugt, lugt eller skimmel i boligen inden for det sidste år.

Sæt ét X i hver linje

	Ja	Nej	Ved ikke
Føles ydervæggene kolde om vinteren?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Er der somme tider fodkoldt?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Lugter der somme tider muggent, fugtigt eller jordslået et eller andet sted i boligen?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Har familie, venner eller kollegaer, der ikke bor i boligen, sagt at dit/jeres tøj somme tider lugter fugtigt eller jordslået?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Er der synlige fugtskjolder et eller andet sted i boligen?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Hvis "ja", er det samlede areal af fugtskjolder større end 0,06 m² ? (svarende til et A4 ark eller 2 store håndflader eller 20 x 30 cm)?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Hvis "ja", er det samlede areal af fugtskjolder større end 0,25 m² ? (svarende til fire A4 ark eller 8 store håndflader eller 50 x 50 cm)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Hvis "nej", har du/I mistanke om fugtproblemer et eller andet sted i boligen?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Er der synlige skimmelsvampevækst et eller andet sted i boligen?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Hvis "ja", er det samlede areal af skimmelsvampevæksten større end 0,06 m² ? (svarende til et A4 ark eller 2 store håndflader eller 20 x 30 cm)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Hvis "ja", er det samlede areal af skimmelsvampevæksten større end 0,25 m² ? (svarende til fire A4 ark eller 8 store håndflader eller 50 x 50 cm)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Hvis "nej", har du/I mistanke om skimmelsvampevækst et eller andet sted i boligen?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Er du/I generelt tilfreds med indeklimaet i boligen?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Er boligen en lejebolig?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Oplever du/I andre problemer med indeklimaet i boligen?

Har du/I andre bemærkninger til indeklimaet i boligen?

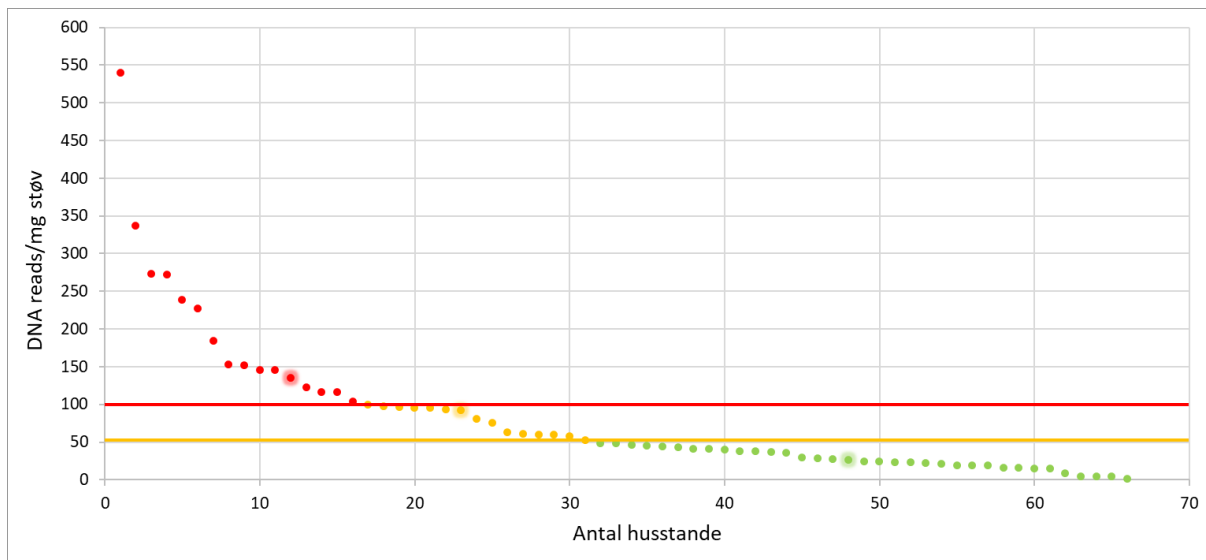
Bilag B – Skimmelliste

TABEL B2. De 82 hyppigst forekommende svampearter og -slægter samt gærarter (G) i støvet fra støvsugerposer, deres mest almindelige habitat (B: bygninger, F: fødevarer, H: hudpatogen i mennesker og dyr, M: det omgivne miljø) og det gennemsnitlige antal DNA reads per prøve.

Art/slægt	Habitat	DNA reads	Art/slægt	Habitat	DNA reads
<i>Akanthomyces</i> spp.	B	5	<i>Malassezia restricta</i>	M/H	726
<i>Alternaria abundans</i>	M	44	<i>Meyerozyma guilliermondii</i> (G)	M/H	38
<i>Alt. brassicae</i>	M	2	<i>Monocillium tenue</i>	B	1
<i>Alt. chartarum</i>	B	14	<i>Montagnula jonesii</i> (G)	M	41
<i>Alt. cumini</i>	M	1	<i>Mucor circinelloides</i>	M/B	< 1
<i>Alt. destruens</i>	M	347	<i>Mucor</i> spp.	M/B	50
<i>Alt. infectoria</i> kompleks	M	1.059	<i>Neosporospora</i> spp.	M	648
<i>Alt. molesta</i>	M	7	<i>Oidiodendron</i> spp.	B	5
<i>Alt. multiformis</i>	M	34	<i>Penicillium bialowiezense</i>	B/F	51
<i>Alt. papavericola</i>	M	48	<i>Pen. brevicompactum</i>	B/F	84
<i>Alt. septorioides</i>	M	7	<i>Pen. chrysogenum (rubens)</i>	B	1
<i>Alt. sonchi</i>	M	1	<i>Pen. commune</i>	F	2
<i>Alt. tellustris</i>	M	12	<i>Penicillium corylophilum</i>	B/F	1
<i>Alt. tropica</i>	M	1	<i>Pen. expansum</i>	F	4
<i>Alt. vaccariicola</i>	M	< 1	<i>Pen. glabrum</i>	F	3
<i>Aspergillus</i> sektion <i>Aspergillus</i>	F	261	<i>Pen. jensenii (canescens)</i>	M/F	< 1
<i>Asp. flavus</i>	F	< 1	<i>Pen. olsonii</i>	F	11
<i>Asp. sclerotiorum</i>	M	< 1	<i>Pen. roqueforti</i>	F	13
<i>Aspergillus</i> sektion <i>Nigri</i>	F	3	<i>Pen. sclerotiorum</i>	M/F	1
<i>Aspergillus</i> sektion <i>Restricti</i>	B	74	<i>Pen. soppii</i>	M/F	<1
<i>Aureobasidium</i> spp.	B/M	989	<i>Peziza ostracoderma</i>	M	44
<i>Blumeria graminis</i>	M	59	<i>Phanerochaete</i> spp.	M	15
<i>Botryotrichum</i> spp.	B	30	<i>Pseudogymnoascus pannorum</i>	B	22
<i>Botrytis cinerea</i>	F	620	<i>Pseudopithomyces chartarum</i>	B/M	786
<i>Candida parapsilosis</i> (G)	B	75	<i>Rhizopus americanus</i>	B/M	3
<i>Candida sake</i> (G)	F	263	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (G)	F	2.803
<i>Chaetomium</i> spp.	B	11	<i>Serpula himantioides</i>	M	2
<i>Chaetothyriales</i> spp.	M	178	<i>Stachybotrys</i> spp.	B	1
<i>Cladosporium cladosporioides</i> kompleks	M	2.814	<i>Talaromyces</i> spp.	F/M	6
<i>Cla. herbarum</i> kompleks	M	3.281	<i>Tausonia pullulans</i> (G)	M	377
<i>Cla. sphaerospermum</i> kompleks	B	1.065	<i>Trichoderma</i> spp.	B	37
<i>Cladosporium</i> spp.	M	18	<i>Verrucaria</i> spp.	M	302
<i>Debaryomyces</i> spp. (G)	B	1.190	<i>Verrucocladosporium</i> spp.	M	99
<i>Didymella macrostoma</i>	B	164	<i>Vishniacozyma</i> spp.	M	1.828
<i>Epicoccum nigrum</i>	M	931	<i>Wallemia hederæ</i>	B/M	9
<i>Exophiala</i> spp.	B	137	<i>Wal. ichthyophaga</i>	B	10
<i>Geotrichum candidum</i>	B/F	981	<i>Wal. mellicola</i>	B	23
<i>Gibellulopsis nigrescens</i>	B	12	<i>Wal. muriae</i>	B	654
<i>Humicola</i> spp.	B	6	<i>Wallemia sebi</i>	B	25
<i>Knufia</i> spp.	M	228	<i>Wal. tropicalis</i>	B/M	2
<i>Leptosphaerulina australis</i>	M	85	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	M	20

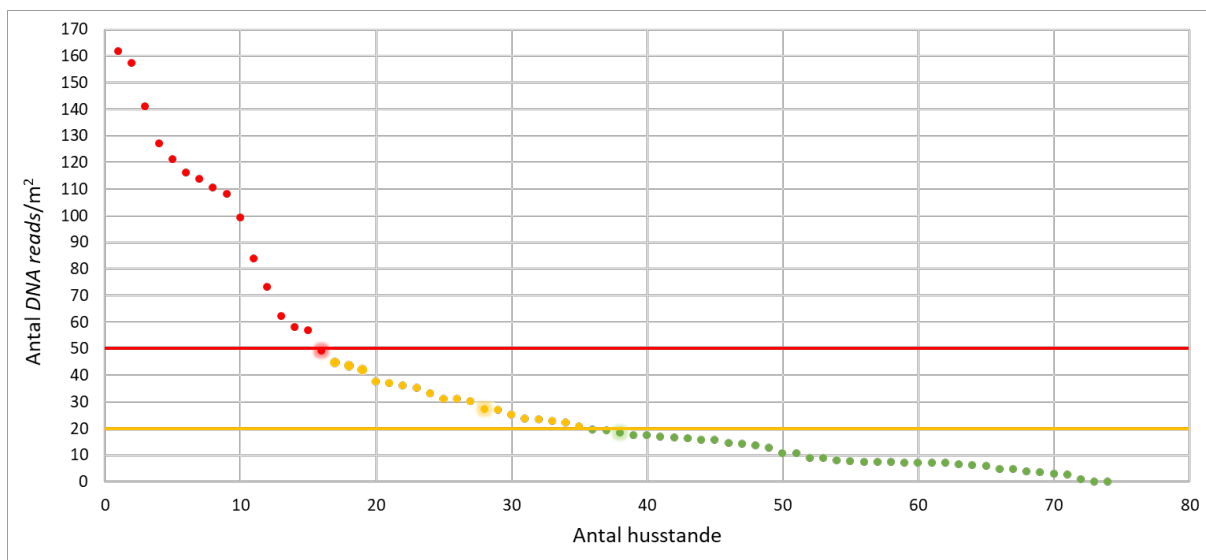
Bilag C – Forslag til et Dansk Skimmel-indeks

Figuren nedenfor viser en anden måde at beregne et skimmel-indeks. Summen af *DNA reads* fra gær- og skimmelsvampe i Gruppe 1 er brugt, men divideret med antal gram støv, der er blevet ekstraheret og sekvenseret (*DNA reads/mg*). Inddelingen i rød, gul og grøn kategori svarer fint til den anden beregningsmetode (*DNA reads/m² bolig*).



FIGUR B3. Røde husstande: 16, Gule husstande: 23 og Grønne husstande: 27 udregnet efter mængde støv. (*DNA reads/mg støv*).

Grænse niveauerne er igen sat efter de 3 boliger (fremhævet med halo på figuren), hvor fugttilstanden kendes på prøvetidspunktet. I dette tilfælde er den gule grænse sat til 50 *DNA reads/mg* mens den røde er sat til 100 *DNA reads/mg*. Disse niveauer kan ændres, når der er muligt igen at validere boligerne tilstand.



Figur 3. (fra side 25 i rapport) til sammenligning. Røde husstande: 14, Gule husstande: 18 og Grønne husstande: 33 udregnet efter boligstørrelse (*DNA reads/m² bolig*).

Anvendelse af støv fra støvsugerposer

Skimmelsvampevækst i boligen er problematisk på mange måder. Der kan frigives skimmelsvampesporer og flygtige forbindelser til indeklimaet, som kan være årsag til en række helbredsgener. Skjult skimmelsvampevækst er i sagens natur svær at detektere uden at skulle anvende destruktive indgreb.

Projektets formål er at undersøge om støv fra indsamlede støvsugerposer kan anvendes som screeningsværktøj til identifikation af boliger, der er mistænkt for at være inficeret med skimmelsvampevækst.

Støvsugerposestøv fra 70 boliger blev analyseret ved hjælp af DNA-analyser af skimmelsvampenes ITS-region. Skimmelsvampene blev opdelt i 3 grupper alt efter deres associationer til byggematerialer, fødevarer eller det omgivende miljø. Et skimmelsvampe-indeks blev udregnet for alle skimmelsvampearter associeret til bygninger, og boligerne blev inddelt i 3 kategorier: Rød (skimmelproblemer), Gul (mulige skimmelproblemer) og Grøn (ingen problemer).

Resultaterne viste, at boligerne fordelte sig med 21 % i Rød kategori, 27 % i Gul kategori og 52 % i Grøn kategori. Resultaterne viste også, at *Cladosporium sphaerospermum*, *Debaryomyces* spp. og *Wallemia muriae* var de mest almindelige fugt-svampe i boliger i Rød kategori, og at mængden af *Alternaria infectoria* og *Cladosporium cladosporioides*, der stammer fra det omgivne miljø, var den samme i alle 3 kategorier. Hovedparten af husstande i Rød kategori kunne hverken lugte, se eller havde mistanke om fugt og skimmelsvampevækst, og 79 % i Rød kategori var tilfreds med deres indeklima. Resultaterne indikerer, at det især er lejelejligheder, der er sårbare overfor fugt- og skimmelproblemer.

Yderligere forsøg er dog nødvendige for at validere DNA-metoden og skimmel-indekset i forhold til en boligs tilstand.