

Aus der

Tierärztlichen Ambulanz Schwarzenbek

des Fachbereiches Veterinärmedizin der

Freien Universität Berlin

**Feldstudie zum Vorkommen von Ochratoxin A und
Zearalenon**

in Futtermitteln und im Blut von Zucht- und

Mastschweinen

mit besonderer Berücksichtigung der Futterherkunft und -lagerung

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines

Doktors der Veterinärmedizin

an der

Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Kerstin Reich

Tierärztin aus Hamburg

Berlin 1998

Journal-Nr. 2188

Gedruckt mit Genehmigung

des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. K. Hartung

Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. G. v. Mickwitz

Zweiter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. W. Müller

Tag der Promotion: 3. Juli 1998

- **Meiner Familie**

○ **INHALTSVERZEICHNIS**

- **1 EINLEITUNG 1**
- **2 SCHRIFTTUM 3**
- **2.1 Mykotoxine allgemein 3**
- **2.2 OchratoxinA 7**
- **2.2.1 Vorkommen von OchratoxinA 7**
- **2.2.2 Eigenschaften von OchratoxinA 12**
- **2.2.3 Nachweis von OchratoxinA 17**
- **2.2.4 Transformation und Ausscheidung von OchratoxinA 20**
- **2.3 Zearalenon 21**
- **2.3.1 Vorkommen von Zearalenon 21**
- **2.3.2 Eigenschaften von Zearalenon 25**
- **2.3.3 Nachweis von Zearalenon 30**
- **2.3.4 Transformation und Ausscheidung von Zearalenon 31**
- **2.4 Toxinnachweise beim Menschen 33**
- **2.5 Nachweisverfahren 36**
- **2.5.1 Physikalisch-chemische Untersuchungsmethoden 36**

- **2.5.1.1 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) 36**
- **2.5.1.2 Dünnschichtchromatographie (DC) 38**
- **2.5.1.3 Gaschromatographie (GC) 39**
- **2.5.2 Immunologische Untersuchungsmethoden 40**
- **2.5.2.1 Enzyme-linked-Immunosorbent-Assay (ELISA) 40**
- **2.5.2.2 Radioimmunochemische Analyse (RIA) 42**
- **2.5.3 Biologischer Mykotoxinnachweis 42**
- **[3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN 44](#)**
- **3.1 Material und Methoden 44**
- **3.1.1 Untersuchungsmaterial 44**
- **3.1.1.1 Feldproben 45**
- **3.1.1.2 Einsendungen an die Tierärztliche Ambulanz Schwarzenbek 48**
- **3.1.1.3 Vorbereitung des Probenmaterials 48**
- **3.1.2 Untersuchungsmethoden 49**
- **3.1.2.1 Laborgeräte 51**
- **3.1.2.2 Verbrauchsmaterialien 52**
- **3.1.2.3 Chemikalien 53**
- **3.1.3 Toxinstandards 53**
- **3.1.3.1 OchratoxinA 54**
- **3.1.3.2 Zearalenon 55**
- **3.1.4 Analysenmethoden 55**
- **3.1.4.1 OchratoxinA im Blutserum 56**
- **3.1.4.2 OchratoxinA in Futtermitteln 57**
- **3.1.4.3 Zearalenon im Blutserum 58**
- **3.1.4.4 Zearalenon in Futtermitteln 59**
- **3.1.5 HPLC-Analyse 60**
- **3.1.6 Toxingehalt der Gesamtprobe 62**
- **3.1.7 Wiederfindungsraten 64**
- **3.1.7.1 Wiederfindungsrate im Serum 64**

- **3.1.7.2 Wiederfindungsrate (WFR) im Futtermittel 65**
- **3.1.8 Korrekturfaktor (KF) 67**
- **3.1.9 Nachweisgrenzen 67**
- **3.1.10 Wiederholbarkeit der Analysenergebnisse 68**
- **3.1.11 HPLC-Analyse der Proben 69**
- **3.1.12 Statistische Datenerfassung 69**
- **3.2 Ergebnisse 71**
- **3.2.1 Überprüfung der Methoden 72**
- **3.2.1.1 Ermittlung der Wiederfindungsrate (WFR) 72**
- **3.2.1.1.1 Individueller Korrekturfaktor (KF) 72**
- **3.2.1.2 Wiederholbarkeit der Wiederfindungsraten im Futter 73**
- **3.2.1.2.1 Wiederfindungsraten von OchratoxinA im Futter 73**
- **3.2.1.2.2 Wiederfindungsraten von Zearalenon im Futter 75**
- **3.2.1.3 Wiederholbarkeit der Wiederfindungsraten im Serum 76**
- **3.2.1.3.1 Wiederfindungsrate von OchratoxinA im Serum 77**
- **3.2.1.3.2 Wiederfindungsrate für Zearalenon im Serum 78**
- **3.2.1.4 Wiederfindungsraten im Futter 79**
- **3.2.1.4.1 Verteilung der Wiederfindungsraten in unterschiedlichen Futtermitteln 80**
- **3.3 Untersuchungsergebnisse 83**
- **3.3.1 Untersuchungsergebnisse der Feldstudie 84**
- **3.3.2 Untersuchungsergebnisse der Einsendungen 86**
- **3.3.3 Nachweis von OchratoxinA 87**
- **3.3.3.1 Gegenüberstellung der Toxinwerte aus der Feldstudie und den Einsendungen 87**
- **3.3.3.1.1 Vergleich der OchratoxinA-Belastungen im Serum 87**
- **3.3.3.1.2 Vergleich der OchratoxinA-Belastungen im Futtermittel 89**
- **3.3.3.2 Verteilung der OchratoxinA-Belastung mit Berücksichtigung verschiedener Einflußfaktoren 90**
- **3.3.3.3 Saisonalität der OchratoxinA-Belastung 90**
- **3.3.3.3.1 OchratoxinA-Belastung in den verschiedenen Entnahmemonaten 92**
- **3.3.3.3.2 OchratoxinA-Belastung in Beziehung zur Probenherkunft 93**

- **3.3.3.4 OchratoxinA-Belastung mit Berücksichtigung der Betriebsart 95**
- **3.3.3.4.1 OchratoxinA-Belastung in Sauenbetrieben 96**
- **3.3.3.4.2 OchratoxinA-Belastung in Mastbetriebe 97**
- **3.3.3.5 Auswirkung der Lagerbedingungen auf die OchratoxinA-Werte 98**
- **3.3.3.6 Futtermittelherkunft 100**
- **3.3.3.6.1 OchratoxinA-Gehalte bei betriebseigenem Futter 101**
- **3.3.3.6.2 OchratoxinA-Gehalte bei Zukauffutter 102**
- **3.3.4 Nachweis von Zearalenon 103**
- **3.3.4.1 Zearalenongehalte in den Proben der Feldstudie und den Einsendungen 103**
- **3.3.4.1.1 Zearalenon-Belastung im Serum 103**
- **3.3.4.1.2 Zearalenon-Belastungen im Futtermittel 105**
- **3.3.4.2 Zearalenonbelastung mit Berücksichtigung verschiedener Einflußfaktoren 106**
- **3.3.4.3 Saisonalität der Zearalenon-Belastung 106**
- **3.3.4.3.1 Zearalenon-Belastung im Futter in den verschiedenen Probenentnahmemonaten 108**
- **3.3.4.3.2 Zearalenon-Belastung der Futtermittel in Beziehung zur Probenherkunft 110**
- **3.3.4.4 Zearalenon-Belastung des Futters mit Berücksichtigung der Betriebsart 111**
- **3.3.4.4.1 Zearalenon-Belastung in Sauenbetrieben 112**
- **3.3.4.4.2 Zearalenon-Belastung in Mastbetrieben 113**
- **3.3.4.5 Auswirkung der Lagerbedingungen auf die Zearalenongehalte 114**
- **3.3.4.6 Futtermittelherkunft 115**
- **3.3.4.6.1 Zearalenon-Gehalte in betriebseigenem Futter 115**
- **3.3.4.6.2 Zearalenon-Gehalte im Zukauffutter 117**
- **3.3.4.7 Einfluß der Einstreu auf die Serumwerte 1184**
- **[4 DISKUSSION 120](#)**
- **4.1 Bewertung der Wiederfindungsraten 120**
- **4.2 Toxinwerte der Feldstudie 123**
- **4.2.1 Übereinstimmung der OchratoxinA-Belastung im Futter mit den Serumwerten 123**
- **4.2.2 Übereinstimmung der Zearalenon-Belastung im Futter mit den Serumwerten 125**
- **4.3 Beurteilung verschiedener Einflußfaktoren 126**

- **4.3.1 Saisonalität 127**
- **4.3.2 Betriebsart 128**
- **4.3.3 Lagerbedingungen 129**
- **4.3.4 Futtermittelherkunft 131**
- **4.3.5 Einstreu 133**
- **4.4 Toxinwerte der Einsendungen 134**
- **5 ZUSAMMENFASSUNG 136**
- **6 SUMMARY 139**
- **7 SCHRIFTTUMSVERZEICHNIS**
- **8 ANHANG**

Verwendete Abkürzungen

Abb. Abbildung

AMBU Proben aus der Tierärztlichen Ambulanz in Schwarzenbek

AK Proben des Projekts zur Bekämpfung der Aujeszkyschen Krankheit

DC Dünnschichtchromatographie

ELISA Enzyme-linked-Immunosorbent-Assay

GC Gaschromatographie

HPLC Hochleistungsäulenflüssigkeitschromatographie

I.E. Internationale Einheit

ITL Institut für Tiergesundheit und Lebensmittelqualität in Kiel

KGW Körpergewicht

KF Korrekturfaktor

Kap. Kapitel

n. n. nicht nachgewiesen

p. a. pro analysi

ppb parts per billion (= g/kg = ng/g)

ppm parts per million (=mg/kg)

TAS Tierärztliche Ambulanz Schwarzenbek

Tab. Tabelle

WFR Wiederfindungsrate

z. A. zur Analyse

1 EINLEITUNG

Sowohl in der menschlichen, als auch in der tierischen Ernährung spielen Schimmelpilze seit altersher eine wichtige Rolle. Denn sie sind nicht nur verantwortlich für den Verderb von Lebensmitteln, sondern können direkt oder indirekt Erkrankungen hervorrufen.

Es sind eine Vielzahl von Krankheiten bekannt, die direkt auf Schimmelpilze oder ihre Gifte zurückzuführen sind. Allerdings ist es schwierig, ihre indirekte Wirkung auf den menschlichen und tierischen Organismus nachzuweisen.

Von einigen Pilztoxinen ist bekannt, daß sie das Immunsystem schwächen oder z.B. Tumorstadium auslösen können. Meist gehört allerdings ein komplexes Zusammenspiel vieler Faktoren dazu, deren einzelne Komponenten noch nicht gänzlich geklärt sind.

Somit ist es wichtig, daß wir die Nachweise verschiedener Schimmelpilzgifte in unserer Nahrungskette führen, um die täglichen Aufnahmen zu erkennen und soweit wie möglich zu reduzieren.

Zu den in unseren Breiten häufig nachzuweisenden Mykotoxinen zählen unter anderem Ochratoxin A und Zearalenon.

Beide Gifte kommen meist nur in geringen Konzentrationen vor, so daß es eher zu schleichenden, chronischen Erkrankungen kommt, deren klinisches Bild oft nicht erkannt werden kann. Des weiteren besteht die Möglichkeit, daß durch die Toxine selbst keinerlei Symptome verursacht werden, sie allerdings andere Krankheiten begünstigen. Somit stellt sich die Frage, was tolerieren wir, bzw. was müssen und was dürfen wir heutzutage tolerieren.

Sowohl Ochratoxin A, als auch Zearalenon kommt von den etwa 400 bekannten Schimmelpilzgiften eine gewisse Indikatorrolle zu. In den letzten Jahren sind eine ganze Reihe von Arbeiten über Ochratoxin A oder Zearalenon veröffentlicht worden. Meist wurde in diesen Veröffentlichungen aber nur eines der beiden Schimmelpilzgifte berücksichtigt.

Für diese Arbeit wurden sowohl Futtermittel, als auch Blutserum von Schweinen auf beide Mykotoxine untersucht. Die Proben wurden generell in Betrieben entnommen, die keinerlei Mykotoxinverdacht aufwiesen.

Da vor allem die Futtermittel ein sehr komplexes Untersuchungsmaterial darstellen, wurde für jede Probe ihre individuelle Wiederfindungsrate erstellt. Weiterhin sollten die jahreszeitlichen Schwankungen vor allem bei längerer Lagerung sowie die verschiedenen Belastungsgrade in den unterschiedlichen Nutzungsgruppen aufgezeigt werden.

Parallel zur Studie werden vorselektierte Blut- und Futtermittelproben auf ihren Gehalt und die Häufigkeit des Auftretens beider Mykotoxine untersucht. Hierbei handelt es sich um Probenmaterial, das wegen Mykotoxinverdacht zur Untersuchung ins Labor gelangte.

Mit Hilfe dieser Untersuchung sollte geprüft werden, wie häufig und wie stark eine Kontamination mit Schimmelpilzgiften in tierischer und pflanzlicher Nahrung vorhanden ist, ohne daß ein Verdacht vorliegt.

2 SCHRIFTTUM

2.1 Mykotoxine allgemein

Mykotoxine sind sekundäre Stoffwechselprodukte verschiedener Pilze, hauptsächlich der *Aspergillus*-, *Penicillium*- und *Fusarium*-Gattungen. *Fusarien* zählen zu den Feldpilzen, während *Aspergillus*- und *Penicillium*-Arten zu den Lagerpilzen gerechnet werden.

Zu den durch Fusarien hervorgerufenen Toxikosen zählen unter anderem die Trichothecentoxikose, das Zearalenonsyndrom, die Fusarientoxikose der östlichen Hemisphäre, die Schlingelgrasvergiftung und die equine Leucoencephalomalacie, wobei nur die beiden erstgenannten Erkrankungen in unserem gemäßigten Klima eine Rolle spielen (GEDEK, 1980 b).

Die Trichothecene stellen eine Gruppe von insgesamt 148 Fusarientoxinen dar. Eine gute Übersicht über ihr Vorkommen und ihre Wirkungsweisen gibt die Environmental Health Criteria 105 der World Health Organisation (WHO, 1990).

Die Hauptmerkmale einer Trichothecentoxikose bei Tieren stellen Erbrechen, Tachykardie, Diarrhöe, verschiedene Hämorrhagien, Schädigung des hämatopoetischen Systems, nervöse Störungen sowie Futterverweigerung dar (GEDEK, 1980 b).

Beim Menschen wurden hauptsächlich gastrointestinale Symptome festgestellt. DUTTON und KINSEY (1995) untersuchten 1994 insgesamt 417 landwirtschaftliche Futterproben in Südafrika per Dünnschicht-Chromatographie (multi-screening Test) auf mehr als 20 Mykotoxine.

Trichothecene waren mit 19,2 % am häufigsten vertreten.

Auf die Zearalenone soll in den folgenden Kapiteln näher eingegangen werden.

Zu den Toxinen der Feldpilze rechnet man außer den Fusarientoxinen auch die Alkaloide von *Claviceps purpurea*, die Mutterkornalkaloide.

Diese Gifte führen bei vielen Tierarten zu Gangränen oder Konvulsionen, dem Ergotismus (Kribbelkrankheit).

Beim Schwein stehen allerdings eher Agalaktie, reduzierte Futteraufnahme und unzureichende Gewichtszunahme im Vordergrund (BAUER, 1988). Aber auch Fruchtbarkeitsstörungen, wie reduzierte Wurfgrößen, lebensschwache Ferkel, Endometritiden und vermehrtes Umrauschen wurden beobachtet (HERTRAMPF, 1984).

Zu den Pilzen, die hierzulande während der Getreidelagerung eine Rolle spielen, zählen die *Aspergillen* und *Penicillien*. Ihren Toxinen ist hauptsächlich eine indirekte Beeinflussung zuzuschreiben, die in Abhängigkeit von der Dosis nicht nur Organveränderungen an Leber und Nieren hervorrufen, sondern auch immunsuppressiv wirken können (GEDEK, 1984; FINK-GREMMELS, 1990).

Aspergillus- und *Penicillium*arten können je nach Umwelteinflüssen eine Reihe von Mykotoxinen bilden, einer ihrer bekanntesten Vertreter stellen die Aflatoxine dar.

In Europa tritt die Aflatoxikose der Haustiere meist nach Aufnahme von mit *Aspergillus flavus* infizierten, aus tropischen oder subtropischen Gegenden importierten, Erdnüssen in Erscheinung (PALYUSIK, 1977 a).

Beim Schwein treten eher chronische Intoxikationen auf. Diese äußern sich hauptsächlich in Leistungsdepression und erhöhter Infektanfälligkeit durch immunsuppressive Effekte (HERTRAMPF, 1984).

Aufgrund seiner karzinogenen und hepatotoxischen Wirkung ist das Aflatoxin in Deutschland mit einer gesetzlichen Höchstmenge in Lebensmitteln versehen worden.

Ein weiteres von *Aspergillus*- und *Penicillium*- Spezies produziertes Mykotoxin stellt das Citrinin dar. Citrinin gehört genau wie Ochratoxin A zu den nephrotoxischen und hepatotoxischen Substanzen und kommt somit als Ursache für die mykotoxische Nephropathie der Schweine in Betracht (PALYUSIK, 1977 b).

Zwar konnten SANDOR et al. (1991) in einem Fütterungsversuch mit sehr niedrigen Ochratoxin A- und Citrinin-Konzentrationen beim Schwein keine interpretierbaren klinischen oder pathomorphologischen Veränderungen feststellen, wiesen aber auf die Toxizität für den Menschen hin.

BAUER und GEDEK (1978) berichteten, daß Ochratoxin A und Citrinin zwar in ihren Futteruntersuchungen selten vorkamen, es allerdings gleichzeitig Berichte über Nephrosen bei der Schlachtkörperuntersuchung gab, die Mykotoxine vermuten lassen.

Über Citrinin stehen mehrere Veröffentlichungen zur Verfügung (KROGH, 1978; GEDEK, 1980 a).

Mykotoxine stellen meist niedermolekulare Substanzen dar, was ihre Stabilität gegenüber Umwelteinflüssen erhöht, und gleichzeitig verhindert, daß das Immunsystem eines Organismus Antikörper gegen sie zu bilden vermag (PIER et al., 1980).

Von den über 400 bekannten Schimmelpilzgiften spielen in unseren gemäßigten Breiten hauptsächlich Aflatoxine, Ochratoxin A, Trichothecene und Zearalenon eine größere Rolle. Da es sich in der Praxis aber meist um chronische Mykotoxikosen handelt, ist die Diagnose häufig nur schwer zu stellen (BAUER, 1982; SCHUH, 1981).

Allerdings ist der wirtschaftliche Schaden oft beträchtlich, da sich die chronischen Mykotoxikosen oft nur in Leistungsdepression, ungenügender Fruchtbarkeit und erhöhter Infektanfälligkeit äußern (BAUER und GEDEK, 1978; SCHUH, 1989).

Da in Futtermitteln mehrere Mykotoxine gleichzeitig auftreten können, handelt es sich bei den in der Praxis auftretenden Mykotoxikosen nicht um ein monokausales, sondern ein multitoxisches Geschehen (BAUER, 1988).

So gibt es mehrere Autoren, die von additiven Effekten bzw. synergistischen Wirkungen (GEDEK, 1984) verschiedener Fusarientoxine sprechen, was TAPIA und SEAWRIGHT (1985) in einem Fütterungsversuch mit Ochratoxin A und Aflatoxin B₁ bei Schweinen bestätigten.

Ähnliches beschrieben BARNIKOL und THALMANN (1988), die in mehreren Fällen Zearalenon und Ochratoxin A im Getreide gefunden haben, und darauf hinwiesen, daß unter Praxisbedingungen zusätzliche Stressoren auftreten, so daß auch schon niedrigere Toxinmengen zu klinischen Erscheinungen führen könnten.

Zudem ist mittlerweile bekannt, daß natürlich kontaminiertes Getreide toxischer wirkt (meist um den Faktor zwei), als reines Mykotoxin.

Ursächlich hierfür scheinen Interaktionen mit anderen bekannten oder unbekanntenen Toxinen bzw. ihren Metaboliten zu sein (KUIPER-GOODMAN, 1991).

Ferner konnten MADSEN et al. (1982) über synergistische Aktivitäten berichten. So fanden sie heraus, daß natürlich kontaminiertes Futter deutlich stärkere Symptome bei Schweinen hervorruft, als künstlich infizierte Gerste. Diesen Effekt konnten sie sowohl für Ochratoxin A, als auch für Citrinin, bzw. für beide Toxine gleichzeitig nachweisen.

Im Gegensatz dazu steht eine mykotoxikologische Untersuchung von 452 Futtermitteln, in der in 50 % der Proben Toxine nachgewiesen wurden. Allerdings konnten in keinem Futtermittel verschiedene Mykotoxine gleichzeitig ermittelt werden (KOLLARCZIK und KAADEN, 1995).

2.2 Ochratoxin A

2.2.1 Vorkommen von Ochratoxin A

Ochratoxin A gehört zur Gruppe der Mykotoxine und wird von verschiedenen Schimmelpilzarten produziert. SCHUH und SCHWEIGHARDT (1981) geben eine Reihe von *Aspergillus*- und *Penicillium*-Arten an, die in der Lage sind, Ochratoxine zu bilden. Als erstes wurde Ochratoxin A aus *Aspergillus ochraceus* WILHELM Kulturen isoliert, die daher namensgebend waren (MERWE et al., 1965).

Mittlerweile wurde dieser Pilz in *Aspergillus alutaceus* Berkeley et Curtis umbenannt (KOZAKIEWICZ, 1989 zitiert nach MARQUARDT und FROHLICH, 1992).

Aus der Gruppe der *Penicillien* treten in kühleren Regionen überwiegend *Penicillium verrucosum*-Stämme auf (FRISVAD und SAMSON, 1991; RUTQVIST et al., 1978).

Aspergillus-Arten spielen als Toxinproduzenten in tropischen und subtropischen Gegenden eine wichtigere Rolle (COOK et al., 1986).

Damit überhaupt ein Pilzwachstum und damit verbunden die Toxinbildung möglich ist, bedarf es einiger äußerer Faktoren. Zu diesen zählen unter anderem die Wasseraktivität (a_w -Wert) und die Temperatur sowie der Substrattyp und die Anwesenheit von kompetitiver Mikroflora (MARQUARDT und FROHLICH, 1992). Für *Aspergillus ochraceus* und *Penicillium viridicatum* wird ein a_w -Wert von 0.95- 0.99 angegeben.

Die höchste Toxinbildung findet bei $a_w = 0,99$ statt. Für die Temperaturspanne, innerhalb derer ein Pilzwachstum möglich ist, wird für *Aspergillus ochraceus* 8-37 °C (Toxinproduktion von 12-37 °C) und für *Penicillium viridicatum* 0-31 °C (Toxinproduktion von 4-31 °C) angegeben. Daher ist eher mit einer Ochratoxin A-Produktion durch *Penicillium viridicatum* zu rechnen (LILLEHOJ und ELLING, 1983).

Die Spezies *Penicillium viridicatum* ist nach PITT (1986) der Spezies *Penicillium verrucosum* zugeordnet worden.

Einige Pilze sind in der Lage, je nach äußeren Bedingungen, nicht nur unterschiedliche Mengen, sondern auch verschiedene Mykotoxine zu bilden. So ist *Aspergillus ochraceus* in synthetischem Nährmedium in der Lage Ochratoxin A, Ochratoxin B, Ochratoxin , Mellein, 4-Hydroxymellein und Penicillsäure zu produzieren (DELGADILLO, 1986).

Aspergillus- und *Penicillium*arten gehören zur Gruppe der Lagerpilze, d.h. sie sind normalerweise erst nach der Ernte nachzuweisen und aufgrund geringer Ansprüche mit einer niedrigen Wasseraktivität zufriedenzustellen (GEDEK, 1980 a).

Allerdings haben HÖKBY et al. (1979) Ochratoxin A bereits zwei Wochen vor der Ernte isolieren können, eine Kontamination auf dem Feld ist nach dieser Untersuchung möglich.

Daß Ochratoxin A allerdings nicht nur über Getreide oder Fleisch und Fleischerzeugnisse in unsere Nahrungskette gelangt, machen Untersuchungen an Gewürzen (MEYER et al., 1995) und an Kaffee (STUDER-ROHR et al., 1995) deutlich.

WOLFF und RICHTER (1992) zeigten in ihrer Studie auf, daß im Zeitraum 1990 und 1991 erntefrisches Getreide, das die gesamte deutsche Ernte repräsentierte, 50 bis 80 % des Probenmaterials eine nachweisbare Ochratoxin A-Kontamination aufwies. Die Belastungen wurden als gering beschrieben und waren auch nach halbjähriger Hoflagerung unter günstigen Bedingungen kaum verändert.

Über die Häufigkeit des Vorkommens von Ochratoxin A im Blut von Schweinen in verschiedenen Regionen gibt MALLMANN (1993) eine detaillierte Übersicht (Tabelle 1):

Tabelle 1: Vorkommen von Ochratoxin A im Blut von Schweinen

Land	Positive/ Anzahl	Positiv %	Mengen ng/ml	Autor
Jugoslawien	6/76	7,9	36-77	PEPELJNJAK und CVETNIC, 1985
Kanada	49/1.200	4,1	20-229	MARQUARDT et al., 1988
"	572/1.588	36,0	0,5-229	FROHLICH et al., 1991
Polen	36/195	18,5	3-270	GOLINSKI et al., 1984
"	148/388	38,1	1-520	GOLINSKI et al., 1985
Tschechoslowakei	147/255	21,5	0,1-20	FUKAL, 1991
Schweden	47/279	16,8		HULT et al., 1980
"	26/122	21,3	2-62	HULT et al., 1984
Brasilien	9/73	13,8	0,1-0,5	SANTURIO und MALLMANN, 1993
Deutschland	40/261	15,3	0,1-2,1	HOFMANN, 1983
"	41/191	49,1	0,1-67,3	BAUER et al., 1984
"	7/7	100,0	0,5-5	SCHEUER und LEISTNER, 1986 a
"	76/286	26,6	0,6-50	HASERT, 1988
"	10/10	100,0	0,2-6,2	BARNIKOL und THALMANN, 1988
"	534/908	58,8	0,1-50	HADLOK et al., 1989
"	44/85	51,8	0,1-17,6	MAJERUS et al., 1989
"	542/1.002	54,1	0,5-244,8	HAUPT, 1989
"	302/505	59,8	0,5-5	HORNDASCH, 1991
"	839/1.701	49,3	0,2-49,3	SCHOTTE, 1992
"	363/1.289	28,2	0,6-60,47	MALLMANN, 1993
Gesamt	3838/10.421	36,8	0,1-520	

Die Tabelle wurde mit den aktuellen Werten aus der Arbeit von MALLMANN (1993) ergänzt.

Daß eine Ochratoxin A-Belastung bei Schweinen von der Region und der Jahreszeit abhängig ist, konnten OMINSKI et al. (1996) aufzeigen. Bei ihrer Untersuchung von 1.600 Blutproben von Schlachtschweinen aus Kanada waren im Juli 65 % Ochratoxin A positiv, im April, Oktober und Januar dagegen nur 38, 21 und 17 %. Insgesamt ergab sich eine durchschnittliche Kontamination von 36 % der Seren.

Eine saisonale Abhängigkeit der Ochratoxin A-Belastungen im Serum konnte auch YUDHABUNTARA (1995) aufzeigen. Proben aus den Monaten Mai bis Juli 1990 waren sowohl höher, als auch stärker kontaminiert, als Proben aus den Monaten Dezember 1990 bis Januar 1991.

Auch HAUPT (1989) wies in ihrer Arbeit sowohl einen regionalen, als auch einen zeitlichen Einfluß auf die Ochratoxin A-Belastung im Getreide nach.

Ebenso vermuteten MAJERUS et al. (1989) diese saisonale Abhängigkeit. Im Untersuchungszeitraum vom September 1988 bis April 1989 waren insgesamt 52 % der Seren von Schweinen Ochratoxin A belastet.

Mittlerweile wurden einige Versuche unternommen, den Toxingehalt in den Futtermitteln zu dezimieren bzw. zu neutralisieren.

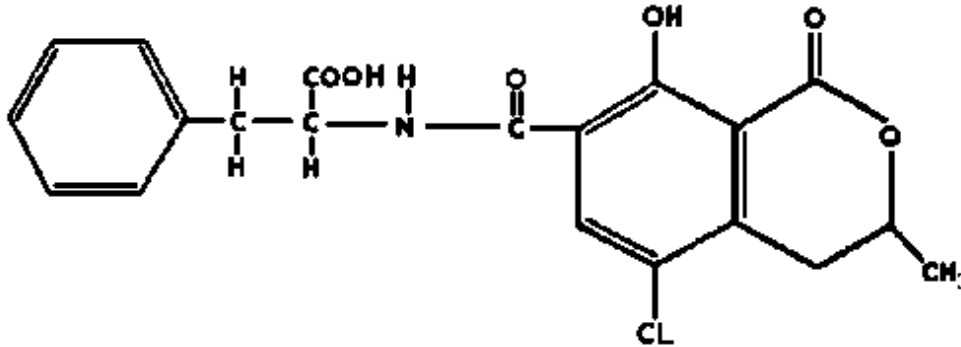
RICHTER und WOLFF (1993) zeigten einige Methoden zur Reduzierung von Ochratoxin A in Futtermitteln auf. Allerdings bestätigen sie auch, daß diese Methoden noch nicht praxisreif seien (BAUER et al., 1987).

Ähnliche Versuche wurden auch von PLANK et al. (1990) unternommen. Eine Zumischung von Aktivkohle in das Futter konnte eine Verminderung der Ochratoxin A-Gehalte im Blut bewirken, allerdings wurde gleichzeitig eine verminderte Vitamin E-Resorption beobachtet.

2.2.2 Eigenschaften von Ochratoxin A

Ochratoxine sind Isocumarinderivate mit Bindung an L-Phenylalanin (siehe Abb.1). Die Summenformel für Ochratoxin A lautet $C_{20}H_{18}ClNO_6$, das Molekulargewicht beträgt 403,85 g/mol (WHO, ENVIRONMENTAL HEALTH CRITERIA 105, 1990).

Abbildung 1: Chemische Struktur von Ochratoxin A



Ochratoxin A ist eine farblose kristalline Substanz, die in polaren organischen Lösungen gelöst werden kann. Es ist optisch aktiv und fluoresziert unter UV-Licht der Wellenlänge 365 nm bläulich (GEDEK, 1980 a).

Ochratoxin A besitzt drei natürliche und sechs synthetische Verwandte (XIAO et al., 1996). Zu den natürlichen vorkommenden Toxinen zählen Ochratoxin C, Ochratoxin B und Ochratoxin .

Synthetisch hergestellt wurden bisher aus Ochratoxin A:

- - sein Epimer (d-OA)
- - ein Ethylamid (OE-OA)
- - die decarboxylierte Form (DC-OA)
- - am O-methyliert (OM-OA)
- - mit einem geöffnetem Lactonring (OP-OA)
- - ein Methyl-ester von Ochratoxin (M-O)

Ochratoxin A wird vom Tier über das Futter aufgenommen und mit dem Blut im gesamten Organismus verteilt.

Die höchsten Konzentrationen finden sich nach der Aufnahme im Blut (bzw. Blutserum) sowie in den Nieren. Niedrigere Konzentrationen sind noch in der Leber, dem Fett sowie dem Muskelgewebe nachweisbar (SCHEUER et al., 1985; KÜHN et al., 1991).

Mit Hilfe eines Fütterungsversuches konnten BAUER und GEDEK (1992) auch den diaplazentaren Übergang von Ochratoxin A beim Schwein nachweisen. Klinische Erscheinungen konnten weder beim Muttertier noch bei den Feten beobachtet werden.

Bei den klinischen Symptomen einer Ochratoxin A-Intoxikation stehen vor allem die Nierenveränderungen im Vordergrund. Hierbei handelt es sich in erster Linie um eine Degeneration der proximalen Tubuli, fortschreitend auch um Atrophie und Nekrose der Tubulusepithelien, Nierenrindenfibrosen, Verdickung der Basalmembran sowie hyaliner Degeneration der Glomeruli (ELLING und MÖLLER, 1973; COOK et al., 1986).

Makroskopisch sind bei höheren Dosen Schwellungen der gesamten Niere, deutliche Farbveränderungen ins gräuliche, Fibrosen sowie Zysten erkennbar. Diese Veränderungen treten allerdings erst nach längerer Fütterungsdauer mit kontaminiertem Futter auf (ELLING, 1983).

Diese Erkenntnis wird auch von GOLINSKI et al. (1984 und 1985) bestätigt, die prozentual deutlich mehr positive Ochratoxin A-Blutproben als Nierenveränderungen bei Schweinen auf polnischen Schlachthöfen gefunden haben.

Weitere Anzeichen chronischer Ochratoxikosen sind reduzierte Futtermittelaufnahme und damit vermindertes Wachstum, Polyurie und Polydipsie (KROGH et al., 1974; RICHTER und SCHUSTER, 1996), des weiteren steigende Serum Kreatininwerte und Proteinurie (TAPIA und SEAWRIGHT, 1984). Ferner sanken die maximale Paraaminohippursäureausscheidung sowie die Glukose-Reabsorption (KROGH et al., 1979).

GEDEK (1980 a) schrieb in ihrem Buch, daß bei Kälbern eine einmalige Dosis von 25 und 11 mg Ochratoxin A/kg Körpergewicht in der ersten Lebenswoche verabreicht, tödlich wirkt, wobei bei diesen Tieren nach Meinung der Verfasserin der Leberschaden ausschlaggebend für den Tod war.

SZCZECH et al. (1973 b) fanden bei Schweinen bei Ochratoxin A-Dosen von 1 bis 2 mg/kg Körpergewicht pathologische Veränderungen am Darm, der Leber, den lymphatischen Organen und der Milz.

Inwieweit Ochratoxin A sich auf die Fruchtbarkeit bei Ebern auswirkt, ist bisher wenig bekannt. Allerdings konnten EWALD und HEER (1989) in einer Fallstudie aufzeigen, daß zwei von vier Ebern nach Aufnahme toxinhaltigen Futters eine drastische Verschlechterung der Spermaqualität aufwiesen.

Des weiteren sind bei einigen Tierarten immunsuppressive, cytotoxische, karzinogene, mutagene und teratogene Eigenschaften durch Ochratoxin A nachgewiesen worden (CORRIER, 1991).

Eine Übersicht der unterschiedlichen Eigenschaften bei verschiedenen Tier- bzw. Zellarten gibt Tabelle 2.

Tabelle 2: Wirkungen von Ochratoxin A

Tierart	Ochratoxin A Dosis	Effekte	Autoren
Ratte	40 mg/kg Futter	Brüche der DNA	KANE et al., 1976
Ratte	21; 70; 210 g/kg KGW/d	männl. mehr Nierentumoren als weibl.	BOORMANN, 1989
Ratte	0,1-1 mg/kg Futter	Immunsuppression, T-Lymphozyten	JAHN und FINK-GREMMELS, 1988
Ratte		cytotoxisch	ALBASSAM et al., 1987
Ratte, tragend	1,75 mg/kg KGW	Malformation	MAYURA et al., 1982 und 1983
Ratte, tragend	0,75-1 mg/kg KGW	Resorption der Feten, unterentwickelt	BROWN et al., 1976
Maus, Ratte, Hamster, Huhn		teratogen	FUKUI et al., 1987
Maus	1 g/kg KGW	Immunsuppression	CREPPY et al., 1983
Maus	5 mg/kg KGW	Lymphozyten - stimulation	PRIOR und SISODIA, 1982
Maus	40 mg/kg KGW	Leber- und Nierenzelltumoren	KANIZAWA und SUZUKI, 1978
Maus	40 mg/kg KGW	Nierentumoren	BENDELE et al., 1985
Maus	0,34-13,4 mg/kg KGW	natürl. Killerzellen gehemmt	LUSTER et al., 1987
Maus	0,005 g/kg KGW	Immunsuppression	HAUBECK et al., 1981
Maus		Killerzellen, kanzerogen	LOTZOVA und HERBERMAN, 1986
Maus, tragend	5 mg/kg KGW	fetotoxisch, mutagen	HAYES et al., 1974
Maus, tragend	2-4 mg/kg KGW +T-2 Toxin	fetotoxisch, mutagen	HOOD et al., 1978

Fortsetzung der Tabelle 2: Wirkungen von Ochratoxin A

Tierart	Ochratoxin A Dosis	Effekte	Autoren
Maus, tragend	3-5 mg/kg KGW	embryotoxisch	SZCZECH und HOOD, 1981
Hamster	5-20 mg/kg KGW	fetotoxisch, teratogen	HOOD et al., 1976

Huhn		Immunsuppression, Bursa fabricii	HARVEY et al., 1987
Huhn	4 u. 8 µg/g Futter	immunsuppressiv	CHANG und HAMILTON, 1980 CHANG, 1982
Huhn	0,5-2 mg/kg KGW	zelluläre Immunität Thymus, Bursa fabricii u. Milz	SINGH et al., 1990
Huhn	0,2 u.4 mg/kg KGW	immunsuppressiv IgG, IgA, IgM	DWIVEDI und BRUNS, 1984
Pute	4 mg/kg KGW	immunsuppressiv	DWIVEDI und BRUNS, 1985
Hund	0,2-3 mg/kg KGW	Lymphknoten Nekrosen	SZCZECH et al., 1973 a
Schwein	1-2 mg/kg KGW	Lymphknoten Nekrosen	SZCZECH et al., 1973 b
Schwein	2,5 mg/kg KGW	zelluläre Immunität	HARVEY et al., 1992
Schwein	0,06-4 mg/l Blut	Lymphozyten - stimulation	HOLMBERG et al., 1988
Schweine-lymphozyten	100 M	Senkung der Immunglobulin-synthese	FINK-GREMMELS und JAHN, 1992
Harnblasen-epithel	100 pM - 100 nM	Schwesterchromatid-Austausch	DEGEN et al., 1995
menschl. Lymphozyten	5-20 g/ml	DNA-Degeneration	SEEGERS et al., 1994

KGW= Körpergewicht

= abnehmend

2.2.3 Nachweis von Ochratoxin A

Für den Nachweis von Ochratoxin A kommt sowohl das Futter, als auch Blut bzw. Serum sowie einige Organe und ihre Ausscheidungen, wie Kot und Galle, in Frage.

KÜHN et al. (1995) konnten in der Galle von Schweinen noch 0,3 ng Ochratoxin A/ml mit Hilfe der Hochleistungsflüssigkeitschromatographie nachweisen.

BAUER und GEDEK (1992) machten in einem Fütterungsversuch an einer tragenden Sau deutlich, daß Ochratoxin A sowohl im Muttertier, als auch in den Feten vorhanden war. Ihre Auswertung stimmte mit den Ochratoxin A-Blut-Gehalten von GRÜNKEMEIER (1990) überein. In beiden Arbeiten wird der Ochratoxin A-Gehalt im Blut mit etwa einem Drittel der Futtermittelkonzentration angegeben.

Im Gegensatz dazu steht die Aussage von KÜHN (1993), die in einem Fütterungsversuch 60% der Ochratoxin A-Menge im Serum von Schweinen ermittelte. Des weiteren geben einige Autoren die Eliminationshalbwertszeit für Ochratoxin A mit 97,1 Stunden an, was sich auch mit anderen Literaturstellen deckt (HAGELBERG et al., 1989; KÜHN, 1993).

Konträr dazu steht die Studie von HULT et al. (1979), in der von einer 1,5-fach höheren Ochratoxin A-Konzentration im Blut gegenüber dem Futtermittel gesprochen wird.

BAUER und GAREIS (1992) stellten bei einem Fütterungsversuch an tragenden Sauen fest, daß nach 11 Tagen eine Steady-state-Konzentration im Blut erreicht wurde. Diese entsprach einem Drittel der Toxinkonzentration im Futtermittel.

BAUER und GEDEK (1992) vermuteten, daß die unterschiedlichen Konzentrationsangaben infolge der differenten Verabreichungsformen des Toxins zustande kommen.

Aufgrund der Verteilung in den verschiedenen Organen sowie der langen Halbwertszeit, ist Ochratoxin A im Blut sowie in den Organen, als auch direkt über das Futtermittel, nachweisbar.

Generell kann davon ausgegangen werden, daß sich Ochratoxin A in einer Schweineherde homogen verteilt und somit eine einzelne Blutprobe den Status der Herde bzw. des Futters reflektiert (TAKEDA et al., 1991).

Über einen Fütterungsversuch demonstrierten KROGH et al. (1976), daß Ochratoxin A zwei Wochen nach Absetzen des Toxins weder in der Muskulatur noch im Fettgewebe, drei Wochen später nicht mehr in der Leber und nach vier Wochen nicht mehr in den Nieren nachweisbar war.

KIPPER et al. (1991) zeigten in ihrer Studie die Schwierigkeiten, unter Praxisbedingungen den "Carry-over-Effekt" von Ochratoxin A nachzuweisen. In ihrer Arbeit wurden Futtermittel, Blutseren, Nieren, Gewürze und Fleischerzeugnisse, die miteinander im Zusammenhang standen, untersucht und lediglich eine tendenzielle Verknüpfung zwischen belasteten Futtermitteln und tierischem Material festgestellt.

Ochratoxin A gelangt über die Futtermittel in den tierischen Organismus und ist somit auch in Lebensmitteln anzutreffen.

Infolge der unterschiedlichen Verteilung von Ochratoxin A in Lebensmitteln gibt es sehr differente Angaben über die Häufigkeit des Vorkommens.

BAUMANN und ZIMMERLI (1988) ermittelten in nahezu allen Weizenruchmehlen geringe Ochratoxin A-Werte. In Hartweizengriess sowie in Teigwaren wurden höhere Werte festgestellt, und in 27 % aller tierischen Lebensmittel (Brühwürste und Nieren) konnten ebenfalls niedrige Ochratoxin A-Werte aufgezeigt werden. Währenddessen fanden SHOTWELL et al. (1980) in keiner ihrer 1975 und 1976 untersuchten Getreideproben Ochratoxin A.

Um die Belastung mit Ochratoxin A beim Schwein besser zu erfassen, werden in Dänemark seit 1982 alle Schlachttiere mit veränderten Nieren auf Ochratoxin A untersucht. Überschreitet der Wert 25 g/kg, wird der Tierkörper verworfen. 1983 wurden auf diesem Wege 7.639 Nieren untersucht, 3 % waren mit mehr als 150 g/kg und 29 % mit mehr als 25 g/kg Ochratoxin A kontaminiert (BÜCHMANN und HULT, 1985). In den Jahren 1980 bis 1984 lagen die Werte allerdings niedriger. Die Untersuchung erfolgte mittels Dünnschichtchromatographie.

TESCH (1992) machte in einem Fütterungsversuch deutlich, daß bei einer Futterkontamination von 0,15 mg bzw. 0,58 mg Ochratoxin A/kg zwar kein Einfluß auf die Tiergesundheit festgestellt werden konnte, allerdings ergaben die rückstandstoxikologischen Untersuchungen bei 0,58 mg Ochratoxin A/kg Futter sowohl in den Blutproben, als auch in den Nieren und Lebern Werte, die nicht ohne weiteres toleriert werden können und somit Folgeuntersuchungen im Hinblick auf die Wurstverarbeitung zu empfehlen wären.

2.2.4 Transformation und Ausscheidung von Ochratoxin A

Ochratoxin A wird mit der Nahrung aufgenommen und gelangt somit in den Gastrointestinaltrakt. Unterschiedliche Angaben gibt es, in welchem Abschnitt die Resorption stattfindet.

GALTIER (1978) konnte nach Fütterung bei Ratten die höchste Ochratoxin A-Konzentration in der Magenschleimhaut nachweisen, während KUMAGAI und AIBARA (1982) nach Injektionen in die verschiedenen Darmabschnitte die höchste Absorptionsrate im Dünndarm nachwiesen.

Bei Wiederkäuern konnte gezeigt werden, daß im Pansen ein mikrobieller Abbau in Ochratoxin und Phenylalanin stattfindet (XIAO et al., 1991 a, b).

Die Resorptionsraten von Ochratoxin A werden mit 65,7 % beim Schwein, 55,6 % beim Kaninchen und 40,0 % beim Huhn angegeben. Danach wird Ochratoxin A im Blut an Serumalbumine gebunden und über den gesamten Organismus verteilt (GALTIER et al., 1981).

In der Leber wird Ochratoxin A zu Ochratoxin und Phenylalanin hydrolysiert. Eine Elimination findet sowohl renal, als auch intestinal statt (KÜHN et al., 1992).

Bei den Untersuchungen der Exkrete verschiedener Monogastrier konnten außer Ochratoxin A und Ochratoxin noch weitere Hydroxy- bzw. Abbauprodukte nachgewiesen werden (ELLING et al., 1985).

2.3 Zearalenon

2.3.1 Vorkommen von Zearalenon

Seinen Namen erhielt Zearalenon von URRY et al. (1966), als diese 1966 die Strukturformel aufklärten. Zuvor war dieser östrogenwirksame Stoff von STOB et al. (1962) als F-2 Toxin benannt worden.

Produziert werden die weltweit vorkommenden Zearalenone von verschiedenen Fusarien, hauptsächlich *Fusarium roseum*, *Fusarium graminearum* und *Fusarium roseum-graminearum* sowie der perfekten Form *Gibberella zae* (GEDEK, 1980 a).

Eine Studie von ŠKRINJAR et al. (1995) zeigte, daß insgesamt 11 verschiedene Fusarien Spezies regelmäßig auf Getreide in Jugoslawien angetroffen werden konnten. 35 von insgesamt 275 untersuchten Futtermitteln wiesen Zearalenon auf. Allerdings waren nur in 11 Proben Zearalenon produzierende Pilze und Zearalenon gleichzeitig nachzuweisen. Generell ist die Frequenz, mit der Fusarien auf Getreide zu finden sind, sowohl regional, als auch saisonalitäts abhängig (NIJS et al., 1996).

Zearalenon besitzt mehrere natürlich vorkommende Derivate. ENDERS (1984) hat in ihrer Arbeit eine Tabelle über insgesamt 17 Zearalenon-Derivate zusammengestellt.

Des weiteren existieren über 100 künstlich hergestellte Zearalenone, die teilweise auch pharmakologisch genutzt werden (SHIPCHANDLER,

1975).

Zeranol (= -Zearalenol, Ralgro(r)) sowie ein Kombinationspräparat (Forplix(r)) wurden bei Rindern, Schweinen und Schafen als Wachstumsförderer eingesetzt, sind allerdings in Deutschland seit 1989 verboten (HIDY et al., 1977; BORIES et al., 1992; KERCHER und JONES, 1992). In den USA und Neuseeland wird Zeranol noch als Wachstumsförderer eingesetzt (MILES et al., 1996).

Alle Derivate weisen unterschiedliche Summenformeln, Molekulargewichte und Aktivitäten auf. So ist Zearalenol, ebenfalls ein Derivat, 3-4-mal so aktiv wie Zearalenon. Aber auch die cis- und trans-Isomere von Zearalenon zeigten im Rattenversuch signifikante Differenzen. Cis-Zearalenon ist deutlich potenter als trans-Zearalenon (MIROCHA et al., 1978 und 1979).

TRENHOLM et al. (1984) untersuchten Futtermittel sowohl auf Zearalenon, als auch auf - und -Zearalenol. Da diese Derivate synergistische Effekte ausüben, ist es möglich, daß Fortpflanzungsprobleme schon bei einem wesentlich geringeren Zearalenongehalt auftreten und eine Interpretation alleinig dieses Wertes fehlerhaft wäre.

Alle Fusarien können sowohl auf der Pflanze, als auch später bei der Lagerung ihre Toxine bilden. Ob und in welcher Menge die Pilzgifte produziert werden, hängt von verschiedenen Umweltfaktoren, wie Temperatur und Luft- bzw. Substratfeuchte, ab (ENARI et al., 1981).

JIMENÉZ et al. (1996) konnten für *Fusarium graminearum* die höchste Zearalenonproduktion bei einem a_w -Wert von 0,97 und einer Temperatur von anfänglich 28°C, gefolgt von 12°C, feststellen. MIROCHA et al. (1967) wiesen ebenfalls auf den positiven Effekt eines Temperaturabfalls hin.

Eine Übersicht der unterschiedlichen Einflußfaktoren stellte GOLLUB (1987) in ihrer Arbeit zusammen.

Ein Futtermittel auf sein Pilzwachstum zu untersuchen, kann einen Hinweis auf das mögliche Vorkommen von Toxinen geben, ist aber nicht ausschlaggebend für die Kontamination mit Pilzgiften. SCHUH und AWAD-MASALMEH (1992) konnten dokumentieren, daß der Pilznachweis einer Probe nicht mit dem Mykotoxingehalt korreliert.

Generell stellen die Schimmelpilzgifte sowohl für die Landwirtschaft, als auch für die Lebensmittelproduktion ein ökonomisches Problem dar.

Ebenso wie für Ochratoxin A gibt es auch für Zearalenon Bestrebungen, die Gehalte durch geeignete Verfahren zu dezimieren.

Für Zearalenon ergab die Behandlung mit H₂O₂, Methylamin, Ca(OH)₂ und "Gasol" (ein Konservierungsstoff) eine Reduktion (MÜLLER, 1983). Allerdings stellten diese Verfahren noch Schwierigkeiten in der Umsetzung für die Praxis dar.

Ein Modell zur Neutralisation von Zearalenon bei Schweinen und Nerzen wurde von YANG et al. (1995) vorgestellt. Sie fütterten den Tieren zusätzlich einen Östrogenantagonisten (Tamoxifen), konnten allerdings keine Verbesserung gegenüber den östrogenen Effekten feststellen.

Da das Vorkommen von Zearalenon klimaabhängig ist, gibt es unterschiedliche Angaben über die Häufigkeit der Befunde.

So fanden SHOTWELL et al. (1980) in amerikanischem Getreide von 1975 und 1976 durchschnittlich 28 % positive Proben.

RICHTER und SCHUSTER (1995) gaben in einer Studie aus Bayern von 1989 bis 1993 als geringsten Wert 2,2 % (1992) der jährlichen Futtergetreide als Zearalenon positiv an. 1993 wiesen die Getreide eine durchschnittliche Zearalenonrate von 31,3 % auf.

MARX et al. (1995) konnten in knapp 20 % der Getreide Zearalenon nachweisen. Die mit Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) ermittelten Durchschnittswerte lagen bei konventionell angebautem Weizen bei 6 fg/kg, bei ökologisch angebautem bei 24 fg/kg. Im Roggen lagen die Werte bei 4 bzw. 51 fg/kg.

SCHWEIGHARDT et al. (1980 b) fanden in Österreich 1979 sogar 47 % der Maisproben mit Zearalenon kontaminiert.

DROCHNER (1989) gibt in einer Tabelle eine Übersicht über das Vorkommen von Zearalenon in verschiedenen Futtermitteln. Daraus geht hervor, daß zwischen 9 und 17 % der untersuchten Futtermittel Zearalenonkontaminationen aufwiesen, wobei Mais eine der hauptsächlichen Quellen darstellte.

KRAUSE (1985) zeigte in seinen Untersuchungen, daß die Lagermenge und Lagerzeit des Futtermittels keinen Einfluß auf die Toxinbelastung hatte. Allerdings konnten auch hier einzelne Futterkomponenten (Hafer und Maniok) mit starker Zearalenonkontamination ermittelt werden.

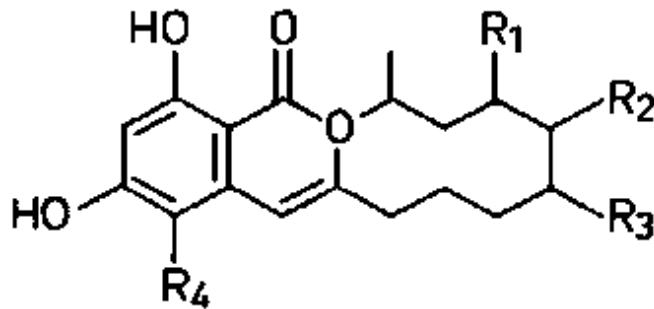
MODI und MÜLLER (1992) untersuchten Weizenkleie und fanden in 78 % der Proben Zearalenon. 100 % der Kleie war zusätzlich mit Deoxynivalenol kontaminiert und 17,1 % mit Ochratoxin A. Dieses Ergebnis spricht für eine gewisse Indikatorrolle von Zearalenon und Ochratoxin A.

2.3.2 Eigenschaften von Zearalenon

Beim Zearalenon handelt es sich um ein Resorcylsäurelactonderivat mit der Summenformel C₁₈H₂₂O₅ und einem Molekulargewicht von 318 (siehe Abb.2). Diese weiße, kristalline Substanz fluoresziert unter UV-Licht blaugrün. Die Maxima liegen bei 236, 274 und 316 nm.

Zearalenon ist in Alkoholen und alkalischen Lösungen gut löslich, in Wasser unlöslich (URRY et al., 1966; MIROCHA et al., 1977).

Abbildung 2: Chemische Struktur von Zearalenon und Zearalenol



	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Zearalenon	H ₂	H ₂	=O	H
Zearalenol	H ₂	H ₂	OH	H

Das Zearalenon-Syndrom wird in der Literatur teilweise unter anderen Bezeichnungen geschildert, so z.B. Hyperöstrogenismus, Östrogenismus, Vulvovaginitis, Vulva-Ödem, Östrogen-Syndrom, Pseudobrunst oder F-2 Toxicosis (GEDEK, 1980 a; PALYUSIK, 1977 b).

Die Wirkung des Zearalenons auf den tierischen Organismus ist der des Östrogens vergleichbar, und obwohl Zearalenon keine steroidale Struktur besitzt, kommt es zur Bindung an die Östrogenrezeptoren (GREENMAN et al., 1979) und damit zur erhöhten DNS-, RNS- und Protein-Produktion in den Zellen der Geschlechtsorgane (UENO et al., 1977; KATZENELLENBOGEN et al., 1979).

Am empfindlichsten gegenüber Zearalenon zeigt sich das Schwein, aber auch beim Geflügel, beim Pferd oder bei Labortieren konnte durch Zearalenon ein Hyperöstrogenismus ausgelöst werden (PALYUSIK, 1977 b).

Versuche an ovariectomierten Ratten zeigten einen signifikanten Anstieg der Gebärmuttergewichte nach Verfütterung von 200 µg Zearalenon pro Tag sowie leichte Erhöhung der Glukogen- und signifikante Erhöhung der Insulinwerte (NOGOWSKI, 1996).

Inwieweit Zearalenon auch immunsuppressiv wirkt, ist noch nicht geklärt. MARIN et al. (1996) untersuchten die Effekte von Zearalenon und -Zearalenol auf die Zytokinproduktion in EL-4 Thymoma Zellen. Bei beiden Toxinen konnte ein signifikanter Anstieg der Interleukin 2 und 5 Produktion festgestellt werden.

SCHMIDT und HORZINEK (1993) beschrieben die Wirkung des Zearalenons als östrogen-induktiv. Sie gaben an, daß Zearalenon zu Vergrößerungen der Genitalorgane und der Zitzen, Feminisierung bei männlichen Tieren, Ovarienatrophie und sogar Tumorbildung an den Geschlechtsorganen führen kann. Darüber hinaus sprachen sie Zearalenon zytotoxische, mutagene, teratogene und karzinogene Einflüsse zu.

BARNIKOL et al. (1981) zeigten anhand eines Fallbeispiels die Symptome einer Zearalenonintoxikation bei Ferkeln. Sie berichteten von zwei Fällen, in denen Sauen Zearalenon kontaminiertes Futter erhielten. Die Ferkel zeigten Ausfluß aus auffallend geröteten Vulven und Durchfall sowie Ödematisierung der Vulva, Vaginal- und Analschleimhaut. In einem Fall verendeten sogar einige Ferkel bzw. die Sau.

Einen ähnlichen Fallbericht lieferte ATHENSTÄDT (1989), in dem er von lebensschwach geborenen Ferkeln und Todesfällen in den ersten Lebenstagen berichtet. Die pathologisch-anatomische Untersuchung dieser Tiere ergab eine toxische Leberdystrophie mit Ikterus. Die Sauen zeigten Vulvaschwellung und -rötung, die eine Rausche vortäuschten. Bei der Futtermitteluntersuchung wurde sowohl Zearalenon, als auch Vomitoxin nachgewiesen.

Daß die Genitalorgane den Angriffspunkt für Zearalenon darstellen, zeigten Versuche mit -Zearalenol an tragenden Mäusen. Nach subkutaner Injektion von 150 mg/kg Körpergewicht wurden signifikant weniger lebende Junge gegenüber der Kontrollgruppe geboren, die Anzahl an

männlichen Nachkommen fiel ebenfalls geringer aus (PEREZ-MARTINEZ et al., 1995).

Zearalenon kommt neben seiner eigenen toxischen Wirkung auch eine auf ein multitoxisches Geschehen hinweisende Indikatorrolle zu (EWALD et al., 1991). So können bei längerfristiger Aufnahme von 20-50 ppb Zearalenon vor allem in der Ferkelproduktion deutliche Probleme entstehen.

In einer Fallstudie beschrieb EWALD (1985) das gehäufte Vorkommen von Aborten in einem Sauenbetrieb. Durch diagnostische Maßnahmen konnte ein infektiöses Geschehen ausgeschlossen werden. Allerdings erwies sich in dieser Studie der Nachweis des Mykotoxins Zearalenon als schwierig, denn es konnte weder in einer Futterprobe noch im Blutserum ermittelt werden. Lediglich die Zearalenonmetaboliten - und - Zearalenol waren im Serum nachweisbar.

Symptome einer Zearalenonintoxikation zeigten die Ferkel einiger Sauen nach Aufnahme zearalenonhaltigem Futters (3-23,4 ppm) in Italien. Nur die Ferkel wiesen Rötungen, Schwellungen und Ödeme der Vulven, Beinspreizen sowie Schwanznekrosen auf. Bei den Sauen dieser Ferkel und dem Eber des Stalles konnten keinerlei klinische Veränderungen beobachtet werden (DACASTO et al., 1995).

BAUER (1987) unternahm einen Fütterungsversuch praxisrelevanter Zearalenonmengen an Sauen und konnte feststellen, daß schon Konzentrationen von 250 g/kg Futter zu deutlichen Veränderungen am Genitaltrakt der Sauen führten. Sogar bei einer Zearalenonbelastung von 50 g/kg im Futter konnten nach dreiwöchiger Verabreichung noch geringgradige Rötung und Schwellung der Vulva festgestellt werden.

Allerdings wiesen sie darauf hin, daß bei den mykotoxikologischen Analysen Zearalenon ausschließlich im Kot nachgewiesen werden konnte. Des Weiteren machten sie in ihrem Artikel darauf aufmerksam, daß die bislang als "Grenzwert" angegebene Zearalenonkonzentration von 1000 g/kg (KURTZ et al., 1969) um ein vierfaches über den hier ermittelten Werten lag.

Wieweit sich Zearalenon auch auf den männlichen Genitaltrakt auswirkt, ist unklar. Zwar konnten bei Ebern nach der 7-wöchigen Aufnahme von 1 mg/kg vermehrt Spermaanomalien festgestellt werden, allerdings schienen diese keine wesentlichen Störungen des Befruchtungsvermögens nach sich zu ziehen (STOLLA et al., 1987).

Dies wurde auch von MILANO et al. (1995) bei einem Versuch mit Ratten bestätigt. Die Tiere bekamen 20 mg Zearalenon/kg Körpergewicht über 5 Wochen. Danach wurde ihr Hoden- und Körpergewicht, einige Hormone sowie ihre Spermien überprüft. Lediglich die Prolaktin-Konzentration im Serum war signifikant angestiegen.

Hingegen konnte bei Ebern mit einer Dosis von 9 mg Zearalenon/kg Futter über längere Zeit ihre Hodenentwicklung sowie die Spermaqualität negativ beeinflusst werden (YOUNG und KING, 1983).

LUSKY et al. (1997) berichteten von einem 90-Tage-Test an Sauen, denen eine Kombination von Ochratoxin A (0,1 ppm/kg Futter) und Zearalenon (0,25 ppm/kg Futter) verabreicht wurde. Die Autoren gingen davon aus, daß Fruchtbarkeitsstörungen durch Zearalenon auch bei dieser geringen Dosierung möglich sind, da Veränderungen an den Ovarien (Target-Organ) auftraten.

2.3.3 Nachweis von Zearalenon

Der Nachweis von Zearalenon gestaltet sich teilweise schwierig, was auch die beiden Dissertationen von GOLLUB (1987) und HORNDASCH (1991) zeigten. So gibt HORNDASCH (1991) an, daß zwar Zearalenon im Futtermittel nachweisbar war, nicht aber im Serum oder Kot von Schweinen. Als Ursachen für diese Differenzen wurde zum einen die hohe Nachweisgrenze der Dünnschichtchromatographie, zum anderen auch die mögliche Bildung von Zearalenon-Glykosiden (KAMIMURA, 1986; MANGER, 1986) herangezogen.

MILES et al. (1996) unternahm Versuche über den Metabolismus von Zearalenon bei Schafen. Nach oraler und intravenöser Verabreichung von markiertem Zearalenon war im Urin der Tiere nur markiertes - und - Zearalenol sowie deren Gukuronide nachweisbar. Zearalenon konnte im Urin nicht ermittelt werden.

ENDERS (1984) beschreibt in seiner Arbeit den Nachweis von Zearalenon mittels HPLC aus Mais-, Serum-, Harn-, Kot-, Organ- und Muskelproben. Die Nachweisgrenze für Zearalenon wird mit 1 g/kg Mais und deren Wiederfindungsrate mit 89,3 % angegeben. Im Serum wurde eine Nachweisgrenze von 1 ng/g und eine Wiederfindungsrate von 56,3 % ermittelt. Allerdings handelt es sich hierbei jeweils um artifiziell kontaminiertes Material.

BAGNERIS et al. (1986) stellten fest, daß bei der Flüssigchromatographie durchaus Wiederfindungsraten von 82 bis 97 % erzielt werden können, diese aber auf Werte von 52 bis 62 % sanken, sobald mehr als 10 % Schimmelpilze vorhanden waren. Nach Modifikation dieser Methode konnte eine Wiederfindungsrate für Zearalenon von durchschnittlich 84 % ermittelt werden.

SCHWEIGHARDT und LEIBETSEDER (1981) konnten mittels HPLC eine Nachweisgrenze von 1 ppb Zearalenon und einer Wiederfindungsrate von 80 % bei Futtermitteln erreichen. Bei ihren Untersuchungen an Mais stellten sie 47 % kontaminierte Proben fest.

Da Mais häufig Kontaminationen mit Zearalenon aufweist, wurde bei Kühen die Rückstandsbildung überprüft. Hierbei stellte sich heraus, daß bei einer Toxinmenge von 20-50 g/kg Maissilage weder im Blutplasma noch im Gemelk Zearalenon gefunden wurde (GOLL et al., 1995).

2.3.4 Transformation und Ausscheidung von Zearalenon

Zearalenon und seine Derivate werden genau wie Ochratoxin A oral mit dem Futter aufgenommen. Seine Resorption erfolgt sehr schnell, da schon binnen Minuten Zearalenon im Blut von Schweinen nachweisbar ist (FARNWORTH und TRENHOLM, 1981).

In der Leber wird Zearalenon teilweise zu - und - Zearalenol metabolisiert. Zearalenon ist allerdings auch in anderen Organen, wie den Nieren und der Skelettmuskulatur nachweisbar (ENDERS, 1984). Die Ausscheidung erfolgt sowohl über Harn und Kot, als auch über die Milch.

MILLER et al. (1973) konnten nach i.m. Injektion von Zearalenon dieses in der Sauenmilch nachweisen. Ausgeschieden werden Zearalenon und seine Derivate in freier, glucuronidierter oder an Sulfat konjugierter Form (GEDEK, 1985 b).

In einem Fütterungsversuch konnte GOLLUB (1987) nachweisen, daß Zearalenon je nach Gewicht der Schweine zwischen einem und sieben Tagen nach Beginn der Verabreichung über die Faeces ausgeschieden wurde. Nach dem Absetzen der zearalenonhaltigen Fütterung war das Toxin noch durchschnittlich fünf bis sieben Tage im Kot nachweisbar.

Bei einer Untersuchung an Gallenflüssigkeit von 52 Jungsauen mit Fertilitätsstörungen auf den Gehalt an Zearalenon und -Zearalenol konnte in allen Gallen das Toxin nachgewiesen werden. Aufgrund des enterohepatischen Kreislaufes ist die höchste Konzentration von Zearalenon-Metaboliten in der Galle zu erwarten (MEYER et al., 1997).

2.4 Toxinnachweise beim Menschen

Bei all diesen Ergebnissen sollte allerdings immer das letzte Glied in der Nahrungskette, nämlich der Mensch, nicht außer Acht gelassen werden, denn solange Ochratoxin A-kontaminierte Fleischprodukte über einen genügend langen Zeitraum konsumiert werden, sind gesundheitliche Schäden beim Menschen nicht auszuschließen (FUKAL, 1991).

KÖFER et al. (1991) forderten eine häufigere Überprüfung der Blut-, Organ-, Fleisch-, Fleischerzeugnis- und Futtermittelproben aus Schweinebetrieben bzw. Schlachthöfen, um einerseits Kontaminationsquellen für den Konsumenten auszuschließen, und andererseits eine entsprechende Lebensmittelqualität garantieren zu können.

So kommt Ochratoxin A für die Entstehung der sogenannten "endemic balkan nephropathy" große Bedeutung zu (KROGH et al., 1977 sowie KROGH, 1992).

HULT et al. (1982) fanden in humanen Blutseren aus Jugoslawien zwischen 1 und 57 ng/ml Ochratoxin A. Insgesamt zeigten sich 6,6 % der Proben als positiv.

Aber auch SCHEUER (1989) spricht dieses Problem in seiner Arbeit an, in der er darauf hinweist, daß 45 % der untersuchten Humanblutproben in Deutschland Ochratoxin A positiv waren.

BAUER et al. (1986) analysierten 306 Humansenen und konnten insgesamt 56,5 % mit Ochratoxin A-Kontamination ermitteln. Die in Deutschland genommenen Proben wiesen ein Maximum von 14,4 g/l und eine durchschnittliche Konzentration von 0,6 g/l auf.

HADLOK et al. (1989) konnten in einer Studie sogar in 66 % der Blutproben eine Ochratoxin A-Kontamination nachweisen. In den insgesamt 207 Seren wurde 0,1-8,4 ng/ml Ochratoxin A gefunden.

Zwar ist davon auszugehen, daß es beim Menschen zu keiner akuten Vergiftung kommt, aber eine Rolle könnte die chronische Belastung spielen (SCHEUER und LEISTNER, 1986 b).

Sogar in menschlicher Muttermilch konnte mittels HPLC in 4 von 36 Proben (11,1 %) Ochratoxin A identifiziert werden (GAREIS et al., 1988). Eine ähnliche Studie in Italien wies 22 von 111 Muttermilchproben (19,8 %) mit Ochratoxin A-Belastung aus (MICCO et al., 1995).

SCHLATTER et al. (1995) beschrieben, daß ein Freiwilliger markiertes Ochratoxin A zu sich genommen hat, und sie somit die Halbwertszeit beim Menschen mit 35 Tagen errechneten.

Bei Fleischerzeugnissen konnten die höchsten Ochratoxin A- Konzentrationen in Blut- und Brühwürsten, denen Blutplasma zugesetzt wurde, nachgewiesen werden. Das untersuchte Blutplasma enthielt das fünfzehnfache der Ochratoxin A-Menge der Nieren. Allerdings waren sämtliche Trockenblutplasmen toxinfrei (SCHEUER und LEISTNER, 1985 a und b).

Aufgrund dieser Ergebnisse forderten BAUER und GAREIS (1987) ein Monitoring-Konzept und eine Höchstmengenbegrenzung, da 56,6 % der Blutseren beim Menschen Ochratoxin A positiv waren. Bei einer Untersuchung über die durchschnittliche Belastung des Menschen in Frankreich wurde festgestellt, daß Patienten mit chronisch interstitieller Nephropathie oder anderen Nierenerkrankungen signifikant häufiger Ochratoxin A im Blut und Urin aufwiesen, als gesunde Probanden (CREPPY et al., 1995).

Einen Überblick über die in den letzten Jahren erhobenen humanen Blutuntersuchungen stellten HADLOK und WAGNER (1993) in ihrer Arbeit zusammen.

Aus den bisher bekannten Daten errechnete FRANK (1991) bei einem "statistischen" Verbraucher eine tägliche Ochratoxin A-Aufnahme von 1 ng/kg Körpergewicht. Bei Kindern und Heranwachsenden mit täglichem Konsum von Maisprodukten (z.B. Cornflakes) kommt noch eine zusätzliche Belastung von 154 ng pro Tag dazu.

FINK-GREMMELS (1986) gab in ihrem Bericht eine Übersicht über die Toxizität von Ochratoxin A und machte deutlich, daß eine Überschreitung des tierexperimentell ermittelten no-effect levels sowohl bei tierischen, als auch bei pflanzlichen Lebensmitteln häufig der Fall war.

Eine Gesundheitsgefährdung des Menschen durch Zearalenon kann ebenfalls gegeben sein. GEDEK (1980 a) nennt Thromboembolien, teratogene Effekte an Embryonen, Leberhepatome und die Beeinflussung der Konzeption als mögliche Krankheitserscheinungen.

Genauere Angaben über akute oder chronische Intoxikationen beim Menschen sind bisher nicht bekannt. Daraufhin fordern mehrere Autoren (RENZ und TERPLAN, 1995; BAUER et al., 1987), daß weitere Daten bezüglich einer möglichen Gefährdung des Menschen durch ein "carry-over" von Zearalenon in Nahrungsmitteln erbracht werden sollten.

2.5 Nachweisverfahren

In diesen Kapiteln soll ein kurzer Überblick der verschiedenen Nachweismethoden, ihre Durchführbarkeit und Grenzen aufgezeigt werden. Man unterscheidet physikalisch-chemische, immunologische und biologische Untersuchungsverfahren voneinander.

2.5.1 Physikalisch-chemische Untersuchungsmethoden

Bei diesen verschiedenen Analysenverfahren erfolgt zuerst eine Aufbereitung bzw. Reinigung der Probenextrakte mit einer anschließenden Trennung der Toxine, bei denen man sich die unterschiedlichen physikalischen oder chemischen Eigenschaften der einzelnen Toxine zunutze macht. Die Identifizierung der Gifte erfolgt mittels spezieller Detektoren (BAUER und GAREIS, 1989).

Diese sogenannten Chromatographien unterscheiden sich je nach verwendetem Lösungsmittel in Flüssig- bzw. Gaschromatographie.

2.5.1.1 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)

Exakt bedeutet die Abkürzung HPLC: High Performance Liquid Chromatography, ein, wie der Name schon sagt, präzises Analysenverfahren.

Die zu untersuchende Substanz wird in ein Lösungsmittelgemisch (mobile Phase) verbracht und mit diesem durch eine mit Trägermaterial gefüllte Säule (stationäre Phase) transportiert.

Innerhalb der Säule erfolgt je nach Druck, mobiler und fester Phase, eine Auftrennung der einzelnen Komponenten. Mittels Detektoren (z.B. Fluoreszenz oder UV-Licht) werden die Substanzen anhand ihrer spezifischen Retentionszeiten analysiert. Die aufgezeichnete Höhe bzw. Fläche ist der Konzentration der Probe proportional (UNGER, 1989 und 1994).

Eine Untersuchung von Mehl und Bäckereiprodukten ergab für die unterschiedlichen Materialien auch verschiedene Nachweisgrenzen und Wiederfindungsraten.

So wurde die Wiederfindung für Ochratoxin A in Mehl mit durchschnittlich 40 % mit einer Nachweisgrenze von 0,5 ppb angegeben. Bei "Lincoln biscuits" lag die Wiederfindungsrate allerdings nur noch bei 14 % und die Nachweisgrenze bei 1 ppb (OSBORNE; 1979).

Die Wiederfindungsrate von Ochratoxin A in Schweineblut und -seren gaben UNGLAUB und HOLL (1990) für die HPLC mit 80-90 % und die Nachweisgrenze mit 0,1 g/l an. In ihrer Untersuchung erhielten sie insgesamt 30,9 % positive Proben.

TANAKA et al. (1985) ermittelten ein HPLC-Untersuchungsverfahren für Zearalenon in Getreide. Sie gaben die höchste Fluoreszenz bei einer Emissionswellenlänge von 460 nm und einer Exzitationswellenlänge von 276 nm an. Die Wiederfindungsrate lag zwischen 79 und 103 %, bei einer Nachweisgrenze von 1 ng Zearalenon/g Getreide. Bei ihren Analysen konnten sie in allen 18 Proben aus Japan und in 75 % aller Proben aus Korea Zearalenon nachweisen.

LANGSETH et al. (1989) gaben ein Untersuchungsverfahren für Zearalenon und Ochratoxin A für HPLC an. Sie beschrieben, daß es Schwierigkeiten mit der Wiederfindungsrate gab, aber nach Änderungen der Methode bei Mischfutter auf einen Mittelwert von 77 % zu kommen sei.

VALENTA und GOLL (1995) untersuchten Milch- und Plasmaproben auf Zearalenon. Die Wiederfindungsrate im Plasma lag bei 91 %, ihre Nachweisgrenze bei 0,8 ng/ml. Die Nachweisgrenze konnte gaschromatographisch und über die Massenspektrometrie bestätigt werden.

2.5.1.2 Dünnschichtchromatographie (DC)

Für eine günstige und schnelle Routinediagnostik eignet sich immer noch die Dünnschichtchromatographie (GOLINSKI et al., 1984). Bei der Darstellung werden die Extrakte auf eine mit Kieselgel beschichtete Glasplatte aufgetragen und mittels Fließmittel aufgetrennt. Anschließend werden die Toxine durch ihre fluoreszierenden Eigenschaften unter UV-Licht identifiziert.

Dieses Verfahren ist nur semiquantitativ, da die einzelnen Toxine mit dem Toxingehalt einer definierten Standardlösung verglichen werden. Allerdings besitzt diese Methode den Vorteil, daß mehrere Toxine in einem Arbeitsgang identifiziert werden können (Multi-screening Tests, DUTTON und KINSEY, 1995).

Zur visuellen Identifizierung von Zearalenon müssen zusätzlich noch Sprühreagentien auf die Probenextrakte aufgebracht werden.

Ähnliche Verfahren kommen auch bei Ochratoxin A zur Anwendung, um die Fluoreszenz zu intensivieren (NESHEIM et al., 1973; GERTZ und BÖSCHMEYER, 1980).

Diese von NESHEIM et al. (1973) entwickelte Methode wird noch immer von der Association of Official Analytical Chemists (AOAC, LARSSON und MÖLLER, 1996) sowie der International Union Of Pure And Applied Chemistry (IUPAC, 1976) empfohlen.

Hierbei geben die Autoren die Wiederfindungsrate von Ochratoxin A bei Gerste mit 81 % und die Nachweisgrenze mit 12 g/kg an. Allerdings wiesen SYDENHAM et al. (1988) in einer Veröffentlichung darauf hin, daß Zearalenon bei einem Hirse-Mischfutter fälschlich nicht erkannt wurde, da es mit Alternariol Monomethyl Ether (AME), einem anderen Mykotoxin, bei der Dünnschichtchromatographie verwechselt werden kann. Aufgrund dessen raten die Autoren zu weiteren Untersuchungen z.B. mit der HPLC.

2.5.1.3 Gaschromatographie (GC)

Für die Gaschromatographie wird, ähnlich der HPLC, eine chromatographische Säule benutzt. Allerdings dient ein Gas als Träger für die Untersuchungssubstanzen. Vor der eigentlichen Untersuchung, nach der Reinigung der Extrakte, erfolgt für fast alle Stoffe eine Derivatisierung. Danach werden die Proben über bestimmte Temperaturprogramme in ihren gasförmigen Zustand überführt und mittels Detektoren analysiert.

MIROCHA et al. (1974) konnten eine Nachweisgrenze von weniger als 50 ppb Zearalenon für die GC ermitteln. Interferenzen mit anderen Substanzen wurden mit Hilfe eines Massenspektrometers und der selektierten Analyse von nur wenigen Ionen ausgeschlossen. Bei der Analyse des multiplen Ionendetektors konnte sogar noch 10 ng Zearalenon nachgewiesen werden.

SHOTWELL et al. (1980) beschrieben, daß sie bei einer Nachweisgrenze von 100-200 ng/g (= ppb) in den USA 28 % Zearalenon positive Futterproben vorgefunden haben.

2.5.2 Immunologische Untersuchungsmethoden

Zu den wichtigsten immunologischen Untersuchungsverfahren gehören der Enzyme-linked-Immunosorbent-Assay (ELISA) sowie der Radioimmunoassay (RIA).

2.5.2.1 Enzyme-linked-Immunosorbent-Assay (ELISA)

Bei diesem enzymimmunologischen Verfahren wird nach Herstellung eines Antiserums gegen enzymgekoppeltes Ochratoxin A, dieses mit Hilfe von Mikrotiterplatten analysiert.

Zwar können Kreuzreaktionen nicht vollständig ausgeschlossen werden, jedoch eignet sich dieses Verfahren nach GAREIS et al. (1988) zur Bestätigung physikalisch-chemischer Verfahren.

MÄRTELBAUER und TERPLAN (1988) veröffentlichten für Ochratoxin A ein Extraktionsverfahren für HPLC und ELISA, mit dessen Hilfe beide Methoden miteinander vergleichbar sind. Sie ermittelten im ELISA eine Nachweisgrenze von unter 0,5 ppb Ochratoxin A im Serum von Schweinen und zeigten für beide Analysenmethoden eine gute Korrelation. Die Autoren sprachen sich für die ELISA wegen der Kostengünstigkeit und schnellen Durchführbarkeit größerer Stückzahlen aus.

MORGAN et al. (1983) stellten einen indirekten ELISA zur Untersuchung von Ochratoxin A in Gerste vor und bestätigten auch hier die niedrige Nachweisgrenze (60 ng/kg). Später wurde das Verfahren auch für Schweinenieren beschrieben (MORGAN et al., 1986).

Beim direkten ELISA konnte von einer Nachweisgrenze von 1-2 ppb Ochratoxin A und einer Wiederfindungsrate von 85-90 % ausgegangen werden (LEE und CHU, 1984).

Aber auch der Nachweis von Zearalenon ist mit Hilfe eines direkten, kompetitiven ELISA in tierischen Produkten möglich (WARNER, 1986).

RENZ und TERPLAN (1995) untersuchten den Übertritt von Zearalenon sowie - und -Zearalenol, in die Kuhmilch und beschrieben dieses Testverfahren als gute Screeningmethode mit niedriger Nachweisgrenze und hohem Produktdurchsatz. In der Milch traten Zearalenonwerte von 0,4 bis 1,2 ppb auf. Insgesamt waren weniger als 0,1 % der oral verabreichten Zearalenongehalte in der Milch analysierbar.

TANAKA et al. (1995) veröffentlichten verschiedene Methoden des indirekten, kompetitiven ELISA für die Zearalenonuntersuchung in Gerste.

2.5.2.2 Radioimmunochemische Analyse (RIA)

Zum Nachweis eines Mykotoxins werden beim Radioimmuno-Assay spezifische Antikörper dieser Substanz und radioaktiv markierte Antigene zusammengebracht. Die Herstellung der Antikörper erfolgt wie beim ELISA in mehreren Schritten, meist über Zellkulturen.

ROUSSEAU et al. (1987) entwickelten Ochratoxin A spezifische monoklonale Antikörper und konnten mit deren Hilfe in Schweinenieren bis zu 0,2 ng/g Ochratoxin A dokumentieren.

Ein Jahr zuvor veröffentlichten CANDLISH et al. (1986) ihre Untersuchungsergebnisse ebenfalls an Schweinenieren mit einer Nachweisgrenze von 0,2 g Ochratoxin A/kg.

MORGAN (1989) wies allerdings in seiner Arbeit daraufhin, daß den immunologischen Verfahren der Vorzug zu geben sei, da hierbei auf den Einsatz gesundheitsschädlicher und zudem kaum verfügbarer Radionuclide sowie teurer Meßinstrumente verzichtet werden kann.

2.5.3 Biologischer Mykotoxinnachweis

Weitere Untersuchungsmethoden für Mykotoxine stellen die biologischen Nachweisverfahren dar. Diese Tests sind vor allem kostengünstig und einfach durchführbar (BAUER, 1980). Allerdings sind sie teilweise recht unspezifisch, so daß sie sich hauptsächlich als Suchtest eignen.

Eine Übersicht über die verschiedenen Methoden gibt GEDEK (1972).

KARLE et al. (1989) beschrieben in einer Arbeit den Einsatz von Hühner- und Entenzellkulturen. Hierbei wurde die Eignung von Trachealkulturen, Nierenzellen, Fibroblasten und Leberzellen für den Mykotoxinnachweis in Ziervogelfuttermitteln überprüft.

Des weiteren wurde der Salinenkrebstest (MÜLLER und LEPOM, 1985) durchgeführt, der sich allerdings bei Vogelfutter als ungeeignet herausstellte, da sämtliche Salinenkrebstarven durch die enthaltenen Raps- und Mohnextrakte abstarben.

Tracheal- und Zellkulturen von Hühner- oder Entenküken eigneten sich zum Nachweis von Ochratoxin A, Aflatoxin, T₂-Toxin und Diacetoxyscirpenol (DAS), allerdings nicht für Zearalenon (KARLE et al., 1989).

Für Ochratoxin A besteht die Möglichkeit des Hühnerembryotests, bei welchem die Luftkammer befruchteter Hühnereier mit dem aufgereinigten Futtermittelextrakt beimpft wird und anschließend die Absterberate zu unbeimpften Eiern ermittelt wird (GEDEK, 1972).

Für den Zearalenonnachweis injizierte man ovariektomierten Mäusen und Ratten Zearalenon, um die Größen- und Gewichtszunahmen der Uteri festzustellen (UENO et al., 1974). Dieses Verfahren wird aufgrund seiner geringen Spezifität nicht mehr eingesetzt.

3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1 Material und Methoden

Mit dieser Arbeit sollte gezeigt werden, wie oft und wie hoch unverdächtige Schweine und ihre Futtermittel mit den Mykotoxinen Ochratoxin A und Zearalenon belastet waren.

Da die Proben hauptsächlich im Frühjahr zweier aufeinanderfolgender Jahre (1993 und 1994) und in unterschiedlichen Regionen gezogen wurden, sollte ermittelt werden, inwieweit sich diese Einflüsse auf die Mykotoxinbelastung der Proben auswirkte.

3.1.1 Untersuchungsmaterial

Zur Untersuchung gelangten Blutproben von Schweinen und Futterproben aus Mast- und Zuchtbeständen.

Zum einen wurden 192 unverdächtige Feldproben, die mit detaillierten Angaben über den Betrieb versehen waren, untersucht.

Zum anderen kamen Einsendungen, mit Verdacht auf Mykotoxinbelastung, in die Tierärztliche Ambulanz Schwarzenbek, die innerhalb dieser Arbeit kontrolliert und ausgewertet wurden.

3.1.1.1 Feldproben

Das Untersuchungsgut beinhaltete nur unverdächtige Proben, d. h. die Proben stammten nur aus zufällig ausgewählten Betrieben, bei denen keinerlei Verdacht auf eine erhöhte Toxinbelastung bestand.

Generell wurden innerhalb der Feldstudie nur Proben untersucht, bei denen sowohl eine Futterprobe und ein Serumpool sowie ein vollständig ausgefüllter Fragebogen (siehe Anhang, Abb. 20) vorlagen.

Für jeden Betrieb und die dazugehörigen Proben wurde eine Nummer vergeben, anhand derer die Proben nach erfolgter Untersuchung wieder dem Fragebogen zugeordnet werden konnten.

Im Fragebogen wurde die Betriebsgröße, Anzahl der Sauen bzw. Masttiere, Verwendung von Einstreu, Futterart, Lagerart und Lagerdauer erfaßt. Bei der Futterart wurde nach der Konsistenz, d.h. ob es sich um pelletiertes oder geschrotetes Futter handelte, gefragt.

Des weiteren wurde ermittelt, welcher Betrieb eigenes oder Zukauffutter verwandte. Bei hofeigenen Futtermitteln wurde die prozentuale Zusammensetzung der verschiedenen Getreidearten und der Mineralstoffzusätze erfragt.

Innerhalb der Lagerart wurde unterschieden in Silolagerung, Bodenschüttung und Sacklagerung. Bei der Silolagerung wurde zusätzlich Innen- bzw. Außensilo sowie die Silobeschaffenheit (Holz, Spanplatte, PVC, Metall, Trevira, Sonstiges) erfaßt.

Die Lagerdauer wurde bei Betrieben mit hofeigenem Futter mit 365 Tagen angegeben. Bei diesen Betrieben war davon auszugehen, daß nach der Ernte neues Futter mit altem gemischt wurde und somit eine direkte Zeitangabe nicht vorgenommen werden konnte.

In Betrieben mit Zukauffutter wurde die Lagerdauer sowie der Zeitraum, seit wann dieses Futter den Tieren zur Verfügung stand, in Tagen erfaßt.

Über die Konservierung oder Trocknung des Futters konnten meist keine detaillierten Angaben gemacht werden. Der vollständige Fragebogen liegt im Anhang Abbildung 20 vor.

Für die Serumuntersuchung wurde eine Sammelprobe von drei bis vier Schweinen pro Betrieb gebildet.

Insgesamt wurden die 192 Proben aus drei verschiedenen Bezugsquellen untersucht.

Alle Proben wurden im Zusammenhang mit drei verschiedenen Projekten gesammelt und konnten somit drei unterschiedlichen Bezugsquellen zugeordnet werden, die mit den Abkürzungen AMBU, AK und ITL versehen wurden.

1. AMBU:

Im Zeitraum von Februar 1993 bis Juli 1994 wurden im Rahmen der Untersuchung zur Aujeszkyschen Krankheit alle Betriebe beprobt, die als Kunden der Tierärztlichen Ambulanz Schwarzenbek Schweinehaltung betrieben.

Ein Teil der Betriebe wurde etwa nach einem halben Jahr erneut geprüft, so daß sich eine Gesamtzahl von 52 Untersuchungsproben ergab.

2. AK:

42 Proben wurden im Zusammenhang mit der Studie über die Aujeszkysche Krankheit (AK) im Norden Schleswig-Holsteins gezogen. Das Untersuchungsgut wurde in der Zeit von Januar 1993 bis Januar 1994 entnommen.

3. ITL:

Der dritte Teil des Untersuchungsgutes stammte aus einer Zusammenarbeit mit dem Institut für Tiergesundheit und Lebensmittelqualität der Stadt Kiel (ITL). In Verbindung mit dem Markenfleischprogramm des ITL Kiel wurden in der Zeit von Januar 1994 bis einschließlich Juli 1994 stichprobenartig am Tage vor der Schlachtung Futterproben aus den jeweiligen Betrieben gezogen. Am folgenden Tag wurden die Blutproben der dazugehörigen Schweine während des Ausblutens an den Schlachthöfen Rendsburg, Kiel bzw. Lübeck entnommen. Insgesamt wurden 98 Betriebe aus dem Raum Schleswig-Holstein untersucht.

Tabelle 3: Übersicht der Materialherkunft

	AMBU	AK	ITL
Probenanzahl	52	42	98
Zeitraum	Februar `93- Juli `94	Januar `93- Januar `94	Januar `94- Juli `94
Entnahmegebiet	südl. Schleswig-Holstein	nördl. Schleswig-Holstein	Gesamt Schleswig-Holstein

3.1.1.2 Einsendungen an die Tierärztliche Ambulanz Schwarzenbek

Im Zeitraum Januar 1993 bis Juli 1994, parallel zur Feldstudie über die Aujeszkysche Krankheit, wurden an die Tierärztliche Ambulanz in Schwarzenbek Verdachtsproben, hauptsächlich aus Schleswig-Holstein, zum Nachweis von Zearalenon oder Ochratoxin A eingesandt.

Meist handelte es sich um Einsendungen von Tierärzten, die innerhalb eines Betriebes Symptome einer Mykotoxinintoxikation feststellten und diese aufklären wollten.

Zur Untersuchung gelangten sowohl Blut-, als auch Futterproben. Diese wurden nach den jeweiligen Angaben der Einsender analysiert.

Insgesamt wurden innerhalb des Untersuchungszeitraumes 199 Futter- und 42 Serumproben auf Zearalenon sowie 192 Futterproben und 138 Serumproben auf Ochratoxin A untersucht.

Vorberichte über Symptome, Betriebsgröße und -art oder Futterlagerung lagen zu diesen Fällen nicht vor.

3.1.1.3 Vorbereitung des Probenmaterials

Alle Blutproben wurden etwa 24 Stunden zur Sedimentation stehen gelassen, danach zentrifugiert und bis zur Untersuchung gekühlt bzw. tiefgefroren.

Um eine gleichmäßige Körnergröße aller Futterproben zu erhalten, und damit eine bessere Vergleichbarkeit zu erzielen, wurden alle angelieferten Proben vollständig mit Hilfe der Pulverisette (Fritsch GmbH) gemahlen.

Sodann wurden alle Futterproben im Doppel angesetzt, eine Probe ohne und parallel eine Probe mit Zugabe des Toxinstandards (zur Ermittlung der Wiederfindungsrate). Dieser Vorgang wurde bei beiden Toxinuntersuchungen vorgenommen, so daß jede Futterprobe insgesamt viermal analysiert wurde.

Ein Teil jeder Probe wurde separat abgefüllt, beschriftet und zur möglichen Wiederholung der Untersuchung eingefroren.

3.1.2 Untersuchungsmethoden

Alle hier verwendeten Methoden wurden bereits eingehend beschrieben (HAUPT, 1989; MALLMANN, 1993; HORNDASCH, 1991).

In dieser Arbeit sind diese Verfahren weitgehend übernommen worden. Nur die Untersuchungsmethode für Zearalenon im Futtermittel weicht von dem Beschriebenen ab.

Bei dem herkömmlichen Verfahren wurden 20 g Futtermittel mit 100 ml Ethylacetat 30 Minuten geschüttelt, während an der Tierärztlichen Ambulanz in Schwarzenbek die Futterprobe mit 100 ml Chloroform gerührt wurde.

Daraus ergab sich der Vorteil eines einheitlichen Extraktionslösungsmittels, das mit Hilfe des Rotationsverdampfers größtenteils zurückgewonnen werden konnte.

Bei der Gegenüberstellung beider Verfahren konnten keinerlei Einbußen in Bezug auf die Wiederfindungsrate sowie die Reinheit des Extrakts festgestellt werden.

Weiterhin bot sich die Möglichkeit der besseren Kombinierbarkeit mit dem Untersuchungsverfahren für Ochratoxin A.

Bei routinemäßiger Überprüfung des Reinheitsgrades des reextrahierten Chloroforms konnten keine Rückstände an Zearalenon oder Ochratoxin A nachgewiesen werden, so daß es erneut zur Extraktion verwendet werden konnte.

Alle für die Durchführung dieser Untersuchung notwendigen Laborgeräte, Verbrauchsmaterialien sowie Chemikalien werden anschließend aufgeführt.

3.1.2.1 Laborgeräte

Eine HPLC-Anlage der Firma SHIMADZU, bestehend aus:

Nucleosil(r)-Säule 5 C₁₈ µm (Macherey-Nagel GmbH & Co, KG)

HPLC-Pumpe LC-6A (Nr. 228-14000-93)

Mischkammer für die Pumpe (Nr. 228-20800-91)

System-Controller SCL-6B (Nr. 228-21200-93)

Chromatopak C-R4AX mit Drucker (Nr. 223-0242493A)

Floureszenzdetektor RF-535 (Nr. 204-08600)

Position Sensing Switch (Nr. 670-12098-15)

2-Kanal-Interface (Nr. 223-01486-90)

Automatic Sampler (Bio-Rad Laboratories Mod. AS-48)

Laborzentrifuge (Labofuge Ae, Heraeus Sepatech GmbH)

Rotationsverdampfer (Rotavapor 120 und 121)

Wasserbad (Büchi 461, beides Büchi Laboratoriumstechnik)

Umlaufkühlung (Paralaqua, Peter W. F. van der Heijden)

Reagenzglasschüttler (Vibrofix VF 2, Janke & Kunkel GmbH u. Co KG)

Ultraschallwasserbad (US 10)

pH-Meßgerät (CG 820, Schott-Geräte GmbH)

Laborwaage (Santorius AG)

Magnetrührgeräte (IKAMAG RET, Janke & Kunkel GmbH u. Co KG)

2 Laborabzüge (Köttermann)

Labor-Schneidemühle (Pulverisette 15, 1 mm Korngröße, Fritsch GmbH)

Wärme- und Trockenschrank (MELAG)

Kühl- und Gefrierschrank

3.1.2.2 Verbrauchsmaterialien

Erlenmeyerkolben 250 ml

Rundkolben 250 ml

Zentrifugengläser nach Kranich (100 mm x 44 mm)

Reagenzgläser

Spitzkolben mit Schliff 10 und 25 ml

Meßzylinder 250, 100 und 50 ml

Meßpipetten 20, 10, 5 und 2 ml

Trichter 15 cm

Einwegspritzen 10 ml

Einwegkanülen

Plastiksäulen (Extrelut 20, Fa. E. Merck)

Faltenfilterpapier (Schleicher & Schuell)

Eppendorf Kolbenhubpipetten 500, 100 und 10 ml

Pipettenspitzen für 500 und 100 ml

Reagiergefäße 1 ml (Eppendorfgefäße)

Watte (100 % Viskose)

Meßkolben 100 ml

3.1.2.3 Chemikalien

Ochratoxin A (Sigma Chemical Co., Nr. O-1877)

Zearealon (Sigma Chemical Co., Nr. Z-2125)

Chloroform z. A. (Nr. 2445, Merck)

Salzsäure 1 Mol/l (Nr. 9057, Merck)

Natriumsulfat, wasserfrei reinst (Nr. 6649, Merck)

Methanol C Chromasolv (Nr. 34885, Riedel-de Haen)

Essigsäure 99-100 % reinst (Art. 56, Merck)

Natriumhydrogencarbonat z. A. (Nr. 6329, Merck)

Natronlauge 1 N (Nr. 9137, Merck)

Celite 545 pract. (Serva Feinbiochemika GmbH & Co.)

Phosphorsäure 85 % z. A. (Nr. 573, Merck)

β -Glucuronidase/Arylsulfatase (Nr. 4114, Merck)

Magnesiumchlorid-Hexahydrat (Nr. 5833, Merck)

Phenolphthalein (Nr. 7233, Merck)

HPLC-Wasser (Milli Q plus System, Millipore GmbH)

3.1.3 Toxinstandards

Für beide Mykotoxinuntersuchungen wurden unterschiedlich konzentrierte Lösungen für den externen und den internen Standard hergestellt.

3.1.3.1 Ochratoxin A

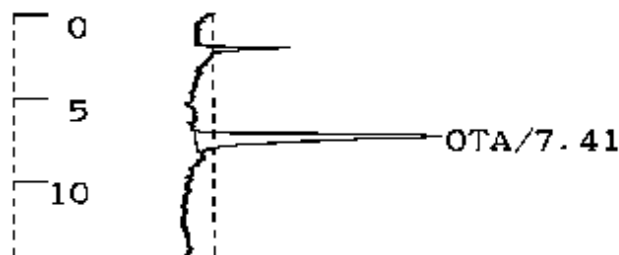
Zur Herstellung eines Ochratoxin A-Standards diente 1 mg kristallines Ochratoxin A (Sigma Chemical Co., Nr. O-1877), das in 100 ml Methanol gelöst wurde (Konzentration 10 g/ml).

Hieraus wurden durch Verdünnung mit Methanol bis zu einem Verhältnis von 1:200 weitere Lösungen hergestellt, die Konzentrationen von 10 g/ml bzw. 5 ng/ml aufwiesen.

Die Konzentration der Ursprungslösung wurde mit Hilfe eines Spektralphotometers überprüft.

Abbildung 3: Chromatogramm eines Ochratoxin A-Toxinstandards

(externer Standard)



Der Toxinstandard wurde bei einer Retentionszeit von 7,41 Minuten gemessen. Die Peakfläche betrug 120.000 Counts. Dieser Ochratoxin A-Standard hatte eine Konzentration von 0,5 ng/ml.

3.1.3.2 Zearalenon

Zur Herstellung des Zearalenon-Standards diente ebenfalls eine kristalline Reinsubstanz (10 mg, Sigma Chemical Co., Nr. Z-2125), die in 100 ml Methanol gelöst wurde.

Aus dieser Stammlösung wurden weitere Verdünnungen mit den Konzentrationen 1 g/ml und 200 ng/ml hergestellt.

Alle Toxinlösungen wurden in Meßkolben im Kühlschrank aufbewahrt, um Verdunstungen bzw. Schädigungen durch Licht zu vermeiden.

Die Lösungen mit den jeweils niedrigsten Konzentrationen (5 ng Ochratoxin A/ml und 200 ng Zearalenon/ml) dienen als direkte Vergleichskonzentrationen im HPLC (externer Standard).

3.1.4 Analysenmethoden

Nachfolgend werden die Untersuchungsmethoden für Ochratoxin A sowie für Zearalenon, im Blutserum und in den Futtermitteln aufgeführt.

Die Bestimmung des Toxingehaltes erfolgte anschließend mit Hilfe der HPLC.

3.1.4.1 Ochratoxin A im Blutserum

Die Ochratoxin A-Bestimmung im Blutserum wurde nach dem Extraktionsverfahren von MORTENSEN et al. (1983 a) durchgeführt.

Es wurden 5 ml Serum mit 5 ml 1 N Salzsäure in einem Kranichglas gemischt und 3 Minuten stehen gelassen. Danach wurden zweimal je 10 ml Chloroform hinzugegeben, mit Hilfe des Reagenzglasschüttlers kräftig durchgeschüttelt und jeweils 10 Minuten bei 4000 U/min

zentrifugiert.

Während des Zentrifugierens trennt sich das Gemisch in drei Phasen. Die untere Chloroformphase wurde mittels Einmalspritze und Kanüle abgesogen und über eine mit einem Gramm Natriumsulfat befüllte Extrelutsäule in einen Spitzkolben überführt.

Die Säule wurde zu Beginn mit einer kleinen Kugel Watte verschlossen, um ein etwaiges Austreten des Natriumsulfats zu vermeiden und dann mit 2 ml Chloroform befeuchtet.

Danach wurden die obere wäßrige und die mittlere Eiweißschicht mit der Kanüle zerkleinert und erneut mit 10 ml Chloroform vermengt.

Im Anschluß daran wurde der Überstand abermals zentrifugiert, um eventuell übriggebliebene Chloroformreste zu gewinnen.

Zuletzt wurden 2 ml Chloroform auf die Säule gegeben und mittels Druck ausgeblasen. Das so gewonnene Filtrat wurde nun über den Vakuum-Rotationsverdampfer bis zur Trockne eingeeengt.

3.1.4.2 Ochratoxin A in Futtermitteln

Zur Bestimmung der Ochratoxin A-Konzentrationen in Futtermitteln diente die von MALLMANN et al. (1994) modifizierte Methode nach MORTENSEN et al. (1983, sowie BAUER et al., 1984 und SCHWEIGHARDT et al., 1980 a).

In einem Erlenmeyerkolben wurden 20 g Futtermittel, 100 ml Chloroform und ca. 5 ml 1 M Salzsäure (pH-Wert zwischen 1,7 und 1,9) mit einem Magnetrührer 30 Minuten gerührt.

Danach wurde das Gemisch durch den Filter in einen Rundkolben überführt und 50 ml des Filtrats fast bis zur Trockne eingeeengt. Dieses Extrakt wurde mit 5 ml Chloroform aufgelöst und in ein Reagenzglas pipettiert. Hierzu wurden zweimal 2,5 ml 0,1 N Natriumhydrogencarbonatlösung gemischt und jeweils 10 Minuten bei 2500 U/min zentrifugiert.

Der Überstand wurde jedesmal abpipettiert und in ein weiteres Reagenzglas verbracht. Daraufhin wurde dieser Überstand (Natriumhydrogencarbonat) mit Ameisensäure auf einen pH-Wert von 1,7-1,9 eingestellt.

Das Gemisch wurde zweimal mit 2,5 ml Chloroform aufgeschüttelt, jeweils 5 Minuten bei 2500 U/min zentrifugiert und danach die untere Chloroformphase in einen Spitzkolben pipettiert. Das Extrakt wurde mit dem Rotationsverdampfer bis zur Trockne eingeeengt.

3.1.4.3 Zearalenon im Blutserum

Das Analysenverfahren für Zearalenon im Blutserum von Schweinen wurde von ENDERS (1984) veröffentlicht.

10 ml Serum wurden mit 10.000 I.E. β -Glucuronidase versetzt und für 2 Stunden im Brutschrank bei 37° C inkubiert.

Danach wurden je 5 ml 0,2 N Magnesiumchloridlösung und 0,1 N Salzsäure sowie 50 ml Chloroform hinzugefügt und für 30 Minuten mit Hilfe eines Magnetrührers zu einer Emulsion gemischt. Anschließend wurde diese in ein Kranichglas überführt und bei 4000 U/min 10 Minuten zentrifugiert.

Die untere Phase (Chloroform) wurde zur Errechnung der Toxinmenge abgemessen und anschließend vollständig in einem Rundkolben eingeeengt. Danach wurde das Extrakt mit 5 ml Chloroform aufgelöst, in ein Reagenzglas überführt, zweimal mit je 2,5 ml 1 N Natronlauge aufgeschüttelt und anschließend 5 Minuten bei 4000 U/min zentrifugiert.

Die obere Natronlaugenphase wurde jeweils in ein weiteres Reagenzglas abpipettiert, mit einem Tropfen Phenolphthalein versetzt und bis zum Farbumschlag mit 2 N Phosphorsäure titriert. Hierauf folgte die zweimalige Zugabe von jeweils 2 ml Chloroform mit anschließendem Schütteln und Zentrifugation.

Diese unteren Chloroformphasen wurden in einen Spitzkolben pipettiert und mittels Vakuumrotationsverdampfer getrocknet.

3.1.4.4 Zearalenon in Futtermitteln

Die Zearalenonbestimmung in Futtermitteln beschrieben MIROCHA et al. (1974). Später wurde sie sowohl von SCHWEIGHARDT et al. (1978), als auch von SCOTT et al. (1978) modifiziert.

Wie bereits in Kapitel 3.1.2 beschrieben, wurde diese Methode an der Tierärztlichen Ambulanz in Schwarzenbek weiter abgewandelt.

Es wurden 30 g Futtermittelprobe sowie 150 ml Chloroform in einen Erlenmeyerkolben abgemessen und mit einem Magnetrührer 30 Minuten gerührt.

Ein Filter mit Filterpapier wurde mit 6 g Celite gleichmäßig ausgefüllt und die Lösung durch diesen in einen Rundkolben filtriert. 75 ml dieses Filtrats wurden zur Trockne eingeeengt, mit 5 ml Chloroform aufgelöst und in ein Reagenzglas überführt.

Zu dieser Lösung wurden je zweimal 2,5 ml 1 N Natronlauge hinzugefügt, mit Hilfe des Reagenzglasschüttlers kräftig geschüttelt und jeweils 10 Minuten bei 2000 U/min zentrifugiert.

Die obere Laugenphase wurde beide Male in ein zweites Reagenzglas abpipettiert. Dieser Lauge wurde ein Tropfen Phenolphthalein zugegeben

Feldstudie zum Vorkommen von Ochratoxin A und Zearealon in Futtermitteln

und mit 2 N Phosphorsäure bis zum Farbumschlag von rosa nach farblos (pH-Wert = 7) titriert.

Anschließend wurde je zweimal 2,5 ml Chloroform hinzugegeben, geschüttelt und jeweils 10 Minuten mit 2000 U/min zentrifugiert.

Die unteren Chloroformphasen wurden in einen Spitzkolben pipettiert und am Vakuum-Rotationsverdampfer bis zur Trockne eingengt.

3.1.5 HPLC-Analyse

Wie bei MALLMANN (1993) beschrieben und durchgeführt, wurden zur weiteren Verarbeitung der Proben im HPLC-Gerät nachfolgend beschriebene Bedingungen geschaffen:

Säule: Nucleosil(r) 5 C₁₈ m (200 mm x 4 mm)

Injektionsvolumen: 20 l (Probenschleife des Autosamplers)

Mobile Phase: Methanol: Wasser: Essigsäure

(67: 32: 1, v: v: v)

Fließgeschwindigkeit: 1,0 ml/min

Lösemittel: 500 l Methanol

Druck: 175 kgf/cm² (bar)

Fluoreszenzdetektor: **Zearalenon**: Exzitationswellenlänge: 310 nm

Emissionswellenlänge: 460 nm

Ochratoxin A: Exzitationswellenlänge: 330 nm

Emissionswellenlänge: 460 nm

Integrator: Papiervorschub: 2 mm/min

Abschwächung: 2² bzw. 2⁵

Säulentemperatur: 30°C 5°C

Chromatographiezeit: 12-18 min

Die Probenextrakte wurden jeweils mit 500 l Methanol aufgelöst und in ein Eppendorfgefäß überführt. Die in Methanol gelösten Toxinstandards (Zearalenon 200 ng/ml und Ochratoxin A 5 ng/ml) wurden ebenfalls in Eppendorfgefäße gefüllt.

Danach wurden alle Eppendorfgefäße in den gekühlten Autosampler verbracht.

Nach Erreichen der Betriebstemperatur des HPLC-Gerätes (± 30°C) wurden der Standard sowie die Proben gemessen und die Retentionszeiten und Peakflächen notiert.

Anhand der übereinstimmenden Retentionszeiten zwischen Toxinstandard und Probe konnte ein qualitativer Toxinnachweis durchgeführt werden.

3.1.6 Toxingehalt der Gesamtprobe

Der Toxingehalt der Gesamtprobe errechnete sich wie folgt:

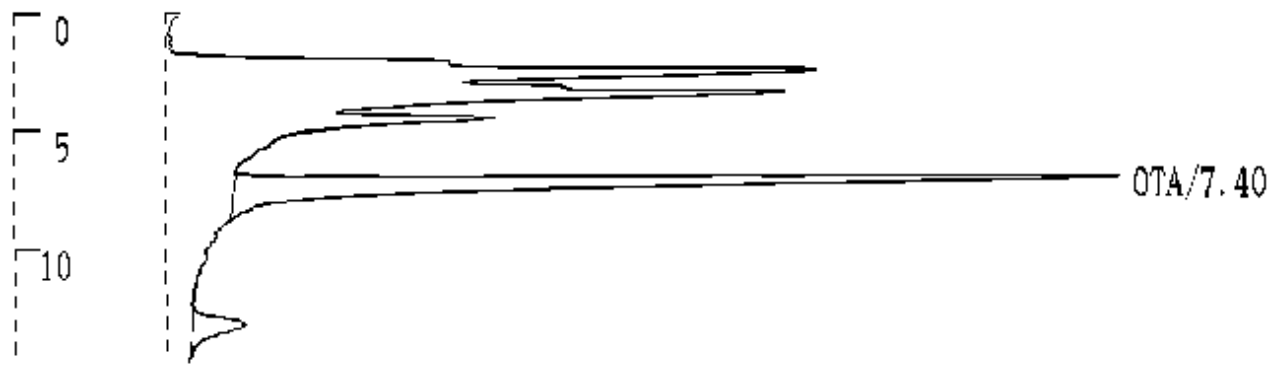
$$\text{Toxingehalt (ng/g bzw. ng/ml)} = \frac{\text{RP} \times \text{MS} \times \text{V1} \times \text{V2}}{\text{RS} \times \text{IV} \times \text{GP} \times \text{V3}}$$

- RP = Response der injizierten Probe (Größe der Peakfläche)
- MS = Menge des Standards [ng]
- V1 = Volumen des gelösten Extraktes [l] (hier:500 l)

- V2 = Volumen der Lösungsmittelzugabe zur Gesamtprobe [ml]
- RS = Response des Standards (Peakfläche)
- IV = Injiziertes Volumen [l] (hier: 20 l)
 - (Volumen der Probenschleife des Autosamplers)
- GP = Gesamtprobe [g bzw. ml]
- V3 = Volumen der Rückgewinnung aus der Gesamtprobe [ml]

Die Toxinwerte aller Proben dieser Studie wurden in ppb (parts per billion) angegeben. Dies entspricht ng/g bzw. ng/ml.

Abbildung 4: Chromatogramm einer Ochratoxin A positiven Serumprobe



Der Ochratoxin A-Peak dieser Proben wurde bei einer Retentionszeit von 7,40 Minuten gemessen. Die Peakfläche betrug 578.700 Counts. Bei einer Chloroform-Rückgewinnung von 17 ml enthielt diese Serumprobe somit einen Ochratoxin A-Gehalt von 2,84 ppb.

(Zum Vergleich: Ochratoxin A-Standard Kap. 3.1.3.1, Abb. 3).

3.1.7 Wiederfindungsraten

Die Wiederfindungsraten wurden sowohl für Ochratoxin A, als auch für Zearalenon untersucht. Bei der Ermittlung der Wiederfindungsraten im Serum wurden stichprobenartig die Methoden überprüft, während für die Futtermittel jede Probe individuell überprüft wurde.

3.1.7.1 Wiederfindungsrate im Serum

Für die Überprüfung der von MALLMANN (1993) für Ochratoxin A und von ENDERS (1984) für Zearalenon ermittelten Wiederfindungsraten wurden je drei toxinfreie Seren zweimal mit unterschiedlichen Toxinkonzentrationen versetzt und analysiert.

3.1.7.2 Wiederfindungsrate (WFR) im Futtermittel

Zur Bestimmung der Wiederfindungsrate wurde jede Futterprobe sowohl auf ihren natürlichen Gehalt, als auch mit einer definierten Standardtoxinsmenge versetzt, untersucht.

Nach diesem sogenannten Spiken konnte die Wiederfindungsrate (WFR) berechnet werden:

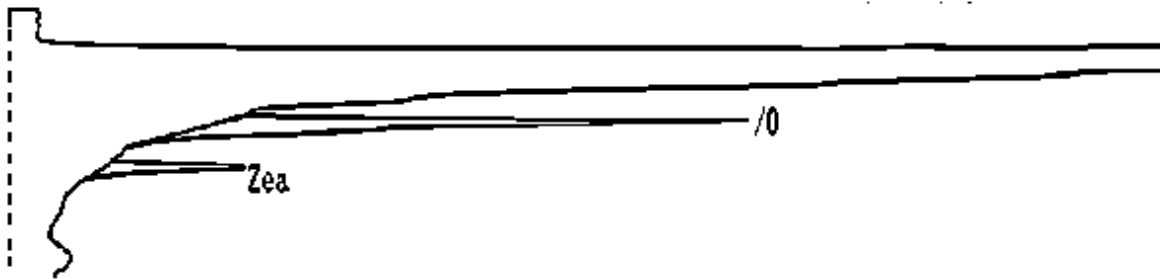
$$\mathbf{WFR (\%)} = \underline{\text{nachgewiesene Toxinkonzentration X 100}}$$

hinzugefügte Toxinkonzentration

Sowohl bei der Zearalenon-, als auch der Ochratoxin A-Untersuchung wurden jeweils 10 ng Toxin/g Futtermittel hinzugefügt.

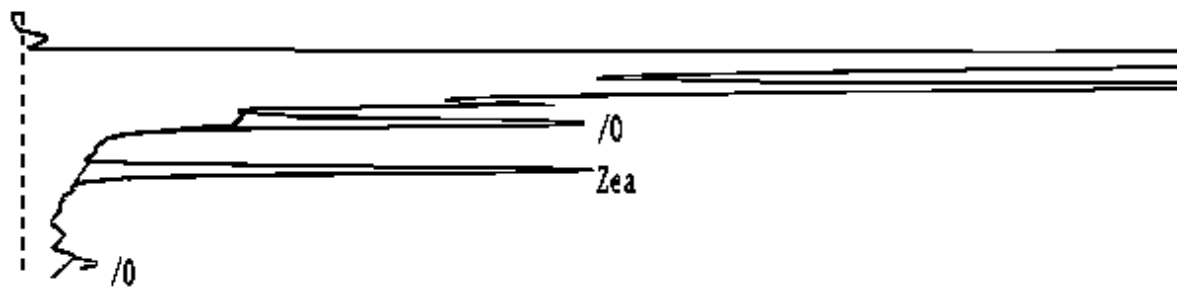
Diese Methode bietet den Vorteil, daß sowohl ein externer, als auch ein interner Standard zur Überprüfung der Toxingehalte herangezogen werden konnte (BAUER und GAREIS, 1989).

Abbildung 5: HPLC-Analyse einer Futterprobe auf Zearalenon



Die Abbildung 5 zeigt das Chromatogramm einer Zearalenon positiven Futterprobe. Der Zearalenon-Peak wurde bei 7,68 Minuten mit einer Fläche von 83640 Counts gemessen. Daraus ergab sich eine Belastung dieser Probe mit 3,4 ppb.

Abbildung 6: künstlich Zearalenon kontaminierte Futterprobe



In Abbildung 6 wird das Chromatogramm der gleichen Futterprobe, allerdings mit 10 ppb Zearalenon gespickt (interner Standard) dargestellt. Der Peak wurde bei 7,7 Minuten mit 329914 Counts registriert. Damit errechnet sich eine Zearalenonbelastung von 12,9 ppb. Die Wiederfindungsrate dieser Probe betrug somit 95 %.

3.1.8 Korrekturfaktor (KF)

In jeder Futterprobe wurde der Gehalt an Toxin sowie die Wiederfindungsrate, mit Hilfe der HPLC ermittelt.

Anschließend wurde für jedes Futtermittel sein individueller Korrekturfaktor berechnet:

$$\text{KF} = 100 / \text{WFR}$$

Danach wurde jede im Futter ermittelte Toxinmenge mit dem Korrekturfaktor multipliziert.

$$\text{Tatsächliche Toxinmenge} = \text{ermittelte Toxinmenge} \times \text{KF}$$

3.1.9 Nachweisgrenzen

Als Nachweisgrenze wird die niedrigste noch erkennbare Ochratoxin A-Konzentration festgelegt.

Für die Ermittlung der Toxinkonzentration wurde mit den Peakflächen der jeweiligen Probe gerechnet.

Jede Peakfläche wird vom HPLC automatisch in sogenannten "Counts" angegeben. Bei Serumproben war ein Wert von 1000 Counts gut

reproduzierbar und somit auswertbar.

Daraus ergab sich eine Nachweisgrenze von 0,1 ng Toxin/ml Serum.

Für Futterproben war die Wiederholbarkeit aufgrund von Verunreinigungen innerhalb der Extrakte erst bei 7000 Counts pro Peakfläche gegeben, wodurch die Nachweisgrenze bei 1 ng Toxin/g Futter lag.

3.1.10 Wiederholbarkeit der Analyseergebnisse

Für die Überprüfung der Wiederholbarkeit wurden bei den Seren die Analysen der Wiederfindungsraten jeweils dreifach durchgeführt.

Bei den Futtermitteln wurden in einem Mastbetrieb an zwei aufeinanderfolgenden Wochen je vier Futterproben gezogen. Das geschrotete Zukauffutter lagerte in Säcken. Es wurden Proben aus unterschiedlichen Säcken, aber derselben Charge gezogen.

Diese insgesamt acht Futterproben wurden danach auf ihren natürlichen Toxingehalt überprüft. Anschließend wurden sie mit jeweils 10 ng/g Ochratoxin A bzw. Zearalenon versetzt und mit Hilfe der HPLC analysiert.

Bei diesem Betrieb handelte es sich um einen mykotoxinunauffälligen Bestand, d.h. weder das Futter noch die Schweine wiesen Anzeichen einer Schimmelpilzintoxikation auf.

3.1.11 HPLC-Analyse der Proben

Sowohl die Futterproben-, als auch die Serumextrakte wurden bis zur Trockne eingeengt, jeweils mit 500 ml Methanol aufgelöst, in ein Eppendorfgefäß überführt und in den gekühlten Autosampler verbracht.

Nach jeder Futterprobenuntersuchung wurde im direkten Anschluß die dazugehörige, mit dem Toxin gespikete, Probe eingespritzt und analysiert.

Zum Vergleich der Retentionszeiten und der Peakflächen wurden nach jeder zweiten Probe die Toxinstandardlösungen injiziert, um die Chromatogramme miteinander vergleichen zu können.

Bei Ochratoxin A diente eine Standardlösung mit 5 ng/ml als Vergleichslösung.

Für Zearalenon wurde eine Konzentration von 200 ng/ml gewählt.

3.1.12 Statistische Datenerfassung

Zur Bearbeitung aller Daten wurden diese mit Hilfe des Datenbanksystems dBase IV(r) (Asthon Tate Corp., U.S.A.) registriert. Die statistische Auswertung wurde mit Hilfe des Computerprogrammes SPSS-Windows(r) Version 5.0.2. (BÜHL und ZÖFEL, 1994) vorgenommen. Die Umsetzung der Zahlen in Graphiken erfolgte über das Harvard Graphics(r) Programm.

Jeder Parameter des Fragebogens wurde in die Datenbank eingegeben. Allerdings konnten viele Parameter nicht statistisch ausgewertet werden, da die Datenmenge zu gering war. So konnte z.B. bei der Silolagerung nur in die beiden Gruppen, Innen- und Außensilo, unterteilt werden, da einzelne Siloarten nur wenige Male vertreten waren.

Zur statistischen Auswertung wurde der Mittelwert (Mean), der Median, die Standardabweichung, die Varianz, Minimum und Maximum sowie die Spannweite (Range) berechnet (LORENZ, 1992).

Für den Gegenüberstellung zweier nicht-normalverteilter unabhängiger Variablen wurde der U-Test nach Mann und Withney durchgeführt. Zum Vergleich mehrerer Stichproben kam der H-Test nach Kruskal und Wallis zur Anwendung. Des weiteren wurde der Chi-Quadrat-Test zur Überprüfung der Unabhängigkeit zweier Variablen innerhalb einer Kreuztabelle verwandt.

3.2 Ergebnisse

In dieser Studie konnten insgesamt 192 Betriebe aus Schleswig-Holsteinerfaßt werden. In jedem Betrieb wurde eine Futterprobe und Blut von drei bis vierzufällig ausgewählten Schweinen gewonnen.

Aus den Blutproben wurde ein Serumpool gebildet.

Die Untersuchung der Futterprobe und des Serumpools auf ihren Gehalt an Ochratoxin A und Zearalenon erfolgte in der Tierärztlichen Ambulanz Schwarzenbekunter Verwendung einer HPLC-Anlage (Shimadzu, siehe Kap. 3.1.2.1).

Zu jedem Betrieb gab es einen Fragebogen (siehe Anhang, Abb. 20) über Betriebsart und -größe, Einstreu, Futterart und -lagerung; bei betriebseigenem Futter über die Zusammensetzung, Lagerart und -dauer sowie die Fütterungsdauer der gewonnenen Futterprobe.

Bei allen Futterproben wurde der Gehalt an Ochratoxin A und Zearalenon sowie deren jeweilige Wiederfindungsrate überprüft. Eine Futterprobe wurde als Toxin-positiv beurteilt, wenn ihr Wert über der Nachweisgrenze von 1 ng/g (1 ppb) lag.

Der zu jedem Betrieb gehörende Serumpool wurde ebenfalls auf Ochratoxin A und Zearalenon untersucht. Eine Serumprobe wurde positiv beurteilt, wenn ihr Wert über der Nachweisgrenze von 0,1 ng/ml (0,1 ppb) lag.

3.2.1 Überprüfung der Methoden

3.2.1.1 Ermittlung der Wiederfindungsrate (WFR)

Wie schon im Kapitel 3.1.7.2 erwähnt, wurde für jedes Futtermittel die individuelle Wiederfindungsrate ermittelt. Hierbei ergaben sich erhebliche Schwankungsbreiten, so daß für jede Futtermittelprobe ihre eigene Rate ermittelt wurde, ohne Rücksicht auf den Gehalt an Toxin.

Die Methoden zur Toxinbestimmung im Serum wurden ebenfalls bezüglich ihrer Wiederholbarkeit und ihrer Wiederfindungsraten überprüft.

3.2.1.1.1 Individueller Korrekturfaktor (KF)

In allen nachfolgenden Tabellen wurden die ermittelten Toxinwerte der Futterproben mit ihrem individuellen Korrekturfaktor multipliziert angegeben (siehe Kap. 3.1.8.).

3.2.1.2 Wiederholbarkeit der Wiederfindungsraten im Futter

Um die Wiederholbarkeit der Untersuchungsmethode zu überprüfen, wurden exemplarisch in einem Betrieb zweimal je vier Futterproben gezogen. Das geschrotete Zukauffutter wurde innerhalb des Betriebes in Säcken gelagert. Bei diesen Proben handelte es sich somit um dasselbe Futter (aus ein und demselben Produktionsgang und mit identischer Chargen-Nr.), allerdings aus unterschiedlichen Säcken bzw. mit differentem Entnahmezeitpunkt (siehe Kap. 3.1.10).

Alle acht Proben (1. Entnahmewoche = I; 2. Entnahmewoche = II, jeweils Proben 1 bis 4) wurden sowohl auf Ochratoxin A, als auch auf Zearalenon untersucht.

Zur Bestimmung der Wiederfindungsrate und ihrer Wiederholbarkeit wurde jede Futterprobe mit jeweils 10 ng/g Ochratoxin A bzw. Zearalenon versetzt und die Ergebnisse mit Hilfe der HPLC ermittelt.

3.2.1.2.1 Wiederfindungsraten von Ochratoxin A im Futter

Die Ergebnisse beider Untersuchungswochen sind nachfolgend tabellarisch aufgeführt.

Tabelle 4: Wiederholbarkeit der Wiederfindungsrate (WFR) von Ochratoxin A im Futter

Entnahme-woche/ Proben - Nr.	natürl. Ochratoxin A Belastung (ng/g)	Probe + 10 ng/g Ochratoxin A (ng/g)	WFR (%)
I / 1	n.n.	6,87	68,7
I / 2	n.n.	6,28	62,8
I / 3	n.n.	6,99	69,9
I / 4	n.n.	7,27	72,7
Durchschnitt	n.n.	6,85	68,5
II / 1	n.n.	6,93	69,3
II / 2	n.n.	6,16	61,6
II / 3	n.n.	6,75	67,5
II / 4	n.n.	6,69	66,9
Durchschnitt	n.n.	6,63	66,3
Gesamt-durchschnitt	n.n.	6,74	67,4

n.n. = nicht nachweisbar

Das hier verwandte Futter wies weder beim ersten noch beim zweiten Untersuchungsdurchgang Ochratoxin A auf.

Innerhalb des ersten Untersuchungsdurchganges (I) lag das arithmetische Mittel der Wiederfindungsrate bei 68,5 %, beim zweiten Durchgang (II) bei 66,3 %.

Die Wiederfindungsraten für Ochratoxin A lagen bei diesem Futtermittel zwischen einem Minimum von 61,6 % und einem Maximum von 72,7 %, daraus ergab sich ein Gesamtdurchschnitt von 67,4 %.

Die Standardabweichung betrug $s=3,28$.

3.2.1.2.2 Wiederfindungsraten von Zearalenon im Futter

Bei der Überprüfung der Wiederfindungsraten von Zearalenon wurde das gleiche Futter wie bei der Ochratoxin A-Untersuchung verwendet.

Dieses Futter wies eine natürliche Zearalenonkontamination auf.

Innerhalb des ersten Untersuchungsdurchganges (I) zeigte sich eine durchschnittliche Zearalenonbelastung des Futters von 9,36 ng/g. Beim zweiten Durchgang (II) enthielt das Futter durchschnittlich 9,64 ng Zearalenon/g.

Bei diesen Werten handelte es sich um die natürliche Zearalenonbelastung.

Die Wiederfindungsraten von Zearalenon für dieses Futter lagen zwischen 94,9 % und 102,0 %.

Der Durchschnittswert innerhalb der ersten Entnahmewoche betrug 97,1 %, in der zweiten Woche 97,5 %. Das arithmetische Mittel aller acht Proben betrug 97,3 %.

Die Streuung betrug $s=2,24$.

Die einzelnen Ergebnisse aller Untersuchungsdurchgänge sind in der folgenden Tabelle 5 aufgeführt.

Tabelle 5: Wiederholbarkeit der Wiederfindungsrate (WFR) von Zearalenon im Futter

Entnahme-woche/ Proben - Nr.	natürl. Zearalenon Belastung (ng/g)	Probe + 10 ng/g Zearalenon (ng/g)	WFR (%)
I / 1	8,49	18,23	97,4
I / 2	9,85	19,79	99,4
I / 3	9,63	19,26	96,3
I / 4	9,47	18,98	95,1
Durchschnitt	9,36	19,07	97,1
II / 1	9,61	19,10	94,9
II / 2	9,28	18,87	95,9
II / 3	9,76	19,41	97,0
II / 4	9,94	20,14	102,0
Durchschnitt	9,64	19,38	97,5
Gesamt-durchschnitt	9,50	19,23	97,3

3.2.1.3 Wiederholbarkeit der Wiederfindungsraten im Serum

Serum stellt eine homogene Lösung dar, dessen Aufarbeitung nahezu gleichbleibende Wiederfindungsraten erzielt. Zur Überprüfung der Untersuchungsmethoden wurden je drei toxische Seren mit zwei verschiedenen Toxinkonzentrationen versetzt und die Wiederfindungsraten mittels HPLC erfaßt. Für beide Toxine wurden Konzentrationen von 1 ng/ml (1 ppb) bzw. 5 ng/ml dem Serum zugesetzt und die Wiederfindungsrate ermittelt.

3.2.1.3.1 Wiederfindungsrate von Ochratoxin A im Serum

Tabelle 6: Ochratoxin A-Wiederfindungsraten im Serum

Proben -Nr.	Probe + 1 ng/ml Ochratoxin A		Probe + 5 ng/ml Ochratoxin A	
	ng/ml	WFR %	ng/ml	WFR %
1	1,15	115,0	4,64	92,8

2	0,97	97,0	5,14	102,8
3	1,06	106,0	4,92	98,4
Durchschnitt	1,06	106,0	4,90	98,0
Gesamt-durchschnitt	102,0 %			

Aus den sechs Untersuchungen wurde ein Durchschnittswert ermittelt. Mit dieser Wiederfindungsrate ließ sich der Korrekturfaktor (KF) wie folgt berechnen:

$$\mathbf{KF = \frac{100,0 \%}{102,0 \%} = 0,980}$$

102,0 %

Diese Werte entsprechen denen von MALLMANN (1993) sowie der COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES (1991).

Aufgrund der relativ konstanten Wiederfindungsrate und des zu vernachlässigenden Korrekturfaktors wurden die nicht korrigierten Werte der Seren beibehalten.

3.2.1.3.2 Wiederfindungsrate für Zearalenon im Serum

Tabelle 7: Zearalenon-Wiederfindungsraten im Serum

Proben -Nr.	Probe +1 ng/ml Zearalenon		Probe +5 ng/ml Zearalenon	
	ng/ml	WFR %	ng/ml	WFR %
1	0,92	92,0	4,68	93,6
2	1,13	113,0	5,01	100,2
3	0,85	85,0	4,87	97,4
Durchschnitt	0,97	96,7	4,85	97,1
Gesamt-durchschnitt	96,9 %			

Mit Hilfe der durchschnittlichen Wiederfindungsrate konnte der Korrekturfaktor wie folgt berechnet werden:

$$\mathbf{KF = \frac{100,0 \%}{96,9 \%} = 1,032}$$

96,9 %

Der errechnete Korrekturfaktor von 1,032 konnte aufgrund der hohen Wiederfindungsrate vernachlässigt werden.

In allen nachfolgenden Darstellungen wurden die Zearalenon-Serumwerte wegen der geringen Abweichungen nicht korrigiert.

3.2.1.4 Wiederfindungsraten im Futter

Wegen der sehr unterschiedlichen Zusammensetzung von Futtermitteln stellte die Wiederfindungsrate bei dieser Matrix keinen konstanten Faktor dar.

Im Folgenden werden die Wiederfindungsraten aller im Rahmen dieser Feldstudie untersuchten Futtermittel tabellarisch aufgeführt.

Tabelle 8: Übersicht der Wiederfindungsraten von Ochratoxin A und Zearalenon im Futter

Ochratoxin A			Zearalenon		
WFR	Anzahl	Anteil	WFR	Anzahl	Anteil
(%)	(n)	(%)	(%)	(n)	(%)

< 30 %	0	0,0	< 30 %	1	0,5
30-39,9 %	2	1,0	30-39,9 %	15	7,8
40-49,9 %	4	2,1	40-49,9 %	25	13,0
50-59,9 %	31	16,1	50-59,9 %	29	15,1
60-69,9 %	48	25,0	60-69,9 %	49	25,5
70-79,9 %	40	20,8	70-79,9 %	19	9,9
80-89,9 %	44	22,9	80-89,9 %	24	12,5
90-99,9 %	22	11,6	90-99,9 %	23	12,0
100 %	1	0,5	100 %	7	3,7
Gesamt	192		Gesamt	192	
Median	72,2 %		Median	64,9 %	
Mittelwert	73,1 %		Mittelwert	67,9 %	

Die Tabelle zeigt eine Übersicht aller Wiederfindungsraten innerhalb der Futtermittler der Feldstudie.

Es ergaben sich erhebliche Differenzen bezüglich der Wiederfindungsraten. Der Mittelwert für Ochratoxin A betrug 73,1 % für Zearalenon 67,9 %.

25 % (n=48) der untersuchten Futterproben wiesen eine Wiederfindungsrate von 60-69,9 % auf. Bei Zearalenon konnten bei 25,5 % (n=49) der Futtermittel diese Wiederfindungsraten ermittelt werden.

Die Standardabweichung beträgt für die Wiederfindungsrate von Ochratoxin A 13,8, für Zearalenon sogar 20,5.

Aus der beachtlichen Streuung der Zahlen wird deutlich, daß die Ermittlung der Wiederfindungsrate individuell für jedes Futtermittel einen wichtigen Stellenwert einnimmt.

3.2.1.4.1 Verteilung der Wiederfindungsraten in unterschiedlichen Futtermitteln

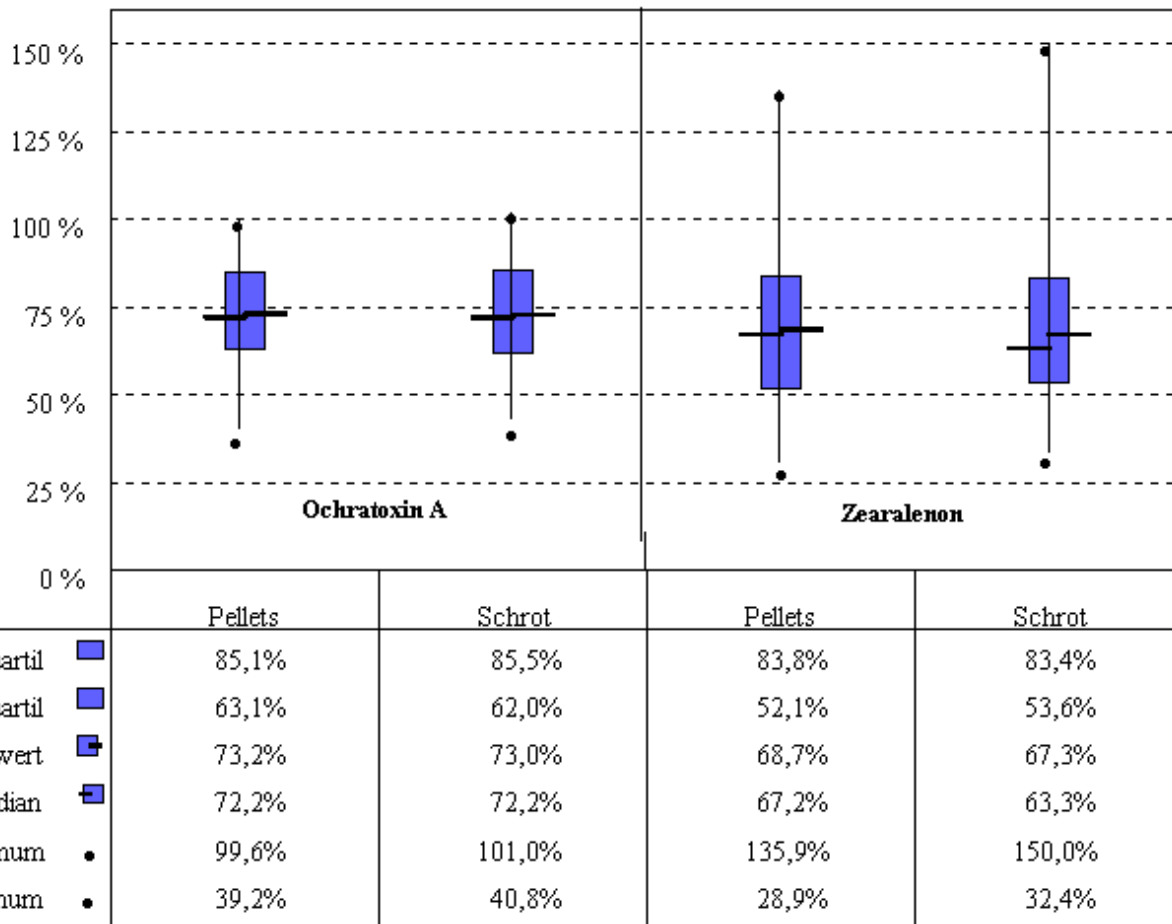
Innerhalb der Feldstudie gelangten zwei unterschiedliche Verarbeitungsformen des Futtermittels zur Untersuchung.

Es handelte sich hierbei entweder um pelletiertes oder geschrotetes Futter. Beide Sorten wurden vor der weiteren Untersuchung gemahlen, um eine gleichmäßige Verteilung der Toxine innerhalb der Probe zu gewährleisten.

In der nachfolgenden Graphik wurden die einzelnen Wiederfindungsraten für Ochratoxin A und Zearalenon in den unterschiedlichen Futtermittelsorten dargestellt.

Abbildung 7: Wiederfindungsraten von Ochratoxin A und Zearalenon in pelletiertem bzw. geschrotetem Futter

Wiederfindungsraten in %



Bei der Betrachtung der Wiederfindungsraten, aufgeteilt nach den beiden Futtermittelsorten, ergab sich ein ähnliches Bild wie bei der Gesamtübersicht. Die mittlere Wiederfindungsrate für Ochratoxin A im Schrot (n=106 Proben) lag bei 73,0 % und in Pellets (n=86 Proben) bei 73,2 %. Für die Wiederfindungsraten von Zearalenon ergab sich ein Mittelwert von 67,3 % beim Schrot und 68,7 % bei Pellets.

Die niedrigste Wiederfindungsrate von Ochratoxin A im Schrot lag bei 40,8 %, bei Pellets bei 39,2 %. Die geringste Zearalenon-Wiederfindungsrate wurde in Pellets mit 28,9 %, im Schrot mit 32,4 % ermittelt. Die Maxima der Wiederfindungsraten bei Ochratoxin A lagen bei 99,6 % (Pellets) und 101,0 % (Schrot), für Zearalenon lagen die Maxima bei 135,9 % (Pellets) und 150,0 % (Schrot).

Die Wiederfindungsraten von Ochratoxin A und Zearalenon in Schrot und Pellets unterschieden sich nicht signifikant ($p > 0,05$) voneinander.

3.3 Untersuchungsergebnisse

Wie bereits in Kapitel 3.1.1.1 erwähnt, wurde im Rahmen dieser Feldstudie in 192 toxinunverdächtigen Betrieben die Lagerung des Futters etc. mittels Fragebogen erfaßt und von jedem Betrieb sowohl eine Futterprobe, als auch der Blutserumpool auf ihren Gehalt an Toxinen untersucht.

Parallel zu dieser Feldstudie sind in die Tierärztliche Ambulanz in Schwarzenbek (TAS) Verdachtsproben zur Untersuchung eingesandt worden.

Bei diesen Proben handelte es sich entweder um Blut oder um Futtermittel, hauptsächlich aus Schleswig-Holstein, die von Tierärzten speziell zur Mykotoxinuntersuchung eingeschickt wurden.

Im Rahmen der Futterproben wurde auch Stroh auf seine Toxinbelastung untersucht (siehe Kap. 3.1.1.2).

3.3.1 Untersuchungsergebnisse der Feldstudie

Im Zeitraum Januar 1993 bis Juli 1994 wurden insgesamt 192 Untersuchungen durchgeführt. Jede Untersuchung beinhaltete eine Blut- und eine Futterprobe auf beide Mykotoxine.

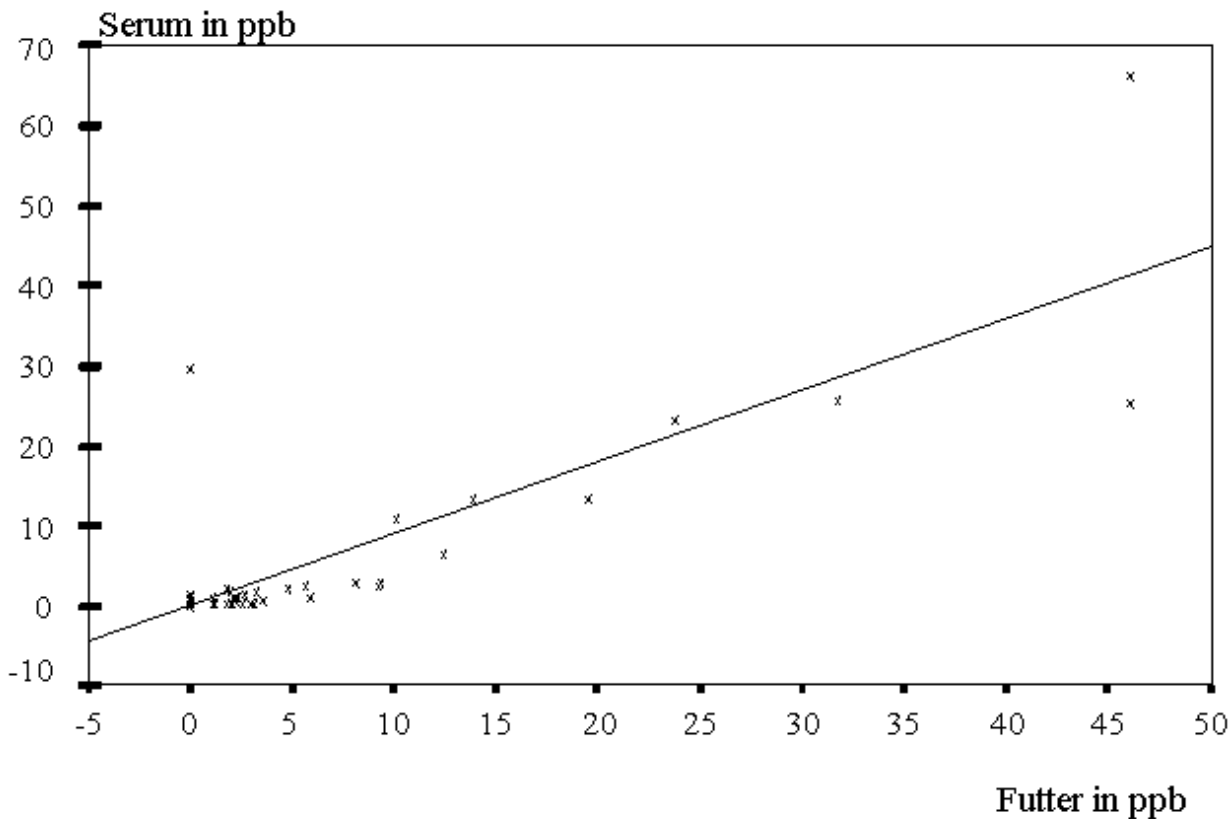
Sowohl die Futterprobe, als auch der Serumpool wurden zufällig, und somit ohne Verdacht auf eine Toxinbelastung, in Schweinebeständen in Schleswig-Holstein gezogen.

Tabelle 9: Toxinverteilung innerhalb der Feldstudie

Feldstudie	Gesamtanzahl der Proben	Anzahl der positiven Proben	Prozent der positiven Proben
Futter-Ochratoxin A	192	33	17,2%
Futter-Zearalenon	192	129	67,2%
Serum-Ochratoxin A	192	122	63,5%
Serum-Zearalenon	192	11	5,7%

17,2 % (n=33) der Futterproben und 63,5 % (n=122) der Blutproben erwiesen sich als Ochratoxin A positiv. In 5,7 % (n=11) der Seren und 67,2 % (n=129) der Futtermittel konnte eine Zearalenon-Belastung nachgewiesen werden.

Abbildung 8: Übereinstimmung der Ochratoxin A-Belastung des Serums mit dem Futter (Scattergram)



Die graphische Darstellung der Abbildung 8 zeigt die Übereinstimmung der Futtermittelbelastung mit den Ochratoxin A-Gehalten des Serums. Jeder Punkt entspricht einem untersuchten Betrieb.

Auffällig war vor allem der Serumwert von 29,67 ppb Ochratoxin A, dessen dazu gehörender Futterwert bei 0,0 ppb lag. Hierbei handelte es sich um einen Mastbetrieb, welcher zwei Tage vor der Probenentnahme eine neue Futtercharge erhielt.

3.3.2 Untersuchungsergebnisse der Einsendungen

Im vergleichbaren Zeitraum vom Januar 1993 bis Juli 1994 wurden von Tierärzten hauptsächlich aus Schleswig-Holstein sowohl Futter-, als auch Blutproben zur Untersuchung auf Ochratoxin A und/oder Zearalenon an die Tierärztliche Ambulanz in Schwarzenbek (TAS) eingesandt.

Im genannten Zeitraum wurden 195 Futterproben auf Ochratoxin A und 199 Futterproben auf Zearalenon untersucht. Des weiteren wurden 138 Serumproben auf Ochratoxin A und 42 Serumproben auf Zearalenon getestet.

Zu den Probeneinsendungen lagen meist keinerlei Vorberichte vor, so daß keine Aussage über die Lagerung, Dauer der Fütterung oder Herkunft des Futters gemacht werden konnte (siehe Kap.3.1.1.2).

Bei diesen Proben bestand der Verdacht der Kontamination mit einem oder sogar beiden Mykotoxinen.

Tabelle 10: Toxinverteilung innerhalb der Einsendungen

TAS-Einsendungen	Gesamtanzahl der Proben	Anzahl der positiven Proben	Prozent der positiven Proben
Futter-Ochratoxin A	192	35	18,2%
Futter-Zearalenon	199	162	81,4%
Serum-Ochratoxin A	138	60	43,5%
Serum-Zearalenon	42	3	7,1%

Ochratoxin A konnte in 18,2 % (n=35) der Futtermittel (n=192) und 43,5 % (n=60) der Seren (n=138) nachgewiesen werden.

Der Zearalenonnachweis fiel in 81,4 % (n=162) der Futtermittel (n=199) und 7,1 % (n=3) der Seren (n=42) positiv aus.

3.3.3 Nachweis von Ochratoxin A

Im Folgenden werden zuerst die Ochratoxin A- und anschließend die Zearalenon-Belastungen besprochen.

3.3.3.1 Gegenüberstellung der Toxinwerte aus der Feldstudie und den Einsendungen

Nachfolgend werden erst die Serumwerte der Feldstudie denen der wegen Mykotoxinverdachts eingesandten Proben gegenübergestellt. Anschließend folgt die Gegenüberstellung der Futterwerte beider Gruppen.

3.3.3.1.1 Vergleich der Ochratoxin A-Belastungen im Serum

Im Zeitraum Januar 1993 bis Juli 1994 wurden 138 Serumproben zur Toxinuntersuchung an die Tierärztliche Ambulanz geschickt. Diese Proben wurden wegen des Mykotoxinverdachts eingesandt.

Parallel dazu wurden 192 zufällig ausgesuchte Seren von Schweinen in dieser Feldstudie auf Ochratoxin A untersucht. Die Proben wurden generell in Betrieben gezogen, die keinerlei Verdacht einer Toxinbelastung aufwiesen.

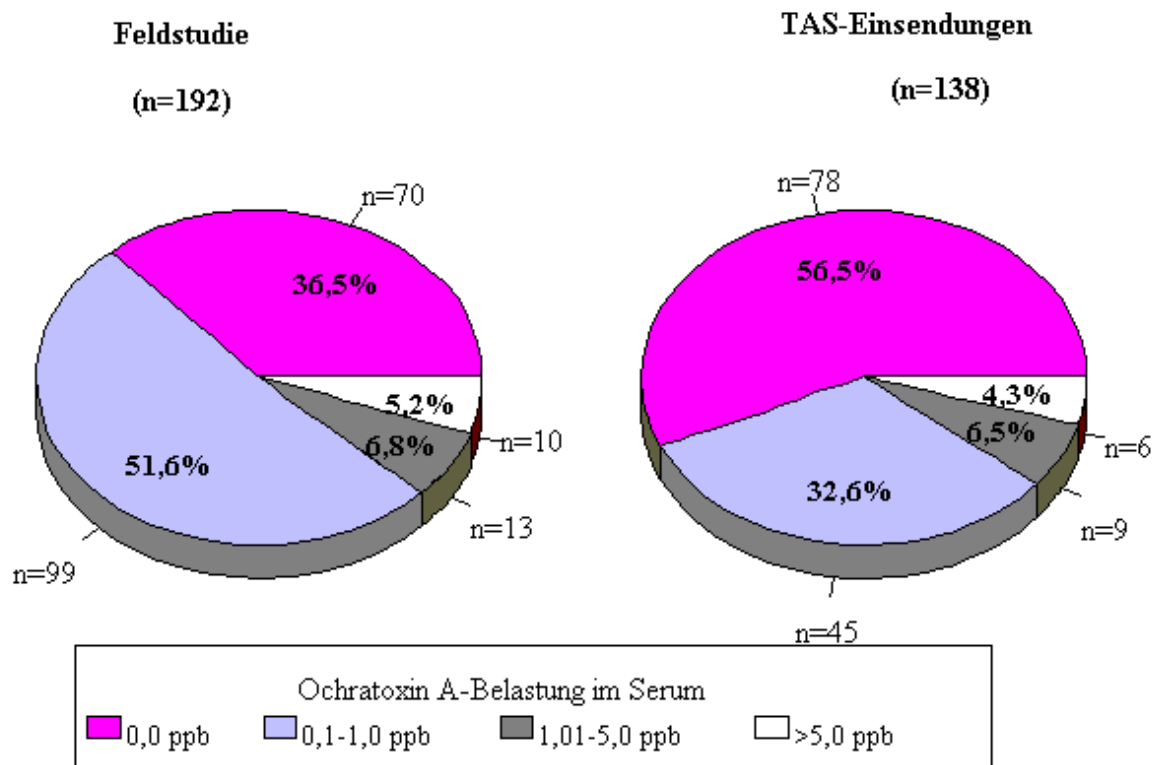


Abbildung 9: Ochratoxin A-Belastung im Serum

In 43,5 % (n=60) der wegen Mykotoxinverdachts eingesandten Seren konnte Ochratoxin A nachgewiesen werden.

Innerhalb der Feldstudie erwiesen sich 63,5 % (n=122) der Seren als Ochratoxin A positiv.

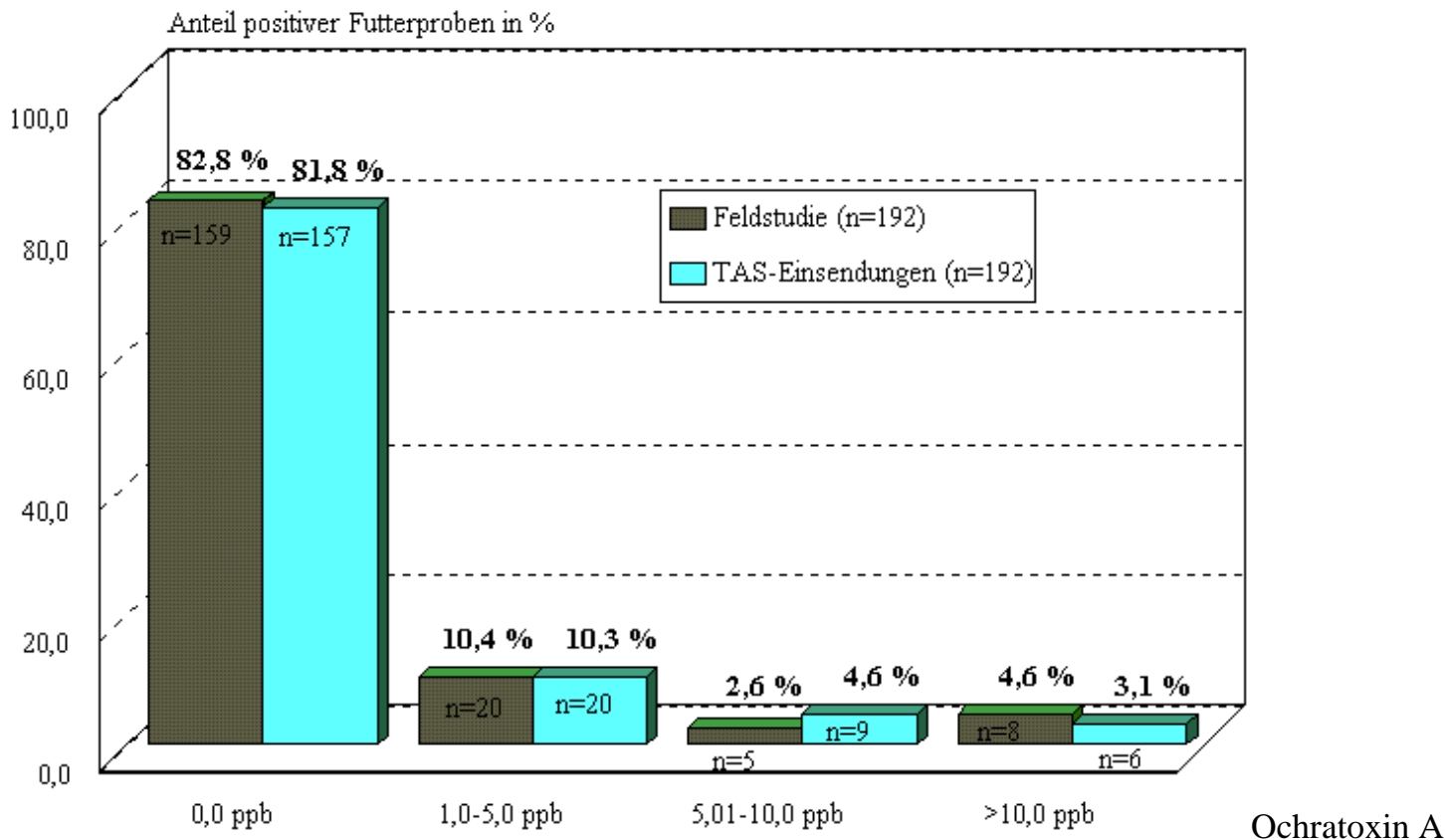
In den 192 Seren der Feldstudie wurde ein Mittelwert von 1,4 ppb Ochratoxin A ermittelt. Die im selben Zeitraum aufgrund eines Verdachts auf Mykotoxine eingesandten 138 Seren wiesen einen Mittelwert von 0,8 ppb Ochratoxin A auf.

Mit Hilfe der Kreuztabelle (Chi-Quadrat-Test) konnte eine signifikant ($p=0,0003$) höhere Ochratoxin A-Belastung im Serum der Feldstudie gegenüber den Einsendungen an die Tierärztliche Ambulanz festgestellt werden.

3.3.3.1.2 Vergleich der Ochratoxin A-Belastungen im Futtermittel

Nachfolgend werden die 192 Verdachtseinsendungen den ebenfalls 192 Untersuchungsproben der Feldstudie gegenübergestellt.

Abbildung 10: Ochratoxin A-Belastung im Futter



Innerhalb des Untersuchungszeitraumes wurde die gleiche Anzahl an Futtermitteln in beiden Gruppen analysiert. In den 192 Futtermitteln der Feldstudie waren 17,2 % (n=33) Ochratoxin A positiv. Bei den 192 Einsendungen wegen Mykotoxinverdachts waren 18,2 % (n=35) Ochratoxin A positiv.

Die Ochratoxin A-Belastung des Futters beider Gruppen wiesen keine signifikante Differenz auf ($p>0,05$).

3.3.3.2 Verteilung der Ochratoxin A-Belastung mit Berücksichtigung verschiedener Einflußfaktoren

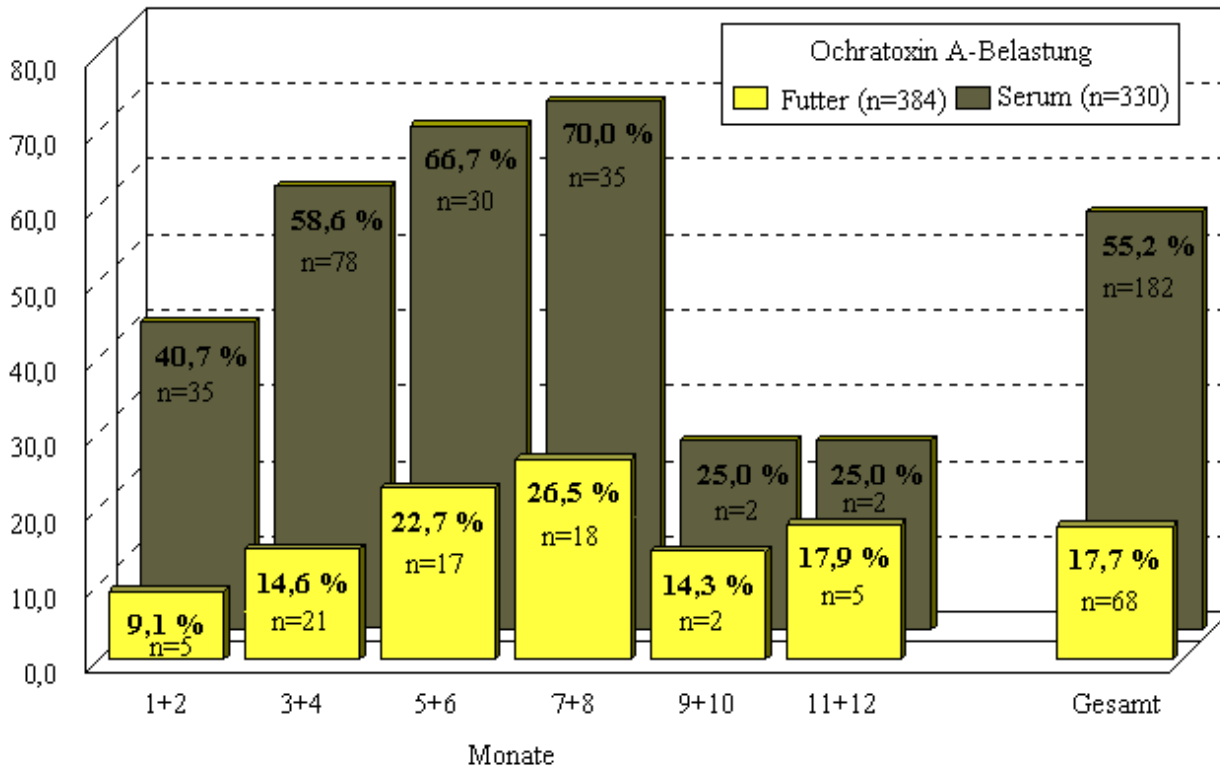
In den nachfolgenden Kapiteln werden die verschiedenen Einflußfaktoren, die in den Fragebögen ermittelt wurden, im Einzelnen dargestellt. Zu diesen gehörten die Saisonalität, die Probenherkunft, die Betriebsart, die Lagerbedingungen, die Futtermittelherkunft sowie die Einstreu.

3.3.3.3 Saisonalität der Ochratoxin A-Belastung

In der nachfolgenden Graphik wurden die Proben der Feldstudie mit den Proben der Einsendungen zusammengefaßt. Somit wurden insgesamt 384 Futterproben und 330 Serumproben auf Ochratoxin A untersucht.

Abbildung 11: Anteil (%) Ochratoxin A positiver Proben, jeweils 2 Monate zusammengefaßt.

Anteil positiver Proben in %



Bei der Zusammenfassung aller Untersuchungsproben aus der Feldstudie und den Verdachtsproben, die an die Tierärztliche Ambulanz in Schwarzenbek gesandt wurden, ergab sich eine durchschnittliche Belastung der Futterproben mit Ochratoxin A von 55,2 % (n=182).

Die Serumproben waren durchschnittlich mit 17,7 % (n=68) Ochratoxin A belastet.

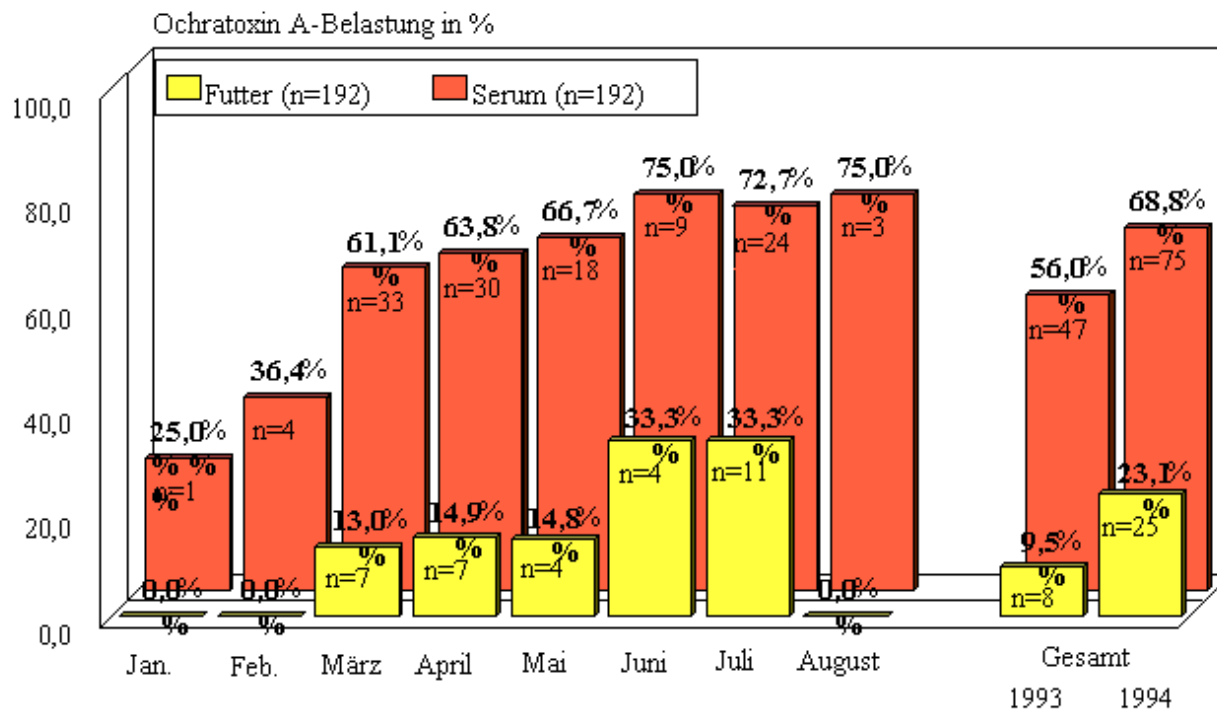
Innerhalb der Futterproben lagen nur die Monate Januar/Februar sowie September/Okttober und November/Dezember unter dem Durchschnitt.

In den Serumproben konnten sowohl in den Monaten Mai/Juni, als auch Juli/August Ochratoxin A-Belastungen festgestellt werden, welche über dem Gesamtdurchschnitt aller Proben lagen.

3.3.3.3.1 Ochratoxin A-Belastung in den verschiedenen Entnahmemonaten

Die Proben der Feldstudie stammten aus den Jahren 1993 und 1994. In diesen beiden Jahren wurde jeweils das erste Halbjahr beprobt.

Abbildung 12: Saisonalität der Ochratoxin A-Belastung der Feldstudie



Generell lag die Ochratoxin A-Belastung im Jahresdurchschnitt 1993 niedriger als 1994. Im Futter war die Belastung 1993 signifikant ($p=0,0142$) niedriger gegenüber 1994, im Serum wurde die Signifikanzgrenze ($p=0,0616$) nur knapp überschritten.

Bei den Futtermitteln konnten 1993 durchschnittlich 9,6 % ($n=8$) der Proben mit einer Ochratoxin A-Kontamination identifiziert werden. 1994 waren insgesamt 22,9 % ($n=25$) der Futterproben positiv.

Im Serum wurde 1993 in 56,6 % ($n=47$) der Proben Ochratoxin A nachgewiesen, 1994 waren 68,8 % ($n=75$) belastet.

Die monatliche Zunahme der Ochratoxin A-Belastung im Serum vom Januar bis zum August jedes Jahres konnte mit Hilfe des H-Tests nach Kruskal und Wallis als signifikant ($p=0,0325$) eingestuft werden.

3.3.3.2 Ochratoxin A-Belastung in Beziehung zur Probenherkunft

Die 192 Proben der Feldstudie ließen sich bezüglich ihrer Herkunft in drei Gruppen einteilen:

AMBU: 52 Proben, im Zeitraum Februar 1993 bis Juli 1994 aus dem Einzugsgebiet der Tierärztlichen Ambulanz Schwarzenbek gezogen.

AK: 44 Proben, im Zeitraum Januar 1993 bis Januar 1994 im Rahmen des AK-Projektes im nördlichen Schleswig-Holstein gezogen.

ITL: 96 Proben, im Zeitraum Januar 1994 bis Juli 1994 in Zusammenarbeit mit dem ITL Kiel aus Gesamt-Schleswig-Holstein gezogen.

Diese drei Gruppen unterscheiden sich in ihrer zeitlichen Ausdehnung, ihrer regionalen Herkunft sowie der Anzahl der Proben.

Tabelle 11: Übersicht der Ochratoxin A-Werte innerhalb der verschiedenen Probenherkünfte

	AMBU		AK		ITL	
	Februar 93 - Juli 94		Januar 93 - Januar 94		Januar 94 - Juli 94	
Höhe (ppb)	Serum	Futter	Serum	Futter	Serum	Futter
	% (n)	% (n)	% (n)	% (n)	% (n)	% (n)
0,0	57,7 (30)	90,4 (47)	31,8 (14)	86,4 (38)	27,1 (26)	77,1 (74)
0,1-2,0	38,5 (20)	1,9 (1)	59,1 (26)	4,5 (2)	63,5 (61)	4,2 (4)
2,1-4,0	0,0 (0)	1,9 (1)	4,5 (2)	2,3 (1)	4,2 (4)	10,4 (10)
4,1-10,0	1,9 (1)	3,8 (2)	0,0 (0)	4,5 (2)	0,0 (0)	3,1 (3)
10,1-20,0	0,0 (0)	0,0 (0)	4,5 (2)	2,3 (1)	1,0 (1)	2,1 (2)

20,0	1,9 (1)	1,9 (1)	0,0 (0)	0,0 (0)	4,2 (4)	3,1 (3)
Gesamt	52	52	44	44	96	96
Median	0,0 ppb	0,0 ppb	0,2 ppb	0,0 ppb	0,2 ppb	0,0 ppb
Mittelwert	0,7 ppb	0,7 ppb	1,0 ppb	0,8 ppb	2,0 ppb	2,3 ppb
Mittelwert Positive	1,7 ppb	7,7 ppb	1,4 ppb	7,3 ppb	2,8 ppb	9,4 ppb
Anzahl (%) Positive	22 (42,3)	5 (9,6)	30 (68,2)	5 (11,4)	70 (72,9)	23 (24,0)

Innerhalb der Proben der AMBU wurden 42,3 % (n=22) der Seren und 9,6 % (n=5) der Futtermittel als Ochratoxin A positiv ermittelt.

In den Proben des AK-Projektes konnten 68,2 % (n=30) der Seren und 11,4 % (n=5) der Futtermittel als Ochratoxin A positiv ermittelt werden. Die Proben dieser beiden Gruppen stammten hauptsächlich aus dem Jahr 1993.

Bei den Proben des ITL konnten 72,9 % (n=70) der Seren und 24,0 % (n=23) der Futtermittel als Ochratoxin A positiv ermittelt werden. Alle Proben des ITL wurden im Jahre 1994 gezogen.

Mit Hilfe des H-Tests nach Kruskal und Wallis konnte nachgewiesen werden, daß ein signifikanter Unterschied ($p=0,0007$) zwischen den Serumgehalten der drei Gruppen bestand.

Dieser signifikante Unterschied konnte durch den U-Test nach Mann und Whitney sowohl zwischen den Gruppen AMBU und ITL ($p=0,0002$), als auch den Gruppen AMBU und AK ($p=0,0038$) festgestellt werden.

Innerhalb der Futtermittelgehalte bestand ein signifikanter Unterschied ($p=0,0497$) zwischen den Proben des ITL und denen der AMBU.

3.3.3.4 Ochratoxin A-Belastung mit Berücksichtigung der Betriebsart

Innerhalb der Feldstudie wurden Proben aus 30 Sauenhaltungs- und 162 Mastbetrieben untersucht.

3.3.3.4.1 Ochratoxin A-Belastung in Sauenbetrieben

Tabelle 12: Ochratoxin A-Belastung in Sauenbetrieben

Werte in ppb	Serumwerte		Futterwerte	
	Anzahl (n)	Prozent %	Anzahl (n)	Prozent %
0,0	19	63,3	27	90,0
0,1-2,0	9	30,0	0	0,0
2,1-4,0	0	0,0	1	3,3
4,1-10,0	0	0,0	1	3,3
10,1-20,0	1	3,3	0	0,0
20,1	1	3,3	1	3,3
Gesamt	30		30	
Median	0,0 ppb		0,0 ppb	
Mittelwert	1,4 ppb		1,9 ppb	
Mittelwert Positive	3,9 ppb n=11	36,7%	19,2 ppb n=3	10,0%

Innerhalb der 30 untersuchten Sauenbetriebe waren drei Futterproben (10 %) Ochratoxin A positiv. Das arithmetische Mittel der Futterwerte betrug 1,9 ppb, der Median lag bei 0,0 ppb Ochratoxin A.

11 Blutproben der Sauen (36,7 %) waren Ochratoxin A positiv, mit einem Mittelwert von 1,4 ppb und einem Median von 0,0 ppb.

3.3.3.4.2 Ochratoxin A-Belastung in Mastbetriebe

Tabelle 13: Ochratoxin A-Belastung in Mastbetrieben

Werte in ppb	Serumwerte		Futterwerte	
	Anzahl (n)	Prozent %	Anzahl (n)	Prozent %
0,0	51	31,5	132	81,5
0,1-2,0	98	60,5	7	4,3
2,1-4,0	6	3,7	11	6,8
4,1-10,0	1	0,6	5	3,1
10,1-20,0	2	1,2	4	2,5
20,1	4	2,5	3	1,8
Gesamt	162		162	
Median	0,2 ppb		0,0 ppb	
Mittelwert	1,4 ppb		1,4 ppb	
Mittelwert Positive	2,1 ppb n=110	68,5%	7,8 ppb n=30	18,5%

Insgesamt wurden 162 Proben aus Mastbetrieben auf Ochratoxin A untersucht.

Bei den Mastbetrieben zeigten 68,5 % der Seren (n= 110) positive Werte. Der Mittelwert aller Seren aus Mastbetrieben ergab einen Wert von 1,4 ppb Ochratoxin A.

Innerhalb des Mastfutters waren 30 Proben (18,5 %) Ochratoxin A positiv, ihr Mittelwert lag ebenfalls bei 1,4 ppb.

Das Serum der Mastschweine war signifikant ($p=0,0047$) häufiger Ochratoxin A belastet als das Serum der Sauen.

3.3.3.5 Auswirkung der Lagerbedingungen auf die Ochratoxin A-Werte

Das Untersuchungsgut konnte in drei Gruppen mit unterschiedlichen Lagerbedingungen eingeteilt werden:

ohne Silo: n=20 Betriebe; das Futter wurde entweder in Bodenschüttung (n=16 Betriebe) oder in Säcken (n=4 Betriebe) gelagert.

Innensilo: n=106 Betriebe; das Futter wurde innerhalb eines Gebäudes im Silo aufbewahrt.

Außensilo: n=66 Betriebe; das Futter wurde außerhalb der Gebäude im Silo gelagert.

Tabelle 14: Verteilung der Ochratoxin A-Belastungen innerhalb der verschiedenen Lagerbedingungen

Werte in ppb	ohne Silo n=20				Innensilo n=106				Außensilo n=66			
	Serum (n) (%)		Futter (n) (%)		Serum (n) (%)		Futter (n) (%)		Serum (n) (%)		Futter (n) (%)	
0,0	11	55,0	13	65,0	36	34,0	83	78,3	23	34,8	63	95,5
0,1-2,0	5	25,0	2	10,0	62	58,5	4	3,8	40	60,6	1	1,5
2,1-4,0	1	5,0	0	0,0	3	2,8	11	10,4	2	3,0	1	1,5
4,1-10,0	0	0,0	1	5,0	1	0,9	4	3,8	0	0,0	1	1,5
10,1-20,0	0	0,0	1	5,0	3	2,8	3	2,8	0	0,0	0	0,0
20,1	3	15,0	3	15,0	1	0,9	1	0,9	1	1,5	0	0,0
Gesamt	20		20		106		106		66		66	
Median	0,0 ppb		0,0 ppb		0,2 ppb		0,0 ppb		0,2 ppb		0,0 ppb	
Mittelwert	6,2 ppb		7,8 ppb		0,9 ppb		1,2 ppb		0,8 ppb		0,2 ppb	
Anzahl / % Positive	n=9	45,0	n=7	35,0	n=70	66,0	n=23	21,7	n=43	65,2	n=3	4,5

Sowohl bei der Futterlagerung im Innen- (66,0 % Ochratoxin A positiv; n=70), als auch im Außensilo (65,2 % Ochratoxin A positiv; n=43) waren im Serumpool der jeweiligen Schweine häufiger positive Werte zu finden, als in der Gruppe ohne Silo (45,0 % Ochratoxin A positiv;

n=9).

Mit 4,5 % Ochratoxin A positiven Proben (n=3) lag die Belastung der Futtermittel in den Außensilos unter den Werten der anderen beiden Gruppen.

Mit Hilfe des H-Tests nach Kruskal und Wallis konnte ein hoch signifikanter Unterschied (p=0,0008) der Ochratoxin A-Belastung im Futter bezüglich der Lagerart ermittelt werden.

Beim U-Test nach Mann und Whitney bestand ein signifikanter Unterschied zwischen der Lagerung ohne Silo und dem Außensilo (p=0,0001) sowie der Lagerung im Innen- und im Außensilo (p=0,0024).

Die Lagerung im Außensilo zeigte signifikant niedrigere Ochratoxin A-Belastungen des Futters.

3.3.3.6 Futtermittelherkunft

Bei der Futtermittelherkunft konnten die Betriebe in zwei Gruppen unterteilt werden:

I. Betriebe mit betriebseigenem Futter, der Hauptanteil des Getreides wurde auf dem eigenen Hof hergestellt. Mineralstofffutter bzw. Eiweißergänzungen wurden zugekauft (n=63).

II. Betriebe mit Zukauffutter, das gesamte Futter wurde als Fertigfutter (Alleinfutter) von einem fremden Hersteller bezogen (n=129).

3.3.3.6.1 Ochratoxin A-Gehalte bei betriebseigenem Futter

Tabelle 15: Ochratoxin A bei betriebseigenem Futter

Werte in ppb	Serumwerte		Futterwerte	
	Anzahl (n)	Prozent %	Anzahl (n)	Prozent %
0,0	36	57,1	50	79,4
0,1-2,0	18	28,6	2	3,2
2,1-4,0	2	3,2	3	4,8
4,1-10,0	1	1,6	3	4,8
10,1-20,0	2	3,2	1	1,6
20,1	4	6,3	4	6,3
Gesamt	63		63	
Median	0,0 ppb		0,0 ppb	
Mittelwert	2,9 ppb		3,2 ppb	
Mittelwert der Positiven	6,9 ppb n =27	42,9%	15,5 ppb n =13	20,6%

20,6 % (n=13) aller betriebseigenen Futtermittel waren Ochratoxin A positiv. Das arithmetische Mittel der Ochratoxin A- Futterwerte lag bei 3,2 ppb. Der Median betrug 0,0 ppb. Von den 63 Seren, die in Betrieben mit eigenem Futter entnommen wurden, waren 42,9 % Ochratoxin A positiv (n=27). Der Mittelwert dieser Seren lag bei 2,9 ppb Ochratoxin A, der Median bei 0,0 ppb.

3.3.3.6.2 Ochratoxin A-Gehalte bei Zukauffutter

Tabelle 16: Ochratoxin A Werte bei Zukauffutter

Werte in ppb	Serumwerte		Futterwerte	
	Anzahl (n)	Prozent %	Anzahl (n)	Prozent %
0,0	34	26,4	109	84,5
0,1-2,0	89	69,0	5	3,9
2,1-4,0	4	3,1	9	7,0
4,1-10,0	0	0,0	3	2,3
10,1-20,0	1	0,8	3	2,3

20,1	1	0,8	0	0,0
Gesamt	129		129	
Median	0,2 ppb		0,0 ppb	
Mittelwert	0,7 ppb		0,7 ppb	
Mittelwert der Positiven	0,9 ppb n =95	73,6%	4,4 ppb n =20	15,5%

15,5 % (n=20) aller Zukauffutter (n=129) waren Ochratoxin A positiv. Der Mittelwert lag bei 0,7 ppb, der Median bei 0,0 ppb Ochratoxin A.

Die Seren aus den Betrieben mit Zukauffutter wiesen zu 73,6 % (n=95) eine Ochratoxin A-Belastung auf. Der Mittelwert dieser Seren lag bei 0,7 ppb, der Median bei 0,2 ppb Ochratoxin A.

Die Seren aus Betrieben mit Zukauffutter waren signifikant (p=0,0073) häufiger Ochratoxin A belastet gegenüber Betrieben mit hofeigenem Futter.

3.3.4 Nachweis von Zearalenon

In den nachfolgenden Kapiteln werden die Zearalenonbelastungen des Futters und des Serums unter verschiedenen Gesichtspunkten dargestellt.

3.3.4.1 Zearalenongehalte in den Proben der Feldstudie und den Einsendungen

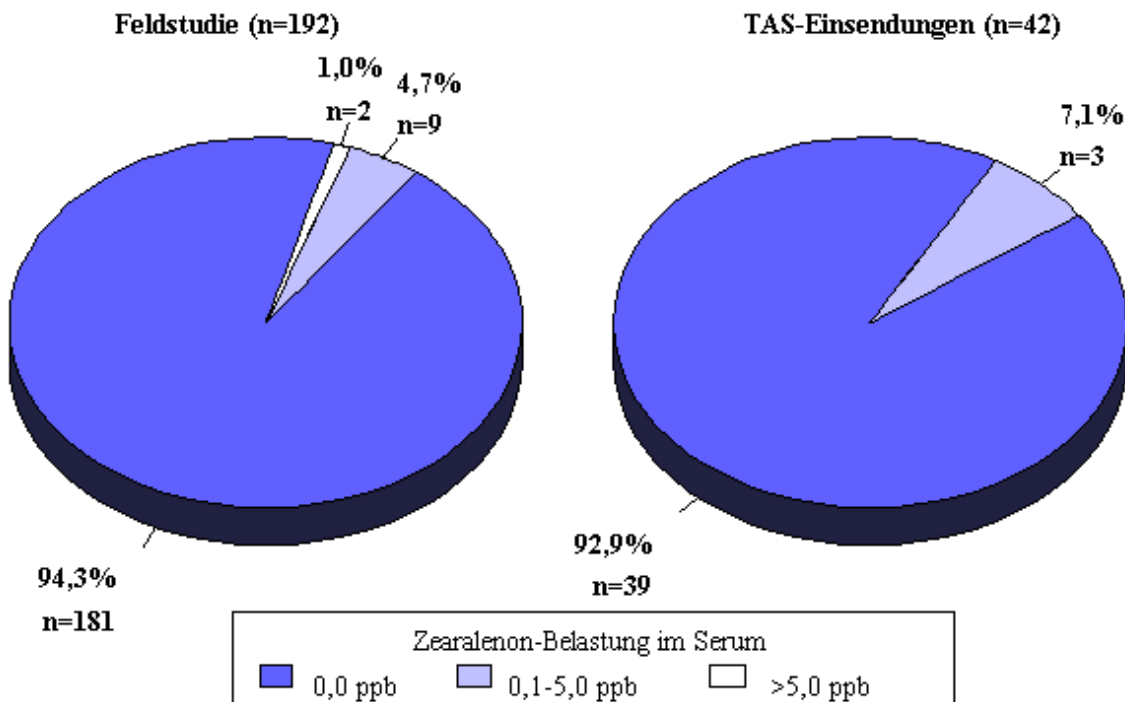
Bei den Proben der Feldstudie handelte es sich um die zufällig ausgewählten 192 Betriebe mit vollständig erfaßtem Fragebogen.

Durch Einsendungen gelangten 42 Seren und 199 Futterproben aufgrund eines Mykotoxinverdachts zur Untersuchung.

3.3.4.1.1 Zearalenon-Belastung im Serum

In der nachfolgenden Darstellung werden die Zearalenon-Nachweise der Feldstudie denen der TAS-Einsendungen gegenübergestellt.

Abbildung 14: Vergleich der Zearalenon-Belastungen im Serum



Insgesamt waren 11 Seren (5,7 %) der Feldstudie Zearalenon positiv. Lediglich in zwei Seren (1 %) konnte ein Toxingehalt über 5,0 ppb nachgewiesen werden.

Somit errechnet sich ein Mittelwert von 0,1 ppb Zearalenon, innerhalb der positiven Seren (n=11) von 2,0 ppb Zearalenon. Der Median lag bei 0,0 ppb Zearalenon.

Im gleichen Zeitraum wurden 42 Serumproben zur Zearalenonuntersuchung an die Tierärztliche Ambulanz in Schwarzenbek (TAS) eingesandt. Davon waren drei Seren (7,1 %) Zearalenon positiv. Ihr Mittelwert betrug 0,1 ppb, der Mittelwert der positiven Proben betrug 1,1 ppb. Der Median lag bei 0,0 ppb.

Die Zearalenongehalte im Serum beider Gruppen unterschieden sich bezüglich des Chi-Quadrat-Tests nicht signifikant ($p > 0,05$) voneinander.

In den folgenden Kapiteln wurden den Zearalenon-Serumgehalten meist keine eigene Darstellung gewidmet, da eine statistische Auswertung dieser kleinen Gruppe nicht sinnvoll erschien.

3.3.4.1.2 Zearalenon-Belastungen im Futtermittel

Bei der Zearalenon-Belastung des Futters wurden die Werte der zufällig ausgewählten Proben der Feldstudie denen der Verdachtseinsendungen gegenübergestellt.

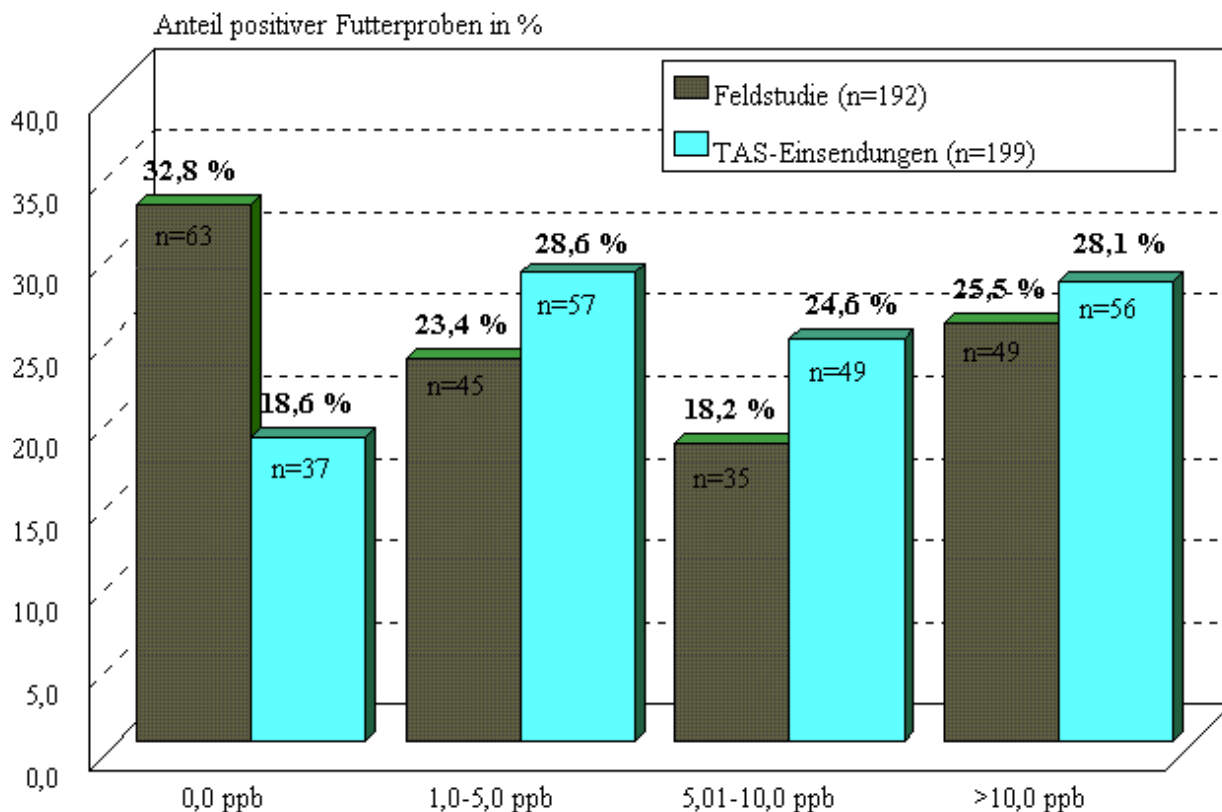


Abbildung 15: Vergleich der Zearalenon-Belastungen im Futter

In den Futtermitteln, die wegen Zearalenonverdachts eingesandt wurden, wurde mit 81,6 % ($n = 162$) häufiger Zearalenon nachgewiesen, als in den Proben der Feldstudie, innerhalb derer 67,2 % ($n = 129$) der Futterproben positiv waren. Aber auch der Mittelwert (13,3 ppb) und der Median (5,5 ppb) lagen bei den Verdachtseinsendungen höher als innerhalb der Feldstudie (Mittelwert: 6,8 ppb, Median: 10,1 ppb Zearalenon). Die Futterproben aus mykotoxinverdächtigen Betrieben wiesen im Bezug auf den Zearalenongehalt einen signifikant ($p = 0,0012$) höheren Prozentsatz an Toxin auf, als zufällig ausgewählte Proben der Feldstudie.

3.3.4.2 Zearalenonbelastung mit Berücksichtigung verschiedener Einflußfaktoren

Zu den Faktoren, die innerhalb dieser Studie ermittelt wurden, zählen der Zeitpunkt der Probenentnahme, die Betriebsart, die Lagerbedingungen sowie die Futtermittelherkunft.

Auf die einzelnen Faktoren wird in den folgenden Kapiteln näher eingegangen (siehe dazu auch Kap. 3.3.3.2).

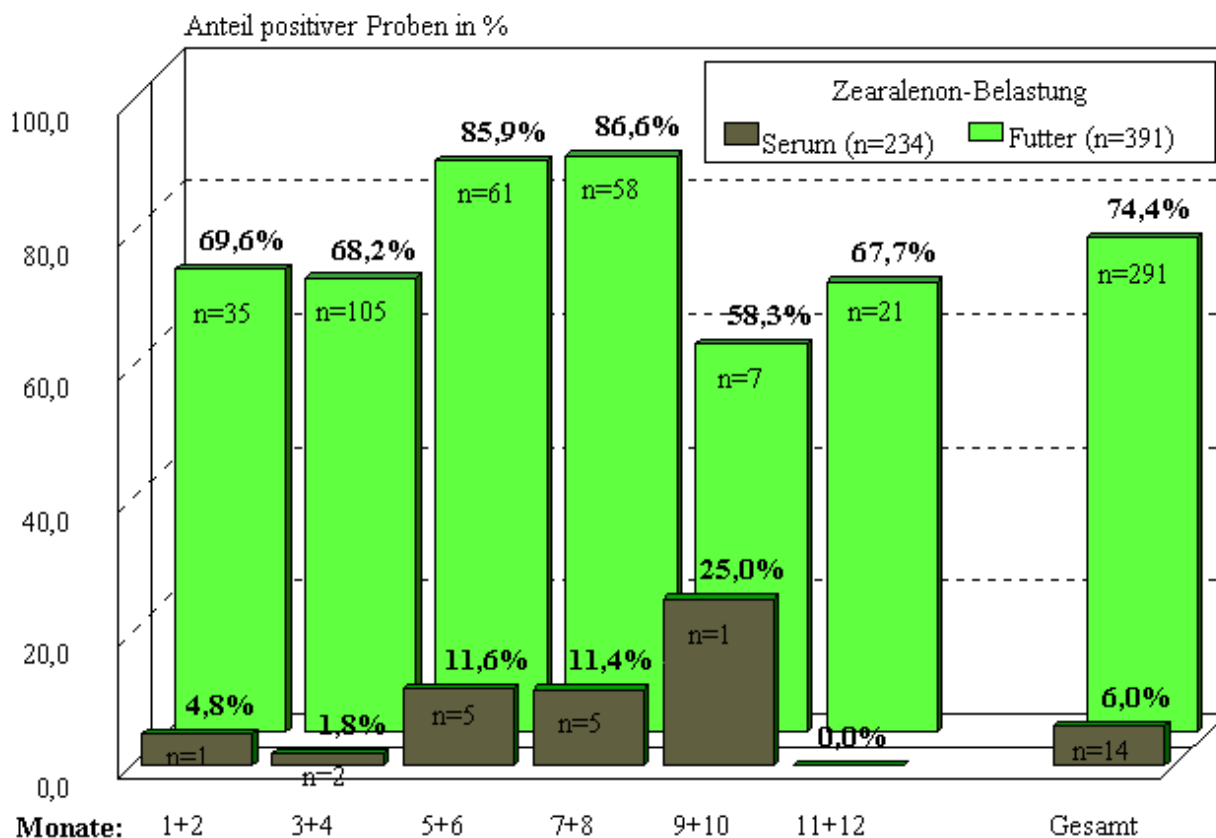
3.3.4.3 Saisonalität der Zearalenon-Belastung

In der nachfolgenden Graphik wurden alle Proben der Feldstudie mit den Verdachtseinsendungen gemeinsam dargestellt.

Da in den einzelnen Monaten sehr unterschiedliche Anzahlen an Proben zur Untersuchung gelangten, wurden jeweils zwei Monate zusammengefaßt.

Im gesamten Untersuchungszeitraum wurden insgesamt 391 Futtermittel und 234 Seren auf Zearalenon getestet.

Abbildung 16: Anteil Zearalenon positiver Proben, jeweils 2 Monate zusammengefaßt.



Durchschnittlich waren 74,4 % (n=291) aller untersuchten Futtermittel Zearalenon positiv.

Die Monate Januar und Februar bzw. März und April lagen mit 69,6 % (n=35) und 68,2 % (n=105) unter dem Gesamtdurchschnitt. In den beiden folgenden Gruppen (Mai/Juni 85,9 % und Juli/August 86,6 %) stiegen die Zearalenonbelastungen über den Jahresdurchschnitt.

Im letzten Drittel des Jahres wurden Zearalenongehalte von 58,3 % (n=7) und 67,7 % (n=21) registriert. Diese Werte lagen wieder unter dem Durchschnitt.

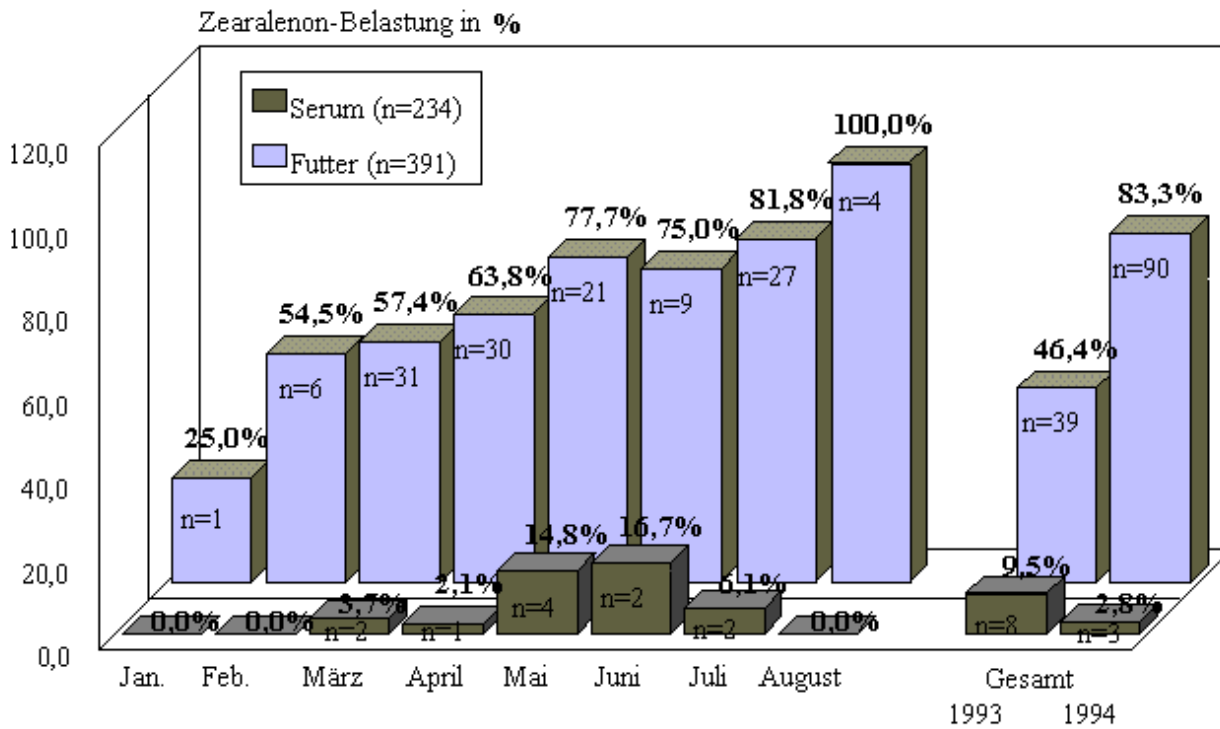
Unter den 234 Seren, die auf Zearalenon untersucht wurden, befanden sich insgesamt 14 (6,0 %) mit einem positiven Toxinnachweis. Außer in den Monaten November und Dezember konnten in allen anderen Monaten einzelne positive Seren ermittelt werden.

3.3.4.3.1 Zearalenon-Belastung im Futter in den verschiedenen Probenentnahmemonaten

Alle 192 Proben des Untersuchungsgutes der Feldstudie wurden in den Monaten Januar bis August der Jahre 1993 und 1994 entnommen. Da in einigen Monaten nur wenige Proben anfielen, wurden die Daten der jeweiligen Monate beider Jahre zusammengefaßt.

Fast im gesamten Untersuchungszeitraum von Januar 1993 bis Juli 1994 konnte Zearalenon in den verschiedenen Futtermitteln festgestellt werden. Lediglich in den Monaten Januar und März 1993 waren die zwei bzw. drei Untersuchungsproben negativ.

Abbildung 17: Saisonalität der Zearalenongehalte



Im Jahre 1993 lag die Zearalenonbelastung in den Monaten Januar bis einschließlich Mai unter dem Durchschnitt (46,4 %) dieses Jahres.

Die Zunahme der Zearalenon-Belastung im Futter innerhalb der einzelnen Monate konnte mit Hilfe des H-Tests nach Kruskal und Wallis als signifikant ($p=0,0388$) bezeichnet werden.

Im Jahre 1994 zeigten nur die Monate Januar und Februar Toxinwerte unter dem Durchschnitt (83,3 %).

Die Zearalenon-Belastung des Jahres 1994 war somit signifikant ($p=0,000$) höher, als das vorhergehende Jahr 1993. Insgesamt waren 67,2 % aller Futterproben Zearalenon positiv.

Die positiven Zearalenon-Serumwerte wurden hauptsächlich im 2. Quartal beider Jahre gefunden. Im Mai beider Jahre waren 22,2 % ($n=6$) der Serumproben Zearalenon positiv. Insgesamt waren 5,7 % ($n=11$) der Seren Zearalenon positiv.

3.3.4.3.2 Zearalenon-Belastung der Futtermittel in Beziehung zur Probenherkunft

Tabelle 17: Zearalenonwerte der verschiedenen Entnahmezeiträume

	AMBU		AK		ITL	
Zeitraum	Februar 93 - Juli 94		Januar 93 - Januar 94		Januar 94 - Juli 94	
Futterwerte in ppb	% n=		% n=		% n=	
0,0	51,9	21	47,7	27	15,6	15
1,0-2,0	3,8	4	9,1	2	3,1	3
2,1-4,0	17,3	6	13,6	9	9,4	9
4,1-10,0	9,6	12	27,3	5	31,2	30

10,1-15,0	5,8	0	0,0	3	16,7	16
15,1-20,0	1,9	1	2,3	1	11,5	11
20,1	9,6	0	0,0	5	12,5	12
Anzahl der Positiven	48,1	23	52,3	25	84,4	81
Gesamt n=	52		44		96	
Median	0,0 ppb		1,3 ppb		7,5 ppb	
Mittelwert	4,2 ppb		2,7 ppb		10,0 ppb	

Die Proben der AMBU und des AK-Projekts wurden 1993 und 1994 entnommen. Innerhalb dieser beiden Gruppen sind 48,1 % (n=23) bzw. 52,3 % (n=25) der Futterproben Zearalenon belastet.

Der Median lag bei 0,0 ppb (AMBU) bzw. 1,3 ppb (AK). Die Berechnung der Mittelwerte ergab 4,2 ppb (AMBU) bzw. 2,7 ppb (AK).

Im Untersuchungsgut des ITL konnte in 84,4 % (n=81) der Futterproben Zearalenon nachgewiesen werden. Diese Futtermittel stammten aus den Monaten Januar bis Juli 1994. Innerhalb dieser Gruppe lag der Mittelwert bei 10,0 ppb, der Median bei 7,5 ppb.

Mit Hilfe des H-Tests nach Kruskal und Wallis konnte ermittelt werden, daß ein signifikanter Unterschied sowohl beim Serum ($p=0,0080$), als auch bei den Futtermitteln ($p=0,0000$) in der Zearalenon-Belastung zwischen den Proben der drei Gruppen bestand.

Durch den Vergleich zweier Gruppen gegeneinander im U-Test nach Mann und Whitney konnte gezeigt werden, daß die Signifikanzen sowohl zwischen der Gruppe AMBU und dem ITL (für Serum $p=0,0017$, für Futter $p=0,0000$), als auch der AK-Gruppe und dem ITL (für Serum $p=0,0609$ nicht signifikant, für Futter $p=0,0000$) bestand.

Die Gruppen AK und AMBU zeigten keinerlei signifikante Differenzen bezüglich der Zearalenon-Belastung.

Die signifikant höhere Zearalenon-Belastung der Futtermittel ($p=0,0000$) des Jahres 1994 ließ sich auch bei der Gegenüberstellung beider Jahre nachweisen (Kapitel 3.3.4.3.1, Abb. 17).

Die Toxinbelastung der Seren unterschied sich 1993 nicht signifikant von 1994, ergab aber eine deutliche Tendenz ($p=0,0560$).

3.3.4.4 Zearalenon-Belastung des Futters mit Berücksichtigung der Betriebsart

Die Proben der Feldstudie wurden insgesamt in 30 Sauenbetrieben und 162 Mastbetrieben entnommen. Aus jedem Betrieb wurde ein Serumpool und eine Futterprobe untersucht.

3.3.4.4.1 Zearalenon-Belastung in Sauenbetrieben

Tabelle 18: Zearalenonwerte in Sauenbetrieben

in ppb	Futterwerte		Serumwerte	
	%	Anzahl (n)	%	Anzahl (n)
0,0	70,0	21	90,0	27
0,1-2,0	3,3	1	6,7	2
2,1-4,0	10,0	3	0,0	0
4,1-10,0	10,0	3	3,3	1
10,1-15,0	0,0	0	0,0	0
15,1-20,0	0,0	0	0,0	0
20,1	6,7	2	0,0	0
Gesamt	30		30	
Median	0,0 ppb		0,0 ppb	
Mittelwert	2,5 ppb		0,3 ppb	

Mittelwert der Positiven	8,2 ppb 30,0%	n=9	2,6 ppb 10,0%	n=3
--------------------------	-------------------------	-----	------------------	-----

Innerhalb der Feldstudie wurden insgesamt 30 Sauenbetriebe beprobt.

In 30,0 % (n=9) der Futterproben konnte Zearalenon ermittelt werden. Das arithmetische Mittel lag bei 2,5 ppb Zearalenon, der Median bei 0,0 ppb.

Der Serumpool dieser Sauen wies in 10,0 % (n=3) der Proben Zearalenon auf. Der Mittelwert der Seren lag bei 0,3 ppb, der Median bei 0,0 ppb.

3.3.4.4.2 Zearalenon-Belastung in Mastbetrieben

Tabelle 19: Zearalenonwerte bei Mastbetrieben

ppb	Futterwerte		Serumwerte	
	%	Anzahl (n)	%	Anzahl (n)
0,0	25,9	42	95,1	154
0,1-2,0	4,9	8	3,1	5
2,1-4,0	13,0	21	1,2	2
4,1-10,0	27,2	44	0,6	1
10,1-15,0	11,7	19	0,0	0
15,1-20,0	8,0	13	0,0	0
20,1	9,3	15	0,0	0
Gesamt	162		162	
Median	4,8 ppb		0,0 ppb	
Mittelwert	7,6 ppb		0,1 ppb	
Mittelwert der Positiven	10,3 ppb 74,1%	n=120	1,8 ppb 4,9%	n=8

Von den 162 Futterproben aus Mastbetrieben waren 74,1 % (n=120) der Proben Zearalenon positiv.

Der Median wurde bei 4,8 ppb Zearalenon ermittelt. Der Mittelwert ergab 7,6 ppb.

Innerhalb der Seren der Mastschweine wurde in 4,9 % (n=8) der Proben Zearalenon nachgewiesen. Der Mittelwert lag bei 0,1 ppb Zearalenon, der Median wurde bei 0,0 ppb ermittelt.

Mit Hilfe des U-Tests nach Mann und Whitney konnte eine signifikant (p=0,0000) höhere Zearalenon-Belastung des Futters in Mastbetrieben gegenüber den Sauenbetrieben festgestellt werden.

3.3.4.5 Auswirkung der Lagerbedingungen auf die Zearalenongehalte

Tabelle 20: Zearalenonwerte der unterschiedlichen Lagerbedingungen

Futterwerte in ppb	ohne Silo		Innensilo		Außensilo	
	Anzahl %		Anzahl %		Anzahl %	
0,0	10	50,0	41	38,7	12	18,2
1,0-2,0	0	0,0	5	4,7	4	6,1
2,1-4,0	2	10,0	16	15,1	6	9,1
4,1-10,0	5	25,0	23	21,7	19	28,8
10,1-20,0	3	15,0	15	14,1	14	21,2
20,1	0	0,0	6	5,7	11	16,7
Gesamt	20		106		66	
Median	1,1 ppb		2,9 ppb		6,9 ppb	
Mittelwert	4,1 ppb		5,7 ppb		9,4 ppb	
Median der Positiven	5,7 ppb		6,6 ppb		8,1 ppb	
Mittelwert der Positiven	8,1 ppb n=10	50,0%	9,3 ppb n=65	61,3%	11,4 ppb n=54	81,8%

Die Futterproben mit Lagerung im Außensilo (n=66) lagen mit einem Median von 6,9 ppb Zearalenon, einem Mittelwert von 9,4 ppb und 81,8 % (n=54) positiver Proben deutlich über den anderen beiden Gruppen.

Bei der Lagerung in Säcken oder Bodenschüttung (n=20) waren 50,0 % (n=10) der Futtermittel Zearalenon belastet. Ihr Median lag bei 1,1 ppb, der Mittelwert bei 5,7 ppb.

Innerhalb der Lagerung im Innensilo (n=106) konnte in 61,3 % (n=54) der Proben Zearalenon nachgewiesen werden. Der Median lag bei 2,9 ppb, der Mittelwert bei 5,7 ppb.

Sowohl im H-Test nach Kruskal und Wallis (p=0,0013), als auch im U-Test nach Mann und Whitney (Innen/Außen p=0,0012; ohne Silo/Außen p=0,0059) konnte eine signifikant höhere Zearalenon-Belastung im Futter aus Außensilos nachgewiesen werden.

3.3.4.6 Futtermittelherkunft

Bei der Futtermittelherkunft wird in betriebseigenes (n=63) und Zukauffutter (n=129) unterschieden (siehe Kap. 3.3.3.6.).

3.3.4.6.1 Zearalenon-Gehalte in betriebseigenem Futter

63 Proben aus Betrieben mit eigener Futterherstellung wurden auf ihren Gehalt an Zearalenon überprüft.

Tabelle 21: Zearalenonwerte bei betriebseigenem Futter

ppb	Futterwerte	
	% Anzahl (n)	
0,0	39,7	25
1,0-2,0	4,8	3
2,1-4,0	12,7	8
4,1-10,0	19,0	12
10,1-20,0	14,3	9

20,1	9,5	6
Gesamt		63
Median		3,0 ppb
Mittelwert		5,8 ppb
Mittelwert der Positiven	60,3 %	9,5 ppb n=38

60,3 % (n=38) des betriebseigenen Futters war Zearalenon positiv. Der Median dieser Proben lag bei 3,0 ppb, das arithmetische Mittel bei 5,8 ppb Zearalenon.

3.3.4.6.2 Zearalenon-Gehalte im Zukauffutter

Für die Zearalenonuntersuchung standen 129 Futterproben aus gewerblicher Herstellung zur Verfügung.

Tabelle 22: Zearalenonwerte bei Zukauffutter

ppb	Futterwerte	
	% Anzahl (n)	
0,0	29,5	38
1,0-2,0	4,7	6
2,1-4,0	12,4	16
4,1-10,0	27,1	35
10,1-20,0	17,8	23
20,1	8,5	11
Gesamt		129
Median		4,5 ppb
Mittelwert		7,3 ppb
Mittelwert der Positiven	70,5 %	10,3 ppb n=91

Beim Zukauffutter waren 70,5 % (n=91) der Proben Zearalenon positiv.

Der Median betrug 4,5 ppb, das arithmetische Mittel 7,3 ppb Zearalenon.

Die Zearalenon-Belastung sowohl des Futters, als auch des Serums aus den beiden Futtermittelherkünften unterschied sich nicht signifikant ($p > 0,05$).

3.3.4.7 Einfluß der Einstreu auf die Serumwerte

Laut Befragung wurde nur in 38 Betrieben der Feldstudie mit Stroh eingestreut.

Zwischen den Futtermitteln, die aufgrund eines Mykotoxinverdachts eingesandt wurden, gelangten ebenfalls 11 Strohproben zur Ochratoxin A-Untersuchung. In vier Strohproben (36,4 %) konnte Ochratoxin A nachgewiesen werden, sieben Proben (63,6 %) waren ohne

Toxin-Befund.

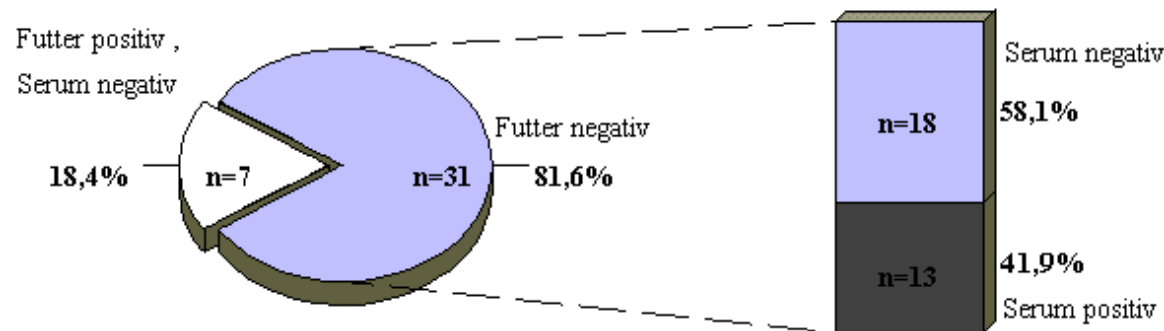


Abbildung 13: Verteilung der Ochratoxin A- Serumgehalte in Betrieben mit Einstreu

Insgesamt wurde in 38 Betrieben der Feldstudie mit Einstreu gearbeitet. Innerhalb dieser Gruppe wiesen 31 Betriebe (81,6 %) keinerlei Ochratoxin A im Futtermittel auf. Bei diesen 31 Betrieben ohne Ochratoxin A-Belastung im Futter konnte in 58,1 % (18 Betriebe) ferner kein Ochratoxin A im Serum nachgewiesen werden. In 41,9 % (n=13) der Betriebe mit Einstreu, deren Futtermittel kein Ochratoxin A aufwiesen, wurde das Toxin im Serum der Schweine nachgewiesen. Das Stroh stand nach Ermittlung dieser Werte nicht zur Untersuchung zur Verfügung.

Innerhalb dieser 38 Betriebe gab es 13 Schweinemäster, die ihre Tiere auf Stroh hielten. Nur in einem Betrieb (7,7 %) war der Serumpool Ochratoxin A frei. Alle anderen 12 Serumproben (92,3 %) wiesen Ochratoxin A auf.

Unter den Verdachtsproben kamen insgesamt 13 Strohproben zur Zearealenonuntersuchung zur Einsendung. 12 dieser Strohproben (92,3 %) wiesen Zearealenon in einer Größenordnung von 4,7 bis 157,0 ppb, auf und nur eine Probe (7,7 %) war Zearealenon negativ.

4 Diskussion

In dieser Arbeit wurden in der Zeit vom Januar 1993 bis zum Juli 1994 in insgesamt 192 Betrieben je eine Futterprobe und ein Serumpool auf ihre Belastung an Zearealenon und Ochratoxin A überprüft. Weiterhin sollte mit Hilfe eines Fragebogens ermittelt werden, welche äußeren Faktoren sich auf die Toxinkontamination der Futtermittel bzw. des Serums der Schweine auswirkten.

Parallel zu dieser Studie wurden Futtermittel und Seren von Schweinen an die Tierärztliche Ambulanz in Schwarzenbek gesandt, bei denen der Verdacht einer Mykotoxinbelastung bestand.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen wurden mit den zufällig ausgewählten Proben der Feldstudie verglichen.

4.1 Bewertung der Wiederfindungsraten

In vielen Dissertationen und Veröffentlichungen wurde die Wiederfindungsrate der Futtermitteluntersuchungen nur als Durchschnittswert angegeben (KRAUSE, 1985; GOLLUB, 1987; HASERT, 1988; HAUPT, 1989; HORNDASCH, 1991; KÜHN, 1993).

MALLMANN (1993) stellte in seiner Dissertation eine Tabelle mit verschiedenen Futtermitteln und den dazugehörigen Wiederfindungsraten zusammen. Daraus ergab sich eine durchschnittliche Wiederfindungsrate von 64,05 %.

Innerhalb dieser untersuchten Futtermittel gab es ein Minimum von 27,8 % und ein Maximum von 82,4 %. Des Weiteren wurde die Wiederholbarkeit der Methode geprüft, welche zur vorliegenden Untersuchung einen vergleichbaren Wert zeigte (MALLMANN: 66,64 %). In dieser Arbeit betrug der Mittelwert der Wiederfindungsrate bei der Überprüfung der Wiederholbarkeit 67,4 % (Kapitel 3.2.1.2, Tab. 4).

Zudem wurde deutlich, daß bei den für Futtermittel verwandten Analysenmethoden (für Ochratoxin A: nach MALLMANN et al., 1994, Kap. 3.1.4.2 und für Zearalenon: modifiziert nach SCOTT et al., 1978, Kap. 3.1.4.4) von entscheidender Bedeutung war, die Wiederfindungsrate individuell für jedes Futtermittel einzeln zu bestimmen.

Wie die Tabellen 4 und 5 in den Kapiteln 3.2.1.2.1 und 3.2.1.2.2 zeigten, gab es innerhalb eines Futtermittels durchaus akzeptable Reproduzierbarkeiten der Wiederfindungsraten.

Innerhalb eines toxischen Futtermittels schwankten die Ochratoxin A-Werte von einem Minimum von 61,6 % bis zu einem Maximum von 72,7 % (Standardabweichung $s=3,28$).

Bei der Überprüfung der Wiederfindungsrate für Zearalenon im Futtermittel wurde ein toxisches Futter mit einer definierten Toxinmenge versetzt. Die ermittelten Wiederfindungsraten reichten von 94,9 % bis 102,0 % (Standardabweichung $s=2,24$).

Aufgrund der unterschiedlichen Zusammensetzung der Futtermittel stellen sie im Gegensatz zu den Seren keine konstante Matrix dar (BAUER et al., 1984 und MEYER et al.; 1997), so daß auch die Wiederfindungsrate nicht als konstanter Faktor gewertet werden kann.

Die Abbildung 7 zeigt eine Übersicht aller Wiederfindungsraten innerhalb dieser Feldstudie. Die niedrigste Wiederfindungsrate für Ochratoxin A lag bei 39,2 %, für Zearalenon bei 28,9 %. Ihre Maxima wurden für Ochratoxin A bei 101,0 % für Zearalenon bei 150,0 % ermittelt. Die Varianz der Wiederfindungsraten für Ochratoxin A ergab einen rechnerischen Wert von 17,26. Die Varianz für Zearalenon betrug sogar 20,45.

Aus der beachtlichen Streuung der Werte wird deutlich, daß ein Mittelwert nicht aussagekräftig wäre und, daß die individuelle Ermittlung der Wiederfindungsrate einen wichtigen Stellenwert einnimmt.

Unterschiedliche Nachweisgrenzen bzw. Wiederfindungsraten wurden auch von OSBORNE (1979) und von LANGSETH et al. (1989) bei verschiedenen Getreideprodukten angegeben.

Bei der Ermittlung und Überprüfung der Wiederfindungsraten von Ochratoxin A und Zearalenon im Serum stimmten die Werte mit den von HORNDASCH (1991) gemachten Angaben überein.

4.2 Toxinwerte der Feldstudie

4.2.1 Übereinstimmung der Ochratoxin A-Belastung im Futter mit den Serumwerten

Innerhalb der Untersuchungsergebnisse der Feldstudie waren 17,2 % ($n=33$) der Futtermittel Ochratoxin A positiv. Hingegen konnten 63,5 % ($n=122$) der Seren als Ochratoxin A positiv bewertet werden.

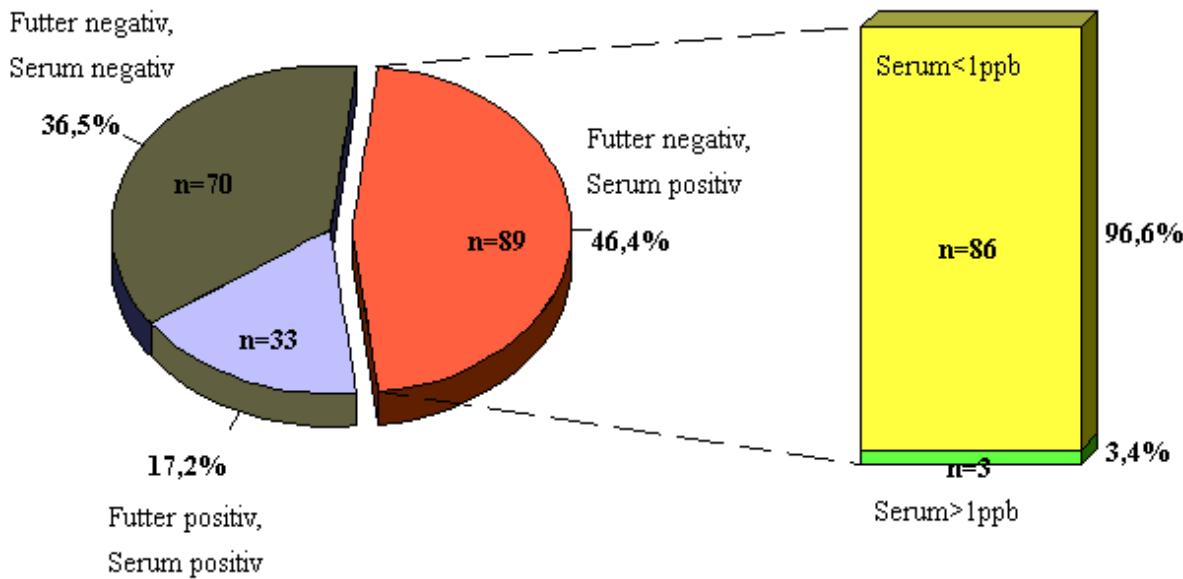
Bei näherer Betrachtung aller Betriebe (Abbildung 18) konnten diese in drei Gruppen eingeteilt werden:

I. Gruppe: Bei 33 Betrieben (17,2 %) waren sowohl die Futtermittel, als auch der Serumpool Ochratoxin A belastet.

II. Gruppe: In 70 Betrieben (36,5 %) konnte weder im Futter noch im Serum Ochratoxin A nachgewiesen werden.

III. Gruppe: In 89 untersuchten Betrieben waren im Futter keine Ochratoxin A-Belastungen nachweisbar, allerdings zeigte die Serumuntersuchung positive Werte.

Abbildung 18: Korrelation zwischen der Ochratoxin A-Belastung des Serums und des Futters



Innerhalb dieser 89 Betriebe (46,4 %) wiesen 86 (96,6 %) Serumproben einen Ochratoxin A-Gehalt unter 1,0 ppb auf, dieser Wert entspricht der Nachweisgrenze für Ochratoxin A im Futter.

Bei den drei Werten (3,4 %) über 1,0 ppb Ochratoxin A handelte es sich ausschließlich um Mastbetriebe, die Zukauffutter verwandten.

In einem Mastbetrieb, mit einem ermittelten Serumwert von 29,67 ppb Ochratoxin A, wurde die Futtercharge 2 Tage zuvor gewechselt. In den beiden anderen Betrieben wurden Werte von 1,11 ppb bzw. 1,41 ppb Ochratoxin A ermittelt. Jener Betrieb mit einem Serumwert von 1,11 ppb wechselte die Futtercharge vor nur drei Tagen, der andere Betrieb zwar schon vor sechs Tagen, allerdings wurde hier zusätzlich Stroh gefüttert, das nicht zur Untersuchung zur Verfügung stand.

Generell ist zu vermuten, daß die Differenzen zum einen auf die unterschiedlich hohen Nachweisgrenzen zwischen dem Serum (0,1 ppb Ochratoxin A und Zearalenon) und dem Futtermittel (1,0 ppb Toxin) zurückzuführen waren.

Zum anderen könnten die unterschiedlichen Toxinbelastungen auf die nesterartige Verteilung (Verklumpungen) der Pilzsporen (und somit der Toxine) im Futter hindeuten (SCHMIDT, 1989).

UNGLAUB und HOLL (1990) gaben für den Nachweis von Ochratoxin A im Blut ebenfalls eine Grenze von 0,1 g/l an, während RICHTER und SCHUSTER (1995) angaben, zwischen 0,5 und 1 ppb Ochratoxin A mittels HPLC im Futter nachweisen zu können.

Des weiteren kann nicht ausgeschlossen werden, daß eine gewisse Belastung der Tiere über die Aufnahme von Stroh zustande gekommen war.

4.2.2 Übereinstimmung der Zearalenon-Belastung im Futter mit den Serumwerten

Bei der Untersuchung der Futtermittel auf Zearalenon war in 67,2 % (n=129) ein Toxingehalt von mehr als 1,0 ppb nachweisbar. Innerhalb der Serumuntersuchung wurde in 5,7 % (n=11) Zearalenon nachgewiesen.

Alle Zearalenon positiven Seren wurden in Betrieben mit belastetem Futter ermittelt. Bei den Betrieben handelte es sich ausschließlich um Betriebe mit Zukauffutter.

Generell sollte allerdings erwähnt werden, daß nur bei den Proben aus der Tierärztlichen Ambulanz in Schwarzenbek (AMBU, n=52) sowie dem Projekt zur Bekämpfung der Aujeszky'schen Krankheit (AK, n=44), Serumproben am lebenden Schwein genommen wurden.

Innerhalb der Qualitätsprüfung des ITL Kiel (ITL, n=96) konnten die Proben erst bei der Ausblutung während der Schlachtung gezogen werden, so daß bei den Tieren eine mindestens zwölf stündige Fastenperiode vorlag.

Bei einer Halbwertszeit von nur vier Stunden führte dieses zum Rückgang der Werte unter die Nachweisgrenze (ENDERS, 1984).

Mit Berücksichtigung dieser Tatsache konnte aus den 96 Proben in den Gruppen AMBU und AK 11,5 % der Seren (n=11) als Zearalenon positiv ermittelt werden.

4.3 Beurteilung verschiedener Einflußfaktoren

Zahlreiche Faktoren spielen bei der Toxinbelastung des Futters und damit der Tiere eine wichtige Rolle. In dieser Arbeit wurde über die Probenentnahme der zeitliche Verlauf der Belastungen überprüft.

Des Weiteren wurde ermittelt, inwieweit die Betriebsart, die Lagerbedingungen, die Futtermittelherkunft sowie die Einstreu Einfluß auf den Toxingehalt der Proben nehmen.

4.3.1 Saisonalität

Anhand der Zahlen wurde deutlich, daß die Toxinwerte sowohl bei Ochratoxin A, als auch bei Zearalenon vom Anfang des Jahres bis zur Mitte anstiegen. Die zunehmende Toxinbelastung bei steigender Lagerdauer konnte sowohl 1993, als auch 1994 belegt werden (Kapitel 3.3.3.3.1 und 3.3.4.3.1).

Die monatlich steigende Ochratoxin A-Belastung im Serum konnte als signifikant eingestuft werden. Ebenso wurde die Zunahme der Zearalenon-Belastung im Futter als signifikant ermittelt.

Auffallend war, daß sowohl Ochratoxin A, als auch Zearalenon 1994 häufiger nachzuweisen war als 1993. Die unterschiedliche Toxinbelastung im Futter konnte sowohl für Zearalenon, als auch für Ochratoxin A als signifikant eingestuft werden.

1994 wurden hauptsächlich die Seren aus der Qualitätsprüfung des ITL untersucht, die aufgrund der Fastenzeit der Schweine generell Zearalenon negativ waren.

In den beiden Jahren unterschied sich die Ochratoxin A-Belastung im Serum mit einem Wert von $p=0,061$ nicht signifikant, zeigte allerdings eine deutliche Tendenz zu einem höheren Toxinnachweis im Jahr 1994.

Daß einzelne Jahre unterschiedlich hohe Kontaminationen aufweisen, konnten auch REIMANN et al. (1992) anhand von Ergosteringehalten dokumentieren. Die saisonale Abhängigkeit der Toxinbelastung wurde in den Arbeiten von MALLMANN (1993) und HAUPT (1989) bereits bestätigt. So konnten beide Autoren nachweisen, daß der Toxingehalt mit fortschreitendem Abstand zur Getreideernte ansteigt. MALLMANN (1993) gab die höchste Belastung im Zeitraum Juli bis September an.

4.3.2 Betriebsart

In der hier vorliegenden Untersuchung konnte, ähnlich der Ausführungen von MALLMANN (1993), eine deutlich höhere Ochratoxin A-Belastung innerhalb der Mastbetriebe (Serum: 68,5 %, n=110; Futter: 18,5 %, n=30) gegenüber den Sauenbetrieben (Serum: 36,7 %, n=11; Futter: 10,0 %, n=3) festgestellt werden. Allerdings zeigten die Median- bzw. Mittelwerte, im Gegensatz zu MALLMANN (1993), annähernd gleiche Größenordnungen innerhalb beider Betriebsarten.

Der Ochratoxin A-Nachweis im Serum der Mastschweine war signifikant häufiger ($p=0,0047$) als bei den Sauenbetrieben.

Auch der Anteil Zearalenon positiver Futterproben lag bei Mastschweinen signifikant höher ($p=0,000$) als bei Sauenbetrieben. In nur 30,0 % (n=9) der Sauenbetriebe, aber in 74,1 % (n=120) der Mastbetriebe wurde Zearalenon nachgewiesen. Zusätzlich wurde innerhalb des Mastfutters ein signifikant höherer Median- (4,8 ppb gegenüber 0,0 ppb) sowie Mittelwert (7,6 ppb gegenüber 2,5 ppb) gegenüber dem Sauenfutter festgestellt.

Mastschweine waren demnach sowohl durch Ochratoxin A, als auch durch Zearalenon wesentlich häufiger belastet als Zuchtschweine.

4.3.3 Lagerbedingungen

Auffällig war vor allem die Diskrepanz zwischen der hohen Ochratoxin A-Serumbelastung (65,2 %, n=43) und der extrem niedrigen Futtermittelbelastung (4,5 %, n=3) bei Betrieben mit Lagerung im Außensilo.

Insgesamt konnten 40 Betriebe mit Außensilolagerung ermittelt werden, bei denen Ochratoxin A im Serum, aber nicht im Futter nachgewiesen wurde. 29 dieser Betriebe (72,5 %) hatten das Futter maximal eine Woche verfüttert.

Des Weiteren spielt wahrscheinlich auch die Technik der Probenentnahme sowie die Tatsache, daß Schimmelpilzwachstum in sogenannten Nestern stattfindet, eine Rolle.

Nach SCHMIDT (1989) ist es gerade bei Silos mit mehreren Tonnen Inhalt schwierig, einen repräsentativen Querschnitt der Charge zu entnehmen.

Gegenüber der Lagerung des Futters im Silo wirkte sich die Lagerung bei Bodenschüttung oder in Säcken negativ auf die Ochratoxin A-Belastung der Tiere aus. Insgesamt waren in dieser Gruppe 45 % (n=9) der Seren und 35 % (n=7) der Futtermittel Ochratoxin A positiv.

Auffallend waren bei der Lagerung ohne Silo die hohen Ochratoxin A-Gehalte der Proben. In je 15 % (n=3) der Seren sowie der Futterproben, wurden Belastungen über 20,0 ppb Ochratoxin A festgestellt.

Diese Werte stimmen mit den von MALLMANN (1993) gemachten Aussagen überein.

Der Unterschied der Lagerart bei der Futtermittelbelastung durch Ochratoxin A konnte als hoch signifikant eingestuft werden, d.h. bei Lagerung des Futters im Außensilo war mit einer geringeren Ochratoxin A-Belastung zu rechnen.

Bei der Untersuchung des Futters auf Zearalenon wurden bei der Lagerung im Außensilo 81,8 % (n=54) der Proben als belastet ermittelt. 37,9 % (n=25) dieser Futtermittel lagen über 10,0 ppb Zearalenon, einem Wert, der durchaus zu klinischen Erscheinungen führen kann (GEDEK, 1985 a).

Bei der Lagerung in Säcken oder bei Bodenschüttung wurden 15,0 % (n=3) der Futtermittel, in Innensilos sogar 19,8 % (n=21), mit Werten über 10,0 ppb Zearalenon ermittelt.

Generell waren die Futtermittel mit Lagerung im Außensilo häufiger Zearalenon belastet, als bei der Lagerung im Innensilo (61,3 %/n=65) oder der Lagerung in Säcken bzw. bei der Bodenschüttung (50,0 %/n=10).

Möglicherweise liegt eine Erklärung dieses Phänomens in der Tatsache, daß sich ein Temperaturabfall positiv auf die Toxinproduktion der Fusarien auswirkt (MIROCHA et al.; 1967), und die Futtermittel im Außensilo häufiger Temperaturschwankungen ausgesetzt sind, als bei der Lagerung innerhalb der Gebäude.

Die Lagerung im Außensilo führte zu signifikant höherer Zearalenonbelastung im Futter sowohl gegenüber dem Innensilo, als auch der Bodenschüttung bzw. der Sacklagerung.

4.3.4 Futtermittelherkunft

Bei Betrieben mit Verwendung von hofeigenem Futter waren insgesamt 42,9 % (n=27) der Seren von Schweinen Ochratoxin A belastet. Innerhalb der Futteruntersuchung konnten dagegen nur 20,6 % (n=13) der Proben als positiv ermittelt werden.

Diese Differenzen in der Häufigkeit des Auftretens wurden nur in Bereich von 0,1 bis 2,0 ppb Ochratoxin A festgestellt, welche wahrscheinlich auf die unterschiedlichen Nachweisgrenzen von 0,1 ppb im Serum und 1,0 ppb Ochratoxin A in den Futtermitteln zurückzuführen sind.

In Betrieben, die ausschließlich Zukauffutter verwandten, konnte bei einem Anteil von 73,6 % (n=95) der Seren eine Ochratoxin A-Belastungen nachgewiesen werden. Im Zukauffutter konnte in 15,5 % (n=20) der Proben Ochratoxin A nachgewiesen werden. Auch in diesen Betrieben wurde die Diskrepanz in der Häufigkeit des Toxinnachweises zwischen dem Serum und den Futtermitteln vor allem im Bereich von 0,1 bis 2,0 ppb zu finden.

Innerhalb der Betriebe mit Zukauffutter konnten zwar mehr positive Seren als in Betrieben mit hofeigenem Futter ermittelt werden, allerdings fielen die Toxinwerte im Serum der Schweine, die mit hofeigenem Futter versorgt wurden, höher aus.

Der Mittelwert der Ochratoxin A-Belastung im Serum von Schweinen, mit hofeigenem Futter lag bei 2,9 ppb (0,7 ppb bei Seren aus Betrieben mit Zukauffutter), innerhalb der positiven Proben sogar bei 6,9 ppb Ochratoxin A (0,9 ppb bei Seren aus Betrieben mit Zukauffutter).

Im Gegensatz dazu stellten HULT et al. (1980) fest, daß Betriebe mit selbst hergestelltem Futter ein erhöhtes Risiko einer Ochratoxin A-Belastung aufweisen.

Bei der Belastung des Futters mit Zearalenon konnten nur geringe Diskrepanzen (nicht signifikant) zwischen den beiden Futterherkünften festgestellt werden. Betriebseigene Futtermittel waren zu 60,3 % (n=38) Zearalenon positiv, die Zukauffutter zu 70,5 % (n=91).

Auffallend war allerdings, daß die positiven Seren fast ausschließlich (90,9 %) aus Betrieben mit Zukauffutter stammten. Diese Tatsache ist wahrscheinlich mit der zu geringen Probenanzahl (n=11) zu erklären.

4.3.5 Einstreu

Innerhalb der 192 untersuchten Betriebe der Feldstudie wurden nur in 38 Betrieben die Tiere auf Stroh gehalten. Alle anderen Betriebe hielten ihre Schweine auf verschiedenen Spaltenböden.

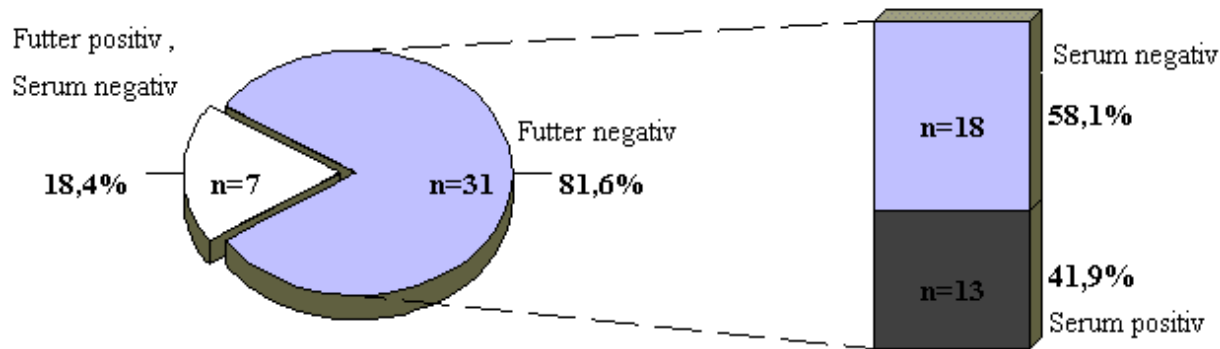


Abbildung 19: Verteilung der Ochratoxin A-Belastung bei Betrieben mit Einstreu

38 Betriebe gaben an, ihre Schweine auf Stroh zu halten. Es handelte sich hierbei um 25 Sauen- und 13 Mastbetriebe.

Innerhalb der Sauenbetriebe wurden 32 % der Seren (n=8) als toxinbelastet ermittelt. Allerdings konnte nur in zwei (8,0 %) Futtermitteln dieser Sauenbetriebe Ochratoxin A nachgewiesen werden.

In den 13 Mastbetrieben, die ihre Schweine auf Stroh hielten, konnten 12 Serumpools (92,3 %) als Ochratoxin A positiv identifiziert werden. In ihrem Futter war in 38,5 % der Proben (n=5) Ochratoxin A nachweisbar. Da das Stroh nicht auf Toxine untersucht wurde, kann nur anhand der Differenz auf eine Belastung des Strohs mit Ochratoxin A geschlossen werden.

Lediglich die Stroeinsendungen innerhalb des Untersuchungszeitraumes an die Tierärztliche Ambulanz in Schwarzenbek mit 92,3 % (n=12) Zearealon und 40 % (n=4) Ochratoxin A positiven Proben deuten auf eine Belastung der Tiere über diese Quelle hin.

Ebenso berichtete MALLMANN (1993) in seiner Dissertation über eine mögliche Toxinaufnahme der Schweine durch die Einstreu.

Da alle Zearealon positiven Serumwerte in Betrieben gefunden wurden, die auch Zearealon im Futter aufwiesen, konnten keinerlei Rückschlüsse auf die Belastung durch die Einstreu gezogen werden.

4.4 Toxinwerte der Einsendungen

Bei den wegen Mykotoxinverdachts an die Tierärztliche Ambulanz in Schwarzenbek eingesandten Proben konnten ähnliche Toxinbelastungen festgestellt werden wie bei den zufällig entnommenen Proben der Feldstudie (Futter 17,2 %, n=33; Serum 63,5 %, n=122). Ochratoxin A ließ sich im Futter in 18,2 % (n=35), im Serum in 43,5 % (n=60) der Proben nachweisen.

BAUER und GEDEK (1983) berichteten ebenfalls, daß Ochratoxin A fast bei jedem zweiten Schwein im Blut nachzuweisen sei.

Zearealon konnte in 81,4 % (n=162) der Futtermittel und in 7,1 % (n=3) der Seren gefunden werden. In der Feldstudie waren 67,2 % (n=129) der Futtermittel und 5,7 % (n=11) der Seren Zearealon belastet. Ähnlich hohe Prozentangaben machten auch MODI und MÜLLER (1992). Sie fanden insgesamt 78 % der untersuchten Weizenkleie Zearealon belastet.

Anhand der Zahlen dieser Arbeit wird deutlich, daß Proben aus mykotoxinverdächtigen Betrieben nur im Bezug auf Zearealon einen geringgradig höheren Prozentsatz an Toxinen aufweisen. Gegenüber Ochratoxin A lagen die Zahlen sogar niedriger.

Eine Ursache hierfür wäre vielleicht die Tatsache, daß das klinische Bild einer chronischen Ochratoxikose, die sich in vermindertem Wachstum, Polyurie, Polydipsie (KROGH et al., 1974; RICHTER und SCHUSTER, 1996) äußert, nicht unbedingt deutlich erkennbar ist

(PALYUSIK, 1977 b).

Insgesamt konnten in der Feldstudie 25,5 % (n=49) Futterproben mit Zearalenongehalten über 10,0 ppb festgestellt werden. Innerhalb der Proben, die aufgrund eines Toxinverdachts eingesandt wurden, waren 28,1 % (n=56) der Futtermittel über 10,0 ppb Zearalenon belastet.

Sowohl bei den Einsendungen, als auch bei der Feldstudie war deutlich zu erkennen, daß für die Zearalenonuntersuchung eher die Futterproben positive Ergebnisse zeigten. Beim Nachweis von Ochratoxin A führt die Blutuntersuchung häufiger zu positiven Werten.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war die Untersuchung der Belastung von Schweinen mit Ochratoxin A und Zearalenon. Dazu wurden binnen eineinhalb Jahren insgesamt 384 Futtermittelproben und 330 Serumproben auf das Vorkommen von Ochratoxin A untersucht. Gleichzeitig wurde in 391 Futtermittelproben und 234 Seren der Gehalt an Zearalenon nachgewiesen.

Durchschnittlich waren 17,7 % (n=68) der Futtermittel und 55,2 % (n=182) der Seren Ochratoxin A belastet.

Zearalenon konnte insgesamt in 74,4 % (n=291) der Futterproben und in 6,0 % (n=14) der Seren von Schweinen nachgewiesen werden.

Aus den Ergebnissen geht deutlich hervor, daß die Ermittlung der Wiederfindungsrate individuell für jedes Futtermittel eine entscheidende Rolle für die tatsächliche Höhe des Wertes spielt.

Die Untersuchungen haben gezeigt, daß eine Ochratoxin A-Belastung des Futters sich auch im Serum der Schweine wiederfindet. Allerdings ist die Nachweisgrenze von Ochratoxin A im Serum mit 0,1 ppb im Gegensatz zum Futter mit 1 ppb wesentlich empfindlicher.

Bei dem Verdacht einer Zearalenonintoxikation bietet sich eine Futtermitteluntersuchung eher als die Serumbeprobung an, da aufgrund der kurzen Halbwertszeit, Zearalenon im Serum schnell unter die Nachweisgrenze absinken kann.

In dieser Arbeit konnte nachgewiesen werden, daß verschiedene Einflußfaktoren bei der Höhe der Toxinbelastung mitwirken:

1. Saisonalität: Toxinbelastungen des Futters treten mit zunehmender Lagerdauer häufiger auf.
Zusätzlich weisen alle Jahre infolge unterschiedlicher klimatischer Bedingungen verschiedene Durchschnittswerte auf.
2. Betriebsart: Serumproben aus Mastbetrieben waren häufiger Ochratoxin A positiv als jene aus Sauenbetrieben.
Zearalenon konnte in den Futterproben der Mastbetriebe wesentlich häufiger nachgewiesen werden als bei Sauenbetrieben.
3. Lagerart: Die Ochratoxin A-Belastung fiel im Außensilo niedriger aus als im Innensilo und in einer Lagerung auf dem Boden oder in Säcken.
Lagerung in Säcken bzw. Bodenschüttung wiesen die höchste Ochratoxin A-Kontamination auf.
Der Zearalenon Gehalt einer Futterprobe lag bei Lagerung im Außensilo deutlich höher gegenüber den beiden anderen Lagerarten.
4. Futtermittelherkunft: Die Verfütterung von Zukauffutter führte zu einer durchschnittlich höheren Ochratoxin A Belastung im Serum der Tiere als betriebseigenes Futter.
Zukauffutter und betriebseigenes Futter unterschieden sich in Bezug auf den Zearalenon Gehalt nicht.
5. Einstreu: Bei der Untersuchung der Einstreu auf Mykotoxine waren häufig sehr hohe Werte für beide untersuchten Mykotoxine anzutreffen. Somit scheint bei einem Verdacht einer Toxikose die Untersuchung des Strohs einen wichtigen Hinweis auf die Ursache zu geben.

Diese Untersuchungen zeigten, daß die Serumproben der zufällig entnommenen Feldstudie häufiger Ochratoxin A belastet waren als die Seren, die aufgrund eines Toxinverdachts eingesandt wurden.

In Futterproben, die wegen eines Zearalenonverdachts eingesandt wurden, ließ sich wesentlich häufiger das Toxin nachweisen, als in Proben der Feldstudie.

Die Ergebnisse machen deutlich, daß eine Ochratoxinintoxikation klinisch schwerer zu diagnostizieren ist als das Zearalenon-Syndrom.

6 SUMMARY

"A field study to the occurrence of ochratoxin A and zearalenone in feedstuff and in blood of breeding and fattening pigs with considerations of the origin and storing of the feed."

During a period of one and a half year, 384 feed samples and 330 serum samples were analysed for ochratoxin A. In the same time, 391 feed samples and 234 serum samples were analysed for zearalenone.

On average, 17,7 % (n=68) of the feed samples and 55,2 % (n=182) of the serum samples were ochratoxin A positiv.

Zearalenone was found in 74,4 % (n=291) of the feed samples and in 6,0 % (n=14) of the serum samples.

Those results showed that an individual determination of the recovery rate for each feed sample is very important for the real value.

If ochratoxin A was traced in the feed, it can also be found in the sera of pigs fed with this feed. Due to the different detectability limits with 0,1 ppb in sera and 1 ppb in feed, even smallest amounts can be analysed in the blood serum.

If zearalenone intoxication is suspected, the feedstuff analysis is to prefer because the half time period of zearalenone in blood is very short.

In this study different influences on the intoxication levels could be shown:

1. Seasonality: The frequency of intoxication increases with the time of feed storage. Because of the varying climatic circumstances, the values differ from year to year.
2. Farm type: More frequently, the serum samples of fattening herds were more often ochratoxin A positiv than the samples of sow herds. Zearalenone was found more frequently in feed of fattening herds than in sow herds.
3. Storing type: Compared to indoor silo or storage on the floor, the ochratoxin A contamination of the feed in outdoor silos was lower. The highest ochratoxin A-contamination rate was found by storage in sacks or on the floor. The highest zearalenone contamination rate was found in feed stored in outdoor silo.
4. Feedstuff derivation: In comparison to pigs which got home mixed feed, pigs supplied with purchased feed showed serologically more ochratoxin A positiv results. There was no different in the zearalenone contamination of purchased feed and home mixed feed.
5. Straw bedding: The analysis of straw often showed high values of both mycotoxins. Therefore, an analysis of the straw seems to be necessary if an intoxication with mycotoxins is suspected.

This study demonstrates that samples accidentally taken for the field study are more frequently ochratoxin A contaminated than toxin-suspected samples.

It showed further more, that in toxin-suspected feed samples zearalenone was more frequently detected than in the samples of the field study.

The results demonstrate, that the clinical diagnosis of an ochratoxin A intoxication is more difficult than the diagnosis of the zearalenone syndrome.

7 SCHRIFTTUMSVERZEICHNIS

ALBASSAM, M. A.; YOUNG, S. I.; BHATNAGAR, R.; SHARMA, A. K.; PRIOR, M. G. (1987)
Histopathologic and electron microscopic studies on the toxicity of Ochratoxin A in rats.
Vet. Pathol. **24**, 427-435

ATHENSTÄDT, J. (1989)
Fusarienintoxikation in einem Ferkelerzeugerbetrieb.
Prakt. Tierarzt **70**, 60-61

BAGNERIS, R. W.; GAUL, J. A.; WARE, G. M. (1986)
Liquid Chromatographic determination of Zearalenone and Zearalenol in animal feeds and grains, using fluorescence detection.
J. Assoc. Off. Anal. Chem. **69**, 894-898

BARNIKOL, H.; GRUBER, S.; THALMANN, A. (1981)
Hyperöstrogenismus durch Fusarientoxine bei neugeborenen und abgesetzten Ferkeln.
Tierärztl. Umschau **36**, 94-105

BARNIKOL, H.; THALMANN, A. (1988)
Klinische Beobachtungen beim Schwein in Zusammenhang mit den Mykotoxinen Ochratoxin A und Zearalenon.
Tierärztl. Umschau **43**, 74-82

BAUER, J. (1980)
Zur Leistungsfähigkeit mykotoxikologischer Untersuchungsmethoden.
Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr. **93**, 358-360

BAUER, J. (1982)
Mykotoxikosen in der tierischen Produktion - Bedeutung und Diagnose.
Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr. **95**, 301-307

BAUER, J. (1987)
Mykotoxine als Krankheitsursachen beim Schwein.
Prakt. Tierarzt, Sonderheft **18**, 120-124

BAUER, J. (1988)
Krankheit und Leistungsdepression in der Schweinehaltung durch Mykotoxine.
Tierärztl. Praxis **16**, 40-47

- BAUER, J.; GAREIS, M. (1987)
Ochratoxin A in der Nahrungsmittelkette.
J. Vet. Med. B. **34**, 613-627
- BAUER, J.; GAREIS, M. (1989)
Untersuchungsmethoden für Mykotoxine.
DTW **96**, 346-350
- BAUER, J.; GAREIS, M. (1992)
Zum Metabolismus von Ochratoxin A beim graviden Schwein.
Tierärztl. Umschau **47**, 600-605
- BAUER, J.; GAREIS, M.; DETZLER, W.; GEDEK, B.; HEINRITZI, K.; KABILKA, G. (1987)
Zur Entgiftung von Mykotoxinen.
Tierärztl. Umschau **42**, 70-77
- BAUER, J.; GAREIS, M.; GEDEK, B. (1984)
Zum Nachweis und Vorkommen von Ochratoxin A bei Schlachtschweinen.
Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr. **97**, 279-283
- BAUER, J.; GAREIS, M.; GEDEK, B. (1986)
Incidence of ochratoxin A in blood serum and kidneys of man and animals.
Weltkongress Lebensmittelinfektionen und Intoxikationen, Berlin (West), 26.-30. Mai 1986
- BAUER, J.; GEDEK, B. (1978)
Mykotoxikosen beim Schwein.
Prakt. Tierarzt **59**, 780-785
- BAUER, J.; GEDEK, B. (1983)
Studies on the occurrence of Ochratoxin A in kidney and blood serum samples pigs.
Proceeding of the International Mycotoxin Conference 1. Cairo, Egypt
- BAUER, J.; GEDEK, B. (1992)
Zum Metabolismus von Ochratoxin A beim graviden Schwein.
Tierärztl. Umschau **47**, 600-605
- BAUMAMM, U.; ZIMMERLI, B. (1988)
Einfache Ochratoxin A-Bestimmung in Lebensmitteln.
Bern, Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg., 151-158
- BENDELE, A. M.; CARLTON, W. W.; KROGH, P.; LILLEHOJ, E. B. (1985)
Ochratoxin A carcinogenesis in the (C57BL/6J x C3H) F1 mouse.
J. Natl. Cancer Inst. **75**, 733-742
- BOORMAN, G. A. (1989)
NTP technical report on the toxicology and carcinogenic studies of Ochratoxin A in F344/n rats (gavage studies).
NIH Publication No. 89-2813. Department of Health and Human Services, National Institute of Health, Research, Triangle Park, NC.
Zit. nach MARQUARDT und FROHLICH (1992)
- BORIES, G. F.; SUTRA, J. F. P.; TULLIEZ, J. E. (1992)
Metabolism and disposition of (H3) zeranol implanted in the pig.
J. Agric Food Chem. **40**, 284
- BROWN, M. H.; SZCZECHE, G. M.; PURMALIS, B. P. (1976)
Teratogenic and toxic effects of Ochratoxin A in rats.
Toxicol. Appl. Pharmacol. **37**, 331-338
- BÜCHMANN, N. B.; HALD, B. (1985)
Analysis, occurrence and control of ochratoxin A residues in danish pig kidneys.
Food Addit. Contamin. **2**, 193-199
- BÜHL, A.; ZÖFEL, P. (1994)
SPSS für Windows Version 6 Praxisorientierte Einführung in die moderne Datenanalyse.
Berlin, Addison-Wesley GmbH, 58 - 61
- CANDLISH, A. A. G.; STIMSON, W. H.; SMITH, J. E. (1986)
A monoclonal antibody to ochratoxin A.
Lett. Appl. Microbiol. **3**, 9-11

CHANG, C. F. (1982)

Impaired phagocytosis by monocytes from fowls with ochratoxicosis.

J. Chin. Soc. Vet. Med. **8**, 19-25

CHANG, C. F.; HAMILTON, P. B. (1980)

Impairments of phagocytosis by heterophils from chickens during ochratoxicosis.

Appl. Environ. Microbiol. **39**, 572-575

COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES (1991)

Establishment by the European community of Maximum Residue Limits (MRLs) for residues of veterinary medicinal products in foodstuff of animal origin.

COOK, W. O.; OSWEILER, G. D.; ANDERSON, T. D.; RICHARD, J. L. (1986)

Ochratoxicosis in Iowa swine.

J. Am. Vet. Med. Assoc. **188**, 1399-1402

CORRIER, D. E. (1991)

Mycotoxicosis: mechanisms of immunosuppression.

Vet. Immunol. Immunopathol. **30**, 73-87

CREPPY, E. E.; BETBEDER, A. - M.; GODIN, M.; FILLASTRE, J. - P.; AMG, K. S.; SIMON, P.; LASSEUR, C.; COMBE, C.; APARICIO, M. (1995)

Ochratoxin A in human blood and chronic interstitial nephropathy: cases report in France.

Braunschweig, 17. Mykotoxin-Workshop, 1

CREPPY, E. E.; STOERMER, F. C.; KERN, D.; RÖSCHENTHALER, R.; DIRHEIMER, G. (1983)

Effects of Ochratoxin A metabolites on yeast phenylalanyl-tRNA synthetase and on the growth and in vivo protein synthesis of hepatoma cells.

Chem. Biol. Interact. **47**, 239-247

DACASTO, M.; ROLANDO, P.; NACHTMANN, C.; CEPPA, L.; NEBBIA, C. (1995)

Zearalenone Mycotoxicosis in piglets suckling sows fed contaminated Grain.

Vet. Human Toxicol. **37**, 359-361

DEGEN, G. H.; GERBER, M. M.; HILLEBRAND, I. E.; FÖLLMANN, W. (1995)

Untersuchung zur Gentoxizität von Ochratoxin A in Zellkulturen von Schwein und Schaf.

Braunschweig, 17. Mykotoxin-Workshop, 1

DELGADILLO, I. (1986)

Isolation of secondary metabolites of *Aspergillus ochraceus* by HPLC.

Aveiro, Mycotoxin Research Vol., 9-17

DROCHNER, W. (1989)

Vorkommen von Fusarientoxinen in Futtermitteln.

DTW **96**, 350-352

DUTTON, M. F.; KINSEY, A. (1995)

Occurrence of mycotoxins in cereals and animal foodstuffs in Natal, Durban, South Africa.

Mycopathologia **131**, 31-36

DWIVEDI, P.; BURNS, R. B. (1984)

Pathology of ochratoxicosis in young broiler chicks.

Res. vet. Sci. **36**, 92-103

DWIVEDI, P.; BURNS, R. B. (1985)

Immunosuppressive effects of ochratoxin A in young turkeys.

Avian Path. **14**, 213-225

ELLING, F. (1983)

Feeding experiments with ochratoxin A - contaminated barley to bacon pigs 4 Renal lesions.

Acta Agric. scand. **33**, 153-159

ELLING, F.; MÖLLER, T. (1973)

Mycotoxic nephropathy in pigs.

Bull. WHO **49**, 411-418

ELLING, F.; NIELSEN, J. P.; LILLEHOJ, E. B.; THOMASSEN, M. S.; STOERMER, F. C. (1985)

Ochratoxin A-induced porcine nephropathy : enzyme and ultrastructure changes after short-term exposure.

Toxicol. **23**, 247-254

ENARI, T. M.; ILUS, T.; NIKU-PAAVOLA, M. L.; NUMMI, M.; YLIMÄKI, A.; KOPONEN, H. (1981)

Formation of Fusarium metabolites in barley grain.

European J. Appl. Microbiol. Biotechnol. **11**, 241-243

ENDERS, C. (1984)

Zur Analytik von Zearalenon, alpha- und beta-Zearalenol in Material pflanzlichen und tierischen Ursprungs.

München, Ludw.-Maximilian-Univ., Tierärztl. Fakult., Diss.

EWALD, C. (1985)

Zur Bestandsdiagnostik im Schweineproblembetrieb Eine Fallstudie mykotoxinbedingter Aborte.

Prakt. Tierarzt **66**, 382-385

EWALD, C.; HEER, A. (1989)

Beobachtungen zur Spermabeschaffenheit von 4 Ebern während der Aufnahme mykotoxinhaltigen Futters (Ochratoxin A) und nach Futterumstellung - Eine Fallstudie -.

Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr. **102**, 261-266

EWALD, C.; REHM, A.; HAUPT, C. (1991)

Mykotoxine als Risikofaktor für das Entstehen von Krankheiten und Leistungsminderung in Schweinebeständen - eine epidemiologische Studie-.

Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr. **104**, 161 - 166

FARNWORTH, E. R.; TRENHOLM, H. L. (1981)

The effect of acute administration of the mycotoxin zearalenone to female pigs.

J. Environ. Sci. Health **3**, 239-252

FINK-GREMMELS, J. (1986)

Toxikologische Bewertung von Ochratoxin A.

In: Probleme des Übergangs unerwünschter Stoffe in und auf Futtermitteln in die Nahrungskette.

Informationsveranstaltung der Arbeitsgruppe "Carry over" in der Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft Braunschweig-Völkenrode (FAL)

FINK-GREMMELS, J. (1990)

Mycotoxins: The situation in Europe with special Emphasis on West Germany.

Vet. Human Toxicol. **32** (Suppl.), 40-41

FINK-GREMMELS, J.; JAHN, M. (1992)

Multifaktorial diseases in pigs: model experiments with ochratoxin A.

The Hague, The Netherlands. 12th IPVS Congress, August 17-20, 667

FRANK, H. K. (1991)

Food contamination by Ochratoxin A in Germany.

Lyon, Vortrag am 6.6.91; Mycotoxins, Nephropathy and Urinary Tract Tumors, 1-7

FRISVAD, J. C.; SAMSON, R. A. (1991)

Mycotoxins produced in species of Penicillium and Aspergillus occurring in cereals.

In: Chelkowski, J. (Ed.). Cereal grain mycotoxins, fungi and quality in drying and storage.

Elsevier, Amsterdam, 441-476

FROHLICH, A. A.; MARQUARDT, R. R.; OMINSKI, K. H. (1991)

Ochratoxin A as a contaminant in the human food chain: A Canadian perspective.

In: Mycotoxin, Endemic Nephropathy and Urinary Tract Tumors, 139-143

Hrsg. von: CASTEGNARO, M.; PLESTINA, R.; DIRHEIMER, G.; CHERNOZEMSKY, I. N; BARTSCH, H

FUKAL, L. (1991)

Immunochemische Überwachung von Ochratoxin A in Seren und Gewebe beim Schwein.

Fleischwirtsch. **71**, 1346-1348

FUKUI, Y.; HOSHINO, K.; KAMEYAMA, Y.; YASUI, T.; TODA, C.; NAGANO, H. (1987)

Placental transfer of ochratoxin A and its cytotoxic effect on the mouse embrionic brain.

Food Chem. Toxicol. **25**, 17-24

GALTIER, P. (1978)

Contribution of pharmacokinetic studies to mycotoxicology - Ochratoxin A.

Vet. Sci. Commun. **1**, 349-358

GALTIER, P.; ALVINERIE, M.; CHARPENTEAU, J. L. (1981)

The pharmacokinetic profiles of ochratoxin A in pigs, rabbits and chickens.

Fd. Cosmet. Toxicol. **19**, 735-738

- GAREIS, M.; MÄRTELBAUER, E.; BAUER, J.; GEDEK, B. (1988)
Bestimmung von Ochratoxin A in Muttermilch.
Z. Lebensm. Unters. Forsch. **186**, 114-117
- GEDEK, B. (1972)
Biologischer Nachweis von Mykotoxinen.
Zbl. Vet. Med. **19**, 15-32
- GEDEK, B. (1980 a)
Kompendium der medizinischen Mykologie.
Parey Verlag, Berlin, Hamburg
- GEDEK, B. (1980 b)
Pilzkrankheiten der Haustiere - eine Übersicht.
Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr. **93**, 321-327
- GEDEK, B. (1984)
Mykotoxineinflüsse auf die Trächtigkeit und Laktation der Sau.
Tierärztl. Umschau **39**, 461-469
- GEDEK, B. (1985 a)
Fusariumtoxine in heimischen Futtermitteln.
Kraftfutter **68**, 44-48
- GEDEK, B. (1985 b)
Toxine, insbesondere Mykotoxine in Futtermitteln.
DTW **92**, 215-218
- GERTZ, C.; BÖSCHMEYER, L. (1980)
Verfahren zur Bestimmung verschiedener Mykotoxine in Lebensmitteln.
Z. Lebensm. Unters. Forsch. **171**, 335-340
- GOLINSKI, P.; HULT, K.; GRABARKIEWICZ-SZCZESNA, J.; CHELKOWSKI, J.; KNEBLEWSKI, P.; SZEBIOTKO, K. (1984)
Mycotoxic porcine nephropathie and spontaneous occurrence of ochratoxin A residues in kidneys and blood of polish swine.
Appl. Environ. Microbiol. **47**, 1210-1212
- GOLINSKI, P.; HULT, K.; GRABARKIEWICZ-SZCZESNA, J.; CHELKOWSKI, J.; SZEBIOTKO, K. (1985)
Spontaneous occurrence of ochratoxin A residues in porcine kidney and serum samples in poland.
Appl. Environ. Microbiol. **49**, 1014-1015
- GOLL, M.; VALENTA, H.; OLDENBURG, E. (1995)
Übergang von Zearalenon in die Milch von Kühen nach Langzeitverfütterung.
Braunschweig, 17. Mykotoxin - Workshop
- GOLLUB, I. (1987)
Die Untersuchung auf das Vorkommen des Mykotoxins Zearalenon in Schweinefuttermitteln und -kot sowie der Zusammenhang zwischen Toxingehalt in Futtermitteln, klinischen Hyperöstrogenismussymptomen und pathologischen Veränderungen an Uterus.
Berlin, Freie Univ., Tierärztl. Ambulanz, Diss.
- GREENMAN, D. L.; METHA, R. G.; WITTLIFF, J. L. (1979)
Nuclear interaction of Fusarium mycotoxins with estradiol binding sites in the mouse uterus.
J. Toxicol. Environ. Health **5**, 593-598
- GRÜNKEMEIER, A. (1990)
Untersuchung zur Beeinflussung der Rückstandsbildung von Ochratoxin A beim Schwein durch den diätetischen Einsatz von Adsorbentien.
München, Tierärztliche Fakultät der Ludwig-Maximilian-Universität, Diss
- HADLOK, R. M.; CHRISTEN, U.; WIEDMANN, S.; MORITZ, A.; WAGNER, G. (1989)
Forschungsbericht: Mykotoxine in vom Tier stammenden Nahrungsmitteln Ochratoxin A und Sterigmatocystin in der Nahrungskette.
Gießen, Institut für Tierärztliche Nahrungsmittelkunde der Justus-Liebig-Universität, Gießen, 1-90
- HADLOK, R. M.; WAGNER, G. (1993)
Vorkommen von Ochratoxin A beim Menschen in Deutschland.
Fleischwirtsch. **73**, 1079-1080
- HAGELBERG, S.; HULT, K.; FUCHS, R. (1989)
Toxicokinetics of ochratoxin A in several species and its plasma-binding properties.
J. Appl. Toxicol. **9**, 91-96

HARVEY, R. B.; ELISSALDE, M. H.; KUBENA, L. F.; WEAVER, E. A.; CORRIER, D. E.; BEVERLY, A. C. (1992)

Immunotoxicity of ochratoxin A to growing gilts.

Am. J. Vet. Res. **53**, 1966-1970

HARVEY, R. B.; KUBENA, L. F.; LAWHORN, D. B.; FLETCHER, O. J.; PHILLIPS, T. D. (1987)

Feed refusal in swine fed ochratoxin contaminated grain sorghum: Evaluation of toxicity in chicks.

J. Am. Vet. Med. Assoc. **190**, 673-675

HASERT, W. (1988)

Untersuchungen zum Nachweis des Mykotoxins Ochratoxin A im Schweineblut nach Aufnahme toxinkontaminierten Futters und zum Vorkommen von Ochratoxin A im Blut von Schlachtschweinen.

Berlin, Freie Univ., Tierärztl. Ambulanz, Diss.

HAUBECK, H. D.; LORKOWSKI, G.; KÖLSCH, E.; RÖSCHENTHALER, R. (1981)

Immunsuppression by Ochratoxin A and its prevention by phenylalanine.

Appl. Environ. Mikrobiol. **41**, 1040-1042

HAUPT, C. (1989)

Untersuchungen zum Vorkommen von Ochratoxin A im Blut von Schlachtschweinen im Raum Schleswig-Holstein mit Berücksichtigung regionaler und wetterbedingter Einflüsse.

Berlin, Freie Univ., Tierärztl. Ambulanz, Diss.

HAYES, A. W.; HOOD, R. D.; LEE, H. L. (1974)

Teratogenic effects of Ochratoxin A in mice.

Teratology **9**, 93-97

HERTRAMPF, B. (1984)

Mykotoxikosen beim Schwein.

Prakt. Tierarzt **65**, 30-43

HIDY, P. H.; BALDWIN, R. S.; GREASHAM, R. L.; KEITH, C. L.; MC MULLEN, J. R. (1977)

Zearalenone and some derivatives, production and biological activities.

Adv. Appl. Microbiol. **22**, 59-82

HÖGBY, E.; HULT, K.; GATENBECK, S.; RUTQVIST, L. (1979)

Ochratoxin A and Citrinin in 1976 Crop of Barley Stored on Farms in Sweden. Acta Agric. Scand. **29**, 174-178

HOFMANN, G. (1983)

Vorkommen von Ochratoxin A in Blut und Nieren von Schweinen.

Kulmbach, Mitteilungsbl. Bundesanst. Fleischforsch. **80**, 5547-5067

HOLMBERG, T.; THUVANDER, A.; HULT, K. (1988)

Ochratoxin A as a suppressor of mitogen-induced blastogenesis of porcine blood lymphocytes.

Acta Vet. Scand. **29**, 219-223

HOOD, R. D.; NAUGHTON, M. J.; HAYES, A. W. (1976)

Prenatal effect of Ochratoxin A in hamsters.

Teratology **13**, 11-14

HOOD, R. D.; KUCZUK, M. H.; SZCZECH, G. M. (1978)

Effects in mice of simultaneous prenatal exposure to Ochratoxin A and T-2 Toxin.

Teratology **17**, 25-30

HORNDASCH, E. (1991)

Untersuchungen zum Auftreten der Mykotoxine Ochratoxin A und Zearalenon in Schweinezuchtbeständen mit Berücksichtigung klinischer Veränderungen am Genitaltrakt und der Mamma an bis zu 10 Tage alten Saugferkel.

Berlin, Freie Univ., Tierärztl. Ambulanz, Diss.

HULT, K.; HÖKBY, E.; GATENBECK, S.; RUTQVIST, L. (1980)

Ochratoxin A in blood from slaughter pigs in Sweden: use in evaluation of toxin content of consumed feed.

Appl. Environ. Microbiol. **39**, 828-830

HULT, K.; HÖKBY, E.; HÄGGLUND, U.; GATENBECK, S.; RUTQVIST, L.; SELLVEY, G. (1979)

Ochratoxin A in pig blood: method of analysis and use as a tool for feed studies.

Appl. Environ. Microbiol. **38**, 772-776

HULT, K.; PLESTINA, R.; HABAZIN-NOVAK, V.; RADIC, B.; CEOVIC, S. (1982)

Ochratoxin A in human blood and Balkan endemic nephropathy.

Arch. Toxicol. **51**, 313-321

HULT, K.; RUTQVIST, L.; HOLMBERG, T.; THAFVELIN, B.; GATENBECK, S. (1984)

Ochratoxin A in blood of slaughter pigs.

Nord. Vet. Med. **36**, 311-316

IUPAC, International Union of Pure and Applied Chemistry (1976)

Recommended methods for Ochratoxin A and B in barley.

Oxford, Technical Report No. 14

JAHN, M.; FINK-GREMMELS, J. (1988)

Wirkung von Ochratoxin A im Lymphozytentransformationstest.

Kulmbach, Mitteilungsbl. Bundesanst. Fleischforsch. **101**

JIMÉNEZ, M.; MÁÑEZ, M.; HERNÁNDEZ (1996)

Influenz of water activity and temperatur on the production of Zearalenone in corn by three *Fusarium* species.

Int. J. Food Microbiology **29**, 417-421

KAMIMURA, H. (1986)

Conversion of zearalenone to zearalenone-glycoside by *Rhizopus* sp..

Appl. Environ. Mikrobiol. **52**, 512-519

KANE, A.; CREPPY, E. E.; ROTH, A.; RÖSCHENTHALER, R. DIRKHEIMER, G. (1976)

Distribution of the (3)-label from low doses of radioactive Ochratoxin A ingested by rats, and evidence for DNA single-strang breaks caused in liver and kidneys.

Arch. Toxicol. **58**, 219-224

KANISAWA, M.; SUZUKI, S. (1978)

Induction of renal and hepatic tumors in mice by Ochratoxin A , a mycotoxin.

Gann. **69**, 599-600

KARLE, S.; LOHR, J. E.; UNGLAUB, W. (1989)

Nachweis von Mykotoxinen aus Ziervogelfutter in Tracheal- und Zellkulturen von Enten- und Hühnerküken sowie im Salinenkrebs (*Artemia salina* L.)-Test.

Tierärztl. Umschau **44**, 803-809

KATZENELLENBOGEN, B. S.; KATZENELLENBOGEN, J. A; MORDECAI, D. (1979)

Zearalenones: Characterisation of the estrogenic potencies and receptor interactions of a series of fungal -resorcylic acid lactones.

Endocrinology **105**, 33-40

KERCHER, C. J.; JONES, R. R. (1992)

Combinations of hormone and hormone-like implants for growing-finishing beef steers.

American Society of Animal Science **43**, 151-154

KIPPER, L.; SCHWEIGMAMM, A.; VATER, N. (1991)

Untersuchung zum Carry-over von Ochratoxin A in der Nahrungskette Futtermittel-Schlachtschwein-Fleischerzeugnis.

Tierärztl. Umschau **46**, 538-542

KÖFER, J.; SCHUH, M.; FUCHS, K. (1991)

Ochratoxin A-Kontamination bei steirischen Schlachtschweinen.

Tierärztl. Umschau **46**, 657-660

KOLLARCZIK, B. M.; KAADEN; O. R. (1995)

Mykotoxikologische Untersuchung von Futtermitteln.

Kraftfutter **6**, 264-265

KOZAKIEWICZ, Z. (1989)

Aspergillus species on stored products.

Mycological paper no. 161, p. 1.

C. A. B. International Mycological Institut, Kew, U. K

zit. nach MARQUARDT und FROHLICH, 1992

KRAUSE, H. - P. (1985)

Untersuchungen zum Vorkommen der Mykotoxine Aflatoxin B1, B2, G1, G2 und Zearalenon im Schweinefutter (Fertigfuttermittel und betriebseigene Mischungen) im Raum Süd-Schleswig-Holstein.

Berlin, Freie Univ., Tierärztl. Ambulanz, Diss.

KROGH, P. (1978)

Causal associations of mycotoxic nephropathy.

Acta path. microbiol. scand. Sect. A , Suppl. 269, 6-28

KROGH, P. (1992)

Role of ochratoxin in disease causation.

Food. Chem. Toxicol. **30**, 213-224

KROGH, P.; AXELSON, N. H.; ELLING, F.; GYRD-HANSEN, N.; HALD, B.; HYLDGAARD-JENSEN, J. ; LARSEN, A. E.; MADSEN, A.; MORTENSEN, H. P.; MOELLER, T.; PETERSEN, O. K.; RAVUSKOW, U.; ROSTGAARD, M. (1974)

Experimental porcine nephropathy.

Acta path. microbiol. scand. Sect. A, Supp. 246, 1-16

KROGH, P.; ELLING, F.; FRIIS, C.; HALD, B.; LARSEN, A. E.; LILLEHOJ, E. B.; MADSEN, A. (1979)

Procine nephropathy by longterm ingestion of ochratoxin A.

Vet. Pathol. **16**, 466-475

KROGH, P.; ELLING, F.; HALD, B.; LARSEN, A. E.; LILLEHOJ, E. B.; MADSEN, A.; MORTENSEN, H. P. (1976)

Time-dependent disappearance of Ochratoxin A residues in tissues of bacon pigs.

Toxicology **6**, 235-242

KROGH, P.; HALD, B.; PLESTINA, R.; CEOVIC, S. (1977)

Balkan (endemic) nephropathy and foodborn Ochratoxin A: preliminary results of a survey of food stuffs.

Acta path. microbiol. scand. **85**, 238-240

KÜHN, I. (1993)

Quantitative Untersuchungen zum Transfer und zur Elimination von Ochratoxin A bei wachsenden Schweinen nach langfristiger oraler Applikation.

Kiel, Agrarwissenschaftliche Fakultät der Christian-Alberts-Universität, Diss.

KÜHN, I.; Breves, G.; Valenta, H.; Rohr, K.(1991)

Quantitative Untersuchungen zur Verteilung und Elimination von Ochratoxin A bei wachsenden Schweine nach langfristiger oraler Applikation.

Univ. Hohenheim, 13. Mykotoxin-Workshop

KÜHN, I.; BREVES, G.; VALENTA, H.; ROHR, K. (1992)

Ochratoxin A Ausscheidung beim Schwein nach langfristiger oraler Applikation.

Gießen, 14. Mykotoxin-Workshop, 47-48

KÜHN, I.; VALENTA, H.; ROHR, K. (1995)

Determination of Ochratoxin A in bile of swine by high-performance liquid chromatography.

J. Chromatogr. B **668**, 333-337

KUIPER-GOODMAN, T. (1991)

Risk Assessment to Humans of Mycotoxins in Animal-derived Food Products.

Vet. Human Toxicol. **33**, 325-333

KUMAGAI, S.; AIBARA, K. (1982)

Intestinal absorption and secretion of Ochratoxin A in rat.

Toxicol. Appl. Pharmacol. **64**, 94-102

KURTZ, H. J.; NAIRN, M. E.; NELSON, G. H.; CHRISTENSEN, C. M.; MIROCHA, C. J. (1969)

Histologic changes in the genital tracts of swine feed estrogenic mycotoxin.

Am. J. Vet. Res. **30**, 551-556

LANGSETH, W.; ELLINGSEN, Y.; NYMOEN, U.; OKLAND, E. M. (1989)

High-performance liquid chromatographic determination of Zearalenon and Ochratoxin A in cereals and feed.

J. Chromatogr. **21**, 269-274

LARSSON, K., MÖLLER, T. (1996)

Liquid Chromatographic Determination of Ochratoxin A in Barley, Wheat Bran, and Rye by AOAC/IUPAC/NMKL Method: NMKL Collaborative Study.

Journal of AOAC Intern. **79**, 1102-1105

LEE, S. C.; CHU, F. S. (1984)

Enzyme-linked immunosorbent assay of ochratoxin A in wheat.

J. Ass. Off. Anal. Chem. **67**, 45-49

LILLEHOJ, E. B.; ELLING, F. (1983)

Environmental conditions that facilitate Ochratoxin contamination of agricultural commodities.

Acta Agric. Scand. **33**, 113-128

LORENZ, R. J. (1992)

Grundbegriffe der Biometrie.

3. Auflage, Fischer Verlag, Stuttgart, Jena

LOTZOVA, E.; HEBERMANN, R. B. (1986)

Immunobiology of natural killer cells.

Boca Raton, Vol. I-II; CRC Press Inc

LUSKY, K.; TESCH, D.; GÖBEL, R.; HAIDER, W. (1997)

Gleichzeitige Verabreichung der Mykotoxine Ochratoxin A und Zearalenon über das Futter an Schweine- Einfluß auf Tiergesundheit und Rückstandsverhalten.

Tierärztl. Umschau **52**, 212-221

LUSTER, M. I.; GERMOLEC, D. R.; BURLESON, G. R.; JAMESON, C. W.; ACKERMAN, M. F.; LAMM, K. R.; MAYER, H. T. (1987)

Selective immunosuppression in mice of natural killer cell activity by Ochratoxin A.

Cancer Res. **47**, 2259-2263

MADSEN, A.; HALD, B.; LILLEHOJ, E.; MORTENSEN, H. P. (1982)

Feeding experiments with Ochratoxin A contaminated barley for bacon pigs.

Acta Agric. Scand. **32**, 369-372

MÄRTELBAUER, E.; TERPLAN, G. (1988)

Ein enzymimmunologisches Verfahren zum Nachweis von Ochratoxin A in Schweineserum.

Arch. Lebensmittelhyg. **39**, 143-147

MAJERUS, P.; OTTENEDER, H.; Hower, C. (1989)

Beitrag zum Vorkommen von Ochratoxin A in Schweineblutseren.

Deutsche Lebensmittelrundschaue **85**, 307-313

MALLMANN, C. A. (1993)

Epidemiologische Studien zum Vorkommen von Ochratoxin A im Serum von Schweinen auf der Basis von Schlachthof- und Bestandsuntersuchungen.

Hannover, Tierärztl. Hochschule, Diss.

MALLMANN, C. A.; SANTURIO, J. M.; BALDISSERA, M. A.; MICKWITZ, G. V. (1994)

Determination of Ochratoxin A in blood serum of pigs by using thin layer chromatography.

Rev. Microbiol., Sao Paulo **25**, 107-111

MANGER, P. C. (1986)

Untersuchungen zum Nachweis vom Mykotoxin Zearalenon im Schweinekot nach Aufnahme toxinkontaminierten Schweinefutters mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie.

Berlin, Freie Univ. , Fachber. Veterinärmed., Diss.

MARIN, M. L.; MURTHA, J.; DONG, W.; PESTKA, J. J. (1996)

Effects of Mycotoxins on Cytokine Production and Proliferation in EL-4 Thymoma Cells.

J. Toxicol. Environ. Health **48**, 379-396

MARQUARDT, R. R.; FROHLICH, A. A. (1992)

A review of recent advances in understanding ochratoxicosis.

J. Anim. Sci. **70**, 3968-3988

MARQUARDT, R. R.; FROHLICH, A. A.; SREEMANNARYANA, O.; ABRAMSON, D.; BRENATSKY, A. (1988)

Ochratoxin A in blood from slaughter pigs in Western Canada.

Can. J. Vet. Res. **52**, 186-190

MARX, H.; GEDEK, B.; KOLLARCZIK, B. (1995)

Vergleichende Untersuchung zum mykotoxikologischen Status von ökologisch und konventionell angebautem Getreide.

Z. Lebensm. Unters. Forsch. **201**, 83-86

MAYURA, K.; REDDY, R. V.; HAYES, A. W.; BERNDT, W. O. (1982)

Embryocidal, fetotoxic and teratogenic effects of ochratoxin in rats.

Toxicology **25**, 175-185

MAYURA, K.; HAYES, A. W.; BERNDT, W. O. (1983)

Effects of dietary protein on teratogenicity of Ochratoxin A in rats.

Toxicology **27**, 147-157

MERWE, K. J. VAN DER; STEYN, P. S.; FOURIE, L. (1965)

The constitution of ochratoxin A, B, and C, metabolites of *Aspergillus ochraceus* Wilh., Mycotoxins Part II
J. Chem. Soc., 7083-7088

MEYER, R. A.; DRECHSLER, H.; HEMPEL, G. (1995)

Zur Bestimmung von Ochratoxin A in Gewürzen.
Braunschweig, 17. Mykotoxin-Workshop, 1

MEYER, K.; USLEBER, E.; MÄRTLBAUER, E.; BAUER, J. (1997)

Nachweis von Zearalenon-Metaboliten in Gallen von Zuchtsauen mit Fertilitätsstörungen.
Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr. **110**, 281-283

MICCO, C.; MIRAGLIA, M.; BREVA, C.; CORNELI, S.; AMBRUZZI, A. (1995)

Evaluation of Ochratoxin A level in human milk in Italy.
Food. Addit. Contamin. **12**, 351-354

MILANO, G. D.; BECU-VILLALOBOS, D.; TAPIA, O. M. (1995)

Effects of long-term zearalenone administration on spermatogenesis and serum luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone, and prolactin values in male rats.
Am. J. Vet. Res. **56**, 954-958

MILES, C. O.; ERASMUSON, A. F.; WILKINS, A. L.; TOWERS, N. R.; SMITH, B. L.; GARTHWAITE, I.; SCAHILL, B. G.; HANSEN, R. P. (1996)

Ovine Metabolism of Zearalenone to -Zearalenol (Zeranol).
J. Agric. Food Chem. **44**, 3244-3250

MILLER, J. K.; HACKING, A.; HARRISON, J.; GROSS, V. J. (1973)

Stillbirth, neonatal mortality and small litters in pigs associated with the ingestion of *Fusarium* toxin by pregnant sows.
Vet. Rec. **93**, 555-559

MIROCHA, C. J.; CHRISTENSEN, C. M.; NELSON, G. H. (1967)

Estrogenic metabolite produced by *Fusarium graminearum* in stored grain.
Appl. Microbiol. **15**, 497-503

MIROCHA, C. J.; PATHRE, S. V.; BEHRENS, J.; SCHAUERHAMER, B. (1978)

Uterotropic activity of cis and trans isomers of zearalenone and zearalenol.
Appl. Environ. Microbiol. **35**, 986-987

MIROCHA, C. J.; PATHRE, S. V.; CHRISTENSEN, C. M. (1977)

Chemistry of *Fusarium* and *Stachybotrys* mycotoxins.

Willie, T. D.; Morehouse, L. G. (Hrsg.): *Mycotoxic Fungi, Mycotoxins, Mycotoxicoses*. Marcel Dekker Inc., New York and Basel, Vol. 1, 365-420

MIROCHA, C. J.; SCHAUERHAMER, B.; CHRISTENSEN, C. M.; NIKU-PAALOVA, M. L.; NUMMI, M. (1979)

Incidence of Zearalenol (*Fusarium* mycotoxin) in animal feed.
Appl. Environ. Microbiol. **38**, 749-750

MIROCHA, C. J.; SCHAUERHAMER, B.; PATHRE, S. V. (1974)

Isolation, detection and quantitation of zearalenone in maize and barley.
J. Ass. Off. Anal. Chem. **57**, 1104-1110

MODI, R.; MÜLLER, H.-M. (1992)

Ergosterin Gehalt und Toxizität von Weizen und Weizenkleie.
14. Mykotoxin-Workshop Gießen, 16-17

MORGAN, M. R. A. (1989)

Mycotoxin Immunoassays (with special reference to ELISAs).
Tetrahedron **45**, 2237-2249

MORGAN, M. R. A.; MC NERNEY, R.; CHAN, H. W.-S.; ANDERSON, P. H. (1986)

Ochratoxin A in pig kidney determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).
J. Sci. Food Agric. **37**, 475-480

MORGAN, M. R. A.; MC NERNEY, R.; CHAN, H. W. - S. (1983)

Enzyme-linked immunosorbent Assay of Ochratoxin A in barley.
J. Assoc. Off. Anal. Chem. **6**, 1481-1484

- MORTENSEN, H. P.; HALD, B.; MADSEN, A. (1983)
Feeding experiments with ochratoxin A contaminated barley for bacon pigs. 5. Ochratoxin A in pig blood.
Acta Agric. Scand. **33**, 235-239
- MÜLLER, H.-M. (1983)
Entgiftung von Mykotoxinen, II. Chemische Verfahren und Reaktion mit Inhaltsstoffen von Futtermitteln.
Übers. Tierernährg. **11**, 47-80
- MÜLLER, T.; LEPOM, P. (1985)
Nachweis von T-2 Toxin und Diacetoxyscirpenol in Grobfutterstoffen mit Salinenkrebbslarven (*Artemia salina* L.).
Mh. Vet. Med. **40**, 486-489
- NESHEIM, S.; HARDIN, N. F.; FRANCIS, O. J.; LANGHAM, W. S. (1973)
Analysis of ochratoxins A and B and their esters in barley, using partition and thin layer chromatography. 1. Development of the method.
J. Ass. Off. Anal. Chem. **56**, 817-821
- NIJS, DE M.; SOENTORO, P.; DELFGOU-VAN ASCH, E.; KAMPHUIS, H.; ROMBOUTS, F. M.; NOTERMANS, S. H. W. (1996)
Fungal infection and presence of Deoxynivalenol and Zearalenone in cereals grown in the Netherlands.
J. of Food Protection **59**, 772-777
- NOGOWSKI, L. (1996)
Effect of the myco-oestrogen Zearalenone on carbohydrate and lipid metabolism indices in ovariectomized female rats. Possible role of insulin and its receptor.
J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. **75**, 156-163
- OMINSKI, K. H.; FROHLICH, A. A.; MARQUARDT, R. R.; CROW, G. H.; ABRAMSON, D. (1996)
The incidence and distribution of Ochratoxin A in western Canadian swine.
Food. Addit. Contamin. **13**, 185-198
- OSBORNE, B. G. (1979)
Reversed-phase high performance liquid chromatography determination of ochratoxin A in flour and bakery products.
J. Sci. Food Agric. **30**, 1065-1070
- PALYUSIK, M. (1977 a)
Mykotoxikosen.
Wien. tierärztl. Monatsschr. **64**, 211-220
- PALYUSIK, M. (1977 b)
Mykotoxikosen (2. Teil).
Wien. tierärztl. Monatsschr. **64**, 259-266
- PEPELJNJAK, S.; CVETNIC, Z. (1985)
The mycotoxicological chain and contamination of food by ochratoxin A in the nephropathic and non-nephropathic areas in Yugoslavia.
Mycopathologia **90**, 147-153
- PÉREZ-MARTÍNEZ, C.; GARCÍA-IGLESIAS, M. J.; BRAVO-MORAL, A. M.; FERRERAS-ESTRADA, M. C.; MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ, J. M.; ESCUDERO-DÍEZ, A. (1995)
Effect of diethylstilbestrol or zearanol on fetal development, gestation duration, and number of offspring in NMRI mice.
Am. J. Vet. Res. **56**, 1615-1619
- PIER, A. C.; RICHARD, J. L.; CYSEWSKI, S. J. (1980)
Implikations of Mycotoxins in Animal Disease.
J. Am. Vet. Med. Ass. **176**, 719-724
- PITT, J. (1986)
Penicillium viridicatum, *P. verrucosum* and the production of Ochratoxin A.
Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation, Division of Food Research,
North Ryde, N. S. W. 2113, Australia
- PLANK, G.; BAUER, J.; GRÜNKEMEIER, A.; FISCHER, S.; GEDEK, B.; BERNER, H. (1990)
Untersuchungen zur protektiven Wirkung von Adsorbentien gegenüber Ochratoxin A beim Schwein.
Tierärztl. Praxis **18**, 483-489
- PRIOR, M; G.; SISODIA, C. S. (1982)
The effect of Ochratoxin A on immune response of swiss mice.
Can. J. Comp. Med. Vet. Sci. **42**, 172-176
- REHM, H. H.; SCHMIDT, I. (1970)

Mykotoxine in Lebensmitteln: III. Mitteilung: Bildung von Ochratoxinen in verschiedenen Lebensmitteln.
Zentralbl. Bakt., Paras. Infekt. u. Hyg. **124**, 364-368

REIMANN, J.; SCHUMACHER, U.; SCHWADORF, K.ÜLLER, H.-M. (1992)
Fusarientoxine und Ergosterin in Getreide.
14. Mykotoxin-Workshop, Gießen, 14-15

RENZ, V.; TERPLAN, G. (1995)
Ein enzymimmunologisches Verfahren zum Nachweis des östrogen wirksamen Mykotoxins Zearalenon und seiner Metaboliten in der Milch.
Braunschweig, 17. Mykotoxin-Workshop

RICHTER, W.; SCHUSTER, M. (1996)
Keine Chance für Schimmel, Käfer und Co.
Top agra **6**, 14-16

RICHTER, W.; SCHUSTER, M. (1995)
Vorkommen von Zearalenon (ZEA) und Ochratoxin A (OTA) in betriebseigenem Futtergetreide.
Braunschweig, 17. Mykotoxin-Workshop

RICHTER, W.; WOLFF, J. (1993)
Vorkommen und Möglichkeiten der Reduzierung von Ochratoxin A (OTA) in betriebseigenem Futtergetreide.
S. u. B. **12**, 4-6

ROUSSEAU, D. M.; CANDLISH, A. A. G.; SLEGGERS, G. A.; PETEGHEM, C. H. VAN; STIMSON, W. H.; SMITH, J. E. (1987)
Detection of Ochratoxin A in porcine kidneys by a monoclonal antibody-based Radioimmunoassay.
Appl. Environ. Microbiol. **57**, 514-518

RUTQVIST, L.; BJÖRKLUND, N. E.; HULT, K.; HÖKBY, E.; CARLSSON, B. (1978)
Ochratoxin A as the cause of spontaneous nephropathy in fattening pigs.
Appl. Environ. Microbiol. **36**, 920-925

SANDOR, G.; BUSCH, A.; WATZKE, H.; REEK, J.; VANYL, A. (1991)
Subacute toxicity testing of Ochratoxin A and Citrinin in swine.
Acta Vet. Hung. **39**, 149-160

SANTURIO, J. M.; MALLMANN, C. A. (1993)
Occurrence of the mycotoxin Ochratoxin A in blood serum of pigs from South Brazil.
A Hora Veterinária **13**, 32 - 34

SCHEUER, R. (1989)
Untersuchung zum Vorkommen von Ochratoxin A.
Fleischwirtsch. **69**, 1400-1404

SCHEUER, R.; LEISTNER, L. (1985 a)
Vorkommen von Ochratoxin A bei Schlachtschweinen und Fleischerzeugnissen.
Kulmbach, Mitteilungsbl. Bundesanst. Fleischforsch. **88**, 6436-6439

SCHEUER, R.; LEISTNER, L. (1985 b)
Nachweis von Ochratoxin A in Frischblutplasma und Plasmapulver aus dem Handel.
Kulmbach, Bundesanst. Fleischforsch., Jahresbericht

SCHEUER, R.; LEISTNER, L. (1986 a)
Ochratoxine.
Braunschweig, Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft, 175-179

SCHEUER, R.; LEISTNER, L. (1986 b)
Nachweis von Ochratoxin A in Humanblutproben aus der Bundesrepublik Deutschland.
Kulmbach, Bundesanst. Fleischforsch., Jahresbericht

SCHEUER, R.; STRIEBLING, A.; LEISTNER, L.; BERNHARD, K. (1985)
Verteilung von Ochratoxin A im Körper von Schlachtschweinen.
Kulmbach, Bundesanst. Fleischforsch., Jahresbericht

SCHLATTER, C.; STUDER-ROHR, J.; RÁSONYL, T. (1995)
Carcinogenicity and kinetic aspects of Ochratoxin A.
Institut für Toxikologie der ETH und Universität Zürich

SCHMIDT, H. L. (1989)
Zur Entnahme und Behandlung von Futtermittelproben, insbesondere bei Mykotoxinverdacht.

DTW **96**, 344-346

SCHMIDT, V.; HORZINEK, M. C. (1993)

Krankheiten der Katze.

Gustav Fischer Verlag, Jena, Band 2

SCHOTTE, M. (1992)

Untersuchung zum Vorkommen von Ochratoxin A im Serum und Nieren von Schlachtschweinen in Nordrhein-Westfalen.

14. Mykotoxin-Workshop, Gießen, 34-43

SCHUH, M. (1989)

Klinische Auswirkungen der in Österreich vorkommenden Mykotoxine.

Wien. tierärztl. Monatsschr. **68**, 308-312

SCHUH, M. (1989)

Bedeutung der Mykotoxinaufnahme für Leistung und Gesundheit der Tiere.

DTW **96**, 353-355

SCHUH, M.; AWAD-MASALMEH, M. (1992)

Investigations on the incidence of Deoxynivalenol, Zearalenone, Microbial status and Ergosterol content in feed stuffs.

The Hague, The Netherlands. 12th IPVS Congress, August 17-20, 666

SCHUH, M.; SCHWEIGHARDT, H. (1981)

Ochratoxin A : ein nephrotoxisch wirkendes Mykotoxin.

Übers. Tierernährung **9**, 33-70

SCHWEIGHARDT, H.; ABDELHAMID, A. M.; LEIBETSEDER, J. (1980 b)

Über Vorkommen und Nachweis der Fusarientoxine Zearalenon und Vomitoxin in Österreich.

Z. Tierphysiol. **44**, 7-8

SCHWEIGHARDT, H.; BÖHM, J.; LEIBETSEDER, J. (1978)

Zearalenonbestimmung in Getreide mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC).

Z. Tierphysiol. Tierernähr. Futtermittelkd. **41**, 39-47

SCHWEIGHARDT, H.; LEIBETSEDER, J. (1981)

Nachweis von Mykotoxinen mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC)

Wien. tierärztl. Monatsschr. **68**, 302-305

SCHWEIGHARDT, H.; SCHUH, M.; ABDELHAMID, A. M.; BÖHM, J.; LEIBETSEDER, J. (1980 a)

Methode zur Ochratoxin A-Bestimmung in Lebens- und Futtermitteln mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC).

Z. Lebensm. Unters. Forsch. **170**, 355-359

SCOTT, P. M.; PANALAKS, T.; KANHERE, S.; MILES, W. F. (1978)

Determination of Zearalenone in cornflakes and other corn-based foods by thin layer chromatography, high pressure liquid chromatography and gas-liquid chromatography/high resolution mass spectrometry.

J. Ass. Off. Anal. Chem. **61**, 593 - 599

SEEGERS, J. C.; LOTTERING, M.-L.; GARLINSKI, P. J. (1994)

The mycotoxin Ochratoxin A causes apoptosis-associated DNA degeneration in human lymphocytes.

Med. Sci. Res. **22**, 417-419

SHIPCHANDLER, M. T. (1975)

Chemistry of Zearalenone and some of its derivatives.

Heterocycles **3**, 471-520

SHOTWELL, O. L.; BENNETT, G. A.; GOULDEN, M. L.; PLATTNER, R. D.; HESSELTINE, C. W. (1980)

Survey for Zearalenone, Aflatoxin, and Ochratoxin in U. S. Grain Sorghum from 1975 and 1976 Crops.

J. Ass. Off. Anal. Chem. **63**, 922-926

SINGH, G. S. P.; CHAUHAN, H. V. S.; JHA, G. J.; SINGH, K. K. (1990)

Immunosuppression due to chronic Ochratoxicosis in broiler chicks.

J. Comp. Path. **103**, 399-410

ŠKRINJAR, M.; STUBBENFIELD, R. D.; STOJANOVIC, E.; DIMIC, G. (1995)

Occurrence of Fusarium species and Zearalenone in dairy cattle feeds in Vojvodina.

Acta Vet. Hungarica **43**, 259-267

STEYN, P. S. (1995)

Mycotoxins, general view, chemistry and structure.

Elsevier, Toxicology Letters **82/83**, 843-851

STOB, M.; BALDWIN, R. S.; TUIITE, J.; ANDREWS, F. N.; GILLETTE, K. G. (1962)
Isolation of an anabolic, uterotrophic compound from corn infected with *Gibberella zeae*.
Nature: **196**, 1318

STOLLA, R.; BAUER, J.; GEDEK, B. (1987)
Spermabeschaffenheit beim Eber nach Verfütterung des Mykotoxins Zearalenon.
Zuchthygiene: **22**, 165-172

STUDER-ROHR, I.; DIETRICH, D. R.; SCHATTER, J.; SCHATTER, C. (1995)
The occurrence of Ochratoxin A in coffee.
Fd. Chem. Toxic. **33**, 341-355

SYDENHAM, E. W.; THIEL, P. G.; MARASAS, F. O. (1988)
Occurrence and chemical determination of Zearalenone and Alternariol Monomethyl Ether in Sorghum-based mixed feeds associated with an outbreak of suspected hyperestrogenism in swine.
J. Agric. Food Chem.: **36**, 621-625

SZCZECHECH, G. M.; CARLTON, W. W.; TUIITE, J. (1973 a)
Ochratoxicosis in beagle dogs. 2. Pathology.
Vet. Pathol. **10**, 219-231

SZCZECHECH, G. M.; CARLTON, W. W.; TUIITE, J.; CALDWELL, R. (1973 b)
Ochratoxin A toxicosis in swine.
Vet. Pathol. **10**, 347-364

SZCZECHECH, G. M.; HOOD, R. D. (1981)
Brain necrosis in mouse fetuses transplacentally exposed to the mycotoxin Ochratoxin A.
Toxicol. Appl. Pharmacol. **57**, 127-137

TAKEDA, Y.; AKIYAMA, Y.; SHIBASAKI, S. (1991)
Solid-phase extraction and cleanup for liquid chromatographic analysis of ochratoxin A in pig serum.
Bull. Environ. Contam. Toxicol. **47**, 198-203

TANAKA, T.; HASEGAWA, A.; MATSUKI, Y.; LEE, U.; UENO, Y. (1985)
Rapid and sensitive determination of Zearalenone in cereals by High-Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detection.
J. Chromatogr. **17**, 271-278

TANAKA, T.; TESHIMA, R.; IKEBUCHI, H.; SAWADA, J. I.; ICHINOE, M. (1995)
Sensitive enzyme-linked immunosorbent assay for the mycotoxin zearalenone in barley and Job's-tears.
J. Agric. Food Chem. **43**, 946-950

TAPIA, M. O.; SEAWRIGHT, A. A. (1984)
Experimental ochratoxicosis A in pigs.
Aust. vet. J. **61**, 219-222

TAPIA, M. O.; SEAWRIGHT, A. A. (1985)
Experimental combined aflatoxin B1 and ochratoxin A intoxication in pigs.
Aust. vet. J. **62**, 33-37

TESCH, D. (1992)
Ein Beitrag zur Findung des "no effect level" von Ochratoxin A beim Schwein.
Diss., Vet. Med., Humboldt-Universität Berlin

TRENHOLM, H. L.; WARNER, R. M.; FITZPATRICK, D. W. (1984)
Rapid, sensitive liquid chromatographic method for determination of Zearalenone and - and - Zearalenol in wheat.
J. Assoc. Off. Anal. Chem. **67**, 968-972

UENO, Y.; AYAKI, S.; SATO, N.; ITO, I. (1977)
Fate and mode of action of Zearalenone.
Ann. Nutr. Aliment. **31**, 935-948

UENO, Y.; SHIMADA, N.; YAGASAKI, S.; ENMOTO, M. (1974)
Toxicological approaches to the metabolites of *Fusaria*: 7. Effects of Zearalenone on uteri of mice and rats.
Chem. Pharm. Bull. **22**, 2830-2835

UNGER, K. K. (1989)
Handbuch der HPLC, Teil 1: Leitfaden für Anfänger und Praktiker.

Darmstadt, Git Verlag, 359 S.

UNGER, K. K. (1994)

Handbuch der HPLC, Teil 2: Präparative Säulenflüssig-Chromatographie.

Darmstadt, Git Verlag, 286 S.

UNGLAUB, W.; HOLL, F. (1990)

Bestimmung und Gehalte von Ochratoxin A in Schweineblut und -seren.

Fleischwirtsch. **70**, 406-408

URRY, W. H.; WEHRMEISTER, H. L.; HODGE, E. B.; HIDY, P. H. (1966)

The structure of zearalenone.

Tetrahedron **27**, 3109-3114

VALENTA, H.; GOLL, M. (1995)

Bestimmung von Zearalenon, -Zearalenol und -Zearalenol in Plasma und Milch mit HPLC und GC/MS.

Braunschweig, 17. Mykotoxin-Workshop

WARNER, R. (1986)

Screening of Zearalenon in corn by competitive direct Enzyme linked Immunosorbent Assay.

J. Agric. Food Chem. **34**, 934-935

WOLFF, J.; RICHTER, W. I. F. (1992)

Ochratoxin A in Getreide.

Getreide, Mehl und Brot **46**, 355-359

WORLD HEALTH ORGANISATION (1990).

Environmental Health Criteria 105

Selected mycotoxins: Ochratoxin A, Trichothecenes, Ergot.

XIAO, H.; MADHYASTHA, S.; MARQUARDT, R. R.; LI, S.; VODELA, J. K.; FROHLICH, A. A.; KEMPPAINEN, B. W. (1996)

Toxicity of Ochratoxin A, its opened lactone form and several of its analogs: structure-activity relationships.

Toxicol. Appl. Pharmacol. **137**, 182-192

XIAO, H.; MARQUARDT, R. R.; FROHLICH, A. A.; PHILLIPS, G. D.; VITTI, T. G. (1991 a)

Effect of a hay and grain diet on the hydrolysis of ochratoxin A in the rumen of sheep.

J. Anim. Sci. **69**, 3706-3714

XIAO, H.; MARQUARDT, R. R.; FROHLICH, A. A.; PHILLIPS, G. D.; VITTI, T. G. (1991 b)

Effect of a hay and grain diet on the bioavailability of ochratoxin A in the rumen of sheep.

J. Anim. Sci. **69**, 3715-3723

YANG, H. H.; AULERICH, R. J.; HELFERICH, W.; YAMINI, B.; CHOU, K. C.; MILLER, E. R.; BURSIAAN, S. J. (1995)

Effects of Zearalenone and/or tamoxifen on swine and mink reproduction.

J. Appl. Toxicol. **15**, 223-232

YOUNG, L. G.; KING, G. J. (1983)

Prolonged feeding of low levels of zearalenone to young boars.

J. Anim. Sci.; **57**, Suppl. 1, 314-318

YUDHABUNTARA, D. (1995)

Vergleichende Untersuchungen zum Vorkommen von Ochratoxin A in Seren von Schweinen mittels Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC) und Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA).

München, Tierärztl. Fakult., Diss.

8 ANHANG

Abbildung 20: Fragebogen

Laufende Nr./ Datum: _____

Name: _____ Betriebs Nr.: _____

Tel.: _____ Ort: _____

Betriebsgröße: Sauen: _____ Mast: _____

(tragend/säugend) (Vormast/Endmast)

Einstreu: _____ (ja/nein)

	Zukauf	Eigenes
Futter %		
Lagerart		
- Silo		
- Bodenschüttung		
- Sack		
- Sonstige		
Lagerdauer (Tage)		
letzte Lieferung, verfüttert seit		
falls Eigenes:		
- Gerste		
- Weizen		
- Hafer		
- Mais		
- Roggen		
- Sojaschrot		
- Andere		

Siloarten	innen	außen
- Holz		
- Spanplatten		
- PVC		
- Metall		
- Sonstiges		

Anmerkungen:

(Mastgewicht, Alter, Konservierungen, etc.)

DANKSAGUNG

Herrn Prof. Dr. G. von Mickwitz möchte ich herzlich für Überlassung des Themas und die stets gewährte Hilfe und Beratung danken.

Bei allen Mitarbeitern und Mitarbeiterinnen der Tierärztlichen Ambulanz Schwarzenbek bedanke ich mich ganz besonders wegen Ihrer steten Hilfsbereitschaft und guten Zusammenarbeit. Erwähnen möchte ich in diesem Zusammenhang Fr. Kreutzer, Dr. Achim Schütte und Dr. Armin Heer.

Bei Prof. Dr. Carlos A. Mallmann bedanke ich mich ganz herzlich für seine große Hilfsbereitschaft und seine freundlichen Worte.

Für die Beschaffung der Proben standen mir Christiane Hills (†) sowie Frau Dr. Wilkens vom ITL hilfreich zur Seite.

Ferner danke ich Fr. Dr. rer. pol. G. Arndt aus dem Institut für Biometrie im Fachbereich Veterinärmedizin für Ihre Beratung bei der statistischen Auswertung der Daten.

Herzlich bedanken möchte ich mich bei meiner Freundin und Kollegin Dr. Alexandra von Altröck für ihre dauernde Hilfe und kritischen Durchsicht meiner Arbeit.

Bedanken möchte ich mich auch bei Mitarbeitern des Labors Dr. Kramer in Geesthacht für ihre freundlichen Unterstützungen.

Mein Dank gilt ferner meiner Familie und allen Freunden die mir stets mit Rat und Tat zur Seite standen.

LEBENS LAUF

Kerstin Reich, geb. Bonn

29. Juli 1963 geboren in Hamburg-Bergedorf

Eltern:

Liesel Bonn, geb. Schloicka

Harald Bonn

1970-1974 Volksschule Richard-Linde-Weg in Hamburg

1974-1983 Gymnasium Sander Tannen in Hamburg

Juni 1983 Abitur

1984-1990 Studium der Veterinärmedizin an der Freien Universität Berlin

April - Sept. 1990 studentische Hilfskraft an der Klinik für Klauentiere, Fortpflanzung und Haltungshygiene der FU Berlin

September 1990 Approbation

Okt. 1990 - Dez. 1991 Berufstätigkeit in einer Klinik für Pferde bei Hamburg

seit 1992 Vertretungen in verschiedenen Pferde- und Kleintierpraxen

seit 1993 Promotionsstudium an der Tierärztlichen Ambulanz in Schwarzenbek

Kerstin Reich Mühlenstrasse 36 D-21435 Wentorf E-Mail : MReich@jurasoft-hh.de