



Baden-Württemberg

MINISTERIUM FÜR SOZIALES GESUNDHEIT UND INTEGRATION
LANDESGESUNDHEITSAMT BADEN-WÜRTTEMBERG

Landesgesundheitsamt Baden-Württemberg · Postfach 10 29 42 · 70025 Stuttgart

An die Teilnehmer des 43. Ringversuchs
Schimmelpilze, Oktober 2022

Datum 25.10.2022

Name Dr. Guido Fischer

Durchwahl 0711/25859-307

Aktenzeichen Ref73 RV43_2022

(Bitte bei Antwort angeben)

Bitte richten Sie Ihre Anfragen an:

Med-Chem@sm.bwl.de unter Angabe Ihrer
Teilnehmer-Nr.

43. Ringversuch - Identifizierung von Schimmelpilzen im Innenraum und in Lebensmitteln

Sehr geehrte Damen und Herren,

vielen Dank für Ihre Teilnahme am **43. Ringversuch - Identifizierung von Schimmelpilzen im Innenraum und in Lebensmitteln**. Der Ringversuch umfasst sechs Reinkulturen sowie eine Mischprobe, sofern diese von Ihnen angefordert wurde.

Die teilnehmenden Labore müssen die Proben **innerhalb von 6 Wochen** bearbeiten und die Ergebnisse übermitteln. Teilen Sie uns bitte bis zum **12. Dezember 2022** mittels der Ihnen zugesandten Excel-Formatvorlage Ihre Ergebnisse mit (Adresse **Med-Chem@sm.bwl.de**). **Nach dieser Deadline eingehende Ergebnisse werden nicht mehr berücksichtigt!**

1. Bearbeitung und Bewertung der Reinkulturen:

Sie erhalten von jedem Stamm **eine** Kultur; eine **Rückstellprobe** wird nicht mehr versandt. Alle Stämme wurden dieses Mal auf MEA-Agar geimpft.

- Für jeden richtig identifizierten Stamm wird **1 Punkt** vergeben.
- Wenn Sie mindestens **4 Stämme** richtig identifiziert haben (Gattung und Art), wird Ihnen die erfolgreiche Teilnahme durch ein **Zertifikat** bestätigt.
- Sofern Sie den Ringversuch **nicht** erfolgreich bestehen, erhalten Sie eine **Teilnahmebescheinigung**.
- Eine **fehlerhafte Schreibung des Artnamens wird als Fehler gewertet!** Verwenden Sie die aktuell gültigen Artnamen (vgl. MYCOBANK).

Bitte verwenden Sie zur Identifizierung die jeweils aktuelle taxonomische Literatur (s. Anhang). **Wichtig:** Für alle 6 Stämme ist im 43. RV die Angabe von Gattungs- und Artnamen erforderlich!

2. Bearbeitung und Bewertung der Mischprobe:

Als Mischprobe („Reale Probe“) wurden **vier** Schimmelpilzarten in ein mit Glycerol befülltes Mikroröhrchen dotiert. Die Probe soll - wie nachfolgend beschrieben - innerhalb von 3 Tagen nach Erhalt aufgearbeitet werden und eine qualitative sowie quantitative Auswertung durchgeführt werden.

2.1 Aufarbeitung der Mischprobe

- Glycerolröhrchen (mit ca. 1,3 ml Inhalt) vortexen
- Aus dieser Ausgangssuspension eine Verdünnung von 1:10 und 1:100 herstellen:
0,5 ml Glycerol (Ausgangssuspension) + **4,5 ml** 0,85% NaCL/Tween 80 = **1:10**
- **0,5 ml** Verdünnung **1:10** + **4,5 ml** 0,85% NaCL/Tween 80 = **1:100 Verdünnung**
- Ausplattierung: von der Ausgangssuspension und den Verdünnungen 1:10 und 1:100 werden jeweils 100 µl auf 3 DG-18-Agar-Platten, und 3 MEA-Platten ausplattiert. Die Bebrütung dieser Platten erfolgt bei (25 ±3)°C.

Tipp! Sehr stark sporulierende Arten (wie z.B. *Penicillium* spp.) bilden insbesondere dann viele Sekundärkolonien, wenn die Platten sehr stark bewegt, häufig gewendet oder „unsacht“ auf der Laborbank abgelegt werden. Dies kann die Entwicklung und damit den Nachweis langsam wachsender Arten beeinträchtigen.

2.2 Auswertung der Mischprobe

Die Quantifizierung und Differenzierung der verschiedenen Arten erfolgt zwischen dem 2. und dem 10. Tag der Inkubation. Insbesondere die xerophilen Arten sollten am 8./9. Tag quantifiziert werden. **Tipp: Bei wenig pigmentierten oder schlechter sporulierenden Arten kann die Differenzierung nach 14 Tagen einfacher sein!**

Nutzen Sie bitte für die Auswertung die Excel-Dokumentvorlage (2. Tabellenblatt „Mischprobe“!).

Die Berechnung und Angabe der Ergebnisse erfolgt nach der DIN ISO 16000-17:2008 unter Berücksichtigung folgender Punkte:

- (1.) Für die Auswertung werden zunächst die DG-18-Agarplatten herangezogen. Auf den Malzextrakt-Agarplatten werden nur diejenigen Schimmelpilzarten ausgewertet, die auf DG 18- Agar nicht sporulieren/fruktifizieren oder auf diesem Medium schlechter wachsen (z.B. *Chaetomium*, *Stachybotrys*, u.a.).
- (2.) Konzentrationsberechnungen der einzelnen Schimmelpilzarten werden von Platten mit weniger als 100 Kolonien und mindestens 10 der jeweils zu quantifizierenden Arten vorgenommen (vgl. dazu auch Absatz „**Wichtige Anmerkungen zur Berechnung...**“ unten).
- (3.) Bei Verdünnungen in 1:10-Schritten sind meist nur Platten einer Verdünnungsstufe gut auswertbar; der optimale Bereich zur Auswertung liegt bei 20 bis 40 Kolonien je Platte.
- (4.) Sind die Ergebnisse der Auswertung nicht plausibel - z.B. wenn eine Platte von schnellwachsenden Arten (z.B. *Chrysonilia*, *Trichoderma*, Zygomyceten) weitgehend zugewachsen ist - werden diese Platten bei der Auswertung nicht berücksichtigt. Bei der Angabe des Ergebnisses ist dies zu dokumentieren.

- Als Ergebnis wird die Konzentration der einzelnen Arten in KBE/ml angegeben. Dabei muss kenntlich gemacht werden, ob das jeweilige Ergebnis von DG-18 oder von Malzextrakt-Agar ermittelt wurde (**Bitte die farbige Markierung der Zellen - drei in jeder Verdünnungsstufe - in der Excel-Formatvorlage nicht vergessen!!!**). Die jeweilige Konzentration wird durch den Mittelwert aus den drei parallel angesetzten Platten berechnet, wobei das Ergebnis 0 KBE auf einer Nährmedienplatte bei der Mittelwertbildung zu berücksichtigen ist (z. B. 20 KBE; 10 KBE; 0 KBE = 10 KBE). Die Gesamtkoloniezahl wird durch Addition der Konzentrationen der einzelnen Arten bzw. Gattungen erhalten.

Wichtige Anmerkung zur Berechnung und Angabe von Ergebnissen in der Praxis:

Die Berechnung von KBE-Konzentrationen aus Zahlen < 10 ist mit größeren Unsicherheiten behaftet. In diesen Fällen sollen die Ergebnisse als „**halbquantitativ**“ kenntlich gemacht werden. Für die Bewertung der Ergebnisse in diesem Ringversuch werden die normativen Festlegungen (DIN ISO 16000-17) zu Grunde gelegt, damit die Auswertung des Ringversuchs möglichst gut objektivierbar ist. Da die Schwankungsbreite der Ergebnisse selbst im optimalen Auswertebereich bei 30 bis 50% liegt, muss auf eine strikte Anwendung der o.a. Kriterien geachtet werden.

Selbstverständlich kann es vorkommen, dass bei vier Arten in der Mischprobe nicht alle Arten im optimalen Auswertebereich liegen. Sofern man in der Praxis von den Vorgaben der o.a. normativen Grundlagen abweicht, muss dies lediglich fachlich begründet werden!

3. Rückmeldungen der Ergebnisse

Nutzen Sie bitte für die elektronische Übermittlung die separat versandte Excel-Datei (**für Reinkultur und Mischprobe**). Verändern Sie nicht die vorgegebenen Texte/Elemente in der Dokumentvorlage (**Beispiel: Bitte nicht das Blatt „Mischprobe“ löschen, wenn man die Mischprobe nicht bearbeitet**).

Reinkulturen:

Die Nährmedien haben einen entscheidenden Einfluss auf die morphologische Ausprägung einer Pilzkultur. Im Fall einer Fehlidentifizierung möchten wir Ihre Identifizierungsergebnisse nachvollziehen. Bitte geben Sie daher die Art des Nährmediums und den Hersteller an; außerdem nennen Sie kurz die Kriterien für die Zuordnung eines Stammes zu einer Art (z. B. Bestimmungsschlüssel, biochemische Reaktionen, Wachstumsgeschwindigkeit).

Bewertungskriterien zur molekularen Diagnostik:

Sofern Sie eine molekulare Identifizierung vornehmen, geben Sie bitte in der Ergebnistabelle unter „Entscheidungsgrundlagen“ Folgendes an:

- 1. Zielsequenz (bzw. verwendeter Primer);**
- 2. Accession No. in Genbank.**

Auf diese Weise kann das Identifizierungsergebnis auf Plausibilität geprüft werden.

Fehlen diese Angaben, kann das Ergebnis der molekularen Analyse nicht in die Bewertung mit einbezogen werden. Diese Teilnahmebedingungen wurden im Einvernehmen mit den Referenzlaboren festgelegt, weil die öffentlich verfügbaren Sequenz-Datenbanken nicht qualitätsgesichert sind und in der Routine häufig Fehlidentifizierungen durch unkritische Sequenzvergleiche vorkommen.

Tipp: Überprüfen Sie die Gültigkeit des Pilznamens in **Mycobank**. In Abstimmung mit den Referenzlaboren wird **Mycobank** als maßgeblich betrachtet (<https://www.mycobank.org/>).

Im *Index Fungorum* wurden in der Vergangenheit einige fehlerhafte Eintragungen festgestellt.

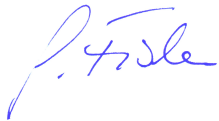
4. Beschwerden:

Bei Verdacht auf eine Kontamination der Reinkulturen, die man nie ganz ausschließen kann, teilen Sie dies bitte innerhalb einer Woche nach Eingang der Proben mit. Sie erhalten dann umgehend neue Proben. Die Referenzlabore erhalten die Ringversuchsstämme parallel zum Ringversuch ein weiteres Mal, um diese auf Reinheit zu kontrollieren.

Einsprüche bezüglich der Auswertung des Ringversuchs richten Sie bitte an den Ringversuchsleiter. Wir bemühen uns in Abstimmung mit der wissenschaftlichen Beraterin und ggf. den Referenzlaboren um eine Klärung des Sachverhaltes.

Wir wünschen Ihnen gutes Gelingen und verbleiben

mit freundlichen Grüßen



Dr. Guido Fischer

Anhang: Literatur zur Identifizierung von Schimmelpilzen (Ergänzungen beachten!):

Grundlegende Bestimmungsliteratur (gattungsübergreifend):

- The **Genera of Hyphomycetes**, CBS Biodiversity Series, K. Seifert, G. Morgan-Jones, W. Gams, B. Kendrick, CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre Utrecht, The Netherlands **2011**, ISBN 978-90-70351-85-4
- **Food- and Indoor Fungi**, CBS Laboratory Manual Series **2010**, R.A. Samson, J. Houbraken, U. Thrane, J.C. Frisvad & B. Andersen, CBS KNAW Fungal Biodiversity Centre Utrecht, The Netherlands, ISBN 978-90-70351-82-3; ISSN 1879-6877
- **Compendium of Soil Fungi** (Domsch, Gams & Anderson) 2nd Edition, IHW-Verlag und Verlagsbuchhandlung, München ISBN 978-3-930167-69-2, <http://www.ihwverlag.de/frameset/pilzbuchset.html>
- **Atlas of clinical fungi**, 2. Edition, G.S. de Hoog, **2010**, ISBN 90-70351-43-9 (3. Auflage nur online!)
- **Dematiaceous Hyphomycetes**, M.B.Ellis, CAB Publishing, CAB international Wallingford, Oxon OX10 8 DE, UK, ISBN 0 85198 027 9 oder ISBN 0 85198 618 8 (soft cover) **1971**
- **More Dematiaceous Hyphomycetes**, M.B.Ellis, CAB Publishing, CAB international Wallingford, Oxon OX10 8 DE, UK,, ISBN 0 85198 365 0, **1976**
- The **Genera of Fungi Sporulating in Pure Culture**, J.A. von Arx, Lubrecht&Cramer, ISBN 3-7682-0693-9, A.R. Gantner Verlag K.G., FL-9490 Vaduz, **1981**
- **Cephalosporium-artige Schimmelpilze** (Hyphomyceten), Walter Gams, Baarn/Niederlande, Gustav Fischer Verlag Stuttgart, **1971**, ISBN 3-437-30117-9

Monographien einzelner Pilzgruppen:

Centraalbureau voor Schimmelcultures:

- *Cephalotrichum* and related synnematosus fungi with notes on species from the built environment. J.H.C. Woudenberg, M. Sandoval-Denis, J. Houbraken, K.A. Seifert, and R.A. Samson; **Studies in Mycology 88**: 137–159 (2017).
- *Scopulariopsis* and scopulariopsis-like species from indoor environments. J.H.C. Woudenberg, M. Meijer, J. Houbraken, and R.A. Samson; **Studies in Mycology 88**: 1–35 (2017).
- Species diversity in *Aspergillus*, *Penicillium* and *Talaromyces*. R.A. Samson, C.M. Visagie, and J. Houbraken (editors), CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, The Netherlands, **Studies in Mycology 78**, 2014, ISSN 0166-0616
- The genus *Cladosporium* K. Bensch, U. Braun, J.Z. Groenewald, and P.W. Crous, CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, The Netherlands, **Studies in Mycology 72**, **2012** ISBN 978-90-70351-xx-x Phylogenetic and taxonomic studies on the genera *Penicillium* and *Talaromyces*, R.A. Samson, J. Houbraken editors, CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, The Netherlands, **Studies in Mycology 70**, **2011** ISBN 978-90-70351-87-8
- Taxonomic studies on the genus *Aspergillus*, R.A. Samson, J. Varga, and J.C. Frisvad, CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, The Netherlands, **Studies in Mycology 69**, **2011** ISBN 978-90-70351-86-1
- *Aspergillus* systematics in the genomic era, Robert A. Samson and Janos Vargas, CBS Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, The Netherlands, **Studies in Mycology Nr. 59 (2007)** ISBN/EAN: 978-90-70351-69-4
- *Penicillium* subgenus *Penicillium*: new taxonomic schemes, mycotoxins and other extrolites, R.A. Samson and J.C. Frisvad, **2004**, Centraalbureau voor Schimmelcultures Utrecht, P.O. Box 85167, 3508 AD Utrecht, **Studies in Mycology 49**, ISBN 90-70351-53-6.
- *Hypocreal/Trichoderma* (Ascomycota, Hypocreales, Hypocreaceae): species with green ascospores; Priscila Chaverri and Gary J. Samuels, **Studies in Mycology Nr. 49 (2003)**, Centraalbureau voor Schimmelcultures Utrecht, ISBN:90-70351-51-X.
- A revision of *Chrysosporium* and allied genera, C.A.N. van Oorschot, **Studies in Mycology 20**, Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, **1980**.
- A compilation of the Aspergillii described since 1965, R.A. Samson, Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, **Studies in Mycology 18**, **1979**.
- On certain species of *Mucor* with a key to all accepted species and On the genera *Rhizomucor* and *Parasitella*, **Studies in Mycology 17**, M.A.A. Schipper, Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, **1978**.
- *Paecilomyces* and some allied hyphomycetes, **Studies in Mycology Nr. 6**, R.A. Samson, Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, **1974**.

Andere Herausgeber/Autoren:

- Identification of common *Aspergillus* species. M.A. Klich, Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, **2002**, ISBN 90-70351-46-3

- A Laboratory Guide to Common *Penicillium* Species, John Pitt, Food Science Australia, ISBN: 0 643 04837 5 **oder direkt zu bestellen über email:** John.Pitt@foodscience.afisc.csiro.au
- The Deuteromycetes, Mitosporic Fungi, Classification and Generic Keys. **2000**, E.Kiffer and M. Morelet, Science Publishers Inc., P.O.Box 699, Enfield, NH 03748, ISBN 1-57808-068-1
- The Genus *Aspergillus*, Raper&Fennell **1977**, ISBN 0-88275-109-3
- The Genus *Penicillium*, Pitt,J.I.,1979 Academic Press, ISBN 0-12-557750-7
- *Fusarium* species, an illustrated manual for identification, Nelson,P.E. Tousson, T.A.&Marasas 1983, Pennsylvania state Univ.Press, Univ. Park, London

Normative Grundlagen:

- DIN ISO 16000-17:2008: Innenraumluftverunreinigungen – Teil 17: Nachweis und Zählung von Schimmelpilzen – Kultivierungsverfahren
- Richtlinie VDI 4300 Blatt 10 (2008): Messen von Innenraumluftverunreinigungen - Messstrategie bei der Untersuchung von Schimmelpilzen im Innenraum (zurückgezogen!)

Bisher im RV versandte Spezies in **blau** (RV Nr.); **grün**: neuere Namenänderungen (vgl. Mycobank, 20.10.2022)

Acremonium murorum (3, 15)
Acrostalagmus luteoalbus (24)
Akanthomyces (*Lecanicillium*) *lecanii* (18, 38)
Alternaria alternata
Alternaria tenuissima (20)
Aspergillus calidoustus (22, 28, 33, 38)
Aspergillus carbonarius (24)
Aspergillus chevalieri (*Eurotium chevalieri*) (23)
Aspergillus creber * (20, 29)
Aspergillus clavatus (34)
Aspergillus glaucus (*E. herbariorum*) (21, 25)
Aspergillus fumigatus (3, 10)
Aspergillus japonicus (32)
Aspergillus jensenii (M 33, 39, M 40) *
Aspergillus montevidensis (35)
Aspergillus nidulans (*Emericella*) (1, 11, 22, 36)
Aspergillus niger (8)
Aspergillus penicillioides (1, 9, 29)
Aspergillus restrictus (4, 8, 11, 15, 42)
Aspergillus sydowii (5, 13, 14, 19, 30, 41)
Aspergillus tamarii (11,37)
Aspergillus terreus (7, 31, 34)
Aspergillus ustus (4)
Aspergillus versicolor Sektion (2, 11, 20)
Aspergillus vitis (*Eurotium amstelodami*) (2, 9)
Aspergillus wentii
Aspergillus westerdijkiae (25, 31, 40)
Aureobasidium pullulans (2, 7,12, 23, 27)
Aureobasidium melanogenum (35, 41)
Beauveria bassiana (33, 40)
Botrytis cinerea (7, 34)
Botryosporium sp. (23)
Byssochlamys nivea (29, 30)
B. spectabilis (*Paecilomyces variotii*) (6, 12, 18)
Cadophora fastigiata (= *Phialophora fast.*) (7)
Candida albicans (38)
Cephalotrichum sp. (*C. microsporium*) (34)
Chaetomium elatum (38, 39)
Chaetomium globosum (3, 10, 13, 40)
Chromelosporium sp. (30)
Chrysosporium sp.
Cladosporium cladosporioides (3)
Cladosporium herbarum (16, 35)
Cladosporium sphaerospermum (5, 13, 24, 32, 39)
Curvularia geniculata
Curvularia lunata (23, 31)
Cyphellophora *europaea* (24, 28, 40) (*Phialophora*)
Didymella *glomerata* (4, 14)
Didymella *macrostoma*
Dipodascus *geotrichum* (20, 25, 42)
Epicoccum nigrum / *italicum* (26, 40)
Fusarium solani Komplex (38)
Fusarium sporotrichioides (30)
Glomastix murorum (38)
Lecanicillium psalliotae (*Verticillium psalliotae*) (29)
Lichtheimia *corymbifera* (6, 21,35, 42)
Scopulariopsis brevicaulis (1, 10)
Memnoniella *echinata* (26)
Microascus *paisii* (21, 36, 39)
Monascus ruber (31)
Mucor circinelloides (41)
Mucor plumbeus (7, 13, 22, 27,37)
Mucor racemosus (2, 19, 33)
Mycotypha microspora (30)
Ochroconis musae (37)
Oidiodendron griseum (17,37)
Parengyodontium *album* (22, 29, 39)
Penicillium brevicompactum (24, 27, 38)
Penicillium camemberti (22, 36)
Penicillium chrysogenum / *rubens* (41)
Penicillium citrinum (21)
Penicillium citreonigrum (29)
Penicillium commune (14), *P. biforme* (32)
Penicillium corylophilum (8, 21)
Penicillium crustosum (19)
Penicillium digitatum (1, 2, 5, 12, 18)
Penicillium expansum (4, 13, 15)
Penicillium glabrum (6, 10)
Penicillium griseofulvum (18, 26, 37, 38, 42)
Penicillium hirsutum (20)
Penicillium italicum (27, 33)
Penicillium nalgiovense (25)
Penicillium olsonii (4, 9, 23)
Penicillium roqueforti (8, 22)
Penicillium solitum (27, 31)
Pseudogymnoascus *pannorum* (5, 12, 16, 25, 34,37M)
Purpureocillium lilacinum (29, 42)
Rhizomucor miehei (34)
Rhizopus stolonifer (1, 10, 26, 31)
Rhodotorula minuta
Sarocladium *kiliense* (36)
Sarocladium *strictum* (27, 36)
Scopulariopsis brevicaulis (28, 33, 42)
Scopulariopsis candida (20)
Simplicillium lamellicola (41)
Sporobolomyces salmonicolor (31)
Stachybotrys chartarum (M 17, M21, M 28, M 24, M 33, M 40)
Syncyphastrum racemosum (3, 15, 32)
Talaromyces funiculosus (18, 25, 32, 38)
Talaromyces islandicus (38)
Talaromyces purpurogenus (3, 15, 35)
Talaromyces piceus (26)
Talaromyces rugulosus (7, 15, 37, 40)
Talaromyces *wortmannii* (35, 39)
Trichoderma harzianum
Trichoderma viride (Komplex) (36, 41)
Trichoderma longibrachiatum Komplex (14, 30)
Trichothecium roseum (33)
Tritirachium oryzae (37)
Wallemia sebi (21,37)
Mucor *moelleri* (24, 28)

