

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH  
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

Studijní program: B4103 Zootechnika

Studijní obor: Zootechnika

Katedra: Katedra zootechnických věd

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

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Rizika plísní a mykotoxinů v chovu zvířat

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

Autor bakalářské práce: Lenka Boháčková

České Budějovice, 2016

Fakulta zemědělská  
Akademický rok: 2014/2015

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Lenka BOHÁČKOVÁ**  
Osobní číslo: **Z13702**  
Studijní program: **B4103 Zootechnika**  
Studijní obor: **Zootechnika**  
Název tématu: **Rizika plísní a mykotoxinů v chovu zvířat**  
Zadávací katedra: **Katedra zootechnických věd**

### 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 travin a zdraví lidí představují plísně a mykotoxiny.

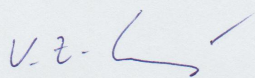
Cílem bakalářské práce je formou literární studie zpracovat vliv mykotoxinů na zdravotní stav zvířat. Studii zaměřte především na rozdělení mykotoxinů, výskyt mykotoxinů, problematiku obsahu mykotoxinů v různých materiálech, na rozsah negativního vlivu mykotoxinů a možnosti redukce kontaminace krmiv mykotoxiny. Pozornost věnujte také preventivnímu opatření výskytu mykotoxinů v oblasti výroby krmiv a jejich zdravotní a hygienické nezávadnosti. Na základě literární studie navrhnete preventivní opatření a možnosti eliminace mykotoxinů v praktických podmínkách výživy.

Rozsah grafických prací: 5 tabulek, 5 grafů  
Rozsah pracovní zprávy: 30 - 40 stran  
Forma zpracování bakalářské práce: tištěná/elektronická  
Seznam odborné literatury:

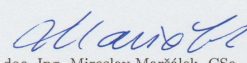
Jard, G., Mathieu, F., Lebrihi, A.: Review of mycotoxin reduction in food and feed: from prevention in the field to detoxication by adsorption or transformation. *Feed Additives and Contaminants*, 28, 2011, č. 11, s. 1590-1609  
Kan, C. A., Meijer, G. A. L. The risk of contamination of food with toxic substance regent in animal feed. *Anim. Fd.Sci. and Technol.*, 133, 2007, č. 1-2, s. 84-108.  
Nedělník, J. Moravcová, H. Problematika výskytu mykotoxinů v krmivech pro dojnice. *Veterinářství* 2005; 55:214-219  
Schneiderová, P. Bezpečnost krmiv a zdraví zvířat - mykotoxiny. ÚZPI Praha, 2008  
Suchý, P., Herzig, I. Plísňe a mykotoxiny. Prevence jejich vzniku a dekontaminace v krmivech. Vědecký výbor výživy zvířat.  
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

Vedoucí bakalářské práce: doc. Ing. František Lád, CSc.  
Katedra zootechnických věd

Datum zadání bakalářské práce: 17. března 2015  
Termín odevzdání bakalářské práce: 15. dubna 2016

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

JIHOČESKÁ UNIVERZITA  
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH  
ZEMĚĚLSKÁ FAKULTA  
studijní oddělení  
Studentská 13  
370 05 České Budějovice

  
doc. Ing. Miroslav Maršálek, CSc.  
vedoucí katedry

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem svoji bakalářskou práci na téma „Rizika plísní a mykotoxinů v chovu zvířat“ vypracovala samostatně pouze s použitými prameny a literárními zdroji, které uvádím v seznamu použité literatury.

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 elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích 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 výsledku 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.

V Českých Budějovicích dne .....

.....

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala především vedoucímu své bakalářské práce, panu Doc. Ing. Františku Ládovi, CSc. za poskytnutý čas, cenné rady a trpělivost při zpracování této práce. Také bych chtěla poděkovat svým blízkým, hlavně rodině, která mě psychicky a finančně podporovala po celou dobu mého studia.

## **Abstrakt**

Cílem této práce je podat informace o tom, co jsou toxinogenní plísně a mykotoxiny. U mykotoxinů byly zdůrazněny nejvýznamnější druhy mykotoxinů, jejich charakteristika, biologické účinky, metody stanovení. Aflatoxiny jsou v přírodě běžně se vyskytující mykotoxiny, které jsou produkovány toxigenními vláknitými houbami rodu *Aspergillus*. Jedná se o látky s velmi vysokou toxicitou. V závěru jsou popsány metody detekce, prevence a dekontaminace mykotoxinů. Dekontaminace se provádí fyzikálními, chemickými nebo biologickými metodami.

Klíčová slova: plísně, mykotoxiny, aflatoxin, fumonisiny, ochratoxin A, patulin, zearalenon, mykotoxikózy

## **Summary**

The aim of this work is to provide information about what toxigenic fungi and mycotoxins are. The mycotoxins were highlighted the most important types of them, the characteristics, biological effects, methods of determining. Aflatoxins are naturally commonly occurring mycotoxins, which are produced by toxigenic filamentous fungi of the genus *Aspergillus*. These are substances with a very high toxicity. In conclusion, there are described the methods of detection, prevention and decontamination of mycotoxins. The decontamination is carried out by physical, chemical or biological methods.

Keywords: moulds, mycotoxins, aflatoxin, fumonisin, ochratoxin A, patulin, zearalenon, mycotoxicosis

# Obsah

1. Úvod a cíl práce.....	9
2. Plísně.....	10
2.1 Metabolické produkty plísní.....	14
3. Mykotoxiny.....	14
3.1 Rozdělení mykotoxinů.....	16
3.2 Nejvýznamnější mykotoxiny.....	19
3.2.1 Aflatoxiny.....	19
3.2.2 Fumonisin.....	19
3.2.3 Ochratoxiny.....	20
3.2.4 Patulin.....	21
3.2.5 Rubratoxiny.....	22
3.2.6 Zearalenon.....	22
3.3 Výskyt mykotoxinů.....	23
3.4 Intoxikace mykotoxiny.....	25
3.4.1 Toxicita mykotoxinů.....	25
3.5 Biologické účinky mykotoxinů.....	27
3.6 Diagnostika mykotoxinů.....	30
4. Aflatoxiny.....	31
4.1 Aflatoxin B1.....	32
4.2 Výskyt aflatoxinů.....	33
4.3 Historie výzkumu aflatoxinů B1.....	34
4.4 Účinky aflatoxinů.....	35
4.5 Biosyntéza, absorpce, rozklad aflatoxinů.....	36
4.5.1 Biosyntéza.....	36
4.5.2 Absorpce.....	36
4.5.3 Rozklad.....	37
4.6 Význam aflatoxinů.....	37
4.7 Zdravotní význam aflatoxinů.....	39
4.7.1 Aflatoxikóza.....	39
4.7.2 Toxická hepatitida (Hepatitis toxica).....	40
4.7.3 Primární hepatom.....	40
4.7.4 Kwashiorkor.....	40
4.7.5 Reyův syndrom.....	41
5. Dekontaminace mykotoxinů.....	41
5.1 Fyzikální způsoby.....	41
5.2 Chemické způsoby.....	42
5.3 Biologické způsoby.....	43
5.4 Používané eliminační látky.....	44
6. Závěr.....	46
7. Seznam použité literatury.....	47
8. Seznam použitých zkratk.....	58
9. Seznam použitých obrázků.....	60
10. Seznam použitých tabulek.....	61



## 1. Úvod a cíl práce

Mykotoxiny řadíme mezi jedny z nejzávažnějších kontaminantů krmiv a potravin. Slovo mykotoxin pochází z řeckého „Myco – Myces“ (houba) a „Toxicum“ (jed). Jedná se o sekundární metabolity vláknitých toxinogenních plísní. Za nejvýznamější producenty lze považovat bezesporu rody *Aspergillus*, *Fusarium* a *Penicillium*. Vznik mykotoxinů závisí na mnoha faktorech, nejdůležitějšími je typ substrátu, vlhkost, teplota. Mykotoxiny v první řadě detekujeme v zemědělských plodinách, největší výskyt je u obilnin (pšenice, oves, žito, ječmen), u olejnin (sójové boby, slunečnice, mák, řepka), ale také v ovoci nebo mléce. Přenos mykotoxinů do masa, mléka i vajec, představuje závažný problém pro lidskou populaci.

V současné době nejsou ještě všechny pořádně prozkoumány. Stále jsou objevovány nové vazby mezi plísněmi a jejich metabolity a dále jsou popisovány další mykotoxiny. Jsou předepsány stanovené hraniční limity, kterými jsou dány obsahy mykotoxinů jak pro krmiva zvířat, tak i pro potraviny. Nejdůležitější jsou diagnostické metody, a sledování dekontaminace plísní, kvůli kterým můžeme zabránit nebo snížit výskyt mykotoxinů.

Cílem předložené práce bylo literární rešerší shrnout základní informace o plísních a jejich mykotoxinech, o jejich výskytu, biologických účincích a diagnostice. Pozornost byla věnována rovněž rozdělení mykotoxinů a jejich detekci, dále pak i shrnutí literárních pramenů z dřívější a současné doby.

## 2. Plísně

Plísně, jakožto mikroskopické vláknité houby (mikromycety), jsou eukaryontní, vícebuněčné, heterotrofní, saprofytické nebo parazitické mikroorganismy. Některé druhy jsou rozšířeny prakticky po celém světě. Skupinu mikroskopických hub tvoří kvasinky s kvasinkovitými mikroorganismy. Jedná se o heterogenní skupinu, nejen z hlediska fylogenetického i taxonomického, ale i podle morfologie a ekologických požadavků (Ostrý, 2000).

Plísně jsou pravidelnou součástí půdní biocenózy a plní nezbytné úkoly v recyklaci živin z rozkládajícího se biologického materiálu. Nevhodné podmínky ošetřování s nepříznivým počasím poskytnou životaschopným sporám plísní klíčení, růst a pomnožení v krmivech přímo na poli. Plísně se rozmnožují sporami, které se v prostředí šíří vzduchem, větrem i hmyzem (Suchý a Herzig, 2005).

Rod *Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium* a *Fusarium* jsou nejrozšířenějšími rody těchto vláknitých hub. Jejich spory se běžně vyskytují v půdě, infikují zrno a prostřednictvím mízního systému pak i celou rostlinu, čímž dochází ke znehodnocování pěstovaných rostlin a ke snižování objemu zemědělské výroby. Tyto mikroskopické vláknité houby se vyskytují prakticky ve všech klimatických pásech, kde podmínky dovolí pěstování kulturních plodin (Hajšlová *et al.*, 2010).

Plísně rostou za určitých podmínek na rostlinných i živočišných surovinách a kontaminují pěstované plodiny. Kontaminují je i při skladování za nevhodných podmínek. Plísně se snadněji uchytí na plodinách, které jsou napadeny škůdci, kteří poškodí celistvost plodiny. Poté mohou plísně začít produkovat mykotoxiny za vhodných podmínek (Modrá *et al.*, 2014). Plísně kontaminují obiloviny a krmné plodiny v průběhu celého výrobního procesu, to znamená při pěstování, sklizni, transportu, zpracování, dále pak při skladování a konzervaci. Dají se rozlišit tři skupiny plísní (Suchý a Herzig, 2005):

1. polní plísně (rod *Fusarium*, *Alternaria*, *Cladosporidium*, *Diplodai* a jiné), které jsou přítomné v zrně před sklizní obilovin
2. skladištní plísně (rod *Aspergillus*, *Penicillium*), které mohou produkovat mykotoxiny při skladování
3. polní i skladištní plísně (rod *Penicillium*)

Polní plísňe jsou hydrofilní, vyhovuje jim vyšší relativní vlhkost. Většinou nepoškozují přímo zrno, nezpůsobují biochemické změny a nezpůsobují samozahřívání. Stupeň napadení polními plísněmi a následná kontaminace mykotoxiny závisí v první řadě na klimatických podmínkách v době dozrávání a sklizně.

Skladištní plísňe jsou proti polním plísním méně náročné na vlhlost prostředí. Jejich výskyt není tolik závislý na počasí v konkrétním roce, ale je ovlivněn především způsobem skladování. Skladištní plísňe většinou poškozují zrno. Tyto plísňe mohou způsobit značné ztráty, což se projeví na poli ekonomiky. Zdrojem kontaminace zrn těmito plísněmi jsou nejčastěji zaplísněné rostlinné zbytky v silech a v prostorách pro skladování (Sedmíková a Reisnerová, 2003).

Plísňe mohou vyvolat tři typy onemocnění u zvíře, hospodářských zvířat a člověka:

1. mykózy, způsobují je plísňe, které proniknou do organismu a prorůstají tkáně nebo orgány
2. mykotoxikózy, jsou způsobené působením toxických metabolitů plísní (mykotoxinů) na organismus
3. alergie, které vznikají jako důsledek reakce organismu po styku s plísní, především po působení spor plísní, projevují se jako rinitidy, konjunktivitidy, dermatitidy (Piskač a Kačmár, 1985)

Toxinogenní plísňe jsou mikroorganizmy, které jsou schopné produkovat mykotoxiny. Významnou schopností těchto plísní je vznik mykotoxinů v potravinách a krmivech, které mohou vyvolat mykotoxikózy (aflatoxikózu, ochratoxikózu, fuzáriové mykotoxikózy apod.). Přímou poškozující zdraví jak hospodářských zvířat tak i člověka.

Zástupci řady rodů těchto plísní jsou schopni produkovat stejný mykotoxin (Ostrý, 1998). Jeden druh plísně může produkovat i více mykotoxinů. Plodina, která je kontaminovaná toxinogenní plísní, nemusí pokaždé ale obsahovat mykotoxiny. Při diagnostice mykotoxinů je důležitější průkaz vlastního mykotoxinu, než průkaz jeho původce (Modrá *et al.*, 2014).

Tab. č. 1: Obecné charakteristiky pro růst mikromycetů a produkci mykotoxinů v potravinách (Ostrý, 1998)

Faktor	Růst	Produkce mykotoxinů
Teplota	-12 - 55°C	4 - 40°C
pH	1,7 – 10	2,5 – 8 → optimum 5 - 7
$a_w$	min. 0,62	min. 0,8 – 0,85
Eh	aerobní podmínky	aerobní podmínky
Vliv solí	do 20% NaCl	do 14% NaCl
Vliv cukrů	do 50% sacharózy (Aspergillus flavus)	do 50% sacharózy (Aspergillus flavus)
Vliv fytoalexinů	Inhibice	Inhibice
Vliv látek v koření	Inhibice (eugenol, anetol, tymol)	Inhibice (eugenol, anetol, tymol)
Vliv jiných mikromycetů	neuveдено	Inhibice (výskyt Aspergillus sk. niger)
Infekce viry	neuveдено	Inhibice (RNA viry)

Tab. č. 2a: Nejvýznamnější mykotoxiny produkované vláknitými plísněmi rodu Aspergillus, Penicillium a Fusarium (Radová-Sypecká a Hajšlová, 2003)

Houby rodu ASPERGILLUS	Mykotoxin
A. carneus	citrinin
A. clavatus	patulin
A. flavus	aflatoxiny B1, B2, cyklopiazonová kyselina
A. ochraceus	ochratoxiny, penicilová kyselina
A. parasiticus	aflatoxiny B1, B2, G1, G2
A. terreus	citreo viridin, citrinin, patulin
A. tamarii	cyklopiazonová kyselina
A. versicolor	sterigmatocystin, cyklopiazonová kyselina

Tab. č. 2b: Nejvýznamnější mykotoxiny produkované vláknitými plísněmi rodu *Aspergillus*, *Penicillium* a *Fusarium* (Radová-Sypecká a Hajšlová, 2003)

Houby rodu PENICILLIUM	Mykotoxin	Houby rodu FUSARIUM	Mykotoxin
<i>P. aurantiogriseum</i>	cyklopiazonová kyselina, penicilová kyselina	<i>F. acuminatum</i>	DAS, MAS, HT-2 toxin, T-2 toxin, moniliformin
<i>P. camemberti</i>	cyklopiazonová kyselina	<i>F. anthropilum</i>	moniliformin
<i>P. chrysogenum</i>	cyklopiazonová kyselina	<i>F. avenaceum</i>	moniliformin
<i>P. citrinum</i>	citrinin	<i>F. chlamydosporium</i>	moniliformin
<i>P. commune</i>	cyklopiazonová kyselina	<i>F. crookwellense</i>	deoxynivalenol, nivalenol, zearalenony
<i>P. expansum</i>	citrinin, patulin	<i>F. culmorum</i>	fusarin C, nivalenol, deoxynivalenol, zearalenon
<i>P. griseofulvum</i>	cyklopiazonová kyselina, patulin	<i>F. graminearum</i>	deoxynivalenol, DAS, zearalenon
<i>P. purpurescens</i>	ochratoxin A	<i>F. moniliforme</i>	fumonisy, fusarin C, moniliformin
<i>P. roqueforti</i>	patulin	<i>F. poae</i>	fusarin C, DAS, MAS, HT-2 toxin, T-2 toxin, zearalenony
<i>P. rubrum</i>	rubratoxiny	<i>F. sambucinum</i>	fusarin C, DAS, MAS, HT-2 toxin, T-2 toxin
<i>P. simplissimum</i>	penicilová kyselina	<i>F. semitectum</i>	moniliformin, zearalenon
<i>P. verrucosum</i>	citrinin, ochratoxin A, cyklopiazonová kyselina	<i>F. sporotrichioides</i>	DAS, MAS, HT-2 toxin, T-2 toxin, zearalenony
<i>P. viridicatum</i>	cyklopiazonová kyselina	<i>F. tricinctum</i>	fusarin C

## 2.1 Metabolické produkty plísní

Plísně mohou do substrátu produkovat velké množství nejrůznějších metabolitů. Některé z plísní jsou pro člověka užitečné produkcí enzymů, antibiotik, organických kyselin a jejich kmeny se využívají k průmyslové výrobě těchto produktů. Původci mohou kromě užitečných látek produkovat také metabolity, které mají různý stupeň toxicity (mykotoxiny).

1. Antibiotika: fumigatin, griseofulvin, penicilin
2. Enzymy: amylolytické, celulólytické, lipolytické, pektolytické, proteolytické, aj.
3. Mykotoxiny: aflatoxiny, islandotoxin, luteoskyrin, ochratoxiny, patulin, rubratoxiny, sterigmatocystin, zearalenon, aj.
4. Organické kyseliny: citronová, fumarová, gallová, glukonová, šťavelová (Tichá, 1988)

## 3. Mykotoxiny

Mykotoxiny byly identifikovány jako důležité toxiny, které ovlivňují negativně teplokrevné živočichy (Aiko a Mehta, 2015). V současnosti je známo skoro 400 druhů těchto produktů, které jsou produkovány velmi širokým spektrem houbových patogenů (Nedělník a Moravcová, 2005). Mezi nejdůležitější mykotoxiny jsou v současné době zařazeny aflatoxiny, ochratoxin A, fumonisiny, trichotheceny a zearalenon (Pitt, 2000).

Nejběžnější mykotoxiny se týkají tří druhů plísní, *Aspergillus*, *Penicillium* a *Fusarium*. První dva jsou obecně uznávány jako kontaminanty potravin během sušení a skladování, zatímco druhy *Fusarium* jsou patogeny škodlivé pro rostliny a produkují mykotoxiny během vegetace nebo těsně po sklizni (Waškiewicz a Golinski, 2015).

Mykotoxiny jsou metabolické produkty hub, které mohou být vytvořeny u mnoha plodin v různých fázích, počínaje fází růstu nebo v čase sklizně až po skladování zemědělských plodin (Waškiewicz a Golinski, 2015). Dále jsou také významnými skupinami antinutričních látek, které se mohou nacházet v krmivu. Mykotoxiny reprezentují nejrůznější chemické látky, které mají molekulovou

hmotnost v rozmezí od 200 do 500g/mol. Podle zdravotně-hygienického hlediska můžeme mykotoxiny považovat za nejzávažnější látky, které můžeme najít v krmivu. V současnosti je kontaminace krmivářských produktů, plísněmi a jejich mykotoxiny, považována za jeden z nejdůležitějších negativních faktorů v produkci kulturních plodin a kvalitě krmiv, které jsou určeny pro výživu zvířat (Suchý a Herzig, 2005).

Důležité zemědělské a potravinářské produkty mohou být kontaminovány významnými kontaminanty, mezi které patří i mykotoxiny. Tyto sekundární metabolity, které jsou produkovány širokým spektrem vláknitých hub, mohou u zvířat i člověka, kteří budou vystaveni jejich toxickému účinku, způsobit závažné alimentární onemocnění (Hajšlová *et al.*, 2010). Onemocnění, které může být vyvoláno mykotoxiny, se nazývá mykotoxikóza. Onemocnění, které vyvolávají přímo mikroskopické vláknité houby, se nazývá mykóza (Modrá *et al.*, 2014). U volně žijící zvěře se vyskytuje tzv. Aspergilom, lokalizovaný především v plicní tkáni srnčí a méně často i zaječí zvěře (Bukovjan, 1992).

Kontaminace potravin mykotoxiny je celosvětový problém v živočišné výrobě, mezi její přímé důsledky patří snížení příjmu potravy a produkce (Rios, 2015). Kontaminované krmivo má nepříznivé účinky na zdraví, reprodukci zvířat a jejich produkční vlastnosti. Mykotoxiny mohou být přeneseny do masa a vajec u drůbeže, která je krmena kontaminovaným krmivem (Greco *et al.*, 2014). Přítomnost plísní a jejich mykotoxinů jsou uvedeny nejen v obilí, ale i u léčivých bylin a ve zpracovaných potravinách (Aiko a Mehta, 2015).

Jejich produkce je ovlivněna řadou faktorů. K biotickým faktorům patří přítomnost jednoho, nebo více druhů toxinogenních plísní. U mnoha různých plísní může docházet k synergickým nebo i antagonistickým vztahům. U některých jiných druhů může být dokonce vyvolána degradace toxinu jiného druhu plísně. Mezi abiotické faktory se zařazuje vlhkost substrátu, relativní vlhkost vzduchu, teplota substrátu i vnějšího prostředí, ale také vodní aktivita a obsah kyslíku v prostředí.

Mykotoxiny mohou být vytvořeny jen na základě faktorů, na kterých jsou závislé, jako je vlhkost, teplota, pH, na přítomnosti kyslíku v době, kdy plíseň roste na substrátu, dále pak na poškození zrna, které buď může být mechanické nebo způsobeno hmyzem a na kvalitě houbového inokula (Suchý a Herzig, 2005).

Obsah mykotoxinů je důležitým ukazatelem stavu kvality obilných zrn. Vzhledem k širokému spektru jejich toxických vlastností a způsobu působení, přítomnost mykotoxinů v potravinách vytváří vážná zdravotní rizika. Příznaky mykotoxikózy závisí na typu a koncentraci přijímaných mykotoxinů. Vliv má i druh, stáří a pohlaví zvířete (Waškiewicz a Golinski, 2015).

Perorální expozice je nejčastějším způsobem nákazy u zvířat i u lidí. Nemůžeme však ani vyloučit expozice aerogenní či transdermální (Modrá *et al.*, 2009).

Světová zdravotnická organizace, US Food and Drug Administration a Evropská unie, si stanovily pravidla a bezpečnostní limity významných mykotoxinů (aflatoxin, fusarium toxiny, ochratoxin, patulin, zearalenon apod.), aby byla zajištěna bezpečnost spotřebitelů (Aiko a Mehta, 2015). Nejvyšší přípustné hladiny mykotoxinů jsou celosvětově regulovány a monitorovány (Anfossi *et al.*, 2016). Výskyt mykotoxinů je pravidelně sledován formou depistáží jen u těch nejfrekventovanějších a nejškodlivějších (Nedělník a Moravcová, 2005).

### 3.1 Rozdělení mykotoxinů

Tab. č. 3: Dělení mykotoxinů podle toxických účinků (Ostrý, 1998)

Toxický účinek	Zástupce
Hepatotoxiny	aflatoxiny, luteoskyrin, sterigmatocystin
Nefrotoxiny	citrinin, ochratoxin A
Toxiny GIT	trichothecey
Neurotoxiny	penitrem A, fumitremorgeny, verukulogeny, fumonisiny,
Dermatotoxiny	trichothecey, psolareny, verukariny, sporidesminy
Estrogeny	zearalenon
Imunotoxiny	aflatoxiny, ochratoxin A, trichothecey, patulin, sporidesminy
Hematotoxiny	aflatoxiny, ochratoxin A, zearalenon, trichothecey
Genotoxiny	alfatoxiny, sterigmatocystin, ochratoxin A, citrinin, zearalenon, patulin, trichothecey, fumonisiny, fusarin C



Tab. č. 4: Dělení mykotoxinů podle způsobu jejich biosyntézy (Ostrý, 1998)

Kategorie biosyntézy	Zástupci
Polyketidy	
Di-	moniliformin
Tetra-	patulin, kyselina penicillová
Penta-	citrinin, ochratoxiny
Hexa-	maltoryzin
Hepta-	rugulosin, viriditoxin, xanthomegnin
Octa-	luteoskyrin
Nona-	citroviridin, fumonisiny, zearalenon
Deca-	aflatoxiny, erythrokyrin
Tetramická kyselina	kyselina cyklopiazonová, kyselina tenuazonová
Diketopiperaziny	
Jednoduché	kyselina aspergilová, echinuliny
Modifikované	brevianamidy, fumitremorgeny, roquefortin
Peptidy	ergotamin, phomopsiny, rhizonin
Terpeny	
Mono-	viridicatumtoxin
Sesqui-	trichotheceny
Di-	aflatrem, lolitremy, paspalin, penitremy

Tab. č. 5: Dělení mykotoxinů podle účinku na buňku (Ueno, 1985)

Inhibitory tvorby energie	citroviridin, luteoskyrin, xanthomegnin, moniliformin
Inhibitory proteosyntézy	trichotheceny, ochratoxin A
Modifikátory cytoskeletu	griseofulvin, cytochalasiny, cyclochlorotin
Estrogenní mykotoxiny	zearalenon
Tremorgeny	penitremy (A, B, C), fumitremorginy (A a B)
Karcinogenní mykotoxiny	aflatoxin B <sub>1</sub>

Tab. č. 6: Chemické dělení mykotoxinů (Polster, 1971; Polster, 1975)

Furanofurany	aflatoxiny, sterigmatocystin, versicolorin aj.
Substituované pyreny a hydroxypyreny	kyselina koji, sekalonové kyseliny aj.
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, roquefortin, fumitremorgen, verruculogeny, brevianamidy aj.
Mykotoxiny jiné struktury	zearalenon, curvularin, citrinin, PR-toxin, canthecellin, moniliformin, kyselina betanitropropionová aj.

Tab. č. 7: Dělení mykotoxinů podle způsobu biosyntézy (Šimůnek a Březina, 1996)

Biosyntéza moniliforminu	moniliformin
Biosyntéza z polyketidů	patulin, ochratoxin, emodin, kyselina sekalonová, aflatoxiny
Biosyntéza z isoprenoidů	trichotheceny, roquefortiny
Biosyntéza z aminokyselin	kyselina cyklopiazonová, cyklické dipeptidy

## 3.2 Nejvýznamnější mykotoxiny

### 3.2.1 Aflatoxiny

Jsou to produkty, které produkuje plísně rodu *Aspergillus flavus*, dále *A. parasiticus* i *A. fumigatus*. Můžeme rozlišit základní aflatoxiny, což jsou aflatoxiny B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> a odvozené aflatoxiny, mezi které řadíme aflatoxiny M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub>. Aflatoxiny M<sub>1</sub> a M<sub>2</sub> vznikají konverzí v procesu, kdy jsou tráveny substráty kontaminované základními aflatoxiny. Mezi nejsilnější dosud popsané přírodní karcinogeny řadíme aflatoxin B<sub>1</sub>.

Aflatoxiny jsou známé v první řadě kvůli svým toxickým účinkům na játra a ledviny. Na aflatoxiny jsou vnímavé všechny druhy hospodářských zvířat, nejvíce však drůbež, březí samice a mláďata. Mezi nejčastější příznaky intoxikace aflatoxiny patří nechutenství, gastroenteritidy, podkožní krvácení, krvácení z tělních otvorů i úhyny. U uhynulých zvířat nacházíme defekty na mozku, ledvinách, játrech a reprodukčních orgánech (Bukovjan *et al.*, 1990, 1992; Nedělník a Moravcová, 2005). Změny zaznamenáváme rovněž i v některých biochemických parametrech, jako jsou jaterní transferázy (AST, ALT, GGT) u jedinců postižených subklinickou formou aflatoxikózy B<sub>1</sub> (Bukovjan *et al.*, 1991).

### 3.2.2 Fumonisin

Poprvé byly izolovány a identifikovány v Jižní Africe v roce 1988 (Gelderblom *et al.*, 1988). Jde o mykotoxiny produkované plísněmi *Fusarium verticillioides*, *Fusarium proliferatum* a jiných druhů rodu *Fusarium*, které jsou společnými přírodními kontaminanty kukuřice (Brimer, 2011). Jako optimální podmínky pro vylučování mykotoxinů jsou uvedené teploty 15 – 30°C a aktivita vody 0,9 – 0,995 (Sanchis a Magan, 2004).

Je známo nejméně dvanáct druhů, mezi kterými jsou nejvýznamnější fumonisin skupiny B (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>). Fumonisin B<sub>1</sub> je nejdůležitějším fumonisinem dle toxikologického hlediska. Jde především o nádorový promotor, ale slabý iniciátor, který nemá přímo genotoxické účinky. Abychom vyvolali akutní toxické účinky FB<sub>1</sub>, museli bychom je zvířatům podávat ve vysokých dávkách (Modrá *et al.*, 2014).

Játra a ledviny jsou hlavní cílové orgány, na které fumonisiny působí (Modrá *et al.*, 2014). Fumonisin B<sub>1</sub> byl poprvé popsán jako původce leukoencephalomalacie u koní, pro které je to smrtelným onemocněním (Kellerman *et al.*, 1990). Intoxikaci fumonisiny u prasat poznáme podle odlišných klinických příznaků, kdy způsobují závažné plicní edémy a plicní hypertenze. Následek plicních edémů může být akutní úmrtnost (Harrison *et al.*, 1990).

Analytické metody pro stanovení fumonisinu B<sub>1</sub> a fumonisinu B<sub>2</sub> v kukuřici byly vyvinuty v roce 1990 (Shephard *et al.*, 1990). IARC vyhodnotil fumonisin B<sub>1</sub> jako karcinogen skupiny 2B, tedy pravděpodobně karcinogenní pro člověka (IARC, 2002).

### 3.2.3 Ochratoxiny

Ochratoxiny jsou produkovány druhy *Aspergillus ochraceus*, *A. carbonarius* a *P. verrucosum* (Frisvad a Thrane, 2002). Hlavním stanovištěm *P. verrucosum* jsou obiloviny v mírném podnebí severní Evropy a Kanady (JECFA, 2001). *A. carbonarius* roste optimálně při 32 – 35°C a je odolný vůči slunečnímu záření (Sweeney a Dobson, 1998). *A. ochraceus* je nejdůležitější formou, která produkuje ochratoxiny. Může růst v rozsahu 8 – 37°C. Optimální teplota pro růst na zrnech ječmene je cca 30°C (Ramos *et al.*, 1998).

Ochratoxin A je nejběžnější, hojně se tvoří v potravinách (Brimer, 2011). Ochratoxin A je méně stabilní vůči vysokým teplotám než aflatoxiny (Suchý a Herzig, 2005). Ochratoxin A a ochratoxin B jsou pouze dvě formy, které se vyskytují přirozeně jako kontaminanty. OTA je všudypřítomný, vyskytující se převážně u obilovin a v tkáních zvířat, která jsou krmena zrny těchto obilovin (D 'Mello, 2000).

Ochratoxiny se nacházejí ve výrobcích z obilovin, dále v produktech jako jsou sýry a masné výrobky ze zvířat, která přijímají obiloviny jako hlavní složku v potravě. *A. ochraceus* je nejvíce nalézán v sušených potravinách, jako například uzené a solené sušené ryby, sojové boby, hrách, ořechy, pepř a sušené ovoce. (Ramos *et al.*, 1998).

Je silným teratogenem, který poškozují parenchymové orgány, u kterých způsobuje nefrotoxikózu v důsledku tubulárního poškození a fibrózu ledvin. Dále působí imunosupresivně, depresivně na CNS, snižuje přírůstky hmotnosti, produkci vajec a zhoršuje kvalitu skořápky (Suchý a Herzig, 2005). OTA je hepatotoxický, karcinogenní, teratogenní a imunotoxický k několika druhům zvířat (Pfohl-Leszkowicz a Manderville, 2007).

Nejcitlivějšími druhy zvířat jsou kuřata, kachňata a krůtata. Odolnějšími vůči ochratoxinu jsou přežvýkavci, u kterých bachorová mikroflóra přemění tento mykotoxin na alfa ochratoxin, který je poněkud méně toxický. U prasat diagnostikujeme poškození ledvin, které provází polyurie a polydipsie, poškození ledvin také pozorujeme u drůbeže i u psů (Suchý a Herzig, 2005).

OTA může být detekován v krevním séru prasat, kde je vázán na bílkoviny. U člověka je vylučován mateřským mlékem, což má za následek ohrožení novorozence (Leslie *et al.*, 2008). Světová zdravotnická organizace uvádí maximální limit 5 mg/kg<sup>-1</sup> v obilovinách a výrobcích z obilovin (WHO, 2001).

### 3.2.4 Patulin

Patulin produkují plísně rodu *Aspergillus* a *Penicillium*. Můžeme ho nalézt ve zhnílých jablkách, kde ho produkují plísně *P. expansum* a *P. patulum*. Dále v plesnivých silážích, kde ho vytvářejí *Paecilomyces* spp., tedy asexuální forma *Byssochlamys nivea*. Při kvašení siláží rozkládá vytvořený mykotoxin stejná houba, která ho produkuje. Patulin působí jako mykotoxin, ale i jako antibiotikum zároveň. U skotu nejsou žádné důkazy o toxických účincích k dispozici. Patulin ale mohl vyvolat vnitřní krvácení, pokud se vyskytoval v silážích (Kalač a Míka, 1997).

Brimer (2011) uvádí, že není jednoduché u patulinu popsat jeho celkový profil toxických účinků na pár slov. Z mnoha zkoušek akutní toxicity u různých živočišných druhů je zřejmé, že je patulin toxický.

Patulin je poměrně termostabilní, zejména při kyselém pH. Vzhledem k tomu, že kvašením ovocných šťáv se patulin ničí, tak u fermentovaných výrobků, jako je jablečný mošt, nebude obsah mykotoxinu nalezen. Patulin napadá mnoho různých druhů ovoce, jako jsou meruňky, hrozny, broskve, hrušky, jablka. (Brimer, 2011).

### 3.2.5 Rubratoxiny

Rubratoxiny jsou hepatotoxické metabolity, které produkují plísně druhu *Penicillium rubrum* a *Penicillium purpurogenum*. Jsou to anhydridy karboxylových kyselin. Tato skupina v sobě zahrnuje rubratoxin A a rubratoxin B. Rubratoxin A má funkci lacto aldehydů, zatímco rubratoxin B obsahuje skupiny alfa, beta nenasycených karboxylových kyselin. Oba toxiny ale mají stejnou anhydrid skupinu, která je velmi stabilní. Od jejich izolace a charakterizace byly tyto toxiny studovány intenzivně, zejména v souvislosti s jejich biologickou činností. Rubratoxiny se podle některých studií daly využívat i jako insekticidy. Rubratoxiny se s aflatoxiny nacházejí v synergickém vztahu, což má zapříčinu zdravotní riziko těchto toxinů (Emeh a Marth, 1978).

### 3.2.6 Zearalenon

Zearalenon produkují plísně rodu *Fusarium*, druhy *F. graminearum* a *F. culmorum*. Může se nacházet v kukuřici, obilných zrnech, pak také v seně a slámě (Pitt, 2000). Jde o nesteroidní estrogení mykotoxin, který se nachází na vlhkém obilí, které je skladováno při nízkých teplotách. Patří mezi plísně polní. Zearalenon kontaminuje velké množství krmiv, jeho velké koncentrace můžeme najít jak v obilovinách, tak i v silážované kukuřici a v senážích (Havlíček *et al.*, 2014).

Požítí zearalenonu u hospodářských zvířat, může způsobit špatný zdravotní stav zvířat, zejména u prasat zearalenon způsobuje hyperestrogenismus, čímž způsobuje závažné problémy v reprodukci a možnou neplodnost. Prasnice jsou považovány za nejcitlivější druh zvířat, zatímco drůbež a přežvýkavci vykazují nižší citlivost na zearalenon (Zinedina *et al.*, 2007; Allen *et al.*, 1981).

V roce 2000 JECFA udělala velmi souhrnné posouzení rizika zearalenonu, které bylo založené na více než 300 vědeckých člancích a na velmi podrobné expozici modelů. Výbor uzavřel následovně, že bezpečnost zearalenonu by mohla být vyhodnocena na základě dávky, která neměla žádný hormonální účinek u prasat (nejcitlivějšího druhu). Výbor stanovil prozatímní maximální přípustný denní příjem pro ZEA 0,5 mg/kg<sup>-1</sup> tělesné hmotnosti. Výbor doporučil, že by celkový příjem zearalenonu a jeho metabolitů neměl překročit tuto hodnotu (Brimer, 2011).

### 3.3 Výskyt mykotoxinů

Celosvětovým problémem je, že se mykotoxiny tvoří a vyskytují v krmivech ve všech geografických oblastech. Podle odhadů FAO je 25% světové produkce kontaminováno mykotoxiny. Pro produkci aflatoxinu a fumonisinu je vhodnější teplejší klima, zatímco produkci ochratoxinu a zearalenonu vyhovuje spíše chladnější klima (Zeman *et al.*, 2006).

Základními příčinami, kvůli kterým se mykotoxiny vyskytují v krmivech, jsou sklizně vlhkých obilovin a jejich následné špatné skladování. Další základní příčinou jsou technologické operace, které jsou prováděné volně na vzduchu za nevyhovujících hygienických podmínek, kterými jsou vysoká vlhkost a teplota. Používáním zaplísňených surovin pro výrobu krmiv, jejich nevhodné skladování a krmení zvířat zaplísňenými krmivy (Kalhotka, 2014).

Mezi krmiva, jenž jsou nejčastějšími zdroji mykotoxinů, můžeme zařadit kukuřičnou siláž, která je nejrizikovějším zdrojem mykotoxinů, dále travní, jetelotravní a vojtěškové senáže, vlhké kukuřičné zrno a slámu (Illek, 2005).

Kontaminace krmiv mykotoxiny se děje na všech úrovních. Mykotoxiny se vyskytují v objemových krmivech, doplňkových nebo kompletních směsích, dále se objevují v čerstvých, šťavnatých, sušených a konzervovaných krmivech. Nepomáhá tepelná úprava, a to ani horkovzdušným sušením, granulací nebo extruzí (Mohelský, 2010).

Musíme zvolit správné faktory a opatření, abychom předešli výskytu mykotoxinů v plodinách

1. přemýšlíme nad sledem plodin a vybíráme správnou předplodinu, protože obilniny jsou náchylnější k fusáriovým plísním
2. posklizňový management – minimalizujeme zbytky předplodiny a důkladně je zapravíme do půdy
3. vybíráme vhodné odrůdy, kdy preferujeme odrůdy, které jsou odolné proti plísním
4. volíme vhodnou prevenci proti poléhání porostu
5. můžeme aplikovat fungicidy, u kterých ale musíme dodržovat uvedená doporučení

6. sklizeň provádíme včas a skladujeme suché zrno s obsahem vlhkosti pod 18%
7. potlačujeme plevele
8. snažíme se omezit poškození porostu hmyzem, což je jedna z potencionálních cest k infekci fusáriovými plísněmi (Pavelková, 2013)

Tab. č. 8: Regulované mykotoxiny a typické regulované produkty, ve kterých se mohou vyskytovat (Štěpán a Cuhra, 2013)

Mykotoxiny	Typické komodity
Aflatoxiny	obiloviny, arašidy, pistácie a další suché plody, sušené ovoce, koření
Fumonisin	kukuřice
Ochratoxiny	obiloviny, káva, koření, sušené ovoce
Patulin	ovocné šťávy
Zearalenon	obiloviny – zejména kukuřice
Námelové alkaloidy	obiloviny – zejména žito
T-2 toxin / HT-2 toxin	obiloviny



### 3.4 Intoxikace mykotoxiny

U lidí i u zvířat se mohou objevovat jak akutní, subakutní tak i chronické otravy – mykotoxikózy, které jsou způsobené vysokou koncentrací dávek mykotoxinů v surovinách i potravinách rostlinného původu, jenž vyvolávají specifické a klinicky zjevné příznaky onemocnění, které mnohdy končí smrtí (Bennet a Klich, 2003).

Vysoké dávky mykotoxinů způsobují akutní primární mykotoxikózy, které vyvolávají degeneraci jater i ledvin, dále vyvolávají poškození oběhového systému, CNS. Hepatotoxický účinek má za příčinu tukovou degeneraci hepatocytů, nekrózy nebo i cirhózu (Suchý a Herzig, 2005).

Při opakovaném přísunu nízkých až středních dávek mykotoxinů vznikají chronické mykotoxikózy, u kterých je průběh subklinický, a tím se nedají tak snadno zaregistrovat (Kummer *et al.*, 2001). Podle Suchého a Herziga (2005) se chronický průběh projevuje teratogenními, mutagenními a karcinogenními účinky, dále poškozením centra krvetvorby, které způsobuje krvácení, sníženou srážlivost krve a změny v kostní dřeni, dále se projevuje narušením imunogeneze, kdy vzniká zvýšená náchylnost k infekčním chorobám a snížení užitkovosti zvířat.

Potraviny rostlinného původu jsou pro působení mykotoxinů významnější, než je u potravin živočišného původu, protože se vyskytují ve značně nižších koncentracích, což souvisí i s biotransformací (Weidenbörner, 2001).

#### 3.4.1 Toxicita mykotoxinů

Mykotoxiny můžeme rozdělit na:

1. silně toxické mykotoxiny, u kterých platí, že  $LD_{50}$  jsou cca jednotky  $mg \cdot kg^{-1}$  tělesné hmotnosti, do této skupiny patří např. aflatoxiny, patulin, T-2 toxin, ochratoxin A
2. středně toxické, u kterých platí, že  $LD_{50}$  jsou cca desítky  $mg \cdot kg^{-1}$  tělesné hmotnosti, řadí se sem např. kyselina cyklopiazonová a sterigmatocystin
3. slabě toxické, u kterých platí, že  $LD_{50}$  jsou cca stovky  $mg \cdot kg^{-1}$  tělesné hmotnosti, řadí se sem např. trichoteceny nebo zearalenon

Jedná se o toxicitu pro laboratorní zvířata (potkan), která může být ovlivněna věkem, pohlavím a dalšími faktory u zvířat stejného druhu.

LD<sub>50</sub> je označení pro 50% smrtelnou dávku toxinu, která je schopna usmrtit přesně 50% pokusných zvířat (Kalhotka, 2014).

Tab. č. 9: Toxicita mykotoxinů (Modrá et al., 2009)

Mykotoxin	Cílová tkáň	Poznámky
Aflatoxiny	játra	hepatotoxický a karcinogenní účinek → způsobují tumory jater
Sterigmatocystin	játra	
Ochratoxiny	ledviny	způsobují onemocnění: Balkánská endemická nefropatie nebo porcinní mykotoxická nefropatie
Trichotheceny	GIT, imunitní systém	iritaci GIT způsobuje cytotoxický účinek deoxynivalenolu, T-2 toxin způsobuje destrukci leukocytů (tzv. alimentární toxická aleukie - ATA)
Zearalenon	pohlavní ústrojí	estrogenní syndrom u prasat
Fumonisin	CNS, koně – játra, prasata - plíce	leukoencefalomalacie koní (ELEM) a edémy plic u prasat
Námelové alkaloidy	cévy, nervový systém	gangrenózní a konvulzivní ergotismus
Tremorgenní mykotoxiny	nervový systém	neuveдено

Tab. č. 10: Toxické koncentrace některých mykotoxinů v krmivech (Zeman et al., 2006)

Mykotoxiny	Koncentrace
Aflatoxiny	200 – 500 µg/kg
Fumonisin	nepřežvýkavci = 5 mg/kg <sup>-1</sup> přežvýkavci = 100 mg/kg <sup>-1</sup>
DON	2 – 10 mg/kg <sup>-1</sup>
T-2 toxin	100 µg/kg
Zearalenon	200 – 300 µg/kg

### 3.5 Biologické účinky mykotoxinů

Onemocnění u zvířat může způsobit i nepatrně mikrobiálně pozměněné krmivo, protože mykotoxiny představují pro živočišný organismus účinné jedy. Působení závisí na spoustě faktorů, a to jak na druhu mykotoxinu, tak i v jakém množství je mykotoxin přijímán, dále jak dlouho je zaplísňené krmivo zkrmováno, ale také na individualitě zvířete, plemeni, pohlaví a nakonec na výživovém stavu (Kalač a Míka, 1997).

Nejčastější účinky mykotoxinů:

- a) mutagenní účinky – látky, které mají tyto účinky, jsou schopné vyvolat změny v DNA či RNA, buď to mohou být vratné nebo nevratné změny genetické informace
- b) karcinogenní účinky – podporují vznik nádorů (rakoviny)
- c) teratogenní účinky – embryonální vývoj je negativně ovlivňován
- d) strumigenní účinky – mají vliv na funkci štítné žlázy
- e) hepatogenní účinky – poškozují hlavní detoxikační orgán těla = játra
- f) nefrogenní účinky – také poškozují detoxikační orgán těla = ledviny
- g) estrogenní účinky – poškozují hladiny hormonů u samců i samic, u kterých vyvolávají poruchy říje (Šilha, 2005)

Tab. č. 11: Citlivost některých druhů zvířat na mykotoxiny (Zeman et al., 2006)

Mykotoxin	Dojnice	Prasata	Koně
Aflatoxiny	+	+	+
Fumonisy	+	+	++
Ochratoxiny	-	+	+
T-2 toxin	+	-	+
Deoxynivalenol	+	++	+
Zearalenon	+	++	+

– rezistence, + nižší citlivost, ++ vyšší citlivost

Tab. č. 12: Výbrané mykotoxiny a jejich karcinogenita (Ostrý et al., 1997)

Mykotoxin	Kategorizace
Aflatoxiny (B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , G <sub>1</sub> , G <sub>2</sub> )	1
Aflatoxin M <sub>1</sub>	2B
Ochratoxin A	2B
Fumonisin (B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> )	2B
Fusarin C	2B
Zearalenon	3
Deoxynivalenol	3
Nivalenol	3
Fusarenon X	3
T-2 toxin	3

Pozn.

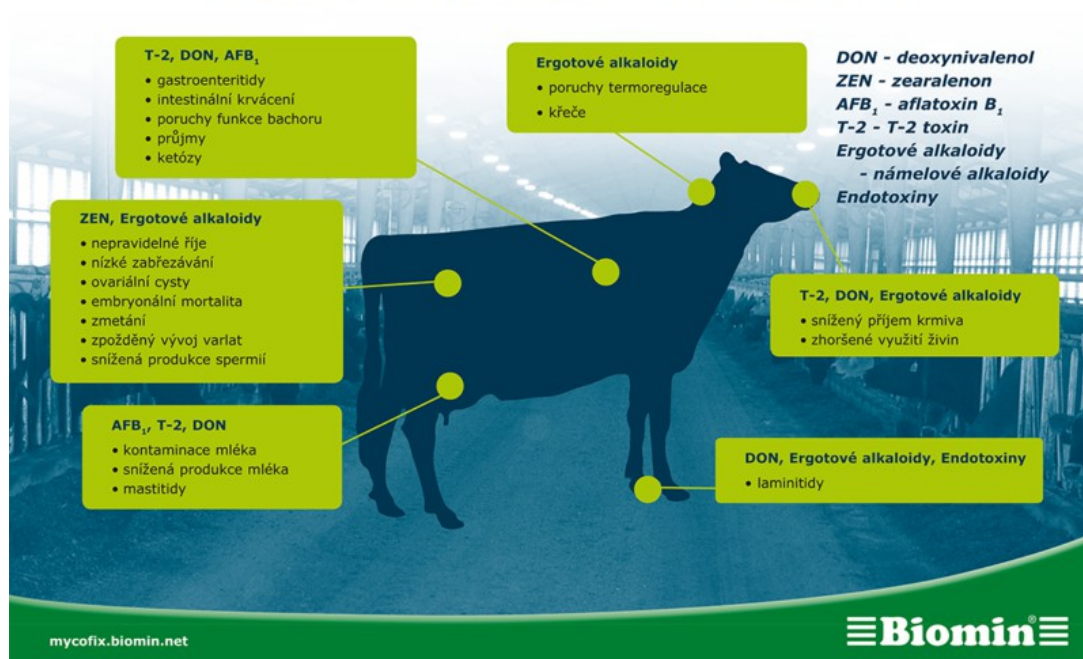
1 znamená, že to je prokázaný karcinogen pro člověka.

2B znamená, že to je možný karcinogen pro člověka.

3 znamená, že zatím nebyl klasifikován jako karcinogen pro člověka.

Obr. č. 1: Účinky mykotoxinů u skotu

## Účinky mykotoxinů u skotu



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

Obr. č. 2: Účinky mykotoxinů u prasat



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

Obr. č. 3: Účinky mykotoxinů u drůbeže



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

### 3.6 Diagnostika mykotoxinů

Lze použít tři metody k diagnostice mykotoxinů

1. chromatografie na tenké vrstvě (TLC)
2. ELISA metody, které používají technologii protilátek
3. vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) (Diaz, 2005)

Podle Kalhotky (2014) se mohou pro stanovení mykotoxinů využívat především imunochemické metody (ELISA, RIA) a chromatografické metody (GC, HPLC, TLC, HPTLC) s využitím hmotností spektrometrie.

Nejčastěji se využívají pro stanovení mykotoxinů v krmivech či potravinách metody chromatografické. Chromatografie na tenké vrstvě (TLC) se využívá pro orientační, kvalitativní stanovení mykotoxinů. Vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) a plynové chromatografie (GC) se využívají za účelem kvantifikace mykotoxinů v krmivech či biologických materiálech (Modrá *et al.*, 2009).

V poslední době se hojně využívají imunochemické testy pro detekci a kvantifikaci mykotoxinů. U metod RIA (z angl. radioimmunoassays) a ELISA (z angl. enzyme-linked immunosorbent assays) se nejprve musí připravit specifické protilátky (Betina, 1990). V současné době jsou na trhu k dispozici ELISA soupravy, které jsou od zahraničních výrobců. ELISA testy fungují na principu reakce antigenu s protilátkou. ELISA testy jsou přímé kompetitivní testy, které se provádí v mikrotitračních jamkách (Nedělník a Nečasová, 2003). ELISA test slouží pro kvantitativní analýzu deoxynivalenolu, zearalenonu, fumonisinů a aflatoxinů v různých produktech jako v zrnech, krmení atd (Lancova *et al.*, 2008).

Většina chromatografických metod je složitějších, než ELISA testy pro stanovení obsahu mykotoxinů, které jsou instrumentálně méně náročné (Nedělník a Nečasová, 2003).

Dají se využít i indikační papírky či reagencie, které jsou uvedeny na trhu pro hrubou orientaci, nebo také lze použít pro stanovení mykotoxinů například metodu embryotoxických účinků mykotoxinů na kuřecí zárodek, což je jeden z biotestů (Kalač a Míka, 1997).

## 4. Aflatoxiny

Aflatoxiny jsou mykotoxiny, které prokazatelně produkuje plíseň druhu *Aspergillus*: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus nomius*, *Aspergillus pseudotamarii*, *Aspergillus bombycis* a *Aspergillus fumigatus* (Brimer, 2011).

V přirozených podmínkách je tvorba mykotoxinů ovlivněna fyzikálními, chemickými i biologickými faktory. Mezi fyzikální faktory řadíme teplotu, vlhkost prostředí, skladbu plynů prostředí, pH, mechanické poškození substrátu aj. Chemickými faktory je skladba substrátu a přítomnost fungicidních látek. Mezi biologické faktory patří vlastnosti kmene plísni a konkurenční růst plísni (Piskač *et al.*, 1985).

Aflatoxiny jsou mykotoxiny, které jsou produkovány za určitých podmínek, jako je vhodná teplota 12 – 37 °C, avšak optimum je 28 °C. Dále pak pH musí být mezi 2,5 – 6,0 a vlhkost nad 14 %, protože když má substrát vlhkost pod 12%, tak se tím produkce mykotoxinů zastavuje. Doba růstu je dlouhá asi 3 – 15 dní (Suchý a Herzig, 2005).

Milani (2013) uvádí, že producenti aflatoxinů rostou spíše v teplých podmínkách a to zejména v současné době, kdy mírné podnebí představuje v tomto ohledu potenciální riziko. Kromě klimatu produkci přímo ovlivňuje také vnímavost hostitele. Za optimální podmínky pro produkci aflatoxinů označuje teplotu 33 °C a 0,99  $a_w$ , zatímco pro růst to je 35 °C a 0,95  $a_w$ .

*A. flavus* je všudypřítomný a útočí většinou na nadzemní části rostlin, avšak *A. parasiticus* je více přizpůsobený pro půdní prostředí. Zatímco *A. flavus* a *A. pseudotamarii* produkují pouze aflatoxiny typu B, *A. parasiticus*, *A. nomius* a *A. bombycis* mohou také produkovat takzvaný typ G (Brimer, 2011).

Aflatoxin B<sub>1</sub> byl poprvé identifikován ve Velké Británii v roce 1960 v zásilce podzemnice olejné z Brazílie. Následně u aflatoxinu B<sub>1</sub> bylo prokázáno, že způsobuje akutní hepatitidy u zvířat i u lidí a dále také rakovinu jater u zvířat (Turner *et al.*, 2002). Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny (IARC) vyhodnotila aflatoxin B<sub>1</sub> jako karcinogen skupiny 1, tzn. karcinogenní pro člověka (IARC, 1993).

## 4.1 Aflatoxin B<sub>1</sub>

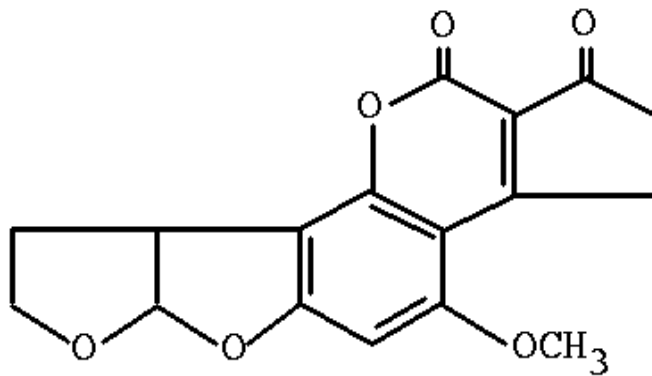
Název podle Chemical abstracts: Cyclopenta [c] furo [3'2':4,5] furo [2,3-h] [1] benzopyran -1,1 1-dione, 2, 3, 6a, 9a-tetrahydro-4-methoxy-, (6aR-cis)-

Jiný název: 6-methoxydifurocoumarone

Sumární vzorec: C<sub>17</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>

Molekulová hmotnost: 312 g/mol (Ostrý *et al.*, 1997)

Obr. č. 4: Strukturální vzorec aflatoxinu B<sub>1</sub>



Aflatoxin B<sub>1</sub>

Zdroj: [http://www.med.muni.cz/predmety/preventivni/MYKOTW/mtp\\_r\\_idx.htm](http://www.med.muni.cz/predmety/preventivni/MYKOTW/mtp_r_idx.htm)

Základní charakteristika a fyzikální vlastnosti:

Popis: krystalky světle žluté barvy, v UV vyzařuje fluorescenci světle modré arvy

Bod tání: 268 - 269°C

Optická otáčivost: [α]<sub>D</sub> - 480°

Rozpustnost: aflatoxin B<sub>1</sub> je dobře rozpustný v polárních organických rozpouštědlech, čímž je pro nepolární rozpouštědla nerozpustný, dále je málo rozpustný ve vodě (Ostrý *et al.*, 1997)



## 4.2 Výskyt aflatoxinů

Již od poloviny 80. let je věnována nemalá pozornost výskytu plísní rodu *Aspergillus* a to včetně s jejich toxickými metabolity. Mykotoxiny se v různých koncentracích vyskytují v silážích, jadrných krmivech, potravinách, kakových bobech, arašídech a ořechovinách (Turek *et al.*, 1982; Hartlová *et al.*, 1982; Fukal *et al.*, 1987).

Aflatoxiny mohou být nejčastěji nalezeny v podzemnicovém šrotu. Potencionální nebezpečí na zdraví lidí v širokém měřítku vzniká zkrmováním podzemnicového šrotu po celém světě. Je dokázáno, že mléko a mléčné produkty dojnic, které přijaly aflatoxin B<sub>1</sub> v určité dávce z krmiva, může být kontaminováno aflatoxinem M<sub>1</sub>. Aflatoxin M<sub>1</sub> je 4-hydroxyderivát aflatoxinu B<sub>1</sub> (Kalač a Míka, 1997).

Typické mykotoxiny, které kontaminují suroviny produkované v tropických a subtropických oblastech, jsou zejména aflatoxiny. Můžeme je nalézt na různých zatím nezpracovaných výrobcích, jako jsou obiloviny, dehydratované ovoce, dále je můžeme najít v koření, fíkách, sušeném ovoci apod (Nedělník a Nečasová, 2003).

Suchý a Herzig (2005) uvádí, že mezi živné substráty se řadí obilniny, hrách, proso, bob, ořechy, podzemnice a sója. V České republice v roce 2002 až 2003 byly v objemných krmivech nalezeny průměrné koncentrace aflatoxinů. V celorošlinné siláži z ječmene a v travní siláži bylo nalezeno 2,4 µg/kg, v jetelotravní siláži to bylo 2,8 µg/kg, v kukuřičné siláži bylo nalezeno 1,4 µg/kg a ve vojtěškové siláži to bylo 3,5 µg/kg (Nedělník *et al.*, 2006).

Vondrášková (2011) uvádí, že se aflatoxiny především vyskytují v obilovinách, např. v kukuřici, pšenici, čiroku nebo rýži. Pak také v olejninách, např. v sóje, v semenech bavlníku, ve slunečnicích a v arašídech. Nacházejí se i v koření, jako v chilli paprikách, černém pepři, zázvoru a ořeších, jako jsou pistácie, mandle, vlašské ořechy a v dalších.

### 4.3 Historie výzkumu aflatoxinů B<sub>1</sub>

Od poloviny minulého století se provádí intenzivní výzkum účinků aflatoxinů B<sub>1</sub> a jejich působení na hospodářská zvířata a volně žijící zvěř. Brown *et al.* (1967), Elis (1967) a Di Paolo *et al.* (1969), uváděli u aflatoxinu B<sub>1</sub> a ochratoxinu A i negativní fetotoxický účinek. Aflatoxiny rovněž také negativně působí u drůbeže na metabolismus a ukládání retinolu (Kříž, 1969).

Do doby, než Paterson a Roberts (1970) prokázali přeměnu aflatoxinu B<sub>1</sub> a G<sub>1</sub> v jaterních homogenizátech hlodavců a ptáků, byla zkoumána přeměna aflatoxinu B<sub>1</sub> pouze v jaterní tkáni a jeho účinky na tělní orgány a imunitní systém.

Pier (1973) uváděl souvislost aflatoxikózy s poklesem celulární a humorální imunity. Rob (1984) a Marvan (1987) ji dávali do spojitosti s poruchami plodnosti u hospodářských zvířat.

Toxickými účinky aflatoxinů se zabývali rovněž Paterson (1973) a Stubblefield *et al.* (1983). Závažné změny byly diagnostikovány na játrech, kdy je z českých autorů popisovali Dvořáčková *et al.* (1974) a ze zahraničních pak například Clark *et al.* (1980) a Borissova *et al.* (1987).

Díky autoradiografickým metodám byl prokázán přestup aflatoxinu B<sub>1</sub> přes placentární bariéru matky do plodu u myši (Arora *et al.*, 1978). Tito autoři v roce 1981 zaznamenali toxický prenatální účinek, jako vznik fetální anomálie a poruchy růstu plodu.

Při prováděných experimentálních pokusech, byla aplikována různá dávka aflatoxinů zvířatům, za vzniku chromozomových aberací, kterou popisovala řada autorů (Lojda *et al.*, 1976; Bárta *et al.*, 1984; Speed, 1988).

Experimentální klinická aflatoxikóza u králíků neprokázala žádné změny v červené krevní složce, ale změny však nastaly v aktivitě AST, ALT a obsahu celkové bílkoviny (Clark *et al.*, 1980). Z tuzemských autorů se problematikou aflatoxikózy a detekcí aflatoxinu B<sub>1</sub>, spolu se zjišťováním koncentrací v orgánech u hospodářských zvířat a drůbeže, zabývali Vereš *et al.* (1980, 1984), Píchová *et al.* (1981, 1985, 1986), Sova *et al.* (1982, 1989), Rob *et al.* (1987) a Fukal *et al.* (1988).

Mezi prvními, kdo prováděl jedny z prvních sledování výskytu aflatoxinů u zvěře, byli Bukovjan *et al.* (1988 a,b; 1991) a Páv a Bukovjan (1989). Získané výsledky porovnávali se zaječí zvěří, u které byla koncentrace aflatoxinů relativně vyšší. Vysvětlení lze hledat ve zvýšeném příjmu kontaminovaných povrchových vrstev silážní hmoty, kterou zajíci přijímali v zimním a předjarním období, případně před jejich tělesnou očistou.

#### 4.4 Účinky aflatoxinů

Hlavními toxickými účinky aflatoxinů jsou karcinogenita, mutagenita, hepatotoxicita, imunotoxicita a teratogenita. Aflatoxiny jsou metabolizovány především v játrech (Malíř *et al.*, 2003). Vedle hepatokarcinogenního účinku mají aflatoxiny za příčinu, působením na organismus, i jeho imunosupresi. Pořadí toxicity u aflatoxinů je následující:  $B_1 > G_1 > B_2 > G_2$  (Svobodová *et al.*, 2008, Modrá *et al.*, 2009). Aflatoxin  $B_1$  je nejúčinnějším hepatokarcinogenem, který je znám. Jeho karcinogenní účinky byly potvrzené jak u myši a potkanů, tak i u opic a pstruhů (Betina, 1990).

Toxický účinek aflatoxinů závisí především na množství přijaté dávky aflatoxinů, na délce příjmu aflatoxinů a v neposlední řadě na druhu a věkové kategorii zvířat. Karcinogenní účinek vzniká jako důsledek dlouhodobého příjmu aflatoxinů v nízkých dávkách. Akutní hepatotoxický účinek je zapříčiněn příjmem vyšších dávek aflatoxinů v krátké době. Chronický hepatotoxický účinek vzniká po déletrvajícím příjmu nižších dávek aflatoxinů, při kterém dochází k ztvrdnutí jater, které se vyznačuje nechutenstvím, sníženou užitkovostí, snížením tělesné hmotnosti.

Kvůli aflatoxinům jsou zvířata více vnímavá k infekcím, protože v důsledku snížené syntézy proteinů v jaterních buňkách, dochází ke snížené tvorbě imunoglobulinů (Kummer a Faldíková, 2002).

## 4.5 Biosyntéza, absorpce, rozklad aflatoxinů

### 4.5.1 Biosyntéza

Laboratorní produkci aflatoxinů ovlivňují různé faktory, jako jsou například aerace, teplota a také vlhkost substrátu a atmosféry a její složení. Chemicky definovaná i komplexně kultivační média, která se používají pro produkci aflatoxinů. Chemicky definovaná média se využívají v biosyntetických studiích pro lehčí izolaci metabolitů. Komplexní média se skládají z roztoků sacharózy a kvasného extraktu, nebo to jsou přirozené substráty, jako je rozdrobená podzemnice olejná a obilniny. Katabolická represe glukózy, nenasycené mastné kyseliny a stopové prvky jsou biochemické faktory, které ovlivňují produkci aflatoxinu (Betina, 1990).

### 4.5.2 Absorpce

Všechny aflatoxiny jsou poměrně termorezistentní. Z trávicího traktu jsou rychle absorbovány do krve a poté jsou vychytávány v játrech, kde se aflatoxin B<sub>1</sub> přeměňuje na několik metabolitů, které vazbou na DNA inhibují syntézu RNA, buněčných enzymů a dalších proteinů. Dále také může k absorpci mykotoxinů docházet pasivní difuzí v tenkém střevě, kdy je vzhledem k lipofilnímu charakteru rychlá a téměř úplná. Lépe vstřebatelným aflatoxinem je aflatoxin B<sub>1</sub>, protože je více lipofilní na rozdíl od aflatoxinu G<sub>1</sub>. U mladých zvířat je vstřebatelnost aflatoxinů vyšší (Svobodová *et al.*, 2008).

Lipofilní mykotoxiny s malou molekulovou hmotností, jako je AFB<sub>1</sub>, jsou absorbovány v trávicím traktu mechanismem pasivní difúze. Studie na laboratorních zvířatech a primátech ukázaly, že absorpce AFB<sub>1</sub> je kompletní a rychlá. Absorpce aflatoxinu B<sub>1</sub> se u krys vyskytuje především na úrovni duodena, a zdá se, že postupuje ve dvou fázích, což naznačuje, že se jedná o dvě střevní místa, jak je naznačeno pomocí kinetických studií. Asi 90% aflatoxinu B<sub>1</sub>, který je přítomen v krvi, je v krevní plazmě. Frakce spojené s proteiny, jsou především spojeny s albuminem. Kovalentní vazby, jako jsou Schiffovy báze mezi lysinem z albuminu a některých derivátů z aflatoxinu B<sub>1</sub>, jsou zapojeny do aduktu formací s krevními proteiny. Chemická vazba je částečně reverzibilní a sloučeniny, které mají vysokou afinitu k albuminu, jako je například fenylobutazon, může přesunovat vázané frakce (Diaz, 2005).

### 4.5.3 Rozklad

I když je řada aflatoxinů metabolizována v bachoru, tak i přesto asi jejich 1% přechází do krve a odtud dále do mléka, kde se nacházejí ve formě hydroxyderivátů aflatoxinů B<sub>1</sub> a B<sub>2</sub>, které jsou označovány jako aflatoxiny M<sub>1</sub> a M<sub>2</sub> (Kalač a Míka, 1997). V organismu dojníc se aflatoxiny B<sub>1</sub> a B<sub>2</sub> hydroxylují na aflatoxiny M<sub>1</sub> a M<sub>2</sub>, které jsou dále vylučovány do mléka. Aflatoxin M<sub>1</sub> se váže na proteinovou frakci mléka. Především konzumací mléčných výrobků a pitím mléka, dochází u lidí k působení aflatoxinu M<sub>1</sub> (Kalhotka, 2014). Svobodová *et al.* (2008) zdůrazňuje, že aflatoxin M<sub>1</sub>, který vzniká hydroxylací aflatoxinu B<sub>1</sub> v játrech, je vylučován močí a mlékem. Průměr 1% přijatého aflatoxinu B<sub>1</sub>, má za důsledek vyloučené množství aflatoxinu M<sub>1</sub> v hodnotách od 0 do 4%. Větší množství aflatoxinu M<sub>1</sub> vylučují dojnice, které jsou na začátku laktace.

Rozporuplné výsledky byly zaznamenány, pokud jde o bachoru biodegradaci AFB<sub>1</sub>. Někteří autoři zjistili, že až 42% AFB<sub>1</sub> je degradováno při inkubaci *in vitro* z bachorové tekutiny, zatímco jiní neviděli žádnou zásadní degradaci. Některé metabolity aflatoxinů, jako jsou aflatoxicol a aflatoxin M<sub>1</sub>, byly detekovány v bachorém obsahu. Nicméně dobře kontrolované studie *in vitro*, které byly navrženy tak, aby simulovaly bachorové podmínky, za použití <sup>14</sup>C-AFB<sub>1</sub> ukázaly, že bachorové mikroby vyrábí pouze aflatoxicol (Diaz, 2005).

## 4.6 Význam aflatoxinů

Aktuální problém aflatoxikóz je obzvláště u prasat. Podáváním vysokých dávek aflatoxinu B<sub>1</sub> (10 mg/kg<sup>-1</sup> tělesné hmotnosti), je zpravidla úhyn zvířete vyvolán do 24 hodin. K intoxikacím dochází, pokud jsou podávány menší dávky aflatoxinů (<6 mg/kg<sup>-1</sup> tělesné hmotnosti), k úhynům však dochází jen zřídka. Klinické změny zdravotního stavu nevyvolávají dávky < 0,1 mg/kg<sup>-1</sup>. Přijímá-li zvíře spolu s aflatoxinem i ochratoxin, dochází k synergismu (zesílení jejich účinnosti), který se projevuje snížením hmotnosti, snížením srážlivosti krve a zvětšováním krvavých podlitin (Kalač a Míka, 1997)

Je známo, že více citlivá jsou k účinkům aflatoxinů mladá nebo březí zvířata, spolu se zvířaty, u kterých probíhá laktace. Obecně platí, že samci jsou citlivější na

aflatoxin než samice. Významným poznatkem je, že při dlouhodobějším příjmu aflatoxinu u kanců a samců krys, jsou vyvolávány histologické změny ve varlatech různého stupně – dystrofie buněk spermiogenního epitelu (Piskač *et al.*, 1985).

Kalač a Míka (1997) uvádí, že vysokoprodukční dojnice spolu s mladými zvířaty jsou na aflatoxiny velmi citlivá. Dále zmiňují, že velmi citlivá jsou i selata a březí prasnice. Odolnějším druhem vůči aflatoxinům je dospělý skot, který ale nerad přijímá zaplísněná krmiva. K infekčním onemocněním jsou nejvýmavější kuřata, která jsou krmena aflatoxiny. Zvířata jsou variabilně náchylná na aflatoxiny v závislosti na faktorech, jako je věk, druh, plemeno, pohlaví, výživa (Dhanasekaran *et al.*, 2011).

U koní probíhá pouze akutní forma onemocnění. Klinickými příznaky onemocnění jsou horečka, ataxie, anorexie, koliky, křeče a onemocnění končí smrtí. Zjištěno také bylo poškození jater s nástupem ikteru, alterace jaterního biochemického profilu a hemoragický zánět střev.

U skotu známe formu akutní otravy, která probíhá pod obrazem akutního hepatotoxického účinku, který je doprovázen rozvojem hemoragického syndromu. Dále forma perakutní otravy, kterou zjišťujeme podle příznaků, jako jsou krváceniny, krvavý průjem a náhlý úhyn. Subakutní otrava může vést k hepatálnímu selhání, který je doprovázen ikterem. Mezi další příznaky patří anorexie, ataxie, aborty, slabost, svalový třes, snížená motilita bachoru, gastroenteritidy, až případně úhyn. Nejčastější onemocnění je chronická subklinická toxikóza, při které dochází k nižší intenzitě růstu, ke snížení konverze krmiva, ke zhoršené srsti – hrubá a nekvalitní, ke zhoršení kvality mléka a poškození jater.

U prasat klinické příznaky reprezentují sníženou intenzitu růstu, zhoršenou konverzi krmiva. Po příjmu vysokých dávek aflatoxinu následuje anorexie, deprese, slabost až vyčerpání, dyspnoe, zvracení, průjem s příměsí krve, epistaxis a ikterus.

U drůbeže dochází k poruchám vývoje a růstu mláďat, ke zhoršené konverzi krmiva, nedostatečným hmotnostním přírůstkům, k poklesu snášky, a také k poruchám líhnivosti násadových vajec (Svobodová *et al.*, 2008).

Tab. č. 13: Limity aflatoxinu B<sub>1</sub> v krmivech určená pro zvířata (Florián, 2013)

Krmiva	mg/kg <sup>-1</sup>
Krmné suroviny	0,020
Ostatní komplexní a doplňková krmiva	0,010
Krmiva pro dojnice a telata, ovce pro produkci mléka a jehňata, kozy pro produkci mléka a kůzlata, pro selata a mláďata drůbeže	0,005
Krmiva pro skot (mimo dojnic a telat), ovce (mimo ovčí pro produkci mléka a jehňat), kozy (mimo kozy pro produkci mléka a kůzlat, prasata (mimo selata) a dospělou drůbež	0,020

## 4.7 Zdravotní význam aflatoxinů

Aflatoxiny mohou u člověka způsobit onemocnění, jako je zánět jater, primární hepatom, kwashiorkor nebo Reyův syndrom (Suchý a Herzig, 2005).

### 4.7.1 Aflatoxikóza

Pokud přijímá organismus nadměrný příjem aflatoxinů, vzniká otrava zvaná aflatoxikóza. Aflatoxikózu můžeme rozdělit na akutní nebo chronickou. Akutní aflatoxikóza může vzniknout nadměrnou intoxikací, která je vyvolána jednorázovým příjmem velkého množství aflatoxinů nebo příjmem aflatoxinů během krátké doby. Nejzávažnějším následkem je částečné poškození jater, které může vyvolat i selhání jejich funkce. Chronická aflatoxikóza může vzniknout, když organismus přijímá aflatoxiny dlouhodobě, nejčastěji z potravin, které jsou kontaminovány plísněmi. Nejzávažnějším následkem je cirhóza jater (Pohanka, 2008).

Aflatoxikózou v Keni onemocnělo 97 lidí z obilí, které bylo kontaminováno aflatoxiny. Přežilo pouze 46 lidí. Mezi klinické příznaky u těchto lidí se řadilo nažloutlé oční bělmo, lidé měli žaludeční křeče a zvraceli, byli vysílení, hubení až nastalo bezvědomí a smrt (Suchý a Herzig, 2005).

#### **4.7.2 Toxická hepatitida (Hepatitis toxica)**

Aflatoxiny, jako téměř každé hepatotoxiny, mohou způsobovat poškození jater, při jejich chronickém působení, které mají charakter zánětu. Takto mohou působit i jiné hepatotoxické mykotoxiny, jako jsou například cyklochlorotin nebo luteoskyrin. Toxická hepatitida u lidí se vyskytuje v rozvojových zemích či v chudých vrstvách. U hospodářských zvířat je toto onemocnění častější (Šimůnek, 2004).

#### **4.7.3 Primární hepatom**

Primární hepatom je nejčastějším nádorem jater, který má vztah k nosičství viru infekční hepatitidy B. Po prodělání infekční hepatitidy B je zvýšené riziko ke karcinomu jater až dvacetinásobné. Tento virus můžeme považovat za jeden z prokázaných lidských onkovirů, který k onkogenezi vyžaduje přítomnost karcinogenní látky, kterou je v tomto případě velice často aflatoxin. Je prokázán vzájemný vztah mezi aflatoxiny v potravě a v lidském séru, dále je také popsán přechod aflatoxinů skrz placentu do plodu a do mateřského mléka. V tropických rozvojových zemích se nacházejí nejvyšší hodnoty aflatoxinů v lidských biologických materiálech (Šimůnek, 2004).

#### **4.7.4 Kwashiorkor**

Nejvíce se toto onemocnění vyskytuje v rozvojových zemích, kde lidé trpí hladomorem. Kwashiorkor popisujeme jako výživovou dysbalanci, kdy ve stravě schází dostatek plnohodnotných bílkovin. V Etiopii a dalších zemích probíhal výzkum, při kterém byl zjištěn velmi úzký vztah mezi výskytem tohoto onemocnění a příjmem aflatoxinů v potravě, zejména u dětí. Aflatoxiny v potravě i v tělních tekutinách, jako je krev a moč, byly zjištěny ve významném množství u těch nejtěžších forem kwashiorkoru. Při výzkumech, které probíhaly v subsaharských afrických zemích, byly prokázány u části populace aflatoxiny v mateřském mléku a také v pupečnickové krvi novorozenců (Šimůnek, 2004).



#### 4.7.5 Reyův syndrom

Dvořáčková *et al.* (1974, 1979) považují aflatoxin B<sub>1</sub> za jeden z možných etiologických faktorů tzv. Reyova syndromu dětí. Jedná se o akutní onemocnění, u kterého je charakteristický edém mozku a poškození funkce jater (Šnajdr, 2012). Je to prakticky polyetiologický chorobný stav, který mohou vyvolávat různé noxy, jako jsou léčiva (Acylpyrin), jedy a virové infekce. Dále se uvádí i možná dědičná dispozice. Je dokázáno, že u řady kojenců obzvláště do 6 měsíců věku, ale i do jednoho roku, krmených umělou výživou, jsou aflatoxiny jedním ze základních etiologických faktorů. Onemocnění charakterizuje rychlý přechod do těžkého bezvědomí po hořčnatém onemocnění, které má nespecifické příznaky podobající se viróze. Příčinou smrti je těžké postižení jater a mozku v době komatu (Šimůnek, 2004).

Malíř *et al.*, (2003) uvádí, že reyův syndrom má dvě stádia onemocnění. Při první fázi se vyskytují běžné respirační onemocnění. Při druhé fázi, která nastává většinou za několik hodin, se onemocnění vyznačuje zvracením a průjmy. Dále se objevují neurologické příznaky jako křeče a končí smrtí.

## 5. Dekontaminace mykotoxinů

### 5.1 Fyzikální způsoby

1) Fyzikální způsoby dekontaminace mykotoxinů v krmivech:

- ➔ může být použit tepelný rozklad, který se však dá využít pouze u termolabilních mykotoxinů. Tepelný rozklad závisí na druhu mykotoxinu, důležitým faktorem je také výše teploty, procentuální obsah vody v krmivu a také záleží na délce expozice. Mezi termostabilní mykotoxiny patří aflatoxiny, fumonisiny, ochratoxiny, kyselina penicillová a zearalenon. Mezi termolabilní mykotoxiny se řadí citrinin a patulin.
- ➔ dalšími způsoby, které mohou být použity, jsou autoklávování nebo extruze, což je tepelný rozklad za vysokého tlaku
- ➔ využití rozkladu pomocí UV záření nebo ionizujícího záření, které působí hlavně na aflatoxiny

- ➔ sorbenty – jsou to minerální látky, které jsou schopné absorbovat nebo vázat molekuly mykotoxinů. Tyto molekuly nemohou být ze střev absorbovány a stráveny. Jako sorbenty se používá aktivované živočišné uhlí, minerální jíly nebo syntetické zeolity.
- ➔ mezi další fyzikální způsoby patří mechanické odstranění všech nečistot ve skladovacích prostorech, kdy je zapotřebí odstranit všechny zbytky krmiv, zrnin a prachu. Opracováním zrnin se zmenšuje možnost napadení plísněmi, snaha o odstranění malých zrn, o čištění zrn, kdy v pokusu, díky čištění surové kukuřice, byl snížen obsah toxinů o 32% (Tvrzník *et al.*, 2007)

Využívanou metodou je metoda absorpce, kdy se do této skupiny řadí dva typy výrobků – jíly a MOS (modifikovaný mannan oligosacharid). Nejvýznamnější skupiny jílu tvoří hydratované sodnovápenaté křemičitany hlinité (HSCAS). U HSCAS jílu musí být zmíněno o jaký typ jde, např. bentonit, chlorit, illit, kaolinit, montmorilonit, sepiolit, zeolit, atd. Pouze některé z nich absorbují mykotoxiny. U jílu (HSCAS), které mají záporný náboj, dochází k absorbování aflatoxinu. Tyto jíly jsou běžně dostupné. Některé z jílu mají však dipolární náboj, čímž jsou schopné absorbovat větší množství mykotoxinů – aflatoxiny, ochratoxiny i některé fuzáriové toxiny. Dipolarita těchto jílu je aktivována, až v zaživacím traktu zvířat, kde je v závislosti na kyselosti prostředí (Tamames a Zaviezo, 2003).

## 5.2 Chemické způsoby

2) Chemické způsoby dekontaminace mykotoxinů v krmivech:

- ➔ amonizace je nejčastěji zmiňovanou metodou chemické dekontaminace, kdy dochází k ošetření kontaminovaného krmiva za použití plynného amoniaku nebo hydroxidu amonného. K dekontaminaci aflatoxinů používají tuto metodu ještě v některých státech Spojených států amerických. Nevýhodou této metody je, že u ošetřovaných plodin nebo krmiv, ovlivňuje negativně jejich senzorické vlastnosti.
- ➔ další metodou je využití disiřičitanu sodného, u kterého bylo zjištěno, že poměrně účinně snižuje koncentrace deoxynivalenolu u ošetřovaných plodin či krmiv

- ozonizace je způsob, který se využívá pro dekontaminaci mykotoxinů u olejnin. Výsledky studií ukazují, že ozón je schopen degradace aflatoxinů, deoxynivalenolu, ochratoxinu A, patulinu a dalších mykotoxinů (Svobodová *et al.*, 2008)
- dále se dají použít některé z antifungálních prostředků, jako je například bezvodný čpavek nebo kyselina propionová. V dekontaminačním efektu je více účinnější bezvodný čpavek než kyselina propionová. Pro úspěšnost dekontaminace musí být jejich koncentrace velmi vysoká (Doležal *et al.*, 2005)

### 5.3 Biologické způsoby

3) Biologické způsoby dekontaminace mykotoxinů v krmivech:

- jedním z biologických způsobů, který může být využit, jsou antagonistické mikroorganismy a jejich produkty, do kterých například patří kvasinkové kultury, jako jsou *Saccharomyces cerevisiae* nebo pивní kvasinky
- dále lze použít produkty buněčných stěn kvasinek, kdy se používají oligosacharidy, které jsou především ze skupiny glukomananů
- dalším biologickým způsobem dekontaminace je použití bakteriální kultury *Lactobacillus*, kdy například *Lactobacillus rhamnosus* má schopnost vázání aflatoxinů a trichothecenů
- mykotoxiny, jako jsou například zearalenon nebo T-2 toxin mohou v krmivu částečně vázat obsah vlákniny
- účinkem kvasinek rodu *Saccharomyces* probíhá alkoholické kvašení, při kterém se rozkládá patulin (Suchý a Herzig, 2005)

Biologické metody tzv. biotransformace jsou procesy, při kterých dochází k chemickým změnám ve struktuře toxinů za pomoci živých organismů. Chemické biotransformace jsou schopné například buňky plic, ledvin nebo střev. K biotransformaci jsou využívány dvě skupiny látek – enzymy nebo bakterie.

Zvířata k ochraně proti mykotoxinům využívají svůj přirozený enzymatický systém. Největším problémem je, že biotransformací mohou vzniknout produkty, které však budou mít stejnou toxicitu, jako mají původní mykotoxiny. Účinnost

enzymů však záleží na podmínkách v zažívacím traktu, jako je kyselost, ostatní endogenní enzymy a některé složky krmiva. Komerčně se nejvíce využívají výrobky, které jsou zkombinovány z jíly a enzymů. Jíly v těchto výrobcích mají za účel adsorpci aflatoxinů a enzymy, mezi které patří epoxidáza a esteráza, mají za účel biotransformovat trichotheceny a zearalenon, které jsou nepolárními mykotoxiny.

Bakterie patří mezi přirozené mechanismy biotransformace, která probíhá prostřednictvím aktivity anaerobních bakterií, nacházejících se ve spodní části zažívacího traktu. Může se využívat kombinace s jíly. K transformaci mykotoxinů se používají bakterie, které jsou uměle přidané. I zde může proces biotransformace mít za příčinu produkci toxických metabolitů (Tamames a Zaviezo, 2003).

## **5.4 Používané eliminační látky**

V České republice je na trhu několik přípravků pro boj proti mykotoxinům, např. Co-bind A-Z, Fortisorb Phyto, Mycofix plus, Neutox, Toxfin dry, T5X, Viatoss.

Fortisorb Phyto je novým přípravkem firmy Delacon. Tento přípravek kombinuje několik účinných složek. Absorbuje mykotoxiny, posiluje imunitní systém a chrání jaterní parenchym. Základní látkou obsaženou v tomto přípravku je purifikovaný a aktivovaný fylosilikát, který je ověřenou prevencí toxických účinků mykotoxinů, především však zearalenonu, T-2 toxinu, fumonisinu a deoxynivalenolu. Stimulační účinky, na nespecifický imunitní systém zvířat, vyvolávají v přípravku Fortisorb Phyto deriváty buněčných stěn. Jsou používány proti imunopresi, kdy dochází ke zhoršení zdravotního stavu, snižování účinnosti vakcín, nižší užitkovosti, čímž dochází ke zvýšené spotřebě léků. Důsledkem pak jsou ekonomické ztráty. Dále je doplněn fytochemickými látkami, které mají hepatoprotektivní, protizánětlivé a antibakteriální účinky. Tyto látky zajišťují synergické působení účinných látek pro ochranu a regeneraci jaterních buněk, doplňují ochranu organismu před negativním působením mykotoxinů a rychleji obnovují jaterní funkce po zátěži organismu. Díky svému složení Fortisorb Phyto nabízí vysokou účinnost a celkové řešení v prevenci negativních dopadů mykotoxinů na zdraví hospodářských zvířat a jejich užitkovost. Tím zlepšuje i ekonomiku jejich produkce (Stryk, 2015).

Mycofix Plus je produkt, který představuje souhrn několika účinných strategií boje, proti negativním účinkům mykotoxinů. Zajišťuje absorpci proti absorbovatelným mykotoxinům a jejich účincích, dále biotransformaci proti neabsorbovatelným a částečně absorbovatelným mykotoxinům a jejich účincích, ale i bioochranu díky výtažkům z bylin a mořských řas, které slouží k podpoře imunitního systému a činnosti jater, způsobené narušením účinků mykotoxinů. Výzkum ukázal, že v chovu se 400 telaty a 3200 dojnícemi došlo ke snížení výskytu mastitid a metritid potom, co byl použit Mycofix Plus v průměru o 30%, při krmení kontaminovaného krmiva deoxinivalenolem a zearalenonem. V jiném pokusu byly sledovány účinky Mycofixu Plus na počet somatických buněk u krav, které přijímaly kontaminované krmivo více druhů mykotoxinů. Výsledkem bylo snížení negativních účinků mykotoxinů obsažených v kontaminovaném krmivu, s čím tedy souviselo i snížení počtu somatických buněk v mléce (Pavelková, 2013).

## 6. Závěr

Předložená práce shrnuje základní charakteristiku plísní a mykotoxinů, nejvýznamnější druhy, jejich rozdělení, výskyt, biologické účinky, ale také jejich diagnostiku a dekontaminaci a používané eliminační látky pro krmiva zvířat. V této době je mykotoxinům věnována relativně velká pozornost a to nejen kvůli negativním účinkům na zvířata, ale také na lidskou populaci. Proto jsou stanové limity v potravinách a krmivech.

Mezi preventivní opatření proti mykotoxinům můžeme zařadit spoustu faktorů. Vybíráme si vhodné plodiny pro pěstování, správné předplodiny. Dále můžeme používat fungicidy a volit vhodnou prevenci pro poléhání porostů. Musíme provádět včasné sklizně ve správné době a hlavně plodiny uskladňovat v čistých, vyklizených a hlavně vyčištěných prostorách od zbytků předešlých uskladněných plodin a zrn. Snažíme se zamezit i poškození plodin hmyzem, kvůli kterému vlivem destrukce zrna také často dochází k sekundární kontaminaci mykotoxiny.

V neposlední řadě lze využít i fyzikální, chemické a biologické metody pro dekontaminaci mykotoxinů. Nejvíce používané jsou v této době vyvazovače mykotoxinů, které ale po vyhodnocení aplikovaného výzkumu nejsou tak účinné jak se očekávalo.

## 7. Seznam použité literatury

- AIKO V., MEHTA A. (2015): Occurrence, detection and detoxification of mycotoxins, *Journal of Biosciences*, 40 (5): 943 - 954
- ALLEN N.K., MIROCHA C.J., AAKHUS A.S., BITGOOD J.J., WEDNER G., BATES F. (1981): Effect of dietary zearalenone on reproduction of chickens, *Poultry Science* 60, 1165 – 1174
- ANFOSSI L., GIOVANNOLI C., BAGGIANI C. (2016): Mycotoxin detection, *Current Opinion in Biotechnology*, 37: 120 - 126
- ARORA R.G., APPELGREN L.E., BERGMAN A. (1978): Distribution of (<sup>14</sup>C) labelled aflatoxin B1 in mice, *Acta pharmacol. Toxicol.*, 43: 273 – 279
- BÁRTA I., ADÁMKOVÁ M., MARKARJAN D., ADŽIGITOV F., PROKEŠ K. (1984): The mutagenic activity of aflatoxin B1 in the *Cricetulus griseus* hamster and *Macaca mullata* monkey, *J. Hyg. Epid. Microbiol. Immunol.*, 28: 149 - 159
- BENNETT J.W., KLICH M. (2013): Mycotoxins, *Clin Microbiol Rev.* 16/3: 497 - 516
- BETINA V. (1990) : Mykotoxíny: chémia - biológia – ekológia, Edícia potravinárskej literatúry, Alfa, Bratislava, 284
- BORISSOVA L., DUPARINOVA M., ALEKSANDROV M., TAČEVA T., DŽUROV A., TICHOVA D. (1987): Eksperimentalno vzproizveděna aflatoxikoza při brojleri, *Veterinararmedicinski nauky*, Sofia 24: 69 - 75
- BRIMER L. (2011): Mycotoxins In: BRIMER L., Chemical food safety, Cambridge, CABI, 151 - 163
- BROWN M.H., SZCZECH G.M., PURMALIS B.P. (1976): Teratogenic and toxic effects of ochratoxin A in rats, *Toxicol. Appl. Pharmacol* 37: 331 - 338
- BUKOVJAN K., BUKOVJANOVÁ E., PROŠEK J. (1988a): Hodnoty aflatoxinu B1 a patologické nálezy u ulovené drobné zvěře, *Zpráva lesnického výzkumu* 33: 19 - 21

- BUKOVJAN K., PÁV J., PROŠEK J. (1988b): Aflatoxikoza – méně známé onemocnění drobné zvěře, *Myslivost* 38, 7: 151
- BUKOVJAN K., PROŠEK J., BUKOVJANOVÁ E. (1990): Preliminary Results of the Aflatoxin B1 Content in Liver Tissue in the Hare (*Lepus europaeus* Pall), *Československá hygiena* 35, 1: 13 – 18
- BUKOVJAN K., BUKOVJANOVÁ E., FOJTÍK P., DVOŘÁK M., MATOUŠKOVÁ E. (1991): Biochemické parametry krevní plazmy zaječí zvěře (*Lepus europaeus* Pall.) I. Jatení transferázy (AST, ALT,GGT), *Biopharm I.*, 5, 175 – 182
- BUKOVJAN K., HALLMANNOVÁ A., KARPENKO A. (1992): Konzetration von Aflatoxin B1 in den Organen des freilebenden Wildes, *Fleischwirtschaft* 72
- BUKOVJAN K. (1992): Sledování zdravotního stavu zajíce polního (*Lepus Europaeus* pall.) na ústavních modelových lokalitách. [Kandidátská disertační práce]. Brno, Vysoká škola veterinární v Brně, Ústav chorob zvěře, ryb a včel
- CLARK J.D., JAIN A.V., HATCH R.C., MAHAFFEEY E.A. (1980): Experimentally induced chronic aflatoxicosis in rabbits, *Am. J. Vet. Res.* 41, 1841 - 1845
- DHANASEKARAN D., SHANMUGAPRIYA S., THAJUDDIN N., PANNEERSELVAM A. (2011): Aflatoxins and aflatoxikosis in Human and Animals, *Aflatoxins – Biochemistry and molecular Biology*
- DIAZ D.E. (2005): The mycotoxin Blue Book, Nottingham, United Kingdom, 360
- DI PAOLO J.A., ELIS J., ERWIN H. (1969): Teratogenic response by kamsters, rats and mice to aflatoxin B1, *Nature* 215: 638 – 639
- D'MELLO J.P.F. (2000): Anti-nutritional factors and mycotoxins, In: D'MELLO (ed.): Farm animal metabolism and nutrition, CABI, New York: 383 - 404
- DOLEŽAL P., DVOŘÁČEK J., ZEMAN L. (2005): Omezení výskytu plísní v krmivech a jejich negativního vlivu na zdraví zvířata, *Krmivářství*, 3: 15 - 18
- DVOŘÁČKOVÁ I., BRODSKÝ F., CERMAN J. (1974): Aflatoxin – možný faktor jaterních poškození u dětí, *Československá hygiena*, 19: 211 – 216



- DVOŘÁČKOVÁ I., PROKOŠ C. (1979): Reye's syndrome in the newborns Reye's Syndrome II., edit. J. F. S. Crocker, Grune and Stratton, 319 – 338
- ELIS J., DI PAOLO A. (1967): Aflatoxin B1: Induction of malformations, *Arch. Path.* 83: 53 - 57
- EMEH OBI C., ELMER MARTH H. (1978): Degradation of Rubratoxin by *Penicillium rubrum*, *Mycologia* Vol. 70, 196 – 199, Published by: Mycological Society of America
- FINK – GREMMELS J. (2008): The impact of mycotoxins in animal feeds, In: LESLIE J.F., BANDYOPADHYAY R., VISCONTI A., *Mycotoxins: detection methods, management, public health and agricultural trade*, Cambridge, CABI: 155 - 170
- FLORIÁN M. (2013): Systém kontroly a monitoringu mykotoxinů v krmivářské praxi, ÚKZÚZ Brno, [online]. [cit. 9.3.2016]. Dostupné z: [http://eagri.cz/public/web/file/232491/FLorian\\_Mykotoxiny\\_2013.pdf](http://eagri.cz/public/web/file/232491/FLorian_Mykotoxiny_2013.pdf)
- FRISVAD J.C., THRANE U. (2002): Mycotoxin production by common filamentous fungi In: SAMSON R.A., HOEKSTRA E.S., FRISVAD J.C., FILTENBORG O. (eds.), *Introduction to Food and Airborne Fungi*, 6<sup>th</sup> ed. Centralbureau vor Schimmelcultures
- FUKAL L., PROŠEK J., SOVA Z. (1987): Frekvence výskytu aflatoxinů v arašidech a jiných ořechovinách, *Československá hygiena*, 32, 3, 164 – 167
- FUKAL L., REISNEROVÁ H., SOVA Z., SLÁMOVÁ A., BÁRTA I. (1988): Rychlé vymizení aflatoxinu B1 z organismu křečka, nosnic a kuřat, *Biol. Chem. Vet.*, Praha, 24, 4: 369 - 375
- GELDERBLOM W.C.A., JASKIEWICZ K., MARASAS W.F.O., THIEL P.G., HORAK M.J., VLEGGAAR R., KRIEK N.P.J. (1988): Fumonisin – Novel mycotoxins with cancer promoting activity produced by *Fusarium moniliforme*, *Applied and Environmental Microbiology* 54, 1806 - 1811

- GRECO M.V., FRANCHI M.L., RICO GOLBA S.I., PARDO A.G., POSE G.N. (2014): Mycotoxins and mycotoxigenic fungi in poultry feed for food-producing animals, *Scientific World Journal*, 2014
- HAJŠLOVÁ J., MALACHOVÁ A., ZACHARIÁŠOVÁ M., KOSTELÁNSKÁ M., KOCOUREK V. (2010): Kontaminace vybraných surovin mykotoxiny, Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha, 56
- HAVLÍČEK Z. a kolektiv (2014): Zdravotní bezpečnost krmiv, stájové prostředí a výskyt mastitid, Mendelova univerzita v Brně, Brno, 264
- HARRISON L.R., COLVIN B.M., GREEN J.T., NEWMAN L.E., COLE J.R. (1990): Pulmonary edema and hydrothorax in swine produced by fumonisin B1, a toxic metabolite of *Fusarium moniliforme*, *Journal of Veterinary Diagnostic Investigations* 2, 217 – 221
- HARTLOVÁ D., POLSTER M. (1982): Frekvence výskytu aflatoxinů a jejich plísňových producentů v poživatinách příbramského okresu, *Československá hygiena*, 27, 259 – 264
- IARC (International Agency for Research on Cancer) (1993): Aflatoxins, IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: Some Naturally Occurring Substances: Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins 56: 245 - 395
- IARC (2002): Fumonisin B1, IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: Some Traditional Medicines, Some mycotoxins, Naphthalene and Styrene 82, 301 – 366
- ILLEK J. (2005): Mykotoxikózy u skotu, *Krmivářství* 3, 24 – 25
- JECFA (2001): Safety evaluation of certain mycotoxins in food, FAO Food and Nutrition Paper 74/WHO, *Food Additive Series* 47, 281 – 415
- KALACĚ P., MÍKA V. (1997): Přírodní škodlivé látky v rostlinných krmivech, Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha, 322
- KALHOTKA L. (2014): Mikromycety – vláknité mikromycety (plísně) a kvasinky – v prostředí člověka, Mendelova univerzita v Brně, Brno, 78

- KALHOTKA L. (2014): Potravinářská mikrobiologie pro zahradnickou fakultu, Díl 2., Speciální část, Mendelova univerzita v Brně, Agronomická fakulta, 66
- KELLERMAN T.S., MARAS W.F.O., THIEL P.G., GELDERBLOM W.C.A., CAWOOD M., COETZER J.A.W. (1990): Leukoencephalomalacia in two horses induced by oral dosing of fumonisin B1, *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* 57, 269 – 275
- KŘÍŽ H. (1969): Studium některých vlastností plísňe *Aspergillus flavus* vzhledem k aflatoxikózám drůbeže, [Kandidátská disertační práce], VŠV Brno: 17 - 138
- KUMMER V., FALDÍKOVÁ L., HERZIG I., LÁNÍKOVÁ A. (2001): Účinky mykotoxinů na zdraví a reprodukci zvířat, diagnostika a prevence mykotoxikóz, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno, 43
- KUMMER V., FALDÍKOVÁ L. (2002): Účinky mykotoxinů na zdraví zvířat a reprodukci hospodářských zvířat, VÚVel Brno, [online], [cit. 1.3.2016]. dostupné z: <http://naschov.cz/ucinky-mykotoxinu-na-zdravi-a-reprodukcii-hospodarskych-zvirat/>
- LANCOVA K., HAJŠLOVÁ J., KOSTELÁNSKÁ M., KOHOUTKOVÁ J., NEDĚLNÍK J., MORAVCOVÁ H., VÁŇOVÁ M. (2008): Fate of trichothecene mycotoxins during the processing: Milling and baking, *Food addit. Contam.* 25
- LOJDA L., PETŘÍČKOVÁ V., BUREŠ J. (1976): Vliv různě vysokých koncentrací aflatoxinu B1 v potravě na chromozomální obraz prasat a krys, Souhrny přednášek IX. Výročního zasedání cytogenetické sekce Čs. Biologické společnosti ČSAV, Brno: 56 - 63
- MALÍŘ F., OSTRÝ V. a kolektiv (2003): Vlákňité mikromycety (plísně), mykotoxiny a zdraví člověka, Národní centrum ošetřovatelství a nelékařských zdravotnických oborů, Brno, 349
- MARVAN F. (1987): Vliv plísní a mykotoxinů v krmivech na plodnost In: Sborník „Reprodukční dny“, VŠZ Praha, 56 - 59
- MILANI J.M. (2013): Ecological conditions affecting mycotoxin production in cereals: a review, *Veterinární Medicína* 58 (8): 405 - 411
- MOHELSKÝ M. (2010): Krmiva pro koně a mykotoxiny, *Krmivářství* 3, 36 - 37

- MODRÁ H., SVOBODOVÁ Z. a kol. (2009): Speciální veterinární toxikologie, Veterinární a farmaceutická univerzita, Brno, 165
- MODRÁ H., SVOBODOVÁ Z., ŠIROKÁ Z., BLÁHOVÁ J. (2014): Toxikologie potravin – vybrané kapitoly, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Brno, 87
- NEDĚLNÍK J., NEČASOVÁ H. (2003): Kontaminace kukuřičných siláží mykotoxiny, Výzkumný ústav pícninářský Troubsko, *Krmivářství* 3, 35 - 38
- NEDĚLNÍK J., MORAVCOVÁ H. (2005): Problematika výskytu mykotoxinů v krmivech dojnice, Výzkumný ústav pícninářský, spol. s.r.o. Troubsko, *Veterinářství* 55, 214-219
- NEDĚLNÍK J., MORAVCOVÁ H., HONZLOVÁ A. (2006): Mykotoxiny v krmivech, *Krmivářství* 3: 18 – 23
- OSTRÝ V., RUPRICH J., ÜBERHUBEROVÁ M., (1997): Metodický návod pro dekontaminaci a rozklad vybraných mykotoxinů v laboratořích, Státní zdravotní ústav, Centrum hygieny potravinových řetězců, Brno, 88
- OSTRÝ V. (1998): Vlákňité mikroskopické houby (plísňe) mykotoxiny a zdraví člověka, Státní zdravotní ústav, Praha, 20
- OSTRÝ V. (2000): Mikroskopické vlákňité houby, *Vesmír* , 4, 187 – 189, [online], [cit. 15.3.2016]. dostupné z <http://casopis.vesmir.cz/clanek/mikroskopicke-vlaknite-houby>
- PATTERSON D.S.P., ROBERTS B.A. (1970): The in vitro reduction of aflatoxin by livers of certain avian and mammalian species, *Food Cosmet. Toxicol.*: 527 – 538
- PATTERSON D.S.P. (1973): Metabolism as factor in determining the toxic action of the aflatoxins in different animal species, *Food Cosm. Toxicol.* 11: 287 - 299
- PAVELKOVÁ D. (2013): Eliminace výskytu mykotoxinů a jejich vliv na výskyt metabolických poruch u zvířat, *Krmivářství* 3, 16 – 18
- PÁV J., BUKOVJAN K. (1989): Vliv zdravotního stavu na kvalitu srnčí zvěře, Závěrečná zpráva úkolu A 12-331-814/03, VÚLHM: 21 - 68

- PFOHL-LESZKOWICZ A., MANDERVILLE R. (2007): Ochratoxin A, An overview on toxicity and carcinogenicity in animals and humans, *Molecular Nutrition and Food Research* 51, 61 - 99
- PIER A.C. (1973): Effect of aflatoxin on immunity, *J. Amer. Vet. Med. Ass.* 163: 1268 - 1269
- PÍCHOVÁ D., PÍCHA J., VEREŠ K., DOLEŽALOVÁ V. (1981): Stanovení aflatoxinu B1 v krmivech a biologickém materiálu RIA postupem pomocí vlastních specifických protilátek a ligandu <sup>125</sup>I pro potřeby živočišné výroby, Realizační výstup DÚ vi-5-6/14, VÚŽV Praha: 1 – 23
- PÍCHOVÁ D., PÍCHA J., VEREŠ K. (1985): Rezidua aflatoxinu B1 v biologickém materiálu, *Biol. Chem. Vet.* 21: 169 - 171
- PÍCHOVÁ D., PÍCHA J., VEREŠ K., DVOŘÁK M., KOLOUCH F., VÁŇOVÁ L. (1986): Biochemické ukazatele a rezidua ve tkáních králíků při podávání aflatoxinu B1 a v krmivech a jejich ovlivnění druhově specifickými protilátkami, *Biol. Chem. Vet.* 22
- PITT J.I. (2000): Toxigenic fungi and mycotoxins, *British Medical Bulletin*, 56 (1): 184 – 192
- PISKAČ A., KAČMÁR P. (1985): Veterinární toxikologie, Státní zemědělské nakladatelství, Praha, 254
- POHANKA M.: Aflatoxiny [online]. [cit. 6.3.2016]. Dostupné z: <http://www.toxicology.cz/modules.php?name=News&file=article&sid=177>
- POLSTER M. (1971): Toxinogenní plísně a mykotoxiny v potravinách, Ústav pro další vzdělávání středních zdravotnických pracovníků, Brno
- POLSTER M. (1975): Mykotoxiny, Přednáška pro brněnskou pobočku ČSVSM, Brno
- RADOVÁ-SYPECKÁ Z., HAJŠLOVÁ J. (2003): Incidence mykotoxinů v cereáliích produkovaných v ČR, vazba na agrotechnická opatření, Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha, 51

- RAMOS A.J., LABERNIA N., MARIN S., SANCHIS V., MAGAN N. (1998): Effect of water activity and temperature on growth and ochratoxin production by these strains of *Aspergillus ochraceus* on a barley extract medium and on barley grains, *International Journal of Food Microbiology* 44, 133 – 140
- RIOS C. (2015): *Mycotoxins: Occurrence, Toxicology and Management Strategies*, Nova publishers, New York: 1 - 217
- ROB O. (1984): Studium faktorů ovlivňujících reprodukci skotu, [Doktorská disertační práce II.], VŠZ Praha: 115 – 153
- ROB O., RŮŽIČKA V., MARVAN F., JIRAN E. (1987): Faktory negativně ovlivňující reprodukci v okrese Mělník, Závěrečná práce VII-4-9/10.2, VŠZ Praha: 80
- SANCHIS V., MAGAN N. (2004): Environmental conditions affecting mycotoxins, In: MAGAN N., OLSEN M. (eds.) *Mycotoxins in food: Detection and Control*, CRC Press, Boca Raton, 496
- SEDMÍKOVÁ M., REISNEROVÁ H. (2003): Mykotoxiny v krmivech I. Část – mikroskopické houby jako producenti mykotoxinů, *Krmivářství*, 5: 26
- SHEPHARD G.S., SYDENHAM E.W., THIEL P.G., GELDERBLOM W.C.A. (1990): Quantitative determination of fumonisins B1 a B2 by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection, *Journal of Liquid Chromatography* 13, 2077 – 2087
- SOVA Z., TREFNÝ D., MARVAN F., PÍCHOVÁ D. (1982): Rezidua aflatoxinu B1 ve tkáních hus při nízkých koncentracích aflatoxinu v krmné směsi, *Biol. Chem. Vet.* 18: 529 – 533
- SOVA Z., REISNEROVÁ H., FUKAL L., POHUNKOVÁ H., VOŘÍŠEK J. (1989): Rostoucí folikuly v ovariích nosnic po jednorázové aplikaci 10 mg aflatoxinů, *Biol. Chem. Vet.* 25, 3: 259 - 265
- SPEED R.M. (1988): The possible role of meiotic pairing anomalies in the atresia of human fetal oocytes, *Hum. Genet.* 78: 260 – 266

- STRYK J. (2015): Mykotoxiny plísni rodu *Fusarium* – rizika spojená s jejich zvýšenou koncentrací v krmivech, *Krmivářství* 3: 23 - 25
- STUBBLEFIELD R.D., PIER A.C., RICHARD J.L., SHOTWELL O.L. (1983): Fate of aflatoxins in tissues, fluids and excrements from cows dosed orally with aflatoxin B1, *Am. J. Vet. Res.* 44, 1750 - 1753
- SUCHÝ P., HERZIG I. (2005): Plísňe a mykotoxiny, prevence jejich vzniku a dekontaminace v krmivech, Vědecký výbor zvířat, Praha, 25
- SVOBODOVÁ Z., a kolektiv (2008): Veterinární toxikologie v klinické praxi, Profi Press, Praha, 253
- SWEENEY M.J., DOBSON A.D.W. (1998): Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species, *International Journal of Food Microbiology* 43, 141 – 158
- ŠILHA J. (2005): Nepodceňujme nebezpečí vzniku mykotoxinů v předkládaných krmivech, *Myslivost* 12: 38
- ŠIMŮNEK J., BŘEZINA P. (1996): Mykotoxiny, Vysoká vojenská škola pozemního vojska, fakulta ekonomiky obrany státu, Vyškov, 70
- ŠIMŮNEK J. (2004): Plísňe a mykotoxiny, [online]. [cit. 12.3.2016]. Dostupné z: [http://www.med.muni.cz/dokumenty/pdf/plisne\\_a\\_mykotoxiny.pdf](http://www.med.muni.cz/dokumenty/pdf/plisne_a_mykotoxiny.pdf)
- ŠNAJDR M. (2012): Reyův syndrom – příznaky, projevy, symptomy, [online]. [cit. 6.3.2016]. Dostupné z: <http://www.priznaky-projevy.cz/pediatric/reyv-syndrom-priznaky-projevy-symptomy>
- ŠTĚPÁN R., CUHRA P. (2013): Kontrola mykotoxinů v potravinách, *Krmivářství* 3, 22
- TAMAMES F., ZAVIEZO D. (2003): Dva přístupy v kontrole mykotoxinů adsorpce verusu biotransformace, *Krmivářství*, 2: 28 - 29
- TICHÁ J. (1988): Mikroorganismy a jiní škůdci v mlýnskopekárenském průmyslu a ochrana proti nim, Státní nakladatelství technické literatury, Praha, 151

- TUREK B., GREGAROVÁ-MATYÁŠOVÁ J. (1982): K výskytu aflatoxinů v poživatinách, *Československá hygiena* 27, 270 – 274
- TURNER P.C., SYLLA A., DIALLO M.S., CASTEGNARO J.J., HALL A.J., WILD C.P. (2002): The role of aflatoxins and hepatitis viruses in the etiopathogenesis of hepatocellular carcinoma: A basis for primary prevention in Guinea-Conakry, West Africa, *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 17: 5441 – 5448
- TVRZNÍK P., ZEMAN L., SUCHÝ P., HERZIG I., HRAZIM J. (2007): Hodnocení rizik nežádoucích látek v krmivech, Vědecký výbor výživy zvířat, Praha, 98
- UENO Y. (1985): Toxicology of mycotoxins, *CRC Crit. Rev. Toxicol.*, 14 (2)
- VEREŠ K., SEDMERA P., VOKOUN J. (1980): Labelling of aflatoxin B1 and B2 with triticum, *Radiochem. Radional. Letters* 45: 413 – 417
- VEREŠ K., DOLEŽALOVÁ V., PÍCHOVÁ D. (1984): Amidické deriváty (O-karboxymethyl) oximu aflatoxiny B1 značené izotopem <sup>125</sup>I a způsob jejich přípravy, Autorské osvědčení, číslo 208440 ze dne 7. února 1984
- VONDRÁŠKOVÁ Š. (2011): Mykotoxiny In: Bezpečnost potravin [online]. [cit. 9.3.2016]. Dostupné z: <http://www.bezpecnostpotravin.cz/mykotoxiny.aspx>
- WAŚKIEWICZ A., GOLINSKI P. (2015): Mycotoxins in cereals and cereal products: Occurrence, toxicity and prevention, In: RIOS C., Mycotoxins: Occurrence, Toxicology and Management Strategies, Nova publishers, New York: 97 - 133
- WEIDENBÖRNER M. (2001): Encyclopedia of Food Mycotoxins, New York: Springer, 294
- WHO (World Health Organization) (2001): Safety evaluation of certain mycotoxins in food, WHO, Geneva, Switzerland
- ZEMAN L. (2006): Výživa a krmení hospodářských zvířat, Profi Press, Praha, 360
- ZINEDINE A., SORIANO J.M., MOLTO J.C., MAÑES J. (2007): Review on the toxicity, occurrence, metabolism, detoxification, regulations and intake of zearalenone: An oestrogenic mycotoxin, *Food and Chemical Toxicology* 45, 1 – 18



Webové zdroje:

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

[http://www.med.muni.cz/predmety/preventivni/MYKOTW/mtpr\\_idx.htm](http://www.med.muni.cz/predmety/preventivni/MYKOTW/mtpr_idx.htm)

## 8. Seznam použitých zkratek

AFB<sub>1</sub> – aflatoxin B<sub>1</sub>

AFB<sub>2</sub> – aflatoxin B<sub>2</sub>

AFG<sub>1</sub> – aflatoxin G<sub>1</sub>

AFG<sub>2</sub> – aflatoxin G<sub>2</sub>

AST – aspartátaminotransferáza

ALT - alaninaminotransferáza

a<sub>w</sub> – aktivita vody

CNS – centrální nervová soustava

DNA – deoxyribonukleová kyselina

ELISA – enzyme-linked immuno sorbent assay

FAO – food and agriculture organization

FB<sub>1</sub> – fumonisin B<sub>1</sub>

GC – plynnová chromatografie

GGT - gama-glutamyltransferáza

HPLC – vysokoúčinná kapalinová chromatografie

HPTLC – vysoce výkonná chromatografie na tenké vrstvě

HSCAS – hydratované sodnovápenaté křemičitany hlinité

IARC – mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny

JECFA - The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives

LD – smrtelná dávka (letalis dosis)

MOS – modifikovaný mannan oligosacharid

OTA – ochratoxin A

RIA – radio immuno assay

RNA - ribonukleová kyselina

TLC – chromatografie na tenké vrstvě

UV záření – ultrafialové záření

WHO – světová zdravotnická organizace

ZEA - zearalenon

## **9. Seznam použitých obrázků**

Obr. č. 1: Účinky mykotoxinů u skotu

Obr. č. 2: Účinky mykotoxinů u prasat

Obr. č. 3: Účinky mykotoxinů u drůbeže

Obr. č. 4: Strukturní vzorec aflatoxinu B<sub>1</sub>

## 10. Seznam použitých tabulek

Tab. č. 1: Obecné charakteristiky pro růst mikromycetů a produkci mykotoxinů v potravinách

Tab. č. 2a: Nejvýznamnější mykotoxiny produkované vláknitými plísněmi rodu *Aspergillus*

Tab. č. 2b: Nejvýznamnější mykotoxiny produkované vláknitými plísněmi rodu *Penicillium* a *Fusarium*

Tab. č. 3: Dělení mykotoxinů podle toxických účinků

Tab. č. 4: Dělení mykotoxinů podle způsobu jejich biosyntézy

Tab. č. 5: Dělení mykotoxinů podle účinku na buňku

Tab. č. 6: Chemické dělení mykotoxinů

Tab. č. 7: Dělení mykotoxinů podle způsobu biosyntézy

Tab. č. 8: Regulované mykotoxiny a typické regulované produkry, ve kterých se mohou vyskytovat

Tab. č. 9: Toxicita mykotoxinů

Tab. č. 10: Toxické koncentrace některých mykotoxinů v krmivech

Tab. č. 11: Citlivost některých druhů zvířat na mykotoxiny

Tab. č. 12: Vybrané mykotoxiny a jejich karcinogenita

Tab. č. 13: Limity aflatoxinu B1 v krmivech určená pro zvířata