

Mykotoxinuntersuchung im LKV

Mykotoxine - Schimmelpilzgifte sind sekundäre Stoffwechselprodukte aus Schimmelpilzen. Sie wirken bereits in geringsten Dosen hoch giftig.

Derzeit sind etwa 200 verschiedene Mykotoxine bekannt, wobei für die hiesige Landwirtschaft nur einige wenige relevant sind.

Die Bildung von Mykotoxinen unterliegt einer ausgeprägten regionalen sowie saisonalen Schwankungsbreite und ist u.a. abhängig vom Nahrungsangebot, Wassergehalt im Substrat sowie in der umgebenden Luft, Temperatur und pH-Wert.

Die Optimalbedingungen für das Wachstum des Schimmelpilzes und die Bildung des Toxins brauchen nicht notwendigerweise übereinstimmen.

Das heißt, nicht alles, was verschimmelt ist, enthält Mykotoxine. Trotzdem oder gerade deshalb ist bei Schimmelbefall immer dringend Vorsicht geboten.

Mykotoxine können bei Mensch und Tier vielgestaltige, meist sehr schädliche Wirkungen entfalten. Insbesondere können sie:

- krebserregend wirken
- das Zentralnervensystem schädigen
- das Immunsystem schädigen
- das Erbgut schädigen
- die Leibesfrucht schädigen
- Organschäden z.B. an Leber und Niere verursachen

Die meisten Mykotoxine sind sehr widerstandsfähig gegenüber Umwelteinflüssen. Dies lässt sie ihre gefährlichen Eigenschaften für lange Zeit unverändert behalten.

Warum bilden eigentlich Schimmelpilze diese Toxine? Eine mögliche Antwort wäre die Abwehr von Fressfeinden.

Manche Mykotoxine besitzen nämlich die Fähigkeit, Bakterien an ihrer Vermehrung zu hindern. Sie haben eine antibiotische Wirkung. Diese Eigenschaft wurde und wird auch zur Entwicklung und Herstellung von Medikamenten gegen bakterielle Infektionen genutzt.

Die Mykotoxine können aufgrund einer ähnlichen Molekülstruktur oder nach den sie produzierenden Schimmelpilzgattungen zu Toxingruppen zusammengefasst werden.

Für die Landwirtschaft relevant sind überwiegend folgende:

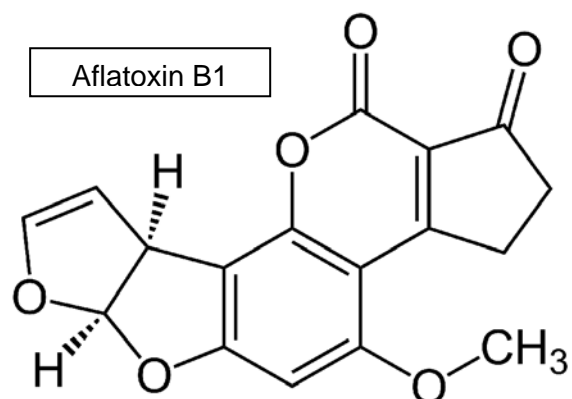
Aflatoxine

Sie werden insbesondere von *Aspergillus flavus* und *Aspergillus parasiticus* gebildet. Sie befallen organische Substrate jeden Typs, wenn die Bedingungen ihr Wachstum begünstigen. Solche wachstums-begünstigenden Bedingungen sind z.B. hohe Temperatur und Feuchtigkeit wie beispielsweise in tropischen Regionen.

Die für die Tierfütterung relevanten Aflatoxine werden in die Gruppen B₁, B₂, G₁ und G₂ eingeteilt.

Bei höheren Konzentration (um 10µ/kg Körpergewicht) wirken die Aflatoxine akut lebertoxisch.

Die Aflatoxine wirken aber schon bei deutlich geringeren Konzentrationen, vor allem bei wiederholter Aufnahme, karzinogen. Aflatoxin B₁ ist eine der stärksten krebserzeugenden Verbindungen überhaupt.



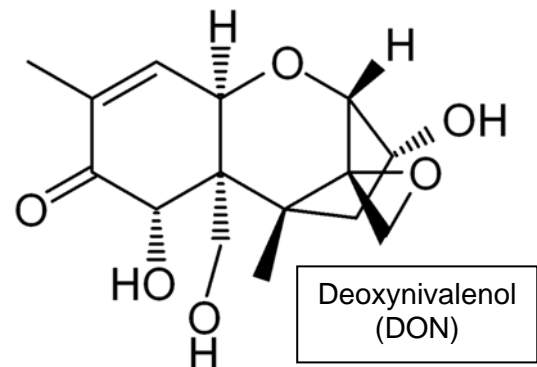
Deoxynivalenol (DON)

Deoxynivalenol, auch bekannt als *Vomitoxin*, kommt als Stoffwechselprodukt verschiedener Pilze der Gattung *Fusarium* (*F. culmorum*, *F. graminearum*) vor allem auf befallenem Getreide vor. DON findet sich häufig in Weizen und Mais, seltener in Gerste und Hafer, kaum in Roggen. Es handelt sich hierbei wahrscheinlich um das am häufigsten vorkommende Mykotoxin in Nahrungs- und Futtermitteln.

Bereits geringe Dosen verursachen Übelkeit und Erbrechen. Es ist ein gastrointestinaler Reizstoff und ein Hemmstoff der Proteinsynthese.

Bei Nutztieren verursacht mit Deoxynivalenol kontaminiertes Futter eine Wachstumsverzögerung, eine Beeinträchtigung des Immunsystems mit der Folge einer erhöhten Infektanfälligkeit.

DON ist chemisch sehr beständig. So sind z.B. in wässrigem Medium Temperaturen von über 120°C notwendig, um einen teilweisen Abbau zu erreichen.

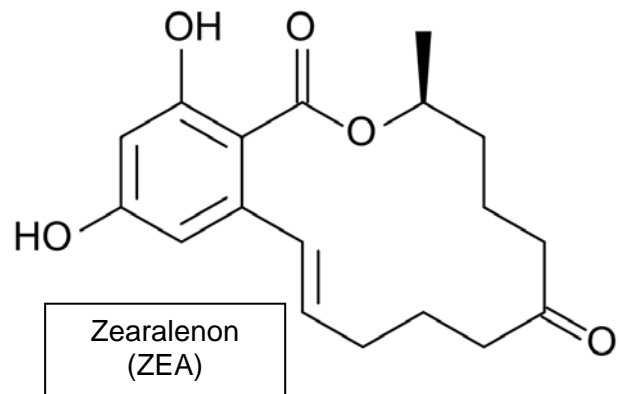


Zearalenon (ZEA)

Zearalenon wird durch eine Reihe verschiedener Fusarien gebildet. Hauptbildner sind die selben Pilze, die auch für die DON-Bildung verantwortlich sind.

Relevant ist das Vorkommen des Toxins in Nutzpflanzen, die von *Fusarium graminearum* und *Fusarium culmorum* befallen werden - insbesondere Mais, Weizen, Gerste und andere Getreidearten.

Das Toxin zeigt besonders bei Schweinen seine größte Wirkung, beginnend mit Schwellungen der weiblichen Genitalien über typische Zeichen zu hoher Östrogenaufnahme bis hin zu Unfruchtbarkeit und Scheinträchtigkeiten. Die Aufnahme kann zu Aborten und Sterilität führen. Schweine reagieren sehr viel empfindlicher als Rinder. Geflügel ist kaum betroffen.

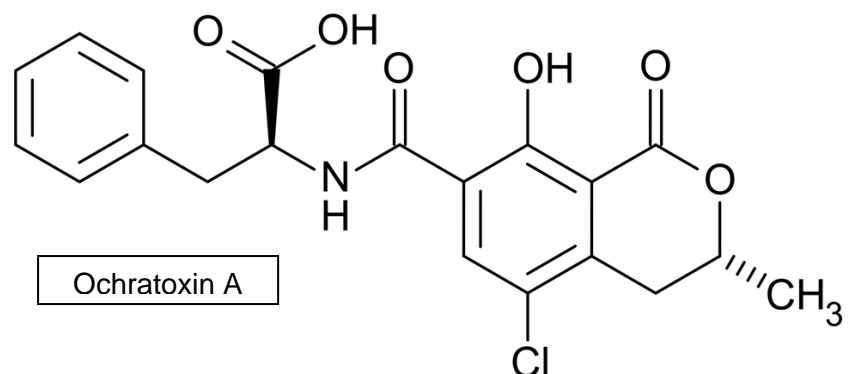


Ochratoxin

Ochratoxine sind eine Gruppe von Mykotoxinen verschiedener, in der Natur weit verbreiteter Schimmelpilz-Arten, z.B. einiger *Aspergillus*- und *Penicillium*-Arten wie *A. ochraceus* oder *P. verrucosum*. Ochratoxin A (OTA) ist das häufigste und wichtigste der Ochratoxine.

OTA wird meistens schon während des Pflanzenwachstums gebildet, spätestens jedoch während der Lagerung. Es kommt vor allem in Getreide, Hülsenfrüchten, Kaffee, Bier, Traubensaft, Rosinen und Wein, Kakaoprodukten, Nüssen und Gewürzen vor.

Ochratoxin A ist ein starkes Nierengift.



Analytik der Mykotoxine

Bis vor kurzem gehörte die Mykotoxinanalytik noch nicht zum Laboralltag im LKV. Eingehende Aufträge zur Mykotoxinuntersuchung wurden im Unterauftrag vergeben und die Proben an zuverlässige und qualitätsgerecht arbeitende Labore weiter geschickt.

Die steigende Nachfrage nach Untersuchungen dieser Art sowie die wachsende Unzufriedenheit der Auftraggeber über die ungewohnt lange Untersuchungsdauer im Auftragslabor ließ den LKV nach geeigneten Lösungen suchen.

Wir entschieden uns, eine eigene Mykotoxinuntersuchung aufzubauen und zwar nicht das Screening-Verfahren ELISA sondern das Referenzverfahren HPLC!

Die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (engl. *high performance liquid chromatography*, HPLC) ist ein Flüssigchromatographie-Verfahren, mit dem man Substanzen trennen und diese über Standards identifizieren und quantifizieren kann. Im Unterschied zur Gaschromatographie, die eine sehr gute Analysenmethode für verdampfbare Stoffe (z.B. Gärssäuren und Alkohole in Silagen und Fermenterhalten) ist, können mittels HPLC auch nicht flüchtige Substanzen analysiert werden.

Die notwendigen DIN-Normen wurden bestellt und die räumlichen Voraussetzungen geschaffen. Das HPLC-Gerät wurde dann Ende November 2009 geliefert und installiert.

Nach der anschließenden mehrtägigen Schulung und Einweisung begannen wir, die Analytik der Aflatoxine B₁, B₂, G₁ und G₂ sowie von Zearalenon und Deoxynivalenol einzuarbeiten.

Das Ergebnis dieser mehrwöchigen Einarbeitungsphase war dann ein an unsere Routinebedingungen angepasstes und validiertes Analysenverfahren, welches in unser offizielles Untersuchungsangebot mit aufgenommen wurde



unser HPLC-System

Grundsätzlich erfolgt die Bestimmung der Mykotoxine nach folgendem Schema:

1. Extraktion: Die Probe wird mit einem geeigneten Extraktionsmittel in einer speziellen Schüttelmaschine geschüttelt. Die Toxine lösen sich dabei im Extraktionsmittel.
2. Aufreinigung: Der gewonnene Extrakt wird über eine Immunaффinitätssäule (IAC) gegeben. Die enthaltenen Toxine werden von verschiedenen aktiven Substanzen in der Gelsuspension der Säule gebunden.
3. Elution: Ein hochreines Lösungsmittel durch die IAC-Säule gegeben, löst die dort gebundenen Toxine wieder heraus und bildet so die zu analysierende Lösung.
4. HPLC: Mit Hilfe der HPLC erfolgt dann die Trennung des Gemisches und die Detektion am Fluoreszenz- oder UV-VIS-Detektor. Das aufgenommene Chromatogramm - das visuelle Resultat einer HPLC-Analyse - zeigt deutlich die getrennten Substanzen als schmale hohe Peaks. Die Software übernimmt alle weiteren Schritte der Auswertung, Identifizierung und Berechnung der Konzentration an Toxin bis hin zur Übergabe der Messergebnisse an den Bereich Attestierung.



Chromatogramm einer Aflatoxin-Probe. Deutlich sind hier die vier Peaks der einzelnen Toxine zu sehen.

Ist unser Neueinstieg in die Mykotoxinuntersuchung zwar erst einige Monate her, hat sich diese Analytik doch mittlerweile gut in den normalen Laboralltag eingefügt.

Unsere Kunden haben den Vorteil, dass das Verpacken und Schicken der Proben an den Unterauftragnehmer entfällt und die Ergebnisse deutlich schneller vorliegen. Die Untersuchung erfolgt in hoher Qualität entsprechend unserm Labor-QM-System.

Darüber hinaus hat unsere Kalkulation der Untersuchungskosten eine erheblich geringere Gebühr für die HPLC-Analyse ergeben, als beim ehemaligen Unterauftragnehmer.

Unsere Gebührenordnung sieht für eine Aflatoxin-Untersuchung (Aflatoxin B₁, B₂, G₁, G₂) eine Gebühr von 60,00€ vor. Für DON und ZEA berechnen wir jeweils 32,00€ (Netto) pro Analyse. Wichtig ist, dass wir ca. 1,5kg des Futtermittels in der OS benötigen.

Übrigens - das Ochratoxin A befindet sich aktuell in der Einarbeitungsphase und weitere Toxine werden vorbereitet.

Dirk Kolbe