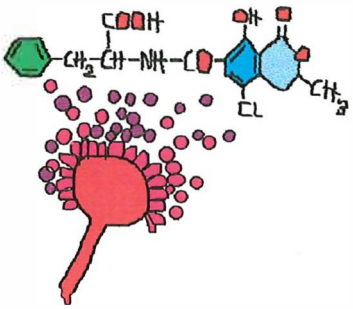
18. Mykotoxin Workshop

Programm und Kurzfassungen



Kulmbach, 10.-12. Juni 1996

Organisation:
Institut für Mikrobiologie und Toxikologie,
Bundesanstalt für Fleischforschung
E.-C.-Baumann-Str. 20, D-95326 Kulmbach, FRG

Tagungsort:
Hotel Holiday Inn, Kulmbach

18. Mykotoxin-Workshop in Kulmbach

Im Namen des Institutes für Mikrobiologie und Toxikologie der Bundesanstalt für Fleischforschung begrüße ich sehr herzlich alle Teilnehmer zum 18. Mykotoxin-Workshop in Kulmbach.
Ganz besonders freuen wir uns über die Beteiligung der Kolleginnen und Kollegen aus Kanada, USA und den europäischen Nachbarländern, die diesem Workshop ein internationales Flair vermitteln.

Vor 18 Jahren fand erstmals in Deutschland ein Treffen von Wissenschaftlern, die über Mykotoxine arbeiteten, statt. In den Folgejahren entwickelte sich aus diesem jährlichen, zwanglosen Zusammentreffen eine Veranstaltung, die mehr und mehr den Charakter eines Kongresses annahm.

Das ist zum einen erfreulich, dokumentiert es doch das steigende Interesse an diesem wissenschaftlichen Gebiet. Zum anderen wird es für das ausrichtende Institut immer schwieriger, diese mittlerweile „erwachsene" Veranstaltung organisatorisch in den Griff zu bekommen.

Gerade bei den ohnehin geringen personellen und finanziellen Ressourcen beansprucht eine solche Veranstaltung das ausrichtende Institut sehr.
Ich danke deshalb allen Mitarbeitern des Institutes und des Hauses für die engagierte Mithilfe. Gleichfalls bedanken wir uns für die Unterstützung des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten. Auf Einladung der Stockmeyer-Stiftung für Lebensmittelforschung konnte die Teilnahme von Gastreferenten ermöglicht werden, wofür wir uns ebenfalls bedanken möchten.
Die Erstellung der Tagungsunterlagen lag in den bewährten Händen von Frau Herrmannsdörfer, Frau Traglauer und Frau Peetz, die zusammen mit Herrn Scheuer die Hauptlast der Organisation getragen haben. Ihnen ein ganz herzlicher Dank!

Trotz der im Vergleich zu früheren Workshops gewachsenen Teilnehmerzahl liegt unser Interesse darin, den zwanglosen Charakter der früheren Veranstaltungen beizubehalten. Wie bislang üblich haben wir daher auch auf Teilnehmergebühren verzichtet, um möglichst allen Interessierten die Beteiligung zu ermöglichen. Mehr als 40 Beiträge werden den wissenschaftlichen Inhalt des Workshops bilden und verschiedene Aspekte rund um Mykotoxine, toxinbildenden Mikromyceten und Mykotoxikosen bei Mensch und Tier beleuchten.

Wir wollen versuchen, daß dieser Workshop zu einer wissenschaftlichen Bereicherung beiträgt und hoffen natürlich auch, daß Ihr Aufenthalt so angenehm als möglich sein wird und Sie sich gerne an Kulmbach zurückerinnern werden.

Manfred Gareis

18. Mykotoxin-Workshop vom 10. bis 12. Juni 1996 in Kulmbach

Institut für Mikrobiologie und Toxikologie, Bundesanstalt für Fleischforschung

---

Programm

Montag, den 10. Juni 1996, 13.00 - 17.30 Uhr **Vorsitz: J. Bauer**

ab 10.00 Registration

12.45 - 13.00 Begrüßung

13.00 - 13.45 *Scott P., Weber Dorcas und Kanhere S.R.:* Liquid and gas chromatographic methods of analysis for Alternaria toxins

13.45 - 14.00 *Nirenberg Helgard und Bresch H.:* Stimmen Fumonisinproduktion und Artendifferenzierung in der Fusarium-Sektion Liseola überein?

14.00 - 14.15 *Geisen R.:* Ein spezifischer Nachweis von fumonisinbildenden *Fusarium moniliforme* Stämmen durch eine „Multicolour"-Detektionsreaktion

14.15 - 14.30 *Humpf H.U.:* Einsatz eines HPLC-MS/MS-Systems zum Nachweis von Fumonisinen in Lebensmitteln

14.30 - 14.45 *Meister Ute und Symmank Hanka:* Fumonisine in Getreide

14.45 - 15.00 *Lew H., Adler A. und Edinger W.:* Zum Vorkommen und Nachweis von Moniliformin in Getreide

15.00 - 15.15 *Krska R., Schumacher R. und Grasserbauer M.:* Optimierung eines Analysenverfahrens zur Spurenbestimmung von Beauvericin in natürlich und künstlich infiziertem Mais

15.15 - 15.45 *- Kaffeepause -*

15.45 - 16.00 *Auerbach H., Oldenburg Elisabeth und Weißbach F:* Untersuchungen zum Vorkommen von Roquefortin C in Silagen und Möglichkeiten zur Unterdrückung der Mykotoxinbildung durch *Penicillium roqueforti*

16.00 - 16.15 *Schneweis Isabell, Zerlin Marion, Hinze C., Grabley Susanne und Bauer J.:* Zur Bildung von Monacolin K-Na in Silage

16.15 -16.30 *Schöber-Butin Bärbel*: Über ein Toxin von Phytophthora infestans

16.30 - 16.45 *Usleber E., Abramson D. und Märtlbauer E.:* Enzymimmunchemischer Nachweis von Citrinin in Gerste und Weizen

16.45 - 17.00 *Metzler M., Groß Kerstin und Pfeiffer Erika:* Chromosomale Effekte von Citrinin und Patulin in vitro

17.00 - 17.15 *Wild D. und Gareis M.:* Reevaluierung der Mutagenität von Kojisäure und Cyclopiazonsäure in Tests mit *Salmonella typhimurium* (Ames-Test)

17.15 - 17.30 *Krämer Gabriele:* Probenaufbereitung über Aflaprep Immunoaffinitätssäulen für die quantitative Bestimmung von Aflatoxin B_1, B_2, G_1 und G_2

17.30 - 17.45 *Blüthgen A.:* Zur Rekombination und Ausscheidung von Aflatoxin M_1 nach oraler Zufuhr Aflatoxin B_1 - ähnlicher Verbindungen an laktierende Kühe

ab 18.30 *- Abendprogramm -*

Dienstag, den 11. Juni 1996, 8.30 - 17.00 Uhr **Vorsitz: M. Gareis / Johanna Fink-Gremmels**

8.30 - 8.45 *Creppy E.E., Belmadani A., Betbeder A.M. und Tramu G.:* Effects of ochratoxin A in the brain of young adult rats

8.45 - 9.00 *Fink-Gremmels Johanna:* Metabolism mediated toxicity of ochratoxin A

9.00 - 9.15 *Föllmann W., Dörrenhaus Angelika und Vangala R.:* Genotoxische Effekte von Ochratoxin A auf kultivierte Säugerzellen

9.15 - 9.30 *Stock Stefanie, Hülsemann J., Gerber Maria M. und Degen Gisela H.:* Zur Genotoxizität von Ochratoxin A und Analoga in Zellkulturen aus Schafsamenblasen

9.30 - 9.45 *Ruhland Monika, Engelhardt Gabriele und Wallnöfer P.R.:* Verwendung von Gradienten-HPLC für die Auftrennung von Ochratoxin A und seinen Derivaten

9.45 - 10.00 *Märtlbauer E., Usleber E. und Straka Margit:* Ochratoxin A im Serum eines Lehrstuhlkollektivs: 1990 - 1995

10.00 - 10.15 *Bata A., Kovács F., Sándor G. und Ványi A.:* Quantitative determination of Ochratoxin A in human blood and colostrum samples in Hungary

10.15 - 10.25 *Wolff J., Gareis M., Scheuer R., Engel G., Bresch H., Rosner H., Majerus P. und Schneider R.:* Belastung des Verbrauchers und der Lebensmittel mit OTA

10.25 - 10.45 *- Kaffeepause -*

10.45 - 11.00 *Richter W., Schuster M. und Scholz W.:* Reduzierung von Ochratoxin A in Futtergetreide durch Konservierungsstoffe

11.00 - 11.15 *Goll M., Bokern M., Valenta Hana und Harms H.:* Bioverfügbarkeit von Ochratoxin A aus verschiedenen gebundenen Rückstandsfraktionen

11.15 - 11.30 *Breves G., Winckler C. und Schröder B.:* Ochratoxin A und intestinaler Nährstofftransport beim Schwein

11.30 - 11.45 *Lusky K., Göbel Roswitha, Tesch Doris, Doberschütz K.-D., Lippert A. und Tenner Gunda:* Untersuchungen zur Tiergesundheit und zum Rückstandsverhalten beim Schwein bei gleichzeitiger Aufnahme der Mykotoxine Ochratoxin A und Deoxynivalenol über das Futter im 90-Tage-Test

11.45 - 12.00 *Göbel Roswitha und Bohm D.:* Zur Bestimmung von Deoxynivalenol in Plasma, Organen und Geweben

12.00 - 12.15 *Böhm J.:* Deoxynivalenol (DON) und Nivalenol (NIV) im Hafer - Auswirkungen auf Absetzferkel

12.15 - 14.00 *- Mittagpause -*

14.00 - 14.15 *Gang Gudrun, Miedaner T., Freesemann Jutta und Geiger H.H.:* Nivalenolbildung von *Fusarium culmorum*-Isolaten bei Ähreninfektion von Winterroggen im Feld

14.15 - 14.30 *Volke Beate, Wegener M., Weinert A., Koopmann B. und Wolf G.A.:* Nachweis von Fusarien in Getreide-Einzelkörnern und -Mehl mit Hilfe eines Enzymtests, eines ELISA und über PCR mit spezifischen Primern

14.30 - 14.45 *Usleber E., Vrabcheva Terry, Geßler Renate, Abramson D. und Märtlbauer E.:* Untersuchungen zum Einsatz enzymimmunchemischer Tests für Fusarientoxine (Trichothecene, Zearalenon) in Gerste und Weizen

14.45 - 15.00 *Taschan H., Butze C., Lenz B. und Muskat E.:* Zearalenon und Deoxynivalenol in verschiedenen Bieren

15.00 - 15.15 *Schuhmacher R., Krska R., Grasserbauer M. und Lew H.:* Immunoaffinitätssäulen versus klassische Probenvorbereitung bei der Bestimmung von Zearalenon in Mais - ein Methodenvergleich

15.15 - 15.30 *Oldenburg, Elisabeth, Lepschy J., Valenta Hana und Weißbach F.:* Fusarientoxine in Silomais - Abhängigkeit von Sorte und Standort

15.30 - 16.00 *- Kaffeepause -*

16.00 - 16.15 *Meyer K., Usleber E., Märtlbauer E. und Bauer J.:* Untersuchungen zum Nachweis und Vorkommen von Zearalenon und α-Zearalenol in Gallen von Zuchtsauen mit Fertilitätsstörungen

16.15 - 16.30 *Valenta Hana und Vemmer H.:* In vitro-Untersuchungen zum Metabolismus von Zearalenon bei Inkubation mit Pansensaft

16.30 - 16.45 *Creppy E.E., Chekir-Gedirha L., Maaroufi K., Ellouz F., Betbeder A.M. und Bacha H.:* Mechanistic approaches of zearalenone cytotoxicity in vitro

16.45 - 17.00 *Bata A., Ványi A., Körmendi S. und Kovács F.:* Investigations on the acute toxicity and the susceptibility of rainbow trout to T-2 toxin

ab 18.15 *- Abendprogramm -*

Mittwoch, den 12. Juni 1996, 8.30 - 13.00 Uhr **Vorsitz: E. Märtlbauer**

8.30 - 9.15 *Johanning E.:* Gesundheitsprobleme durch/nach Pilzkontaminationen in Innenräumen - Ergebnisse von Felduntersuchungen

9.15 - 10.00 *Sorenson W., Jarvis B., Zhou Y., Jiang J., Wang S. and Hintikka Eeva-Liisa:* Toxins associated with Stachybotrys and Memnoniella in water-damaged homes

10.00 - 10.15 *Nijulin M., Hyvärinen A., Kotimaa M., Parikka P. und Hintikka Eeva-Liisa:* Stachybotrys-Probleme in Innenluft finnischer Häuser

10.15 - 10.30 *Gareis M.:* Zytotoxizitätsuntersuchungen an verschiedenen Materialien aus Schimmelpilz-kontaminierten Innenräumen

10.30 - 11.00 *- Kaffeepause -*

11.00 - 11.30 *Otteneder H. und Majerus P.:* Zum aktuellen Stand der Entwicklung von standardisierten Untersuchungsverfahren bei Mykotoxinen auf nationaler und internationaler Ebene

11.30 - 12.00 *van Egmont H. und Dekker W.H.:* Worldwide regulations of mycotoxins in 1995

12.00 - 12.30 *Schuh M.:* Probleme bei gerichtlicher Schadensermittlung nutztierrelevanter Mykotoxikosen

12.30 - 13.00 Abschlußdiskussion

Kurzfassungen der Vorträge

Scott P., Weber Dorcas und Kanhere S.R.:
Liquid and gas chromatographic methods of analysis for Alternaria toxins

Nirenberg Helgard und Bresch H.:
Stimmen Fumonisinproduktion und Artendifferenzierung in der Fusarium-Sektion Liseola überein?

Geisen R.:
Ein spezifischer Nachweis von fumonisinbildenden *Fusarium moniliforme* Stämmen durch eine „Multicolour"-Detektionsreaktion

Humpf H.U.:
Einsatz eines HPLC-MS/MS-Systems zum Nachweis von Fumonisinen in Lebensmitteln

Meister Ute und Symmank Hanka:
Fumonisine in Getreide

Lew H., Adler A. und Edinger W.:
Zum Vorkommen und Nachweis von Moniliformin in Getreide

Krska R., Schumacher R. und Grasserbauer M.:
Optimierung eines Analysenverfahrens zur Spurenbestimmung von Beauvericin in natürlich und künstlich infiziertem Mais

Auerbach H., Oldenburg Elisabeth und Weißbach, F.:
Untersuchungen zum Vorkommen von Roquefortin C in Silagen und Möglichkeiten zur Unterdrückung der Mykotoxinbildung durch *Penicillium roqueforti*

Schneweis Isabell, Zerlin Marion, Hinze C., Grabley Susanne und Bauer J.:
Zur Bildung von Monacolin K-Na in Silage

Schöber-Butin Bärbel:
Über ein Toxin von Phytophthora infestans

Usleber E., Abramson D. und Märtlbauer E.:
Enzymimmunchemischer Nachweis von Citrinin in Gerste und Weizen

Metzler M., Groß Kerstin und Pfeiffer Erika:
Chromosomale Effekte von Citrinin und Patulin in vitro

Wild D. und Gareis M.:
Reevaluierung der Mutagenität von Kojisäure und Cyclopiazonsäure in Tests mit *Salmonella typhimurium* (Ames-Test)

Krämer Gabriele:
Probenaufbereitung über Aflaprep Immunoaffinitätssäulen für die quantitative Bestimmung von Aflatoxin B_1, B_2, G_1 und G_2

Blüthgen A.:
Zur Rekombination und Ausscheidung von Aflatoxin M_1 nach oraler Zufuhr Aflatoxin B_1-ähnlicher Verbindungen an laktierende Kühe

Creppy E.E., Belmadani A., Betbeder A.M. und Tramu G.:
Effects of ochratoxin A in the brain of young adult rats

Fink-Gremmels Johanna:
Metabolism mediated toxicity of ochratoxin A

Föllmann W., Dörrenhaus Angelika und Vangala R.:
Genotoxische Effekte von Ochratoxin A auf kultivierte Säugerzellen

Stock Stefanie, Hülsemann J., Gerber Maria M. und Degen Gisela H.:
Zur Genotoxizität von Ochratoxin A und Analoga in Zellkulturen aus Schafsamenblasen

Ruhland Monika, Engelhardt Gabriele und Wallnöfer P.R.:
Verwendung von Gradienten-HPLC für die Auftrennung von Ochratoxin A und seinen Derivaten

Märtlbauer E., Usleber E. und Straka Margit:
Ochratoxin A im Serum eines Lehrstuhlkollektivs: 1990 - 1995

Bata A., Kovács F., Sándor G. und Ványi A.:
Quantitative determination of Ochratoxin A in human blood and colostrum samples in Hungary

Wolff J., Gareis M., Scheuer R., Engel G., Bresch H., Rosner H., Majerus P. und Schneider R.: Belastung des Verbrauchers und der Lebensmittel mit Ochratoxin A

Richter W., Schuster M. und Scholz W.:
Reduzierung von Ochratoxin A in Futtergetreide durch Konservierungsstoffe

Goll M., Bokern M., Valenta Hana und Harms H.:
Bioverfügbarkeit von Ochratoxin A aus verschiedenen gebundenen Rückstandsfraktionen

Breves G., Winckler C. und Schröder B.:
Ochratoxin A und intestinaler Nährstofftransport beim Schwein

Lusky K., Göbel Roswitha, Tesch Doris, Doberschütz K.-D., Lippert A. und Tenner Gunda:
Untersuchungen zur Tiergesundheit und zum Rückstandsverhalten beim Schwein bei gleichzeitiger Aufnahme der Mykotoxine Ochratoxin A und Deoxynivalenol über das Futter im 90-Tage-Test

Göbel Roswitha und Bohm D.:
Zur Bestimmung von Deoxynivalenol in Plasma, Organen und Geweben

Böhm J.:Deoxynivalenol (DON) und Nivalenol (NIV) im Hafer - Auswirkungen auf Absetzferkel

Gang Gudrun, Miedaner T., Freesemann Jutta und Geiger H.H.:
Nivalenolbildung von *Fusarium culmorum*-Isolaten bei Ähreninfektion von Winterroggen im Feld

Volke Beate, Wegener M., Weinert A., Koopmann B. und Wolf G.A.:
Nachweis von Fusarien in Getreide-Einzelkörnern und -Mehl mit Hilfe eines Enzymtests, eines ELISA und über PCR mit spezifischen Primern

Usleber E., Vrabcheva Terry, Geßler Renate, Abramson D. und Märtlbauer E.:
Untersuchungen zum Einsatz enzymimmunchemischer Tests für Fusarientoxine (Trichothecene, Zearalenon) in Gerste und Weizen

Taschan H., Butze C., Lenz B. und Muskat E.:
Zearalenon und Deoxynivalenol in verschiedenen Bieren

Schuhmacher R., Krska R., Grasserbauer M. und Lew H.:
Immunoaffinitätssäulen versus klassische Probenvorbereitung bei der Bestimmung von Zearalenon in Mais - ein Methodenvergleich

Oldenburg Elisabeth, Lepschy J.,Valenta Hana und Weißbach F.:
Fusarientoxine in Silomais - Abhängigkeit von Sorte und Standort

Meyer K., Usleber E., Märtlbauer E. und Bauer J.:
Untersuchungen zum Nachweis und Vorkommen von Zearalenon und α-Zearalenol in Gallen von Zuchtsauen mit Fertilitätsstörungen

Valenta Hana und Vemmer H.:
In vitro-Untersuchungen zum Metabolismus von Zearalenon bei Inkubation mit Pansensaft

Creppy E.E., Chekir-Gedirha L., Maaroufi K., Ellouz F., Betbeder A.M. und Bacha H.:
Mechanistic approaches of zearalenone cytotoxicity in vitro

Bata A., Ványi A., Körmendi S. und Kovács F.:
Investigations on the acute toxicity and the susceptibility of rainbow trout to T-2 toxin

Johanning E.:
Gesundheitsprobleme durch/nach Pilzkontaminationen in Innenräumen - Ergebnisse von Felduntersuchungen

Sorenson W., Jarvis B., Zhou Y., Jiang J., Wang S. und Hintikka Eeva-Liisa:
Toxins associated with stachybotrys and memnoniella in water-damaged homes

Nijulin M., Hyvärinen A., Kotimaa M., Parikka P. und Hintikka Eeva-Liisa:
Stachybotrys - Probleme in Innenluft finnischer Häuser

Gareis M.:
Zytotoxizitätsuntersuchungen an verschiedenen Materialien aus Schimmelpilz-kontaminierten Innenräumen

Otteneder H. und Majerus P.:
Zum aktuellen Stand der Entwicklung von standardisierten Untersuchungsverfahren bei Mykotoxinen auf nationaler und internationaler Ebene

van Egmont H.und Dekker W.H.:
Worldwide regulations of mycotoxins in 1995

Schuh M.:
Probleme bei gerichtlicher Schadensermittlung nutztierrelevanter Mykotoxikosen

Liquid and gas chromatographic methods of analysis of Alternaria toxins

P.M. Scott, Dorcas Weber and S.R. Kanhere

Health Canada, Health Protection Branch, Food Research Division,
Address Locator 2203D, Ottawa, Ontario, Canada, K1A 0L2

Abstract

Many Alternaria species are widely distributed plant pathogens which produce several mycotoxins, including derivatives of dibenzo-α-pyrones such as alternariol (AOH), alternariol monomethyl ether (AME) and altenuene (ALT); perylene derivatives, e.g. altertoxin I (ATX-I); and tenuazonic acid (TA). Their natural occurrence in fruits and other foodstuffs has been reported. The most widely used procedure for determining Alternaria toxins in food extracts is liquid chromatography (LC), with detection by UV absorption at various wavelengths from 240 to 350 nm, fluorescence with excitation at 278 to 340 nm and emission at 370 to 445 nm, electrochemistry, or mass spectrometry (MS). The last three techniques are either not appropriate or have not been applied for LC detection of TA. Gas chromatography (GC) has been used for determination of AOH, AME and ALT as their trimethylsilyl (TMS) derivatives and TA as either the TMS derivative or without derivatization. Use of heptafluorobutyrate (HFB) derivatives has not previously been explored. Capillary (0.5 μm film) GC-MS showed that full and partial HFB derivatives of AOH, AME, ALT, a structurally uncharacterized derivative of ATX-I, and a tris HFB derivative of TA were formed with heptafluorobutyric anhydride

and 4-dimethylaminopyridine or polymer-bound 4-(N-benzyl-N-methylamino)pyridine as catalyst; full and partial TMS derivatives of these mycotoxins were formed with Tri-Sil TBT. A recently developed tandem solid phase extraction method for cleanup of apple juice was used for both LC and GC-MS determination of AOH and AME. Apple juice extracts caused enhanced response (matrix effect) in GC-MS of AOH bis-HFB (which gave a quadratic standard curve) and bis-TMS derivatives. Natural occurrence of AOH in apple juice has been demonstrated.

Stimmen Fumonisinproduktion und Artendifferenzierung in der *Fusarium*-Sektion Liseola überein?

Helgard I. Nirenberg, H. Bresch

Die Sektion Liseola wird von den verschiedenen Fusarium-Spezialisten in unterschiedlich viele Taxa unterteilt: Sie variieren zwischen einem (Snyder und Hansen 1941) und zehn (Nirenberg 1976). Derzeit wird die Gattung in den USA genetisch von Leslie und Mitarbeitern (klassische Genetik) und O'Donnell und Mitarbeitern (DNA-Sequenzierung) bearbeitet. Mit letzterer Arbeitsgruppe besteht eine enge Zusammenarbeit, in der u.a. die morphologische Differenzierung von mir übernommen wurde. Wir haben gute Übereinstimmungen erzielt und glauben, daß ca. 30 Arten in der Sektion existieren.

Neben der Fähigkeit, Moniliformin, Fusarinsäure und Beauvericin zu synthetisieren, sind Liseola-Fusarien vor allem für ihre Fumonisinproduktion bekannt. Durch den häufigen Befall von Mais sind sie ein Lebensmittelsicherheitsrisiko.

H. Bresch untersuchte an ausgewählten Isolaten dieser Arten die Fumonisinproduktion in Maiskörnern *in vitro*. Es wird berichtet, wie weit Übereinstimmungen im Fumonisinproduktionsvermögen der Stämme mit ihrer Artzugehörigkeit vorhanden sind, wobei auf die Wichtigkeit einer exakten Identifizierung hingewiesen wird.

Ein spezifischer Nachweis von fumonisinbildenden *Fusarium moniliforme* Stämmen durch eine "Multicolour"- Detektionsreaktion

R. Geisen

Bundesforschungsanstalt für Ernährung
Engesserstr. 20
76131 Karlsruhe

Fusarium moniliforme ist der bekannteste Fumonisinproduzent. *F. moniliforme* kann, neben anderen Fusarien, häufig auf verschiedenen pflanzlichen Produkten, darunter besonders Mais nachgewiesen werden. Die taxonomische Bestimmung von *F. moniliforme* erfolgt meist anhand morphologischer Kriterien. Es wurde versucht eine objektive Bestimmungsmethode mit Hilfe von empirischen Gensonden für *F. moniliforme* zu entwickeln. Informationen über die Gene, die zur Fumonisinbildung beitragen und als mögliche Zielsequenzen zur Entwicklung von spezifischen Gensonden dienen könnten sind nicht verfügbar. Es wurde daher zunächst ein Oligonukleotid indentifiziert und als Primer in einer RAPD-PCR-Reaktion eingesetzt. Bei Verwendung dieses Primers und der DNA von *F. moniliforme* als Template wurde, nach Auftrennung in einem Agarosegel ein spezifisches Bandenmuster erhalten, daß mit der Fumonisinbildung gekoppelt war. Zwei dieser DNA-Fragmente wurden isoliert, mit Digoxygenin, bzw Biotin markiert und als Gensonden für *F. moniliforme* eingesetzt. Beide Gensonden zeigten hohe Spezifität für *F. moniliforme*. In einigen Fällen wurde jedoch bei Anwendung der einzelnen Gensonden eine Kreuzreaktion mit anderen Spezies beobachtet. Bei Anwendung beider Gensonden und Detektion mit unterschiedlich gefärbten Substraten zeigte jedoch nur *F. moniliforme* in beiden Fällen eine positive Reaktion.

Einsatz eines HPLC-MS/MS-Systems zum Nachweis von Fumonisinen in Lebensmitteln

H.-U. Humpf

Universität Würzburg, Lehrstuhl für Lebensmittelchemie
Am Hubland, 97074 Würzburg

Für die qualitative und quantitative Analyse der Fumonisine in Lebensmitteln stehen verschiedene Methoden zur Verfügung. Aufgrund der fehlenden UV Absorption der Fumonisine wird als Standardmethode HPLC mit Fluoreszenzdetektion nach Derivatisierung der Aminogruppe eingesetzt. Da bei diesen Methoden sehr oft Störsignale im Chromatogramm auftreten und die Fluoreszenzderivate nicht stabil sind, gestaltet sich gerade der Nachweis von sehr geringen Substanzmengen äußerst schwierig.

Im Folgenden wird eine HPLC-Tandem-Massenspektrometrie Methode (LC-MS/MS) vorgestellt, die es erlaubt die Fumonisine in Maisprodukten sehr selektiv und in geringen Mengen nachzuweisen. Die entsprechenden Extrakte werden auf einer RP-18 HPLC-Säule getrennt und gelangen über ein Elektrospray (ESI)-Interface in das Massenspektrometer. Für empfindliche Messungen wird das Tandem-Massenspektrometer im sogenannten SRM-Modus (Single Reaction Monitoring) betrieben. Dabei werden mit dem ersten Massenspektrometer aus dem Analysengemisch ganz gezielt Ionen selektiert. Nach Stoßaktivierung dieser Ionen mit Argon werden die entstandenen Fragmentionen mit dem zweiten Massenspektrometer im SIM-Modus (Single Ionen Monitoring) erfaßt. Da bei dieser Betriebsart im ersten als auch im zweiten Massenspektrometer nur die voreingestellten Ionen erfaßt werden, ergibt sich eine enorme Selektivität bei gleichzeitig hoher Empfindlichkeit. Mit Hilfe dieser Technik ist es möglich Maisprodukte direkt - <u>ohne</u> jegliche Aufarbeitung - zu untersuchen. Die entsprechenden Proben werden nur mit Methanol/1N HCl (1/3) extrahiert und der Rohextrakt direkt vermessen (Nachweisgrenze: 100ng/g). Für eine höhere Nachweisgrenze muß mit einem starken Anionenaustauscher (SAX) vorgereinigt werden.

Fumonisine in Getreide

Ute Meister, Hanka Symmank

IGV Institut für Getreideverarbeitung GmbH, Arthur-Scheunert-Allee 40-41,
D-14558 Bergholz-Rehbrücke

Fumonisine sind Mykotoxine, die von speziellen Fusarien vor allem auf Mais gebildet werden. Andere Getreidearten wurden diesbezüglich bisher kaum untersucht. Um die Fumonisinsituation in Deutschland zu erfassen, wurden 1993 und 1994 neben Körnermais vor allem Weizen und Roggen sowie stichprobenartig Gerste und Hafer aus deutschem Anbau auf Fumonisine untersucht. Dazu mußte die für Mais gebräuchliche HPLC-Methode modifiziert werden. Außerdem wurde Importmais aus Argentinien in die Untersuchungen einbezogen.

Die Untersuchung von insgesamt ca. 550 statistisch ausgewählten Weizen- und Roggenproben, die die deutsche Getreideernte über 2 Jahre (1993, 1994) repräsentieren, ergab einen negativen Befund. Die stichprobenartige Untersuchung von Gersten- und Haferproben ergab ebenfalls einen negativen Fumonisinbefund.

Bei deutschem Körnermais wurden 1993 nur bei sehr wenigen Proben geringe Fumonisingehalte (17-33 ng/g) gefunden. 1994 wurden - allerdings regional sehr unterschiedlich - wesentlich höhere Fumonisingehalte festgestellt. Maisproben aus Baden-Würtemberg, die die Körnermaisernte dieses Landes repräsentieren, waren zu 14 % mit Fumonisinen kontaminiert; der Mittelwert der positiven Proben lag bei 206 ng/g. Körnermais von landwirtschaftlichen Erzeugern Mitteldeutschlands war zu 44 % mit Fumonisinen kontaminiert; der Mittelwert der positiven Proben lag hier bei 186 ng/g. In Proben aus Landessortenversuchen der einzelnen Bundesländer ergab sich ein sehr unterschiedliches Bild. An einigen Standorten wurde keine Fumonisinkontamination festgestellt, an Standorten mit beobachtetem Maiszünslerbefall und / oder starkem Trockenstreß traten teilweise Fumonisingehalte im unteren ppm-Bereich auf. Als Toxinbildner wurden Fusarium verticillioides (= Fusarium moniliforme) und Fusarium proliferatum nachgewiesen. Die mittlere Gesamtfumonisinkontamination aller untersuchten positiven Körnermaisproben der Ernte 1994 lag - ohne Berücksichtigung der Extremwerte von 2 Standorten in Brandenburg und Thüringen - bei 106 ng/g, unter Einbeziehung dieser Werte (im ppm-Bereich) bei 540 ng/g.

Untersuchte Proben von Importmais aus Argentinien (1992-1994) wiesen bei einer Kontaminationsrate von 100 % einen mittleren Fumonisingehalt von 175 ng/g auf.

Zum Vorkommen und Nachweis von Moniliformin in Getreide

H. Lew, A. Adler, W. Edinger

Bundesamt für Agrarbiologie, Wieningerstr. 8
4020 Linz, Österreich

Moniliformin, ein kardiotoxisches Mykotoxin, wird in Europa von zumindest 7 Fusarienarten gebildet. Dazu zählen so wichtige Arten wie *F. subglutinans*, die dominierende Species auf Mais in Mitteleuropa und *F. avenaceum*, ein verbreiteter Schwächeparasit auf Getreide. Die wenigen bis jetzt in Europa vorliegenden Untersuchungsergebnisse weisen dementsprechend auf ein häufiges Vorkommen von Moniliforminkontaminationen bei Cerealien hin.

Die bislang stiefmütterliche Behandlung dieses wichtigen Fusarientoxins in der Mykotoxinforschung, - sowohl die Untersuchung von Praxisproben, als auch die Erforschung der toxikologischen Aspekte betreffend, lag daran, daß lange Zeit keine praktikable Methode zur routinemäßigen Moniliforminbestimmung zur Verfügung stand. Erst die Ausnützung von Ionenpaarphänomenen in der Probenaufarbeitung und - reinigung gab der Moniliforminroutineanalytik den entscheidenden Impuls.

Im Referat werden eine einfache, aber effiziente Routinemethode zur Bestimmung des Moniliformins in Getreide, - unter Anwendung einer Ionenpaarextraktion im Clean up und anschließender Ionenpaarchromatographie, sowie die Ergebnisse umfangreicher Untersuchungen von Mais, Weizen und Hafer in Österreich vorgestellt. Die höchsten Moniliformingehalte gab es erwartungsgemäß in Maischargen (bis zu 1,2 ppm), aber auch in Durumweizen konnten Gehalte bis zu 1 ppm festgestellt werden. Besonderheiten der Toxinbildung auf den diversen Getreidearten, die Vergesellschaftung mit anderen Fusarientoxinen, sowie Maßnahmen zur Vermeidung bzw. zur Verminderung der Moniliforminbelastung werden ebenfalls diskutiert.

Optimierung eines Analysenverfahrens zur Spurenbestimmung von Beauvericin in natürlich und künstlich infiziertem Mais

R. Krska, R. Schuhmacher, M. Grasserbauer

Interuniversitäres Forschungsinstitut für Agrarbiotechnologie (IFA-Tulln), Abteilung Analytikzentrum, Konrad-Lorenzstraße 20, A-3430 Tulln, Austria

Das *Fusarium* Mykotoxin Beauvericin (BEA) ist ein zyklisches Hexadepsipeptid, dessen natürliches Vorkommen bis zu 60 mg/kg erstmals 1993 von *Logrieco et al.* berichtet wurde. Die in der Literatur beschriebenen Analysenverfahren zur Bestimmung von BEA in Mais sind jedoch auf Konzentrationen >1 mg/kg beschränkt. Darüberhinaus finden sich in der Literatur keine statistischen Kenngrößen, wie z.B. Wiederfindungsrate, Verfahrensstandardabweichung oder Arbeitsbereich, die der Charakterisierung von Analysenverfahren dienen. Zielsetzung der präsentierten Arbeit war es, die von uns erst kürzlich verbesserte Bestimmungsmethode für BEA umfassend zu charakterisieren, zu optimieren und auf natürlich und künstlich infizierte Maisproben anzuwenden.

Bei der von uns entwickelten Methode erfolgt die chromatographische Trennung mit RP-HPLC und die Detektion des BEA bei der sonst unüblichen Wellenlänge von 192 nm. Das Detektionslimit dieser Methode liegt bei 40 µg/kg.

Um die Effizienz verschiedener Extraktionsverfahren (Ultra-Turrax Mixer, Rotations-Schüttelextraktion und Ultraschallbad) miteinander vergleichen zu können, wurde eine Probe mit natürlich *F. subglutinans* infiziertem Mais analysiert. Hierbei stellte sich eine dreiminütige Ultra-Turrax Extraktion als effizienteste und einfachste Methode heraus.

Durch die nun mögliche Bestimmung von BEA bis in den unteren µg/kg-Bereich konnte die Fähigkeit mehrerer österreichischer und polnischer Stämme, BEA zu bilden, nachgewiesen werden. Die Relevanz dieses bisher relativ unbeachteten Mykotoxins könnte daher weit größer sein als bisher angenommen.

Untersuchungen zum Vorkommen von Roquefortin C in Silagen und Möglichkeiten zur Unterdrückung der Mykotoxinbildung durch *Penicillium roqueforti*

H. Auerbach, E. Oldenburg und F. Weißbach
Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft (FAL) Braunschweig-Völkenrode,
Institut für Grünland- und Futterpflanzenforschung,
Bundesallee 50, 38116 Braunschweig

Im Hinblick auf die hygienische Qualität von Silagen stellt der durch den Schimmelpilz *Penicillium roqueforti* hervorgerufene Verderb dieser Futtermittel in der landwirtschaftlichen Praxis ein ernstzunehmendes Problem dar, da damit ein Risiko der Bildung von *Penicillium roqueforti*-Mykotoxinen wie z.B. Roquefortin C verbunden ist. Es wurde deshalb zum einen geprüft, mit welcher Häufigkeit und in welchen Konzentrationen Silagen aus dem norddeutschen Raum Roquefortin C enthalten. Zum anderen wurden in Laborsilierversuchen Studien zur Dynamik der Anreicherung von Roquefortin C und zur Unterdrückung der Mykotoxinbiosynthese durch den Einsatz des Konservierungsmittels Benzoesäure in unter Lufteinfluß stehenden Silagen durchgeführt .

Die Untersuchung von Silageproben aus optisch verschimmelten Zonen eines Silos, in denen vorwiegend bzw. ausschließlich *Penicillium roqueforti* nachgewiesen wurde, ergab mit bedeutender Häufigkeit Roquefortin C-positive Befunde. 75% aller Grassilagen enthielten im Mittel 5,7 ppm Roquefortin C, wohingegen bei Maissilagen alle Proben kontaminiert waren und durchschnittlich sogar 17,2 ppm detektiert wurden. In den visuell unverpilzt erscheinenden Zonen aus diesen Silos konnte bei Grassilagen „nur" in 42% und bei Maissilagen in 8% der Proben Roquefortin C nachgewiesen werden. Unabhängig von der Silageart betrug der durchschnittliche Gehalt 0,20 ppm Roquefortin C.
Es ergaben sich offensichtliche substratspezifische Unterschiede in der Höhe der Kontamination mit Roquefortin C, die ebenfalls in Silierversuchen auftraten. In Maissilagen setzte die Roquefortin C-Produktion zeitlich früher ein, und es wurden auch um ein Vielfaches höhere Mengen angereichert als in Grassilagen.

Die Mykotoxinbildung durch *Penicillium roqueforti* in Silagen konnte schon durch den Zusatz geringer Mengen des in Form einer Na-Benzoat-Lösung applizierten antimykotisch wirkenden Konservierungsmittels Benzoesäure (max. 0,20% der FM) selbst über eine mehrwöchigen Zeitraum des Luftkontaktes wirksam unterdrückt werden.

Das Risiko einer Kontamination von Silagen mit Roquefortin C kann auf Grund enger Beziehungen zur *Penicillium roqueforti*-Keimzahl (r^2=0,85) und zum Ergosteringehalt (r^2=0,92) mit hoher Sicherheit anhand dieser mykologischen Parameter abgeschätzt werden.

Zur Bildung von Monacolin K-Na in Silage.

Isabell Schneweis Marion Zerlin C. Hinze Susanne Grabley , J. Bauer

Einleitung

Monascus ruber v. Tieghem (Synonym *M. purpureaus Went*) bildet Stoffwechselprodukte, die einerseits als natürliche Farbstoffe von lebensmitteltechnologischem Interesse sind, andererseits als pharmakologisch wirksame Substanzen therapeutische Anwendung finden. Zu letzteren gehören die Monacoline, die als "Lipidsenker" eingesetzt werden.
In Silagen kommt *M. ruber* häufig vor. Deshalb war von Interesse, ob diese Stämme sowohl auf semisynthetischen Nährmedien als auch in Silage Monacoline bilden können. Als Vertreter für diese Substanzgruppe wurde das Natriumsalz der Mevinolinsäure (Monacolin K-Na) ausgewählt.

Material und Methoden

14 *M. ruber*-Stämme, die aus Mais-, Gras- oder Kleesilagen isoliert worden waren, wurden auf YES-Medium angezüchtet (14 Tage, 25 °C). Die Kulturen wurden mit Chloroform extrahiert. Der Nachweis von Monacolin K-Na erfolgte mittels 2D-TLC anhand von R_f-Wert, Derivatisierung mit Anisaldehyd und UV-Absorptionsspektrometrie; darüber hinaus wurde die antimycetische Aktivität der Extrakte im Agardiffusionstest und im Bioblott-Verfahren überprüft. Bei einem Stamm wurde die Bildung von Monacolin K-Na nach Isolierung der Reinsubstanz mittels ^{1}H-NMR abgesichert.

Sechs Stämme wurden auf nativer und autoklavierter Maissilage unter mikroaerophilen Bedingungen angezüchtet. Nach 14 und 28 Tagen wurden Proben genommen und der Gehalt an Monacolin K-Na bestimmt.

Ergebnisse und deren Besprechung

Die Analysen der YES-Kulturen ergaben, daß alle geprüften *M. ruber*-Stämme Monacolin K-Na bildeten. Auch nach Anzucht auf Silage konnte diese Verbindung nachgewiesen werden; nach 28tägiger Inkubation wurden Konzentrationen zwischen 46,5 und 169,7 mg/kg bestimmt. Dieses Resultat kann als Anhaltspunkt dafür gewertet werden, daß Monacolin K-Na auch unter natürlichen Bedingungen in Silage gebildet werden kann. Die Bedeutung dieser Verbindung für landwirtschaftliche Nutztiere, insbesondere Wiederkäuer, wird diskutiert.

[1] Lehrstuhl für Tierhygiene, Technische Universität München, Hohenbachernstr. 15, 85354 Freising;
[2] Hans-Knöll-Institut für Naturstoff-Forschung e.V. Beutenbergstr. 11, 07745 Jena.

Über ein Toxin von Phytophthora infestans

Bärbel Schöber-Butin

Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland, Messeweg 11/12, 38104 Braunschweig

Zusammenfassung

Der Pilz *Phytophthora infestans* ist der Erreger der Kraut- und Braunfäule der Kartoffel, der sowohl Blätter als auch Knollen befallen kann. Systematisch gehört er zu den Oomyceten.

In den 70er Jahren wurde der Verdacht geäußert, daß es bei Schwangeren nach der Verarbeitung und dem Genuß infizierter Kartoffelknollen zu Mißbildungen am Fötus (Anencephalie und Spina bifida) kommen könne.

Unsere Untersuchungen an infizierten Knollen haben ergeben, daß große Mengen an Phytoalexinen vom Knollengewebe gebildet werden; diese ähneln von der Struktur her z.T. den Trichothecenen. Im *Artemia salina* - Test erwiesen sich diese Stoffe als toxisch für die Larven des Salzkrebses. Der Verdacht einer teratogenen Wirkung konnte allerdings (in Zusammenarbeit mit der Bundesanstalt für Ernährung, Karlsruhe) nicht bestätigt werden.

Weitere Untersuchungen ergaben, daß der Pilz ein Toxin ausscheidet, das wahrscheinlich eine Rolle bei der Pathogenese der Kraut- und Braunfäule spielt. Im Knollengewebe konnte das Toxin ab dem dritten Tag nach der Infektion nachgewiesen werden. Es ruft auf Blättern und Knollen die gleichen Symptome hervor wie der Pilz bei einem natürlichen Befall und führt gleichzeitig zur Auslösung der Phytoalexinsynthese. Im *Artemia salina* - Test zeigte das Toxin eine nur schwache Wirkung. Im MTT -Test (der in der Bundesanstalt für Fleischforschung, Kulmbach, durchgeführt wurde) ergab sich bei tierischen Zellen allerdings eine hohe Toxizität.

Enzymimmunchemischer von Citrinin in rste und Weizen

Ewald Usleber , David Abramson und Erwin Märtlbauer[1]

1. Lehrstuhl für Hygiene und Technologie der Milch, Tierärztliche Fakultät, Ludwig-Maximilians-Universität München, Schellingstraße 10, 80799 München; 2, Agriculture and Agri-Food Canada, Cereal Research Center, 195 Dafoe Rd, Winnipeg R3T 2M9, Kanada

Unter Verwendung spezifischer polyklonaler Antikörper gegen Citrinin und eines Citrinin-Protein-Konjugates als Festphasenantigen wurde ein kompetitiver indirekter Enzymimmuntest zum Nachweis von Citrinin mit einer Nachweisgrenze von ca. 0,5 ng/ml erstellt.

Zur Extraktion von Citrinin wurden gemahlene Gersten- und Weizenproben (2 g) mit PBS/Methanol (90/10; 10 ml) 30 min gerührt. Der Extrakt wurde zentrifugiert, der Überstand filtriert und nach Verdünnung mit Puffer im Testsystem eingesetzt. Die Wiederfindungsraten für Citrinin in künstlich kontaminierten (Konzentrationsbereich: 100-2000 ng/g) Gersten- bzw. Weizenproben lagen zwischen 105% und 112% (VK: 4,5-12,4%) bzw. 89% und 104% (VK: 6,9-13%).

Die Effizienz der Extraktionsmethode wurde anhand natürlich mit Citrinin kontaminierten Probenmaterials (Citrininkonzentration: ca. 300 - 1900 ng/g) überprüft. Versuche mit wiederholter Extraktion derselben Probe bzw. einer Modifikation der Extrationszeit zeigten, daß mehr als 75% des extrahierbaren Citrinins mit PBS/Methanol (90/10) als Extraktionsmittel bei einer Extraktionsdauer von 30 min gewonnen werden konnte.

Aufgrund der einfachen Testdurchführung eignet sich der beschriebene Enzymimmuntest als Routineverfahren zum Nachweis von Citrinin in Gerste und Weizen in Konzentrationen von $\geq$ 100 ng/g.

Chromosomale Effekte von Citrinin und Patulin in vitro.

M. Metzler, Kerstin Groß, Erika Pfeiffer

Institut für Lebensmittelchemie der Universität Karlsruhe (TH), Kaiserstraße 12, D-76128 Karlsruhe

Nach den Ergebnissen von Langzeitstudien an Nagern stehen Citrinin (CIT) und Patulin (PAT) im Verdacht, kanzerogen zu sein. In typischen Kurzzeittests für Gentoxizität, z.B. dem Salmonella typhimurium Test nach Ames, zeigen beide Mykotoxine jedoch keine mutagene Wirkung. Einige komplette Kanzerogene wie Diethylstilbestrol, Benzol und Asbest erzeugen ebenfalls keine Genmutationen, induzieren jedoch numerische Chromosomenaberrationen (Aneuploidie), die als wesentliches frühes Ereignis bei der neoplastischen Zelltransformation angenommen werden. Wir haben deshalb CIT und PAT mit verschiedenen Methoden auf aneugenes Potential untersucht.

Sowohl CIT als auch PAT hemmen die Polymerisation von Mikrotubuli-Proteinen (MTP) zu Mikrotubuli (MT) unter zellfreien Bedingungen (halbmaximale Hemmung mit 400 mM CIT und 100 mM PAT). CIT zeigt colchicin-artiges Verhalten ohne kovalente Bindung an MTP, während PAT an Thiolgruppen der MTP bindet. In kultivierten V79-Zellen (Lungenfibroblasten des chinesischen Hamsters) erweist sich PAT als viel stärker cytotoxisch (50 % tote Zellen bei 5 mM) als CIT (50 % tote Zellen bei 100 mM). Bei Substanzkonzentrationen mit einer Überlebensrate der Zellen von >95% induzierten sowohl CIT als auch PAT konzentrationsabhängig Mikrokerne (Mikronuklei, MN), die mit Antikinetochor-Antikörpern (von CREST-Patienten) als ganze Chromatiden identifiziert wurden. Die Rate an CREST-positiven MN lag für 40 mM CIT bei 55 MN pro 2000 Zellen (Kontrolle: 2 MN) und für 0,5 mM PAT bei 23 MN pro 2000 Zellen (Kontrolle: 2 MN). Mit 0,5 mM PAT wurden Chromatinbrücken zwischen den Kernen der Tochterzellen beobachtet, die auf eine gestörte Trennung der Schwesterchromatiden bei der Mitose schließen lassen.

Unsere Untersuchungen zeigen, daß sowohl CIT als auch PAT zu Störungen der Chromosomenaufteilung bei der Zellteilung führen. Beide Mykotoxine haben das Potential zur Induktion von Aneuploidie und sind somit potentiell kanzerogen.

Unterstützt von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (Me 574/14-1).

Reevaluierung der Mutagenität von Kojisäure und Cyclopiazonsäure in Tests mit *Salmonella typhimurium* (Ames-Test)

D. Wild, M. Gareis

Bundesanstalt für Fleischforschung, Institut für Mikrobiologie und Toxikologie,
E.-C.-Baumann-Str. 20, D-95326 Kulmbach

Während die mutagene und kanzerogene Wirkung des Aflatoxin B_1 und anderer Aflatoxine gesichert ist, sind die entsprechenden Daten für andere Mykotoxine vielfach nicht eindeutig. So sind für Kojisäure und Cyclopiazonsäure die Daten zur Beurteilung der Mutagenität widersprüchlich (Wehner et al., 1978; Bjeldanes & Chew, 1979; Shibuya et al., 1982, Wei et al., 1991; Sorenson et al., 1984; Yates et al., 1987). Diese beiden Mykotoxine wurden daher im Ames-Test mit *Salmonella typhimurium* auf mutagene Wirkung untersucht. Aflatoxin B_1 diente als Referenzsubstanz. Ames-Tests wurden unter verschiedenen Bedingungen, ohne und mit Zusatz der S9-Leberhomogenatfraktion und Kofaktoren zwecks metabolischer Aktivierung, mit den etablierten Stämmen von *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100 u.a.) durchgeführt; zusätzlich wurden die neuen Stämme der TA7000er Serie benutzt, die Aufschluß über den molekular-genetischen Mechanismus einer mutagenen Wirkung geben.

Kojisäure war signifikant mutagen bei sehr hohen Konzentrationen, im Bereich von 5 - 40 mM (bis 4 mg/Platte). Ihre mutagene Aktivität ist jedoch sehr schwach, um 6 Größenordnungen schwächer als die von Aflatoxin B_1. Ergebnisse mit den Stämmen TA7001 - TA7006 bestätigten die sehr schwache mutagene Wirkung; aus der spezifischen Reaktion der 6 Stämme kann abgeleitet werden, daß Kojisäure unterschiedliche Transitions- und Transversionsmutationen induziert. Cyclopiazonsäure war unter verschiedenen Versuchsbedingungen auch bei den höchsten tolerierten Konzentrationen nicht mutagen.

Probenaufbereitung über Aflaprep Immunoaffinitätssäulen für die quantitative Bestimmung von Aflatoxin B B , G_1 und G_2

Gabriele Krämer

Chemisches Untersuchungsamt der Stadt Nürnberg,
Hauptmarkt 1, 90317 Nürnberg

Es wird über Probenaufbereitung und selektive Reinigung mittels Aflaprep-Immunoaffinitätssäulen bei einzelnen Lebensmittelgruppen auf pflanzlicher Basis berichtet. Die quantitative Auswertung erfolgt mittels Densitometrie und HPLC mit Nachsäulenderivatisierung und Fluoreszenzdetektion. Ergebnisse und Wiederfindungsrate werden diskutiert. Im Vergleich zur herkömmlichen Aufarbeitung z.B. nach der amtlichen Methode nach § 35 LMBG hat sich das Verfahren als zeitsparend erwiesen. Man erhält gut gereinigte Extrakte mit reproduzierbarer Wiederfindung. Bei hohem Probenaufkommen eignet sich die Methode auch als Screening-Verfahren.

Zur Rekombination und Ausscheidung von Aflatoxin M_1 nach oraler Zufuhr Aflatoxin B_1-ähnlicher Verbindungen an laktierende Kühe

A. Blüthgen

Institut für Hygiene, Bundesanstalt für Milchforschung,
Hermann-Weigmann-Str. 1, 24103 Kiel

Die Ausscheidung von Aflatoxin M_1 mit der Milch laktierender Kühe ist immer die Folge einer endogenen Verfügbarkeit von Aflatoxin B_1 oder eines anderen, entsprechend konvertierbaren Metaboliten, der mit der Futterration aufgenommen wird. Die langjährigen Erfahrungen mit nicht-höchstmengenkonformer Milch (>50 ppt) und der in einigen Fällen nicht objektivierbaren Kausalität der Futtermittel bei analytischer Überprüfung auf Aflatoxin B_1 führten zu der Überlegung, ob grundsätzlich ein „maskiertes", im spezifischen Nachweis auf Aflatoxin B_1 nicht erfaßbares, dennoch zu Aflatoxin M_1 umwandelbares Aflatoxin Ursache für dieses Phänomen sein kann, wenn andere Gründe ausscheiden.

Unter den primären Metaboliten kommt für diese Rolle das Aflatoxikol in Frage, das sowohl in der Kultur des *Aspergillus flavus* gebildet wird als auch durch gewebespezifische Steroidhydroxylasen im Organismus der Kuh aus Aflatoxin B_1 durch Reduktion der 11-Ketogruppe entstehen kann.

Zwei laktierenden Kühen wurden deshalb über vier Tage jeweils 75 bzw. 150 µg Aflatoxikol nach der morgendlichen Melkzeit oral supplementiert und die Ausscheidung von Aflatoxin M_1 mit der Milch verfolgt. Tatsächlich erfolgt eine Umwandlung in weiter metabolisierbares Aflatoxin, wobei die Carry over-Rate zwischen 0,75 und 0,94 % liegt. Die erste Eliminationshalbwertszeit erreicht mit zwei Melkzeiten den für Aflatoxin B_1 bekannten Wert, die zweite Halbwertszeit liegt aber unter einem halben Tag. Inwieweit diese Befunde eine futtermittelmikrobiologisch/lebensmittelhygienische Relevanz haben, müssen weitere Untersuchungen – besonders im Futtermittelbereich – zeigen. Hierzu gehört auch die Entwicklung einer spezifischen Analytik auf Aflatoxikol.

Effects of ochratoxin A on the brain of young adult rats

E.E. Creppy [1], A. Belmadani [1], A.M. Betbeder [1], G.Tramu[2]

[1] Laboratory of Toxicology and Applied Hygiene, 146, rue Léo Saignat, 33076 Bordeaux (France)
[2] Laboratory of Functional Neuro-Cytochemistry, av des Facultés , 33045 Talence (France)

Ochratoxin A (OTA) is a mycotoxin produced by several fungi, especially *Aspergillus* and *Penicillium* species. Animals and human foodstuffs (cereals, dried fruits, beans, olives, coffee cocoa) can be contaminated by ochratoxin A, which is also found in blood of animals and humans in the Balkans, Scandinavia, Germany, France, Northern America, Northern Africa (Algeria, Tunisia, Morocco) and Japan.

OTA is considered as the main causal agent of the fatal human disease (Balkan endemic nephropathy). OTA is nephrotoxic to all animals species studied so far. OTA is mainly teratogenic, genotoxic and carcinogenic.

The distribution and excretion of OTA varies considerably among different species and different tissues but invariably it is distributed in all organs and tissues including brain in which OTA induces necrosis and microcephaly after *in utero* treatment.

The distribution into the brain of young adult rats and consequences after subchronic exposure to OTA habe been investigated in the present study.

Our results on rats given OTA (289 µg/kg/48h for 3, 4, 6 weeks) indicated that OTA accumulated in brain as function of time according to a regression curve, $Y = 0,11\ a + 0.0083$ with a correlation coefficient of $r = 0.9917$. The brain OTA contents was 38-58-94 ng/g of brain after respectively 3, 4 and 6 weeks-treatment with the mycotoxin. OTA induced modifications of free amino-acid concentrations in the brain, mainly, Asp, Tyr, Phe. Phenylalanine and tyrosine concentrations in the brain were increased respectively from 0,38 ± 0.025 µmoles/g to 0.51 ± 0.029 µmoles/g and from 0.058 ± 0.002 µmoles/g to 0.069 ± 0.004 µmoles/g while aspartate was decreased from 2,58 ± 0,01 µmoles/g to 2,46 ± 0,08 µmoles/g.

The histological investigations showed necrotic cells with pyknotic nucleus with a higher frequency in OTA-treated animals as compared to the vehicle-treated controls.

Key words: Ochratoxin A, subchronic intoxication, rat brain, pyknotic nucleus, Variation of free amino acids.

Metabolism mediated toxicity of ochratoxin A

J. Fink-Gremmels
Utrecht University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Veterinary Pharmacology, Pharmacy and Toxicology

Human pathologies linked epidemiologically to ochratoxin A exposure include progressive renal fibrosis followed by acute renal failure as well as adenocarcinomas of the urinary tract including the urinary bladder. These findings directed mechanistic research on the molecular mode of action of ochratoxin A towards two main areas:

(1) the effects of ochratoxin A on renal function in particular renal hemodynamics and proximal tubule functions, which have been shown to be dose-dependently affected by ochratoxin A.

(2) the mechanisms involved in DNA-damage, mutagenicity and genotoxicity induced by ochratoxin A which might explain the carcinogenicity of ochratoxin A as demonstrated in two rodent species and allow a mechanism-based risk assessment to elaborate the possible causal relationship between mycotoxin-exposure and human pathologies.

Since we found in 1991 that ochratoxin A is metabolized into mutagenic metabolites by rat hepatocytes, we studied the metabolism of this mycotoxin in more detail with the aim to correlate biotransformation processes to toxic effects. The results can be summarized as follows:

* the first step in ochratoxin A - metabolism is an activation by various CYP450 enzymes. This reaction is dose-, sex- and species-dependent.
* the human CYP450 enzymes involved in the bioactivation of ochratoxin A belong to the subclasses CYP1A1, CYP1A2, CYP2C10 and CYP3A4. Activation by these isoenzymes is a prerequisite for mutagenicity.
* the second essential step in OA metabolism is the coupling of activated metabolites to glutathione, as glutathione-depleted cells are unable to form mutagenic metabolites.
* mutation analysis of OA induced mutations of the lacZ' gene inserted into transgenic cells revealed predominantly large deletions and only to a minor extend other small alterations. These observations correspond to earlier results indicating that OA causes DNA single strand breaks in metabolically competent cells.

From these findings it can be concluded that ochratoxin A requires metabolic activation to become an ultimate mutagen (and carcinogen). In the metabolic processing of ochratoxin A a number of different phases can be distinguished and thus, it is the aim of further studies to follow the final biotransformation steps occurring in the kidneys, in order to explain the site directed toxicity of ochratoxin A.

Genotoxische Effekte von Ochratoxin A auf kultivierte Säugerzellen

W. Föllmann, Angelika Dörrenhaus und R. Vangala

Institut für Arbeitsphysiologie an der Universität Dortmund, Ardeystr. 67, D-44139 Dortmund

In der Literatur existiert zur Zeit eine unbefriedigende Datenlage über die genotoxischen Eigenschaften des Mykotoxins Ochratoxin A (OTA). Während für bakterielle Systeme (Ames-Test) negative Ergebnisse vorliegen, wurden mit Säugerzellen widersprüchliche Ergebnisse publiziert.

Wir haben daher in Kurzzeit-Assays mit unterschiedlichen Endpunkten an verschiedenen Zellkulturen aus Säugern die genotoxischen Wirkungen von OTA wie auch von OT-alpha, dem Hauptmetabolit von OTA, untersucht.

An isolierten und kultivierten Hepatozyten aus Fischer 344 Ratten wurde getestet, ob OTA und OT-alpha DNA-Reparatur induzieren (UDS-Test). Durch OTA wurden in einem sehr engen Konzentrationsbereich (500nM -1µM) DNA-Schäden erzeugt, die eine DNA-Reparatur nach sich zogen. Unter 500 nM OTA zeigte sich keine DNA-Reparatur und oberhalb von 1 µM OTA wirkte es cytotoxisch. OT-alpha zeigte keinen Effekt [Föllmann W. *et al.* Naunyn Schmiedeberg´s Arch. Pharmacol. 349: R123,1994].

Da die Harnblase neben der Niere ebenfalls ein Zielorgan für OTA ist, wurden kultivierte Epithelzellen aus Schweineharnblasen benutzt, um die Induktion von Schwesterchromatidaustauschen (SCE= sister chromatid exchanges) während der Zellteilung zu untersuchen. Hier zeigte sich, daß OTA konzentrationsabhängig (100 pM-100nM) die Rate an SCE´s erhöht. Für OT-alpha konnte ebenfalls eine Erhöhung gezeigt werden, jedoch in 100-fach höherer Konzentration (10nM -10µM) [Föllmann W. *et al.* Arch.Toxicol. 69:280-286]. An diesen Zellen wurde außerdem untersucht, ob es durch OTA zu einer Induktion von DNA-Strangbrüchen kommt. Bei Konzentrationen von 10 und 100 nM OTA wurden Einzelstrangbrüche nachgewiesen und bei der höheren Konzentration sind erste Hinweise auf die Induktion von DNA-DNA-Quervernetzungen gefunden worden. Versuche mit OT-alpha stehen noch aus.

Zusammengefaßt weisen diese Befunde auf eine genotoxische Wirkung von OTA hin, die bei einer Beurteilung dieser Substanz zu berücksichtigen sind.

ZUR GENOTOXIZITÄT VON OCHRATOXIN A UND ANALOGA IN ZELLKULTUREN AUS SCHAFSAMENBLASEN

Stefanie Stock, J. Hülsemann, Maria M. Gerber und Gisela H. Degen

Institut für Arbeitsphysiologie an der Universität Dortmund, Ardeystr. 67, D-44139 Dortmund

Ochratoxin A (OTA) ist für Nager karzinogen und wird daher als Krebsrisikofaktor für Menschen betrachtet. Obwohl bereits viel über die Mykotoxin-Belastung von Nahrungsmitteln bekannt ist, wird eine Risikoabschätzung noch durch das unbefriedigende Verständnis des Wirkmechanismus von OTA, u.a. eine lückenhafte Datenlage zur Genotoxizität der Substanz und ihrer Metabolite erschwert. Dies veranlaßte uns, die Wirkung von OTA, OTB und OT-alpha in einem Säugerzell-Modell zu untersuchen. Um auch Hinweisen auf eine Rolle des peroxidativen Metabolismus für adverse Effekte nachzugehen, wurden dafür Schafsamenblasen (OSV)-Zellen eingesetzt, die hohe Prostaglandin H Synthase (PGHS)-Peroxidase Aktivität exprimieren. Sie wurden für 6 h mit verschiedenen Substanzkonzentrationen im Medium (IBR supplementiert mit 10 % fetalem Kälberserum) behandelt. Nach Mediumwechsel und einer Expressionszeit von 21 h wurde Genotoxizität in Form von Mikrokernen evaluiert, denn mit diesem Endpunkt können sowohl klastogene als auch aneuploidogene Wirkungen, also DNA-Strangbrüche und Genom-Mutationen, erfaßt werden.

OTA und OTB induzierten beide konzentrationsabhängig Mikrokerne in OSV-Zellen. OTA war *in vitro* (bei 12-30 µM im Medium) etwas stärker wirksam als OTB, während OT-alpha auch bei höheren Konzentrationen (bis 180 µM) zu keiner signifikanten Induktion von Mikrokernen führte. Die Genotoxizität von OTA und OTB wurde interessanterweise bei Zusatz von Indomethacin (50 µM) nicht vermindert, sondern noch verstärkt; der PGHS-Inhibitor allein war nicht toxisch für die Zellen. Da [^{3}H]-OTA von Indomethacin auch nicht deutlich aus der Bindung an Serumprotein verdrängt wurde, untersuchen wir derzeit andere Erklärungsansätze. Jedenfalls sprechen die Daten des Mikrokerntests zunächst dagegen, daß Ochratoxine von PGHS-Peroxidase metabolisch aktiviert werden.

Unsere Ergebnisse und weitere neue Befunde (vgl. Abstract Föllmann *et al.*) stützen die Hypothese, daß Genotoxizität von Ochratoxinen für deren adverse Effekte *in vivo* bedeutsam ist.

Anwendung von Gradienten-HPLC für die Auftrennung von Ochratoxin A und seinen Derivaten

Monika Ruhland, Gabriele Engelhardt, P. R. Wallnöfer

Bayerische Landesanstalt für Ernährung, Menzingerstraße 54, 80638 München

1. Einleitung

Schimmelpilze der *Aspergillus ochraceus*-Gruppe und Penicilliumarten können außer dem hochgiftigen Mykotoxin Ochratoxin A (OA) auch Ochratoxin A-Derivate wie z.B. Ochratoxin B (OB), OB-Methylester, OA-Methylester, Ochratoxinα Ochratoxin ß und Hydroxyochratoxin A bilden. Daß OA in Pflanzen- und Tierzellen metabolisiert werden kann ist bekannt. Folglich könnten eine Vielzahl strukturverwandter Ochratoxin-Derivate in Nahrungsmitteln vorkommen, die mit den üblichen Nachweismethoden nicht detektiert werden können. Mit der beschriebenen HPLC-Methode kann eine Auftrennung dieser Ochratoxin-Derivate erreicht werden.

2. HPLC-Methode

Es wurde eine Lichrosorb RP 18 Säule (7 µm, 4 mm x 250 mm) mit einer Lichrosorb RP 18 Vorsäule (7 µm, 4 mm x 4mm) (Merck AG. Darmstadt, Germany) verwendet. Gradient: 20%-70% Acetonitril in 1 % Essigsäure innerhalb von 25 Minuten, dann 10 Minuten isokratisch bei 70 % Acetonitril, Flußrate 1ml/min. Fluoreszenzdetektion: Fluoreszenzdetektor Modell F-1000, Hitachi, Ex: 330nm, Em: 460nm.

3. Ergebnisse

Mit dieser HPLC-Methode konnten die von *Penicillium verrucosum* sp. 1761 in Flüssigkultur produzierten Substanzen OA, OB, Ochratoxinα, Ochratoxin ß, OB-Methylester und OA-Methylester detektiert und aufgetrennt werden. Die Gradientenelution ist für die Bestimmung dieser Toxine aus Lebensmittelproben von Nutzen, wenn eine Abtrennung von Begleitsubstanzen erforderlich ist (Beispiel: Nachweis von OA und OB in verschimmelter Gerste). Ein weiteres Beispiel für die Anwendung dieser Methode ist die Detektion chemsich hergestellter Ochratoxin-Analoge.

Dieses Projekt wurde mit Mitteln der Deutschen Forschungsgemeinschaft gefördert.

Ochratoxin A im Serum eines Lehrstuhlkollektivs: 1990-1995

Erwin Märtlbauer et al.

Lehrstuhl für Hygiene und Technologie der Milch, Tierärztliche Fakultät, Ludwig-Maximilians-Universität München, Schellingstraße 10, 80799 München

Zwischen Juli 1990 und Dezember 1995 wurden 85 Serumproben von insgesamt 31 Mitarbeitern des Lehrstuhls für Hygiene und Technologie der Milch auf Ochratoxin A (OA) untersucht. Die Analysen wurden jeweils parallel mit einem Enzymimmuntest (EIA) und mit einer HPLC-Methodik durchgeführt. Die Nachweisgrenzen für OA im Serum lagen bei 50-100 pg/ml.

Eine Probe war in beiden Testsystemen negativ. Unter Verwendung der HPLC als Referenzverfahren ergaben sich für die OA-Bestimmung mittels EIA sieben (8,2%) falsch-positive und ein (1,2%) falsch-negatives Resultat(e). Diese Abweichungen lagen allerdings ausnahmslos in einem Konzentrationsbereich von unter 200 pg OA pro ml. In 76 Proben (89%) wurde mit beiden Methoden OA festgestellt (Korrelationskoeffizient: $r^2=0,763$). Die mit EIA bzw. HPLC gemessenen maximalen und mittleren OA-Gehalte für positive Proben lagen bei 1290 pg/ml und 385 ± 229 pg/ml bzw. bei 1110 pg/ml und 288 ± 182 pg/ml.

Von 9 Personen lagen Meßwerte (n=5) über den gesamten Untersuchungszeitraum vor. Eine Person wies konstant sehr niedrige Serum-OA-Werte (< 200 pg/ml) auf, bei allen anderen schwankten die OA-Konzentrationen innerhalb des Untersuchungszeitraumes stark.

Quantitative determination of Ochratoxin A in human blood and colostrum samples in Hungary

À. Bata[1], F. Kovács[2], G. Sándor[1], A. Ványi[1]

[1)] University of Veterinary Science, Dept. Animal Hygiene, H-1078 Budapest, István u. 2, HUNGARY

[2)] Hungarian Academy of Sciences, Budapest

Ochratoxin A (OA) is one of the most frequent sources of mycotoxin contamination of feed in Hungary.

It is produced by 1[illegible] % of *Aspergillus* and 12 % of *Penicillium* species. Humans may ingest OA with foodstuff of plant origin and secondary also with animal products. The mutagenic, teratogenic and carcinogenic effects of OA as revealed by recent studies prompted us to test human blood and colostrum samples for OA content.

One hundred blood samples and 92 mother's milk samples were investigated during 1994.

In 52 % of the examined blood samples OA was found, at levels higher than the determination limit (0.2 ppb). The average toxin content in the positive samples was 0.92 ppb.

In 41 % of the examined mother's milk samples OA was found. The average toxin content was 1.4 ppb.

The results indicate that human exposure to OA is distinct possibility. This is a serious risk if we consider that now it is already a generally held opinion that OA has teratogenic, mutagenic and carcinogenic properties. Mycotoxins present in the maternal organism which appear also in the mother's milk in the postpartum period, constitute a severe risk to the health of new-born infants.

Belastung des Verbrauchers und der Lebensmittel mit Ochratoxin A

J. Wolff
Bundesanstalt für Getreide-, Kartoffel- und Fettforschung in Detmold; Institut für Biochemie und Analytik des Getreides; 32756 Detmold, Schützenberg 12

M. Gareis und R. Scheuer
Bundesanstalt für Fleischforschung; Institut für Mikrobiologie und Toxikologie; 95326 Kulmbach; E.-C.-Baumann-Straße 20

G. Engel
Bundesanstalt für Milchforschung; Institut für Mikrobiologie; 24103 Kiel; Hermann-Weigmann-Str. 1-27

H. Bresch
Bundesforschungsanstalt für Ernährung; Institut für Hygiene und Toxikologie; 76131 Karlsruhe; Engesserstr. 20

H. Rosner
Bundesinstitut für gesundh. Verbraucherschutz und Veterinärmedizin; 07743 Jena; Naumburgerstr. 96 a

P. Majerus
Chemisches Untersuchungsamt; 54295 Trier; Maximineracht 11 a

R. Schneider
Infratest; 80687 München; Landsberger Str. 338

Ochratoxin A (OTA), wurde in verschiedenen pflanzlichen und tierischen Lebensmitteln gefunden. Untersuchungen von Humanblutseren in Bayern, Niedersachsen, Hessen und Thüringen ergaben, daß bis zu 68 % der untersuchten Seren mit 0,1-14,4 mg/l OTA belastet waren. Untersuchungen in der Schweiz zeigten auf, daß sich OTA in ausnahmslos jeder Blutprobe nachweisen ließ, „d. h., daß OTA im Blut der schweizerischen Bevölkerung (und vermutlich auch der europäischen) als ubiquitär Kontaminant betrachtet werden muß".

Zur Klärung des Zusammenhangs zwischen OTA-belasteten Lebensmitteln und der Belastung der Verbraucher und besonderer Verbrauchergruppen in Abhängigkeit von den Verbrauchsgewohnheiten soll in einer vom Bundesministerium für Gesundheit geförderten Studie der OTA-Gehalt in Lebensmitteln und in Blutseren repräsentativ ausgewählter Probanden ermittelt werden. Alle Werte werden in 4 Wellen pro Jahr über zwei Jahre erfaßt. Die Analysengenauigkeit wird durch Ringversuche überprüft. Damit wird erstmals die OTA-Zufuhr in der Gesamtbevölkerung ermittelt. Mit diesen Untersuchungen soll ebenfalls geklärt werden, ob zwischen analytisch erfaßtem und bioverfügbarem OTA Unterschiede bestehen. Ferner wird Aufschluß darüber erwartet, ob die resultierenden OTA-Gehalte in den Seren bei gleicher Nahrungsaufnahme für mehrere Probanden individuell verschieden sind. Die Ergebnisse aus insgesamt über 12.000 Einzeluntersuchungen können zur Festlegung von Höchstmengen in Lebensmitteln beitragen.

Reduzierung von Ochratoxin A in Futtergetreide durch Konservierungsstoffe

W. Richter, M. Schuster, W. Scholz

Bayerische Landesanstalt für Tierzucht, Grub
Postfach 1180, 85580 Poing

Die Möglichkeiten der Entgiftung von Ochratoxin A in Getreideschrot durch Konservierungsstoffe wurde von Richter und Wolff 1994 untersucht. Durch die Konservierungsstoffe wurde der Gehalt an Ochratoxin A im Getreideschrot (3,5 µg/kg m_T) um 11 - 37 % reduziert. Nun sollte die Wirkung dieser Konservierungsstoffe bei ganzen Körnern geprüft werden. Hierzu wurde Wintergerste (Sorte Igri) der Ernte 1994 mit P. verrucosum (CBS 190.89 CIBTMF 23), nach Wiederbefeuchtung auf 19%, beimpft und 16 Wochen in einer Getreideschüttung (Silo), wie bei Abramson u.a. 1992 beschrieben, gelagert. Ein Teil dieses Getreides wurde gemischt und als Ausgangsmaterial (49,2 µgOTA/kg Getreide) zur Behandlung mit Konservierungsstoffen verwendet.

Reduzierung (%) von Ochratoxin A in Wintergerste durch die Behandlung mit unterschiedlich dosierten Konservierungsstoffen

Konservierungsstoffe	Dosierung		
	I	II	III
Propionsäure 0,25/0,5/1,0%	23	16	65
Harnstoff 1,75/2,25/2,75%	60	71	40
Natriumdisulfit 0,5/1,0/1,5%	56	57	7
Natronlauge 1,5/2,5/3,5%	82	74	100

Die Reduzierung von Ochratoxin A in Wintergerste erfolgt mit keinem Konservierungsmittel vollständig. Die Überprüfung der Behandlungsstufe Natronlauge mit 3,5% im neutralen Bereich ergab nur eine Reduktion um 81%. Zur Absicherung dieser Reduktion müßte noch ein Fütterungsversuch durchgeführt werden.

Die verwendete Literatur kann beim Erstautor angefordert werden.

Bioverfügbarkeit von Ochratoxin A aus verschiedenen gebundenen Rückstandsfraktionen

Bioavailability of ochratoxin A from different bound residue fractions

Goll, M., M. Bokern, H. Valenta und H. Harms

Durch frühere Untersuchungen wurde nachgewiesen, daß die Zugabe von OTA zu Gerstenzellkulturen zur Bildung nicht-extrahierbarer OTA-Rückstände führt. Diese wurden in ein Standardfuttermittel eingemischt und an Ratten verfüttert. Obwohl durch die Routinefuttermittelanalytik kein OTA mehr nachweisbar war, konnte im Blutplasma von Ratten OTA detektiert werden. Somit konnte belegt werden, daß „Zellwand-assoziiertes" OTA teilweise bioverfügbar ist.

Durch weitere Untersuchungen sollte geklärt werden aus welchen Zellwandbestandteilen welcher Anteil des bioverfügbaren OTAs stammt. Durch Zugabe von OTA zu Gerstenzellkulturen wurden standardisierte OTA-Rückstände produziert und diese dann einem Standardfutter zugemischt und an Ratten verfüttert. Die Gehalte an OTA im Blutplasma der verschiedenen Versuchsgruppen geben Auskunft darüber, aus welchen Zellwandbestandteilen das bioverfügbare OTA stammt.

Gruppe 1 (2 Ratten): erhielt nicht-extrahierbare Rückstände ohne OTA (Negativkontrolle)

Gruppe 2 (3 Ratten): erhielt nicht-extrahierbare Rückstände nach OTA-Applikation, die mit Dioxan/HCl behandelt wurden (⇨ dadurch werden magenähnliche pH-Verhältnisse erzeugt; die Lignin- und wahrscheinlich die Pektin-, Stärke- und Proteinfraktion werden entfernt, es wird also die Hemizellulose- und Zellulosefraktion verfüttert)

Gruppe 3 (3 Ratten): erhielt nicht-extrahierbare Rückstände nach OTA-Applikation, die mit Amylase und Protease behandelt wurden (⇨ dadurch werden die Stärke- und Proteinfraktion entfernt = es wird also die Lignin-, Pektin-, Hemizellulose-und Zellulosefraktion verfüttert)

Gruppe 4 (3 Ratten): erhielt nicht-extrahierbare Rückstände nach OTA-Applikation ohne weitere Behandlung (⇨ dadurch werden alle nicht-extrahierbaren Rückstände verfüttert = Positivkontrolle; Blutplasmagehalte entsprechen 100 % Bioverfügbarkeit)

Die Analyse der eingesetzten Futtermittel ergab für die Gruppen 1 - 3 Werte unterhalb der Nachweisgrenze von 1 ng/g. Das in der Gruppe 4 eingesetzte Futtermittel enthielt 1,6 ng OTA/g.

Die OTA-Gehalte im Blutplasma lagen in Gruppe 1 bei < 0,5, in Gruppe 2 bei 1,8, in Gruppe 3 bei 3,8 und in Gruppe 4 bei 15,4 ng/ml. Der Wert der Gruppe 4 wurde auf 13,8 ng/ml korrigiert (unter der Annahme, daß 1 ng OTA/g Futtermittel zu einem Blutplasmagehalt von 1 ng/ml führt). Der Blutplasmagehalt von 13,8 ng/ml entspricht einer Bioverfügbarkeit von 100 %.

Etwa 73 % des bioverfügbaren OTAs stammen aus der Stärke- und Proteinfraktion, jeweils etwa 13 % könnten aus der Lignin- und Pektin- bzw. aus der Hemizellulose- und Zellulosefraktion der Zellwand stammen.

Ochratoxin A und intestinaler Nährstofftransport beim Schwein

G. Breves C. Winckler und B. Schröder

Institut für Veterinär-Physiologie, Justus-Liebig-Universität Gießen

Bislang liegen keine grundlegenden Untersuchungsergebnisse zu der Frage vor, ob der intestinale Transport von Kohlenhydraten oder Aminosäuren durch eine orale Belastung mit Ochratoxin (OTA) beeinflußt wird. Daher erhielten im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen 9 Ferkel im Gewichtsbereich zwischen 17 und 24 kg und bei einer Futteraufnahme von 1 kg/Tag für die Dauer von 10 Tagen OTA per os in einer Dosis von 74 µg/kg Futter. Acht Tiere dienten als Kontrollen und bei 4 weiteren Tieren wurde als charakteristisches Xenobiotikum 2-Acetylaminofluoren in einer Dosis von 40 mg/kg Lebendmasse für die Dauer von 5 Tagen mit dem Futter verabreicht.

Aus den am Ende der Applikation entnommenen Segmenten des mittleren Jejunums wurden Bürstensaummembranvesikel präpariert, an denen die Aufnahme von Glukose und Alanin gemessen wurde.

Für die Glukoseaufnahme wurden zwischen den drei Versuchsgruppen keine Unterschiede festgestellt. Sie zeigte in allen Ansätzen die charakteristischen Merkmale des Na^+-gekoppelten Glukosetransports.

Die Na^+-abhängige Alaninaufnahme wurde durch OTA nicht beeinflußt, sie war nach Aminofluorenbehandlung jedoch deutlich vermindert.

Aus diesen Ergebnissen ist zu schließen, daß OTA spezifische Transportsysteme im Darm nicht beeinflußt, was jedoch für Xenobiotika vermutet werden kann.

Untersuchungen zur Tiergesundheit und zum Rückstandsverhalten beim Schwein bei gleichzeitiger Aufnahme der Mykotoxine Ochratoxin A und Deoxynivalenol über das Futter im 90-Tage-Test

K. Lusky, Roswitha Göbel, Doris Tesch, K.-D. Doberschütz, A. Lippert und Gunda Tenner

Institut für Veterinär-Pharmakologie und Toxikologie GmbH, Weißenseer Str. 36, 16321 Bernau

In einem Test an Schweinen sollte geprüft werden, welche Auswirkungen ein kombiniertes Vorkommen der Mykotoxine Deoxynivalenol (DON) und Ochratoxin A (OTA) im Futter von Schweinen auf die Tiergesundheit hat und welches Rückstandsverhalten diese Mykotoxine einzeln bzw. in Kombination zeigen (Gr. I: OTA [0,1 ppm] + DON [1,0 ppm]; Gr. II: OTA [0,1 ppm]; Gr. III: DON [1,0 ppm]; Gr. IV: Kontrolle).

Ergebnisse

Eine Kombination der Mykotoxine OTA und DON in praxisrelevanten Dosierungen hat keinen nachweisbaren Einfluß auf die Tiergesundheit. Anhand der Lebendmasse, Hämatologie und Klinischen Chemie lassen sich Auswirkungen einer Mykotoxinfütterung von OTA und DON einzeln bzw. in Kombination nicht nachweisen. Eine Beeinflussung der Antikörperbildung nach AK-Vaccinierung konnte nicht beobachtet werden. Im Blutserum und in den Organen ist DON nicht nachweisbar. Im Serum deutet sich bei kombinierter Verfütterung von OTA und DON zwischen dem 28. und 70. VT eine Erhöhung im OTA-Gehalt an. Ein möglicher additiver Effekt der kombinierten Fütterung läßt sich als Trend aus der Verfütterung von OTA und DON über 90 Tage ableiten. Die Verfütterung bewirkt eine geringfügige Erhöhung der OTA-Gehalte im Serum am 90. VT und der OTA-Gehalte in der Niere, partiell auch im Muskel im Vergleich zur alleinigen OTA-Verfütterung. Bei kombinierter Gabe von OTA und DON kann es zu Hyperämie in der Magenschleimhaut kommen. Auch sind Veränderungen im Tubulusepithel möglich.

Zur Bestimmung von Deoxynivalenol in Plasma, Organen und Geweben

Roswitha Göbel und D. Bohm

Institut für Veterinär-Pharmakologie und Toxikologie GmbH,
Weißenseer Str. 36, 16321 Bernau

Im Rahmen eines Tierversuches war es notwendig, eine empfindliche Methode zur analytischen Erfassung von Deoxynivalenol (DON) zu erarbeiten. In Anlehnung an die Literatur wurden Methoden zur Erfassung von DON in Serum, Organen, Gewebe und Harn erarbeitet.

Organproben wurden zunächst mit ß-Glucuronidase bei pH = 5.0 über 16 h bei 37 °C inkubiert. Anschließend wurden die Proben mit n-Hexan entfettet und Verunreinigungen mit Dichlormethan abgetrennt. Eine weitere Reinigung des Rückstandes erfolgte über Extrelutsäulen (Elution mit Ethylacetat), Florisil-Säulen (Elution mit Chloroform/Methanol = 90 + 10) sowie ggf. über Festphasensäulen (Kieselgel-Säulen-Elution mit Chloroform/Aceton = 3 + 1). Serum- und Harnproben wurden direkt an einer Extrelut-Säule gereinigt und anschließend über Festphasensäulen gereinigt.

Die Bestimmung des DON erfolgte nach Derivatisierung mit TMSI in Form der TMS-Ether mit GC/MS (CI-Mode, Reaktantgas-Methan). Zur quantitativen Bestimmung wurde das Fragment-Ion m/z = 407 ausgenutzt. Die Quantifizierung erfolgte anhand einer externen Eichung.

In Serum-, Harn-, Gewebe- und Organproben konnten Nachweisgrenzen von 0.9 bis 8.1 µg/kg und Bestimmunsgrenzen von 1.3 bis 11.4 µg/kg ermittelt werden. Die mittleren Wiederfindungsraten für DON in verschiedenen Matrizes lagen im Bereich von 20 bis 100 µg/kg zwischen 71 und 95 %.

Desoxynivalenol (DON) und Nivalenol (NIV) im Hafer - Auswirkungen auf Absetzferkel

J. Böhm

Inst. f. Ernährung, Veterinärmedizinische Universität, J. Baumanng. 1, A 1210 Wien

Die von Fusarien gebildeten Mykotoxine Desoxynivalenol (Vomitoxin, DON) und Nivalenol (NIV) kommen auf heimischen Getreidearten häufig vor. Abgesehen von direkten Schädigungen durch Ährenfusariosen beim Getreide verursacht das gebildete DON beim Mastschwein erhebliche wirtschaftliche Einbußen. Da es sich bei den natürlichen Mykotoxikosen aber meist um "multitoxische Ereignisse" handelt, muß mit syn- und antagonistischen Wechselwirkungen verschiedener Toxine untereinander gerechnet werden. Viele Versuche werden zur Feststellung von Mykotoxinwirkungen mit Reinsubstanzen in oft zu hoher Dosis mit vielfach unausgewogener Futter- und Tierartenwahl durchgeführt.

Diese mehrfach in Feldversuchen unter Praxisbedingungen durchgeführten Experimente mit 10 kg schweren Absetzferkeln sollen im Vergleich zu gleich schweren Kontrolltieren die Besonderheiten einer natürlich kombinierten Mykotoxinbelastung von DON und NIV hervorheben. In diesen Versuchen wurden mehlige Alleinfutter für die Ferkelaufzucht aus 70 % Getreide, 20 % Sojaextraktionsschrot, 8 % Tiermehl und 2 % Mineralstoff-, Spurenelement und Vitaminvormischung hergestellt. Der 70 %ige Getreideanteil wurde wahlweise mit natürlich kontaminiertem (Ausputzhafer) bzw. sauberem Hafer in der Versuchsgruppe respektive Kontrollgruppe erzielt. Der Gehalt der Mykotoxine im Hafer lag für DON zwischen 1,3 und 4,4 und für NIV zwischen 6,7 und 18,5 in einzelnen Chargen.

Vorläufige Ergebnisse lassen schließen, daß Durchfallshäufigkeit und -grad in den Versuchsgruppen erheblich zunehmen. Das Krankheitsbild zeigt sich nach etwa einer Woche manifest mit Symptomen des Haarsträubens, Graufärbung der Haut und allgemeinen Kümmerns. Ein appetitzügelnder Effekt des DON läßt sich nicht feststellen. Da die Versuche derzeit noch nicht abgeschlossen und ausgewertet sind, können die endgültigen Ergebnisse erst zur Tagung selbst mitgeteilt werden.

Nivalenolbildung von Fusarium culmorum-Isolaten bei Ähreninfektion von Winterroggen im Feld

Gudrun Gang[a], T. Miedaner[b], Jutta Freesemann[a], H. H. Geiger[a]

[a] Institut für Pflanzenzüchtung 350/3, Universität Hohenheim, 70593 Stuttgart
[b] Landessaatzuchtanstalt 720, Universität Hohenheim, 70593 Suttgart

Die Mykotoxinbildung von *Fusarium culmorum* wurde bisher vor allem mit der Bildung von Deoxynivalenol (DON) und Zearalenon assoziiert. In unseren Untersuchungen wurden 42 *F. culmorum*-Isolate aus zehn Ländern an zwei Orten auf Roggen inokuliert. Das Erntegut vom Feld wurde mit dem Gas-Chromatographie-Elektroneneinfang-Detektor (GC-ECD) auf den DON-Gehalt untersucht. Sieben *F. culmorum*-Isolate zeigten übereinstimmend für beide Orte neben dem DON-Peak einen zweiten Peak bei einer Retentionszeit von 40,86 Minuten. Mit der GC-MS konnte dieser Peak als Nivalenol (NIV) identifiziert werden. Der NIV-Gehalt für das Erntegut der sieben Isolate lag zwischen 18 und 30 mg kg^{-1}. Der mittlere DON-Gehalt dieser Proben war niedrig (3 mg kg^{-1}) und lag in der gleichen Größenordnung wie der der Kontrolle, während die mit den anderen 35 *F. culmorum*-Isolaten inokulierten Proben einen hohen mittleren DON-Gehalt aufwiesen (39 mg kg^{-1}). Bei allen sieben NIV-produzierenden Isolaten wurde auch nach einer *in vitro*-Inkubation von Roggenkörnern ein Peak bei der Retentionszeit von 40,86 Minuten mit dem GC-ECD gefunden.

Zwischen der NIV-Produktion der Isolate und ihrer geografischen Herkunft konnte kein Zusammenhang gefunden werden. Zwei Isolate stammten aus Australien, zwei aus den Niederlanden, eines aus Italien und zwei aus Deutschland. Die beiden deutschen Isolate wurden von H. Nirenberg als *F. culmorum* identifiziert. Alle Isolate wurden durch einen artspezifischen PCR-Primer als *F. culmorum* bestätigt (durchgeführt von A. Schilling). Unsere Resultate zeigten, daß bestimmte *F. culmorum*-Isolate NIV, nicht nur unter *in vitro*-, sondern auch unter Feldbedingungen bilden konnten. Diese Isolate produzierten entweder kein oder nur sehr wenig DON. Daher sollten Toxinuntersuchungen von Nahrungs- und Futtermitteln auch NIV berücksichtigen.

Nachweis von Fusarien in Getreide-Einzelkörnern und -Mehl mit Hilfe eines Enzymtests, eines ELISA und über PCR mit spezifischen Primern

Beate Volke, M. Wegener, A. Weinert, B. Koopmann und G. A. Wolf

Institut für Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz
der Georg-August-Universität
Grisebachstr. 6, 37077 Göttingen

Zum Nachweis von *Fusarium spp.* in Getreidesamen wurde ein Enzymtest, ein ELISA sowie eine PCR mit spezifischen DNA-Primer entwickelt und überprüft. Während die Pilze über die Aktivität extracellulärer pilzlicher Cellulasen und mit einem ELISA sowohl in Mehl als auch in ganzen Getreidekörpern quantitativ aber unspezifisch erfaßt werden konnten, gelang es mit der PCR, *F. culmorum* und *F. graminearum* spezifisch nachzuweisen

Untersuchungen zum Einsatz enzymimmunchemischer Tests für Fusarientoxine (Trichothecene, Zearalenon) in Gerste und Weizen

Ewald Usleber[1], Terry Vrabcheva[2], Renate Geßler[1], David Abramson[3] und Erwin Märtlbauer[1]

1, Lehrstuhl für Hygiene und Technologie der Milch, Tierärztliche Fakultät, Ludwig-Maximilians-Universität München, Schellingstraße 10, 80799 München; 2, Mycotoxicological Laboratory, National Center of Hygiene, 15, Dimitar Nestorov str., 1431 Sofia, Bulgarien; 3, Agriculture and Agri-Food Canada, Cereal Research Center, 195 Dafoe Rd, Winnipeg R3T 2M9, Kanada

Ergebnisse zweier Studien unter Verwendung enzymimmunchemischer Verfahren (EIA) zum Nachweis von Trichothecenen bzw. von Zearalenon (ZEA) werden vorgestellt:

Gerstenproben aus Kanada, repräsentativ für die Erntejahre 1993 (n=88) und 1994 (n=40) wurden mittels EIA auf Deoxynivalenol (DON), 3-AcetylDON, 15-AcetylDON und ZEA, sowie mit GC-MS (nur 1993) auf DON und 15-AcetylDON untersucht. Für die DON-Ergebnisse zeigte sich eine gute Übereinstimmung zwischen EIA und GC-MS (Korrelationskoeffizient: $r^2=0{,}877$). DON war das in Gerste dominierende Toxin, mit einem Kontaminationsgrad von 100% und einer mittleren Konzentration deutlich über 1 μg/g. ZEA wurde ebenfalls in mehr als 50% der Proben nachgewiesen, allerdings in vergleichsweise niedrigeren Konzentrationen (50-500 ng/g). Einige Proben ergaben stark positive (>1 μg/g) Ergebnisse in den Testsystemen 3-AcetylDON und 15-AcetylDON.

In einer ersten Studie zum Vorkommen von Fusarientoxinen in Weizen in Bulgarien wurden Proben (n=140) des Erntejahres 1995 aus allen Anbaugebieten des Landes mit Enzymimmuntests zum Nachweis von DON, 3-Acetyl-DON, 15-AcetylDON, T-2 Toxin, Diacetoxyscirpenol (DAS) und Zearalenon untersucht. Insgesamt zeigte sich eine hohe Kontaminationshäufigkeit mit DON (>50 ng/g; 67%) bei einer niedrigen durchschnittlichen Konzentration (150 ng/g). Lediglich in einer Probe wurde DON in einer Konzentration von >1 μg/g gefunden. ZEA wurde in 68 % aller Proben nachgewiesen (>10 ng/g), allerdings bei einer sehr niedrigen durchschnittlichen Konzentration (11 ng/g). Einige Proben wiesen Gehalte an T-2 Toxin >100 ng/g auf. Andere Toxine waren nicht (DAS) oder nur mit geringer Kontaminationshäufigkeit (<5%) und -höhe ($\leq$100 ng/g) nachweisbar (3-AcetylDON, 15-AcetylDON).

Zearalenon und Deoxynivalenol in verschiedenen Bieren

H. Taschan, C. Butze, B. Lenz und E. Muskat

Staatl. Medizinal-, Lebensmittel- und Veterinäruntersuchungsamt Mittelhessen
Marburger Str. 54; 35396 Gießen

Zearalenon(ZEA) und Deoxynivalenol(DON) werden von Pilzen der Gattung Fusarium gebildet und gehören zur Gruppe der Trichothecene. Verschiedene Untersuchungen zeigen, daß Getreide sowohl auf dem Feld als auch bei der Lagerung von Pilzsporen befallen werden kann. Entwickelt sich der Pilz auf Getreide, so können Mykotoxine auf Getreide ausgeschieden werden. Eine potentielle Gefährdung des Menschen durch diese Mykotoxine wird z.Z. intensiv diskutiert.

Bei der Herstellung von Bier werden im Inland überwiegend Gerste und im Ausland zusätzlich Mais verwendet. Nach vorliegenden Untersuchungen scheinen ZEA und DON besonders bei diesen Getreidearten eine Rolle zu spielen. Daher gehören die Trichothecene laut Veröffentlichungen zu den potentiell braurelevanten Fusarium-Toxinen.

Werden die für die Herstellung von Bier verwendeten Rohstoffe während der Ernte, des Transports oder der Lagerung von Fusarien befallen, so kann eine Kontamination der Rohstoffe mit den genannten Mykotoxinen nicht ausgeschlossen werden.

In Anbetracht der Tatsache, daß Bier in der BRD nach dem Bohnenkaffee das am meisten getrunkene Genußmittel ist, stellt sich hier die Frage, ob der Gerstensaft mit o.g. Mykotoxinen belastet sein kann.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden bisher 42 Biere aus Hessen und dem Ausland auf ihren Gehalt an ZEA und DON untersucht um eine mögliche gesundheitliche Beeinträchtigung für den Verbraucher einschätzen zu können.

Für die Ermittlung von ZEA und DON in/auf Lebensmitteln stehen verschiedene Analysenmethoden zur Verfügung. Die analytische Ermittlung dieser Mykotoxine erfolgte hier mittels ELISA.

Die bisher vorliegenden Untersuchungen ergaben einen ZEA- Gehalt der Biere unterhalb des Meßbereichs. Die DON-Konzentrationen schwankten zwischen 10 und 35 ppb.

Immunoaffinitätssäulen versus klassische Probenvorbereitung bei der Bestimmung von Zearalenon in Mais - ein Methodenvergleich

R. Schuhmacher[1], R. Krska[1], M. Grasserbauer[1], H. Lew[2]

[1]Interuniversitäres Forschungsinstitut für Agrarbiotechnologie (IFA-Tulln), Abteilung Analytikzentrum, Konrad-Lorenzstraße 20, A-3430 Tulln, Austria
[2]Bundesanstalt für Agrarbiologie, Wieningerstr.8, 4025 Linz, Austria

Zearalenon (ZON), ein bereits in Spurenkonzentrationen östrogen wirkendes Mykotoxin, wird von verschiedenen Spezies der Gattung *Fusarium* gebildet. Da ZON neben Moniliformin und den Trichothecenen zu den häufigsten *Fusarien*-Toxinen in Österreich zählt, sind leistungsfähige analytische Verfahren für seine Quantifizierung (vor allem in Mais) im µg/kg-Bereich unerläßlich. In dieser Arbeit wurde die Leistungsfähigkeit einer modernen ZON-Analysenmethode mit Immunoaffinitätssäulen (IAS) gegenüber einem bereits etablierten Verfahren für die Matrix Mais untersucht.

Neben verschiedenen Extraktionsverfahren unterscheiden sich die hier verglichenen Methoden vor allem im Clean-up. Im Gegensatz zur Aufreinigung mit IAS aus einem Acetonitril/Phosphatpuffergemisch beinhaltet das Clean-up beim arbeitsaufwendigeren klassischen Verfahren nacheinander Extraktionen mit Chloroform, verd. Natronlauge und erneut mit Chloroform. Die chromatographische Trennung und die Detektion erfolgen in beiden Fällen mittels RP-HPLC/FLD (274, 275nm/450 nm).

Zur Ermittlung der Wiederfindungsraten, Nachweisgrenzen, und Standardabweichungen wurde Maisgrieß mit ZON dotiert (10-200 µg/kg) und nach beiden Methoden analysiert. Der Vergleich der Analysenergebnisse von acht natürlich kontaminierten Maisproben ergab eine gute Übereinstimmung der gefundenen ZON-Gehalte. Ein möglicher systematischer Unterschied der beiden Analysenverfahren wurde durch zusätzliche Extraktionsexperimente untersucht.

Fusarientoxine in Silomais - Abhängigkeit von Sorte und Standort

Elisabeth Oldenburg, J. Lepschy*, Hana Valenta und F. Weißbach

Institut für Grünland- und Futterpflanzenforschung, Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft (FAL), Bundesallee 50, 38116 Braunschweig

*Bayerische Landesanstalt für Bodenkultur und Pflanzenbau, Vöttinger Str. 38, 85354 Freising

Silomais enthält zum Erntezeitpunkt häufig Mykotoxine, die auf Fusarienbefall der Maispflanzen zurückzuführen sind.
In einer früheren Studie wurde gefunden, daß beim Silomais das Mykotoxin Zearalenon erst gegen Ende der Vegetationsphase in größeren Mengen gebildet wird und überwiegend in Blättern und Stengel (Restpflanze), jedoch kaum im Kolben zu finden ist. Es besteht wahrscheinlich ein Zusammenhang mit dem gegen Ende der Reife erfolgenden Absterben der grünen Pflanzenteile des Maises.

In den letzten Jahren wurden Maissorten mit einer langsameren Abreife der Restpflanze („stay green" Typen) gezüchtet, um den Energiebeitrag der Restpflanze zum Gesamt-Futterwert zu erhöhen. Möglicherweise ist bei diesen Sorten das Risiko einer Kontamination mit Fusarientoxinen geringer als bei Sorten mit schneller Restpflanzenabreife. Es wurde daher im Rahmen eines Sortenversuches geprüft, ob der Mykotoxin-Gehalt in frisch geerntetem Silomais vom Abreifeverhalten der Pflanze beeinflußt wird.

Zur Untersuchung gelangten Ernteproben von insgesamt 20 frühen und mittelfrühen Sorten mit unterschiedlichem Abreifetypus, die im Jahr 1995 an fünf Standorten in Nordrhein-Westfalen, Niedersachsen, Sachsen-Anhalt und Bayern in Versuchsparzellen angebaut worden waren. Im Erntematerial wurden die Mykotoxine Zearalenon und Deoxynivalenol mittels ELISA-Test, HPLC bzw. GC-MS bestimmt.

Über die Ergebnisse dieser Untersuchungen wird berichtet.

Untersuchungen zum Nachweis und Vorkommen von Zearalenon und α-Zearalenol in Gallen von Zuchtsauen mit Fertilitätsstörungen.

Meyer, K.[1], E. Usleber[2], E. Märtelbauer[2], J. Bauer[1]

Große Verluste in der Schweinehaltung werden durch Fruchtbarkeitsstörungen hervorgerufen, an deren Entstehung auch Zearalenon beteiligt ist. Der exakte, ursächliche Nachweis gestaltet sich in der Praxis aufgrund der inhomogenen Verteilung von Mykotoxinen im Futter und dem Problem der repräsentativen Probengewinnung äußerst schwierig. Deshalb wird immer wieder diskutiert, inwieweit Probenmaterial vom Tier zur Abklärung mykotoxikologischer Bestandsprobleme geeignet ist. Beim Ochratoxin A hat sich die Untersuchung von Blutproben bewährt. Aufgrund der Resultate von Biehl et al. (1993) bietet sich für den Nachweis von Zearalenon bzw. Zearalenonderivaten die Untersuchung von Galle an. Dabei ist von praktischer Bedeutung, daß Galle nicht nur nach der Tötung von Schweinen gewonnen werden kann, sondern gegebenenfalls auch unter Ultraschallkontrolle am lebenden Tier (Beisl, 1994).

Zum Nachweis von Zearalenon und α-Zearalenon wurde ein Verfahren unter Verwendung von HPLC bzw. HPLC und EIA entwickelt. Nachweisgrenze und Wiederfindungsrate für Zearalenon und α-Zearalenol liegen bei 5 ng/ml bzw. 75%.

Die Untersuchung der Gallenflüssigkeit von 51 Jungsauen mit Fertilitätsstörungen ergab, daß Zearalenon und α-Zearalenol in allen Proben nachweisbar war; die Höchstgehalte betrugen 40,0 bzw. 66,1 ng/ml. Beide Verbindungen liegen fast ausschließlich als Glucuronid vor.

Diese Resultate zeigen, daß Zearalenon in Schweinebeständen möglicherweise weiter verbreitet ist als dies bislang durch Futtermitteluntersuchungen erkannt worden ist. Inwieweit jedoch das Vorkommen in der Galle als Indiz für eine mögliche Beteiligung an den Bestandsproblemen herangezogen werden kann, muß in weitergehenden epidemiologischen Studien geklärt werden.

Literatur:

Beisl, J.: 1994: Untersuchungen über die Verwendbarkeit der Sonographie beim Schwein. Diss. med. vet., Ludwig-Maximilians-Universität, München.

Biehl, M., D.B. Prelusky, G.D. Koritz, K.E. Hartin, W.B. Buck und H.L. Trenholm., 1993: Bilary excretion and enterohepatic cycling of zearalenone in immature pigs. Toxicol. appl. Pharmacol, 121, 152-159.

[1] Lehrstuhl für Tierhygiene, Technische Universität München, Hohenbachernstr. 15, 85354 Freising-Weihenstephan.

[2] Lehrstuhl für Hygiene und Technologie der Milch, Ludwig-Maximilians-Universität München, Veterinärstr. 13, 80539 München

In vitro-Untersuchungen zum Metabolismus von Zearalenon bei Inkubation mit Pansensaft

Hana Valenta und H. Vemmer

Institut für Tierernährung der Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft
Braunschweig-Völkenrode, Bundesallee 50, 38116 Braunschweig

Das östrogen wirkende Mykotoxin Zearalenon führt bei Kühen erst bei viel höheren Dosen zu gesundheitlichen Störungen als bei Schweinen. Zur Umsetzung von Zearalenon im Pansen gibt es bisher nur wenige Untersuchungen. Sie deuten darauf hin, daß Zearalenon zu den Metaboliten α- und ß-Zearalenol umgewandelt wird, die jedoch eine 3 - 4 mal so hohe bzw. gleich hohe östrogene Wirkung haben wie Zearalenon.

In der hier vorgestellten Arbeit wurde der Metabolismus von Zearalenon und auch der Metaboliten α- sowie ß-Zearalenol mit Pansensaft in einem in vitro-Ansatz in Anlehnung an Tilley & Terry (1963) untersucht. Pansensaft wurde sowohl von einer mit Heu gefütterten als auch von einer mit Grassilage und Kraftfutter gefütterten Kuh gewonnen. Durch eine gegenüber früheren Arbeiten verbesserte Analytik (Bestimmung mit HPLC und GC/MS) konnten die Versuche mit niedrigeren Zearalenon-Konzentrationen in der Inkubationsmischung (2 µg/50 ml) und einem Zusatz von Futtermitteln (0,5 g/50 ml) durchgeführt werden. Die Inkubationszeiten betrugen 2, 4 und 6 Stunden sowie 24, 48 und teilweise 72 Stunden. Die längeren Inkubationszeiten wurden gewählt, um Trends zum längerfristigen Verhalten der Toxine im Pansensaft zu bekommen. Die Ergebnisse der in vitro-Studien, vor allem bei längeren Inkubationszeiten, können nicht ohne Einschränkungen auf die Vorgänge in vivo übertragen werden. Über die Ergebnisse wird im Vortrag berichtet.

MECHANISTIC APPROACHES OF ZEARALENONE CYTOTOXICITY IN VITRO

E.E.Creppy[1], L. Chekir-Gedirha[2], K. Maaroufi[2], F. Ellouz[2], A.M. Betbeder[1] and H. Bacha[2]

[1] Laboratory of Toxicology, Faculty of Pharmaceutical Sciences. University of Bordeaux 2, 146 rue Léo-Saignat, 33076 Bordeaux (France)
[2] Laboratory of Biochemistry and Molecular Toxicology, University of Monastir, rue Avicenne, Monastir (Tunisia)

Zearalenone (ZEN) known to have oestrogenic effects in animals is produced by a variety of *Fusarium* species. In addition to its effect on reproduction, its organ toxicity has recently been demonstrated for liver and kidney of animals in both sexes, the mechanism of which remained to be investigated.

The first experiments designed to study the mechanism of this cytotoxicity revealed that DNA synthesis was rapidly inhibited, followed by protein synthesis with a 50 % inhibitory concentration of 20 µM and consequent inhibition of RNA synthesis with a IC50 (IC50) of 33 µM.

These investigations also brought evidence that Zearalenone essentially prevented the uptake of precursors through the membrane and thereby prevented their incorporation into cellular macromolecules. Interestingly this inhibitory effect of Zearalenone was completely prevented by vitamin E which shared with the toxin some structural analogy. Since the membranous effect of ZEN could be mediated by modification of cell membrane permeability due to lipid peroxidation this was investigated in Vero cells by assaying the malondialdehyde (MDA) in the presence of zearalenone and/or vitamin E or vitamin C. Zearalenone increased MDA production by 134 % to 168 % for respectively 5 µM and 10 µM in the culture medium. Vitamine E at equimolar concentration prevented completely the over production of MDA while a ration of 4 fold-molar concentration of vitamine C was needed.

Altogether these results confirmed that the membranous effect of zearalenone was mediated by lipid peroxidation and free radical production. They also strongly suggested that vitamin E was likely acting both through its structural analogy with zearalenone and its radical scavenger properties.

Key words: Zearalenone, molecular mechanism of action, lipid peroxidation, inhibition of syntheses of macromolecules, prevention by vit E, vit C.

Investigations on the acute toxicity and the susceptibility of rainbow trout to T-2-toxin

À. Bata[1], A. Ványi, S. Körmendi, F. Kovács

University of Veterinary Science, Dept. Animal Hygiene, H-1078 Budapest, István u. 2, HUNGARY

Aquaculture is practiced in more and more countries. Parallel with this the mycotoxicosis of fish becomes a more important question.

In the toxicity experiment 140 fish, weighing 150 g were divided into 7 groups. 6 groups were treated once with 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 6.0 and 10.0 mg T-2 toxin/kg body weight intraperitoneally resp. and the 7th group was the control. The duration of the trial was 48 hours. The daily water circulation was 30. The water quality was continuously monitored.

All the fish in the groups treated with 10.0, 6.0, 2.0 and 1.5 mg T-2 toxin/kg body weight died within 12 - 48 hours after the treatment.

Clinical observations:

6 h after toxin injection the fish assembled in groups. 8 h after the treatment the fish swam on the surface of the water. The death of the fish started 12 h after the toxin intake. All the fish of 10.0, 6.0, 2.0 and 1.5 mg T-2 Toxin/kg body weight died in 12 - 48 hours after the toxin intake. No deaths were observed in the 1.0 and 0.5 mg T-2 toxin/kg body weight groups. This finding indicated that the acute toxicity value of T-2 toxin in rainbow trout is 1.0 or more mg T-2 toxin/kg body weight.

In the second experiment 80 fish weighing 100 g were divided into 4 groups. Into the foodstuff of 3 trial groups 2.5, 5.0 or 10.0 mg T-2 toxin/kg feed was mixed. The fourth group was the control. The duration of the trial was 41 days (10 days preliminary period, 31 days trial period).

The daily feed intake was:

In the control group	2116 g/day
2.5 mg/kg feed group	700 g/day
5.0 mg/kg feed group	520 g/day
10.0 mg/kg feed group	387 g/day

On the basis of these two trials we suppose that fish, especially the rainbow trout, are much more sensitive to trichothecene toxins than the domestic animals such as pig, poultry or dairy cattle. These findings correspond with practical experience.

Gesundheitsprobleme durch/nach Pilzkontamination in Innenräumen
Ergebnisse von Felduntersuchungen

E. Johanning

Neuere Untersuchungen und klinische Erfahrungen zeigen, daß Inhalationsrisiken und gesundheitliche Schäden im Zusammenhang mit Expositionen durch bestimmte Pilzsporen in der Luft gebracht werden kann. Neben typischen, bekannten allergischen Erkrankungen (meist Type I und Type III Reaktionen nach Gell und Coombs) können auch primär toxische Erkrankungen nach Innenraumkontaminierungen festgestellt und diagnostiziert werden. Diese gesundheitlichen Reaktionen bei mikrobiologisch belasteten Innenräumen (Haus, Büro, Krankenhaus, Klimaanlage) werden möglicherweise durch Metabolite oder Pilzpartikel verursacht insbesondere von *Aspergillus, Penicillium, Fusarien, Paecilomyces* und *Stachybotrys.*

Besonders nach großen Wasserschäden oder bei Klimaanlagedefekten traten häufig weitverbreiteter Schimmelpilzbefall von Baumaterialien (Gibswänden, Tapeten, Isolierstoffen, Holz), Inneneinrichtungen und Möbeln auf. In solchen Situationen in denen die Betroffenen über meist nicht-spezifische „Sick-building Syndrom" Beschwerden berichtet haben oder wenn gar ernsthaftere Erkrankungen aufgetreten waren, ließen sich of *Stachybotrys chartarum (atrta)* oder andere Mycotoxine produzierende Schimmelpilze in mikrobiologisch-hygienischen Untersuchungen nachweisen. Cytotoxische Screening-Untersuchungen von pilzkontaminierten Materialien aus diesen Häusern zeigten, daß in bestimmten Fällen hochgiftige Stoffe nachweisbar waren, die möglicherweise auch die Innenluft belastet hatten. Die betroffenen Büroangestellten, Krankenhausbeschäftigten, Lehrer, Mieter und Privathauseigentümer berichteten/hatten nach solchen Expositionen besonders gesundheitliche Probleme mit den oberen und unteren Atemwegen, den Augen, der Haut, konstitutionelle Beschwerden und Störungen des Zentralnervensystems (Schwindelgefühl, Kopfschmerzen, Gedächtnisstörungen, Reizzustand, schwerer Erschöpfungszustand (CFIDS)). In manchen Fällen waren auch Blutbildveränderungen besonders der Leukozyten und des Immunsystems (humorale und zelluläre Immunreaktivatät) feststellbar. Daneben konnten IgE und IgG Schimmelpilz-spezifische Antikörper als „Exposure-marker" nachgewiesen werden, wie sie typischerweise bei der exogen allergischen Alveolitis (engl. Hypersensitivity pneumonitis, Farmerlunge) auftreten. Bis auf wenige Fälle waren aber Veränderungen auf dem Lungenröntgenbild und bei der Lungenfunktionsprobe vor allem im Frühstadium nicht feststellbar. Bei klinischen neurologisch-psychologischen Untersuchungen von Betroffenen fanden sich bei hoher toxischer Exposition Veränderungen wie sie z.B. bei industriellen Lösungsmittelenzephalopatien zu finden sind.

Der Vortrag soll eine Übersicht geben über gegenwärtige Ergebnisse von Feldstudien und medizinisch-klinischen Beobachtungen, basierend auf hygienischen, epidemiologischen Fallstudien in den USA und „sentinal health investigations" im Zusammenhang mit allergischen und toxischen Schimmelpilzbefall von Wohn- und Bürohäusern.

TOXINS ASSOCIATED WITH STACHYBOTRYS AND MEMNONIELLA IN WATER-DAMAGED HOMES

W. Sorenson[1], B. Jarvis[2], Y. Zhou[2], J. Jiang[2], S. Wang[2], Eeva-Liisa Hintikka[3]

[1]Division of Respiratory Disease Studies, NIOSH, Morgantown, WV 26505, USA

[2]Department of Chemistry and Biochemistry, University of Maryland, College Park,MD 20742, USA

[3]National Veterinary and Food Research Institute, Helsinki, Finland

In the early 1990s, a cluster of cases of pulmonary hemosiderosis were reported in Cleveland, OH. These unusual cases appeared only in infants ranging in age between one and 8 months and were characterized by pulmonary hemorrhage, causing the babies to cough up blood. The affected homes had continuing water problems which were most severe when Cleveland experienced serious flooding in that area. Because of an interest in the possibility that trichothecene mycotoxins might be involved in this illness, a number of isolates of *Stachybotrys atra* and *Memnoniella echinata* were grown in the laboratory on rice and extracts were prepared and analyzed both for cytotoxicity and for specific toxins. Portions of the same rice cultures were used in laboratory stuies in an aerosol chamber to determine the aerodynamic diameter of conidia. *S. atra* isolates collected from these homes were shown to produce a number of highly toxic compounds and the profile of toxic compounds observed from *M. echinata* were similar. The conidia of *M. echinata* were shown to have an aerodynamic diameter ca. 1 μm smaller than those of *S. atra*. Although previous work in our laboratory and other have implicated *S. atra* as a potential health hazard, these observations suggest that *M. echinata* has a toxic potential similar to that of *S. atra*.

Stachybotrys - Probleme in Innenluft finnischer Häuser

M. Nijulin[1], A. Hyvärinen[2], M. Kotimaa[3], P. Parikka[4] und Eeva-Liisa Hintikka[5]

[1] Faculty of Veterinary Medicine, Helsinki, University
[2] National Public Health Institute, Kuopio
[3] Kuopio, Regional Institute of Occupational Health
[4] Institute of Plant Protection, Agrucultural Research Centre of Finland
[5] National Veterinary and Food Research Institute

Wasserbeschädigte Häuser mit Schimmelproblemen haben in den letzten Jahren zusätzliches Interesse bekommen. Neben den allergischen Pilzkrankheiten haben die mykotoxinproduzierenden Pilze in der Innenluft zusätzliche Aufmerksamkeit bekommen. *Stachybotrys atra* (synonym S. chartarum) ist von speziellem Interesse, weil es hochgradig toxisch ist und nicht selten von Häusern mit Schimmelproblemen isoliert wird. Es besitzt auch die Fähigkeit, in einigen üblichen Baumaterialien Toxine zu bilden.

Die Autoren untersuchten die toxinbildende Fähigkeit von neun *Stachybotrys*-Stämmen der Innenluft, Oberflächenproben oder Baumaterial von Privathäusern und von einem Kindergarten. Für die primäre Isolierung von *Stachybotrys*-Pilzen wurde Maltextrakt Agar verwendet. Acht Isolate wurden als *S. atra* und ein Isolat als *S. shaerospora* festgestellt. Die toxinproduzierende Fähigkeit von diesen 9 Stämmen wurde in den Zellkulturen festgestellt. Die Stämme wurden an feuchtem Reis (60 %) für 2 Wochen bei 20 - 23 °C und danach 2 Wochen bei 6 - 8°C angereichert. Die Toxine wurden mit Methanol-Wasser extrahiert, nach Filtrierung durch Verdunstung getrocknet. Die getrockneten Extrakte wurden in Methanol-PBS aufgelöst und in FL (feline Lunge) Zellkulturen untersucht. Die Zytotoxizität wurde mit MTT-bioassay gemessen. Von drei *Stachybotrys* Isolaten wurde das trockene extrahierte Material chemisch auf Satratoxine und Verrucarol analysiert. Alle 9 Stämmen waren toxisch im Zellkulturtest und die Produktion von Satratoxine wurde in drei analysierten Proben nachgewiesen.

Neun *Stachybotrys* Stämme, die von drei Wohnhäusern und einem Kindergarten isoliert wurden besaßen die Fähigkeit, toxische Metaboliten unter Laborbedingungen zu produzieren und in einigen von diesen Isolaten wurde Satratoxin nachgewiesen.

Zytotoxizitäts-Untersuchungen an verschiedenen Materialien aus Schimmelpilz-kontaminierten Innenräumen

M. Gareis

Institut für Mikrobiologie und Toxikologie an der Bundesanstalt für Fleischforschung, E.-C.- Baumannstr. 21, D-95326 Kulmbach

Von mit Schimmelpilzen kontaminierten Innenräumen geht nicht nur eine erhöhte Exposition gegenüber mycogenen Allergenen aus, sondern ist für die Betroffenen mit der möglichen Inhalation toxinhaltiger Sporen oder Mycelbestandteile eine zusätzliche Gesundheitsgefährdung gegeben.

Die kulturell-mykologischen und elektronenmikroskopischen Untersuchungen an verschiedenen Materialien aus belasteten Innenräumen zeigen die wiederholte Präsenz einer Reihe potentiell mykotoxinbildender Arten: *Stachybotrys atra*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium verrucosum*, *Fusarium* spp. und *Alternaria* spp. sowie weitere Spezies der erstgenannten Genera. Das zu erwartende Toxinspektrum kann daher in der Regel groß sein.

Als Screening-Verfahren zur Überprüfung der zytotoxischen Akivitäten kontaminierter Probenmaterialien wurde der MTT-Zellkulturtest angewandt, dessen Eignung als biologischer Assay zur Bestimmung biologischer Eigenschaften mykotoxinkontaminierter Lebens- und Futtermittel sowie der vergleichenden Charakterisierung toxinbildender Mikromyceten in früheren Arbeiten schon beschrieben wurde (Reubel et al. 1987, 1989, Hanelt et al. 1995, Gareis 1995, Rotheneder 1996).

Für die Testung werden Verdünnungen sterilfiltrierter Rohextrakte von Negativkontrollen und Proben gleiche Ursprungs auf mit SK-Monolayern beschickte Mikrotiterplatten gegeben und 18 h inkubiert. Die colorimetrische Auswertung erfolgt im Anschluß nach Zugabe des gelben Tetrazoliumsalzes MTT, daß nach 4 stündiger Inkubation von vitalen Zellen zu violett gefärbten Formazanen umgesetzt wird. Durch den Vergleich der Extinktionswerte und den sich daraus ableitenden MTT-Spaltungsaktivitäten ist ein direkter Rückschluß auf die Zytotoxizität der getesteten Probe möglich. Die Einbeziehung von Negativkontrollen schließt Matrixeffekte des Probenmaterials aus, womit ein direkter Bezug zur substratabhängigen Bildung zytotoxischer Mykotoxine durch die Pilzbesiedlung hergestellt werden kann.

Aufbauend auf diesem Testprinzip können, wie die Ergebnisse zeigen, sowohl Tapeten, Gipskartonplatten, Dämmmaterialien, Holzleisten, Teppichböden und sonstige Bau- und Innenraummaterialien sowie Staubproben in die Untersuchungen einbezogen werden.

Zum aktuellen Stand der Entwicklung von standardisiierten Untersuchungsverfahren bei Mykotoxinen auf nationaler und internationaler Ebene

H. Otteneder und P. Majerus
Chemisches Untersuchungsamt Trier
Maximineracht 11a
54295 Trier

Der Verbraucherschutz ruht auf zwei Säulen, der Sorgfaltspflicht des Herstellers/Händlers und der amtlichen Stichprobenkontrolle. Dieses System zum Verbraucherschutz funktioniert nur, wenn beide am Verfahren Beteiligte mit gleichwertiger Analytik arbeiten. Sie sind daher auf Zusammenarbeit in der Analytik angewiesen. Bei der Bestimmung von Minorbestandteilen ist der Einfluß des Prüfverfahrens auf das Ergebnis besonders groß und dementsprechend das Interesse an internationaler Standardisierung.
Bereits die 1974er Fassung des Lebensmittel- und Bedarfsgegenständegesetzes enthielt in § 35 die Verpflichtung, eine amtliche Sammlung von Analysenverfahren zu erstellen und laufend auf dem neuesten Stand zu halten.

Derzeitiger Stand von Verfahren zur Bestimmung von Mykotoxinen in Lebensmitteln nach § 35 LMBG:

L 00.002	Nachweis und Bestimmung von Aflatoxin B_1, B_2, G_1 und G_2 in Lebensmitteln	11/81 DC
L 01.0014	Nachweis und Bestimmung von Aflatoxin M_1 in Milch und Milchprodukten (Schuller-Methode)	11/82 DC
L 01.0015	Nachweis und Bestimmung von Aflatoxin M_1 in Milch und Milchprodukten	6/87 DC
L 01.0034	Bestimmung von Aflatoxin M_1 in Milch und Milchpulver mittels ELISA (Screening-Verfahren)	12/89
L 15.001	Nachweis und Bestimmung von Ochratoxin A in Getreide und Getreideprodukten	1/95 HPLC

Die Methode nach Werner, Aflatoxine der B.- und G.-Gruppe mittels Immunoaffinitätssäulen-chromatographie/HPLC-Nachsäulenderivatisierung mit Jod oder Kobra-Zelle wird derzeit zur Aufnahme in die amtliche Sammlung vorbereitet. Für den Bereich 100 - 200 ppt Aflatoxin in Maismehl ist die Methode erprobt. Bei Säuglingsnahrung wird mit diesem Verfahren ein Arbeitsbereich von 100 ppt angestrebt.

Auf europäischer Ebene bei CEN sind die folgenden Methoden im Normierungsverfahren:

Aflatoxine der B.-G.-Gruppe HPLC-IAC
Aflatoxin M_1 HPLC-IAC
Ochratoxin A HPLC Toluol-Extraktion
Ochratoxin A HPLC Chloroform-Extraktion

Die für die Grenzwertüberwachung und für Monitoring-Untersuchungen relevanten Meßbereiche sind bei Aflatoxinen für die zu untersuchenden Lebensmittel noch nicht validiert. Die strengen Vorgaben für die Untersuchungsverfahren bei CEN lauten für die Wiederholstandardabweichung (RSD_r) und für die Vergleichsstandardabweichung (RSD_R):

Level (ug/kg)	Aflatoxin B_1		
	RSD_r %	RSD_R %	Recovery %
0 - 1	40	60	-50 bis +20
1 - 10	20	30	-30 bis +10
>10	15	20	-20 bis +20

Level (ug/kg)	Gesamtaflatoxine		
	RSD_r %	RSD_R %	Recovery %
0 - 1	-	-	-50 bis +20
1 - 10	40	60	-30 bis +10
>10	30	50	-20 bis +20

Weitere Normierung ist für Patulin und mittel- bis kurzfristig für Fumonisine und Trichothecene geplant.
Weltweit validiert existiert eine Patulinmethode (ISO/DIS 8128-1::1993).

Zur Validierung einer Methode müssen nach EG-Richtlinie 85/591 bzw. ISO 5725/1981 u.a. Vergleichbarkeit (r), Wiederholbarkeit (R) und Nachweisgrenze sowie die Wiederfindungsrate ermittelt werden. Dies ist der Grund für die oft lange Dauer von Normierungsarbeiten.

Mykotoxinkontaminationen sind im Probenmaterial, das der Lebensmittelüberwachung unterliegt, nicht homogen verteilt. Abhängig von der Beschaffenheit der Lebensmittel muß durch ein Probenahmeverfahren die Repräsentativität des Ergebnisses sichergestellt werden. Entsprechende amtliche Probenahmeverfahren existieren noch nicht, da es bisher noch nicht gelungen ist, ihre Effizienz zahlenmäßig zu beschreiben.

Trier, den 13.12.1995

H.P. van Egmond and W.H. Dekker

Worldwide Regulations for Mycotoxins in 1995

Since the discovery of the aflatoxins in the 1960s, regulations have been established in many countries to protect the consumer from harmful effects of mycotoxins that may contaminate foodstuffs and animal feedstuffs. Various factors play a role in the decision–making process of setting limits for mycotoxins. These include scientific factors, such as the availability of survey data, toxicological data, analytical methodology, and knowledge about the distribution of mycotoxins in contaminated commodities. Economical and political factors such as commercial interests and sufficiency of food supply have their impact as well.

International enquiries on existing mycotoxin regulations in foodstuffs and animal feedstuffs have been carried out several times in the 1980s and details about tolerances, legal bases, responsible authorities, official protocols of analysis and sampling have been published on several occasions.

The most recent enquiry has taken place in 1994-1995, as part of a contract with the Food and Agriculture Organization of the United Nations. Information is now available from 90 countries, of which 77 are known to have mycotoxin regulations. Compared to the situation in 1987, when the previous enquiry took place, tolerated levels have not dramatically changed, although more countries have regulations. The differences between tolerances in the various countries are still quite large, which makes harmonization of mycotoxin regulations highly desirable.

Probleme bei gerichtlicher Schadensermittlung nutztierrelevanter Mykotoxikosen

M. Schuh

II. Medizinische Universitätsklinik für Klauentiere
Veterinärmedizinische Universität Wien, Linke Bahngasse 11, A-1030 Wien

Mykotoxikosen in unseren Nutztierbeständen führen immer wieder zu großen wirtschaftlichen Verlusten. Derartige Erkrankungen, die in der Regel chronisch verlaufen, waren gerade in den letzten Jahren Anlaß, über eingeleitete Gerichtsverfahren, eine Entschädigung des aufgetretenen Schadensausmaßes zu erwirken. Diese Vorgangsweise kann damit begründet werden, daß klagende Parteien rechtsschutzversichert sind, das mykotoxinkontaminierte Futtermittel als alleiniger Krankheitsverursacher gilt und durch voreilige fachinkompetente Beratung eine gütliche Problemlösung ausgeschlossen ist.

Aufgrund unserer Erfahrungen hinsichtlich gutachterlicher Tätigkeit in derartigen Problemfällen ist es mir ein Anliegen, einige bereits abgeschlossene sowie noch im Verfahren befindliche Gerichtsfälle kurz vorzustellen und ihre fachkompetente Stellungnahme einzuholen.

Im Zuge derartiger Verfahren kommt es immer wieder zu unnötigen Zeitverzögerungen, da eine Reihe von wichtigen Fakten wie fehlende Daten über Futterlieferung, -lagerung, -hygiene, -einsatzmenge; Anzahl erkrankter Tiere, Krankheitsverlauf, Ausschluß anderer Krankheitsursachen (Bakterien, Viren, Parasiten); Misinterpretation der festgestellten Mykotoxinkonzentrationen mit völliger Unkenntnis der klinischen Relevanz sowie amtliche Probenziehung, keine Berücksichtigung finden.

Anhand von Fallbeispielen aus der Rinder- und Schweinepraxis mit Darstellung des Vorberichtes, der klinischen Symptome, der mikrobiologischen und mykotoxikologischen Ergebnisse, der aufgetretenen bzw. eingeklagten Schadenersatzforderungen, soll in diesem Expertengremium eine Diskussionsbasis über eine zukünftige Vorgangsweise derartiger Problemfälle geschaffen werden.

Teilnehmerverzeichnis

Prof. Dr. Alperden, I.
Karin Gida Sanayii
Inönü Cad. Gümüssu Palar No 26
80090 Gümüssuyu-Istanbul/Türkei
Tel 0212-776-4110
Fax 0212-776-4114

Auerbach, Horst
FAL Braunschweig, Institut für
Grünland- und Futterpflanzenforschung
Bundesallee 50,
38116 Braunschweig
Tel 0531-596 390
Fax 0531-596 320

Dr. Bata, Arpád
University of Veterinary Science
Dept. Animal Hygiene
István u. 2
H-1078 Budapest
Hungary

Prof. Dr. Bauer, Johann
Lehrstuhl für Tierhygiene
der TU München
Hohenbachernstr. 15
85354 Freising
Tel 08161-713 312
Fax 08161-714 516

Dipl.-Ing. Binder, Johann
IFA-Tulln
Abt. Umweltbiotechnologie
Konrad-Lorenz-Str. 20
3430 Tulln / Österreich

Prof. Dr. Blanz, Paul A.
Karl-Franzens-Universität Graz,
Institut für Botanik u. Botanischer Garten
Holteigasse 6
A-8010 Graz
Tel 0043-316-380-5646
Fax 0043-316-381-221

Dr. Blüthgen, Albrecht
Bundesanstalt für Milchforschung,
Institut für Hygiene
Hermann-Weigmann-Str.1
24103 Kiel
Tel 0431-609 425
Fax 0431-609 222

Dr. Böhm, Josef
Institut für Ernährung der
Veterinärischen Universitätsklinik Wien
J. Baumanngasse 1
A-1210 Wien
Österreich
Tel +431-250 773215
Fax +431-250 773290

Dr. Böhm-Schraml, Michaela
Lehrstuhl für Technologie d. Brauerei II
TU München-Weihenstephan
85350 Freising
Tel 08161-713 471
Fax 08161-714 181

Bresch, Horst
Bundesforschungsanstalt für Ernährung
Engesserstraße 20
76131 Karlsruhe

Prof. Dr. Breves, G.
Institut für Veterinär-Physiologie
der Justus-Liebig-Universität Gießen
Frankfurter Str. 100
35392 Gießen
Tel 0641-702 4961
Fax 0641-702 7405

Dr. Claus, B.
Milupa GmbH & Co. KG
Schleyerstr. 4
36041 Fulda-Rodges
Tel 0661-929 20 Fax
0661-929 75

Prof. Dr. Creppy, E. E.
Laboratoire de Toxicologie et d'Hygiène Appliquée
U.F.R. des Sciences Pharmaceutiques
Université Bordeaux 2
146 rue Léo Saignat
F 33076 Bordeaux (FRANCE)
Tel + 33-5698 6606 oder 5757 1217
Fax + 33-5698 6685

Czwalinna, Andreas
Hans-Knöll-Institut
Beutenbergstr. 11
07745 Jena

Priv.Doz. Dr. Degen, Gisela
Institut für Arbeitsphysiologie
an der Universität Dortmund
Ardeystr. 67
44139 Dortmund
Tel 0231-1084 351
Fax 0231-1084 403

Diehl, Yvonne
Transia GmbH
Dieselstraße 20a
61239 Ober-Mörlen
Tel 06002-1801
Fax 06002-1806

Dr. Dietrich, R.
Lehrstuhl für Hygiene u. Technologie der Milch
Veterinärstr. 13
80539 München
Tel 089-2180 2973
Fax 089-2180 3793

Prof. Dirheimer, Guy
Institut de Biologie Moleculaire
et Cellulaire du C.N.R.S.
15, Rue René Descartes,
F-67084 Strasbourg Cedex
Tel +88-41-70 55
Fax +88-60-22 18

Dr. El-Dessouki, Saad
Chemische Landesuntersuchungsanstalt
Stuttgart
Schaflandstraße 3/2
70736 Fellbach
Tel 0711-957 1132
Fax 0711-588 176

Prof. Dr. Dr. Drochner, W.
Institut für Tierernährung
Universität Hohenheim
Emil-Wolff-Str. 10
70593 Stuttgart
Tel 0711-459 2420
Fax 0711-459 2421

van Egmond, H.P.
Laboratory for Residue Analysis (ARO) -
National Institute of Public Health &
Environment Protection
P.O. Box 1
3740 BA Bilthoven
The Netherlands
Tel 31-30-274 2440
Fax 31-30-274 4403

Dr. Ellner
Biologische Bundesanstalt
f. Land- u. Forstwirtschaft,
Institut für Mikrobiologie
Königin-Luise-Str. 19
14195 Berlin
Tel 030-8304 280
Fax 030-8304 284

Dr. Engel, Günter
Bundesanstalt für Milchforschung
Hermann-Weigmann-Str. 1
24103 Kiel
Tel 0431-609 333
Fax 0431-609 222

Dr. Engelhardt, Gabriele
Bayer. Landesanstalt für Ernährung
Menzinger Str. 54
80638 München
Tel 089-178 00 214
Fax 089-174 041

Ewert, Marina
Medizinal, Lebensmittel u.
Veterinäruntersuchungsamt Thüringen
Standort Meiningen
Postfach 303
98607 Meiningen
Tel 03693-76 212

Prof. Dr. Fink-Gremmels, Johan a
University of Utrecht
Faculty of Veterinary Medicine
Dept. Veterinary Pharmacology,
Pharmacy and Toxicology
P.O.Box 80.176
NL-3508 TD Utrecht
Tel 0031 30-253 5453
Fax 0031 30-253 5077

Dr. Föllmann, Wolfram
Institut für Arbeitsphysiologie
an der Universität Dortmund
Ardeystr. 67
44139 Dortmund
Tel 0231-1084 384
Fax 0231-1084 403

Prof. Dr. Frank, H.K.
Hans-Sachs-Str. 3
76275 Ettlingen
Tel 07243-789 01

Gang, Gudrun
Institut für Pflanzenzüchtung, 350/3,
Universität Hohenheim
70593 Stuttgart
Tel 0711-457 9596

Prof. Dr. Dr. Gareis, Manfred
Institut für Mikrobiologie und Toxikologie
Bundesanstalt für Fleischforschung
E.-C.-Baumann Str. 20
95326 Kulmbach
Tel 09221-803 220
Fax 09221-803 331

Dr. Geisen, R.
Bundesforschungsanstalt für Ernährung
Engesserstr. 20,
76131 Karlsruhe
Tel 07247-823 619
Fax 07247-228 20

Gerber, Maria M.
Institut für Arbeitsphysiologie
an der Universität Dortmund
Ardeystr. 67
44139 Dortmund
Tel 0231-1084 281
Fax 0231-1084 308

Dr. Göbel, Roswitha
Institut für Veterinär-Pharmakologie
u. Toxikologie
Weißenseer Straße 36
16321 Bernau
Tel 03338-396 50
Fax 03338-396 517

Dr. Goll, Michael
Institut für Tierernährung
Bundesforschungsanstalt
für Landwirtschaft
Bundesallee 50
38116 Braunschweig
Tel 0531-596 436 oder 433
Fax 0531-596 376

Dr. Grajewski, Jan
Katedra Biologii i Ochrony Srodowiska
Ul Chodkiewicza 30
85-064 Bydgoszcz (Polen)
Tel 004852-731034
Fax 004852-413533

Dr. Griem-Marzahn, Ebba
Hipp-Werk
Münchener Str. 58
85276 Pfaffenhofen
Tel 08441-757 431
Fax 08441-757 676

Dr. Haas-Lauterbach, Sigrid
R-Biopharm GmbH
Rösslerstraße 90
64293 Darmstadt
Tel 06151-810 225
Fax 06151-810 220

Hamdou, Maria Anna
Lebensmittel- und Veterinäruntersuchungsamt
des Landes Schleswig-Holstein
Außenstelle Lübeck
Katharinenstr. 35
23554 Lübeck
Tel 0451-122 3315
Fax 0451-122 3318

Dr. Hindorf, H.
Institut für Pflanzenkrankheiten
der Universität Bonn
Nussallee 9
53115 Bonn

Prof. Dr. Hintikka, Eeva-Liisa
P.O. Box 368
(Hämeentie 57)
FIN-00231 Helsinki
Finnland
Tel + 358-0393 1826
Fax + 358-0393 1811

Hofmann, Günter
Haldenstr. 29
73262 Reichenbach
Tel 07153-52278

Dr. Horvath, Eva Maria
Biomin CTI
Ing. Erber KG
Europaplatz 5
A-3100 St. Pölten
Tel 0043-2742-740 740
Fax 0043-2742-740 71

Dr. Humpf, Hans-Ulrich
Universität Würzburg
Lehrstuhl für Lebensmittelchemie
Am Hubland
97074 Würzburg
Tel 0931-888 5483
Fax 0931-888 5484

Dr. Idler, Christine
Institut für Agrartechnik Bornim e.V.
Max-Eyth-Allee 100
14469 Potsdam-Bornim
Tel 0331-5699-0
Fax 0331-5699-109

Jenner, Katrin
Staatl. Veterinär- und
Lebensmittel-Untersuchungsamt
Fürstenwalder Poststr. 79
15234 Frankfurt/Oder
Tel 0335-4000 132
Fax 0335-4333 028

Dr. Jikeli, Günther
Bundesministerium für Ernährung,
Landwirtschaft und Forsten
Rochusstr. 1
53123 Bonn
Tel 0228-529

Dr. Johanning, Eckardt
Eastern New York
Occupational Health Programm
1201 Troy-Schenectady Road
Latham
New York 12110
USA
Tel 001-518
Fax 001-518-436 9110

Prof. Dr. Kielstein , P.
Bundesinstitut für gesundheitlichen
Verbraucherschutz und Veterinärmedizin
Fachbereich 4 Jena
Postfach
07722 Jena
Tel 03641-419 0
Fax 03641-419 228

Klatt, Annett
Riedel-de Haën AG
LC-Produktentwicklung
Wunstorfer Str. 40
30926 Seelze

Dr. Klein, Udo
Hoechst Schering, AgrEvo GmbH
Postfach 27 06 54
13476 Berlin
Tel 030-439 08 259
Fax 030-439 08 210

Dr. Kombal, Ralph
Staatl. Lebensmitteluntersuchungsamt
Oldenburg
Postfach 2462
26014 Oldenburg
Tel 0441-9803 163
Fax 0441-9803 121

Dr. Krämer, Gabriele
Chemisches Untersuchungsamt Stadt Nürnberg,
Abt. Lebensmittelchemie
Hauptmarkt 1
90317 Nürnberg
Tel 0911-231 2719
Fax 0911-231 3366

Dr. Krska, Rudolf
IFA-TULLN, Abteilung
Analytikzentrum
Konrad-Lorenzstr. 20
3430 Tulln/Österreich
Tel 0043-2272-662 80 407
Fax 0043-2272-662 80 403 oder 77

Dr. Kruse, Sabine
Bundesministerium für Ernährung,
Landwirtschaft und Forsten
Rochusstraße 1
53123 Bonn

Kuilman, Ir. Mariella
Utrecht University
Faculty of Veterinary Medicine
Department of Basic Sciences
Div. of Pharmacy, Pharmacology and Toxicology
P.O. Bos 80 176
NL 3508 TD Utrecht / Niederlande

Kuss, Carola
Mälzerei Meußdoerffer GmbH & Co.KG
Wilhelm-Meußdoerffer-Str. 19
95326 Kulmbach
Tel 09221-9049 0
Fax 09221-9049 43

Dr. Landes, Elisabeth
Institut für Tierernährung
Tierärztliche Hochschule Hannover
Bischofsholer Damm 15
30173 Hannover
Tel 0511-856 7381
Fax 0511-856 7698

Dr. Lassek, Eva
Landesuntersuchungsamt für das
Gesundheitswesen Südbayern
Veterinärstr. 2
85762 Oberschleißheim
Tel 089-315 60 545
Fax 089-315 60 457

Dr. Lauber, Uwe
Institut für Tierernährung
der Universität Hohenheim
Emil-Wolff-Str. 10
70599 Stuttgart
Tel 0711-459 2413
Fax 0711-459 2421

Leinwetter, Nicola
Chemische Landesuntersuchungsanstalt
Hoffstr. 3
76133 Karlsruhe
Tel 0721-926 3588
Fax 0721-926 3549

Dr. Lepschy, J.
Bayer. Landesanstalt für
Bodenkultur u. Pflanzenbau
Vöttinger Str. 38
85354 Freising
Tel 08161-713 978
Fax 08161-714 407

Dr. Lew, Hans
Bundesamt für Agrarbiologie
Wieningerstr. 8
A-4020 Linz
Tel 0043-732-812 612 52
Fax 0043-732-385 482

Lobeck, Klaus
Coring-System
Dr. R. Lichtel
Robert-Bunsen-Str.4
64579 Gernsheim
Tel 06258-931 70

Prof. Dr. Lusky, K.
Institut für Veterinär-Pharmakologie u. Toxikologie
Weißenseer Straße 36
16321 Bernau
Tel 03338-396 50
Fax 03338-396 517

Prof. Dr. Märtlbauer, Erwin
Lehrstuhl für Hygiene u. Technologie der Milch
Tierärztliche Fakultät
LMU München
Schellingstr. 10
80799 München
Tel 089-2180 2256
Fax 089-2180 3793 oder 2106

Majerus, Paul
Chemisches Untersuchungsamt Trier
Maximineracht 11a
54295 Trier
Tel 0651-144 6242
Fax 0651-210 28

Dr. Matthiaschk, Gunther
BGVV
Postfach 330013
14191 Berlin
Tel 030-841 234 16
Fax 030-841 237 63

Meister, Ute
IGV Institut für Getreideverarbeitung
A.-Scheunert-Allee 40/41
14558 Bergholz-Rehbrücke
Tel 033-200 891 36
Fax 033-200 892 20

Prof. Dr. Metzler, M.
Institut für Lebensmittelchemie
der Universität Karlsruhe
Postfach 69 80
76128 Karlsruhe
Tel 0721-608 3186 u.608 2133
Fax 0721-691 417

Prof. Dr. Meußdoerffer, Franz
Meußdoerffer GmbH & Co. KG
Wilhelm-Meußdoerffer-Str. 19
95326 Kulmbach
Tel 09221-904 90
Fax 09221-904 943

Dr. Meyer, Rolf
Landesuntersuchungsanstalt für das
Gesundheits- u. Veterinärwesen
Reichenbachstr. 71-73
01217 Dresden
Tel 0351-8144 464
Fax 0351-8144 497

Dr. Möller, Evelyn
Universität Hohenheim (350)
P.O.B. 70 05 62
Fruwirthstraße 21
70599 Stuttgart
Fax 0711-459 2343

Dr. Müller, Claudia
Versuchs- und Lehranstalt für Brauerei in Berlin
Seestraße 13
13353 Berlin
Tel 030-450 9234
Fax 030-453 1390

Niedwetzki, Gunda
Dr. Wiertz - Dipl.-Chem. Eggert - Dr.Jörissen GmbH
Handels- und Umweltschutzlaboratorium
Stenzelring 14b
21107 Hamburg
Fax 040-7527 0920

Dr. Niessen, Ludwig
Lehrstuhl f. Technische Mikrobiologie
85350 Freising-Weihenstephan
Tel 08161-713 959
Fax 08161-713 327

Nikola, Ulrike
Bayerischer Rundfunk - Studio Franken
Wallensteinstraße 117
90431 Nürnberg
Tel 0911-6550-1

Dr. Nirenberg, Helgard I.
Institut für Mikrobiologie
Biologische Bundesanstalt
f. Land u. Forstwirtschaft
Königin-Luise-Str. 19
14195 Berlin
Tel 030-8304 280
Fax 030-8304 284

Dr. Oldenburg, Elisabeth
Institut für Grünland- und Futterpflanzenforschung
Bundesallee 50
38116 Braunschweig
Tel 0531-596 420
Fax 0531-596 320

Dr. Otteneder, Herbert
Chemisches Untersuchungsamt Trier
Maximineracht 11a
54295 Trier
Tel 0651-144 6212
Fax 0651-210 28

Dipl.-Ing. Peter, Gerd
An der Bohlenbrücke 7
37213 Witzenhausen
Tel 05542-71984

Pfeiffer, Erika
Institut für Lebensmittelchemie
Universität Karlsruhe
Postfach 6980
76128 Karlsruhe
Tel 0721-608 3186
Fax 0721-691 417

Polonji, B.
Landesveterinär- und Lebensmittel-
untersuchungsamt Stendal
Bereich Magdeburg
Walloner Berg 2
39104 Magdeburg
Tel 0391-558 185
Fax 0391-553 463

Dr. Rehfeldt, Annett, G.
Tschibo, Frisch-Röst-Kaffee GmbH
Süderstraße 293
20537 Hamburg
Tel 040-638 732 67
Fax 040-648 732 45

Dr. Reusch, H.
Chemisches Untersuchungsamt
der Stadt Pforzheim
Schulberg 17
75175 Pforzheim
Tel 07231-391 148
Fax 07231-392 108

Dr. Reutter, Matthias
Landwirtschaftliche
Untersuchungs-u.
Forschungsanstalt Gutenbergstr.
75-77,
24116 Kiel
Tel 0431-169 0468

Dr. Richter, Wolfgang
Bayer. Landesanstalt für Tierzucht
Prof. Dürrwaechter-Platz 1
85586 Poing-Grub
Tel 089-99141 440
Fax 089-99141 105

Dr. Risch, Beate
Abt. IV.3.2.
Landesuntersuchungsamt für das
Gesundheitswesen Südbayern
Veterinärstr. 2
85762 Oberschleißheim
Tel 089-315 605 45
Fax 089-315 604 57

Dr. Rosner, Heino
BgVV
Naumburger Str. 96a
07743 Jena
Tel 03641-419 265
Fax 03641-419 228

Dr. Rotheneder, Ralf
Institut für Mikrobiologie und Toxikologie
Bundesanstalt für Fleischforschung
E.-C.-Baumann-Str. 20
95326 Kulmbach
Tel 09221-803 222
Fax 09221-803 331

Dr. Rotzoll, Frieder
Deutscher Kaffee-Verband e.V.

20457 Hamburg
Tel 040-366 256
Fax 040-365 414

Dr. Rudolph, B.
Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft
Naumburger Str. 98
07743 Jena
Tel 03641-683 463
Fax 03641-683 390

Dr. Ruhland, Monika
Bayer. Landesanstalt für Ernährung
Menziger Str. 54
80638 München
Tel 089-178 001 18
Fax 089-174 041

Schaffer, Elke
Industriestr. 21
A-3130 Herzogenburg / Österreich
Tel 0043-02782-2247
Fax 0043-02782-2247-30

Prof. Dr. Schenkel, H.
Universität Hohenheim
Landesanstalt für Landwirtschaftliche Chemie (710)
Emil-Wolff-Straße 14
70599 Stuttgart
Tel 0711-459 2671
Fax 0711-459 3495

Dr. Scheuer, Rainer
Institut für Mikrobiologie und Toxikologie
Bundesanstalt für Fleischforschung
E.-C.-Baumann-Str. 20
95326 Kulmbach
Tel 09221-803 239
Fax 09221-803 331

Dipl.-Ing. Schmerbauch, Klaus-Josef
Institut für Agrartechnik Bornim e.V.
Max-Eyth-Allee 100
14469 Potsdam-Bornim
Tel 0331-5699-0
Fax 0331-5699-109

Dr. Schmidt, Rainer
Mycotoxin Research
Postfach 3628
55026 Mainz
Tel 06131-320 071
Fax 06131-381 314

Schneider, Jörg
Eidgenössische Forschungsanstalt
für Nutztiere
CH-1725 Posieux / Schweiz

Dr. Schöber-Butin, Bärbel
BBA-Institut für Pflanzenschutz in
Ackerbau u. Grünland,
Messeweg 11/12
38104 Braunschweig
Tel 0531-299 4530
Fax 0531-299 3008

Dr. Schollenberger, M.
Institut für Tierernährung
Universität Hohenheim
Emil-Wolff-Str. 10
70593 Stuttgart
Tel 0711-459 2407
Fax 0711-459 2421

Scholz, Winfried
Bayer. Landesanstalt für Tierzucht, Grub
Hechtseestr. 115
81671 München
Tel 089-405 386

Schütt, F.
Institut für Mikrobiologie
Biologische Bundesanstalt
f. Land u. Forstwirtschaft
Königin-Luise-Str. 19
14195 Berlin
Tel 030-8304 280
Fax 030-8304 284

Schütze, Anja
Institut für Pflanzenkrankheiten
Universität Bonn
Nußallee 9
53115 Bonn
Tel 0228-733 339
Fax 0228-2442

Prof. Dr. Schuh, Maximilian
II. Med. Klinik
J. Baumanngasse 1
A-1210 Wien
Fax 0043-125 077 3290

Dipl.-Chem. Schuhmacher, Rainer
IFA-Tulln, Abteilung
Analytikzentrum
Konrad-Lorenzstr.20
3430 Tulln/Österreich
Tel 0043-2272-662 804 08
Fax 0043-2272-662 804 03

Schurer, Bärbel
Chemische Landesuntersuchungsanstalt
Bissierstr. 5
79114 Freiburg
Tel 0761-885 5144 0
Fax 0761-885 5100

Dr. Schuster, Manfred
Bayer. Landesanstalt für Tierzucht
Prof. Dürrwächter Platz 1
85586 Poing
Tel 089-991 414 60
Fax 089-991 411 05

Dr. Schwörer, Manfred
KWS Kleinwanzlebener Saatzucht AG
Grimsehlstr. 31
37555 Einbeck
Tel 05561-311 482
Fax 05561-311 337

Dr. Scott, Peter M.
Health Canada, Banting Research Centre
Postal locator:2203D
Ottawa, Ontario, Canada KIA OL2
Tel 1-613-957 0981
Fax 1-613-941 4775

Soprani, Daniela
R-Biopharm GmbH
Rösslerstraße 90,
64293 Darmstadt
Tel 06151-810 224
Fax 06151-810 220

Dr. Sorenson, William
Center for Disease Control
Appalachian Laboratory for
Occupational Safety and Health
944 Chestnut Ridge Road, Room 215
Morgantown, West Virginia 26505
USA
Tel 001-304-285 5797
Fax 001-304-285 5861

Dr. Speakman, John-Bryan
BASF Aktiengesellschaft,
Landw. Versuchsstation
Postfach 120,
APE/FM - Li 470
67114 Limburgerhof
Tel 0621-602 7641
Fax 0621-602 7176

Stock, Stephanie
Institut f. Arbeitsphysiologie
Ardeystr. 67
44139 Dortmund
Tel 0231-1084 278
Fax 0231-1084 403

Dr. Stübler, Dietrich
Bayer AG - PF-Zentrum Monheim
51368 Leverkusen
Tel 02173-383 641
Fax 02172-384 017

Dr. Taschan, H.
Staatl. Untersuchungsamt
Mittelhessen
Marburger Str. 54
35396 Gießen
Tel 0641-300 60
Fax 0641-300 618

Dr. Thalmann, Alfred
Staatl. Landw. Untersuchungs-
u. Forschungsanstalt Augustenberg
Postfach 430230
76217 Karlsruhe
Tel 0721-9468 160
Fax 0721-9468 112

Dr. Thielert, G.
Chemische Landesuntersuchungsanstalt
Hedingerstraße 2/1
Postfach 409
72482 Sigmaringen

Dr. Usleber, E.
Lehrstuhl für Hygiene u. Technologie der Milch
Tierärztliche Fakultät
LMU München
Schellingstr. 10
80799 München
Tel 089-2180 2256
Fax 089-2180 3793 oder 2106

Dr. Valenta, Hana
Institut für Tierernährung,
Bundesallee 50
38116 Braunschweig
Tel 0531-596 445
Fax 0531-596 376

Dr. Weber, Rudolf
Bundesinstitut für gesundheitlichen
Verbraucherschutz
Thielallee 88-92
14195 Berlin
Tel 030-841 232 98
Fax 030-841 236 85

Weber-Reckers, Birgit
BML, Ref. 222
Rochusstr. 1
53123 Bonn
Tel 0228-529 4445
Fax 0228-529 4404

Dr. Wenzel, Heinz
Bundesministerium für Gesundheit, Ref. 415
Am Probsthof 78a
53121 Bonn
Tel 0228-9414 152
Fax 0228-9414 941

PD Dr. Wild, Dieter
Institut für Mikrobiologie und Toxikologie
Bundesanstalt für Fleischforschung
E.-C.-Baumann-Str. 20
95326 Kulmbach
Tel 09221-803 229
Fax 09221-803 331

Prof. Dr. Wolf, Gerhard
Institut für Pflanzenpathologie der
Universität Göttingen
Grisebachstr. 6
37077 Göttingen
Tel 0551-393 783
Fax 0551-394 187

Dr. Wolf, Hanna
Landesveterinär- und Lebensmitteluntersuchungsamt
Rostock, Außenstelle Neubrandenburg
Postfach 1804
17008 Neubrandenburg
Tel 0395-4222 011
Fax 0395-4222 016

Dr. Wolff, Joachim
Bundesanstalt für Getreide
Kartoffel-und Fettforschung, Institut III
Schützenberg 12
32756 Detmold
Tel 05231-741132
Fax 05231-741 100

Dr. Wolter, Arnhild
Bundesanstalt für Landwirtschaft u. Ernährung
Ref. 514
Adickesallee 40
60322 Frankfurt/M.
Tel 069-1564 675
Fax 069-1564 793

Dr. Zoller, O.
Bundesamt für Gesundheitswesen,
Abt. Lebensmittelwissenschaft
Haslerstr. 16,
Postfach
CH-3000 Bern 14
Tel 0041-313 229 551
Fax 0041-313 229 574