

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

Studijní program: Zootechnika

Studijní obor: Zootechnika

Katedra: Zootechnických věd

Vedoucí katedry: doc. Ing. Miroslav Maršálek, CSc.

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Studium vlivu mykotoxinů na užitkovost a zdraví zvířat

Vedoucí bakalářské práce: doc. Ing. František Lád, CSc.

Autorka bakalářské práce: Ivana Šnobrová

ČESKÉ BUDĚJOVICE, 2016

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

Fakulta zemědělská

Akademický rok: 2013/2014

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Ivana ŠNOBROVÁ**
Osobní číslo: **Z12151**
Studijní program: **B4103 Zootechnika**
Studijní obor: **Zootechnika**
Název tématu: **Studium vlivu mykotoxinů na užitkovost a zdraví zvířat**
Zadávací katedra: **Katedra zootechnických a veterinárních disciplín a kvality produktů**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Závažné riziko pro kvalitu krmiv, užitkovost zvířat a jejich zdraví, ale i pro bezpečnost potravin a zdraví lidí představují plísňe a mykotoxiny.

Cílem bakalářské práce je formou literární studii zpracovat vliv mykotoxinů na zdraví a užitkovost zvířat.

Studii zaměřte především na rozdělení mykotoxinů, výskyt mykotoxinů, význam problematiky obsahu mykotoxinů v různých materiálech, na rozsah negativního vlivu mykotoxinů a možnosti redukce kontaminace krmiv mykotoxiny. Pozornost věnujte také preventivnímu opatření výskytu mykotoxinů v oblasti výroby krmiv a jejich zdravotní a hygienické nezávadnosti.

Rozsah grafických prací: dle požadavků vedoucího práce

Rozsah pracovní zprávy: 30 - 40 stran

Forma zpracování bakalářské práce: tištěná/elektronická

Seznam odborné literatury:

Schneiderová, P. Bezpečnost krmiv a zdraví zvířat - mykotoxiny. ÚZPI Praha, 2008

Suchý, P., Herzig, I. Plísně a mykotoxiny. Prevence jejich vzniku a dekontaminace v krmivech. Vědecký výbor výživy zvířat.

Kan, C. A., Meijer, G. A. L. The risk of contamination of food with toxic substance regent in animal feed. Anim. Fd.Sci. and Technol., 133, 2007, č. 1-2, s. 84-108.

Jard, G., Mathieu, F., Lebrihi, A.: Review of mycotoxin reduction in food and feed: from prevention in the field to detoxication by adsorption or transformation. Feed Additives and Contaminants, 28, 2011, č. 11, s. 1590-1609

Sýkorová, S., Nedělník, J. Mykotoxiny - stav výskytu v zemědělských surovinách a krmivech v ČR a v Evropě a dalších zemích. Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha 6 Ruzyně, 2003

Nedělník, J.- Moravcová, H. Problematika výskytu mykotoxinů v krmivech pro dojnice. Veterinářství 2005; 55:214-219

Vedoucí bakalářské práce: doc. Ing. František Lád, CSc.

Katedra zootechnických a veterinárních disciplín a kvality produktů

Datum zadání bakalářské práce: 28. března 2014

Termín odevzdání bakalářské práce: 15. dubna 2015

prof. Ing. Miloslav Šoch, CSc., dr. h. c.
děkan

JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDEJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA
studijní oddělení
Studená 13
370 05 České Budějovice

doc. Ing. Miroslav Maršálek, CSc.
vedoucí katedry

V Českých Budějovicích dne 28. března 2014

Prohlášení:

Prohlašuji, že v souladu s §47b zákona č.111/1998 Sb v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to – v nezkrácené podobě v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných zemědělskou fakultou - elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejich internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledky obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

Datum 10. 4. 2016

Podpis studenta

Abstrakt

Práce se zabývá mykotoxiny, jejich vlivem na zdraví a užitkovost hospodářských zvířat. Mykotoxiny jsou toxické sekundární metabolity produkované širokou škálou mikroskopických vláknitých hub. Jedná se především o mikromycety rodu *Aspergillus*, *Penicillium* a *Fusarium*. První část práce se zabývá historií, tvorbou a výskytem mykotoxinů v různých surovinách. Poté bude popsáno rozdělení mykotoxinů. Podstatnou část práce tvoří charakteristika jednotlivých mykotoxinů a jejich působení na prasata, skot a drůbež. Důraz je také kladen na preventivní opatření a možnosti eliminace mykotoxinů. V závěru práce je uvedena legislativa a limity.

KLÍČOVÁ SLOVA: mykotoxiny, vláknité houby, zdraví, eliminace

Abstract

This project is about mycotoxins, their effect on health and productivity of livestock, farm animals. Mycotoxins are the toxic secondary metabolites produced by wide scope of microscopic filamentous fungi. Those are first of all *Aspergillus*, *Penicillium* and *Fusarium* genera. The first part project deals with the history, formation and occurrence of mycotoxins in various commodities. Then are described division of mycotoxins. Essential part of project is profile individual mycotoxins and their effect for pigs, cattle and poultry. Emphasis is also placed on preventative measures and the possibility of eliminating mycotoxins. There are legislation and limits in the end.

KEY WORDS: mycotoxins, filamentary fungi, health, elimination

Obsah:

1. Úvod a cíl práce	1
2. Mykotoxiny	2
2.1 HISTORIE MYKOTOXINŮ	2
2.2 TVORBA A VÝSKYT MYKOTOXINŮ	4
2.3 STAV VÝSKYTU V ČR A DALŠÍCH STÁTECH	8
3. Rozdělení mykotoxinů	10
3.1 CHEMICKÉ DĚLENÍ	11
3.2 DĚLENÍ PODLE ZPŮSOBU BIOSYNTÉZY	11
3.3 DĚLENÍ PODLE TOXICITY – KVANTITATIVNÍ	11
3.4 DĚLENÍ PODLE TOXICITY – KVALITATIVNÍ	11
3.5 DĚLENÍ PODLE ÚČINKU NA BUŇKU	12
4. Nejdůležitější mykotoxiny	12
4.1 AFLATOXINY	12
4.2 MASKOVANÉ MYKOTOXINY	14
4.3 TRICHOTHECENY	15
4.3.1 ZEARELENON	16
4.3.2 FUMONISINY	17
4.3.3 DEOXYNIVALENOL	19
4.3.4 MONILIFORMIN	20
4.3.5 NIVALENOL	21
4.3.6 HT-2 TOXIN A T-2 TOXIN	21
4.4 OCHRATOXINY	23
4.5 PATULIN	24
4.6 CITRININ	25
4.7 KYSELINA FUSAROVÁ	26
4.8 STERIGMATOCYSTIN	26
5. Vliv mykotoxinů na zdraví a užitkovost zvířat	27
5.1 PRASATA	28
5.2 SKOT	30
5.3 DRŮBEŽ	31
6. Preventivní opatření a dekontaminace mykotoxinů v krmivech	32
7. Možnosti eliminace mykotoxinů	34
8. Legislativa týkající se mykotoxinů	36

9. Limity	37
10. Závěr.....	40
11. Přehled literatury	42

SEZNAM ZKRATEK

15-ADON	15-acetyl deoxynivalenol
3-ADON	3-acetyl deoxynivalenol
AF	aflatoxin
AFB ₁	aflatoxin B ₁
AFB ₂	aflatoxin B ₂
AFG ₁	aflatoxin G ₁
AFG ₂	aflatoxin G ₂
AFM ₁	aflatoxin M ₁
ATA	alimentární toxická aleukie
CNC	centrální nervová soustava
CoA	koenzym A
D3G	deoxynivalenol – 3- glukosid
DAS	diacetoxyscirpenol
DNA	deoxyribonukleová kyselina
DOM-1	deepoxydeoxynivalenol
DON	deoxynivalenol
ELEM	leukoencefalomalacie koní
EU	Evropská unie
FA	kyselina fusarová
FB	fumonisin
FB ₁	fumonisin B ₁
FB ₂	fumonisin B ₂
FHB	Fusarium head blight (fuzarióza klasu)
IARC	International agency for research on cancer (mezinárodní organizace pro výzkum rakoviny)
LD ₅₀	koncentrace vedoucí k 50% mortalitě sledovaných živočichů
MAS	monoacetoxyscirpenol
MON	moniliformin
NIV	nivalenol
OTA	ochratoxin
OTA α	ochratoxin α
PAT	patulin
PPE	plicní edém prasat
ZAN	zearalanon
ZEN	zearalenon
α -ZAL	α -zearalonol
α -ZOL	α -zearalenol
β -ZAL	β -zearelanol
β -ZOL	β -zearelenol

1. Úvod a cíl práce

Závažné riziko pro kvalitu krmiv, užitek zvířat a jejich zdraví, ale i pro bezpečnost potravin a zdraví lidí představují plísňe a mykotoxiny. V současné době je známo přes 300 druhů mykotoxinů se zjištěnou chemickou strukturou a laboratorně ověřenými biologickými účinky. Naštěstí jen asi dvacetina z nich ohrožuje zdraví lidí a zvířat prostřednictvím potravy. V posledních letech výrazně stoupá zájem odborné i laické veřejnosti o původ a kvalitu potravin, a s tím logicky roste i význam kvalitních krmiv. Do popředí se dostává také problematika časté přítomnosti mykotoxinů ve všech typech krmiv.

Mykotoxiny jsou sekundárními metabolity některých druhů plísní rostoucích ve specifických podmínkách. Primární metabolity plísní jsou využívány k syntéze biomasy a jako zdroj energie v primárním metabolismu. Naproti tomu sekundární metabolismus je omezen pouze na několik druhů plísní, u kterých se objevuje po dokončení růstu a obvykle bývá spojován s genetickými změnami. Sekundární metabolity zahrnují pigmenty a sloučeniny působící proti mikroorganismům (antibiotika), rostlinám (fytotoxiny) nebo živočichům respektive člověku (mykotoxiny). Biologický význam sekundárních metabolitů stále není znám. Podmínky prostředí, které ovlivňují růst plísní a produkci mykotoxinů v krmivech jsou vázány jak na samotné krmivo, tak i na podmínky skladování. Některé faktory ovlivňující produkci mykotoxinů mohou být ovlivněny. Například pokud vlhkost zrnin je 12 % a méně, tak růst plísní je výrazně omezen.

Mykotoxiny a následky jimi způsobené patří jednoznačně k rizikovým faktorům v chovu všech hospodářských zvířat. Jsou stálou potenciální hrozbou – na první pohled nejsou viditelné, mohou být velmi nebezpečné, vytvářejí snadnější pozici i pro další přítomné negativní faktory a dopady pak mohou být zcela náhlé, nečekané a dokonce pro zvířata i fatální.

Food and Agriculture Organisation odhaduje, že 25 % světových zásob zrnin je ročně kontaminováno mykotoxiny (Mannion a Johnson, 1985; Pasteiner, 1997) a dá se předpokládat, že ještě větší množství může být kontaminováno mykotoxiny dosud neidentifikovanými. Ekonomické ztráty v chovech hospodářských zvířat způsobené kontaminací krmiv mykotoxiny se odhadují na miliony dolarů (Jones et al., 1994).

Mykotoxiny jsou potenciální hrozbou, protože na první pohled nejsou viditelné. Přesto mohou být velmi nebezpečné. Mykotoxiny jsou všudypřítomné v důsledku nemožnosti odstranit z prostředí toxikogenní plísňe, respektive jejich velmi odolné spory. Ke kontaminaci krmiv spory plísní tak může dojít kdykoliv. Nelze podceňovat ani krmiva s nízkou hladinou kontaminace mykotoxiny, která se při dlouhodobém zkrmování projevují těžším průběhem onemocnění, nezabírající vakcinací nebo úhynem zvířat. Zatím neexistuje univerzální metoda, která by byla účinná proti všem toxikogenním plísním, respektive na jejich velmi odolné spory.

Zajištění a bezpečnost surovin je dnes velmi aktuální téma zemědělské, ale samozřejmě také potravinářské výroby. Dosažení tohoto trendu je plně závislé na permanentních kontrolách a také na zajištění optimálních výrobně- technologických podmínek eliminujících případné hromadění zdraví škodlivých látek v surovinách

pro výrobu krmiv.

Cílem bakalářské práce je formou literární studie zpracovat vliv mykotoxinů na zdraví a užitkovost zvířat. Studie bude zaměřena především na rozdělení mykotoxinů z různých hledisek dělení, na historii mykotoxinů, na tvorbu a výskyt. Také na stav výskytu v České republice a dalších státech, na rozsah negativního vlivu mykotoxinů a možnosti redukce kontaminace krmiv mykotoxiny. Pozornost bude také věnována preventivnímu opatření výskytu mykotoxinů v oblasti výroby krmiv a jejich zdravotní a hygienické nezávadnosti. Závěr studie bude zaměřen na možnosti eliminace, legislativu a limity týkající se mykotoxinů.

2. Mykotoxiny

Mykotoxiny jsou sekundární metabolity plísní, mohou se vyskytovat v různých krmivech, jako jsou píce, siláže, a hlavně v různých obilovinách. Obiloviny a zelené rostliny sklizené ke krmným účelům vždy obsahují spory toxikogenních plísní. Naštěstí nízká vodní aktivita zabraňuje jejich růstu. Růst plísní může být redukován také přidávkou organických kyselin, hlavně kyseliny propionové (Rada a Havlík, 2012).

2.1 HISTORIE MYKOTOXINŮ

Název mykotoxiny pochází z řečtiny a to z řeckého slova „MYCO – MYKES“, což v překladu znamená houba a také z latinského slova „TOXICUM“, které je překládáno jako jed nebo-li otrava (Suchý a Herzig, 2005).

Otravy mykotoxiny (mykotoxikózy) jsou známé již od antických dob. Nelze přehlédnout řadu zmínek ze středověku o vysokém počtu otrav námelovými alkaloidy s epidemickým charakterem v důsledku konzumace žita kontaminovaného houbou *Claviceps purpurea* (paličkovice nachová). Hlavními příznaky byla úmrtí v křečích, snížená plodnost, potraty, halucinace a maniakální deprese. Někteří badatelé se dokonce domnívají, že může být souvislost mezi organizací čarodějnických procesů ve středověku s výskytem otrav námelem doprovázeným halucinogenními příznaky. Žitný chléb, hlavní potravina většiny populace Evropy středověku, tak mohl hrát významnou roli v regulaci růstu populace. Když v polovině 18. století klesl význam žita, které bylo nahrazeno pšenicí a brambory, začala také rychle růst velikost Evropské populace (Zapletal, 2001).

Další z prvních doložených zpráv o toxicitě plesnivých potravin pocházejí z konce minulého století a to z Japonska. Některé z nich navazují na lidové zkušenosti, tradované ve východní Asii po staletí. Zejména je popsána mnohaletá zkušenost, že žlutou rýži je třeba vystavit na několik hodin v tenké vrstvě prudkému slunci, aby pozbyla svoji toxicitu (fytolýza mykotoxinu citreoviridinu).

V zimě 1943/44 způsobilo plesnivé obilí krvácení v podkoží a pokles tvorby bílých krvinek asi u desetin obyvatelstva Orenburské oblasti. Obilí, které vlivem válečných událostí zůstalo stát na polích přes zimu, bylo napadeno houbami z rodu *Fusarium* (Kalač, 1988).

V první polovině tohoto století bylo známo o toxickém účinku plesnivých potravin již více. Ve 30. a 40. letech byly na území tehdejšího SSSR zkoumány vzorky obilí, napadené plísněmi rodu *Fusarium*. Ty, i jejich extrakty vykazovaly toxicitu pro pokusná zvířata a v praxi byly spojeny s onemocněním, které je nyní nazýváno alimentární toxická aleukie (ATA), v té době bylo známo pod mnoha synonymy (např. „septická angína“). Podle některých zpráv byly týmy vědců, řešících tento problém, ve 40. letech rozehnány, protože nedokázaly zvládnout masový výskyt ATA v sovětském zázemí během 2. světové války. Tehdy na tuto chorobu zahynulo snad až několik desítek tisíc lidí (oficiální přiznané číslo je 17000). Většina tehdejších výzkumů totiž sklouzla ke sledování bakterií, napadajících nemocné. Ty jsou z hlediska patogeneze této choroby v podstatě irelevantní (podobně jako původci sekundární infekce u nemocných s AIDS) a zprávy o toxicitě z obilných extraktů a plísňových kultur byly odmítány či zpochybňovány. Ve 40. letech se objevil na trhu „zázrak z plísní“, penicilín, zachraňující životy u dříve naprosto beznadějných pacientů s infekcemi. Jeho rozšíření přispěla i 2. světová válka. Nadšení nad penicilínem a záhy plejádou dalších antibiotik zcela přehlušilo starší poznatky o toxicitě plísní, navíc často publikované pouze v národních jazycích a v periodících a sbornících lokálního významu. Představa bylinkářů, léčících „podivnou plesnivinou“ úspěšně i velmi těžké choroby, nalezla své místo i v krásné literatuře a dodnes přežívá i v literatuře spekulativní či alternativní. Zejména zhusta verbalizovaná představa autorů o penicilínu působí v této souvislosti dost bizarně, a to ze dvou důvodů: přírodní penicilín se rozkládá v žaludku a nelze jej podávat ústy jako lék (V-penicilín v tabletách je produktem farmaceutického průmyslu), takto podaný penicilín může naopak vyvolávat závažné alergické potíže. Může také negativně ovlivňovat mikroflóru trávicího ústrojí. Kmeny s produkcí penicilínu a neprodukcí zároveň žádnou toxickou látku jsou značně vzácné. Sir Alexander Flemming našel jeden, jeho pozdější američtí spolupracovníci druhý. Originální produkční kmen našli i českoslovenští vědci, vyvíjející na konci 2. světové války v poloilegálních podmínkách preparát Mykoin B, což byl originální československý penicilín. Většina výrobců však nakonec přešla na kmen US provenience, který měl nejvýhodnější produkční vlastnosti (Šimůnek, 2003).

Potravin a krmiva kontaminovaná plísněmi a jejich toxiny provázejí člověka v celém období jeho vývoje a zejména v době, kdy se usídlil a začal je skladovat. Konzumace zaplesnivělých potravin a krmiv byla často provázena onemocněním a otravami lidí i hospodářských zvířat. K nejstarším popsaným mykotoxikózám patří ergotismus, alimentární toxická aleukie a onemocnění ze žluté rýže. I když se v 50. letech začínají objevovat zprávy o nebezpečnosti zaplesnivělých potravin a krmiv použitých k výživě, hlavním mezníkem ve změně názírání na použití zaplesnivělých potravin a krmiv k výživě byl rok 1960, kdy došlo ke zdecimování chovu krůt a další drůbeže ve Velké Británii a byly objeveni původci otrav – aflatoxiny (Ostrý, 1997).

Obnovení zájmu o toxické látky z plísní přišlo náhle. V roce 1960 uhynulo na farmách Nové Anglie několik desítek tisíc krůt na chorobu, tehdy pojmenovanou turkey-X disease. V té době již byla pokročilejší analytická chemie. Zatímco ve 30. letech se sovětské vědci nedostali dále než k toxickým extraktům a o vlastnostech toxinu v nich neměli reálnou představu (vesměs ho považovali za blízký mastným kyselinám) a později sir Alexander Flemming léta sháněl někoho, kdo by mu vyčistil jeho penicilín, v tomto případě bylo již po krátké době objeveno několik toxických

látek. Byl také podán průkaz jejich původu z arašídů, které tvořily součást krmné směsi pro krůtata, a rovněž byla zjištěna produkce těchto látek plísněmi, které se v arašidech masově vyskytovaly. Protože se produkující plíseň nazývá *Aspergillus flavus*, byly nalezené jedy nazvány aflatoxiny. K jejich bližší identifikaci byla použita písmena, zprvu B pro modře a G pro zeleně světélkující pod dlouhovlnným ultrafialovým zářením (365nm) a číselnými indexy, značící jejich pořadí na chromatogramu při tehdy užívané tenkovrstevné chromatografii. I později byla tato tradice alespoň částečně dodržena, aflatoxiny M byly nalezeny v mléce, H v játrech (hepar), P byly v době svého objevu považovány za specifické pro primáty. Poměrně rychle byla zavedena práce s mykotoxiny i do tehdejší ČSSR. K zahájení výzkumu mykotoxinů na lékařské fakultě v Brně došlo v souvislosti s následující kasuistikou. V jednom ze závodů tehdejší Fruty došlo k zaplísňením rajčat. To vedlo k výraznému sensorickému znehodnocení výrobků silně hořkou chutí. Navíc, pracovníci hygienické služby, provádějící tehdy sensorické zkoušky, onemocněli s příznaky poškození jater. Řešením problému byl tehdy pověřen doc. RNDr. Miroslav Polster, CSc., který se spojil s řadou zahraničních pracovišť a postupně přešel ze sledování jiných xenobiotik a výzkumu bakteriálního metabolismu na problematiku mykotoxinů. Vystudoval chemii, ale dlouhá léta pracoval jako mikrobiolog. V jeho osobě se tedy ideálně spojily požadavky na pracovníka v této oblasti: důkladná znalost chemie a mikrobiologická erudice. Posléze začal obnovný výzkum veterinárních toxikóz na tehdejší VŠV Brno, v Hradci Králové a ve výzkumném ústavu ČSAV v Olešnici v Orlických horách. Referenční laboratoř pro analýzu mykotoxinů byla zřízena při KHS Plzeň. Na Slovensku byl výzkum mykotoxinů a plísní soustředěn na Výzkumném ústavu preventivního lékařství v Bratislavě. V 70. letech se výzkum i rutinní testování nejdůležitějších mykotoxinů rozšířil na mnoho dalších pracovišť. V současné době představuje vrcholové pracoviště pro mykotoxiny v potravinách a potravinových surovinách Centrum hygieny potravinových řetězců na Státním zdravotním ústavu v Brně. Každé z pracovišť, která se u nás zabývají mykotoxiny, má svá specifika. Pracoviště na LF MU Brno v sobě díky tradicím, založeným doc. Polsterem, spojuje přístup chemický a mikrobiologický. Zde se systematicky zkoumají vztahy vlastností plísňových kultur a produkce mykotoxinů. Právě do této oblasti je také směřována většina autorových aktivit na poli výzkumu mykotoxinů (Šimůnek, 2003).

2.2 TVORBA A VÝSKYT MYKOTOXINŮ

Vzhledem k rychlému růstu plísní a spotřebě využitelných živin substrátu, dochází ke dvěma jevům: a) ke tvorbě nových spor umožňujících rozmnožování jednotlivých druhů plísní. Sporulace vytváří ohromné populace reprodukčních struktur, které mohou iniciovat infekci a růst plísní v krmivech

b) k rozvoji různých biochemických procesů společně nazývaných sekundární metabolismus

Výsledkem sekundárního metabolismu je produkce určitých nízkomolekulárních sloučenin – mykotoxinů, z níž některé se ukázaly být toxické pro zvířata i lidi. Producenti mykotoxinů jsou živé rostoucí houby v krmivech. Část vyprodukovaného mykotoxinu zůstává v mycéliu, větší část penetruje do substrátu. V substrátu mohou mykotoxiny dlouho perzistovat, i když houby zde již nejsou zachyceny. Složení substrátu (krmiva) je nejvýznamnějším faktorem mající vliv na

produkci mykotoxinu (vysoký obsah tuků a sacharidů). Nejčastějšími přenašeči spor plísní jsou zejména roztoči a různé druhy hmyzu, především jde o skladištní škůdce. Pro její aktivitu je důležitá zejména teplota, pod 18°C se bezobratlí nevyvíjejí (Suchý a Herzig, 2005).

V našich klimatických podmínkách je produkce mykotoxinů spojena téměř výlučně s výskytem polních plísní (*Fusarium*, *Alternaria*), tedy výskyt mykotoxinů má významnou vazbu na počasí během vegetačního období s sklizeň. Některé mykotoxiny (ochratoxiny, patulin) mohou být tvořeny i během skladování krmiv. V teplejších klimatických podmínkách se vyskytují častěji aflatoxiny a fumonisiny, v oblastech chladnějších s vysokou vlhkostí představují větší nebezpečí ochratoxiny, zearalenon, deoxynivalenol, T-2 toxin, diacetoxyscirpenol a další (Doležal a Zeman, 2006).

Produkce toxinů v krmivech je ovlivněna těmito faktory:

- a) Fyzikálními – teplota, vlhkost vlastního substrátu, vlhkost prostředí, složení substrátu, mechanické poškození povrchového obalu, dostupnost kyslíku a živin, způsob sklizně a skladování, výskyt polních plísní
- b) Chemickými – složení sušiny krmiva, přítomnost fungicidních a baktericidních látek, hodnota pH, aplikace konzervačních prostředků, podíl a složení epifytní mikroflóry
- c) Biologickými – vlastnostmi kmene a druhové příslušnosti plísní, konkurenčními vztahy plísní a bakterií, toxigenní vlastnosti

Tvorba a výskyt mykotoxinů v krmivech je celosvětovým problémem. Ztráty vyvolané přítomností mykotoxinů na produkci krmiv jsou jen v zemích Evropské unie odhadovány ročně na 5 bil.eur. Tento odhad vychází z předpokladu, že roční produkce krmiv je 160 mil. tun a mykotoxiny znehodnotí 25 % produkce (Nedělník a Moravcová, 2010).

Většina klinicky významných mykotoxinů je produkována především plísněmi rodu *Fusarium*, *Aspergillus* a *Penicillium* (Schneiderová, 2008).

1. ROD FUSARIUM

Mikroskopické vláknité houby rodu *Fusarium* jsou významnými patogeny mnoha zemědělských plodin. Tyto mikromycety patří mezi půdní mikroorganismy vyskytující se v oblastech Evropy, Ameriky, Asie a Austrálie s mírnými klimatickými podmínkami. Optimální podmínky pro růst těchto vláknitých hub jsou teplota 11 – 23°C a vlhkost 95-100%. Zrno obilovin může být těmito mikroskopickými vláknitými houbami napadeno během růstu rostlin či v průběhu skladování zrna v silech. K přenosu infekce na rostlinu dochází především ze zbytků rostlin, které zůstávají na poli z předcházející sklizně, či z infikované setby. K šíření infekce může docházet také pomocí větru či deště (Radová, 2002).

Mezi nejčastěji se vyskytující druhy patří *F. graminearum* a *F. culmorum*, jež jsou nejvýznamnějšími původci onemocnění obilovin zvaného *Fusarium head blight* (FHB), jehož následkem je znehodnocení obilného zrna a možná tvorba fusariových mykotoxinů. Infikovaná zrna jsou malá, svraštělá, typicky bíle až růžově zbarvená.

Infekce zrn fusarií mohou představovat pro člověka a hospodářská zvířata

značná zdravotní rizika a má za následek i výrazné ekonomické ztráty. Tyto ztráty vznikají v důsledku znehodnocení zemědělské produkce, snížené nutriční a technologické kvality zrn. Mikromycety rodu *Fusarium* bývají označovány jako „polní plísně“, které poškozují zrna i jiné rostlinné tkáně v před sklizňovém období. Za příznivých podmínek však mohou růst také v průběhu skladování (Hajšlová, 2008).

K příznakům napadení fusarií souhrnně označovaných *Fusarium head blight* patří:

- Listové nekrózy – na listech se objevují hnědo-šedé vodnaté skvrny
- Vadnutí klasů – dochází k prorůstání mycelia mikromycet z místa primární infekce do celého klasu, klasy napadené v době kvetení jsou ve zralosti sterilní bez vyvinutých obilok. Zrna jsou svraštělá bílé až narůžovělé barvy.
- Hniloby kořenů – k napadení fusarií dochází hlavně v období zimy, kdy postihují nesklizené rostliny, které později přenášejí infekci na zdravé rostliny
- Plesnivění semenáčků – vznikají při nesprávném namoření osiva

Tabulka č. 1 Nejvýznamnější mykotoxiny produkované vláknitými houbami rodu *Fusarium* (Radová-Sypecká a Hajšlová, 2003)

Houby rodu <i>Fusarium</i>	Mykotoxin
<i>F.acuminatum</i>	DAS, MAS, HT-2 toxin, T-2 toxin, moniliformin
<i>F.anthophilum</i>	Moniliformin
<i>F.avenaceum</i>	Moniliformin
<i>F.chlamydosporium</i>	moniliformin
<i>F.crookwellense</i>	Deoxynivalenol, nivalenol, zearalenony
<i>F.culmorum</i>	Fusarin C, deoxynivalenol, nivalenol, zearalenon
<i>F.graminearum</i>	Deoxynivalenol, DAS, zearalenon
<i>F.moniliforme</i>	Fumonisin, fusarin C, moniliformin
<i>F.oxysporum</i>	Moniliformin
<i>F.poa</i>	Fusarin C, DAS, MAS, HT-2 toxin, T-2 toxin, zearalenony
<i>F.sambucinum</i>	Fusarin C, DAS, MAS, HT-2 toxin, T-2 toxin
<i>F.semitectum</i>	Moniliformin
<i>F.sporotrichioides</i>	DAS, MAS, HT-2 toxin, T-2 toxin, zearalenony
<i>F.tricinatum</i>	Fusarin C

Pozn.: MAS – monoacetoxyscirpenol, DAS – diacetoxyscirpenol

2. ROD ASPERGILLUS

Jedná se patrně o fylogeneticky starý rod. Pohlavní stádia jsou vřeckaté houby, vytvářející plodničky často menší než 1 mm. Nepohlavní rozmnožovací orgány jsou

tvoreny vláčenkou na konci ztluštělou. Na tomto konci je paprskovitě rozmístěna řada či více řad válcovitých buněk, z jejichž konců dozrávají a odštěpují se nepohlavní spory. Vlákénko se nazývá konidiofor, válcovité buňky fialidy a spory konidie. V pokračování každé fialidy je zpravidla celý řetízek konidií. Průřez rozmnožovacím orgánem připomínal starým botanikům kropítko, odtud i český název kropidlák. Určování je uvnitř tohoto rodu relativně nejjednodušší (zpravidla ale obtížnější než určování cévnatých rostlin podle botanického klíče). Existují monografie; RAPER-THOM a RAPER-FENELL, mají stejnou koncepci a navazují na sebe. Problémy mohou nastat uvnitř některých druhů, popř. při rozlišování velmi blízkých druhů (např. *Aspergillus flavus* a *Aspergillus parasiticus*). Z ryze hygienického hlediska však často takového rozlišení není nutné (Šimůnek 2003).

Tabulka č. 2 Nejvýznamnější mykotoxiny produkované vláknitými houbami rodu *Aspergillus* (Radová-Sypecká a Hajšlová, 2003)

Houby rodu <i>Aspergillus</i>	Mykotoxin
<i>A.carneus</i>	Citrinin
<i>A.clavatus</i>	Patulin
<i>A.flavus</i>	Aflatoxiny B1, B2, cyklopiazonová kyselina
<i>A.ochraceus</i>	Ochratoxiny, penicilová kyselina
<i>A.oryzae</i>	Cyklopiazonová kyselina
<i>A.parasiticus</i>	Aflatoxiny B1, B2, G1, G2
<i>A.terreus</i>	Citreoviridin, citrinin, patulin
<i>A.tamarii</i>	Cyklopiazonová kyselina
<i>A.versicolor</i>	Sterigmatocystin, cyklopiazonová kyselina

3. ROD PENICILLIUM

Tento rod je příbuzný předcházejícímu, existuje dokonce i skupina na jejich pomezí. Považuje se za fylogeneticky mladší, což se mj. projevuje velmi malými rozdíly v utváření rozmnožovacích orgánů jednotlivých druhů. Nepohlavní rozmnožovací orgány jsou rovněž tvořeny konidioforem, fialidami a konidiiemi. Fialidy jsou však na neztluštělém konidioforu, sestaveny do tvaru štětičky, odtud i český název štětičkovec. Určování v této skupině je obtížné. Situace je navíc komplikována existencí dvou značně rozdílných systémů a to podle starší monografie RAPER-THOM, na niž organicky navázal Ramirezův atlas a novější monografie Pittova (Šimůnek 2003).

Tabulka č. 3 Nejvýznamnější mykotoxiny produkované vláknitými houbami rodu *Penicillium* (Radová-Sypecká a Hajšlová, 2003)

Houby rodu <i>Penicillium</i>	Mykotoxin
<i>P.aurantiogriseum</i>	Cyklopiazonová kyselina, penicilová kyselina
<i>P.camemberti</i>	Cyklopiazonová kyselina
<i>P.chrysogenum</i>	Cyklopiazonová kyselina
<i>P.citreonigrum</i>	Citreoviridin
<i>P.citrinum</i>	Citrinin
<i>P.commune</i>	Cyklopiazonová kyselina

<i>P.expansum</i>	Citrinin, patulin
<i>P.griseofulvum</i>	Cyklopiazonová kyselina, patulin
<i>P.purpurescens</i>	Ochratoxin A
<i>P.roqueforti</i>	Patulin
<i>P.rubrum</i>	Rubratoxiny
<i>P.simplissimum</i>	Penicilová kyselina
<i>P.verrucosum</i>	Citrinin, ochratoxin A, cyklopiazonová kyselina
<i>P.viridicatum</i>	Cyklopiazonová kyselina

2.3 STAV VÝSKYTU V ČR A DALŠÍCH STÁTECH

Kukuřičná siláž a kompletní krmné směsi zajišťují největší příjem dojnicím a kompletní krmné směsi byly také nejvýznamnějším zdrojem mykotoxinů pro prasata a nosnice. To byl závěr výzkumníků z Ústavu chemické technologie a Ústředního kontrolního a zkušebního ústavu zemědělského. Výzkumníci kombinovali údaje výskytu 56 mykotoxinů produkovaných druhů hub *Fusarium*, *Alternaria*, *Penicillium*, *Aspergillus* a *Claviceps* v osmnácti třídách nefermentovaných nebo fermentovaných krmiv, doplňcích krmiv a kompletních krmných směsích (dohromady 343 vzorků odebraných mezi roky 2008 a 2012). Všechny vzorky byly odebrány ve spolupráci s farmami, zemědělskými družstvy a výrobci krmiv v České republice (256 vzorků) a Spojeném království (87 vzorků). Ve většině vyšetřovaných produktech ke krmení byly hodnoceny deoxynivalenol, zearalenon, fumonisiny, ochratoxin A, roquefortin C a kyselina mykofenolová v některých případech v koncentracích do tisíců $\mu\text{g}/\text{kg}$ v závislosti na složení příslušného vzorku.

Nejširší spektrum detekovaných mykotoxinů a zároveň nejvyšší koncentrace byly stanovovány v DDGS (sušené lihovarské výpalky). Na základě provedených analýz byl odhadnut příjem příslušných mykotoxinů při zohlednění spotřeby krmiva příslušným hospodářským zvířetem. V případě prasat byla jejich expozice mykotoxinům pocházejících z kompletních krmných směsí jako „základních“ krmiv významná zejména u DON (12 $\mu\text{g}/\text{kg}$ živé hmotnosti) a enniatinů (až 14 $\mu\text{g}/\text{kg}$ živé hmotnosti). Nicméně kukuřičné DDGS byly také významným zdrojem mykotoxinů zajišťujícím převážně příjem DON (8,37 $\mu\text{g}/\text{kg}$ živé hmotnosti), ADON (1,49 $\mu\text{g}/\text{kg}$ živé hmotnosti) a FB₁ (3,38 $\mu\text{g}/\text{kg}$ živé hmotnosti). Podobná situace se jeví u nosnic, kde byla nejvyšší expozice způsobena kompletními krmnými směsmi a kukuřičnými DDGS (příjem DON byl 18,2, respektive 7,44 $\mu\text{g}/\text{kg}$ živé hmotnosti). Příjem ADON a FB₁ z kukuřičných DDGS byl 1,32, respektive 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ živé hmotnosti. V případě dojnic přispívaly sladový květ a pšeničné DDGS pouze okrajově. Byl učiněn závěr, že spektrum mykotoxinů detekovaných v krmivech bylo velmi široké. Navíc bylo kromě mykotoxinů, k nimž se váže legislativa, detekováno a kvantifikováno také mnoho „vznikajících“ a dalších, kterým věnuje pozornost EFSA. Nejkontaminovanější krmivo s nejširším spektrem detekovaných mykotoxinů představovaly DDGS. Výrobci krmiv a včiváři by si měli být vědomi tohoto rizika a tyto komodity striktně kontrolovat (Svoboda, 2014).

V Itálii byl již po 10 let prováděn průzkum původců hniloby pat stébla a fusariozy klasu pšenice. Bylo zjištěno, že fusariozy klasu jsou časté v severní a střední Itálii a jejich nejčastějším původcem je *Fusarium graminearum*, zatímco hniloba pat stébla je pozorována ve střední a jižní Itálii a původcem je hlavně

Microdochium nivale a *Fusarium culmorum*. V letech 1999 a 2000 byl prováděn monitoring obsahu DON ve vzorcích pšenice z různých částí Itálie. Vzorky ze severní Itálie měly vyšší obsah DON, než vzorky ze střední a jižní Itálie. Tvrdá pšenice byla všeobecně více kontaminována (nejvyšší obsah DON 6,465 ppm) než měkká pšenice (nejvyšší obsah DON 3,01 ppm), ve vzorcích z jižní Itálie byl zjištěn pouze zanedbatelný obsah DON (méně než 0,1 ppm) (Pascale et al., 2002).

V Nizozemsku byl na počátku 90. let identifikován jako dominantní druh *Fusarium culmorum*, což bylo později potvrzeno i RAPD analýzou. Vzhledem k tomu, že v sousedních státech byl zaznamenáván stále častější výskyt *F. graminearum*, byl i v Nizozemsku proveden další monitoring druhového zastoupení rodu *Fusarium* a bylo zjištěno, že skutečně nejčastější byly *F. graminearum*, *F. culmorum* a *M. nivale* var. *majus* s převahou *F. graminearum* v letech 2000 a 2001, což plně souhlasilo s nálezy ostatních okolních států Evropy. Agronomické důsledky zvýšení poměru *F. graminearum* / *F. culmorum* dosud nejsou jasné (Waalwijk, 2002).

Ve Velké Británii je prováděn od roku 2001 do roku 2005 rozsáhlý průzkum týkající se druhů Fusarií, hladin a spektra produkovaných mykotoxinů a efektivity chemické ochrany proti fusariozám. V roce 2001 bylo analyzováno 283 vzorků pšenice se známým způsobem hospodaření. Bylo identifikováno 7 mykotoxinů (zearalenon, DON, 15-AcDON, NIV, T2triol, T2 a HT2), nejčastěji však byly nacházeny DON a NIV (80% vzorků). Z analyzovaných agronomických faktorů měla největší vliv na obsah mykotoxinů lokalita, přičemž jejich obsah stoupal směrem k jihu, což odpovídá tomu, že toxinogenní druhy Fusarií preferují teplejší klima. Nebyl nalezen významný rozdíl mezi obsahem mykotoxinů mezi vzorky z organického a konvenčního pěstování a nebyl zjištěn ani významný vliv různého fungicidního ošetření (Edwards, 2002).

V Belgii byl na vzorcích pšenice v letech 2000 a 2001 rovněž prováděn monitoring nalezených houbových patogenů a následně obsahu mykotoxinů. Ve vzorcích z roku 2000 byl hlavním patogenem druh *M. nivale*, a dále v menším rozsahu *F. culmorum* a *F. graminearum*, minoritně byly nalezeny *F. avenaceum* a *F. poae*, obsah DON se pohyboval od 0 do 1,2 ppm. V roce 2001 byly mnohem četnější druhy *F. avenaceum* a *F. poae*, zatímco *M. nivale* bylo minoritní. Obsah DON v roce 2001 kolísal od 0 do 0,4 ppm. Rozdíly obou let jsou vysvětlitelné tím, že v roce 2001 bylo v Belgii neobvykle suché počasí v době kvetení (Sýkorová a kol., 2004).

Na Ukrajině bylo zjištěno, že převládá 5 druhů: *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. avenaceum*, *F. poae* a *F. oxysporum*, přičemž *F. poae* a *F. culmorum* převládají v jižních oblastech Ukrajiny, zatímco *F. graminearum* v západní části státu. V letech 1996, 1998, 2000 a 2001 byl nejčastějším patogenem *F. poae* (Sýkorová a kol., 2004).

Ve Švédsku bylo v roce 2001 testováno použití NIRS (infračervená spektrofotometrie) metody pro rychlé orientační stanovení obsahu DON, Fusarií a ergosterolu vzhledem k tomu, že v EU se připravuje zavedení maximálních limitů 500 a 750 ppb ($\mu\text{g}/\text{kg}$). Metoda NIRS je běžně používána pro stanovení vlhkosti a obsahu proteinů. Výhodou metody je její rychlost a neinvazivnost. Při kalibracích pro stanovení DON u pšenice záleželo na tom, zda je zrno infikováno pouze *F.*

culmorum nebo i *F. graminearum*, při dostatečném počtu měření byly získány velmi dobré korelace mezi metodou NIRS a HPLC. Pro ječmen s vysokými obsahy DON (až do 30 ppm) byla však standardní chyba poměrně vysoká (cca 3 ppm). Pro obsah Fusarií a ergosterolu byly získány velmi vysoké korelační koeficienty. Tato metoda by byla velmi užitečná, např. ve výkupu zrna, kde je třeba každou partii velmi rychle vyšetřit (Pettersson, 2002).

V Kanadě byl v roce 2000 proveden počáteční průzkum týkající se rozsahu napadení, spektra Fusarií a hladiny DON u pěstovaných odrůd ovsa. Bylo zjištěno, že rozsah infikovaných zrn se pohyboval v závislosti na odrůdě mezi 25-63 %, hlavními druhy byly *F. poae* (11 – 32 % zrn) a *F. graminearum* (4 – 26 %). Vizuální posouzení zrn napadených fusariozou bylo velmi obtížné, bylo založeno na vyčlenění nejvíce barevně odlišných zrn. Hladiny DON se pohybovaly mezi 2,5 – 10 ppm. Nebyl zjištěn významný rozdíl mezi pluchatým a bezpluchým ovsem.

Průzkum obsahu DON a NIV v ovsu byl rovněž prováděn v Polsku v letech 1997-1999. Nejvíce pozitivních vzorků bylo zjištěno v roce 1999 (DON 77%, NIV 45%), stejně tak byla v tomto roce nalezena i nejvyšší průměrná koncentrace DON 125 ppb a NIV 75 ppb. Maximální koncentrace DON (767 ppb) byla zaznamenána u odrůdy STH 3798 v roce 1999 a maximální koncentrace NIV (280 ppb) v odrůdě Skrzat v roce 1998. Společný výskyt DON a NIV byl zjištěn ve 46 z 275 analyzovaných vzorků (Perkowski, 2002).

Polská kukuřice ze sklizně roku 2014 je špatné kvality z hlediska kontaminace mykotoxiny. To je závěr průzkumu provedeného společností pro výživu zvířat Nutriad. Průzkum zahrnoval 36 vzorků kukuřice z různých regionů Polska. Více než 216 analýz bylo provedeno ke zjištění výskytu šesti nejfrekventovanějších mykotoxinů v zemědělských komoditách určených pro živočišnou produkci: aflatoxin B₁, ZEN, DON, T-2 toxin, fumonisin B₁ a OTA. Všechny vzorky byly shromážděny téměř okamžitě po sklizni a pravděpodobnost, že skladováním se rozvinul OTA, byla nízká. Vzorky kukuřice byly odebrány přímo z farem nebo z výkrmů hospodářských zvířat.

Výsledky ukazují, že 100% vzorků kukuřice bylo kontaminováno DON a ZEN. Žádný nebyl kontaminován AfB₁ a OTA. Přesně 25% vzorků bylo kontaminováno FB₁. průměrná koncentrace všech zjištěných mykotoxinů byla průměrná až vysoká, zatímco nejvyšší koncentrace DON v jednom vzorku dosáhla 7900 µg/kg (Koeleman, 2015).

3. Rozdělení mykotoxinů

Mykotoxiny je možné rozdělit podle řady kritérií, avšak žádné z dosud používaného dělení nelze považovat za univerzálně používané. Zřejmě nejjednodušší ze všech kritérií je rozdělení podle chemické struktury. Toto kritérium má značné výhody a to poměrně snadné a jednoznačné zařazení jakékoli látky o známé chemické struktuře. Na konci 70. let se objevilo i třídění podle způsobu biosyntézy. Značný význam má také dělení podle toxicity popřípadě vyčlenění mykotoxinů genotoxických a karcinogenních (Herzig, Suchý a Straková, 2008).

3.1 CHEMICKÉ DĚLENÍ (Polster, 1971)

- Furanofurany – aflatoxiny, sterigmatocystin, versicolorin aj.
- Substituované pyreny a hydroxypyreny – kyselina koji, sekalonové kyseliny
- Substituované chinony – luteoskyrin, rubratoxin, xanthomegnin, viridicatumtoxin aj.
- Nenasycené laktony – patulin, kyselina penicillová, kyselina mykofenolová, alternariol, citreoviridin, ochratoxiny, rubratoxin B, 4,5,8-trimetylpsoralen aj.
- Griseofulviny – griseofulvin
- Epoxytrichotheceny – T-2 toxin, diacetoxyscirpenol (DAS), vomitoxin (deoxynivalenol), nivalenol, fusarenony, verrucariny, roridiny, satratoxiny aj.
- Polycyklické substituované indolové deriváty – kyselina cyklopiazonová, paspaliny, penitremy aj.
- Cyklické dipeptidy – gliotoxin, sporidesminy, roquen, fumitremorgen, verruculogeny, brevianamidy ja.
- Mykotoxiny jiné struktury – zearalenon, curvularin, citrinin, PR-toxin, canthecellin, moniliformin, kyselina betanitropionová aj.

3.2 DĚLENÍ PODLE ZPŮSOBU BIOSYNTÉZY (Ueno, 1985)

- Biosyntéza moniliforminu – moniliformin (z kyseliny octové)
- Biosyntéza z polyketidů – patulin, ochratoxin, emodin, kyselina sekalonová, aflatoxiny aj.
- Biosyntéza z isoprenoidů – trichotheceny, requefortiny aj.
- Biosyntéza z aminokyselin – kyselina cyklopiazonová, cyklické dipeptidy aj.

3.3 DĚLENÍ PODLE TOXICITY – KVANTITATIVNÍ (Krménčík, 2007, Polster, 1975)

- Silně toxické – aflatoxiny, patulin, luteoskyrin, sporidesminy, ochratoxin A, cyklochlotin (islandotoxin), zearalenon (F-2 toxin), T-2 toxin, diacetoxyscirpenol, citreoviridin, rubratoxiny, penitrem A
- Středně toxické – citrinin, kyselina penicillová, sterigmatocystin, kyselina cyklopiazonová
- Slabě toxické – griseofulvin, kyselina koji, trihothecin,, kyselina mykofenolová, chaetomin

3.4 DĚLENÍ PODLE TOXICITY – KVALITATIVNÍ (Ostrý, 2000)

- Hepatotoxiny – aflatoxiny, sporidesminy, luteoskyrin, sterigmatocystin, phomopsin A aj.
- Nefrotoxiny – AFB-1, ochratoxin A, citrinin, sterigmatocystin
- Toxiny zažívacího traktu – T-2 toxin a další trichotheceny

- Neurotoxiny a mykotoxiny – tremorgeny (např. penitrem A), citreoviridin
- Dermotoxiny – verrucariny, psoraleny, sporidesminy, trichotheceny aj.
- Toxiny dýchacího traktu – paulin
- Genitotoxiny – zearalenony
- Imunotoxiny – aflatoxiny, ochratoxin A, trichotheceny aj.
- Toxiny nezařaditelné nebo málo prozkoumané

3.5 DĚLENÍ PODLE ÚČINKU NA BUŇKU (Šimůnek, 2003)

- Inhibitory tvorby energie – citreoviridin, luteoskyrin, xanthomegnin, kyselina sekalonová D, moniliformin
- Inhibitory proteosyntézy – trichotheceny, ochratoxin A
- Modifikátory cytoskeletu – griseofulvin, cytochalasiny, cyclochlorotin
- Estrogenní mykotoxiny – zearalenon
- Tremorgeny – penitremy (A, B, C), fumitremorginy (A a B), verruculogeny
- Karcinogenní mykotoxiny – aflatoxin B-1, sterigmatocystin

4. Nejdůležitější mykotoxiny

4.1 AFLATOXINY

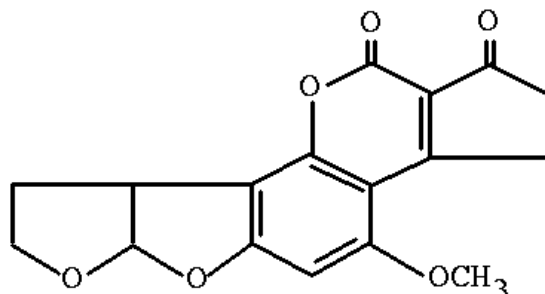
Aflatoxiny byly identifikovány jako první ze všech mykotoxinů poté, co v roce 1960 ve Velké Británii zemřelo přes 100 000 krocanů po požití infikovaného krmiva. V současné době jsou nejlépe prozkoumanou skupinou mykotoxinů. Jedná se o metabolity plísní *Aspergillus flavus* a *A. parasiticus*, jejichž spóry jsou celosvětově rozšířeny ve vzduchu a v půdě. Produkce toxinů vyžaduje vlhkost nad 12%, optimálně nad 14% a teplotu mezi 12°C a 37°C, optimum je 28°C. Díky požadavku na vyšší teplotu a vlhkost jsou aflatoxiny v našich klimatických podmínkách málo rozšířeny, avšak mohou být importovány s kontaminovanými potravinami a surovinami z tropických a subtropických oblastí, kde jsou ideální podmínky pro jejich produkci (Hajšlová, 2009).

Mezi nejběžněji kontaminované potraviny se řadí obiloviny jako kukuřice, rýže či pšenice, olejnatá semena zahrnující arašídý, sóju, slunečnici a bavlnu, koření (chilli, pepř, koriandr, zázvor) a ořechy (kokos, mandle, pistácie, vlašské ořechy). Také mléko může být kontaminováno aflatoxiny, které do něj přichází z krmiva dojníc (Wiedenborner, 2001).

Celkem bylo identifikováno 18 druhů aflatoxinů, z nichž nejznámější jsou aflatoxin B₁ (AFB₁), B₂ (AFB₂), G₁ (AFG₁), G₂ (AFG₂). AFB₁ a AFB₂ jsou produkovány převážně *A. flavus*, zatímco *A. parasiticus* produkuje všechny čtyři typy. Ostatní aflatoxiny, mezi něž patří např. AFB_{2A}, AFG_{2A}, AFM₁ a aflatoxikol, se vyskytují jen minoritně. Aflatoxiny se řadí mezi deriváty difuranokumarinů. Podle chemické struktury je můžeme rozdělit na skupinu difurokumarocyklopentenonů

(AFB₁, AFB₂, AFM₁, AFM₂) a difurokumarolaktonů (AFG₁, AFG₂).

Obrázek č. 1 Aflatoxin B₁



Aflatoxin B₁

Aflatoxiny jsou rozpustné v běžných organických rozpouštědlech jako methanol, aceton, acetonitril, chloroform či toluen. Vyznačují se silnou schopností fluoreskovat v UV světle při vlnové délce 265nm. Podle barvy, jakou vysílají, dostaly i svá označení – AFB₁ a B₂ fluoreskují modře (z angl. blue), zatímco AFG₁ a G₂ fluoreskují zeleně (z angl. green). V přítomnosti minerálních kyselin dochází k adici vody na dvojnou vazbu furanového kruhu za vzniku AFB_{2A} a AFG_{2A}, které jsou minoritně produkovány v přírodě. Reakcí se zásadami se hydrolyzuje lakton, avšak tato reakce je za nižších teplot vratná. Při zahřívání jsou aflatoxiny velmi odolné, není-li v mediu přítomná voda. Tehdy dochází k otevření laktonového kruhu a destrukci molekuly. Redukcí vzniká z aflatoxinů B₁ a G₁ aflatoxiny B₂ a G₂ (Hajšlová, 2009).

Aflatoxiny jsou absorbovány ze zažívacího traktu, metabolizovány a do značné míry exkretovány. Distribuce metabolitů do různých míst těla zvířat může být příčinou nebezpečných reziduí v produktech užívaných jako potraviny (mléko, maso a vejce). V organismu dojnic jsou aflatoxiny zčásti konvertovány na hydroxy sloučeniny, toxicky aktivnější formy, označované jako AFM₁, AFM₂ a přechází do mléka, masa a orgánů (játra, ledviny). Hladiny AFM₁ v mléce vymizí pokud AFB₁ jsou odstraněny z krmné dávky. Současná maximální akceptovatelná množství AFM₁ v mléce jsou 10-50 ng/kg. Rezidua aflatoxinů byla též prokázána v tkáních kuřecích brojlerů, především v játrech a ledvinách (Suchý a Herzig, 2005).

Aflatoxiny jsou toxické a karcinogenní. Akutní toxikóza se projevuje úhynem bez příznaků, nebo s příznaky anorexie, deprese, anemie a krvácení. V subchronických případech je nacházen ikterus, hypoprotrombinémie, hematomy a gastroenteritida. Nejčastěji se objevuje chronická aflatoxikóza, charakterizovaná proliferací žlučovodů, cirhózou jater, sníženou rezistencí k infekčním onemocněním a výrazným poklesem užitkovosti. Obecně se uvádí, že samci jsou vůči aflatoxinům citlivější než samice. Aflatoxin AFB₁ je nejúčinnějším známým hepatokarcinogenem.

V organismu v játrech a v plicích dochází k jeho biotransformaci, která vede k tvorbě aktivních epoxidů. Tyto látky se váží na makromolekuly, jako jsou proteiny

a DNA a tím způsobují buněčnou toxicitu a poškození DNA. V játrech klesá obsah vitamínu A, je narušen jaterní metabolismus lipidů (hyperlipémie), vyvolána tuková degenerace. Charakteristická je i proliferace žlučovodů. Původním jevem je i imunosuprese a proto jsou zvířata vnímavější k infekcím. Z hlediska patologického jsou popisovány u samic změny na vaječnicích, u samců pokles objemu ejakulátu a hmotnosti gonád (Suchý a Herzig, 2005).

4.2 MASKOVANÉ MYKOTOXINY

Od 80. let se diskutuje o tzv. „maskovaných“ mykotoxinech. Jedná se většinou o glykosidy nebo acetylované formy. Zatím je známo velmi málo o tom, jak vznikají, v jakých organelách a strukturách jsou ukládány, biologické aktivity a metabolismu v plísňích nebo napadených rostlinách. Některé z nich byly objeveny nedávno. Například dnes velmi známý a v krmivech rozšířený metabolit deoxynivalenolu – deoxynivalenol-3-glukosid (D3G) nebyl konvenčními analytickými metodami zjištěn až do roku 2005, přitom jeho koncentrace v krmivech jsou často vysoké a převyšující vlastní DON. V kukuřici činil podíl D3G 70% z celkového DON a v jiné studii provedené na pšenici D3G dokonce dominoval (Berthiller et al., 2009).

Maskované mykotoxiny vznikají v plísňích buď *de novo*, zřejmě jako prekurzor nativního mykotoxinu, nebo druhotně v napadených rostlinách. Ty se tímto procesem chrání před toxickými účinky xenobiotika. Maskované mykotoxiny mohou být zpětně uvolňovány a aktivovány na nativní formu v průběhu fermentace, například silážování, a zřejmě i v trávicím traktu živočichů.

Mykotoxiny jsou v rostlinách detoxikovány a enzymaticky metabolizovány do polárnější a tedy rozpustné formy, která je uložena např. ve vakuole nebo konjugována s komponenty buněčné stěny. Metabolické procesy probíhající v rostlině zahrnují deacetylaci, deacetylaci a isomeraci nebo konjugaci. Během těchto reakcí jsou reaktivní funkční skupiny redukovány či maskovány tak, aby se toxicita nově vzniklého produktu snížila či eliminovala. Při konjugaci jsou volné mykotoxiny vázány na glukosu či sulfát. Účinnost detoxikačních procesů v rostlině je zřejmě základem rezistence odrůd pšenice vůči plísním, např. fuzarióze klasu, která souvisí se schopností přeměňovat DON na pro rostlinu méně toxický konjugát deoxynivalenol-3-O-glukosid (D3G) (Rada a Havlík, 2012).

Rostliny kromě DON detoxikují i řadu dalších mykotoxinů, například *Arabidopsis thaliana* rychle transformuje ZEN na spektrum 17 různých sloučenin, glykosidů, malonylglykosidů, dihexosidů, pentosylhexosidů a metabolitů α -ZOL a β -ZOL. Důležitou roli v této biotransformaci hraje enzym glukosyltransferasa. Suspenzní kultura *A. thaliana* také vytváří D3G z prekurzoru DON v reakci katalyzované enzymem UDP-glukosyltransferasou. Jsou známy maskované konjugáty fumonisinů i OTA (Berthiller et al., 2009). V napadených rostlinách bývají nacházeny jak glykosilované tak i acetylované formy mykotoxinů. Deoxynivalenol je v krmivech přítomen také jako 3-acetyl deoxynivalenol (3-ADON) nebo 15-acetyl deoxynivalenol (15-ADON), a není vždy zřejmé, který pochází z rostlin nebo z plísní. Vlastní DON je ale vždy přítomen v koncentracích o řád vyšších (Berthiller et al., 2009).

Konjugáty mykotoxinů mohou být ale enzymaticky uvolňovány a tedy aktivovány v průběhu fermentace potravin a krmiv. Sladké kynuté pečivo obsahovalo 1,2 – 1,9* více DON než mouka, ze které bylo vyrobeno, zřejmě díky konverzi neznámého konjugátu na nativní DON. Kostelanska et al. (2009) zjistila vysoké množství D3G v pivu. Navíc, stejný tým zjistil, že D3G v pivu stoupá v průběhu sladování. Podílí se na tom zřejmě dva procesy – *de novo* syntéza související s růstem plísně v průběhu klíčení zrna, ale i enzymatické uvolnění D3G z dalších nerozpustných forem. Není nic známo o podobných procesech např. při silážování.

Otázkou zůstává, nakolik jsou maskované mykotoxiny biologicky aktivní ve srovnání s původním mykotoxinem. Aktivita je podmíněná hydrolýzou a je otázkou, zda k ní v průběhu trávení dojde. Podle nedávno provedené studie je D3G velmi stabilní v 0,02M HCl, žaludeční šťávě, umělých střevních šťávách, odolnost vůči mandlové i šnečí glukuronidase a lidské β -glukosidase. Účinně ho ale štěpila na DON cellobiasa z *Aspergillus* sp. a o něco méně cellobiasa z *Trichoderma* sp. Schopnost zpřístupňovat D3G je tak zřejmě doménou střevních mikroorganismů a příslušných glukosidas. Významnou roli zřejmě hrají mikroorganismy trávicího traktu. V rámci širokého screeningu různých druhů byla zjištěna schopnost štěpit D3G u *Bifidobacterium adolescentis*, zástupců *Enterococcus* sp., a *Lactobacillus plantarum*. Endogenní enzymy produkované buňkami tenkého střeva zřejmě D3G hydrolyzovat nedokáže. Při experimentech s D3G na trávicím modelu tvořeným buněčnou linií CaCo-2 nebyl D3G hydrolyzován ani absorbován, na rozdíl od DON (Rada a Havlík, 2012).

4.3 TRICHOHECENY

Nejvýznamnějšími producenty trichothecenů jsou jednotlivé druhy plísní *Fusarium* (*Fusarium poae*, *F. graminearum*, *F. sporotrichioides*). Produkce těchto mykotoxinů byla prokázána i u některých kmenů rodu *Myrothecium*. Nejčastěji je jejich kontaminace sledována u cereálií, zvláště pak pšenice a kukuřice. Výskyt trichothecenů byl prokázán i u sójových bobů, banánů, manga a dále v pivu, kam přechází z kontaminovaného ječmene (Wiedenborner, 2001).

Z hlediska chemické struktury představují trichotheceny pestrou skupinu sloučenin. Podle charakteristických vlastností a počtu funkčních skupin se rozlišují čtyři základní skupiny trichothecenů:

1. typ A (pozice C-8 bez oxoskupiny) : T-2, HT-2 toxin, neosolaniol (NEO), diacetoxyscirpenol (DAS)
2. typ B (na C-8 oxoskupina) : nivalenol (NIV), deoxynivalenol (DON), 3-acetyldeoxynivalenol (3-ADON), 15-acetyldeoxynivalenol (15-ADON), fusarenon-X (FUS-X)
3. typ C (v poloze C-7 a C-8 nebo C-8 a C-9 další epoxyskupina)
4. typ D (mezi C-4 a C-12 makrocyclický kruh)

Celkem se jedná o skupinu více než 80 typů s charakteristickým trichothecenovým jádrem (sesquiterpenoidní strukturou). Všechny trichotheceny mají v poloze 9,10 dvojnou vazbu a v poloze 12,13 epoxy skupinu. Trichotheceny jsou méně stabilní v silně alkalickém prostředí a jsou známé jako inhibitory proteosyntézy a imunosupresivní látky. U člověka byla popsána alimentární toxická aleukie „septická angína“. Trichotheceny jsou rychle resorbovány

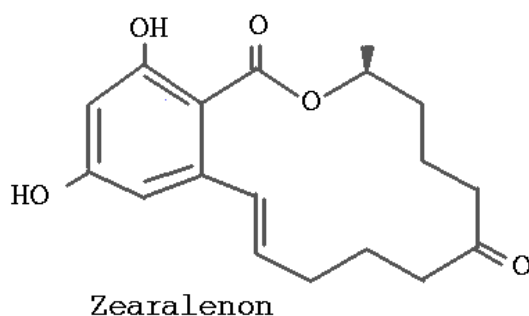
z gastrointestinálního traktu a v játrech se metabolizují na epoxidy, které negativně ovlivňují základní funkce, jako je syntéza bílkovin a DNA, a tím negativně ovlivňují replikaci buněk (Hajšlová, 2009). Z toxikologických účinků trichothecenů lze uvést obecné symptomy, jako je nauzea, silná iritace pokožky a porucha homopoezy. Vzhledem k poměrně častému výskytu onemocnění způsobených trichotheceny u lidí i zvířat, jsou ve světě pokládány za nejvýznamnější skupinu mykotoxinů.

Tři skupiny fusáriových mykotoxinů jsou z hlediska zdraví zvířat a jejich užitkovosti mimořádně důležité. V rámci skupiny trichothecenů je DON spojován se zvracením prasat, T-2 toxin může přivodit reprodukční poruchy prasnic. Další skupina zahrnující zearalenon a jeho deriváty má estrogení vlastnosti. Třetí kategorie zahrnuje fumonisiny, které jsou spojeny se specifickými toxickými syndromy jako je leukoencefalomalacie koní (ELEM) a plicní edém prasat (PPE) (Suchý a Herzig, 2005).

4.3.1 ZEARALENON

Producenty zearalenonu jsou zejména toxinogenní kmeny rodu *Fusarium*. Mezi nejvýznamnější se uvádí *Fusarium graminearum* a *F. semitectum*. Zearalenon (ZON) je chemicky charakterizován jako lakton kyseliny β -resorcylové. Podmínky produkce mykotoxinu: teplota 3° až 8°C (při 25°C se netvoří). V organismu je biotransformován na estrogeně mnohem aktivnější α -zearalenol (α -ZAL), β -zearalanol (β -ZAL) a zearalanon (ZAN), dále pak např. 7 α -zearalanol, 7 β -zearalanol, 11-hydroxyzearalenon, 14-hydroxyzearalenon, 4-acetylzearalenon, 5-formylzearalenon (Zidenedine, 2007). V posledních letech je diskutován vliv konjugátu zearalenonu, zearalenon-4- β -D-glukopyranosidu na zdraví hospodářských zvířat a člověka. Zearalenon-4- β -D-glukopyranosid se vyskytuje také v obilovinách a hovoříme o něm jako o tzv. „maskovaném“ mykotoxinu (Rada a Havlík, 2012).

Obrázek č. 2 Zearalenon



U monogastričních zvířat prokazuje estrogení aktivitu (negativně působí na reprodukci), velmi citlivá jsou především prasata (prasničky). Jeho účinky jsou podobné syntetickým analogům estrogenů – hyperestrogenizace prasnic, poruchy reprodukčního cyklu, vulvovaginitidy. U dospívajících prasnic je intoxikace spojována s klinickými příznaky manifestujícími se otokem vulvy, zvětšením dělohy a mléčné žlázy, ve vážnějších případech dochází k výhřezu uteru nebo rekta, dále dochází k narušení říjového cyklu, snížené plodnosti a perzistenci žlutého tělíska.

Někteří autoři považují u chovných prasat za limitní hodnotu ZEN již koncentraci 0,05 mg/kg krmiva proto, že již při koncentracích 50 µg/kg krmiva se mohou objevovat histologické změny na děložní sliznici a vaječnicích. U kanců je intoxikace provázena sníženým sexuální pudem, sníženou koncentrací testosteronu, sníženou spermiogenezi až neplodností, a to již při koncentracích ZEN 30 µg/kg krmiva.

U experimentálních zvířat (potkan) pod jeho vlivem byly vyvolány léze uteru, testes a dalších orgánů při dávkách 10 – 100 mg/kg živé hmotnosti (nezkrmovat více jak 500 µg/kg). Určitou toleranci vůči mykotoxinu lze pozorovat u drůbeže a přežvýkavců. I přes určitou odolnost přežvýkavců vůči zearalenonu byly pod jeho vlivem pozorovány u dojnic poruchy plodnosti, zvýšení výskytu onemocnění mléčné žlázy (zvýšený počet somatických buněk v mléce), paznehtů a zhoršení vitality narozených telat. Za kritické koncentrace v krmné dávce pro dojnice (limit i pro ostatní zvířata) se považuje 0,5 mg/kg krmiva (88% sešinu) (Suchý a Herzig, 2005).

Pro člověka může být zdrojem mléko, do kterého se zearalenon vylučuje asi 0,01% přijaté denní dávky. V odborné literatuře existují práce popisující korelaci mezi výskytem zearalenonu a dalších trichothecenů v potravě matek v průběhu těhotenství a výskytem některých poruch nervového systému u potomstva, včetně schizofrenie. Odhaduje se, že pro člověka je bezpečný příjem ZEN ve výši 0,05 µg/kg tělesné hmotnosti.

Jedná se o relativně lipofilní sloučeninu, která se vyskytuje v různých obilovinách, hlavně v kukuřici. V menším rozsahu se také vyskytuje u ječmene, pšenici, čiroku, prosu a rýže. Obsah zearalenonu často významně klesá při technologickém zpracování obilovin. Např. v bílé mouce připravené z kontaminované pšenice bylo obsaženo jen 30-50% výchozího obsahu tohoto mykotoxinu. V chlebu se jeho obsah oproti mouce snížil na 34-40%, při výrobě těstovin v přítomnosti 1% uhličitanu draselného činily ztráty mykotoxinu 48-62%. Omývání kukuřice, které je účinné u DON a dalších trichothecenů, k významnému poklesu nevedlo (Velíšek, 2002).

4.3.2 FUMONISINY

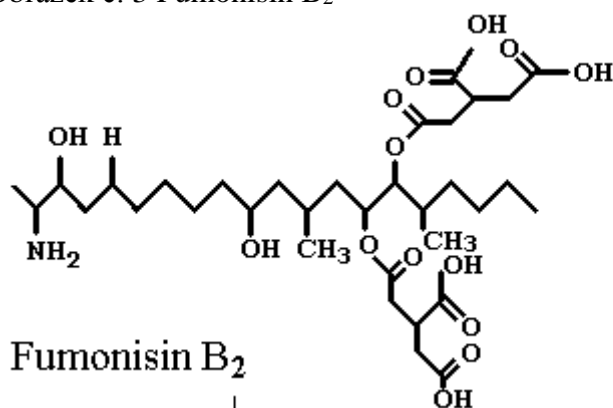
Tato skupina mykotoxinů byla objevena koncem 80. let 20. století v Jihoafrické republice, v současné době je velmi intenzivně celosvětově studována. Producenti fumonisinů jsou toxinogenní kmeny rodu *Fusarium*. Nacházejí se především v kukuřici a v příslušných produktech používaných jako krmivo (siláž), také byly nalezeny v rýži a prosu. Podmínky produkce mykotoxinu: optimum 25°C, pH 3- 9,5. Doposud bylo identifikováno nejméně patnáct sloučenin, které byly zařazeny do této skupiny mykotoxinů. Z nichž nejvýznamnější jsou fumonisiny B₁ (FB₁) a B₂ (FB₂). FB₁ a FB₂ jsou jako jediné legislativně ošetřeny (Velíšek, 2002).

Fumonisin je možno chemicky charakterizovat jako složité alifatické sloučeniny. Jde o velmi polární diestery propan-1,2,3-trikarboxylové kyseliny s pentahydroxydimethyleikosanem. Jsou relativně značně termostabilní. Účinně je lze z povrchu kukuřice odstranit omytím, zejména v alkalických roztocích. Jsou rozpustné ve vodě, více rozpustné ve směsi acetonitrilu s vodou, dobře rozpustné

v methanolu a nerozpustné v nepolárních rozpouštědlech (Hajšlová, 2009).

FB₁ je převládajícím fumonisinem detekovaný v potravinách. Vykazuje odlišné toxické účinky u člověka a zvířat. Je mu přičítána rakovina jícnu, hepatotoxicita a nefrotoxicita. Fumonisininy vyvolávají u hospodářských zvířat řadu onemocnění. U koní jde o mykotoxikosu zvanou ELEM, u prasat vyvolává edem plic PPE. Byly prokázány důkazy jejich hepatotoxicity a nefrotoxicity.

Obrázek č. 3 Fumonisin B₂



Za nejtoxičtější je pokládán fumonisin B₁ inhibující enzym ceramid syntetázu, N-acetyl transferázu katalyzující syntézu sfingolipidů.

U koní vyvolává onemocnění označované jako leukoencefalomalacie (ELEM). ELEM je smrtelné onemocnění koní lokalizované v mozku (progresivní nekróza neuronů CNS), jsou postižena játra a ledviny. Klinický obraz onemocnění – natažený krk a končetiny, ataxie, paralýza, vrávoravá chůze. Pro koně jsou riskantní diety s obsahem 5mg/kg fumonisinu. Příznaky onemocnění se objeví za 7-35 dní (Suchý a Herzig, 2005).

U prasat vyvolává plicní edém (PPE), který v současné době je dáván do souvislosti spíše se srdeční dysfunkcí, než s narušením plicní tkáně. Současně se vyvíjí i jaterní hyperplazie. U laboratorních zvířat iniciuje vznik zhoubných nádorů (u potkanů). Méně citlivý jsou přežvýkavci, u kterých dochází v průběhu bachorové fermentace k jejich výrazné degradaci. Proto i jeho transfer do mléka je minimální. Přesto při koncentraci 100 mg/kg byla u dojnic pozorována snížená dojivost. Za maximální přípustnou hranici toxinu v krmivu lze pokládat koncentraci 5 mg/kg krmiva. U drůbeže je popsán syndrom toxicity krmiva.

U člověka je popisována v souvislosti s fumonisiny rakovina jícnu v Číně. Jeho zdrojem ve výživě člověka je především kukuřice a výrobky z ní. V USA je popisován velmi vzácný defekt dvou narozených dětí s anencefálií (zrůda bez lebního kostěného krytu a bez vyvinutého mozku), dávaný do souvislosti s konzumací kukuřice kontaminované fumonisinem.

4.3.3 DEOXYNIVALENOL

Producenty DON jsou toxinogenní kmeny rodu *Fusarium*. V roce 1973 byl v USA izolován DON z kukuřice napadené mikromycetami *Fusarium graminearum*. Při zkrmování DON kontaminované kukuřice bylo u prasat pozorováno zvracení (vomitus). Na základě tohoto byl odvozen triviální název tohoto mykotoxinu – *vomitoxin* (Zachariášová, 2009).

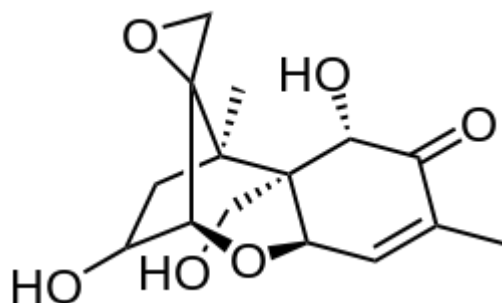
Z chemického hlediska patří DON mezi významné zástupce mykotoxinů trichothecenové skupiny typu B. Je dobře rozpustný v acetonitrilu, chloroformu, směsi ethylacetátu a acetonitrilu (4:1), ve směsi chloroformu s methanolem (9:1) a nerozpustný v hexanu a petroletheru. Z fusariových mykotoxinů je nejčastěji nalézaným mykotoxinem v krmivech, je však považován za nejméně toxický pro živočichy. Polygastři jsou méně citliví na DON než monogastři, protože v bachoru se DON konvertuje na méně toxickou formu deepoxydeoxynivalenol (DOM-1).

V poslední době vyvstává důležitá otázka týkající se relativní toxicity 3-acetyldeoxynivalenolu (3-ADON) a 15-acetyldeoxynivalenolu (15-ADON), jejichž prekursorem je právě DON a spolu s ním jsou někdy detekovány v obilovinách. Nejčastěji se vyskytuje v kukuřici, prosu, pšenici a ječmeni. Na obsah DON v cereáliích upozorňuje přítomnost načervenalých, bělavých, nápadně lehkých nebo scvrklých zrn (Hajšlová, 2009).

Toxické účinky DON jsou spojovány s gastroenteritidami, intestinálními hemoragiemi a úhynem. Cílovým působením toxického účinku jsou enterocyty, kde inhibuje syntézu proteinů a vyvolává apoptózy. Obecné symptomy jsou nauzea, iritace pokožky a poruchy krve tvorby. Při intoxikaci DON dochází k poklesu tvorby protilátek a poklesu počtu leukocytů. Uvádí se, že mykotoxin je transportován do mozku, kde spouští dopaminergické receptory, což vede ke zvracení prasat, u ostatních zvířat k odmítání krmiva, ztrátě koordinace a letargii (Suchý a Herzig, 2005).

Velmi citlivá jsou prasata, je uváděn snížený příjem až odmítnutí krmiva při vyšší koncentraci než 0,7 mg DON/kg krmiva, snížení přírůstků a zvracení. Toxické efekty se však mohou dostavit již při koncentraci 0,25 mg/kg krmiva. U drůbeže snižuje hmotnost vajec a je zhoršená kvalita vaječné skořápky, nachází se rezidua ve vejcích. V USA a Kanadě platí limit v krmivu 4 mg/kg. Za kritické koncentrace DON pro dojnice se považuje 5 mg/kg krmiva (88% sušinu). V ČR je stanoven maximální obsah DON v zrninách 2 mg/kg, v mouce 1 mg/kg.

Obrázek č. 4 Deoxynivalenol



4.3.4 MONILIFORMIN

Moniliformin (MON) byl poprvé izolován a strukturně charakterizován v roce 1973 jako sekundární metabolit mikroskopické houby *Fusarium moniliforme*, odtud také pochází jeho název. Je chemicky charakterizován jako 3-hydroxycyklobut-3-en-1,2-dion. Vyskytuje se převážně v podobě sodné soli (Velíšek, 2002).

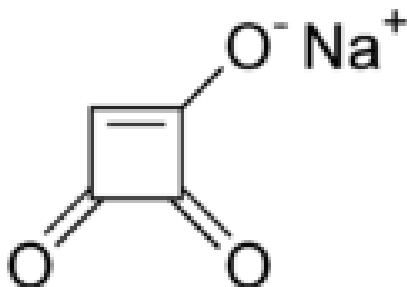
Je velmi dobře rozpustný ve vodě a v polárních rozpouštědlech jako je methanol. Krystaly získané z vodného methanolu se rozkládají při 350°C. Sodná a draselná sůl netaje při teplotách pod 320°C. Záhřevem kontaminované kukuřice (1mg K⁺ soli MON/kg materiálu) 30 minut na teplotu 100°C se rozložilo 45% moniliforminu. *F. moniliforme* jako polní plíseň napadá oves, len, sóju, proso, ječmen, kukuřici a pšenici, může být přítomná i v kukuřici, která se zdá být zdravá. Houba způsobuje řadu onemocnění kukuřice a může při vyšší vlhkosti napadnout zrno.

F. moniliforme je uváděno jako původce kožních onemocnění lidí, jako původce mycetomatosy v Evropě (chronické granulomatosní onemocnění především v tropických zemích), původce keratitidy, septické artritidy, diseminovaných infekcí u pacientů s maligním lymfomem a u akutní lymfatické leukémie. Je také uváděn jako původce myotické pneumonie u aligátorů. Vzhledem k tomu, že houba *F. moniliforme* je přítomna jak na polních porostech, tak na skladovaném zrně, produkované mykotoxiny ovlivňují zdraví zvířat. Vyvolává toxické reakce na kůži králíků a mykotoxiny produkované *F. moniliforme* jsou také toxické pro myši (Herzig, Suchý a Straková, 2008).

Na základě laboratorních studií toxicity se potvrdilo, že MON je vysoce toxický pro drůbež. U kuřat, která byla krmena dávkou infikovanou *F. moniliforme* se vyvinulo onemocnění charakterizované těžkými deformitami běháků. Tato houba byla rovněž prokázána jako původce nemoci koňovitých uváděné jako blind staggers (slepá závrať), nemoc kukuřičných stvolů, nemoc plesnivé kukuřice a leukoencefalomalacie, která později implikuje CNS koní a oslů.

MON vykazuje vysokou akutní toxicitu pro laboratorní zvířata, např. potkani, kuřata a kachny. U pokusných zvířat byla pozorována progresivní svalová slabost, dýchací obtíže, cyanosa, následovalo koma a smrt. MON je také cytotoxický pro savčí buňky a je řazen mezi potenciální kardiotoxiny. Mechanismus toxického účinku spočívá v inhibici enzymů odpovědných za oxidativní dekarboxylaci pyruvátu na acetyl CoA a α -ketoglutarátu na sukcinyl CoA.

Obrázek č. 5 Moniliformin



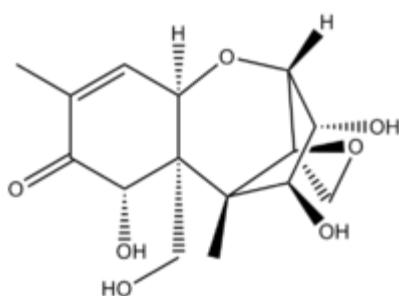
4.3.5 NIVALENOL

V posledních dvou letech se začaly rozšiřovat i chemotypy mikromycet produkující ve velké míře další mykotoxin typu B – nivalenol (NIV). Chemicky se jedná o 3 α , 4 β , 7 α , 15-tetrahydroxy-12,13-epoxytrichothec-9-en-8-one. Poprvé byla tato látka izolována z *F. nivale*, což je atypický druh *F. sporotrichioides*. Nejčastějšími producenty NIV jsou *F. cerealis*, *F. poae* a v malém množství také *F. culmorum* a *F. graminearum*. NIV byl detekován v cereáliích, jako je ječmen, pšenice a kukuřice a také ve sladu, pivu a chlebu.

NIV se přirozeně vyskytuje v obilovinách, je obdobně toxický jako DON a má imunotoxické a hematotoxické účinky. Nivalenol je pomalu absorbovatelný z gastrointestinálního traktu a je vylučován výlučně stolicí. Zatímco u potkanů krmených krmivem NIV v koncentracích 0,4-6,9 mg/kg živé hmotnosti po dobu 90 dnů došlo k výraznému poklesu hmotnosti a průmům, mladá prasata krmená 0-5 mg/kg čistého NIV po dobu 3 týdnů byla i v nejvyšší koncentraci bez příznaků. Mikroskopické zhodnocení stavu gastrointestinálního traktu u nich ale ukázalo patologické změny v ledvinách. K poklesu krmiva dochází až v koncentracích od 5,8 mg NIV/kg ž. hm. (Rada a Havlík, 2012).

Z důvodu značné polariry NIV je velice obtížné jeho stanovení multidetekčními chromatografickými metodami. Vzhledem k tomu, že pro NIV zatím neexistuje platná legislativa definující jeho nejvyšší povolená množství v potravinách, řada analytických laboratoří se jeho analýzou nezabývá. Postupně se ale NIV, vzhledem ke stoupající frekvenci svého výskytu v posledních letech, dostává do popředí zájmu odborníků. Probíhá množství toxikologických studií, na jejichž základě budou postavena legislativní opatření upravující nejvyšší povolená množství NIV v daných komoditách (Hajšlová, 2008).

Obrázek č. 6 Nivalenol



4.3.6 HT-2 TOXIN A T-2 TOXIN

V současné době je v rámci EU věnována velká pozornost mykotoxinům reprezentujících skupinu trichothecenů typu A, tedy HT-2 toxinu (HT-2) a T-2 toxinu (T-2). HT-2 je triviální název sloučeniny 4 β ,15-diacetoxy-3 α ,dihydroxy-8 α -(3-

methylbutyryl-oxy)-12,13-epoxytrichothec-9-en, systematický název T-2 je 15-acetoxy-3 α ,4 β -dihydroxy-8 α -(3-methylbutyryloxy)-12,13-epoxytrichothec-9-en. Jelikož se *in vivo* T-2 snadno metabolizuje na HT-2 jsou tyto látky většinou stanovovány společně a jejich koncentrace je uváděna v sumě.

T-2 byl objeven jako zbraň ruskými vědci poté, co byla po jarní sklizni opožděné kvůli druhé světové válce mouka kontaminována plísní *Fusarium* a byl z ní vyroben chléb. Mnoho lidí bylo postiženo, někteří smrtelně. O T-2 se uvažovalo také jako o příčině moru v Athénách (430 př. n. l.). O T-2 se uvažuje jako o příčině syndromu války v Perském zálivu u některých amerických vojáků, kteří byli vystaveni minometné palbě iráckých sil během války v Perském zálivu. Bylo na něj též podezření při otravě Viktora Juščenka během kampaně před prezidentskými volbami v roce 2004 (byť se lékaři nyní domnívají, že šlo o otravu dioxinem).

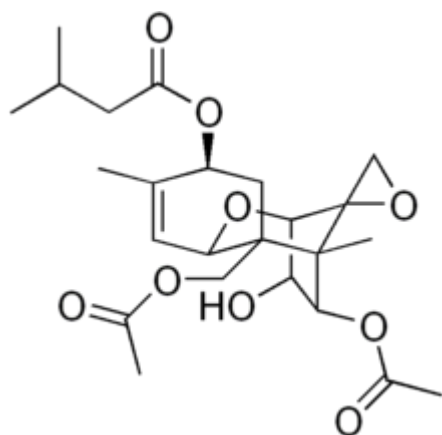
Z hlediska toxicity je T-2 nejúčinnější z trichothecenových mykotoxinů. Je významný svojí akutní toxicitou. Způsobuje onemocnění známé jako alimentární toxická aleukie, dále kožní problémy doprovázené krvácivými ložisky v oblasti hlavy a pohlavních orgánů pokusných zvířat. Projevem chronického příjmu T-2 toxinu je hubnutí, snížení počtu erytrocytů a leukocytů, snížení glykémie. Dále dochází k patologickým změnám na žaludku a játrech a snížení odolnosti k onemocněním, zvracení, latergii, různým nekrózám a poškození chrupavčitých tkání. Zvířata na tento toxin jsou různě citlivá (Rada a Havlík, 2012).

Oba toxiny patří mezi významné kontaminanty cereálií, především ovsa, žita, pšenice a ječmene. K hlavním producentům HT-2 a T-2 patří druhy plísní jako *F. poae*, *F. sporotrichoides*, *F. equiseti* a *F. acuminatum*. Jejich výskyt je v poslední době velmi často a v relativně vysokých koncentracích zaznamenáván v ovsu. Nedávné vědecké výzkumy poukázaly na důležitý jev, tzv. asymptotický výskyt těchto mykotoxinů, který se projevil v testovaných vzorcích ovsa. Jedná se o to, že u obiloviny nemusí být napadení Fusarií v průběhu vegetace vůbec pozorovatelné (na rozdíl od pšenice a ječmene), plísně se rozvíjí latentně a kontaminují jej svými sekundárními toxickými produkty (Hajšlová, 2008).

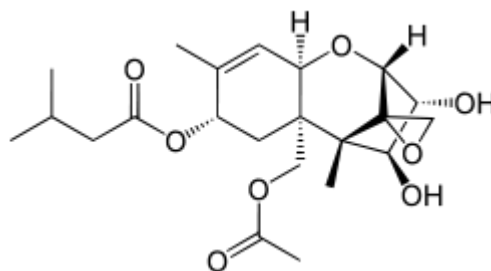
Toxicitu T-2 ovlivňuje celá řada faktorů, jako je způsob podání, čas expozice, dávka, stáří zvířete, pohlaví, celkový zdravotní stav a přítomnost dalších mykotoxinů v krmivu. LD₅₀ T-2 u sedmidenních kuřecích brojlerů je 5 mg/kg krmiva. Ve srovnání s ostatními mykotoxiny je jeden z nejtoxičtějších, je genotoxický, cytotoxický a má imunostatické účinky (Sokolovic, 2008).

T-2 má toxický vliv na téměř všechny buněčné procesy v trávicím traktu. Už při malé dávce může dojít k poškození sliznice trávicího traktu a zhoršení vstřebávání živin. Mohou se objevit nekrózy projevující se jako bíle-nažloutlé léze v dutině ústní, žaludku, střevní sliznici a játrech. Léze a snížený přírůstek se objeví i po jediné aplikaci toxinu v množství 5 mg/kg krmiva, častěji ale po např. týdenním krmení kontaminovaného krmiva s obsahem toxinu v množství 1-5 mg/kg krmiva.

Obrázek č. 7 T-2 toxin



Obrázek č. 8 HT-2 toxin



4.4 OCHRATOXINY

Mykotoxiny ze skupiny ochratoxinů byly poprvé izolovány a chemicky charakterizovány v roce 1965, jako produkt kultury *Aspergillus ochraceus*, kultivovaný na kukuřici. Po chemické stránce jde o látky kumarinové povahy s molekulovou hmotností 369-431. část molekuly je tvořena aminokyselinou L- β -fenylalaninem, na kterou je vázána amidickou vazbou methylisokumarinová část (Zapletal a kol., 2001). V chladnějších klimatických pásmech Evropy (zejména ve Skandinávii) jsou nejvýznamnějším producentem nejtoxičtějšího mykotoxinu této skupiny – Ochratoxinu A (OTA) – jsou považována penicillia, především *P. viridicatum* (Radová-Sypecká, 2003).

OTA se vyskytuje v potravinách rostlinného i živočišného původu. Z potravin rostlinného původu se vyskytuje především v obilovinách, koření, kakau, sušeném ovoci, kávě i vínu. Z obilovin se vyskytuje nejvíce v žitě, následuje oves a pšenice. Díky enterohepatální cirkulaci se OTA může vyskytovat také v mase a krvi zvířat, především prasat. OTA je termostabilní mykotoxin, který nelze zničit běžnými teplotami při úpravě potravin. Ke snížení koncentrace OTA dochází až za několik minut při teplotách vyšších než 250°C. OTA se vylučuje do mateřského mléka, což představuje významný zdroj pro kojenče (Modrá, 2014).

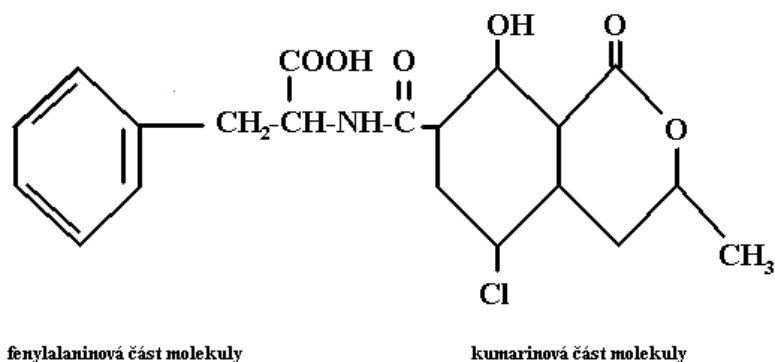
Vedle rostlinných produktů lze nalézt diskutovaný mykotoxin též v orgánech hospodářských zvířat, zejména ledvinách vepřů (koncentrace zde často dosahují až 10² μ g/kg). Stopové koncentrace ochratoxinu A byly prokázány i v mase (svalovině). Určitou výhodou z hlediska bezpečnosti potravin je, že se jen nepatrně kumuluje v živočišných tkáních, takže potraviny živočišného původu nepředstavují pro člověka vážné zdravotní riziko (Hajšlová, 2009). Rozvoj příslušných toxinogenních hub je příčinou příležitostně zjišťovaných nálezů ochratoxinu A v sýrech, popsána byla produkce tohoto mykotoxinu i v uzenářských výrobcích k jejichž finalizaci se používají kulturní vláknité houby (např. uherský salám).

Distribuce ochratoxinu A v organismu je poměrně rozsáhlá. U krys, kterým byl nálevem podán OTA, byl po 24 hodinách toxin nalezen v tuku, tenkém střevě, varlatech, ledvinách, játrech, plicích, srdečním svalu, slezině, žaludku, kosterní svalovině a mozku (v sestupné koncentraci). K sekundární distribuci dochází díky

enterohepatické cirkulaci. Při nízké koncentraci ochratoxinu A v krmivu přežvýkavci nevstřebávají toxin, protože ten je rychle hydrolyzován mikroflórou předžaludků. Je-li ale dávka velká (obecně se za takovou považuje celková dávka nad 10 mg toxinu), je možné detekovat ochratoxin A v ledvinách, mléce a moči exponovaných kraav. V lidské krevní plasmě se OTA váže na dosud neidentifikované proteiny o relativní molekulární hmotnosti 20000, které mají extrémní afinitu k toxinu. Váže se také na plasmatický albumin různých živočišných druhů. Afinita je však nižší. V organismu savců se OTA metabolizuje hydroxylací, za vzniku epimerů (4S) a (4R) 4-hydroxyochratoxinu A. dále je OTA také hydrolyticky štěpen na fenylyalanin a dihydroisokumarin (= ochratoxin α). Ochratoxin α je nejvíce zastoupenou formou ochratoxinu A vylučovanou z těla živočichů močí. Nalézá se i v mléce (Zapletal a kol., 2001).

Cílovým orgánem pro akutní toxický účinek ochratoxinu A jsou především ledviny a játra. OTA je při chronické expozici znám i svými imunosupresivními, teratogenními a potenciálně karcinogenními účinky. OTA vyvolává onemocnění prasat známé pod názvem „Porcinní mykotoxická nefropatie“. Na Balkánském poloostrově je již delší dobu známé onemocnění lidí s názvem „Balkánská endemická nefropatie“. Existují hypotézy o souvislosti vysoké incidence nádorů urogenitálního traktu v Bulharsku a Jugoslávii, s výskytem Balkánské endemické nefropatie a výskytem ochratoxinu A v kontaminovaných potravinách. V současnosti však existují pouze nedostatečné důkazy o karcinogenitě ochratoxinu A pro člověka. Existují ale dostatečné důkazy o karcinogenitě ochratoxinu A u experimentálních zvířat (Velíšek, 2002).

Obrázek č. 9 Ochratoxin A



Ochratoxin A

4.5 PATULIN

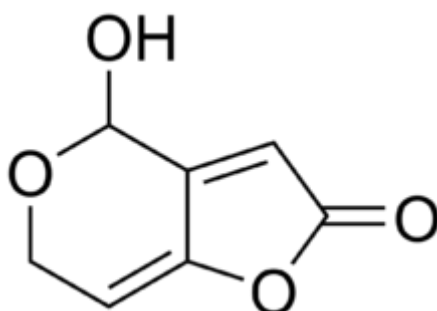
Patulin (clavacin, mycoin, leukopin) byl původně důkladně studován jako možné antibiotikum. Po objasnění struktury byla tato látka v roce 1949 nazvána patulin. Je produkován mikroskopickými houbami rodu *Aspergillus*, *Penicillium*, ale i *Byssoschlamys*. PAT se vyskytuje převážně v jablkách, ale jeho přítomnost byla prokázána i v hroznech a pomerančích. Zdrojem PAT však mohou být i jiné potraviny, např. zelenina, cereálie i sýr. Nejčastějším producentem, který kontaminuje jablka a další ovoce, je *Penicillium expansum* a *P. patulinum*. Houba se

běžně vyskytuje na povrchu zdravého ovoce. K růstu a produkci dochází při poškození povrchu ovoce hmyzem nebo při poškození mechanickém. Jeho přítomnost byla prokázána i v mase, kde se koncentruje po zkrmení obilovin kontaminovaných *Aspergillus clavatus* (Zapletal a kol., 2001).

PAT je v potravinách spíše indikátor špatných výrobních postupů, jako např. používání „plesnivých“ vstupních surovin, než bezprostřední vážné ohrožení zdraví člověka či zvířete, nelze však ani v případě PAT opomenout chronickou toxicitu. Je středně toxický, způsobuje poškození žaludeční sliznice (hemoragie, edémy) (Hajšlová, 2009). Toxický účinek patulinu je objasňován jeho schopností vázat se na sulfhydrylové skupiny bílkovin. To ve svém důsledku vede k narušení permeability buněčných membrán, narušení aktivity enzymů, narušení procesu dýchání (Zapletal a kol., 2001).

Chemickou strukturou se PAT řadí mezi mykotoxiny laktonového typu, jde o opticky inaktivní 4-hydroxy-4H-furo[3,2-c]pyran-2(6H)on. Je velmi dobře rozpustný ve vodě, alkoholech, acetonu, benzenu, chloroformu, ethylacetátu, částečně rozpustný v ethyletheru a nerozpustný v petroletheru. Mechanismus degradace dosud nebyl uspokojivě objasněn (Velíšek, 2002).

Obrázek č. 10 Patulin



4.6 CITRININ

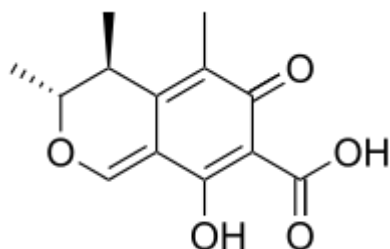
Citrinin byl poprvé objeven na počátku 30. let 20. století, kdy byl nejprve charakterizován jako antimikrobiální antibiotikum, teprve později mu byla prokázána jeho silná nefrotoxicita a interference s metabolickými procesy v játrech. Dle *International Agency for Research on Cancer* (IARC) je klasifikován jako silný karcinogen (Wiedenborner, 2001).

Citrinin je sekundární metabolit mikromycet rodu *Aspergillus* a *Penicillium*, zejména *P. citrinum* a *P. verrucosum*. Představuje hlavní kontaminaci tzv. červené rýže a obilovin. Jedná se o derivát isochromenu, který se může vyskytovat ve dvou tautomerních formách. Chinoidní forma je běžně přítomna v neutrálním prostředí. V alkalickém prostředí se vyskytuje tautomerní fenol (Hajšlová, 2009).

Krátce po svém objevení (na počátku 30. let minulého století) byl citrinin nejprve charakterizován jako antimikrobiální antibiotikum, teprve později byla prokázána jeho silná nefrotoxicita a interference s metabolickými procesy v játrech, které vedou k jejich poškození. V experimentech se zvířaty byla prokázána i jeho

karcinogenita a mutagenita. Citrinin je stejně jako ochratoxin A klasifikován jako silný teratogen. U hospodářských zvířat vyvolává řadu syndromů, jako např. průjemy a s tím související snížené přírůstky hmotnosti. Inhibuje také růst některých rostlin (Velíšek, 2002).

Obrázek č. 11 Citrinin



4.7 KYSELINA FUSAROVÁ

Jedná se o 5-butylpikolinovou kyselinu, se sumárním vzorcem $C_{10}H_{13}NO_2$ a molekulovou hmotností 179,2. používá se zkratka FA (Radová-Sypecká, 2003).

FA byla vyzolována z několika zemědělských plodin, například z kukuřice, pšenice, ječmene. Kyselinu fusarovou syntetizují mikromycety rodu *Fusarium* z aminokyseliny tryptofanu. FA je sice známa řadu let, ale až dosud nebyla považována za příliš nebezpečného původce fusariových mykotoxikóz. Její toxicita je poměrně nízká (Hajšlová, 2009).

Bylo zjištěno, že všechny kmeny fusariových mikromycet produkují určité množství této kyseliny. Na základě tohoto faktu bylo navrženo, aby byla kyselina fusarová použita jako indikátor kontaminace krmiv fusariovými mykotoxiny. U polygastrů její přítomnost zvyšuje toxicitu ostatních mykotoxinů (např. DON) (Wiedenborner, 2001).

4.8 STERIGMATOCYSTIN

Sterigmatocystin byl poprvé izolován v roce 1954. je produkován mikroskopickými houbami *Aspergillus versicolor*, *A. rugulosus*, *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. nidulans* a *Penicillium sp.*, dále druhy *Bipolaris nodulosa*, *Farrovia malayensis* a *Monocillium nordinii*. V poslední době byly jako producenti sterigmatocystinu potvrzeny další druhy *Emericella venezuelensis* a *E. astellata*. Molekulová hmotnost sterigmatocystinu je 324,29 g/mol, sumární vzorec $C_{18}H_{12}O_6$ a jeho název 3a,12c-dihydro-8-hydroxy-6-methoxy-7-H-furo-(3,2:4,5)furo(2,3-c)xanthen-7-on.

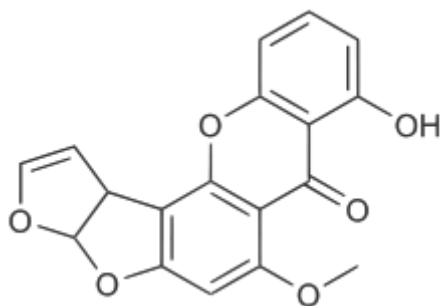
Sterigmatocystin stojí poněkud v pozadí za chemicky příbuznými aflatoxiny. Svoji strukturou a účinky se mykotoxin sterigmatocystin podobá aflatoxinům. Je prekurzorem aflatoxinu B-1, je hepatotoxický, karcinogenní, i když jeho toxicita je menší než u aflatoxinu. Zdá se, že část biochemických pochodů, vedoucích ke tvorbě mykotoxinů, mají sterigmatocystin a aflatoxiny společnou. Při uměle zavedených

metabolických blocích končí biosyntéza u versicolorinů. Sterigmatocystin září pod ultrafialovým zářením slabě cihlově, pod krátkovlnným intenzivně žlutě (Herzig, Suchý a Straková, 2008).

Podle klasifikace Mezinárodní organizace pro výzkum rakoviny (IARC) je sterigmatocystin zařazen do skupiny 2B, což znamená, že je možným karcinogenem pro lidi. Prakticky je riziko velmi nízké, neboť tato substance se nachází na kůře sýrů s plísní a proto pravděpodobnost denní expozice je velmi malá. Zaplísňená kůra sýrů by neměla být konzumována, ale po odstranění kůry, sýr může být konzumován. Dále se vyskytuje především v „plesnivých“ obilovinách, kávových zrnech a živočišných produktech (Hajšlová, 2009).

Sterigmatocystin je toxin typu dermatotoxin. Je hepatotoxický, jeho karcinogenita je pravděpodobná. Je spojován s karcinomem jícnu v Číně a karcinomem jater v Mosambiku. Sterigmatocystin vyvolává u opic a potkanů nephritis a hepatitis a je hepatokarcinogenní u potkanů. Sterigmatocystin je mykotoxin, inhibující syntézu DNA. Popsány byly jeho účinky antibiotické, hepatotoxické, mutagenní a karcinogenní (Betina, 1990).

Obrázek č. 12 Sterigmatocystin



5. Vliv mykotoxinů na zdraví a užitkovost zvířat

Mykotoxiny jsou pro živočišný organismus velmi účinnými jedy, takže už nepatrně mikrobiálně pozměněné krmivo může u zvířete vyvolat onemocnění (Kalač, 1988). Plísně mohou vyvolat onemocnění označované jako mykózy, vznikající parazitující činností plísní (prorůstání orgánů a tkání) a mykotoxikózy, při kterých je organismus poškozován sekundárními metabolity – mykotoxiny – toxikogenních plísní (Kursa a kol., 1998).

Nemoci zvířat způsobené mykotoxiny – mykotoxikózy – souvisejí s konzumací krmiva kontaminovaného mykotoxiny. Mykotoxikózy se mohou kromě snížené užitkovosti projevovat také sníženým příjmem krmiva, hrubým osrstěním, abnormálním opeřením, podvyživeným vzhledem, poruchami reprodukce a příznaky různých infekčních nemocí. Závažnost mykotoxikóz závisí na druhu mykotoxinu a jeho koncentraci, na druhu zvířat a biologických faktorech jako je věk, pohlaví, výživný stav a stadium reprodukce (Schneiderová, 2008).

U hospodářských zvířat probíhají mykotoxikózy ve třech formách:

1. Akutní primární mykotoxikózy vznikají, když zvíře přijme vysoké nebo střední dávky mykotoxinů. Jsou vyjádřeny vážnými příznaky ze

strany zažívacího ústrojí, exkrecečních orgánů a mohou končit úhynem (Radová-Sypecká, 2003).

2. Chronické primární mykotoxikózy jsou vyvolány příjmem středních a nízkých dávek toxinů. Probíhají bez zřetelně vyjádřených příznaků, které jsou charakteristické pro primární mykotoxikózy, ale mají velký hospodářský význam. Spočívá ve ztrátách způsobených poruchami reprodukce, poklesem užitkovosti (přírůstky, dojivost, snáška), zhoršenou jakostí masa, mléka, vlny, sníženou využitelností krmiv.
3. Sekundární mykotoxikózy spočívají v příjmu nízkých koncentrací mykotoxinů, které sice nevyvolávají zjevně klinicky patrné projevy onemocnění, ale zátěží mechanismů přirozené odolnosti zvyšují vnímavost vůči bakteriálním, virovým a parazitárním chorobám: stejně jako v předchozím případě snižují utilizaci živin (zvýšená spotřeba krmiv) a užitkovost (Kursa a kol., 1998).

Mykotoxiny mají prokazatelně zejména účinky genotoxické (poškozují genetický materiál), mutagenní (způsobují změnu v genetické informaci a je-li postižena zárodečná buňka, může být výsledkem poškození budoucího jedince; je-li zasažena somatická buňka, může dojít po její přeměně ke zhoubnému bujení), dále karcinogenní (rakovinotvorné), teratogenní (poškozující plod), estrogenové (hormonální), imunotoxické (poškozující imunitu), hemoragické (krvácivé), neurotoxické (toxické pro centrální nervovou soustavu), cytotoxické (poškozující buňky), nefrotoxické (poškozující ledviny), hepatotoxické (poškozující játra) atd. (Violette.cz, 2015).

5.1 PRASATA

Ekonomická životaschopnost moderního chovu prasat je ovlivněna mnoha faktory. Mezi takové faktory patří i ty, které nemohou být farmáři kontrolovány, zejména zemědělské produkty, pohybující se tržní cena masa a přísnější politické zemědělské regulační mechanismy. Nicméně existuje mnoho faktorů, které mohou být zlepšovány jako důsledek farmářské řídicí strategie. Jeden z nich je zdraví zvířat, které má přímou spojitost s krmivem. Krmivo by měla obsahovat všechny nezbytné složky, které zajistí všechny výživové požadavky, ale krmivo by neměla obsahovat škodlivé (nežádoucí) látky, jako jsou mykotoxiny.

Mykotoxiny nemají pouze negativní vliv na chov prasat a plodnost, ale ovlivňují rovněž imunitní systém zvířat. Imunitní systém prasat je hlavním obranným systémem, která má být schopna vypořádat se se škodlivými činiteli (agents), které zkouší porušit integritu organismu. Poté co je zvíře vystaveno nebezpečnému činiteli, tak jeho organismus udělá vše pro to, aby eliminoval cizí organismus a zvrátil jeho negativní vliv. Zvířata, která jsou krmena krmivem obsahujícími mykotoxiny, budou mít sníženou schopnost reagovat, protože tyto toxické substance poruší normální tělesný imunitní mechanismus. Mykotoxiny jako jsou aflatoxiny, ochratoxin A, fumonisiny a trichotheceny způsobují negativní efekt při různé úrovni imunitní reakce. Několik vědeckých studií již potvrdilo, že mykotoxiny negativně ovlivňují přirozenou a nespecifickou odolnost prasat tím, že snižují fagocytickou aktivitu jak makrofágů, tak neutrofilů a buňkami zprostředkovanou antigenní odpověď. Praktické vyústění zjištění těchto skutečností na farmách prasat je vyšší citlivost k infekčním

nemocem a selhání vakcinačních programů (allaboutfeed.net, 2003).

Vnímavé vůči mykotoxinům jsou všechny produkční kategorie prasat. Nejcitlivější jsou prasnice v reprodukci a selata. Příznaky jsou velmi různorodé:

- Prolaps rekta/ vagíny
 - Raná embryonální odúmrť a delší interval mezi odstavením a říjí
 - Vyšší výskyt mrtvě narozených selat a nižší počty narozených selat celkem
 - Nízká odezva na vakcíny a medikace
 - Nekrózy uší a kůže
 - Oslabená imunita
 - Snížená užitkovost a horší konverze krmiva u prasat ve výkrmu
 - Nižší hmotnost selat při odstavení
- (McCormack, 2016)

Vliv různých druhů mykotoxinů na prasata

Aflatoxikóza: U vykrmovaných prasat zvýšilo 385 ppb aflatoxinu hmotnost jater a snížilo přírůstek hmotnosti. Poškození jater se sledovalo při 480ppb dietetického aflatoxinu.

Zearalenon: Prasata jsou vůči ZEA nejcitlivější. U prepubertálních prasniček ovlivněných toxinem se zjišťuje otok vulvy a může dojít až k vyhřeznutí vagíny nebo rekta. Vnitřně dochází k rozšíření otoku a deformaci dělohy, vaječníky jsou zakrnělé. Velikost vrhu může být nižší. U mladých kanečků vystavených vlivu ZEA (0,1 ppm) dochází k hyperestrogenizmu a vznikají symptomy „feminizace“, jako jsou zvětšené struky, atrofie varlat a nateklá předkožka (Schneiderová, 2008).

Ochratoxiny: Prasata jsou na ně velmi citlivá. Působí toxicky zvláště na játra a ledviny. Při ochratoxikóze zvíře přijímá méně krmiva, snižují se přírůstky, zvyšuje se příjem vody, objevují se průjmy a s nimi je spojena dehydratace organismu. Obsah ochratoxinu A v krmivech pro prasata by neměl dosáhnout limitu 0,2 mg/kg, při němž tyto příznaky už byly pozorovány (Kalač, 1988).

Deoxynivalenol: U zvířat narušuje svojí toxicitou buněčné membrány, dráždí sliznice a oslabuje celkovou imunitu zvířete. Poškozuje pohlavní i trávicí trakt. Při poškození trávicího traktu reagují prasata sníženým příjmem krmiva až jeho odmítáním, zvracením nebo průjmem. DON způsobuje ranou embryonální mortalitu, kdy selata odumřou okolo 12. dne březosti, což vede ke zvýšenému výskytu acyklických prasnic. Dále způsobuje snížení četnosti vrhů a zvýšený výskyt přebíhání, nižší porodní hmotnost selat se sníženou vitalitou a zvyšuje podíl mrtvě narozených selat. U chovných prasnic způsobuje poškození jatek s nevratnými následky. Prasnice mají šedou, někdy nažloutlou až bělavou barvu. Prasničky reagují na DON tak, jako starší prasnice a lépe se vypořádají s toxicitou, jelikož jejich jaterní parenchym není ještě tak zatížen jako u starších prasnic (Štolc, 2009).

Fumonisin: Způsobuje plicní edém, imunosuprese, zvracení, letargie a ztrátu svaloviny (McCormack, 2016).

5.2 SKOT

I v chovu skotu jsou ekonomické následky výskytu plísní a vzniku mykotoxikóz velmi závažné. Vzhledem k tomu, že bachorová mikroflóra může mykotoxiny rozkládat a likvidovat, jsou přežvýkavci v porovnání s monogastrickými zvířaty vůči některým mykotoxinům odolnější. Rozsah bachorové degradace je různý, možná se snižuje při rychlejším průchodu bachorem nebo při redukované mikrobiální populaci v bachoru. Rozklad mykotoxinů v bachoru je závislejší na aktivitě protozoí než na aktivitě bakterií. Mykotoxiny nejsou v bachoru zcela rozloženy a některé výsledné produkty rozkladu zůstávají toxické (Schneiderová, 2008).

V souvislosti s mykotoxiny se soudilo, že přežvýkavci jsou jimi méně ohroženi, protože v bachoru dochází k jejich degradaci. Problém je ale v tom, že většina mykotoxinů není bachorovou mikroflórou kompletně degradována a že jejich metabolity bývají mnohem toxičtější než toxin. Například aflatoxin B₁ je v bachoru degradován na aflatoxicol, jenž je stejně toxický jako původní mykotoxin. Podobně metabolit zearalenol je asi čtyřikrát toxičtější než zearalenon (Ježková, 2015).

Aflatoxiny: pokles reprodukce mléka, kontaminace mléka AFM₁, potlačení imunity (Pospíchalová, 2013)

Aflatoxin B₁ se v organismu dojnice velmi rychle absorbuje a je v játrech transformován na aflatoxin M₁, který velmi rychle odchází mlékem a močí. Aflatoxin M₁ se objevuje v mléce asi 12 hodin po příjmu krmiva s mykotoxiny a maxima dosahuje za 24 hodin. Z mléka potom mizí až čtyři dny potom, kdy zvíře přestane přijímat zaplísňené krmivo s aflatoxinem B₁ (Ježková, 2015).

Zearalenon: špatná reprodukční užitkovost (Pospíchalová, 2013)

Zearalenon má vliv na receptory estrogenu a zvyšuje v organismu dojnice hladinu luteinizačního hormonu a progesteronu. Ovlivňuje reprodukční orgány krav, neboť má estrogenový efekt. Pokud dojnice přijímají v krmivu zearalenon, snižuje se jejich plodnost, klesá procento zabřezávání, na vaječnicích často vznikají cysty, zpožďuje se říje, časté jsou aborty a jalovice mohou mít zvětšenou mléčnou žlázu (Ježková, 2015).

T-2 toxin: neplodnost, potraty, gastroenteritida u skotu, snížení produkce mléka (Pospíchalová, 2013)

Tento toxin má negativní vliv na přežvykování, resp. rejekci krmiva, klesá mléčná užitkovost, stejně jako imunita. Může dojít dokonce k perforaci bachoru a nekróze tkáně bachoru a střeva, časté jsou také krvavé průjmy (Ježková, 2015).

Ochratoxin A: Způsobuje zdravotní problémy u krav, které přijímají vysoké množství jaderného krmiva, a je detoxikován protozoi (Ježková, 2015). Přežvýkavci jsou k těmto mykotoxinům rezistentní, jelikož v bachoru dochází k jejich detoxikaci (Nedělník, 2005).

Deoxynivalenol: DON, neboli vomitoxin bývá ve vysokých koncentracích v seně, silážích i obilí a jeho negativní vliv spočívá ve změnách fermentace bachoru a snížení stravitelnosti proteinu v tenkém střevě (Ježková, 2015). Přežvýkavci jsou

na tento mykotoxin méně vnímavý, působení DON se projevuje např. snížením mléčné produkce, sníženou konverzí krmiva a průjmy. Z prováděných experimentů vyplynulo, že DON přechází do mléka jen velmi omezeně (Nedělník, 2005).

5.3 DRŮBEŽ

Různí ptáci reagují na mykotoxiny různě, např. vůči aflatoxinům jsou velmi citlivé kachny, pak následují krůtí kuřata, housata, bažanti, křepelky, kuřata a nosnice. Různá plemena kuřat reagují na působení toxinů různě (rozdíl v citlivosti může být až trojnásobný). Nejodolnější vůči mykotoxinům jsou brojeři (Schneiderová, 2008).

Neexistuje bezpečná hladina ve výživě nosnic. Nosnice jsou velice citlivé i na nízké koncentrace, především toxinů produkovaných plísněmi rodu *Fusarium*. Pro zajištění vysoké efektivity a kvality produkce vajec je nezbytné zařazení účinných adsorbentů mykotoxinů do krmných směsí v období zvýšeného výskytu mykotoxinů v krmivu (Stryk, 2015).

Aflatoxiny: netečnost, anorexie, zpomalený růst, snížená produkce vajec, zvýšená mortalita, zvětšení jater, poruchy ledvin (Pospíchalová, 2013)

Deoxynivalenol: Je potřebné zdůraznit, že především nosnice jsou na příjem mykotoxinu DON významně citlivější než brojeři. Na přítomnost mykotoxinů fusariových plísní v krmné směsi reagují už i kuřice, a to snížením intenzity růstu, horší kondicí a nižší hmotností před zahájením snášky, což se pak negativně projeví u slepic na celkové produkci a velikosti vajec. Typickým projevem dlouhodobého působení mykotoxinu DON u dospělých slepic je špatná kondice, ztráta peří a vysoká nevyrovnanost hejna. Již koncentrace DON v krmivu na hladině 350 ppb a vyšší, přijímaná po dobu 10 týdnů, má za následek významné snížení hmotnosti vajec, ale především snížení kvality skořápky, což se projeví zvýšeným procentem vajec nezařazených do třídy A kvality a nakonec i zhoršením ekonomiky produkce vajec. V rozmnožovacích chovech je pak dalším negativním jevem velmi nízký přenos protilátek od rodičů na jednodenní kuřata (Stryk, 2015).

Zearalenon: Kombinace vyšších koncentrací mykotoxinu DON v kombinaci s mykotoxinem zearalenon vede u ptáků v rozmnožovacích chovech ke zvýšení počtu anomálií reprodukčních orgánů. U kohoutů je to nedostatečný vývin varlat a u slepic nacházíme cysty na vaječnicích, hemoragické vaječníky a větší výskyt dvoužloutkových vajec. To vše vede ke snížení počtu snesených i oplozených vajec (fertility).

T-2 toxin: poškození zobákové dutiny, poškození nervového systému, abnormální opeření, prudké snížení produkce vajec (Pospíchalová, 2013)

Ochratoxin A: průjmy, snížení hmotnosti, snížení produkce vajec

6. Preventivní opatření a dekontaminace mykotoxinů v krmivech

Prevence plísňové a mykotoxinové kontaminace je obtížná, neboť přítomnost plísní v zrninách a pícninách je ovlivňována řadou obtížně kontrolovatelných faktorů. Žádný monitorovací nebo preventivní program nemůže být úspěšný, pokud si neuvědomíme význam všech vstupů a výstupů spojených s tímto problémem. Začíná to výběrem genetického materiálu, který je použit pro setí a může končit výběrem systémů dekontaminujících nebo neutralizujících toxiny, jestliže selžou preventivní opatření (Suchý a Herzig, 2005).

Preventivní opatření:

- Střídání plodin (zařazování brambor, řepy, zeleniny, jetelovin do osevního postupu)
- Zpracování posklizňových zbytků /pšenice po kukuřici je riziková, při zaorání zbytků kukuřice má následná pšenice nižší obsah DON než při minimalizaci)
- Volba odrůdy
- Hustota výsevu
- Vyvážená výživa (nepřehnojovat dusíkem)
- Potlačování plevelů (řada z nich je hostiteli rodu *Fusarium*)
- Používání fungicidů ve správnou dobu (sledování povětrnostních podmínek)
- Zabránění polehání porostů (úprava výsevku, vhodné výsevky, aplikace regulátorů růstu) (Florián, 2013)
- Zavlažování
- Aplikace pesticidů
- Použití rezistentních nebo přizpůsobených hybridů (Schneiderová, 2008)
- Zpracování půdy
- Boj proti škůdcům a chorobám
- Dodržování všech agrotechnických zásad při pěstování kulturních plodin
- Využití atoxigenních kmenů, konkurenčně vyloučit z prostředí toxikogenní plísně (Suchý a Herzig, 2005)
- Sklizeň při vhodných povětrnostních podmínkách – vhodná vlhkost sklizně, polehlé, mokré či podezřelé partie izolovat
- U partií s vyšší vlhkostí zkrátit dobu mezi sklizní a sušením na minimum
- Správný postup výroby siláže a senáže (hutnění), použití vhodných schválených konzervantů (kyselina propionová a její soli)
- Odebírat krmné suroviny od prověřených dodavatelů (Florián, 2013)
- Udržovat vlhkost zrnin pod 12%
- Nepoužívat rozdrčená zrna
- U siláží udržovat nízké pH a zamezit pronikání vzduchu
- Zkrmovat siláž a zrniny v čerstvém stavu
- Silážní prostory a žlaby udržovat v čistotě (Schneiderová, 2008)
- Uskladnění v suchém prostředí do 65 % relativní vlhkosti

- Minimální přístup kyslíku
- Odstranit jakékoliv zbytky starých krmiv ze skladovacích prostor, které by byly zdrojem kontaminace
- Ošetření krmiv protiplísňovými přípravky
- Sklizeň píce v optimální silážní zralosti 28 až 35% sušiny (Suchý a Herzig, 2005)

Neexistují univerzální dekontaminační metody z důvodu obrovské škály mykotoxinů a s jejich různorodou chemickou strukturou, vysokou stabilitou vůči řadě fyzikálních, chemických a biologických faktorů. K dekontaminaci krmiv jsou proto využívány různé metody:

- Fyzikální (kombinace tepla a tlaku)
- Chemické metody
- Biologické metody
(Hajšlová, 2009)

TEPELNÁ ÚPRAVA

Mykotoxiny jsou obecně velmi stabilní. V průběhu normálního vaření, parní úpravy nebo pražení nedochází k významnému úbytku. Teplotní stabilita u různých mykotoxinů se ale liší. Uvádí se například, že teploty nutné pro zničení aflatoxinů jsou 207 – 306 °C. Vysoký úbytek AFB₁ je pozorován při tlakovém vaření. Ochratoxiny jsou rovněž poměrně labilní. V průběhu pražení kávy při 200°C po dobu 20 min došlo maximálně ke 12% snížení obsahu OTA. Vaření rýže v nadbytku vody vedlo k 83% úbytku OTA. Fumonisin jsou také poměrně stabilní molekuly. Běžné vaření potravin nebo pasteurace mléka nevede k jejich snížení. Například zahřátí šrotu na 190°C po dobu 60 min vede pouze ke 60-80% snížení FB₁. až 218 °C po dobu 15 min vedlo ke kompletní ztrátě fumonisinu. DON je seskviterpen, a z mykotoxinů zřejmě nejstabilnější. Tepelná úprava nemá významný vliv s výjimkou smažení při teplotách nad 169 – 243°C, kdy dojde až k 60% úbytku (Rada a Havlík, 2012).

CHEMICKÉ PROSTŘEDKY

Snaha o dekontaminaci napadených zrnin je letitá, zahrnuje extrakci s použitím organických rozpouštědel, uplatnění vodných roztoků chloridu vápenatého nebo bikarbonátu sodného, horké vody se solí apod. Tato relativně ekonomická opatření způsobují určité problémy ve výživě zvířat. Ošetření amoniakem a monomethylaminem a hydroxidem vápenatým může být efektivní za kontrolovaných podmínek. Mezi účinná a ekonomická opatření patří čpavkování, které rozkládá aflatoxiny (vznikají mutagenní produkty). Účinek ozonu byl prokázán na dekontaminaci aflatoxinu B₁, kdy u kukuřice po 92 hodinách expozice O₃ byl snížen jeho obsah o 95 % (Suchý a Herzig, 2005).

BIOLOGICKÉ METODY

Minimalizace vlivu mykotoxinů na zvířata modifikací kontaminovaného krmiva je alternativním způsobem dekontaminace kontaminovaného obilí. Zkoušeny byly postupy jako přidavek látek vážící mykotoxiny a zamezujících tak jejich

adsorpci ve tkáních (syntetický zeolit, bentonit apod.), přídavek chuťových látek za účelem zvýšení příjmu krmiva, nebo ředění kontaminovaného obilí nekontaminovaným. Zředování je pro svou jednoduchost používáno nejčastěji. Úspěch této metody je však závislý na stupni kontaminace, dosaženém zředění a dostupnosti vhodného zdroje nekontaminovaného obilí. Další biologickou metodou dekontaminace zemědělských produktů je biotransformace trichothecenů jejich vlastními producenty nebo půdními bakteriemi, které asimilují např. T-2 toxin jako jediný zdroj uhlíku a energie (Radová – Sypecká, 2003).

7. Možnosti eliminace mykotoxinů

Eliminace mykotoxinů, především v našich podmínkách nejrozšířenějších fusariotoxinů, je komplikována nízkou polaritou jejich molekul a tím i omezenou možností adsorpce, která je navíc málo stabilní. Na vyvazování mykotoxinů se donedávna používaly přípravky na bázi jílu, které selektivně adsorbují polární mykotoxiny (aflatoxiny, částečně ochratoxin). Adsorpční složkou jsou speciálně upravené aktivované hlinitokřemičitany s krystalickou strukturou. Velikost pórů v krystalické struktuře zajišťuje selektivitu účinku pouze na žádanou velikost molekul a rozmístění polárních skupin. Adsorpce je však možná pouze u molekul, které mají funkční polární skupiny. Adsorbované mykotoxiny nemohou být vstřebány přes střevní stěnu do krve, procházejí trávicím traktem zvířete a trusu ven z těla. V současnosti je do těchto přípravků inkorporována inaktivovaná biomasa *Sacharomyces cerevisiae* se zachovanou enzymatickou aktivitou esteráz a epoxidáz. Tyto enzymy degradují molekuly trichothecenů a zearalenonu na netoxické metabolity, které jsou opět vyloučeny přirozenou cestou zvířete. Tyto přípravky se míchají do krmiva jako prevence. Aplikace např. do silážované hmoty se zatím neprovádí (Nedělník, 2004).

Nejpopulárnějším a v praxi nejpoužívanějším přístupem detoxikace mykotoxinů je jejich přímá eliminace ze zažívacího traktu zvířat. Fakticky se jedná o kombinaci fyzikálních a chemických metod, která se na rozdíl od dříve zmíněných technik nezaměřuje na přímou dekontaminaci krmiva, nýbrž na odstranění uvolněných toxinů v organismu. Látky schopné vázat mykotoxiny (adsorbenty mykotoxinů) jsou zvířeti podávány jako krmná aditiva prostřednictvím krmné směsi. V tekutém prostředí trávicího traktu, kdy se škodlivé toxiny uvolní do roztoku tráveniny, je adsorbují na svůj povrch a brání tím průniku mykotoxinů střevní stěnou do krve a dále do organismu (Stryk, 2015).

Vhodný přípravek musí splňovat dvě základní kritéria: musí být schopen vázat toxické molekuly v prostředí žaludku a tenkého střeva a musí být nestravitelný. Nestravitelnost adsorbentu je klíčovým parametrem k úspěšné eliminaci toxických látek. Pokud by nosič podléhal enzymatickému rozkladu v prostředí trávicích šťáv, mohlo by docházet k postupnému uvolňování nežádoucích látek v průběhu trávicího traktu nebo k průniku imobilizovaných toxinů do organismu. Látky používané k adsorpci mykotoxinů bývají navzájem porovnávány na základě několika parametrů – účinnosti, selektivity a mechanismu adsorpce (Stryk, 2015).

JEDNO Z MNOHA MOŽNOSTÍ ŘEŠENÍ

Řešením, kterému předcházely několik desítek let trvajícím vědeckým výzkumem, je

nový produkt Mycofix 5.0, který byl uveden na trh koncem loňského roku. Prezentovaná pátá verze řady Mycofix je účinná proti širokému spektru známých mykotoxinů. Obsahuje tři doplňkové látky, které adsorbují škodlivé mykotoxiny, jako jsou aflatoxiny, ergotové alkaloidy a endotoxiny, nebo je dále biologicky transformuje na netoxické metabolity. Dále v přípravku obsažená směs přírodních látek podporuje funkci jater a imunitního systému a před negativním působením mykotoxinů také chrání střevní sliznici. Optimalizované složení produktu přináší praxi mnohem účinnější řešení, které se promítne do zlepšení zdraví a následně i parametrů užitkovosti. Na trhu jsou dvě produktové verze, a to Mycofix Plus 5. E, který je určený pro reprodukční kategorie, a Mycofix Select 5. E, který na rozdíl od první alternativy neobsahuje biotransformační složku na zearalenon a je určený pro zvířata ve výkrmu (Jedlička, 2016).

ŘEŠENÍ PRO RIZIKA MYKOTOXINŮ

Produktová řada představuje speciálně vyvinutá krmná aditiva, která chrání zdraví zvířat prostřednictvím deaktivace nebezpečných mykotoxinů, nacházejících se v kontaminovaných krmivech. Je vhodný pro použití v krmivech pro drůbež, prasata a přežvýkavce a rovněž pro ryby a krevety.

BIOTRANSFORMACE

Specifické enzymy, pocházející z patentovaných biologických složek, eliminují toxický účinek trichotecenů, zearalenonu, ochratoxinu A a fumonisinů, a to změnou jejich toxické molekulární struktury. Tato biotransformace vede ke vzniku netoxických, k prostředí bezpečných metabolitů.

ADSORPCE

Adsorbovatelné mykotoxiny – především aflatoxiny a námelové alkaloidy – jsou selektivně vázány a imobilizovány jedinečnou směsí minerálních komponentů v produktu v trávicím traktu zvířat. Tato adsorpce významně redukuje biologickou dostupnost toxinů.

Díky pečlivému výběru minerálních adsorbentů:

- zajišťují maximální vyvázání mykotoxinů již při nízkých dávkách
- neodstraňují nezbytné živiny, vitamíny nebo minerální látky z krmné dávky ani při maximálním doporučeném dávkování

BIOOCHRANA

Produkt obsahuje směs vědecky prozkoumaných a pečlivě vybraných výtažků z rostlin a řas, které podporují imunitní systém zvířat, snižují riziko vzniku zánětů a chrání před poškozením jater, čímž eliminují imunosupresivní účinek mykotoxinů.

SCHVÁLENÍ V RÁMCI EVROPSKÉ UNIE

Registrace produktů deaktivujících mykotoxiny v EU není pouze právním základem pro oficiální tvrzení o mykotoxinech. Je také podrobným hodnocením s

vysokými standardy na účinnost a bezpečnost produktů. Vzhledem ke svému dlouhodobému zaměření na výzkum mykotoxinů BIOMIN mohl získat toto významné schválení EU pro Biomin® BBSH 797 a specifický bentonit Mycofix® Secure – součástí produktů řady Mycofix®. Tyto dvě složky jsou v současnosti jedinými produkty, které prošly kompletním schvalovacím procesem a získaly konečné schválení (<http://www.biomin.net/cz/produkty/mycofix/>).

8. Legislativa týkající se mykotoxinů

Mykotoxiny jsou známy již po dlouhou dobu a až do šedesátých let minulého století nebyla jejich existence v potravinách a krmivech nikterak regulována a jejich potenciálním negativním účinkům na zdravotní stav nebyla věnována zvýšená pozornost. Teprve od roku 1960, kdy byly objeveny aflatoxiny, bylo uznáno, že mykotoxiny vzhledem ke svým negativním účinkům představují významné zdravotní riziko pro lidi i hospodářská zvířata. Z těchto důvodů začaly být postupně navrhovány předpisy týkající se sledování výskytu mykotoxinů v potravinách a krmivech. První regulační opatření se týkala pouze aflatoxinů, které jsou považovány za nejtoxičtější mykotoxiny vůbec. Později se počet zemí, jež měly ve svých národních předpisech a nařízeních zakotvené regulační opatření pro mykotoxiny, zvyšoval. V roce 1981 jich bylo 33, v roce 1995 tento počet vystoupal na 77 a v roce 2003 čítal již 100 států (Hajšlová, 2010).

Současná nařízení jsou založena na vědecky podložených stanoviscích a závěrech společného výboru expertů FAO/WHO pro potravinářská aditiva a Evropským úřadem pro bezpečnost potravin. Nejvyšší přípustná množství (NPM) těchto sekundárních metabolitů a dalších kontaminantů potravin a krmiv, jsou stanovena pro danou komoditu v uvedených nařízeních.

Nařízení komise (EU) č. 574/2011 ze dne 16. června, kterým se mění příloha i směrnice Evropského parlamentu a Rady 2002/33/ES o nežádoucích látkách v krmivech. Nařízení stanovuje legislativně závazné limity pro Aflatoxin B1 a námel v krmivech.

DOPORUČENÍ KOMISE č. 2005/187/EC ze dne 2. března 2005 o koordinovaném programu kontrol v oblasti výživy zvířat pro rok 2005 dle směrnice RADY 95/53/ES. Doporučení členským státům provádět koordinovaný program kontrol koncentrace mykotoxinů (aflatoxin B1, ochratoxinu A, zearalenonu, deoxynivalenolu a fumonisinů) v krmivech v roce 2005.

DOPORUČENÍ KOMISE č. 2005/925/EC ze dne 14. prosince 2005 o koordinovaném programu kontrol v oblasti výživy zvířat pro rok 2006 dle směrnice RADY 95/53/ES. Doporučení členským státům provádět koordinovaný program kontrol koncentrace mykotoxinů (aflatoxin B1, ochratoxinu A, zearalenonu, deoxynivalenolu a fumonisinů) v krmivech v roce 2006.

DOPORUČENÍ KOMISE č. 2006/576/EC ze dne 17. srpna 2006 o přítomnosti deoxynivalenolu, zearalenonu, ochratoxinu A, T-2 a HT-2 a fumonisinů v produktech určených ke krmení zvířat. Výzva členským státům, aby prováděly intenzivní

monitoring přítomnosti dotčených mykotoxinů, a to ve spolupráci s provozovateli krmivářských podniků.

DOPORUČENÍ KOMISE č. 2006/583/ES ze dne 17. srpna 2006 k prevenci a snižování fusariových toxinů v obilovinách a výrobcích z obilovin. Hlavními zdroji příjmu fusariových toxinů v potravě jsou výrobky z obilovin, zejména pšenice a kukuřice. Rizikové skupiny (např. kojenci a malé děti) se blíží hodnotám přijatelného denního příjmu (Florián, 2012).

9. Limity

Tabulka č. 4 Limity pro aflatoxin B₁ v krmivech (Florián, 2012)

Aflatoxin B ₁	Mg/kg
Krmné suroviny	0,020
Doplňková a kompletní krmiva ostatní	0,010
Doplňková a kompletní krmiva pro dojnice a telata, pro ovce pro produkci mléka a jehňata, pro kozy pro produkci mléka a kůzlata, pro selata a mláďata drůbeže	0,005
Doplňková a kompletní krmiva pro skot (s výjimkou dojnic a telat), ovce (s výjimkou ovcí pro produkci mléka a jehňat), kozy (s výjimkou koz pro produkci mléka a kůzlat, prasata (s výjimkou selat) a drůbež (s výjimkou mláďata drůbeže)	0,020

Tabulka č. 5 Maximální tolerovatelné hladiny trichothecenových mykotoxinů (Radová – Sypecká, 2003)

Země	Komodita	Mykotoxin	Hladina (µg/kg)
Rakousko	Pšenice, žito tvrdá pšenice	DON	500
		DON	750
Kanada	Nečištěná měkká pšenice krmivo pro chovná zvířata, krmivo pro dobytek/drůbež	DON	2000
		Všechny mykotoxiny	0
		DON	5000
		HT-2 toxin	100
Rumunsko	Krmiva	DON	5
Izrael	Krmné obilí	T-2 toxin	100
		DAS	1000
Kypr	Mléko, mléčné výrobky	Všechny mykotoxiny	0,5
Maďarsko	Mouka	T-2 tox., HT-2 tox., DAS, NIV	300
		DON	1000
	otruby určené ke konzumaci obiloviny	DON	1200
		DON	2000

	konzervované potraviny	Všechny mykotoxiny	0
Nizozemí	Obiloviny, luštěniny	Všechny mykotoxiny	0
Rusko	Obiloviny	DON T-2 toxin	1000 100
Turecko	Zmrzlina	Všechny mykotoxiny	0
USA	Finální pšeničné produkty	DON	1000
Trinidad a Tobago	zmrzlina	Všechny mykotoxiny	0

Tabulka č. 6 Směrné hodnoty mykotoxinu deoxynivalenolu (Florián, 2012)

Deoxynivalenol	mg/kg
Obiloviny a produkty obilovin s výjimkou vedlejších produktů kukuřice	8,00
Vedlejší produkty kukuřice	12,00
Doplňková a kompletní krmiva pro prasata	0,90
Doplňková a kompletní krmiva pro telata (4 měsíce) jehňata a kůzlata	2,00
Doplňková a kompletní krmiva	5,00

Tabulka č. 7 Maximální limity deoxynivalenolu (Hajšlová, 2009)

Potravina	µg/kg
Nezpracované obiloviny, jiné než pšenice tvrdá, oves a kukuřice	1250
Nezpracovaná pšenice tvrdá a oves	1750
Obiloviny určené k přímé lidské spotřebě, obilná mouka (včetně kukuřičné mouky, kukuřičné krupičky a kukuřičné krupice, otruby ve formě konečného výrobku uváděného na trh pro přímou lidskou spotřebu a klíčky)	750
Těstoviny (v suchém stavu)	750
Pečivo (včetně malého běžného pečiva), jemné a trvanlivé pečivo, sušenky, svačinky z obilovin a sníadaňové cereálie	750
Nezpracovaná kukuřice	1750
Obilné příkrmy a ostatní příkrmy určené pro kojence a malé děti	200

Tabulka č. 8 Směrné hodnoty mykotoxinu ochratoxinu A (Florián, 2012)

Ochratoxin A	mg/kg
Obiloviny a produkty obilovin	0,25
Doplňkové a kompletní krmiva pro prasata	0,05
Doplňková a kompletní krmiva pro drůbež	0,10

Tabulka č. 9 Směrné hodnoty mykotoxinu zearalenonu (Florián, 2012)

Zearalenon	mg/kg
Obiloviny a produkty obilovin s výjimkou vedlejších produktů kukuřice	2,00
Vedlejší produkty kukuřice	3,00
Doplňková a kompletní krmiva pro selata a prasničky (mladé prasnice)	0,10
Doplňková a kompletní krmiva pro prasnice a výkrm prasat	0,25
Doplňková a kompletní krmiva pro telata, dojnice, ovce (včetně jehňat) a kozy (včetně kůzlat)	0,50

Tabulka č. 10 Maximální limity mykotoxinu zearalenonu (Hajšlová, 2009)

Potravina	µg/kg
Nezpracované obiloviny jiné než kukuřice	100
Nezpracovaná kukuřice	200
Obiloviny určené k přímé lidské spotřebě, obilná mouka (včetně kukuřičné mouky, kukuřičné krupičky a kukuřičné krupice, otruby ve formě konečného výrobku uváděného na trh pro přímou lidskou spotřebu a klíčky	75
Pečivo (včetně malého běžného pečiva), jemné a trvanlivé pečivo, sušenky, svačinky z obilovin a snídaňové cereálie kromě svačinek z kukuřice a kukuřičných snídaňových cereálií	50
Svačinky z kukuřice a kukuřičné snídaňové cereálie	50
Obilné příkrmy (kromě kukuřičných příkrmů) a ostatní příkrmy určené pro kojence a malé děti	20
Kukuřičné příkrmy pro kojence a malé děti	20
Kukuřice určená k přímé lidské spotřebě, kukuřičná mouka, kukuřičná krupička, kukuřičná krupice, kukuřičné klíčky a rafinovaný kukuřičný tuk	200

Tabulka č. 11 Směrné hodnoty fumonisinů (Florián, 2012)

Fumonisin B ₁ + B ₂	mg/kg
Kukuřice a produkty kukuřice	60,00
Doplňková a kompletní krmiva pro prasata, koně, králíky a zvířata v zájmovém chovu	5,00
Doplňková a kompletní krmiva pro ryby	10,00
Doplňková a kompletní krmiva pro drůbež, telata (mladší 4 měsíce)	20,00
Doplňková a kompletní krmiva pro přežvýkavce (starší 4 měsíce) a norky	50,00

Tabulka č. 12 Maximální limity fumonisinu B₁ a B₂ (Hajšlová, 2009)

Potravina	µg/kg
Fumonisin	Suma B ₁ + B ₂
Nezpracovaná kukuřice	4000
Kukuřice určená pro přímou spotřebu	1000
Snídaňové cereálie a svačinky na bázi kukuřice	800
Kukuřičné příkrmy a ostatní příkrmy určené pro kojence a malé děti	200

10. Závěr

Odborníci v oblasti krmiv a bezpečnosti potravin se shodují na tom, že přítomnosti mykotoxinů v krmivech a krmných složkách a riziku kontaminace potravin živočišného původu těmito látkami se bude věnovat stále větší pozornost. V současné době je to velmi rozšířené téma, protože se tyto sekundární metabolity vyskytují téměř všude a je velmi obtížné je likvidovat.

Podstatou redukce výskytu mykotoxinů je omezení růstu mykroflóry již v plodinách na poli a dále ve skladovaných obilovinách a objemných krmivech. Z tohoto důvodu musí být kladen důraz na preventivní opatření a po samotné kontaminaci krmiv mykotoxiny se zaměřit na dekontaminační opatření a vhodné možnosti eliminace.

Pro řešení problematiky mykotoxinů je potřeba získat více informací o příčině jejich výskytu, o situacích kdy se jejich výskyt dá očekávat, o možnostech prevence a likvidace. Je potřeba získat více podkladů o toxicitě u zvířat a samozřejmě také u lidí a o vzájemných vztazích mezi mykotoxiny, mezi mykotoxiny a živinami, mykotoxiny a stresovými faktory jako jsou nemoci a prostředí a také o úloze mykotoxinů v potlačení imunity. Z tohoto důvodu se v současné době stále více organizací zabývá výzkumy zaměřené na mykotoxiny.

Některé mykotoxiny mohou u zvířat a lidí vyvolat rakovinné bujení, proto je velmi důležité, aby se o tomto problému vědělo co nejvíce. A to ne jen v oblasti

zemědělské, potravinářské, ale také v lékařství. I samotná veřejnost by se měla informovat, ve kterých surovinách je možnost výskytu mykotoxinů, aby mohla podniknout určitá opatření v likvidaci. Zdravotní nezávadnost potravin zajišťují dozorové orgány státní správy (Orgán ochrany veřejného zdraví, Státní veterinární správa, Česká zemědělská a potravinářská inspekce provádějí odběry vzorku potravin.

11. Přehled literatury

1. Betina V. (1990): Mykotoxiny, Bratislava Alfa, 288 s.
2. Berthiller F., Schuhmacher R., Adam G., Krska R. (2009): Formation, determination and significance of masked and other conjugated mycotoxins, *Analytical and Bioanalytical chemistry* 395, 1243-1252
3. Edwards S. (2002): Investigation of fusarium mycotoxins in UK wheat production, Poland Workshop, 30 s.
4. Florián M. (2012): Systém kontroly a monitoringu mykotoxinů v krmivářské praxi, UKZÚZ Brno, 29 s.
5. Hajšlová J., Zachariášová M., Malachová A., Kostelanská M., Kocourek V., Poustka J. (2008): Mykotoxiny a jejich konjugáty v potravinářských surovinách a krmivech: trendy, rizika dietární expozice, možnosti prognózy osudu při zpracování, VÚRV Praha, 69 s.
6. Hajšlová J., Zachariášová M., Malachová A., Kostelanská M., Kocourek V. (2009): Mykotoxiny, VÚRV Praha, 82 s.
7. Hajšlová J., Malachová A., Zachariášová M., Kostelanská M., Kocourek V. (2010): Kontaminace vybraných surovin mykotoxiny, VÚRV Praha, 55 s.
8. Herzig I., Suchý P., Straková E. (2008): Vliv mykotoxinů sterigmatocystinu, moniliforminu, diacetoxyscirpenolu, phosmopsinu A a toxinů mikromycet rodu *Alternaria* na zdraví zvířat a bezpečnost potravin, VÚŽV Praha, 38 s.
9. Jedlička M. (2016): Pokrok v boji s mykotoxiny, *Zemědělec*, 26: 51
10. Ježková A. (2015): O zdraví a užitkovosti dojnic, *Náš chov*, 12: 30-31
11. Kalač P., Míka V. (1988): Přirozené škodlivé látky v rostlinných krmivech a jejich vliv na zdraví a užitkovost hospodářských zvířat, České Budějovice, 212 s.
12. Koeleman E. (2015): Polská kukuřice plná mykotoxinů a nebezpečná, *Krmivářství*, 2: 21
13. Kurša J., Jílek F., Vítkovec J., Rajmon R. (1998): Zoohygiena a prevence chorob hospodářských zvířat, České Budějovice, 200 s.
14. McCormack C. (2016): Mykotoxiny a užitkovost prasat, *Náš chov*, 4: 80-81
15. Modrá H., Svobodová Z., Široká Z., Blahová J. (2014): Toxikologie potravin – vybrané kapitoly, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 87 s.
16. Nedělník J. (2004): Aktuální stav mykotoxinové kontaminace potravin a produktů rostlinného původu v Evropě v letech 2003-2004 a komparace hygienických limitů, VÚRV Praha, 30 s.
17. Nedělník J., Moravcová H., Honzlová A. (2010): Mykotoxiny v krmivech, VÚP Troubsko, 9 s.
18. Nedělník J., Sýkorová, S. (2004): Mykotoxiny – stav výskytu v zemědělských surovinách a krmivech v ČR a v Evropě, VÚRV Praha, 35 s.
19. Nedělník J., Moravcová H. (2005): Problematika výskytu mykotoxinů v krmivech pro dojnice, *Veterinářství*, 55: 214-219
20. Ostrý V. (2000): Mikroskopické vláknité houby, účinky mykotoxinů na lidské zdraví, *Vesmír*, 4: 187
21. Pascale M., Bottalico A., Pancaldi D., Perrone G., Visconti A. (2002):

- Occurrence of deoxynivalenol in cereals from experimental fields in different Italian regions, *Petria*, 123-129
22. Perkowski J. (2002): Natural contamination of oat with deoxynivalenol and nivalenol in Poland, *Poland Workshop*, 83 s.
 23. Pettersson H., Aberg L. (2002): Rapid estimation of deoxynivalenol and Fusarium by near infrared spectroscopy, *Poland Workshop*, 34 s.
 24. Polster M. (1971): Toxinogenní plísňe a mykotoxiny v potravinách, Ústav pro další vzdělávání středních zdravotnických pracovníků, Brno, 84 s.
 25. Polster M. (1975): Mykotoxiny (přednáška pro brněnskou pobočku ČSVSM), Brno
 26. Pospíchalová M. (2013): Výsledky monitoringu mykotoxinů v krmivech, UKZÚZ Brno, 14 s.
 27. Rada V., Havlík J. (2012): Transformace mykotoxinů střevními mikroorganismy, VÚŽV Praha, 68 s.
 28. Radová Z. (2002): Disertační práce – Sledování incidence trichothecenových mykotoxinů v zemědělských plodinách a potravinářských produktech, VŠCHT Praha
 29. Radová – Sypecká Z., Hajšlová J. (2003): Incidence mykotoxinů v cereáliích produkovaných v ČR, vazba na agrotechnická opatření, VÚRV Praha, 51 s.
 30. Radová – Sypecká Z., Hajšlová J. (2003): Mykotoxiny v zemědělské produkci ve vazbě na agrární systém, VÚRV Praha, 51 s.
 31. Schneiderová P. (2008): Bezpečnost krmiv a zdraví zvířat – mykotoxiny, ÚZPI Praha, 45 s.
 32. Sokolovic M., Garaj-Vrhovac V., Simpraga B. (2008): T-2 toxin: Incidence and toxicity in poultry, *Arhiv za Higijenu*, 43 - 52
 33. Stryk J. (2015): Mykotoxiny plísní rodu *Fusarium* – rizika spojená s jejich zvýšenou koncentrací v krmivech, *Krmivářství*, 3: 23-25
 34. Suchý P., Herzig I. (2005): Plísňe a mykotoxiny, *Prevence jejich vzniku a dekontaminace v krmivech*, VÚŽV Praha, 25 s.
 35. Svoboda J. (2014): Nejvíce mykotoxinů je v „základních“ krmivech, *Krmivářství*, 3: 17
 36. Šimůnek J. (2003): Mykotoxiny, Brno
 37. Ueno Y. (1985): The toxicology of mycotoxins, *CRC Crit. Rev. Toxicol.*, 14: 99 - 132
 38. Velíšek J. (2002): *Chemie potravin 3*, Tábor, 368 s.
 39. Waalwijk C. (2002): *Fusarium species on Wheat in the Netherlands: Inventory and molecular identification*, *Poland Workshop*, 43 s.
 40. Wiedenborner M. (2001): *Encyclopedia of Food Mycotoxins*, Springer - Verlag
 41. Zapletal O., Ruprich J., Dvořáková D., Nepejchalová L., Vránová E. (2001): *Speciální veterinární toxikologie*, Brno, 148 s.
 42. Zeman L., Veselý P., Ryant P., Skládanka J., Zelenka J., Doležal P., Straková E., Suchý P., Mrkvicová E., Procházková J., Kopřiva A. (2006): *Výživa a krmění hospodářských zvířat*, Praha, 357 s.

Internetové zdroje:

1. <http://www.biomin.net/cz/produkty/mycofix/>

2. [http:// www. allaboutfeed.net](http://www.allaboutfeed.net), Feed tech Magazine, Mykotoxiny a jejich vliv na imunitu prasat, 2003
3. Krmeník, P., [http:// www.biotox. cz](http://www.biotox.cz), 2007
4. Stryk, J., Mykotoxiny a jejich dopady na ekonomiku a produkci vajec, http://www.delacon.eu/data/media/cz/062015_Mykotoxiny_ekonomika_vajec.pdf, 2015
5. [http:// www.violette.cz/mykotoxiny](http://www.violette.cz/mykotoxiny) , 2015
6. Štolc R. (2009): Mykotoxiny: stále podceňované téma, Zemědělec, [www.zemedelec.cz/mykotoxiny-stále-podcenovane-tema/](http://www.zemedelec.cz/mykotoxiny-stale-podcenovane-tema/)