Baština Akademije nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

RADOVI LXXXVIII, knj. 25.

Rezaković, Džemal

1991

Akademija nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

https://bastina.anubih.ba/items/3bff7ae5-1a58-4336-9010-7be80dd2e58a

Preuzeto s Baštine Akademije nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

https://bastina.anubih.ba/

AKADEMIJA NAUKA I UMJETNOSTI
BOSNE I HERCEGOVINE

RADOVI

KNJIGA LXXXVIII

Odjeljenje medicinskih nauka
Knjiga 25

Redakcioni odbor
Jela Grujić-Vasić, Džemal Rezaković,
Dragomir Stanković

Urednik
Džemal Rezaković,
redovni član Akademije nauka i umjetnosti
Bosne i Hercegovine

UDC 615/.617:502(082) YU ISSN 0350-0071

SARAJEVO 1991

METODE ISPITIVANJA MIKOTOKSIKOZA U EKOTOKSIKOLOGIJI

LADISLAV OŽEGOVIĆ
Akademija nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine, Sarajevo

UDC 615.918:582.282

Apstrakt. Prikazom načina i metoda istraživanja pojedinih registrovanih mikotoksikoza opisane su i kritički ocijenjene metode ispitivanja mikotoksikoza. Izneseni su sporni momenti nekih oboljenja suspektnih kao mikotoksikoze, kao i značenje pojedinih mikotoksina za zdravlje ljudi, odnosno kauzalna povezanost mikotoksina s oboljenjima ljudi. Citirana su istraživanja o pojedinim utvrđenim mikotoksinima i mikotoksikozama u Jugoslaviji.

Ključne riječi: Mikotoksikoze, metode ispitivanja, ekotoksikologija.

Prema ustaljenoj definiciji, mikotoksini su sekundarni metaboiti plijesni, štetni po organizam ljudi i životinja. Neki, međutim, misle a bi ovu definiciju trebalo proširiti sa toksičnosti za sve žive organizme ili stanice u kulturi. Nije to jedina neujednačena tačka mišljeja: po navodima raznih autora, broj mikotoksina široko varira od 70 do 3000 (83). Razumljivo je da svi ti metaboliti ne mogu imati sto značenje niti imaju istu toksičnost. Tako se, na primjer, među rihotecenima, jednoj od skupina mikotoksina za koje se danas zna da ı ima više od 60 (98), nalaze toksini neujednačene toksičnosti, često isto doba više njih zajedno u istom supstratu, pa i zajedno sa druim mikotoksinima koji ne pripadaju trihotecenima. Poznato je da e toksičnost jednog mikotoksina (aflatoksina) smanjuje, drugog (zeaalenone) povećava u toku metaboličke transformacije od fermentnih istema u organizmu, jer su metaboliti aflatoksina B 1 (AFP 1, AFQ 1, FM 1) manje toksični od unijetog AFB 1, dok je toksičnost zearaleola veća od unijetog zearalenona. Toksičnost mikotoksina se razlikuje d jedne do druge vrsti životinja — ptica, pa čak i unutar rasa iste rste. Klasičan primjer je veoma osjetljiv štakor na kancerogenost flatoksina i rezistentni miš na istu aktivnost AFB 1, kao i veća osjetivost muških životinja na aflatoksin, te raznolika osjetljivost na niz oksina prema fiziologiji jedne vrsti osjetljive životinje (mlade, gradne, deficitarne, bolesne od parazitoza ili bakterijskih ili virusnih ıfekcija), što ovisi o metaboličkoj situaciji na ciljnom organu ili orgaeli izložene jedinke (53).

Iako općenito vrijedi pravilo da mikotoksikoze nastaju peroralim uzimanjem supstrata u kojem se nalaze mikotoksini, opisani su

slučajevi djelovanja aflatoksina koji je dospio u organizam inhalacijom i izazvao promjene na respiratornom sistemu, jednako kao i djelovanje trihotecena od perkutane rezorpcije kad su upotrebljeni kao bojni otrovi (45, 99).

METODOLOŠKI PRISTUPI ISPITIVANJU MIKOTOKSIKOZA

Realnost mikotoksikoza je davno među nama. Zanemarimo li *ergotizam*, koji je u srednjem vijeku vjerojatno bio povodom i nekih svetačkih aura u epileptoidnim manifestacijama trovanja, pa nejasne slučajeve beri-beri na Dalekom istoku, kad je iz *pljesnive riže izoliran Pen. citreoviride* i kasnije mikotoksin *citreoviridin*, koji je otkriven za barem jedan dio znakova avitaminoze B1, tada s pravom možemo govoriti da je prva mikotoksikoza ljudi registrovana 1882. u današnjem SSSR i Dalekom istoku: intoksikacija je nastala *uzimanjem defektnog zrnja* žitarica koje je bilo *kontaminirano Fus. graminearum*, a sama bolest, po znakovima oboljenja nazvana *pijani hljeb*. Iako su Voronin i Paljčevski (1888) utvrdili u flori kontaminiranog zrnja fuzarije, tek je 1907. Gabrilovičeva utvrdila *uzročnu povezanost* između zrnja kontaminiranog fuzarijima i samog oboljenja (55).

Sličan slučaj je zadesio SSSR u toku II svjetskog rata: od prezimjelih žitarica, koje su pred ofanzivom Nijemaca ostale na polju i tek u proljeće skinute i upotrebljene za ishranu ljudi i životinja, javilo se oboljenje koje je nazvano *alimentarna toksička aleukija* (ATA) iako je bilo i drugih znakova oboljenja, od septičke angine do areaktivnih nekroza na sluznicama i hemoragičkih dijateza. I u ovom slučaju je od niza prisutnih plijesni sa zrnja Sarkisov izolirao *toksinogene sojeve Fus. tricinctum, reproducirao oboljenje* kontaminiranim supstratom i ekstraktom kulture fuzarija na mački (kao jedinoj pogodnoj životinji za ovo trovanje!), ali sam toksin u čistom obliku dugo se nije mogao dokazati (85). Tek 1960, u toku najmasovnijeg trovanja životinja, posebno purića, postupak utvrđivanja toksičnog agensa bio je cjelovit: kod oboljelih životinja utvrđeno je da je u hrani stalno bio prisutan *»toksički faktor«* iz kikirikijevog brašna uvezenog iz Brazila; iz brašna i kikirikija je *izoliran Asp. flavus, ekstrakcijom* iz brašna od kikirikija *bolest je reproducirana*, a tankoslojnom kromatografijom *dokazan toksin* koji je, po plijesni koja ga stvara, nazvan *A*(sp)*fla*(vus) *toksin, aflatoksin* (AF). Bolest se toksinom može lako reproducirati na najosjetljivijem speciesu, *pačićima*, koji su dugo služili kao *biološki test* za dokaz aflatoksina. Nakon toga je utvrđena toksičnost za druge ptice i životinje, djelovanje na pojedine organe, djelovanje na imuni status, interakcije s drugim toksinima i stanjima u organizmu, kao i s drugim mikroorganizmima (61, 62). Kancerogenost aflatoksina bila je poticaj za opsežna istraživanja o njegovom značenju na određenim područjima u kojima se učestalo opazio i registrovao primarni karcinom jetre (104).

Tabela 1. POZNATIJI MIKOTOKSINI I PLIJESNI KOJE IH STVARAJU

Mikotoksini	Plijesni producenti
Aflatoksin	Asp. flavus, Asp. parasiticus, Asp. oryzae
Altenuene, *alternariol,* altertoksin	Alternaria alternata, A. tenuis (sima)
Aspertoksin	Asp. flavus
Asteltoksin	„ stellatus
Austidiol, austocistin A i D	„ ustus
Averantin, averufin	„ flavus
Aurasperon	„ fumigatus
Citohalazin	Phomopsis leptostromiformis
Citrinin	Pen. aurantiogriseum, Pen. citrinum, „ viridicatum, Asp. aegypticum
Citreoviridin	Pen. citreoviride, Pen. ochrosalmoneum
Curvularin	„ species
Deoxynivalenol (DON)	Fus. roseum, Fus. tricinctum
Ergot alkaloidi	Claviceps purpurea
Fumigaclavin	Asp. fumigatus
Fumitremorgen	„ fumigatus, Asp. fisheri
Fumonisin B 1-B 2	Fus. moniliforme
Fusarin C	„ culmorum, Fus. sambucinum, Fus. oxysporum, Fus. tricinctum, Fus. crookwellense
Fusarenon X	Fus. crookwellense
Fusarochromanon	„ equiseti
Gliotoksin	Asp. fumigatus
Kojična kiselina	„ flavus
Moniliformin	Fus. moniliforme, Fus. oxysporum, Fus. proliferatum, Fus. tricinctum, Fus. nygamai, Fus. reticulatum, Fus. acuminatum
Norsolonična kiselina	Asp. parasiticus
Ohratoksini	Asp. ochraceus, Pen. variabile, Pen. nordicum, Pen. viridicatum, Pen. verrucosum
Penicilinska kiselina	Pen. roquetfortii, Pen. aurantiogriseum, Pen. cyclopium, Pen. viridicatum, Asp. ochraceus
Phomopsin	Pen. rubrum, Pen. purpurogenum
Rubratoksin	
Rugulosin	Pen. rugulosum
Sekalonska kiselina	Pen. oxalicum
Stemfiltoksin	Phomopsis leptostromiformis

ANU BiH АНУ БиХ

Sterigmatocistin	Alternaria alternata Asp. parasiticus, Asp. nidulans, Asp. rugulosum, Asp. versicolor
Tenuazonska kiselina	Alternaria alternata. A. tenuis
Tremorgeni toksini	
Penitrem-tremortin, alfatrem	Pen. cyclopium, Pen. pallitans, Pen. crustosum, Asp. flavus, Pen. granulosum, Pen. verrucosum, Pen. canescens, Pen. clavigerum, Pen. janthinellum
Janthitrem	Pen. janthinellum
Lolitrem	Acremonium sp.
Paxillin	Pen. paxillii
Paspalin, paspalicin, paspalinin, paspalitrem A i B	Claviceps paspali
Territrem	Asp. terreus
Verrucosidin	Pen. verrucoum var. cyclopium
Verruculogen, fumitremorgen	„ verrucullosum, Asp. caespitosus, Pen. paraherquei, Pen. janthinellum, Pen. piscarium, Asp. fumigatus
Tryptoqualin (A i B)	Asp. clavatus, Asp. fumigatus
Trihoteceni	
Trihodermol, roridin, trihodermin dihydrothecen, verrucarol, scipentriol, *T-2 toksin*, scirpenol, monoacetilsolaniol, HT-2 toksin, *nivalenol*, fusarenon X trihoteccin, krotocin, verukarin, *satratoksin*, vertisporin, wortmanin	Fus. tricinctum, Fus. roseum, Fus. scirpi, Fus. nivale, Fus. episphaeria, Fus. equiseti, Fus. exysporum, Fus. culmorum, Trichoderma viride, Trichothecium roseum, Myrothecium verrucaria, Verticimonosporium diffractum, Stachybotrys atra
Viomelein, vioksantin	Pen. cyclopium
Xantomegnin	„ cyclopium, Pen. viridicatum
Zearalenone, zearalanol	Fus. graminearum, Fus. culmorum, Fus. tricinctum, Fus. crookwellense

Potcrtani mikotoksini su utvrđeni u našoj zemlji

Iz tabele 1 se vidi pregled važnijih mikotoksina i plijesni koje ih stvaraju, te se može stvoriti slika kompleksnosti problema do sada utvrđenih mikotoksikoza. Osim aflatoksina, ohratoksina, citrinina, sporidezmina, zearalenona i trihotecena, ostali metaboliti se rijetko sreću kao primarni ili isključivi agens u oboljenjima. Neki djeluju kao sinergisti sa jačim mikotoksinima (rubratoksin s aflatoksinom), a nekad se njihovo djelovanje manifestira kao neodređena stanja disfunkcije

ili slabije proizvodnje iako takve manifestacije mikotoksikoza danas susrećemo i kod prisutnosti manjih količina aflatoksina, ohratoksina i trihotecena, kad nastaju uz slabu proizvodnju (mesa, mlijeka, jaja) i takozvane sekundarne bolesti.

Kako je iz prethodnog vidljivo, metodološki pristup mikotoksikozama je u pravilu vodio od *suspektnog supstrata-hrane*, na kojem i u kojem je kod sumnje na mikotoksikozu trebalo utvrditi nije li *pljesniv* iako nepostojanje pljesnivosti ne isključuje prisutnost mikotoksina (termička obrada supstrata ubija plijesni, ali ne mikotoksine, koji su uglavnom termostabilni). Razumljivo, *mikološka pretraga supstrata* kod sumnje na mikotoksikozu pomaže utvrđivanjem *izolirane plijesni* i dokazom *toksinogenosti izolata* iako ne mora biti svaki izolat toksinogen, i veoma često i nije. Tako je za Asp. flavus utvrđeno da je u prosjeku svega 20% izolata toksinogeno (25), što vrijedi i za druge plijesni. Sasvim je drugačiji pristup pokušajima dokaza toksinogenosti posebnim postupcima i podlogama kad se može dokazati toksinogenost kod daleko većeg broja izolata, nekad i kod svih.

Problem suspektnog kukuruza na aflatoksin u SAD (kukuruz u SAD predstavlja glavni izvor domaćeg aflatoksina) riješili su pretragom zrnja UV svjetiljkom valne duljine 365 nm, te na taj način jednostavnom metodom izdvojili suspektno zrnje: korelacija pozitivne BGY (svijetlo žuto-zelene) fluorescencije i prisutnost aflatoksina kreću se veoma blizu broju pozitivnih uzoraka utvrđenih kemijskim metodama (84). Metoda je primjenljiva kao prethodno testiranje (kod kupovine!) i za druge supstrate u kojima može biti aflatoksina (76, 88). Iako postoji određena korelacija između pozitivne fluoresencije (plava, ljubičasta, žuta, crvena) i plijesni koje invadiraju supstrat, iz naših istraživanja se ne može zaključiti da je metoda primjenljiva za sve mikotoksine u supstratu (57).

Da se u supstratu dokaže prisutnost mikotoksina koriste se mnoge metode: tankoslojna kromatografija, plinska kromatografija, kromatografija u tekućem stupcu kod visokog pritiska, spektroskopija masa, nuklearni magnetski odgovor i zadnjih nekoliko godina imunološke metode, radio imuni test i pokus enzimom povezanih antitijela (TLC, GC, HPLC, Mass Spectroscopy, Nuclear Magnetic Response, RIA, ELISA). Svaka od ovih metoda ima svoje prednosti: neke su jednostavne ali nedovoljno osjetljive, druge traže mnogo vremena i skupih kemikalija, sve nisu jednako osjetljive na razne toksine, posebno kod istovremenog ispitivanja supstrata na više mikotoksina (multitoksične metode), a posebno nisu bile uspješno promjenljive za dokaz mikotoksina u tkivu i drugom biološkom materijalu.

Posljednjih nekoliko godina je intenzivno istraživana primjena ovih metoda za determinaciju i metabolizam pojedinih mikotoksina: aflatoksina (6, 8, 9, 10, 11, 13, 14, 16, 19, 20, 21, 22, 23, 28, 29, 32, 48, 49, 50, 65, 70, 72, 73, 75, 76, 81, 90, 91, 101, 102, 103, 106), ohratoksina (7, 18, 31, 44, 47, 71, 78, 79, 80, 82, 87), trihotecena (31, 46, 69, 100), zearalenona (12, 39, 80).

Tabela 2. METODE ISPITIVANJA I DOKAZIVANJA MIKOTOKSINA

Metode istraživanja Supstrat	
Organoleptički	— pregled na pljesnivost
Fizikalne metode	— UV svjetiljka (BGY pozitivna fluorescencija kod prisutnosti aflatoksina
Mikološke metode	— Determinacija izoliranih plijesni
	— Dokaz toksinogenosti izolata (u kulturi)
Kemijska i druge metode	— Tankoslojna kromatografija — TLC — Plinska kromatografija — GC — Tekuća kromatografija visoke peformanse — HPLC — Spektroskopija masa-Mass Spect — Nuklearni magnetski odgovor — NMR
Supstrati tkiva	
Imunološke metode	— Radioimuni test-RIA
	— ELISA
Biološki pokusi	— Domaće i druge pokusne *životinje kukci, ribe, vodeni kralješnjaci larve* (organotropnost, osjetljivost — rezistencija vrsta, LD 50)
	— *Biljke i sjeme biljaka* (klijavost, patološki efekti na biljkama)
	— *Mikroorganizmi* — bakterije, pijesni, alge, kvasnice — *(inhibicija rasta, citostatičnost, mutagenost)*
	— *Stanice tkiva, kulture organa,* HELA stanice, fibroblasti, epidermis, kultura pluća, bubrega, jetre, linija fibroblasta, kultura traheje, embrio pileta, monociti, leukociti, limfociti, stanice epitela crijeva, hepatociti, stanice Ca mammae, stanice jajnika, stanice bubrega *(mutagenost, patološki efekti).*

Cjelovit prikaz biološkog testiranja mikotoksina dat je na tabeli 2, a rezultat je istraživanja koje je prezentirala Yates (105).

U našoj zemlji je dokazana prisutnost *aflatoksina* u kukuruzu (33, 34, 51, 95), smješama za životinje (26, 51, 97), pšenici, lucerki i sijenu (92, 93), uljanoj repici (51), proizvodima od voća (38, 40) i arašidima (prvi nalaz u našoj zemlji, 33).

Ohratoksin je utvrđen u kukuruzu (24, 33, 51, 67, 93), smješama za životinje (51, 93, 96), pšenici i zobi (51, 67, 93), repi i sojinoj sačmi (67, 93), proizvodima od voća (96), silaži (93) i grahu (24, 67).

Zearalenon je utvrđen u kukuruzu (24, 33, 34, 51, 54, 67, 95), smješama za životinje (34, 51, 95), pšenici (34, 51, 95), grahu (23, 67), a *trihoteceni* u kukuruzu (33, 67, 52). Utvrđen je po prvi put i zearalenol u kukuruzu (74).

Prva dokumentirana mikotoksikoza u nas dokazana je 1970: estrogenizam u svinja uzrokovan prisutnošću zearalenona u kukuruzu u količini od 2, 31—35, 6 ppm (54), a dokazana je i alternariotoksikoza konja (56).

Poznate su *akutne mikotoksikoze* i u suvremeno doba: akutna aflatoksikoza ljudi i životinja u Indiji kad je u više od 200 sela došlo do epidemične pojave ikterusa, ascitesa i portalne hipertenzije (pri obdukciji je utvrđena proliferacija duktusa). Ugibale su i životinje. Lako je bilo dokazati prisutni aflatoksin u pljesnivom kukuruzu i izračunati količinu unešenog aflatoksina preko tog kukuruza (2—6 mg dnevno kroz nekoliko sedmica). Aflatoksin je kod oboljelih i obduciranih utvrđen u jetri, ali ne i u urinu. Nema nikakve sumnje da je aflatoksin bio uzrokom oboljenja djece u ČSSR koja su pila mlijeko pripremljeno od mliječnog praška koji je bio kontaminiran Asp. flavus (15), ali nema još čvrstog dokaza da je aflatoksin uzrokom Reyevog sindroma djece. Iako je u početku bilo više optimizma da je za pojavu veće frekvencije primarnog karcinoma jetre ljudi na određenim područjima odgovoran aflatoksin (1, 104) i u tom smislu izvršenih sistematskih epidemioloških istraživanja ljudi i suspektnih supstrata, ipak novija saznanja ukazuju da bi se moglo raditi o interakciji između aflatoksina, deficita proteina i virusa hepatitisa B. Imunološka istraživanja upravo ukazuju na to da uz dobre metode (RIA, ELISA) i točno praćenje parametara se lakše može utvrditi povezanost između uzročnih faktora, uz kontrolu i ostalih parametara koji mogu utjecati na ishod, kao što je ishrana i način pripremanja hrane (2, 20).

Izvan svake je sumnje da je kod upotrebe trihotecena (DAS, T-2 toksin) koji je bio (vjerojatno) namijenjen uništavanju biljnog svijeta, nastala akutna trihotecenska toksikoza ljudi izloženih toj »žutoj kiši« (45, 99), ali je još sporno da li je Fus. moniliforme odgovoran za karcinom jednjaka u Kini. S pravom Marasas (42) upozorava da se Fus. moniliforme okrivljuje za niz stanja, a da se do danas nije kemijski definiralo što je to moniliformin, koji bi trebao uzrokovati encefalomalciju u konja, u ljudi karcinom jednjaka, u štakora hepatokarcinom i niz toksičkih manifestacija u više životinja. Još postoje suprotnosti i različita mišljenja o toksinima koje stvara Fus. moniliforme: da li je to i šta je moniliformin, uz stvorene trihotecene i zearalenone. Prema tome, mogu postojati dva ili više toksina koji nastaju u kukuruzu invadiranom Fus. monililorme, ali kemijska struktura tog (tih?) toksina nije dokazana. Još je veća pogreška kad se na osnovu trovanja kukuruzom koji je pljesniv, pa čak i bez determinacije uzročne plijesni, trovanje naziva »trovanje pljesnivim kukuruzom« i kasnije pokušava dokazati koji je toksin bio prisutan (42)*.

Slični problemi nastaju kod tremorgenih toksina, koji uzrokuju tremor i ataksiju preživača i dolaze na određenim područjima. U ovim slučajevima su toksini kemijski dokazani, precizno su određeni svi parametri kemijskih i fizikalnih osobina, sojevi plijesni koje ih pro-

* Najnovija istraživanja ukazuju na FUMONIZIN 1 i 2 kao moguće agense karcinoma jednjaka u Kini, leukoencefalomalacije konja i edema mazge i konja (Carvajal, M. et al, MYCOTOXINS a. PHYCOTOXINS, 133—134, 1988).

izvode, ali još uvijek nije dokazano kako neke tremorgene toksikoze nastaju. Dokaz u tlu propagula penicilija koja toksine proizvode u kulturi, pretpostavka ili čak tvrdnja da toksikoze nastaju uzimanjem zemlje (kod suše i nakon duljeg pašnog perioda u kojem su životinje opasle skoro sav nadzemni dio biljke) i da u zemlji ima tremorgenih toksina — nije sasvim uvjerljiv (41), barem ne u svim slučajevima regionalno oštro ograničenih tremorgen toksikoza.

Velik je broj radova posvećen razjašnjavanju hipoteze da je endemska nefropatija (posebno u našoj zemlji) također mikotoksikoza uzrokovana ohratoksinom A. Od početnih izolata penicilija i Asp. ochraceusa sa žitarica više puta u istoj ili nesignifikantno većoj mjeri ili manjoj mjeri na nefropatičnom i anefropatičnom području (56, 66, 67), pa do utvrđivanja ohratoksina u žitaricama i grahu (26, 27, 67, 68) i organima svinja (68) do istraživanja u serumu (18) — opsežna istraživanja za sada još nisu dala odlučan odgovor na postavljenu hipotezu ohratoksičke etiologije endemske nefropatije. U životinja je utvrđena prisutnost ohratoksina u tkivima i bubrezima (43, 68) i patološke promjene u prirodnih slučajeva trovanja (?) u svinja (68), ali ne i one promjene koje u literaturi navode kao rezultat prirodnih i pokusnih trovanja.

Novi problemi nastaju kad se uz osnovno djelovanje mikotoksina pretpostavi ili i utvrdi još i moguće kancerogeno djelovanje, kako je pretpostavljeno za zearalenone. Zearalenone je po djelovanju identičan dietilstilbestrolu (DS). DS je dokazan kao uzrok karcinoma vagine u ženske djece čije su majke dobivale DS, a dokazano je u pokusnih životinja da zearalenone izaziva malignome hipofize. Sumnja se da bi u starijih muškaraca zearalenone mogao izazvati karcinom prostate (4). S obzirom na veoma čestu kontaminaciju kukuruza ovim mikotoksinom i relativnu frekvenciju uzimanja kukuruza u hrani na nekim područjima, ta je hipoteza ispitana u Kanadi: prema istraživanjima načina ishrane Kanađana kukuruzom i male količine prisutnog zearalenona u njemu, povećavajući rizik računski za 500 puta, ipak se nije došlo do zaključka da bi uzimanje takvog kukuruza predstavljalo rizik za Kanađane (36). Ostaje da se ispita još i povezanost između preuranjene pojave pubertetnih znakova u djece u Portoriku (oko 1000 djece) i zearalenona, koji se na tom području nalazi u kukuruzu u znatnim količinama; u serumu djece utvrđen je zearalenone i njegovi derivati.

Očito je da smo izloženi mikotoksinima uz sva nastojanja i struke i nauke da se spriječi zagađenost hrane plijesnima i ne stvore uslovi za stvaranje mikotoksina u supstratu koji služi za ishranu ljudi i životinja. Prisutnost mikotoksina se ne može negirati, pa ih i legislatura uzima u realnost i određuje tolerantne i netolerantne doze koje se smiju naći u hrani (17, 20, 37, 64, 104). Te se količine smanjuju svakim danom što su veća saznanja o načinu djelovanja, posebno u interakciji s raznim stanjima i deficitima ili infekcijama, pa odatle do postavljanja hipoteza o mikotoksičkim etiologijama oboljenja nije dalek korak. Ipak, uz sve metode, nove i stare, zaključak ne smije biti zasnovan samo na dokazu u supstratu ili u tkivu, već i temeljitim interdisciplinarnim istraživanjima.

METHODS OF INVESTIGATION OF MYCOTOXICOSES IN ECOTOXICOLOGY

Summary

The author reviewed the mycotoxicoses in people and animals from the first suspected and/or diagnosed diseases to the newest ones through the description of evolution of the process and methods for the determination and diagnosis. Modern methods for determination of mycotoxins and the complete proceeding from the determination of moldiness of the substrate are cited, through the isolation of causal molds, toxinogenicity of isolates, determinations of their metabolites and their effects on various substrates, determination of LD 50 and other effects on various models in biological tests. Then an epicritical discussion on some diseases still suspected as mycotoxicoses is given, why mycotoxins are not chemically yet determined, neither biological effects proved.

LITERATURA

(1) Alpert, M. E., Hutt, M. S. R., Wogan, G. N., Davidson, C. S.: *Association Between Aflatoxin Content of Food and Hepatoma Frequency in Uganda.* Cancer 28, 253—260, 1971.

(2) Arriola, Maria del Carmen, Porres de, Elizabeth, Cabrera de, Sheryl, Zepeda de, Mirtala, Rolz, C.: *Aflatoxin Fate During Cooking of Corn for Tortilla Preparation.* J. Agric. Food. Chem. 36, 530—533, 1988.

(3) Autrup, H., Essigmann, J. M., Croy, R. G., Trump, B. F., Wogan, G. N., Harris, C. C.: *Metabolism of aflatoxin B_1 and identification of major aflatoxin B_1 adducts formed in cultured human bronchus and colon.* Cancer Res. 39, 694—698, 1969.

(4) Babić, Ljerka, Ožegović, L., Marković, Z., Adilović, S.: *Uticaj zearalenona na histološke promjene u prostati štakora.* ANUBiH LXXXIX, OFN 14, 61—69, 1989.

(5) Buckle, A. E., Coulter, J., Scudamore, K.: *Evaluation of an ELISA Method for Ochratoxin A Analysis of Cereals and Compound Foofstuffs.* In Broc. 5th Meeting Mycotoxins in Animal Human Healt Edinburgh, 1984, 33—45, Moss M. D., Frank M., edit, Guilford U. K., Surrey 1985.

(6) Candlish, A. A. G., Stimson, W. H., Smith, J. E.: *A Monoclonal Antibody to Aflatoxin B_1: Detection of Mycotoxin by Enzyme Immunoassay.* Letters in Appl. Microbiol. 1 (3) 57—61, 1985.

(7) Candlish, A. A. G., Stimson, W. H., Smith, J. E.: *A Monoclonal Antibody to Ochratoxin A.* Letters in Appl. Microbiol. 3 (1) 9—11, 1986.

(8) Candlish, A. A. G., Stimson, E. H., Smith, J. E.: *Detection of aflatoxin B_1 in peanut kernels, peanut butter and maize using monoclonal antibody based enzyme immunoassay.* Food Microbiol. 4 (2) 147—153, 1987.

(9) Candlish, A. A. G., Haynes, C. K., Stimson, W. H.: *Detection and Determination of Aflatoxins Using Affinity Chromatography.* Int. J. Food Science a. Technol. 23 (5) 479—485, 1988.

(10) Chu, F. S., Lee, R. C., Trucksess, M. W., Park, D. L.: *Evaluation by ELISA of Cleanup for TLC of Aflatoxin B_1 in Corn, Peanuts and Peanut Butter.* J. Assoc. Offic. Analyt. Chem. 71 (5) 953—956, 1988.

(11) Denning, D. W., Onwubalili, J. K., Wilkinson, A. P., Morgan, M. R. A.: *Measurement of Aflatoxin in Nigerian Sera by ELISA.* Transaction of Royal Soc. Trop. Med. a. Hygiene 82 (1) 169—171, 1988.

(12) Dixon, S. N., Heitzman, R. J.: *The Development of Immunoassays for Residues of the Anabolic Agent Zeranol and the Mycotoxin Zearalenone in the Tissues of Farm Animals. In* Proc. 5th Meeting on Mycotoxins in Animal a. Human Health, Edinburg 1984, Ed. Moss M. O. Frank M., Univ. Surrey, 53—61, 1985.

(13) Dixon-Hollan, D. E., Pestka, J. J., Bidigare, B. A., Casale, W. L., Warner, R. L., Ram, B. P., Hart, L. P.: *Production of Sensitive Monoclonal Antibodies to Aflatoxin B_1 and Aflatoxin M_1 and Their Application to ELISA of Naturally Contaminated Foods.* J. Food Protection 51 (3) 201—204, 1988.

(14) Dragsted, L. C., Bull, I., Autrup, H.: *Substances with Affinity to a Monoclonal Aflatoxin B_1 Antibody in Danish Urine Samples.* Food a. Chemical Toxicol. 26 (3) 233—242, 1988.

(15) Dvorackova, J., Kusak, V., Vesely, D., Vesela, J., Nesnidal, P.: *Aflatoxin and Encephalopathy.* Annales de la Nutrition et de lÄlimentation, 31 (4-5-6) 977—989, 1977.

(16) Fan, T. S. L., Chu, F. S.: *Indirect Enzyme Linked Immunosorbent Assay for Detection of Aflatoxin B_1 in Corn and Peanut Butter.* J. Food Protect. 47 (4) 263—266, 1984.

(17) Fishbach, H., Rodricks, J. V.: *Current Efforts of the Food and Drug Administration in Control oy Mycotoxins in Food.* J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 56, 767—770, 1973.

(18) Fuchs, R., Habazin-Novak, Vlasta, Radić, Božica, Perica, Maja, Pleština, R.: *Distribution of Ochratoxin A in Animals.* ANUBiH LXXX, OMN 12, 89—92, 1986.

(19) Fukal, L.: *Use of Commercial RIA Kit for Detection Aflatoxin M_1 Contamination of Milk.* Prùmysl. Potravin 39 (4) 196—198, 1988.

(20) Garner, C., Ryder, R., Montesano, R.: *Monitoring of Aflatoxins in Human Body Fluids and Application to Field Studies.* Cancer Res. 45, 922—928, 1985.

(21) Groopman, J. D., Donahue, K. F.: *Aflatoxin, a Human Carcinogen: Determination in Foods and Biological Samples by Monoclonal Antibody Chromatography.* J. Anal. Offic. Chem. 71 (5) 861—867, 1988.

(22) Grosmann, V., Jarkovska, I., Vodeničarov, N.: *On the Problem of Determining Aflatoxin B_1 in Biological Fluids by the RIA Method.* Biologizace a. Chemizace živočišne Vyroby-Veterinaria 22 (6) 553—560, 1986.

(23) Hastings, K. L., Tulis, J. J., Dean, J. H.: *Production and Characterization of a Monoclonal Antibody to Aflatoxin B_2.* J. Agric. Food Chem. 36 (2) 404—408, 1988.

(24) Hlubna, D.: *Istraživanja aflatoksina, zearalenona i ohratoksina A na žitaricama i grahu u području endemske nefropatije u Semberiji.* ANUBiH, LX, OMN 10, 81—86, 1982.

(25) Hlubna, D.: *Istraživanje nekih medijuma za dokaz toksogenih sojeva Asp. flavus.* ANUBiH, LX, OMN 10, 147—149, 1982.

(26) Hlubna, D., Ožegović, L.: *Rezultati istraživanja mikotoksina (aflatoksina, B_1, ohratoksina A i zearalenona) u Bosni i Hercegovini.* ANUBiH LXXX, OMN 12, 65—69, 1986.

(27) Hlubna, D., Ožegović, L.: *Dinamika kontaminacije graha ohratoksinom A na području endemske nefropatije u SRBiH.* ANUBiH LXXXIX, OMN 14, 181—183, 1989.

(28) Hu, W. J., Moychik, N., Chu, F. S.: *Elisa of Picogram Quantities of Aflatoxin M_1 in Urine and Milk.* J. Food Protect. 47 (2) 126—127, 1984.

(29) Hsieh, L. L., Hsu, S. W., Chen, D. S., Santella, R. M.: *Immunological Detection of Aflatoxin M_1 — DNA Adducts Formed in Vivo.* Cancer Res. 48 (22) 6328—6331, 1988.

(30) Irvin, T. R.: *Development of DNA Adduct Technology to Monitor Human Exposure to Cancer-Causing Mycotoxins. In Aflatoxin in Maize.* A proceedings of the workshop, 1 Batan, Mexico, April 7—11, Ed. Zuber M. S., Lilehoj E. B., Renfro B. L., 1987.

(31) Itoh, Y., Nishimura, M., Hifumi, E., Uda, T., Ohtani, K., Kawamura, O., Nagayma, S., Ueno, Y.: *Detection of Ochratoxin A and T-2 toxin by Pne Step ELISA.* Proc. Jap. Assoc. Mycoroxiclogy, No. 24, 25—29, 1986.

(32) Itoh, Y., Hifumi, E., Sudoh, K., Uda, T., Ohtani, K., Kawamura, O., Nagayama, S., Satoh, S., Ueno, Y.: *Detection of Aflatoxin B_1 by Direct ELISA.* Proc. Jap. Assoc. Mycotoxicol. No. 26, 31—35, 1987.

(33) Klemenc, N., Zust, J., Venaut, A., Vospernik, P.: *Etiologija mikotoksikoza kod domaćih životinja u Sloveniji.* ANUBiH LXXX, OMN 12, 43—50, 1986.

(34) Kordić, Branislava, Panin, Milica, Kančić, Slavka, Lončarević, A., Muntanola-Cvetković, Maria: *Rezultati višegodišnjeg mikrobiološkog i mikotoksikološkog istraživanja stočne hrane u SR Srbiji.* ANUBiH LXXX, OMN 12, 17—28, 1986.

(35) Kuiper-Goodman, T., Scott, P. M., Watanabe, H.: *Risk Assesment of the Mycotoxin Zearalenone.* Regulatory Toxicology a. Tharmacology 7, 253—306, 1987.

(36) Krishnamachari, K. A. V. R., Remesh, V., Bhat, V. Nagarajan, V., Tilak, T. B. G.: *Investigations Into an Outbreak of Hepatitis in Parts of Western India.* Indian J. Med. R s. 63, 7, 1036—1048, 1975.

(37) Labuzza, T. P.: *Regulation of Mycotoxins in Food.* J. Food Protect. Protect. 46, 3, 260—265, 1983.

(38) Lazić-Savić, Nada, Šutić, Marija: *Izvori kontaminacije proizvoda od voća vrstama Asp. flavus i aflatoksinom.* ANUBiH LXXXIX, OMN 14, 131—140, 1989.

(39) Iu, M. T., Ram, B. P., Hart, M. P., Pestka, J. J.: *Indirect Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the Mycotoxin Zearalenone* Appl. Eny. Microbiol. 50 (2), 332—336, 1985.

(40) Ljubojević, Anastazija, Šutić, Marija: *Aflatoksini kao kontaminanti nekih proizvoda od povrća.* ANUBiH LXXXIX, OMN 14, 141—152, 1989.

(41) Mantle, P. G., Penny, R. N. C.: *Tremorgenic Mycotoxins and Neurological Disorders — A Review.* Vet. Annual 21, 51—62, 1981.

(42) Marasas, W. F. O; *Fusarium Moniliforme: A Mycotoxicological Myasma.* U: P. S. Steyn i Vleggaar, Editors, Mycotoxins and Phytotoxins, 19—28, Elsevier Sc. Pub. Amsterdam 1985.

(43) Mašić, Z., Rajić, I., Škrinjar, Marija, Pavkov, S., Gagrčin, M.: *Rezultati pregleda mesa i iznutrica svinja na prisustvo rezidua ohratoksina A u jednoj industrijskoj klaonici u SAP Vojvodini.* ANUBiH LXXXIX, OMN 14, 215—218, 1989.

(44) Martlbauer, E., Terplan, G.: *Ein enzymimunologissches Verfahren zum Nachweiss von Ochratoxin A in Schweineserum.* Archiv Lebensmittelhygiene 39 (6) 143—147, 1988.

(45) Mirocha, C. J., Pawlosky, R. A., Chatterjee, K., Watson, Sharon, Hayes, W.: *Analysis for Fusarium Toxins in Various Samples Implicated in Biological Warfare in South East Asia* J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 66, 6, 1485—1499, 1983.

(46) Mirocha, C. J., Pawlosky, R. J., Hewetson, D. W.: *Gas Chromatography Mass Spectral Analysis of Trichothecenes,* 305—322, 1986. U: Richard J. L., Thurston J. R. (Edit.): Diagnosis of mycotoxicoses, Martnus Nijhof Pub. 1986.

(47) Morgan, M. R. A., Mc Nerney, R., Chan, H. W. S., Anderson, P. H.: *Ochratoxin A in Pig Kidney Determined by ELISA.* J. Sci. Food a. Agric. 37 (5) 465—480, 1986.

(48) Morgan, M. R. A., Kang, A. S., Chan, H. W. S.: *Aflatoxin Determination in Peanut Butter by ELISA.* J. Sci. Food a. Agric. 37 (9) 908—914, 1986.

(49) Mortimer, D. N., Shepherd, M. J., Gilbert, J., Clark, C.: *Elisa Determination of Aflatoxin B_1 in Peanut Butter: Collaborative Trial.* Food Additives a. Contaminants 5 (4) 601—608, 1988.

(50) Mortimer, D. N., Shepherd, M. J., Gilbert, J., Morgan, M. R. A.: *A Survey of the Occurrence of Aflatoxin B_1 in Peanut Butter by ELISA.* Food Additives a. Contaminants 5 (2) 127—132, 1988.

(51) Nemanič, Ankica, Brlek, Vlasta, Ramljak, Danica, Matešić, Dubravka: *Nalazi mikotoksina u krmivima i krmnim smjesama za ishranu peradi i drugih domaćih životinja.* ANUBiH LXXX, OMN 12, 51—64.

(52) Nemanič, Ankica, Brlek, Vlasta: *Odnos gljivica Fusarium na nalaz nekih trikotocenskih toksina u sirovinama i smjesama za perad.* ANUBiH LXXXIX, OMN 14, 55—60, 1989.

(53) O'Brien, Kym, Moss, Elizabeth, Judah, D., Neal, G.: *Metabolic Basis of the Species Difference to Aflatoxin B_1 Induced Nepatotoxicity.* Biochem. Biophys. Res. Communicat ion 114, 2, 813—821, 1983.

(54) Ožegović, L.: *Trovanje svinja pljesnivim kukuruzom. F-2 (zearalenon) toksikoza.* Veterinaria 19, 4, 525—531, 1970.

(55) Ožegović, L.: *Mikoze i mikotoksikoze životinja.* Univerzitet Sarajevo, 1971.

(56) Ožegović, L., Džuvić, A., Matuka, Olga: Toksički efekti sojeva Alternariae tenuis izoliranih iz pljesnive zobi. ANUBiH, Knj. 20, 87—92, 1977.

(57) Ožegović, L., Hlubna, D.: *Plijesni i njihovi toksini na hrani ljudi i životinja.* IV — Fluorescencija uzoraka. Veterinaria 26, 2—3, 189—194, 1977.

(58) Ožegović, L.: *Mikoflora kukuruza, pšenice i graha u području endemske nefropatije u Bosni i Hercegovini.* ANUBiH, Knj. LX, OMN 10, 55—61, 1982.

(59) Ožegović, L., Hlubna, D.: *Mikotoksini u ishrani svinja.* Zbornik Radova, Vet. Institut Novi Sad, IV, V i VI, 33—48, 1979—1981.

(60) Ožegović, L., Hlubna, D.: *Molds and Ochratoxin A in Regions of* Aliments + Nutrition 1, 123—125, 1983.

(61) Ožegović, L.: *Mikotoksikoze peradi,* Veterinaria 32, 4, 393—411 1983; *Endemic Nephropathy in SR Bosnia and Herzegovina.* Microbiologie — 34, 3—4, 505—520, 1985; 35, 1, 123—129, 1986.

(62) Ožegović, L.: *Mikotoksikoze preživača.* Veterinaria 38, 3—4, 455—486, 1989.

(63) Pain, S.: *DIY Kit Weeds out Food Toxins.* New Scientist 113, 1543, 31, 1987.

(64) Park, D. L., Pohland, A. E.: *A Rationale for the Control of Aflatoxin in Animal Feeds.* U: Mycotoxins and Phytotoxins (Ed. Steyn P. S. and Vleggaar R.) 475—481, Elsevier Pub, 1986.

(65) Pawlosky, R. J., Mirocha, C. J.: *Principles Involved in the Analysis of Aflatoxin B_1 by Gas Chromatography/Hass Spectrometry.* U: Diagnosis of Mycotoxicoses (Ed. Richard J. L., Thurston J. R.), 293—304, M. Nijhol Pub. 1986.

(66) Pepeljnjak, S., Balzer, I.: *Pregled mikoloških i mikotoksikoloških istraživanja sa nefropatičnog i anefropatinčog područja Hrvatske.* ANUBiH LX, OMN 10, 75—80, 1982.

(67) Pepeljnjak, S., Cvetnić, Zdenka: *Mikološka i mikotoksikološka kontaminacija žitarica na širem anefopatičnom području SR Hrvatske.* ANUBiH LXXX, OMN 12, 29—42, 1986.

(68) Pepeljnjak, S., Čuljak, K.: *Nalaz rezidua ohratoksina A u organima svinja na širem anefropatićnom području SR Hrvatske.* ANUBiH LXXX, OMN 12, 71—76, 1986.

(69) Pohland, A. E., Thorpe, C. W., Trucksess, M. W., Eppley, R. M.: *TLC and HPLC Methods for Analysis of Trichothecens in Commodities.* U: Diagnosis of Mycotoxicoses (Ed. Richard J. L., Thurston J. R., 271—282, M. Nijhof Pub, 1986.

(70) Qian, G. S., Yasei, P., Yang, G. C.: *Rapid Extraction and Detection of Aflatoxin M_1 in Cow s Milk by High-Performance Liquid Chromatography and Radioimmunoassay.* Analyt. Chem. 56 (12) 2079—2080, 1984.

(71) Radić, Božica, Habazin-Novak, Vlasta, Fuchs, R., Peraica, Maja, Pleština, R.: *Analiza okratoksina A-primjer na njegovog određivanja u hrani i humanom serumu.* ANUBiH LXXX, OMN 12, 97—100, 1986.

(72) Ram, B. P., Hart, L. P., Shotwell, O. L., Pestka, J. J.: *Enzyme Linked Immunosorbet Assay of Aflatoxin B_1 in Naturrally Contaminated Corn and Cottonseed.* J. Assoc. Offic. Analy. Chem. 60 (5) 904—907, 1986.

(73) Ram, B. P., Hart, D. P., Pestka, J. J.: *Apllication of ELISA to Retail Survey of Aflatoxin B_1 in Peanut Butter.* J. Food Protect. 49 (10) 792—795, 1986.

(74) Ramljak, Danica, Mateši, Dubravka, Vremović, Marija: *Trovanje svinja zearalenolom u Jugoslaviji.* ANUBiH LXXX, OMN 10, 195, 1986.

(75) Rauch, P., Fukal, L., Brezina, P., Kaš, J.: *Interference in Radioimmunoassay of Aflatoxine in Food and Fodder Samples of plant origin.* J. Assoc. Offic. Anal. Chem 71 (3) 491—493, 1988.

(76) Reichert, N., Steimeyer, S., Weber, R.: *Bestimmung von Aflatoxin B_1 in Trockenfeigen durch visuelle Screning,* Dünnschichtchromatographie und ELISA. Zeitschr. Lebensmitt. Untersuchung u. Forschung 186 (6) 505—508, 1988.

(77) Rousseau, D. M., Slegers, G. A., Peteghem, C. H. van: *Solid-phase Radioimnunoassay of Ochratoxin A in Serum.* J. Agric. a. Food Chem. 34 (5) 862—865, 1986.

(78) Rousseau, D. M., Candlish, A. A. G., Slegers, G. A. Peteghem, C. H. van, Stimson, W. H., Smith, J. E.: *Detection of Ochratoxin A in Porcine Kidney by Monoclonal Antilody-Based Radio-Immunoassay.* Appl. Envirom. Microbiol. 53 (3) 514—518, 1987.

(79) Ruprich, J., Vereš, K., Schmiedova, D.: *Radioimmunoassay of the Mycotoxin Ochratoxin A: a New Diagnostic Method in Czekoslowakia.* Veterinarni Medicina 33 (2) 101—108, 1988.

(80) Ross, P. F.: *Mass Spectroscopy of Mycotoxins Other than Aflatoxins or Trichothecenes.* U: Diagnosis of Mycotoxicoses (Richard J. L., Thurston J. R., Edit.), 323—332, M. Nijhoff Pub, 1986.

(81) Rottinghaus, G. E.: *A Review of TLC and HPLC Methods for Analysis of Aflatoxins in Commodities.* U: Diagnosis of Mycotoxicoses (Richard J. L., Thurston J. R. Edit.) 239—256 M. Nijhoff Pub, 1986.

(82) Sato, O., Nagayama, S., Kawamura, O., Ueno, Y.: *Detection of Ochratoxin A in Meat, Wheat and Plasma by ELISA.* Proc. Jap. Assoc. Mycotoxicology No. 26, 47—49, 1987.

(83) Scott, P. M.: *Detection of Mycotoxins in food,* Development in Food Microbiology 4, 47—76, Elsevier Applied Sci., 1988.

(84) Shotwell, Odette, Goulden, M. L., Hesseltine, C. W.: *Aflatoxin Distribution in Contaminated Corn.* Cereal Chem. 51, 4, 492—499, 1974.

(85) Spesivceva, N. A.: *Mikozi i mikotoksikozi.* Kolos, Moskva 1964.

(86) Wilson, B. J., Maroport, R. R.: *Causative Fungal Agent of Leukoencephalomalacia in Equine Animals.* Vet. Res. 88, 484, 1971.

(87) Stahr, H. M., Martin, P., Hyde, W., Domoto, M.: *Chromatography of Mycotoxins of Diagnostic Significance Other than Trichothecenes and Aflatoxins.* U: Diagnosis of Mycotoxicoses (Richard J. L., Thurston J. R., Edit.), 283—298, M. Nijhoff Pub, 1986.

(88) Steiner, W. E., Rieker, R. H., Battaglia, R.: *Aflatoxin Contamination in Dried Figs: Distribution and Association with Fluorescence.* J. Agric. Food Chem 36, 88—91, 1988.

(89) Steyn, P. S., Vleggaar, R.: *Tremorgenic Mycotoxins,* Progress in the Chemistry of Organic Natural Products, 48, 1—80, Springer 1985.

(90) Stubblefield, R. D.: *Thin-Layer and High Performance Chromatographic Methods for Analysis of Aflatoxins in Animal Tissues and Fluids.* U: Diagnosis of Mycotoxicoses (Richard J. L., Turston J. R. edit.) 257—270, M. Nijhoff, 1986.

(91) Sun, Z., Zazhi, Z. Z.: *Monoclonal Antibody Against Aflatoxin B_1 and its Potential Applications.* Chinese J. Oncology 5 (6) 401—405, 1983.

(92) Škrinjar, Marija, Vujičić, I., Stubbefield, R., Jurić, Verica, Mašić, Z.: *Zastupljenost aflatoksina B_1 u stočnoj hrani u Vojvodini.* ANUBiH LXXXIX, OMN 14, 119—130, 1989.

(93) Škrinjar, Marija, Vujičić, P., Stubblefield, R., Jurić, Verica, Stojanović, Emilija, Mašić, Z.: *Kontaminacija hraniva ohratoksinom A u Vojvodini.* ANUBiH LXXXIX, OMN 14, 171—180, 1989.

(94) Šoštarić, B., Radić, Božica, Pavličck, A., Peraica, Maja, Fuchs, R.: *Mikotoksinska nefropatija svinja u intenzivnom uzgoju.* ANUBiH LXXXIX, OMN 14, 161—170, 1989.

(95) Šutić, Marija, Pantović, Danica, Kordić, Branka, Matić, Stojanka, Lješević, Olga, Svilar, Nada: *Aflatoksini u hrani i hranivima,* ANUBiH LX, OMN 10, 6—74, 1982.

(96) Šutić, Marija, Svilar, Nada, Ivanović, Dana, Tosman, Natalija, Oljačić, Emilija: *Plesni i mikotoksini na hranivima za goveda.* ANUBiH LXXXIX, OMN 14, 109—118, 1989.

(97) Šutić, Marija, Svilar, Nada, Ivanović, Dana, Oljačić, Emilija, Tosman, Natalija: *Nalaz mikotoksina u konditorskim proizvodima i hlebu.* ANUBiH LXXXIX, OMN 14, 103—108, 1989.

(98) Ueno, Y.: *The Toxicology fo Mycotoxins,* CRC — Critical Reviews in Toxicology 14, 2, 99—113, 1988.

(99) Watson, Sharon, Mirocha, C. J., Hayes, A. W.: *Analysis for Trichotecens in Samples from South East Asia Associated with »Yellow Rain«.* Fund. Appl. Toxicol. 4, 700—717, 1984.

(100) Wei, R. D., Chu, F. S.: *Production and Characterization of a Generic Antibody Against a Group of A Trichothecenes.* Analyt. Biochem. 160 (2) 399—408, 1987.

(101) Wild, C. P., Pionneau, F. A., Montesano, R., Mutiro, C. F., Chetsanga, C. J.: *Aflatoxin Detected in Human Breast Milk by Immunoassay.* Int. J. Nacer 40 (3) 328—333, 1987.

(102) Wilkinson, A. P., Denning, D. W., Morgan, M. R. A.: *Analysis of UK Sera for Aflatoxin by ELISA.* Human Toxicology 7 (4) 353—356, 1988.

(103) Wilkinson, A. P., Denning, D. W., Morgan, M. R. A.: *An ELISA Method for the Rapid and Simple Determination of Aflatoxin in Human Serum.* Food Addit. a. Contam. 5 (4) 609—619, 1988.

(104) Wogan, G. N.: *Aflatoxin Risk and Control Measures.* Federation Proc. 27, 3, 932—938, 1968.

(105) Yates, Ida E.: *Bioassay Systems and Their Use in the Diagnosis of Mycotoxicoses.* U: Diagnosis of Mycotoxicoses (Richard J. D., Thurston J. R. edit.) 333—380, M. Nijhoff, 1986.

(106) Zhang, G., Chu, F. S.: *Production and Characterization of Antibodies Cross-Reactive with Major Aflatoxins.* Experientia 45 (2) 182—184, 1989.