

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky**



**Vliv mykotoxinů na střevní epitel**

**Bakalářská práce**

**Lenka Šustáčková  
Výživa a potraviny**

**Ing. Ivo Doskočil, Ph.D.**

**© 2019 ČZU v Praze**

### **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci „Vliv mykotoxinů na střevní epitel" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 18.4. 2019

---

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Ivo Doskočilovi, Ph.D. za jeho optimistický přístup, moudrost, odborné vedení a ochotu vždy pomoci.

# Vliv mykotoxinů na střevní epitel

## Souhrn:

Gastrointestinální trakt (GIT) je prvním místem styku s mykotoxiny z potravin a je tedy vystaven násobně vyšším dávkám než další orgány. Děje se to zejména díky konzumaci potravin nevhodně uskladněných, zpracovaných nebo kontaminovaných. Kontaminované často bývá i krmivo hospodářských zvířat, proto může být lidský trávicí trakt vystaven vlivu mykotoxinů zprostředkovaně konzumací živočišných produktů. Látky, které poškozují GIT, mohou být ty, jež jsou podle legislativy povolenými toxiny, jako léky nebo alkohol. Etanol vykazuje vysokou schopnost destrukce mnoha tkání v lidském těle, ať už se jedná o mozek, játra nebo trávicí trakt, přesto jde o legálně užívanou návykovou látku. Toxickým látkám ale můžeme být vystaveni i nevědomě, jako je tomu například u mykotoxinů.

Mykotoxiny jsou sekundární metabolity hub, které jsou škodlivé jak pro člověka, tak pro zvířata. Vykazují schopnost retardace růstu, teratogenitu, mutagenitu a často i karcinogenitu. Maximální limity některých mykotoxinů jsou stanoveny v rámci Evropské unie evropskou směrnicí. Podle IARC jsou mykotoxiny v závislosti na provedených studiích a prevalencích karcinomu u lidí řazeny do pěti skupin podle míry karcinogenity. Mezi významné mykotoxiny patří afltatoxiny, zearalenon, deoxynivalenol, fumonisiny nebo patulin. K potravinám, které mohou být kontaminované mykotoxiny, řadíme koření, obiloviny, džusy a ovocné šťávy, mléko a výrobky z něj.

Poškození GIT může být akutní nebo chronické. Mezi akutní poškození řadíme průjem způsobený alkoholem, antibiotiky nebo kmeny bakterií. K chronickým onemocněním trávicího traktu řadíme Crohnovu chorobu nebo glutenovou enteropatii. U chronických onemocněních často není zjevná příčina dané choroby například u Crohnovy choroby, proto se dá předpokládat, že může úzce souviset s horším psychickým stavem pacienta. Optimalizace střevní mikroflóry je jedním z řešení, která vedou k vyléčení. Pro podporu střevní mikrobioty se užívají převážně komerčně vyráběná probiotika, ale je také možné jednoduše upravit stravu a změnit životní styl.

**Klíčová slova: Mykotoxiny, imunita, vstřebávání, trávicí trakt, mikrobiota**

# The influence of mycotoxins on intestinal epithelium

## Summary:

GIT cells are exposed to the harmful effects of toxins in the body at different doses than other cells. A number of substances that act as damaging agents for the entire digestive tract are documented. These may be substances that are permitted by legislation as toxins, such as drugs or alcohol. Ethanol has a high ability to destroy numerous tissues in the human body, be it the brain, liver or digestive tract, yet it is a legally used addictive substance. Humans can unconsciously be exposed to toxic substances, such as mycotoxins. By consuming inadequately stored, processed or contaminated food, the body may be exposed to higher doses. Livestock feed is often contaminated, so the human digestive tract can be exposed to mycotoxins through the consumption of animal products, as well.

Mycotoxins are secondary fungal metabolites that are harmful to both humans and animals. They show growth retardation, teratogenicity, mutagenicity and often carcinogenicity. Maximum levels are set by the European Directive within the European Union. According to IARC, mycotoxins, based on established studies of prevalence of cancer, are divided into five groups according to their carcinogenicity. Significant mycotoxins include aflatoxins, zearalenone, deoxynivalenol, fumonisins or patulin. Nutritives/food that may be contaminated with mycotoxins include spices, cereals, juices, and fruit juices, milk, and dairy products.

GIT damage may be acute or chronic. Acute damage includes diarrhea caused by alcohol, antibiotics or strains of bacteria. Chronic gastrointestinal diseases include Crohn's disease or gluten enteropathy. Often, for chronic diseases, the cause of the disease is not evident, as e.g. in Crohn's disease, it can therefore be expected to be closely related to the mental condition of the patient. Optimizing the intestinal microflora may be one of the possible treatments. Mostly commercially produced probiotics are used to support gut microbiota, but balanced diet and adjusted lifestyle can be added as one of the solutions.

**Keywords:** Mycotoxins, immunity, absorption, gastrointestinal, microbiota

# Obsah

<b>1 Úvod .....</b>	<b>7</b>
<b>2 Cíl práce .....</b>	<b>8</b>
<b>3 Literární rešerše.....</b>	<b>9</b>
<b>3.1 Trávicí trakt.....</b>	<b>9</b>
<b>3.2 Poranění (vznik) .....</b>	<b>12</b>
3.2.1 Akutní poranění .....	12
3.2.2 Chronické poranění.....	12
3.2.3 Proces hojení.....	12
<b>3.3 Akutní poškození střevní sliznice .....</b>	<b>13</b>
3.3.1 <i>Diarrhoea</i> (průjem) .....	13
3.3.2 Průjem způsobený antibiotiky .....	13
3.3.3 Poškození spojené s požíváním alkoholu.....	13
<b>3.4 Chronické poškození střevní sliznice .....</b>	<b>14</b>
3.4.1 Crohnova choroba (CD).....	14
3.4.2 Celiakie .....	15
<b>3.5 Poškození střev způsobené mykotoxiny.....</b>	<b>16</b>
<b>3.6 Zdroje mykotoxinů .....</b>	<b>17</b>
<b>3.7 Nejvýznamnější mykotoxiny .....</b>	<b>18</b>
3.7.1 Aflatoxiny (AF).....	19
3.7.2 Ochratoxin A (OTA) .....	21
3.7.3 Zearalenon (ZEN) .....	21
3.7.4 Fumonisin (FB) .....	22
3.7.5 Patulin (PAT) .....	23
3.7.6 Deoxynivalenol (DON).....	24
<b>3.8 Vliv mykotoxinů na střevní epitel.....</b>	<b>25</b>
<b>3.9 Probiotika .....</b>	<b>28</b>
<b>3.10 Interakce mykotoxinů s probiotiky.....</b>	<b>30</b>
<b>4 Závěr .....</b>	<b>33</b>
<b>5 Přehled literatury .....</b>	<b>34</b>

# 1 Úvod

Mykotoxiny patří mezi dosud dostatečně neprobádané chemické látky. Jedná se o sekundární metabolity mikromycet a můžeme je nalézt v některých zemědělských plodinách jako kukuřice, pšenice, ječmen, ale i v dalších surovinách, jako je koření, mléko, sušené ovoce, oříšky nebo semena. Představují kontaminanty, vykazující navíc karcinogenní, mutagenní a teratogenní účinky. Hlavním místem vstupu mykotoxinů do lidského těla je trávicí trakt, jenž je poté vystaven celkově vyšším dávkám než další části těla. Mykotoxiny jsou stále předmětem mnoha diskusí a dalších studií, neboť mnoho laboratorních pokusů prokázalo jejich karcinogenitu na malých laboratorních zvířatech, současně se ovšem zjistilo, že v malých množstvích, mohou být některé mykotoxiny naopak prospěšné. Mezi nejnebezpečnější mykotoxiny patří skupina aflatoxinů. Aflatoxiny jsou výraznými karcinogeny a mohou kontaminovat mnoho druhů potravin. AFB1 je považován za jeden z nejvíce toxických a karcinogenních mykotoxinů. Je také prokázaným hepatokarcinogenem a mutagenem.

Naopak zearalenon (ZEN) nevykazuje karcinogenní účinky, svou chemickou strukturou je podobný steroidnímu hormonu estradiolu, proto je často označován jako nesteroidní estrogen nebo mykoestrogen. Kvůli svým účinkům je označován jako endokrinní disruptor. U zvířat bývá spojován s brzkým dospíváním, u samic způsobuje potraty, problémy se zabřeznutím nebo předčasně porody. Mimoto ovlivňuje i funkci hypofýzy, stimuluje tvorbu kortizolu nebo způsobuje hyperestrogenismus u zvířat. Fumonisin (FB) jsou svou strukturou podobné ceramidům, proto dochází k narušení buněčných mechanismů při expozici organismu FB. Ochratoxin A (OTA) vykazuje vysokou afinitu k bílkovinám, snadno se váže na sérový albumin, což následně vede k akumulaci v orgánech napadených zvířat, proto je nejčastější výskyt OTA v masných výrobcích na bázi krve. Deoxynivalenol (DON) je považován za možný inhibitor syntézy bílkovin. Patří k nejméně toxickým mykotoxinům, avšak svou schopností vyvolat nechutenství a zvracení, jež vede k výrazným úbytkům na váze, se stává paradoxně nebezpečnější látkou.

## **2 Cíl práce**

Hlavní vstupem mykotoxinu do lidského těla je trávicí trakt, který je vystaven násobně vyšším dávkám než jiné části těla. Cílem práce je vytvoření souvislé literární rešerše zabývající se vlivem mykotoxinů na lidský trávicí trakt a jejich možné ovlivnění vstřebávací funkce střev.

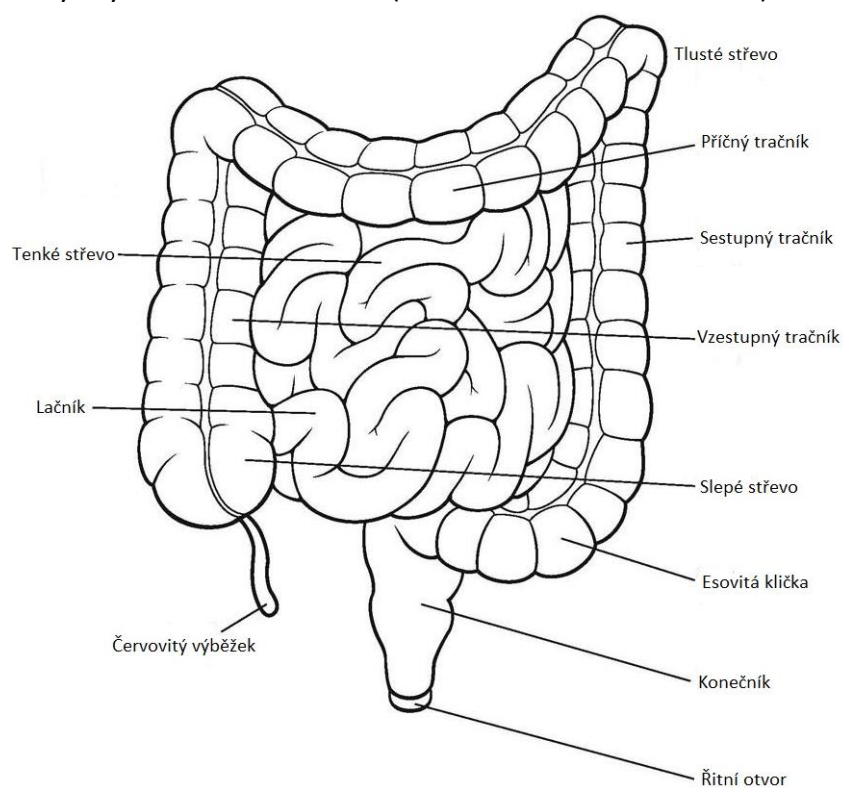


### 3 Literární rešerše

#### 3.1 Trávicí trakt

Trávicí trakt (obr. 1) tvoří trubice od ústní dutiny až po řitní otvor a také žlázy, které jsou k ní připojeny. Celkově je diferencována na devět základních částí. Stěnu trávicí trubice tvoří čtyři vrstvy-sliznice, podslizniční vazivo, svalová vrstva a povrchová vnější vazivová vrstva. Mezi základní části GIT (gastrointestinální trakt) patří: *Caritas ori* (dutině ústní), *Pharynx* (hltan), *Oesophagus* (jícen), *Gaster* (žaludek), *Intestinum tenue* (tenké střevo), *Intestinum crassum* (tlusté střevo), *Hepar* (játra), *Vesica biliaris* (žlučník) a *Pancreas* (slinivka) (Hudák & Kachlík 2013). Úlohou GIT je příjem živin, které rozkládá na jednodušší látky a následně resorbuje, udržování vodní a minerální rovnováhy a vylučování z organismu. Posun tráveniny je realizován hlavně pohyby hladkého svalstva. Ty jsou označovány jako peristaltika střev (Čihák 2013). Celý proces je řízen nervově a humorálně. Řízení nervové zprostředkovávají nervy vegetativní – sympatikus a parasympatikus. Na látkovém (humorálním) řízení se podílejí hlavně peptidické hormony, jako například gastrin, či sekretin.

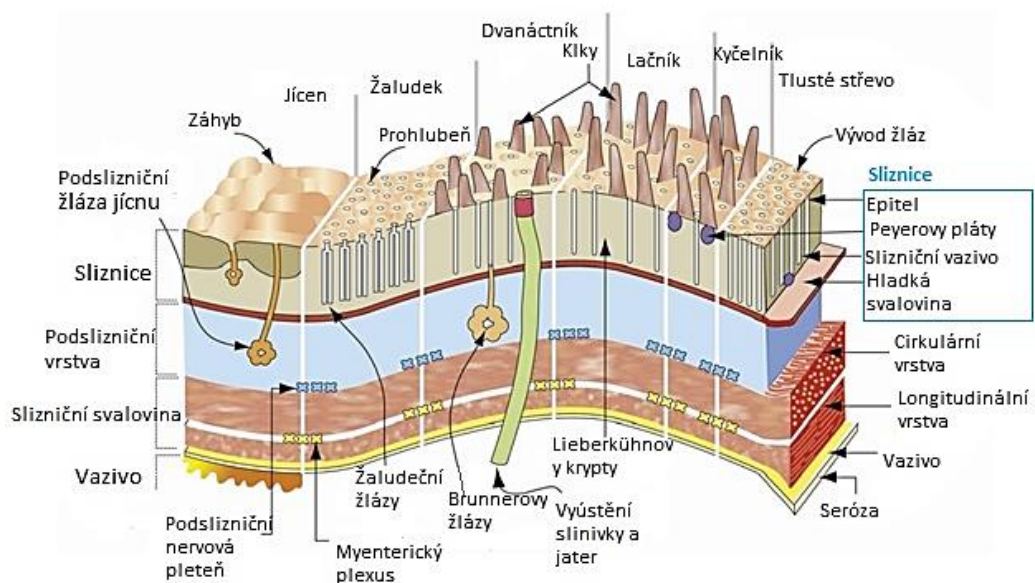
V dutině ústní je zahájen proces trávení. Dochází zde k promísení potravy se slinami. Sliny obsahují z 95 % vodu, některé ionty, mucin (hlen) a především alfa-amylázu, enzym, který zahajuje proces trávení škrobů. Mucin zajišťuje hladký průběh potravy v jícnu. Jícen je svalnatá, dutá trubice dlouhá asi dvacet pět centimetrů. Ukončení jícnu musí být dobře ochráněno před kyselým obsahem žaludku (O'Connor & O'Moráin 2014).



Obrázek 1: Lidský trávicí trakt.

V žaludku dochází k uchování a zpracování potravy jak mechanicky, tak chemicky. Stěny žaludku jsou tvořeny mohutnou hladkou svalovinou. U dospělého člověka činí objem žaludku běžně dva až tři litry, avšak může pojmout až pět litrů potravy. Obsah je v žaludku po určité době promíchán se žaludeční šťávou a zpracováván žaludeční peristaltikou. V průběhu 24 hodin žaludek vyprodukuje asi 2 litry žaludeční šťávy. Ta obsahuje proteolytické enzymy, jako například pepsiny, které štěpí makromolekuly bílkovin na menší peptidy. Enzym pepsin je primárně produkován v neúčinné formě pepsinogenu a teprve v kyselém prostředí se aktivuje na účinnou formu. Přítomnost kyseliny chlorovodíkové je výsledkem hodnoty pH okolo 2-3. Výsledkem procesu je kašovitá trávenina (chymus), která zůstává v žaludku, podle výše obsahu konkrétních makronutrientů (bílkoviny, tuky a sacharidy), různě dlouhou dobu. Strava složená převážně ze sacharidů, přetrvává v žaludku zhruba dvě hodiny, z bílkovin asi čtyři hodiny a nejdéle potrava složená z tuků – až šest hodin. Vyprazdňování žaludku se děje po částech, tak, aby ve dvanáctníku (duodenu) mohlo probíhat další trávení, než se dostaví další část tráveniny (Gelberg 2014; O'Connor & O'Moráin 2014).

Dvanáctník je orgán podkovitého tvaru dlouhý asi 20-28 cm, krytý pobřišnicí (*Peritoneum*). Jeho stěny tvoří jednovrstevný cylindrický epitel (obr. 2), jenž je schopný resorpce, podslizniční vazivo – mnoho mizních a krevních cév, a hladká svalovina. Cylindrický epitel je tvořen enterocyty, pohárkovými buňkami, které tvoří hlen– ochrannou vrstvu, chomáčkovými buňkami a M-buňkami. Celý povrch sliznice pokrývají střevní klky (*Villi intestinales*), útvary 0,3–1 mm velké. Díky nim je povrch sliznice zvětšen až na 7 m<sup>2</sup>. V duodenu se také nachází vývod slinivky (*Pancreas*) a žlučovodu z jater (*Hepar*). Pankreatická žláza vykazuje zásaditou povahu (neutralizuje silně kyselou tráveninu ze žaludku) a obsahuje mnoho enzymů, které štěpí tuky, cukry a bílkoviny. Trávenina je zde mírně promíchávána segmentačními a kývavými pohyby, aby byla nakonec posouvána peristaltickými pohyby směrem ke konečníku. Četnost pohybů se zmírňuje směrem ke kyčelníku. V případě, že ve dvanáctníku neprobíhá žádný proces trávení, je žluč odváděna do žlučníku (Čihák 2013; Gelberg 2014).



Obrázek 2: Stavba stěny trávicího traktu

Délka tlustého střeva (*Intestinum crassum*) odpovídá asi 1,4 m. Slouží jako rezervoár tráveniny a také zde dochází k výrazné resorpci vody. Pro ilustraci, z původního objemu tráveniny kolem 1,5 l po průchodu tlustým střevem, zbyde jen asi 60-120 ml vody. Sliznice i podslizniční vazivo tlustého střeva jsou kryty jednovrstevným cylindrickým epitelem a nemají klky. Epitel je tvořen řídkým kolagenním vazivem (*Lamina propria*), které je zde formováno do jednoduchých žláz– Lieberkühnovy krypty. Tvoří jej tři části–slepé střevo (*Intestinum caecum*) tračník (*Colon*) a konečník (*Rectum*). Tračník je dále diferencován na vzestupný tračník (*Colon ascendens*), příčný tračník (*C. transversum*), sestupný tračník (*C. descendens*) a esovitou kličku (*C. sigmoideum*). Anatomicky je střevo charakteristické přítomností výdutí (hastrum), tvořených podélnou a cirkulární svalovinou, a naopak z hlediska histologického absencí Panethových buněk, které jsou typické pro tenké střevo. Pro hladký pohyb chymy je vylučován hlen (ten je uložen v pohárkových buňkách) (O'Connor & O'Moráin 2014).

Kvalita složení obsahu tráveniny závisí na tom, jakou rychlostí bude posouvána. V případě velkého množství vlákniny (nestravitelné zbytky-pektiny, lignin, celulóza) je celý proces urychlen a v tlustém střevě obsah zůstává asi 35 hodin. Bohužel, v případě evropského modelu stravování (nízký příjem vlákniny) obsah v tlustém střevě zůstává 48-70 hodin. Při naplněném žaludku se potrava v tlustém střevě posouvá rychleji, jedná se o tzv. gastrokolický reflex. Nelze opomenout přítomnost saprofytických bakterií v tlustém střevě. Významné postavení ve zdraví střev mají grampozitivní *Firmicutes* bakterie, kam spadají rody *Eubacterium rectale/Roseburia spp.* a *Faecalibacterium prausnitzii*. Ve většině případů se jedná o anaerobní bakterie, které jsou schopné hnilobného rozkladu bílkovin, čímž se podílejí na konečné úpravě stolice, a bakteriálního rozkladu sacharidů, či celulózy v malém množství. Jedním z produktů dekompozice je i máselná kyselina, jež je hlavním zdrojem energie pro střevní sliznici, regulátorem genové exprese, případného zánětu sliznice a řízením apoptózy (Louis & Flint 2009; Canani et al. 2011). Bakterie se do tlustého střeva dostávají hned po porodu zcela spontánně. Některé bakterie jsou schopné syntetizovat vitamíny, u člověka jde především o vitamín K, jenž je prekursorem pro hemokoagulační faktory v játrech. Při bakteriální aktivitě vznikají ve střevech různé plyny: oxid uhličitý, metan, sirovodík a vodík. Vznikají v objemu 0,5– 0,7 l denně. Při zvýšené tvorbě a současném horším vstřebáním plynů ve střevě se jedná o meteorismus (Čihák 2013).

Poslední úsek tlustého střeva zakončený konečníkem (*Anus*) vykazuje na řezu sliznicí stejnou barvu i vzhled jako tračník, ale kromě toho zde najdeme i slizniční řasy a další typické útvary. Konečník vykazuje značnou vstřebatelnost, například při podávání léčiva v podobě rektálních čípků (rychlý nástup účinku). Epitel je opět jednovrstevný cylindrický, jako v oblasti tračníku, nicméně směrem k řitnímu otvoru se mění ve vícevrstevný dlaždicovitý nerohovějící a k cirkulární svalovině se přidává příčně pruhovaná svalovina (svěrače v konečníku (O'Connor & O'Moráin 2014).

## 3.2 Poranění (vznik)

Poranění je definováno jako narušení či porušení normální anatomické struktury a její funkce (Clark 2006). Vzniklé poškození může být rozlišeno podle rozsahu– od jednoduché, kdy dojde k narušení celistvosti sliznice či epidermis až ke složitému, které vede hlouběji pod pokožku s možným poškozením i jiných struktur, jako jsou svaly, šlachy, nervy, cévy, orgány nebo i kosti (Guo & DiPietro 2010). Poranění může nastat průběhem patologického procesu, který začal uvnitř nebo vně daného orgánu. Příčinou vzniku může být nehoda nebo se jedná o výsledek nemoci. Bez ohledu na příčinu vzniku je poranění narušením vnitřního prostředí organismu a fyziologická odpověď organismu bude zahrnovat krvácení, stažení cév, aktivaci komplementu a zánětlivou reakci. Důležitým hlediskem pro definování poranění je čas, který klasifikuje rány na akutní a chronické (Wild et al. 2010; Velnar et al. 2009).

### 3.2.1 Akutní poranění

Tato poranění jsou schopná samostatného obnovení funkce i anatomické struktury s včasným a řádným nástupem. Čas potřebný k obnovení se nejčastěji pohybuje v rozmezí 5–10 dní, výjimečně 30 dní. Akutní poranění může být výsledkem náhlé zevní události nebo v rámci pooperační rekonvalescence (Wild et al. 2010).

### 3.2.2 Chronické poranění

Chronická poranění jsou taková, u kterých došlo k chybě v běžném procesu léčení a nelze je vhodně a včas napravit. V případě, že je proces hojení nedokončen, nebo přerušeno některými níže zmíněnými faktory, dochází k prodloužení jedné nebo více fází v procesu hemostázy, množení buněk a přestavby. Mezi tyto faktory se řadí nedostatek kyslíku ve tkáních, infekce, nekróza a nadměrná produkce protizánětlivých cytokinů. Neukončením procesu zánětlivých reakcí, vytváří kaskádu odpovědí organismu, které dohromady způsobují zastavení hojení. Chronická poranění mohou být výsledkem mnoha faktorů, kam se řadí cévní i žilní nedostatečnost, popáleniny nebo problémy s tlakem cytokinů (Wild et al. 2010; Velnar 2009).

### 3.2.3 Proces hojení

Ve všech tkáních a orgánech probíhá proces hojení. Mnoho těchto reparačních procesů je běžných pro všechny tkáně. I když hojení probíhá kontinuálně, je pro lepší pochopení fyziologie procesů, rozděleno do různých fází, odehrávajících se v ráně a okolní tkáni. Proces hojení je komplexní proces, zahrnující škálu regulovaných kroků a událostí, které souvisejí s přítomností různých buněčných typů v místě, kde vzniklo poranění během všech fází léčení (Guo & DiPietro 2010). Ihned po zranění probíhá hemostáza a koagulace. Principem těchto mechanismů je předcházet vykrvácení organismu. Jedná se o způsob, jak zachovat neporušený cévní systém, tak, aby vnitřní orgány zůstaly neporaněné, i v případě zranění. Další fází je buněčný zánět se zaměřením na vytvoření imunní bariéry proti agresivním mikroorganismům (Velnar et al. 2009).

### 3.3 Akutní poškození střevní sliznice

#### 3.3.1 *Diarrhoea* (průjem)

Jde o poruchu trávení, kdy dochází k častému vyprazdňování neresorbované a nenatrávené potravy v řídké formě. Gastroenteritida může různého původu podle činitele. Virová enteritida způsobená rotaviry, adenoviry, caliciviry nebo astroviry, požitím bakteriálních toxinů-*Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*, *Clostridium perfringens*, či infekce enteroinvazivními mikroorganismy, kam patří *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella* a *Campylobacter*. Průjmová onemocnění jsou spojená s dehydratací organismu, proto je důležitou formou terapie i nahrazování chybějících iontů a tekutiny (Kaiser & Surawicz 2012).

#### 3.3.2 Průjem způsobený antibiotiky

Narušení střevní sliznice po používání antibiotik se objevuje u 30 % pacientů, kteří byli diagnostikováni s průjmem (Hickson 2011). K léčbě průjmů nebo jejich prevenci, způsobených užíváním antibiotik, se testovaly kmeny *Saccharomyces boulardii* (SB) a *Enterococcus faecium*. Samotné SB se doporučuje pro prevenci při opětovném výskytu průjmu, který vyvolává *Clostridium difficile*. Na průjmy způsobené rotaviry je vhodné užívat fermentované mléčné výrobky s bakteriemi mléčného kvašení - *Lactobacillus rhamnosus* GG (Gorbach a Goldin) (Hickson 2011).

#### 3.3.3 Poškození spojené s požíváním alkoholu

Dlouhodobé užívání alkoholu se projevilo kromě jiných symptomů i oslabenou střevní bariérou. Častá expozice intestinálního epitelu ethanolu vede k vyšší propustnosti sliznice pro škodlivé vlivy a napomáhá tak vzniku zánětlivých reakcí. Alkohol a jeho metabolity jsou hepatotoxické, nicméně také narušují střevní flóru, což vede ke zvýšení koncentrace endotoxinů v oběhu, jež může následně vést k cirhóze jater (Parlesak et al. 2000; Wang et al. 2010). Již malé dávky alkoholu zvyšují aktivitu  $\gamma$ -amino-máselné kyseliny (dále GABA), tj. při požití ethanolu (i jiné látky působí na GABA-barbituráty, benzodiazepamin) je aktivita GABA vyšší, což ve výsledku na lidské tělo působí jako sedativum. Proto jsou reakce lidského těla po požití alkoholu pomalejší a nedostačující, ve smyslu horší kontroly pohybů, rovnováhy atp. (Valenzuela & Jotty 2015).

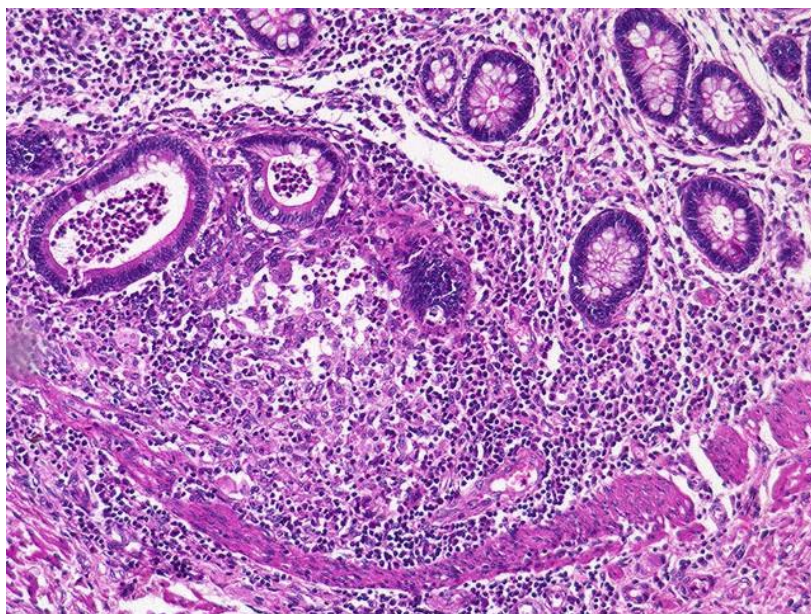
Při pozorování zvýšené aktivity GGT ( $\gamma$ -glutamyl transferázy) v organismu bývá diagnostikován hepatobiliární problém, často způsobený právě nadbytečnou konzumací alkoholu. Odpovědí organismu na tyto mechanismy je zvýšená tolerance k ethanolu a snížená aktivita GABA, což se následně projevuje nespavostí, úzkostí a abstinenčními příznaky (Niemelä & Alatalo 2010; Valenzuela & Jotty 2015).

Kmeny probiotických bakterií prokázaly zlepšení soudržnosti střevní tkáně a posílily ochranou funkci při možných zánětlivých reakcích. Ve studii provedené Wang et al. (2012) na myších, kterým byly podávány probiotika *Lactobacillus rhamnosus* GG, se prokázal pozitivní efekt probiotik na střevní sliznici. Byla podávána jedna dávka alkoholu denně v množství 6 g/1 kg živé hmotnosti po dobu pěti dní a 1 ml rozmíchaných probiotik ve vodě.

### 3.4 Chronické poškození střevní sliznice

#### 3.4.1 Crohnova choroba (CD)

Jedná se o zánětlivé chronické onemocnění trávicího traktu. Nemoc postihuje jakoukoliv část gastrointestinálního traktu, s nejčastějším výskytem v kyčelníku a v tračníku. Nemoc je často doprovázena horečkou, bolestí v zádech, průjmy s příměsí hlenu, či krve nebo kombinací všech zmíněných symptomů. K vypořádání se s onemocněním je vhodná konzultace pacienta se specialistou-gastroenterologem, praktickým lékařem, nebo se zdravotní sestrou. U lidí trpících Crohnovou chorobou (Crohn disease - CD) se vyskytují akutní záněty, ale i chronické komplikace v trávicím traktu (obr. 3). U pacientů s CD jsou velmi časté extragastrointestinální manifestace. Je známo široké spektrum častých i méně častých extragastrointestinálních (EIM) komplikací, které postihují téměř všechny orgánové soustavy. Se zvyšujícím se povědomím o nemoci, se prokazuje, že klinická remise nemusí korelovat s remisí radiologickou a endoskopickou (Peyrin-Biroulet et al. 2014). Léčba zahrnuje medikamenty, nutriční poradenství, ukončení kouření a zákrok, který je vyžadován v 50–80 % případů (Tun et al. 2018). Léčba je zaměřena na navození stavu přetrvávající remise a zvládnutí komplikací.



Obrázek 3: Crohnova choroba je charakteristická přítomností granulomů a hyperplazie submukózních nervů.

Proces industrializace velmi ovlivnil životy lidí. Zvyšující se zájem o kariéru a vyšší vzdělání (Aamodt et al. 2008), více nepříznivých životních situací, nižší procento kojících žen (Johnston et al. 2014; Barclay et al. 2009), celkově menší rodiny, lepší hygiena a sanitace, lepší dostupnost a kvalita horké vody, sedavější způsob života, vystavení znečištěnému ovzduší a samozřejmě stravování podle západního modelu civilizace, tj. polotovary s obvykle vysokou dávkou monosacharidů a polynenasycenými tuky, to vše, ještě ve spojitosti s vyšším užíváním tabáku, vede k častějšímu výskytu CD. Ačkoliv tyto faktory zcela jistě také přispívají k možnosti projevu CD, podle provedených studií (Johnston et al. 2014; Seksik et al. 2009; Jones et al.

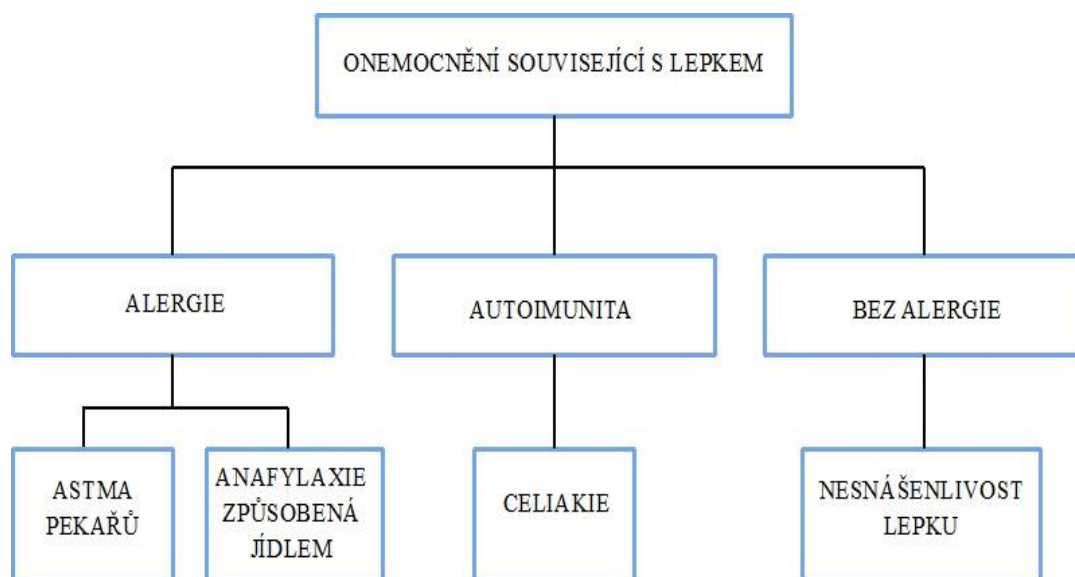
2008) u aktivních i pasivních kuřáků se brzkým užíváním tabáku riziko rozvinu poruchy výrazně zvyšuje (Tuvlin et al. 2007). Z pohledu mechanismů zřejmě nelze označit nikotin a oxid uhelnatý jako „viníky“ (Baumgart & Sandborn 2012). CD se obvykle objevuje po infekční gastroenteritidě (García Rodríguez et al. 2006). Projevuje se dysbiózou ve střevech (odlišnou slizniční mikrobiotou) a je navýšený počet intramukosálních bakterií, často s adhezivními druhy (Moussata et al. 2011; Joossens et al. 2011). Tyto symptomy včetně zoonózy ve střevech způsobené *Mycobacterium avium paratuberculosis*, se podobají infekční granulomatózní ileitidě, Johnově nemoci (střevní paratuberkulóza) nebo střevní tuberkulóze (Lee et al. 2009).

Až jednomu ze tří pacientů je CD diagnostikována před dvacátým prvním rokem života, přesto je velmi málo studií zaměřených na léčbu dětí a náctiletých. Pediatri v praxi vychází pouze ze studií prováděných na dospělých. Přesto jsou zde důležité rozdíly, které je třeba vzít v potaz při léčbě dětí. Adolescenti a děti jsou v nejdůležitějším období růstu a vývoje a přítomnost CD může mít velký vliv na výše zmíněné. Zhoršený růst mají děti z 15-40 % (Tun et al. 2018) a toto může vést k trvale nižší výšce v dospělosti (Sawczenko et al. 2006). Zánětlivý proces sám o sobě, zhoršená vstřebatelnost živin, či nedostatečný příjem živin mohou vést k pomalejšímu růstu. Společně s problémy s růstem přichází i samotná puberta často později. Užitečným faktorem při odhadu budoucí výšky je posouzení stavu kostí a procesu dospívání. Aby bylo dosaženo normálního růstu a vývoje, je nezbytné navodit rychlou a prodlouženou remisi optimalizací příjmu nutrientů a zabránit narušení růstu pomocí glukokortikosteroidů (Van Assche et al. 2010).

### 3.4.2 Celiakie

Glutenová enteropatie neboli celiakie je chronické autoimunitní onemocnění vyvolané glutenem (lepekem). Za posledních 50 let se výrazně zvýšil výskyt celiakie. Glutenová enteropatie se projevuje typickými symptomy v gastrointestinálním traktu – průjemy, steatorea (nadměrné množství tuku ve stolici), flatulence, úbytek na váze, bolesti břicha, ale také symptomy, které se netýkají gastrointestinálního traktu – abnormální funkce jater, anémie, nemoci pokožky, kostí a mnoho dalších projevů, jež souvisí s funkcí proteinů. Samozřejmě jsou i tací jedinci, kteří nemají žádné symptomy.

Celiakie se obvykle detekuje sérologickým testováním protilátek typických pro celiakii. Správnou diagnózu však potvrdí až biopsie slizniční vrstvy duodena (Rubio-Tapia et al. 2013; Rossell et al. 2014). S příjmem glutenu jsou spojené tři patologie (obr. 4). Potravinová alergie ovlivňuje 0,2–0,5 % populace, ale má výraznější klinický dopad (Zuidmeer et al. 2008). Glutenová enteropatie, kde se jedná o autoimunitní onemocnění způsobené požitím lepku nejen v pšenici, ale i dalších obilovinách (Comino et al. 2011), ovlivňuje jak děti, tak dospělé zhruba s prevalencí 0,1–1,6 % v populaci v zemích západního světa. Citlivost (intolerance) na lepek byla opět objevená nedávno a nezahrnuje glutenovou enteropatii ani alergii (Sapone et al. 2011; Ivarsson et al. 2013). Výskyt intolerance na lepek je 6 % v populaci USA. Léčba zahrnuje celoživotní dodržování bezlepkové diety (dále v textu GFD), což vyžaduje řádně poučeného pacienta (Rossell et al. 2014).



Obrázek 4: patologie spojená s příjmem glutenu

Lepek je souhrnný název pro zásobní proteiny, které se nacházejí v obilovinách. Jedná se o globulární proteiny, které tvoří 80 % celkových proteinů v obilovinách– gliadin v pšenici (*Triticum aestivum*), secalin v žitě (*Secale cereale*), hordein v ječmenu (*Hordeum vulgare*) a avenin v ovsu (*Avena sativa*). Výrobky z těchto obiloviny jsou hojně konzumovány v západních zemích, v průměru 10–20 g na osobu/na den (Rossell et al. 2014).

Obiloviny, které jsou přirozeně považované za bezlepkové, jsou rýže (*Oryza sativa*), čirok (*Sorghum bicolor*), kukuřice (*Zea mays L.*) (Rossell et al. 2014), amarant (*Amaranthus caudatus*), proso (*Panicum miliaceum*), milička habešská (*Eragrostis tef*), pohanka obecná (*Fagopyrum esculentum*) nebo quinoa-merlík chilský (*Chenopodium quinoa*). Z těchto obilovin, pseudobilovin a mnoha dalších surovin je možné připravit mouku, a z ní následně plno dalších výrobků, proto diagnóza glutenové intolerance či alergie není pro jedince pomyslným „rozsudkem“ ve smyslu velkého omezení v jídle. Některé z uvedených obilovin lze dohledat již pravěku, například proso je známo již od neolitu a v archeologických nálezech se objevovalo často, neboť pařilo k významným surovinám užívaných v kuchyních ještě našich babiček v podobě jáhel (Pashkevych 2012). Rýže a kukuřice mají nízký obsah proteinů, vlákniny a kyseliny listové, proto se v současné době dostávají do popředí amarant, quinoa či milička habešská, které obsahují vhodný poměr mastných kyselin a mají vysoký obsah bílkovin (Hager et al. 2012).

### 3.5 Poškození střev způsobené mykotoxiny

Mykotoxiny patří mezi látky, o kterých se ví již poměrně dost, přesto ještě není jasný přesný vliv těchto toxinů na buňky GITu. Nicméně poslední desetiletí se dostává do popředí i tato problematika, a to hned z několika důvodů: je známo, že zdravá střeva znamenají pohodu a zdraví u lidí i zvířat, ve střevech převládají enzymy, které rozkládají a syntetizují bílkoviny, a proto se právě střevní epitel může stát terčem mykotoxinů, které produkují metabolity, jež brání syntéze bílkovin. Také absorpce mykotoxinů a jejich následné chování v GIT naznačuje, že je zde buněčný epitel opakovaně vystavován většímu množství toxinů ve



vyšších koncentracích než v jiných částech těla. Udržení zdravé mikroflóry ve střevech je klíčové proto, aby nedocházelo ke zvýšené absorpci patogenů. Tři výše popsané funkce GIT se dají pochopit jako jakási „svatá trojice“, kde každá komponenta reaguje s druhou (výživa–imunitní systém–střevní mikrobiota–výživa) a je tak zajištěna homeostáza (Grenier & Applegate 2013). Pokud je narušená soudržnost střevní sliznice, snižuje se absorpce živin. Na opravu poškozené oblasti a podporu imunitního systému je zaměřen vyšší podíl vstřebávaných živin, dokud není potlačena střevní infekce (Lorenzoni 2010).

Příjem mykotoxinů a následná distribuce ve tkáních je řízena propustností GITu. Absorpce může být maximální, jako je tomu v případě aflatoxinů (dále jen AF), nebo velmi omezená, jako je tomu u fumonisinů (FB). Rychlý projev mykotoxinů v krevním oběhu jasně indikuje, že největší množství toxinů je absorbováno v přední části GIT (Cavret & Lecoer 2006). Mykotoxiny mohou ohrozit střevní epitel už před absorpcí v horní části trávicí soustavy nebo neabsorbovanými toxiny při samotném průchodu GIT. Samozřejmě s výjimkou AF, které jsou u některých druhů absorbovány ve vysokém množství. Absorpce jiných mykotoxinů kolísá od 1–60 %, tudíž většina požitá dávka zůstává v lumenu střev (Ringot et al. 2006; Osselaere et al. 2013). Nízká propustnost FB u monogastrů (1–6 %) značí, že je střevní epitel vystaven vysokým dávkám požitého toxinu.

### 3.6 Zdroje mykotoxinů

Významnými zdroji mykotoxinů jsou vláknité houby *Alternaria* spp., *Fusarium* spp., *Aspergillus* spp. a *Penicillium* spp.. Mykotoxiny jsou sekundární metabolity vláknitých hub, které mohou po kontaktu s pokožkou, vdechnutí či požití, vykazovat škodlivý vliv na obratlovce. Nemoc, kterou pak mohou vyvolat, se nazývá mykotoxikóza. Mezi diagnostické rysy mykotoxikózy patří, že nemoc není přenosná a léčba antibiotiky je buď velmi málo účinná, nebo vůbec. Výskyt nemoci je často spojený s konkrétní potravinou, jež je následně testována a obvykle se projeví důkazy činnosti hub. Mykotoxiny se do potravinového řetězce dostávají napadením zemědělských plodin houbami, mohou být přímo požitý, nebo se nacházejí v krmivu pro zvířata. Metabolické mechanismy hub mohou vést k akumulaci mykotoxinů v některých orgánech či tkáních (Liew & Mohd-Redzwan 2018).

Kontaminované mohou být ale i jiné potraviny jako ovoce, koření, ořechy a výrobky z nich. Produkty mykotoxinů se objevují už při předsklizňové úpravě, během sklizně, sušení a uskladnění. Špatnými zemědělskými praktikami při sklizni, sušení, transportu a uskladnění, se můžou vytvořit ideální podmínky pro houbový růst a následné zvýšené riziko produkce sekundárních metabolitů mikromycet. Jakmile jsou potraviny zpracovány, je produkce mykotoxinů omezená, pokud jsou zajištěné správné skladovací podmínky pro dané komodity, tzn. aby aktivita vody byla dostatečně nízká, nepodpořila růst plísní a produkci mykotoxinů. Ovšem v případě, že se aktivita vody ve výrobku zvýší, mohou se mykotoxiny kumulovat i v hotovém výrobku (Omotayo et al. 2019; Munkvold et al. 2019).

Druhy černě (*Alternaria* spp.) jsou známé jako závažné rostlinné patogeny, což má za následek poškození mnoha zemědělských plodin. Některé druhy jsou významnými posklizňovými patogeny. Kvůli svému negativnímu vlivu na člověka a okolí je včasná a správná

identifikace rodu černě předmětem zkoumání mnoha mykologicky zaměřených studií (Woundenberg et al. 2013; Rychlik et al. 2016). *Alternaria* spp. byl původně popsán jako jediný druh *Alternaria tenuis*–Neesem von Esenbeckem roku 1817 (Bensch 2016). Pouze malé procento ze zhruba 70 fytotoxinů, produkovaných *Alternaria* spp., bylo chemicky charakterizováno jako mykotoxiny. K mykotoxinům produkovaných *Alternaria* spp. patří alternariol (AOH), monomethyl ether alternariolu (AME) a altenuen (ALT). Toxiny AOH a AME vykazují mutagenitu a klastogenitu (způsobují chromozomální zlomy) v *in vitro* pokusech (Smith et al. 2016; Lee et al. 2015).

Zástupci vřeckovýtrusé houby *Aspergillus* spp. představují jedny z nejrozšířenějších potravinových a krmivových kontaminantů a zároveň jsou hojně užívány v biotechnologickém průmyslu. Druh *A. ochraceus* je prokazatelným zdrojem mykotoxinů ochratoxinu A, ochratoxinu B a penicilinové kyseliny. Oproti tomu druh *A. niger* je využíván v biotechnologiích pro výrobu citrónové kyseliny. Pro výrobu citrónové kyseliny se v současné době testují potravinové zbytky jako vysušená dužina z cukrové třtiny, datlová melasa, bramborové nebo ananasové slupky. Výluhy, které se lišily poměrem C/N, z těchto potravinových zbytků pak posloužily jako substráty při výrobě citrónové kyseliny pomocí *A. niger* (Almoussa et al. 2019).

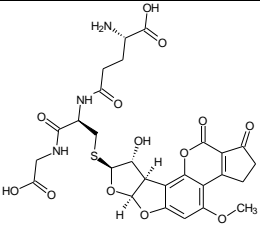
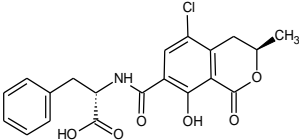
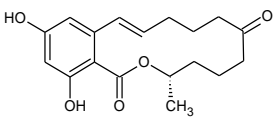
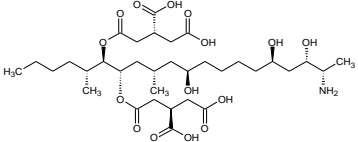
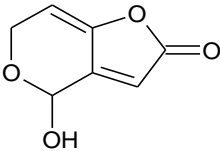
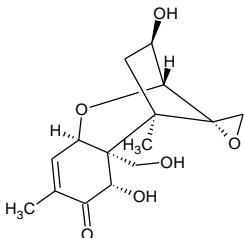
*Fusarium* spp. je celosvětově rozšířený druh vláknité vřeckovýtrusé houby, který způsobuje na zemědělských plodinách plísně či hniloby. Patří také mezi významné producenty mykotoxinů, zvaných trichotheceny a fumonisiny (FB). Ačkoliv jsou infekce u lidí nebo zvířat *Fusarium* spp. relativně vzácné, je náročné je eliminovat, neboť vykazují značnou odolnost vůči antimykotikům (Izquierdo et al. 2008). *Fusarium* spp. produkuje také skupinu toxických tzv. nově vznikajících mykotoxinů, jež nejsou téměř prostudované, kam patří například moniliformin, eniatin či beauvericin (Jestoi 2008).

Druhy *Penicillium* spp. jsou v životním prostředí velmi rozšířené. Ve vodním a půdním prostředí jsou významnými saprofyty rostlinných, ale i živočišných těl. Spory jsou k nalezení i ve vzduchu. Z biotechnologického hlediska se jedná o velmi významný druh mikromycet, co se týče výroby antibiotik a produkce mykotoxinů. Druh *P. glabrum* se vyskytuje na uskladněných obilninách a patří k producentům AF a frequentinu (FQ). Dalším významným druhem je *P. roqueforti*, který se využívá v potravinářských biotechnologiích při výrobě sýru typu Roquefort s modrozelenou plísní, která tvoří na řezu mramorovou strukturu. Tento druh snáší vyšší koncentrace soli a produkuje enzymy (proteolytické a lipolytické), které jsou uplatňovány při výrobě a zrání sýra. I když *P. roqueforti* patří k druhům, jež vytváří mykotoxiny, konkrétně roquefortin, mykofenolovou kyselinu a patulin. Nejsou žádné důkazy o tom, že by denní konzumace sýrů s modrou plísní měla nějaký negativní vliv na zdraví člověka (Fontaine et al. 2015; Hymery et al. 2014).

### 3.7 Nejvýznamnější mykotoxiny

Mezi významné mykotoxiny řadíme aflatoxiny (AF), ochratoxin A (OTA), deoxynivalenol (DON), zearalenon (ZEA), fumonisiny (FB), patulin (PAT), o kterých bude pojednáno níže (Bryden 2007; Das Chagas Oliveira Freire & Bezerra da Rocha 2017).

**Tab. 1.: Nejvýznamnější mykotoxiny a jejich biologická aktivita**

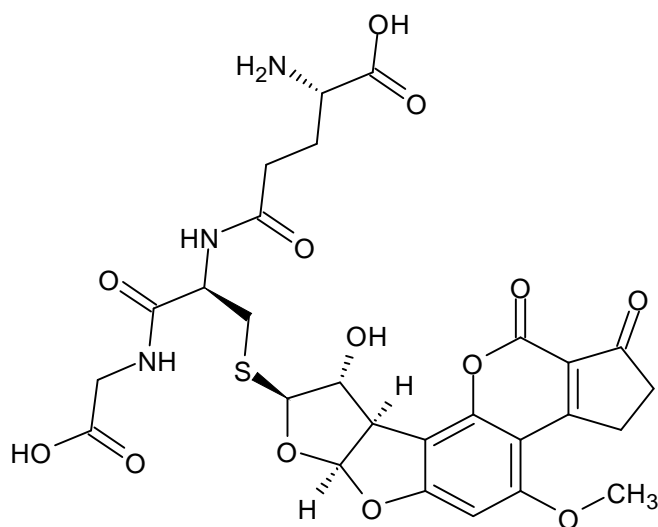
Mykotoxin	Struktura	Účinky	Zdroje
Aflatoxiny (AF)		Vysoká toxicita, výrazný karcinogen, mutagen	(Bbosa et al. 2013)
Ochratoxin A (OTA)		Inhibitor syntézy bílkovin, váže se na sérový albumin	(Liew & Mohd-Redzwan 2018)
Zearalenon (ZEN)		Způsobuje hyperestrogenismus u zvířat, není karcinogen	(Kowalska et al. 2016)
Fumonisin (FB)		Narušují buněčné mechanismy	(De Ruyck et al. 2015)
Patulin (PAT)		Silná afinita k thiolové skupině, inhibitor mnoha enzymů	(Puel et al. 2010)
Deoxynivalenol (DON)		Zvracení a nechutenství u zvířat s následnými výraznými úbytky na váze	(Flannery et al. 2012)

### 3.7.1 Aflatoxiny (AF)

Aflatoxiny jsou skupina zhruba 20 metabolitů produkovaných druhu *Aspergillus flavus* a *A. parasiticus*. Jedná se o všudypřítomný rod hub, jenž osidluje hlavně nadzemní části rostlin. Aflatoxiny jsou vysoce lipofilní látky a snadno se absorbují v těle organismu, obvykle přes GIT nebo respirační trakt. Po vniknutí do těla jsou aflatoxiny absorbovány membránami buněk, kde se nakonec dostávají do krevního oběhu. Poté jsou krví rozváděny do všech tkání, a hlavně do jater, která detoxikují tělo organismů od xenobiotik (Bbosa et al. 2013). Játra metabolizují aflatoxiny tak, že na ně navážou hydroxylovou skupinu nebo vytvoří epoxidový meziprodukt aflatoxin M1, který je pro tělo méně škodlivý. V lidském těle, a u některých druhů zvířat, jako jsou ovce, krysy a psi, je AFB1 metabolizován pomocí systému cytochrom P450 (CYP 450) na reaktivní formu aflatoxin-8,9-epoxid, který se váže na DNA a albumin v krevním séru,

a způsobuje tak poškození DNA. V játrech se objevují různé isoformy enzymů ze systému CYP 450, jež metabolizují aflatoxiny na epoxidy, které se vážou na DNA, nebo můžou způsobit rakovinu jater (Wild & Montesano 2009; Wu & Khlangwiset 2010).

Aflatoxiny jsou řazeny do skupiny difuranokumarinů, které se dále dělí do dvou podskupin podle jejich chemické struktury na difuranocyklopentenony (AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFB<sub>2A</sub>) a difurokumarolaktony (AFG<sub>1</sub>, AFG<sub>2</sub> a další). Mezi čtyři nejběžnější aflatoxiny produkované plísní *Aspergillus* patří AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub>, AFG<sub>2</sub>. Aflatoxiny B<sub>2</sub> a G<sub>2</sub> byly stanoveny jako dihydroxy deriváty B<sub>1</sub> a G<sub>1</sub>. Světová zdravotnická organizace (WHO) klasifikuje 8,9-Dihydro-8-(S–glutathionyl)–9-hydroxyaflatoxin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub> – viz obr. 5) jako karcinogen první kategorie. Aflatoxiny vykazují míru karcinogenity, toxicity a mutagenity v tomto pořadí AFB<sub>1</sub>> AFG<sub>1</sub>> AFB<sub>2</sub>> AFG<sub>2</sub> (Cortéz et al. 2010; Thrasher & Crawley 2009). Písmena B a G odkazují na modrou (blue) a zelenou (green) barvu, kterou produkují pod ultrafialovým zářením při chromatografii. Čísla 1 a 2 označují hlavní a vedlejší sloučeniny (Bennet & Klich, 2003).



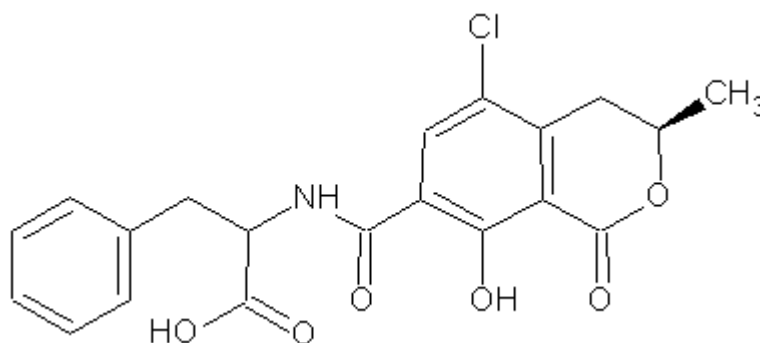
Obrázek 5: Chemická struktura aflatoxinu B1

Výskyt mykotoxinů se liší podle zeměpisné lokace a úrovně zemědělské praxe. Například druh *A. parasiticus* je lépe adaptovaný na půdní prostředí s omezenějším zásobováním a produkuje aflatoxiny B a G (EFSA, 2007). Plodiny nebo krmiva jsou náchylná na kontaminaci mykotoxiny při posklizňové úpravě, přepravě, uskladnění či zpracování surovin. Proto se s mykotoxiny nejčastěji potýkají rozvojové země, kde jsou podmínky životního prostředí, vzhledem k vysokým teplotám a vlhkosti, vhodné pro vznik a rozvoj plísní. Škála produktů kontaminovaných mykotoxiny je široká. Zahrnuje obiloviny jako pohanku, kukuřici, rýži, proso a pšenici, olejniny: sóju, slunečnici, podzemnici olejnou a bavlník. Dále se objevují v kořeni, v ořeších a mléčných výrobcích (Lopez et al. 2002; Bbosa et al. 2013). Aflatoxiny byly poprvé izolovány a identifikovány v kuřatech, která umírala na nekrózu jater v roce 1960 a jejich smrt byla zapříčiněná konzumací krmiva s obsahem arašídů, které byly napadené plísní. Vysoké koncentrace aflatoxinů se nejčastěji nachází v ořeších, kukuřici a obilovinách v Africe, v rýži v Číně a jihovýchodní Asii (Sudakin 2003; Kitya et al. 2010)

### 3.7.2 Ochratoxin A (OTA)

Ochratoxin A (OTA) byl poprvé objeven roku 1965, jako metabolit *A. ochraceus* během studií zaměřených na identifikaci nových mykotoxinů (Van der Merwe et al. 1965). OTA je spojován s hepatotoxicitou, teratogenitou, karcinogenitou a s imunosupresivním účinkem. Případy nefropatie u zvířat a u lidí jsou spojovány s konzumací potravy, kde se nacházel OTA (Reddy & Bhoola 2010). Jsou zdokumentovány případy nálezů OTA v mléce savců, v krvi a dalších tkáních, nebo ve vepřovém mase, které bylo určeno ke konzumaci. V 80. létech minulého století se vyskytla endemická nefropatie u prasat v Dánsku, která úzce souvisela i s množstvím úmrtí ptáků v dané oblasti, kterou způsobilo krmivo kontaminované OTA (Liew & Mohd-Redzwan 2018; Das Chagas Oliveira Freire & Bezerra da Rocha 2017). Ale z celkového hlediska je úroveň kontaminace potravin v Evropě relativně nízká ve srovnání s rozvojovými zeměmi, díky častým kontrolám (Smith et al. 2016).

Chemickou strukturu OTA lze popsat jako isokumarin navázaný na L-fenylalanin (viz Obrázek 6). OTA vykazuje vysokou afinitu k bílkovinám, obzvláště k sérovému albuminu, což způsobuje bioakumulaci v orgánech napadených zvířat, proto je také nejvyšší kontaminace OTA v uzeninách na bázi krve a ve výrobcích z jater–pátés nebo klobásy (Duarte et al. 2012). Přítomnost OTA byla zdokumentována v dalších surovinách jako ječmen, pšenice, oves, kávová zrna atp. Byla dokonce vyslovena obava, že mykotoxin může být přítomen ve víně, pokud byly hrozny napadené *A. carbonarius* (Paterson et al. 2018; Somma et al. 2012).



Obrázek 6: Ochratoxin A

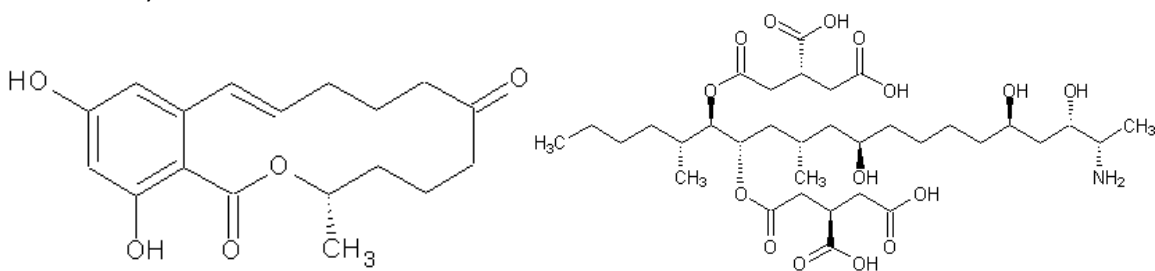
Schopnost produkovat OTA je známa u *A. ochraceus*, *A. alliaceus*, *A. auricomus*, *A. carbonarius*, *A. niger* či *A. glaucus* nebo z rodu *Penicillium nordicum* a *P. verrucosum* (da Rocha et al. 2014). Nicméně druh *A. niger* má široké uplatnění v průmyslu při výrobě enzymů a citronové kyseliny, která je určena ke konzumaci, z tohoto důvodu je třeba potvrdit, že průmyslové izoláty nejsou producenty OTA (Bbosa et al. 2013; Liew & Mohd-Redzwan 2018).

### 3.7.3 Zearalenon (ZEN)

Jedná se o sekundární metabolit především druhů hub *Fusarium* spp.. Konkrétně jde o *Fusarium graminearum*, *F. culmorum*, *F. equisetii* nebo *F. crookwellense*. Stejně jako další mykotoxiny můžeme ZEN najít v obilovinách, masu, mléku, pivu, vínu, sušeném ovoci nebo koření (Kriszt et al. 2012). Klasifikovat zearalenon (ZEN) jako toxin je v současné době považováno za nevhodné, neboť je vzácně jedovatý, ačkoliv jde o biologicky aktivní látku. Svou

strukturou je podobný estradiolu, který je produkován vaječníky pohlavně dospělé ženy. V tomto ohledu je vhodnější označení mykoestrogen, nebo nesteroidní estrogen (da Rocha et al. 2014). Již v roce 1920 byla pozorována spojitost mezi plísní kontaminovaným obilím, kterým byla zkrmována prasata, a výskytem hyperestrogenismu. Vysoké dávky ZEN v krmivu prasat mohou způsobit problémy s počítím, potraty a další problémy (Pleadin et al. 2015). Problémy s reprodukcí při vysoké expozici ZEN byly pozorovány i u krav a ovcí (El-Nezami et al. 2002). Doposud provedené studie neprokázaly karcinogenitu ZEN (Kowalska et al. 2016; Bryden 2012).

V pokusech provedených na buňkách karcinomu adrenálního kortexu se prokázalo, že ZEN a jeho metabolity mohou vyvolávat, kvůli strukturální podobnosti s estrogenem, produkci kortizolu a celkově narušovat endokrinní rovnováhu těla (Frizzell et al. 2015). Po požití je ZEN absorbován hlavně hepatocyty a enterocyty (Molina-Molina et al. 2014). U zvířat jsou známy dva způsoby biotransformace ZEN. Prvním reakčním mechanismem je hydroxylace ZEN na dva stereoizomery  $\beta$ -zearalenol a  $\alpha$ -zearalenol. Ve studii provedené Metzler et al. (2010) byla vyslovena teorie, že tyto dva metabolity mohou být přítomny ve žluči a v moči, jako produkty metabolismu ZEN, a jsou přeměňovány pravděpodobně střevní sliznicí nebo erytrocyty. Ve studii Pfeiffer et al. (2009), se potvrdil výskyt dalších metabolitů ZEN, které byly velmi nestabilní a jsou považovány za produkty aromatické hydroxylace. Při pozorování mikrozomů v lidských a krysích játrech se zjistilo, že navázáním jedné hydroxylové skupiny na různých pozicích alifatického cyklu, se vytváří nové metabolity ZEN (Bravin et al., 2009). Ve druhém reakčním mechanismu se jedná o konjugaci ZEN a jeho metabolitů s glukuronovou kyselinou (Ediage et al. 2012). Ve studii Molina-Molina et al. (2014) se zjistilo, že metabolity ZEN mohou být transformovány také konjugací se sulfonovou kyselinou. Tyto metabolity jsou následně vyloučeny do žluči a extrahepatálních cest, aby byly nakonec vyloučeny močí z těla ven (Hueza et al. 2014).



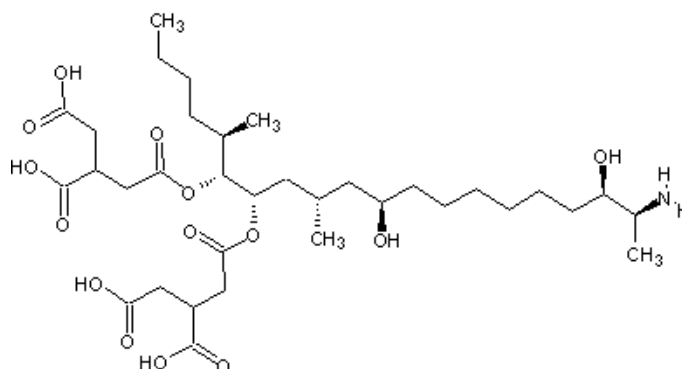
Obrázek 7: Struktura ZEN a FB<sub>1</sub>

### 3.7.4 Fumonisin (FB)

Po objevení této skupiny mykotoxinů v roce 1988 bylo identifikováno nejméně 28 sloučenin, jako fumonisin (De Ruyck et al. 2015). Fumonisin jsou produkovány hlavně druhy *Fusarium proliferatum* a *F. verticillioides*, ale byly zaznamenány i v jiných druzích *Fusarium* spp., *Alternaria alternata* nebo *Aspergillus niger*. FB se nejčastěji nacházejí na kukuřici a v produktech z kukuřice, ale byly nalezeny i v pivu, rýži, ve fazolkách adzuki a mungo, v sóje nebo v artyčoku. FB se vyskytuje ve třech formách podle své chemické struktury FB<sub>1</sub>, FB<sub>2</sub> a FB<sub>3</sub> Obrázek 7 a 8. Nejhojněji produkovanou sloučeninou je FB<sub>1</sub>, o které se současně ví

nejvíce (De Ruyck et al. 2015). Podle studie Voss et al. (2007) provedené na laboratorních krysách, při kterých se podával FB1 perorálně se zjistilo, že absorpce FB je sice rychlá, ale nízká. Po hodině pozorování byla nejvyšší dávka v krevní plazmě krys 3,5 % dávky. Jsou také podporované hypotézy o genotoxicitě FB1, zprostředkovanou mechanismy oxidačního stresu (Theumer et al. 2010). Toxiny FB1 a FB2 jsou klasifikovány jako možné karcinogeny skupiny 2B podle směrnic Světové zdravotnické organizace. Studie Alizadeh et al. (2012) našla pozitivní korelaci mezi kontaminací rýže FB1 a výskytem rakoviny jícnu. Tento vztah korelace nebyl pozorován u jiných kontaminovaných potravin ve sledované oblasti Íránu.

Kvůli podobnosti chemické struktury FB s ceramidem (N-acylsfingosid–jedná se o základní stavební jednotku všech sfingolipidů) se uvádí, že FB narušují syntézu *de novo* ceramidu a sfingolipidu, což může vést k mnoha poškozením mechanismů buněčné signalizace (Dutton 1996). V laboratorních testech Kovačič et al. (2009) byla u kapra (*Cyprinus carpio*) pozorována neurotoxicita FB1, nicméně tvorba fumonisinu A1 acetylací z aminové skupiny tyto efekty blokuje (Stockmann-Juvala & Savolainen 2008). Pokud je kukuřice upravena vařením v alkalickém prostředí tzn. ve slabém roztoku chloridu sodného, jsou některé negativní účinky na zdraví zmírněny hydrolýzou FB (Voss et al. 2007).



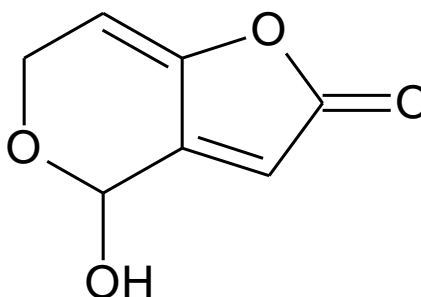
Obrázek 8–Struktura FB 2

### 3.7.5 Patulin (PAT)

Patulin (obr. 9) byl poprvé izolován roku 1943 z *Penicillium griseofulvum* (Puel et al. 2010). Nejlépe je detekovatelný z druhu *Penicillium expansum* v kontaminovaných jablkách a v produktech z nich, i když jsou za producenty PAT označovány i druhy patřící k *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp. nebo *Byssosclamyces* spp., které napadají další druhy ovoce nebo obilovin (De Ruyck et al. 2015; Zhu et al. 2015). PAT vykazuje silnou afinitu k thiolové skupině. PAT navázaný na cystein přes thiolovou skupinu je pak méně toxický, teratogenní a mutagenní. PAT má schopnost inhibovat mnoho enzymů, díky své afinitě k thiolové skupině. Jedná se o metabolit polyketidů, skupina sekundárních metabolitů hub, které obsahují karbonylovou a methylenovou skupinu, kam řadíme také AF, FB nebo OTA (Das Chagas Oliveira Freire & Bezerra da Rocha 2017).

Ačkoliv byly karcinogenní vlastnosti PAT popsány již před více než půl stoletím a Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny (IARC) jej klasifikovala do skupiny 3, tak stále nejsou dostatečné důkazy pro potvrzení karcinogenity PAT u lidí, jelikož testy karcinogenity u zvířat nebyly zcela průkazné (International Agency for Research on Cancer 1986; De Ruyck

et al. 2015). Studie de Melo et al. (2012) uvádí, že se prokázalo snížení obsahu antioxidantu glutathionu, je v korelaci se zvýšenou peroxidací lipidů a poškozením DNA. Tato tvrzení naznačují vzájemný vztah mezi volnými radikály a genotoxickými účinky PAT v životně důležitých orgánech u myši. Také se prokázalo, že poškození DNA může být minimalizováno ošetřením N–acetylcysteinem. Několik studií prokázalo klastogenitu u PAT v savčích buňkách (Liu et al. 2003; Puel et al. 2010).



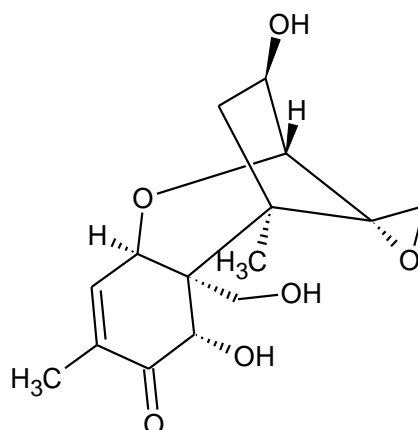
Obrázek 9: Struktura patulinu (PAT)

### 3.7.6 Deoxynivalenol (DON)

Deoxynivalenol je produkován druhy *Fusarium graminearum* a *F.culmorum* a jedním z nejvíce se vyskytujících mykotoxinů na obilovinách. Akutní otrava DON u zvířat se projevuje zvracením a odmítáním potravy, nicméně do 24 hodin je DON rychle metabolizován a vylučován močí ve formě glukuronidových konjugátů (De Ruyck et al. 2015). Podobně jako je tomu u jiných toxicky aktivních trichothecenů, je DON považován za možný inhibitor syntézy proteinů (Ji et al. 2014). Podle studie Pestka (2007) DON zabraňuje sestavení polypeptidu v eukaryotické buňce tím, že narušuje aktivitu velké ribozomální podjednotky 60S.

DON je spojován s úbytkem na váze u hospodářských zvířat, která byla vystavena působení DON a v důsledku expozice GIT působení DON, pak přijímala méně krmiva. Obzvláště citlivá jsou prasata (Flammery et al. 2011). I když je DON (obr. 10) považován za jeden z nejméně toxických trichothecenů (TCT), jeho schopnost vyvolat nechutenství a zvracení je stejně nebezpečná, nebo dokonce horší než mykotoxiny, které vyvolávají akutní toxicitu. Schopnost DON vyvolat anorexii může být výsledkem narušení některých signálních drah. DON může mít při různých dávkách jiné účinky, zpomalování růstu, úbytky na váze, zhoršené imunitní reakce organismu, špatná funkce endokrinních žláz. V této souvislosti se uvádí možnost zapojení serotoninu (Fioramonti et al. 1993; Pinton & Oswald 2014). Serotonin je produkován enterochromafinovými buňkami ve střevě. Jedná se o buňky, o kterých se věří, že mají schopnost reagovat v lumenu střev na obsah podle jeho chemického složení a mohou ovlivňovat sekreci hormonů do extracelulární tekutiny (Nozawa et al. 2009). Negativní vliv DON na imunitní reakce organismu může ovlivnit spotřebu krmiva, neboť aktivace prozánětlivých cytokinů je známa u anorexie (Pestka 2010). V myších DON způsobuje uvolnění hormonů sytosti a cholecystokininu (CCK), jež jsou označovány jako hlavní činitelé anorexie způsobené DON (Flannery et al. 2012).





Obrázek 10–Struktura deoxynivalenolu (DON)

### 3.8 Vliv mykotoxinů na střevní epitel

Mnohé studie (Liew & Mohd-Redzwan 2018; Marín Sillué et al. 2018) prokázaly narušení intestinální bariéry vlivem mykotoxinů, jež způsobují zvýšenou propustnost pro patogeny. Tato bariéra je tvořena hlenem a mikrobiotou, což jsou další činitelé, kteří společně s epitelem zajišťují chemickou, fyzickou a biologickou ochranu hostitele (Grenier & Applegate 2013; Da Silva et al. 2014). Po konzumaci potravin s mykotoxiny je střevní epitel první ochrannou bariérou, a i když jsou buňky střevního epitelu vystaveny vyšším dávkám než jiné tkáně, je velmi málo studií věnujících se interakci GIT s mykotoxiny. Interakce mykotoxinů lze klasifikovat do tří hlavních kategorií: antagonické, synergické a nulové interakce. Synergismus je vzájemné působení dvou či více mykotoxinů zesilující účinek, při antagonismu působí proti sobě a při nulové interakci nedojde přidáním dalšího mykotoxinu k zesílení ani potlačení účinku. V případě, že mykotoxiny samotné účinek nevyvolají, ale společnou interakcí vyvolají významný účinek, lze hovořit o potenciaci. Nicméně v mnoha studiích je upřednostňovaný název synergismus (Smith et al. 2016; Alassane-Kpembé et al. 2014; Das Chagas Oliveira Freire & Bezerra da Rocha 2017).

V *in vitro* studii de Angelis et al. (2005) se projevil zajímavý úkaz, že FB není schopný prostoupit střevním epitelem. Při studiích Bryden (2012) a da Rocha et al. (2014) prováděných na monogastrech, byl prokázán vstup mykotoxinů do enterohepatického cyklu, což znamená, že mykotoxiny se pomocí žluči resorbují a zůstávají v GIT déle. Například u fumonisinu (FB) je vysoká pravděpodobnost, že enterohepatický cyklus přispívá k jeho toxicitě, neboť propustnost tohoto toxinu je jinak velmi nízká. Interakcí FB s cholesterolem nebo solemi žlučových kyselin se FB dostává do smíšených micel v lumenu a je usnadněná jeho absorpce ve střevě (Mahfoud et al. 2002). Je však třeba zvážit, že podmínky *in vitro* nemohou zcela napodobit enterohepatický cyklus nebo začlenění do smíšených micel.

Naopak mykotoxin DON při zvýšené expozici nejprve vstupuje do krevního oběhu, kde je vstřebán v horních částech GIT a následně se dostává opět do lumenu střev, přičemž cestou prochází vícero střevních buněk a způsobí tak větší poškození. *In vitro* testy mohou vysvětlovat, proč jsou tyto efekty DON lépe pozorovatelné v kyčelníku než v přední části střev (Diesing et al. 2011). Vliv dvanácti vybraných mykotoxinů a jejich cytotoxicita byla pozorována

na normálních lidských buňkách střevního epithelu FHs 74Int. Při stanovování fáze apoptózy buňky byla jako indikátor použita kaspáza-3 a bylo prokázáno, že buňky byly citlivější na přítomnost ZEN, PAT a DON a nejvyšší schopnost vyvolat apoptózu vykazoval trichothecen T-2 (Nielsen et al. 2016).

Metabolismus mykotoxinů lze pozorovat jak v játrech, tak v samotném trávicím traktu. Střevní mechanismy, které probíhají buď ve střevním epitelu, nebo v mikrobiotě, mohou omezit toxické účinky mykotoxinů. Tyto mechanismy jsou poplatné hlavně pro přežvýkavce, kteří jsou schopni metabolizovat mnoho druhů mykotoxinů na netoxické sloučeniny. Odolnost přežvýkavců k některým mykotoxinům je připisována přítomnosti symbiotických mikroorganismů v batoru, které plní detoxikační úlohu. Mykotoxiny ZEN, DON nebo OTA jsou účinně zpracovány mikrobiální populací v batoru ještě před absorpcí (Cavret & Lecoer 2006). U monogastrů probíhá převážná část biotransformace mykotoxinů v tlustém střevě, což poskytuje v menší míře detoxikaci před absorpcí v těle. Aflatoxiny, na rozdíl od jiných mykotoxinů, vyžadují biotransformaci, aby vznikl toxický metabolit. Tato aktivace byla několikrát popsána v játrech, ale metabolismus AFB1 na reaktivní formu epoxidu probíhá i ve střevním traktu. Reakce mykotoxinů v GIT a absorpce v těle poskytuje důkaz, že střevní epitel je náchylný k toxickému působení těchto látek (Sergent et al. 2008; Grenier & Applegate 2013.)

Účinek mykotoxinů na stravitelnost živin a energie byl popsán hlavně u AF. Velmi malé dávky AFB1 (20 a 40 µg/kg) snižují schopnost trávení hrubé bílkoviny o 8–13 % u kachen. Z těchto důvodů bylo navrženo řešení, že AF zvyšují požadavky na aminokyseliny. V provedených testech tento jev více postihoval kachny než kuřata a zároveň bylo prokázáno, že AF snižuje využitelnost energie (Applegate et al. 2009). Jak je zmíněno ve studii Gbore et al. (2010), změny v syntéze albuminu a koncentraci bílkovin v séru u intoxikovaných zvířat mohou být důsledkem nižší stravitelnosti bílkovin. Naproti tomu studie Dänicke et al. (2003) a Leung et al. (2007) provedené na psech a kuřatech brojlerového typu prokázaly, že strava zvířat, kde se přirozeně vyskytovaly mykotoxiny produkované *Fusarium* spp., naopak zlepšila stravitelnost. Stejně tak se u krmiva s obsahem DON projevila snížená viskozita střev u brojlerů, pravděpodobně v důsledku přímého vlivu DON na obsah antinutričních látek v krmivu. Dalším možným vysvětlením může být, že rostoucí houby jsou schopny syntetizovat enzymy, které destrukují buněčnou stěnu, aby pronikly buněčnou stěnou obilky. Tato částečná degradace buněčné stěny a strukturní změny v proteinu by naznačovaly lepší dostupnost živin pro zvířata (Grenier & Applegate 2013).

Tyto výsledky zdůrazňují nutnost zvážit při hodnocení vlivu mykotoxinů na zdraví a výkonnost zvířat i fyzikálně–chemické změny v krmivu, v důsledku infekce nebo houbové kontaminace. Přesto byly ve studiích zaznamenány nekonzistentní výsledky. Některé vykazují sníženou hmotnost na pozorovaných zvířatech, ale s lepším poměrem přírůstkem hmotnosti na zkonzumované krmivo, některé studie uvádí nárůst výšky (Dänicke et al. 2003; Leung et al. 2007; Grenier & Applegate 2013). Aby se vysvětlila lepší stravitelnost, objevily se názory, že jde o fyziologickou adaptaci organismu, neboť snížením příjmu krmiva se minimalizuje

expozice mykotoxiny, což vede ke snížení objemu krmiva procházejícího GIT. Z tohoto důvodu je pak zvýšená stravitelnost a absorpce živin (Leung et al. 2007; Grenier & Applegate 2013).

ZEN, sekundární metabolit především rodu *Fusarium*, je znám svým vlivem na reprodukční orgány (Kowalska et al. 2016). Po požití ZEN nejsou jeho účinky v porovnání s dalšími mykotoxiny tak škodlivé, co se týče střev. Ve studii (Marin et al. 2015), kde byly použity buňky střevního epitelu, se prokázalo, že ZEN způsobuje apoptózu bez narušení buněčné integrity, což se měřilo pomocí transepiteliálního odporu (Liew & Mohd-Redzwan 2018). Oproti tomu metabolity ZEN, jak se ukázalo, integritu buněk naopak narušují (Marin et al. 2015). Abassi et al. (2016) ve své studii prokázali, že ZEN zlepšuje proliferaci buněk, zvyšuje počty kolonií a urychluje přesun buněk karcinomu tlustého střeva. V další studii se projevila schopnost ZEN potlačit projev genů, které brání vzniku nádorového bujení (Taranu et al. 2015). Regulace antionkogenu je důvodem, proč je ZEN občas považován za karcinogenní (Liew & Mohd-Redzwan 2018). V *in vivo* studii Lewczuk et al. (2016) na prasatech se neprojeví žádné změny v tloušťce sliznice střev, velikosti mikrokloků nebo v počtu pohárkových buněk.

Ve studii Minervini et al. (2014) zaměřené na střevní buňky, FB1 prokázal schopnost snižovat životaschopnost a proliferaci buněk v závislosti na jeho koncentraci. Řešením, co způsobuje redukcí životaschopnosti buněk, se zdá být akumulace sfinganinu v buňkách s následnou blokadou G0 a G1 fáze buňky, což vede k inhibici růstu a následné apoptóze (Angius et al. 2015). FB1 také potlačil expresi transmembránových proteinů, čímž se narušila soudržnost střevní bariéry (Romero et al. 2016; Liew & Mohd-Redzwan 2018). Úkolem transmembránových proteinů je kontrola permeability buněk, zároveň se jedná o klíčové struktury, které drží epiteliální buňky pohromadě a zprostředkovávají interakce mezi nimi (jako receptory, transportní proteiny) (Karczewski et al. 2010). Zvýšením propustnosti střevní bariéry se usnadnil přenos bakterií (Kelly et al. 2015). Hyperplazie (zmnožení buněk) pohárkových buněk je spojená s vyšší sekrecí mucinu. Při dlouhodobé nadprodukci mucinu se může vyčerpat počet pohárkových buněk, což vede k devastaci mucinové bariéry (Johansson & Hansson 2016).

Ve studii (Manafi et al. 2011) zaměřené na expozici střevních buněk OTA se ukázalo, že zvířata krměná OTA měla vyšší počet lézí a oocyst ve střevě a větší poškození sliznice. Tento jev lze vysvětlit zvýšenou permeabilitou střev, způsobenou přítomností OTA v organismu (Liew & Mohd-Redzwan 2018). Studie Wang et al. (2017) potvrdila, že oxidativní stres vyvolaný OTA úzce souvisel s apoptózou ve střevních buňkách.

Studie zabývající se zlepšením zdravotního stavu střev tzn. vylepšení střevní mikrobioty, posílení imunitní funkce, rychlá hojivost apod. (Liew & Mohd-Redzwan 2018; Omotayo et al. 2019; Du et al. 2017) se zaměřují na interakce mykotoxinů s probiotiky, neboť použití fermentovaných výrobků při zažívacích obtížích je známo již od Starověku (Prentice 2014). Samozřejmě v té době se netušilo, že jde o vzájemné interakce určitých kmenů bakterií s případnými toxiny, kterým byl daný jedinec vystaven.

### 3.9 Probiotika

Probiotika lze definovat jako živé mikroorganismy, které pokud se podají v adekvátním množství, přispívají ke zdraví hostitele i co se gastrointestinálního traktu týče. Původně se předpokládalo, že probiotika zlepšují rovnováhu střevní mikroflóry, ale nyní je už dostatek důkazů, že mají vliv i na imunitu. Probiotika aktivují makrofágy a zvyšují hladinu imunoglobulinů, které stimulují systémovou a mukózní imunitu. Toto je možné díky obsahu peptidoglykanů a lipopolysacharidů v buněčné stěně probiotik, resp. mikroorganismů (Cutting 2011; Gareau et al. 2010).

U laboratorních zvířat jsou probiotika schopná poskytnout ochranu před náhlým chemicky vyvolaným zánětem–snížením počtu cytokinů nebo vyvoláním tvorby specifických regulačních mechanismů. Při léčbě zánětů v lidském střevě nebo léčbě atopického ekzému u novorozenců se dospělo ke slibným výsledkům, nicméně výsledky se často neshodují, proto není možné zcela potvrdit efektivitu konkrétních probiotik v těchto podmínkách (Borchers et al. 2009). Nedávná studie (Blank & Gershwin 2008) ukázala, že zánět nebo změny v imunitě jsou rozhodující při rozvoji autoimunitních onemocnění. Získané důkazy poskytly nové poznatky o imunitně zprostředkovaných mechanismech při metabolických poruchách (Pagnini et al. 2010; Hemarajata & Versalovic 2013). Souhrnně tato data argumentují faktem, že je třeba určit nové způsoby na úpravu imunity buď potlačením autoimunitní reakce, jako je tomu u alergií, nebo vylepšením reakcí při imunitní nedostatečnosti výživovými doplňky v podobě probiotik, která jsou v tomto případě vhodnými kandidáty (Butel 2014; Salminen et al. 2010).

Název probiotika pochází z řeckých slov „pro bios“, což znamená příznivý pro život. První, kdo použil tento název byli Lilly a Stillwell (1965) při popisu látek, které vyprodukoval jeden mikroorganismus a stimuloval jimi růst druhého. Již staří Řekové a Římané znali prospěšnost konzumace fermentovaného mléka a sýrů a doporučovali jejich konzumaci hlavně dětem a lidem v rekonvalescenci. Původ fermentovaných mléčných výrobků sahá už k počátkům civilizace, najdeme o nich zmínky v bibli i v posvátné knize Hinduistů. Klimatické podmínky zcela jistě přispěly k rozvoji tradičních kyselých a kvašených produktů, jako například kefir, kumys, podmáslí nebo tvaroh. Všechny ze zmíněných produktů se konzumovali dávno před objevením bakterií (Prentice 2014). Během desetiletí se měnily definice probiotik, ale jejich účinky nikoliv. Pouze se čekalo na potvrzení dlouhodobějších pozitivních účinků probiotik podaných v adekvátním množství, aby bylo možné převést jejich použití z podmínek *in vitro* do *in vivo*.

V publikacích Arora a Baldi (2015) a Kumar et al. (2015) jsou uvedena doporučení při výběru vhodných probiotik podle určitých parametrů: naprostá bezpečnost pro hostitele, odolnost vůči kyselosti v žaludku a pankreatickým šťávám, adheze na epitelální buňky, schopnost inhibovat bakterie a být stabilní vůči antibiotikům a aditivům v potravinách. Probiotika užívaná v současné době nejsou vybírána podle těchto kritérií, ale nejčastěji se využívají kmeny bakterií *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* a *Streptococcus* (*S. thermophilus*) nebo *Saccharomyces cerevisiae*. Kmeny *Lactobacillus* a *Bifidobacterium* jsou odolné vůči kyselému pH v žaludku a pankreatickým enzymům, vykazují schopnost adheze ke sliznici tlustého střeva a snadno jej osidlují (Soccol et al. 2010; Palma et al. 2015).

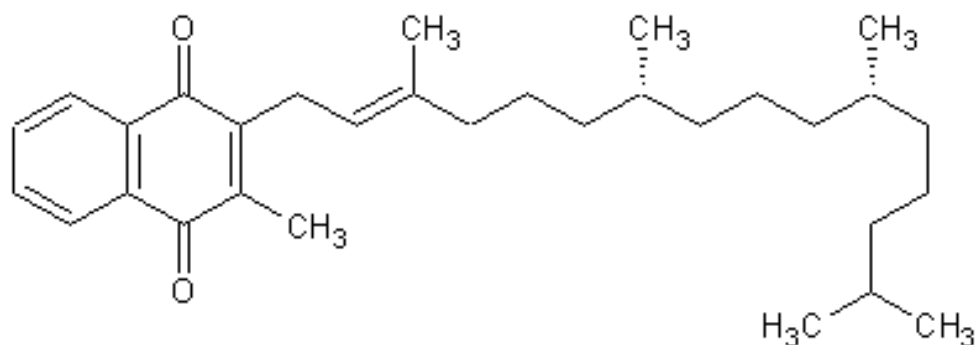
Některé z dalších benefitů, které poskytuje konzumace probiotických kmenů bakterií, podávaných farmaceuticky nebo formou fermentovaných mléčných výrobků, je i snížení rizika rozvoje nádorového onemocnění, spontánní mutace, úprava střevní mikrobioty, zmírnění laktóзовé intolerance, posílení střevní slizniční imunity, zrychlení motility střev, prevence průjmovitých onemocnění, inhibice *Helicobacter pylori* a další dosud *in vitro/in vivo* neproověřené účinky (Soccol et al. 2010; Sanders et al. 2014). *H. pylori* je jeden z nejčastějších patogenů napadajících téměř 50 % světové populace. Napadá stěny sliznice žaludku a způsobuje dyspepsie a vředová onemocnění, která jsou léčitelná. Postup a zahájení léčby zahrnuje neinvazivní test na přítomnost *H. pylori* při různých dyspepsiích u pacienta, pokud jde o pozitivní nález, není třeba provádět endoskopii. Tuto strategii lze provádět u pacientů, kde je nízká pravděpodobnost výskytu karcinomu v žaludku. To se posuzuje v závislosti na prevalenci rakoviny žaludku v dané zemi podle věkových skupin a na tzv. alarmujících symptomech. Ty zahrnují úbytek na váze, krvácení do GIT, dysfagii a anémii s nedostatkem železa (Malfertheiner et al. 2012).

Je pravděpodobné, že orálně podávaná probiotika dosahují příznivých účinků díky určité kombinaci kmenů a jejich mechanismům. Mezi interakce probiotických bakterií patří i kompetitivní reakce s enteropatogeny o živiny, biokonverze dostupných sacharidů na organické kyseliny, což vede ke snižování střevního pH a inhibici případných patogenů, produkce vitamínů a máselné kyseliny a stimulaci imunitního systému (Vinderola & Ritieni 2015).

Mezi vitamíny produkované střevními symbiotickými bakteriemi patří riboflavin (vitamín B<sub>2</sub>), kobalamin (vitamín B<sub>12</sub>), vitamín K a další vitamíny skupiny B. Riboflavin hraje významnou roli v buněčném mechanismu, neboť je prekurzorem koenzymů flavinmononukleotidu (FMN) a flavinadenindinukleotidu (FAD), které přenášejí kationt vodíku v mnoha redoxních reakcích (LeBlanc et al. 2013). Mikrobiální riboflavin se vytváří biosyntézou prekurzorů guanosintrifosfátu (GTP) a ribulózy-5-fosfátu prostřednictvím sedmi enzymatických kroků. Koncentrace vitamínu B<sub>2</sub> je odlišná v každém mléčném produktu, vzhledem k technologickým postupům při výrobě a činnosti mikroorganismů (LeBlanc et al. 2011). Bylo prokázáno, že většina jogurtových startovacích kultur snižuje přirozený výskyt tohoto esenciálního vitamínu, zatímco některé jej naopak mohou navýšit až o 160 % v nefermentovaném mléce (Kneifel et al. 1992).

Vitamín B<sub>12</sub>, běžně také známý jako kobalamin, je souhrnný název pro skupinu vitamínů, patřících do korinoidů. Molekula se skládá ze čtyř dusíkatých cyklů s centrálně vázaným atomem kobaltu (Matthews 2009). Rostliny, živočichové ani houby nejsou schopni produkovat kobalamin, proto je třeba symbiotických anaerobních bakterií. Jeden z prvních modelových organismů, na kterém se testovala biosyntéza kobalaminu, byl *P. freudenreichii*, jenž je běžně komerčně využíván při syntéze vitamínu B<sub>12</sub>. Jako první z kmene *Lactobacillus*, u kterého se prokázala produkce sloučeniny velmi podobné kobalaminu, byl *L. reuteri*. Kmeny *Propionibacteria* a *L. reuteri*, které se běžně vyskytují v lidském střevě, jsou částečně schopny pokrýt potřeby organismu po kobalaminu. Fylochinon, běžně známý pod pojmem vitamín K (obr. 11), je nezbytný pro správnou funkci proteinů, které se podílejí na procesu srážení krve

(Shearer et al. 2012; LeBlanc et al. 2013). Doporučenou denní dávkou vitamínu K lze pokrýt konzumací listové zeleniny.



Obrázek 11: Vitamin K<sub>1</sub>

Než jsou probiotika schválena pro užívání u člověka, je třeba, aby splnila určitá kritéria. Nesmějí být patogenní, poškozovat sliznici střev, přenášet imunitu vůči některým antibiotikům. Naopak musí být k antibiotikům senzibilní, přežít transport do střev, přilnout ke slizničním povrchům, vytvářet kolonie bakterií v lidském střevě a produkovat antimikrobiální látky. Ověřenými probiotiky, jež splňují tato kritéria, jsou kmeny bakterií *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus* a *Enterococcus*.

BMK jsou specifická skupina grampozitivních bakterií, u kterých je hlavní komponentou buněčné stěny peptidoglykan a další sloučeniny v nižším procentuálním zastoupení, sestávající z organických kyselin, S vrstvy (glykoproteiny) a některých polysacharidů. Mezi zástupce BMK patří rody *Lactobacillus*, *Enterococcus* a *Streptococcus* (Nagaoka et al. 1996; Zhoghi et al. 2014). V nedávných studiích se došlo k názoru, že některé probiotické kmeny mohou vykazovat stejné vlastnosti jako komenzálové, včetně imuno–modulace.

### 3.10 Interakce mykotoxinů s probiotiky

Obranným mechanismům probiotických bakterií vůči gastrointestinálním patogenům se dostalo zvláštní pozornosti, neboť tyto interakce jsou jedno z hlavních kritérií při výběru probiotik pro účely člověka. Mechanismy, které uplatňují probiotika na hostitele, jsou do značné míry neprobádány. Mezi známé mechanismy patří snížení lumenálního pH, kompetitivní reakce s patogeny o místo adheze a zdroje živin, sekrece antimikrobiálních látek nebo toxická inaktivace (Salminen et al. 2010). K interakcím mezi hostitelem a bakteriemi patří reakce bakterie s epitelem (adheze ke sliznici a epiteliálním buňkám, stimulace sekrece hlenu, posílení střevní bariéry), další interakce bakterií s imunitním systémem (modulace a regulace imunitních reakcí) a v neposlední řadě také interakce bakterií s dalšími bakteriemi (kompetice o živiny, sekrece antimikrobiálních látek, inhibice patogenů).

Kombinací známých kmenů probiotických bakterií, jakými jsou *L. rhamnosus* GG a *Bifidobacterium lactis* se může dosáhnout účinnější inhibice adheze toxinu. Při inhibici adheze patogenů se specifické kombinace probiotických kmenů ukázaly procentuálně jako efektivnější než samostatně testované kmeny (Ouweland et al. 2000; Salminen et al. 2010).

Mezi průkopníky studií zaměřených na interakci různých kmenů BMK s mykotoxiny, resp. jejich schopnost je vázat, patří Hani El-Nezami, který sledoval *in vitro* interakci mezi AF a BMK. Jeho práce dala podnět ke vzniku mnoha studií zaměřených na tuto problematiku (El-Nezami et al. 1998). Schopnost vázat AFB1 byla sledována u *Lactobacillus rhamnosus* GG, *L. casei* Shirota, *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermani* a u *Escherichia coli*. Po smísení kmenů probiotických bakterií s roztokem mykotoxinů se v tekutině nad sedimentem prokázala schopnost vázat již v čase nula a co se týče stability, nebyly pozorované výrazné procentuální rozdíly při pozorování v časech 4, 24, 48 a 72 hodin. Ovšem stojí za zmínku, že došlo k výraznému snížení koncentrace AFB1 v precipitátu, když byly buňky přítomny ve vysokých koncentracích alespoň  $2 \times 10^9$  KTJ (kolonie tvořící jednotky)/ml. Vazba mezi AFB1 a buňkami se prokázala být nezávislou na životaschopnosti buněk, neboť i tepelně inaktivované buňky, odstraňovaly AFB1 (El-Nezami et al. 1998; Topcu et al. 2010).

Při pokusech v následujících letech se prokázala schopnost vazby probiotik s mykotoxiny i po okyselení a tepelném usmrcení LGG. Topcu et al. (2010) potvrdili ve své studii, že životaschopnost probiotických bakterií nemá žádný vliv na detoxifikaci AFB1 a PAT, pozorováno na kmenech *Enterococcus*. AFB1 tvoří vazby převážně se sacharidovou složkou v bakteriích, a proto se uvádí, že hydrofobní reakce jsou klíčové při tvorbě vazeb mezi mykotoxiny a probiotiky (El-Nezami et al. 1998; Vinderola & Ritieni 2015). Ve studii Zoghi et al. (2017) je zkoumána možnost lepší detoxifikace PAT z vytvořeného vzorku. Vzorek se skládal z jablečného džusu, kmenů bakterií *L. acidophilus* nebo *L. platarum*, citrónové kyseliny, askorbové kyseliny, prebiotik (fruktooligosacharidy a inulin) a určeného množství mykotoxinu PAT. Nicméně nebyla potvrzena výrazně vyšší schopnost probiotik navázat PAT a účinně detoxifikovat vzorek jablečného džusu od daného množství mykotoxinu.

Pro některé kmeny je nutná určitá teplota, koncentrace nebo hodnota pH, aby interakce vůbec proběhla. Je také třeba zohlednit, že laboratorní testy se provádějí s mnohem vyšší koncentrací probiotických bakterií, než je tomu u běžných mléčných fermentovaných výrobků. Samozřejmě i perorálně podané farmaceutické produkty se při prostupu GIT zředí. Toto je třeba mít na vědomí, při zhodnocování výsledků studií *in vitro*, kde se uvádí vysoká schopnost vaznosti probiotik s mykotoxiny, které následně *in vivo* mohou vykazovat nižší vaznost kvůli zmíněnému naředění při průchodu GIT. Nicméně je zajímavé, že schopnost zachovat vazbu mykotoxin–probiotikum, je možné i po strávení v žaludku. Při testování interakcí probiotik s mykotoxiny u lidí se používají kromě jiných i buňky Caco-2 (buňky adenokarcinomu tlustého střeva), u kterých se prokázalo, že probiotika mohou snížit další šíření a toxicitu AFB1, také chrání před snížením transepiteliálního odporu buněk a poškozením DNA a jsou schopny obnovit proces diferenciaci u poškozených buněk (Vinderola & Ritieni 2015).

Snahou studií, zaměřených na interakce mykotoxinů s probiotiky, je nalézt účinný způsob, jak inhibovat biosyntézu mykotoxinů na jejich metabolity, které často bývají škodlivější než samotné mykotoxiny, a navázat kmeny probiotických bakterií na mykotoxin, čímž je účinně potlačen jeho případný škodlivý účinek. Buněčná stěna některých kmenů bakterií, jako *Streptococcus* nebo *Leuconostoc*, je schopná vázat některé mutagenní

sloučeniny, konkrétně heterocyklické dusíkaté sloučeniny a pyrolyzáty aminokyselin, které vznikají při nevhodné úpravě masa (Dailé et al. 2010). Schopnost navázat patogen, vykazují i další rody bakterií, které se běžně nacházejí ve fermentovaných mléčných výrobcích (Hickson 2011).



## 4 Závěr

Mykotoxiny jsou hrozbou pro lidské zdraví, neboť mohou způsobit mnoho vážných onemocnění převážně v rozvojových zemích, včetně rakoviny. Vzhledem k tomu, že jsou mykotoxiny velmi rezistentní vůči tepelným úpravám, je prakticky nemožné je odstranit z již kontaminovaného krmiva nebo potravin. Z tohoto důvodu je vhodnou prevencí kontrola zemědělských produktů ještě před sklizní. Tímto se výrazně zamezí šíření mykotoxinů a tím pádem i nemocí způsobených mykotoxiny, což následně zajistí bezpečnější potraviny. Je proto žádoucí, aby se vládní systém rozvojových zemí věnoval více rozvoji metod na zjišťování přítomnosti mykotoxinů v plodinách a zajistil tak lépe udržitelný potravinový systém.

Prevence a kontrola výskytu mykotoxinů může být mechanická, manuální, chemická a biologická. Při mechanické kontrole je třeba zabránit houbovému růstu v zemědělských plodinách, což znamená nepřetržitý dohled při pěstování. Tímto způsobem se zamezí následnému přenosu mykotoxinů na zvířata a lidi. Mezi účinná zemědělská opatření patří pravidelná obměna plodin, pěstování a sklizení ve vhodných klimatických podmínkách pro danou rostlinu, čímž se také redukuje stres v rostlinách. Zdroje případné nákazy mykotoxinů, jako plevele nebo potravinářské zbytky, které mohou při biodegradaci produkovat mykotoxiny, je třeba minimalizovat, aby se zabránilo případné kontaminaci. Mechanické třídění, kdy jsou odděleny čisté plodiny od těch napadených plísni, by mělo být samozřejmostí, pokud se chce zabránit dalšímu šíření.

K manuálním opatřením patří i omývání plodin slabým roztokem uhličitanu sodného. Některé výzkumy prokázaly, že vystavením potravin vysokým teplotám nejméně 150 °C, což je o dost více, než je běžná teplota při vaření, je možné snížit obsah mykotoxinů v potravine. Ovšem takto vysoké teploty zničí i nutričně významné a potřebné látky, jako například vitamíny. Je třeba také zachovat vhodnou teplotu při skladování plodin, aby se zamezilo vzniku plísni. Skladovací zařízení musí být dostatečně kvalitní, aby se zamezilo případnému šíření vlhkosti. Semena, jež se skladují déle než 14 dní, je třeba uchovávat v chladu a zároveň pravidelně provzdušňovat.

Mnoho chemických přípravků se prokázalo jako efektivní při eliminaci mykotoxinů. Řadí se sem různé kyseliny, zásady, soli, oxidační a redukční činidla nebo formaldehyd. Použití amoniaku a jeho solí je rozšířenou metodou při likvidaci plodin napadených AF nebo OTA. Tato metoda sice úspěšně rozloží OTA v kukuřici nebo v ječmenu, ale sníží se tím sensorické i nutriční vlastnosti potravin. U takto ošetřených plodin je pozorován snížený obsah aminokyselin, které obsahují ve svém řetězci navázanou síru.

## 5 Přehled literatury

- 1) Salminen S, Nybom S, Meriluoto J, Collado CM, Vesterlund S, El-Nezami S. 2010. Interaction of probiotics and pathogens—benefits to human health?. *Current opinion in biotechnology* **21**:157-167.
- 2) Ouwehand AC, Isolauri E, Kirjavainen PV, Ölkö ST, Salminen SJ. 2000. The mucus binding of *Bifidobacterium lactis* Bb12 is enhanced in the presence of *Lactobacillus* GG and *Lact. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. *Letters in Applied Microbiology* **30**:10-13.
- 3) Angius F, Spolitu S, Uda S, Deligia S, Frau A, Banni S, Batetta B. 2015. High-density lipoprotein contribute to G0-G1/S transition in Swiss NIH/3T3 fibroblasts.. *Scientific reports* **5**:17812.
- 4) Alassane-Kpembi I, Puel O, Oswald IP. 2014. Toxicological interactions between the mycotoxins deoxynivalenol, nivalenol and their acetylated derivatives in intestinal epithelial cells. *Archives of Toxicology* **89**:1337-1346.
- 5) Pashkevych G. 2012. Environment and economic activities of Neolithic and Bronze age populations of the Northern Pontic area. *Quaternary International* **261**:176-182.
- 6) Zhoghi A, Khosravi-Darani K, Sohrabvandi S. 2014. Surface Binding of Toxins and Heavy Metals by Probiotics. *Mini reviews in medicinal chemistry* **14**:84-98.
- 7) Rychlik M, Lepper H, Weidner C, Asam S. 2016. Risk evaluation of the *Alternaria* mycotoxin tenuazonic acid in foods for adults and infants and subsequent risk management. *Food Control* **68**:181-185.
- 8) Hudák R, Kachlík D. 2013. *MEMORIX ANATOMIE*. TRITON, Praha.
- 9) O'Connor A, O'Moráin C. 2014. Digestive Function of the Stomach. *Digestive Diseases* **32**:186-191
- 10) Gelberg HB. 2014. Comparative Anatomy, Physiology, and Mechanisms of Disease Production of the Esophagus, Stomach, and Small Intestine. *Toxicologic pathology* **42**:54-66.
- 11) Canani R, Di Costanzo M, Leone L, Pedata M, Meli R, Calignano A. 2011. Potential beneficial effects of butyrate in intestinal and extraintestinal disease. *World Journal of Gastroenterology* **17**:1519-1528.
- 12) Velnar T, Bailey T, Smrkolj V. 2009. The Wound Healing Process: an Overview of the Cellular and Molecular Mechanisms. *The Journal of International Medical Research* **37**:1528-1542.
- 13) Guo SA, DiPietro LA. 2010. Factors affecting wound healing. *Journal of dental research* **89**:219-229.

- 14) Peyrin-Biroulet L, Reinisch W, Colombel J, et al. 2014. Clinical disease activity, C-reactive protein normalisation and mucosal healing in Crohn's disease in the SONIC trial. *Gut* **63**:88-95.
- 15) Čihák R. 2013. *Anatomie 2, Třetí, upravené a doplněné vydání*. Grada, Praha.
- 16) Tun GS, Cripps S, Lobo AJ. 2018. Crohn's disease: management in adults, children and young people – concise guidance. *Clinical Medicine* **18**:231-236.
- 17) Kaiser L, Surawicz CM. 2012. Infectious causes of chronic diarrhoea. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* **26**:563-571.
- 18) Van Assche G, Dignass A, Panes J, Beaugerie L, Karagiannis J, Allez M, Kupcinkas L. 2010. The second European evidence-based consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease: definitions and diagnosis. *Journal of Crohn's and Colitis* **4**:7-27.
- 19) Sawczenko A, Ballinger AB, Savage MO, Sanderson IR. 2006. Clinical features affecting final adult height in patients with pediatric-onset Crohn's disease. *Pediatrics* **118**:124-129.
- 20) Wild T, Ranbarnia A, Kellner M, Sobotka L, Eberlein T. 2010. Basics in nutrition and wound healing. *Nutrition* **26**:862-866.
- 21) Wang HJ, Zakhari S, Jung MK. 2010. Alcohol, inflammation, and gut-liver-brain interactions in tissue damage and disease development. *WJG* **16**:1304.
- 22) Aamodt G, Jahnsen J, Bengtson MB, Moum B, Vatn MH. 2008. Geographic distribution and ecological studies of inflammatory bowel disease in southeastern Norway in 1990–1993. *Inflamm Bowel Dis* **14**:984-991.
- 23) Barclay AR, Russell RK, Wilson ML, Gilmour WH, Satsangi J. 2009. Systematic review: the role of breastfeeding in the development of pediatric inflammatory bowel disease. *J pediatr* **155**:421-426.
- 24) Johnston JL, Fanzo JC, Cogill B. 2014. Understanding Sustainable Diets: A Descriptive Analysis of the Determinants and Processes That Influence Diets and Their Impact on Health, Food Security, and Environmental Sustainability. *Advances in nutrition* **5**:418-429.
- 25) Valenzuela CF, Jotty K. 2015. Mini-Review: Effects of Ethanol on GABA A Receptor-Mediated Neurotransmission in the Cerebellar Cortex—Recent Advances. *The Cerebellum* **14**:438-446.
- 26) Jones DT, Osterman MT, Bewtra M, Lewis JD. 2008. Passive smoking and inflammatory bowel disease: a meta-analysis. *Am J Gastroenterol* **103**:2382-2393.
- 27) Seksik P, Nion-Larmurier I, Sokol H, Beaugerie L, Cosnes J. 2009. Effects of light smoking consumption on the clinical course of Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* **15**:734-741.

- 28) Joossens M, Huys G, Cnockaert M, De Preter V, Verbeke K, Rutgeerts P. 2011. Dysbiosis of the faecal microbiota in patients with Crohn's disease and their unaffected relatives. *Gut* **60**:631-637.
- 29) Moussata D, Goetz M, Gloeckner A. 2011. Confocal laser endomicroscopy is a new imaging modality for recognition of intramucosal bacteria in inflammatory bowel disease in vivo. *Gut* **60**:26-33.
- 30) García Rodríguez LA, Ruigómez A, Panés J. 2006. Acute gastroenteritis is followed by an increased risk of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* **130**:1588-1594.
- 31) Lee JS, Shin SJ, Collins MT. 2009. Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis fibronectin attachment protein activates dendritic cells and induces a Th1 polarization. *Infect Immun* **77**:2979-2988.
- 32) Rubio-Tapia A, Hill I, Kelly C, Calderwood A, Murray J. 2013. ACG Clinical Guidelines: Diagnosis and Management of Celiac Disease. *The American Journal of Gastroenterology* **108**:656-676.
- 33) Kelly JR, Kennedy PJ, Cryan JF, Dinan TG, Clarke G, Hyland NP. 2015. Breaking down the barriers: the gut microbiome, intestinal permeability and stress-related psychiatric disorders. *Frontiers in cellular neuroscience* **9**:392.
- 34) Zuidmeer L, Goldhahn K, Rona R, Gislason D, et al. 2008. The prevalence of plant food allergies: A systematic review. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* **121**:1210-1218.
- 35) Comino I, Real A, Lorenzo L, et al. 2011. Diversity in oat potential immunogenicity: basis for the selection of oat varieties with no toxicity in coeliac disease. *Gut* **60**:915-922.
- 36) Sapone A, Lammers K, Casolaro V, Cammarota M. 2011. Divergence of gut permeability and mucosal immune gene expression in two gluten-associated conditions: celiac disease and gluten sensitivity. *BioMed Central, BioMed Central Ltd.* Available at <https://bmcmmedicine.biomedcentral.com/articles/10.1186/1741-7015-9-23#Abs1> (accessed March 01, 2019).
- 37) Rossell C, Barro F, Sousa C, Mena MC. 2014. Cereals for developing gluten-free products and analytical tools for gluten detection. *Journal of Cereal Science* **59**:354-364.
- 38) Niemelä O, Alatalo P. 2010. Biomarkers of alcohol consumption and related liver disease. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation* **70**:305-312.
- 39) Romero A, Ares I, Ramos E, Castellano V, Martínez M, Martínez-Larrañaga MR, Martínez MA. 2016. Mycotoxins modify the barrier function of Caco-2 cells through differential gene expression of specific claudin isoforms: protective effect of illite mineral clay. *Toxicology* **353**:21-33.

- 40) Hager AS, Wolter A, Jacob F, Zannini E, Arendt EK. 2012. Nutritional properties and ultra-structure of commercial gluten free flours from different botanical sources compared to wheat flours. *Journal of Cereal Science* **56**:239-247.
- 41) Karczewski J, Troost FJ, Konings I, Dekker J, Kleerebezem M, Brummer RJM, Wells JM. 2010. Regulation of human epithelial tight junction proteins by *Lactobacillus plantarum* in vivo and protective effects on the epithelial barrier. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* **298**:G851-G859.
- 42) Borchers A, Selmi C, Meyers FJ, Keen CL, Gershwin E. 2009. Probiotics and immunity. *Journal of Gastroenterology* **44**:26-46.
- 43) Blank M, Gershwin E. 2008. Autoimmunity: from the mosaic to the kaleidoscope. *Journal of Autoimmunity* **30**:1-4.
- 44) Pagnini C, Saeed R, Bamias G, Arseneau OK, Pizarro TT, Cominelli F. 2010. Probiotics promote gut health through stimulation of epithelial innate immunity. *Proceedings of the national academy of sciences* **107**:454-459.
- 45) Arora M, Baldi A. 2015. Regulatory categories of probiotics across the globe: A review representing existing and recommended categorization. *Indian journal of medical microbiology* **33**:2-10.
- 46) Hickson M. 2011. Probiotics in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea and *Clostridium difficile* infection. *Therapeutic advances in gastroenterology* **4**:185-197.
- 47) Parlesak A, Schäfer C, Schütz T, Bode C. 2000. Increased intestinal permeability to macromolecules and endotoxemia in patients with chronic alcohol abuse in different stages of alcohol-induced liver disease. *Journal of Hepatology* **32**:742-747.
- 48) Sanders ME, Lenoir-Wijnkoop I, Salminen S, Merenstein DJ, Gibson GR, Petschow BW. 2014. Probiotics and prebiotics: prospects for public health and nutritional recommendations. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1309**:19-29.
- 49) Wang Y, Liu Y, Sidhu A, Ma Z, McClain C, Feng W. 2012. *Lactobacillus rhamnosus* GG culture supernatant ameliorates acute alcohol-induced intestinal permeability and liver injury. *American Physiological Society* **303**:32-41.
- 50) Palma ML, Zamith-Miranda D, Martins FS, Bozza FA, Nimrichter L, Montero-Lomeli M, Douradinha B. 2015. Probiotic *Saccharomyces cerevisiae* strains as biotherapeutic tools: is there room for improvement?. *Applied microbiology and biotechnology* **99**:6563-6570.
- 51) Shearer MJ, Fu X, Booth SL. 2012. Vitamin K nutrition, metabolism, and requirements: current concepts and future research. *Advances in Nutrition* **3**:182-195.

- 52) Matthews RG. 2009. Cobalamin and Corrinoid-Dependent Enzymes. *Met Ions Life Sc* **6**:53-114.
- 53) Kneifel W, Kaufmann M, Fleischer A, Ulberth F. 1992. Screening of commercially available mesophilic dairy starter cultures: biochemical, sensory, and microbiological properties. *Journal of dairy science* **75**:3158-3166.
- 54) LeBlanc JG, Laiño JE, del Valle MJ, Vanini VV, van Sinderen D, Taranto MP, Sesma F. 2011. B-group vitamin production by lactic acid bacteria – current knowledge and potential applications. *Journal of applied microbiology* **111**:1297-1309.
- 55) LeBlanc JG, Milani C, de Giori DS, Sesma F, van Sinderen D, Ventura M. 2013. Bacteria as vitamin suppliers to their host: a gut microbiota perspective. *Curr Opin Biotechno* **24**:160-168.
- 56) Malfertheiner P, Megraud F, O’Morain CA, Atherton J, Axon AT, Bazzoli F, El-Omar EM. 2012. Management of *Helicobacter pylori* infection the Maastricht IV/ Florence Consensus Report. *Gut* **61**:646-664.
- 57) Ringot D, Chango A, Schneider YJ, Larondelle Y. 2006. Toxicokinetics and toxicodynamics of ochratoxin A, an update. *Chemico-Biological Interactions* **159**:18-46.
- 58) Cavret S, Lecoer S. 2006. Fusariotoxin transfer in animal. *Food and Chemical Toxicology* **44**:444-453.
- 59) Munkvold GP, Arias S, Taschl I, Gruber-Dorninger C. 2019. Mycotoxins in Corn: Occurrence, Impacts, and Management. *Corn*. AACC International Press **1**:235-287.
- 60) Woundenberg JHC, Groenewald JZ, Binder M, Crous PW. 2013. *Alternaria* redefined. *Studies in Mycology* **75**:171-212.
- 61) Bensch K. 2016. Mycobank. International Mycological Association (IMA), Nizozemsko. Available at <http://www.mycobank.org> (accessed March 10, 2019).
- 62) Lorenzoni G. 2010. Poultry Diseases Influenced by Gastrointestinal Health: Traditional Treatments and Innovative Solutions. 1-140 in *Poultry Diseases Influenced by Gastrointestinal Health: Traditional Treatments and Innovative Solutions*. Nottingham University Press, Loughborough, UK.
- 63) Grenier B, Applegate T. 2013. Modulation of Intestinal Functions Following Mycotoxin Ingestion: Meta-Analysis of Published Experiments in Animals. *Toxins* **5**:396-430.
- 64) Osselaere A, Devreese M, Goossens J, Vandenbroucke V, De Baere S, De Backer P, Croubels S. 2013. Toxicokinetic study and absolute oral bioavailability of deoxynivalenol, T-2 toxin and zearalenone in broiler chickens. *Food and Chemical Toxicology* **51**:350-355.
- 65) Bryden WL. 2007. Mycotoxins in the food chain: human health implications. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition* **16**:95-101.

- 66) Das Chagas Oliveira Freire F, Bezerra da Rocha ME. 2017. Impact of Mycotoxins on Human Health. *Fungal Metabolites* **1**:239-261.
- 67) Paterson RRM, Venâncio A, Lima N, Guilloux-Bénatier M, Rousseaux S. 2018. Predominant mycotoxins, mycotoxigenic fungi and climate change related to wine. *Food Research International* **103**:478-491.
- 68) Almousa AA, El-Ghany MN, Ashour E. 2019. Citric Acid Fermentation by *Aspergillus niger*. *Journal of Innovations in Pharmaceutical and Biological Sciences, Saudská Arábie*. Available at [http://www.jipbs.com/VolumeArticles/FullTextPDF/415\\_JIPBSV5I404.pdf](http://www.jipbs.com/VolumeArticles/FullTextPDF/415_JIPBSV5I404.pdf) (accessed March 17, 2019).
- 69) Izquierdo AA, Cuenca-Estrella M, Monzón A, Mellado E, Rodríguez-Tudela JL. 2008. Antifungal susceptibility profile of clinical *Fusarium spp.* isolates identified by molecular methods. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **61**:805-809.
- 70) Jestoi M. 2008. Emerging Fusarium-Mycotoxins Fusaproliferin, Beauvericin, Enniatins, And Moniliformin—A Review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **48**:21-49.
- 71) Mahfoud R, Maresca M, Santelli M, Pfohl-Leszkowicz A, Puigserver A, Fantini J. 2002. PH-dependent interaction of fumonisin B-1 with cholesterol: Physicochemical and molecular modeling studies at the air-water interface. *J. Agric. Food Chem* **50**:327-331.
- 72) De Angelis I, Friggé G, Raimondi F, Stamatii A, Zucco F, Caloni F. 2005. Absorption of fumonisin B-1 and aminopentol on an in vitro model of intestinal epithelium; the role of P-glycoprotein. *Toxicon* **45**:285-291.
- 73) Hymery N, Vasseur V, Coton M, Mounier J, Jany JL. 2014. Filamentous Fungi and Mycotoxins in Cheese: A Review. *Comprehensive reviews in Food Science and Food Safety* **13**:437-456.
- 74) Fontaine K, Passeró E, Vallone L, Hymery N, Coton M, Jany JL, Coton E. 2015. Occurrence of roquefortine C, mycophenolic acid and aflatoxin M1 mycotoxins in blue-veined cheeses. *Food Control* **47**:634-640.
- 75) Bennet JW, Klich M. 2003. Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews* **16**:497-516.
- 76) Hazardous Chemicals in Humans and Environmental Health: International Programme on Chemical safety. 2000. WHO. World Health Organisation, Ženeva, Švýcarsko. Available at [http://whqlibdoc.who.int/hq/2000/WHO\\_PCS\\_00.1.pdf](http://whqlibdoc.who.int/hq/2000/WHO_PCS_00.1.pdf), 7-9. (accessed March 21, 2019).
- 77) Lewczuk B, Przybylska-Gornowicz B, Gajecka M, Targońska K, Ziółkowska N, Prusik M, Gajecki M. 2016. Histological structure of duodenum in gilts receiving low doses of

- zearalenone and deoxynivalenol in feed. *Experimental and Toxicologic Pathology* **68**:157-166.
- 78) Lopez C, Ramos L, Bulacio L, Ramadan S, Rodriguez F. 2002. Aflatoxin B1 in human serum: Aflatoxin B1 content in patients with hepatic diseases. *Medicina (Buenos Aires)* **62**:313-316.
- 79) Sudakin DL. 2003. Dietary aflatoxin exposure and chemoprevention of cancer: A clinical review. *Journal of Toxicology and Clinical Toxicology* **41**:195-204.
- 80) Kitya D, Bbosa GS, Mulogo E. 2010. Aflatoxin levels in common foods of South Western Uganda: a risk factor to hepatocellular carcinoma. *European Journal of Cancer Care* **19**:516-521.
- 81) Cortéz G, Carvaljal M, Mendez-Ramírez I, Ávilla-González E, Chilpa-Galván N. 2010. Identification and quantification of aflatoxins and aflatoxicol from poultry feed and their recovery poultry litter. *Poultry science* **89**:993-1001.
- 82) Thrasher JD, Crawley SL. 2009. The Biontaminants and Complexity of Damp Indoor Spacs: More than Meets the Eyes. *Toxicology and Industrial Health* **25**:583-616.
- 83) Wild CP, Montesano R. 2009. A model of interaction: Aflatoxins and hepatitis viruses in liver cancer aetiology and prevention. *Cancer letters* **286**:22-28.
- 84) Wu F, Khlangwiset P. 2010. Health economic impacts and cost-effectiveness of aflatoxin reduction strategies in Africa: Case studies in biocontrol and postharvest interventions. *Food Additives & Contaminants* **27**:496-509.
- 85) Bbosa GS, Kitya D, Lubega A, Ogwal-Okeng J, Anokbonggo WW, Kyegombe DB. 2013. Review of the Biological and Health Effects of Aflatoxins on Body Organs and Body Systems. IntechOpen Limited, United Kingdom. Available at <https://www.intechopen.com/books/aflatoxins-recent-advances-and-future-prospects/review-of-the-biological-and-health-effects-of-aflatoxins-on-body-organs-and-body-systems> (accessed March 25, 2019).
- 86) Van der Merwe KJ, Steyn PS, Fourie L, Scott DEB, Theron JJ. 1965. Ochratoxin A, a Toxic Metabolite produced by *Aspergillus ochraceus* Wilh. *Nature* **205**:1112-1113.
- 87) da Rocha MEB, Freire FDCO, Maia FEF, Guedes MIF, Rondina D. 2014. Mycotoxins and their effects on human and animal health. *Food Control* **36**:159-165.
- 88) Somma S, Perrone G, Logrieco AF. 2012. Diversity of black *Aspergilli* and mycotoxin risks in grape, wine and dried vine fruits. *Phytopathologia Mediterranea* **51**:131-147.
- 89) Kowalska K, Habrowska-Górczyńska DE, Piastowska-Ciesielska AW. 2016. Zearalenone as an endocrine disruptor in humans. *Environmental toxicology and pharmacology* **48**:141-149.



- 90) Duarte SC, Lino MC, Pena A. 2012. Food safety implications of ochratoxin A in animal-derived food products. *The Veterinary Journal* **192**:286-292.
- 91) Kriszt R, Krifaton C, Szoboszlay S, Csérháti M, Kriszt B. 2012. A new zearalenone biodegradation strategy using non-pathogenic *Rhodococcus pyridinivorans* K408 strain. *PloS one* **7**:e43608.
- 92) Lee HB, Patriarca A, Magan N. 2015. *Alternaria* in Food: Ecophysiology, Mycotoxin Production and Toxicology. *Mycobiology* **43**:93-106.
- 93) Omotayo OP, Omotayo AO, Mwanza M, Babalola OO. 2019. Prevalence of Mycotoxins and Their Consequences on Human Health. *Toxicological research* **35**:1.
- 94) Nagaoka M, Hashimoto S, Shibata H, Kimura I, Kimura K, Sawada H. 1996. Structure of a galactan from cell walls of *Bifidobacterium catenulatum* YIT4016. *Carbohydrate research* **281**:285-291.
- 95) Topcu A, Bulat T, Wishah R, Boyaci IH. 2010. Detoxification of aflatoxin B1 and patulin by *Enterococcus faecium* strains. *International journal of food microbiology* **139**:202-205.
- 96) Bryden WL. 2012. Mycotoxin contamination of the feed supply chain: Implications for animal productivity and feed security. *Animal Feed Science and Technology* **1-2**:134-158.
- 97) Hueza I, Raspantini P, Latorre A, Górniak S. 2014. Zearalenone, an Estrogenic Mycotoxin, Is an Immunotoxic Compound. *Toxins* **6**:1080-1095.
- 98) Kumar H, Salminen S, Verhagen H, Rowland I, Heimach J, Bañares S, Young T, Nomoto K, Lalonde M. 2015. Novel probiotics and prebiotics: road to the market. *Current Opinion in Biotechnology* **32**:99-103.
- 99) El-Nezami H, Polychronaki N, Salminen S, Mykkanen H. 2002. Binding Rather Than Metabolism May Explain the Interaction of Two Food-Grade *Lactobacillus* Strains with Zearalenone and Its Derivative  $\alpha$ -Zearalenol. *Appl. Environ. Microbiol.* **68**:3545-3549.
- 100) Frizzell C, Uhlig S, Miles CO, Verhaegen S, Elliott CT. 2015. Biotransformation of zearalenone and zearalenols to their major glucuronidemetabolites reduces estrogenic activity. *Toxicology in Vitro* **29**:575-581.
- 101) Molina-Molina JM, Real M, Jimenez-Díaz I, Belhassen H. 2014. Assessment of estrogenic and anti-androgenic activities of the mycotoxin zearalenone and its metabolites using in vitro receptor-specific bioassays. *Food and Chemical Toxicology* **74**:233-239.
- 102) Metzler ME, Pfeiffer E, Hildebrand A. 2010. Zearalenone and its metabolites as endocrine disrupting chemicals. *Mycotoxin Journal* **3**:385-401.

- 103) Pfeiffer E, Hildebrand A, Damm G, Rapp A, Cramer B. 2009. Aromatic hydroxylation is a major metabolic pathway of the mycotoxin zearalenone *in vitro*. *Molecular Nutrition and Food research* **53**:1123-1133.
- 104) Bravin F, Duca R, Delaforge M. 2009. *In vitro* cytochrome p450 formation of a mono-hydroxylated metabolite of Zearalenone exhibit ingestrogenic activities: possible occurrence of this metabolite *in vivo*. *International journal of molecular sciences* **10**:1824-1837.
- 105) Ediage EN, Di Mavungu JD, Song S, Wu A, Van Peteghem C. 2012. A direct assessment of mycotoxin biomarkers in human urine samples by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* **741**:58-69.
- 106) De Ruyck K, De Boevre M, Huybrechts I, De Saeger S. 2015. Dietary mycotoxins, co-exposure, and carcinogenesis in humans: short review. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research* **766**:32-41.
- 107) Voss AK, Smith WG, Haschek HM. 2007. Fumonisin: toxicokinetics, mechanism of action and toxicity. *Animal feed science and technology* **137**:299-325.
- 108) Theumer MG, Cánepa MC, López AG, Mary VS, Dambolena JS. 2010. Subchronic mycotoxicoses in Wistar rats: Assessment of the *in vivo* and *in vitro* genotoxicity induced by fumonisins and aflatoxin B1, and oxidative stress biomarkers status. *Toxicology* **268**:104-110.
- 109) Alizadeh AM, Roshandel G, Roudbarmohammadi S, Roudbary M, Sohanaki H, Ghiasian SA. 2012. Fumonisin B1 contamination of cereals and risk of esophageal cancer in a high risk area in northeastern Iran. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* **13**:2625-2628.
- 110) Dutton MF. 1996. Fumonisin, mycotoxins of increasing importance: Their nature and their effects. *Pharmacology & Therapeutics* **70**:137-161.
- 111) Kovačić S, Pepeljinjak S, Pertinec Z, Klaric MS. 2009. Fumonisin B1 neurotoxicity in young carp (*Cyprinus carpio* L.). *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju* **60**:419-425.
- 112) Stockmann-Juvala H, Savolainen K. 2008. A review of the toxic effects and mechanisms of action of fumonisin B1. *Human & Experimental Toxicology* **27**:799-809.
- 113) Zhu R, Feussner K, Wu T, Yan F, Karlovsky P, Zheng X. 2015. Detoxification of mycotoxin patulin by the yeast *Rhodospiridium paludigenum*. *Food Chemistry* **179**:1-5.
- 114) de Melo FT, de Oliveira IM, Greggio S, Dacosta JC, Guecheva TN. 2012. DNA damage in organs of mice treated acutely with patulin, a known mycotoxin. *Food and Chemical Toxicology* **50**:3548-3555.

- 115) Liu BH, Yu FY, Wu TS, Li SY, Wang MC. 2003. Evaluation of genotoxic risk and oxidative DNA damage in mammalian cells exposed to mycotoxins, patulin and citrinin.. *Toxicology and applied pharmacology* **191**:255-263.
- 116) Puel O, Galtier P, Oswald I. 2010. Biosynthesis and Toxicological Effects of Patulin. *Toxins* **2**:613-631.
- 117) Pestka JJ. 2007. Deoxynivalenol: Toxicity, mechanisms and animal health risks. *Animal feed science and technology* **137**:283-298.
- 118) Flammery BM, Wu W, Pestka JJ. 2011. Characterization of deoxynivalenol-induced anorexia using mouse bioassay. *Food and Chemical Toxicology* **49**:1863-1869.
- 119) Pinton P, Oswald I. 2014. Deoxynivalenol and Other Type B Trichothecenes on the Intestine: A Review. *Toxins* **6**:1615-1643.
- 120) Fioramonti J, Dupuy C, Dupuy J, Bueno L. 1993. The mycotoxin, deoxynivalenol, delays gastric emptying through serotonin-3 receptors in rodents. *Journal of pharmacology and experimental therapeutics* **266**:1255-1260.
- 121) Nozawa K, Kawabata-Shoda E, Doihara H, Kojima R, Okada H, Mochizuki S, Yokoyama T. 2009. TRPA1 regulates gastrointestinal motility through serotonin release from enterochromaffin cells. *National Academy of Sciences* **106**:3408-3413.
- 122) Pestka JJ. 2010. Deoxynivalenol: Mechanisms of action, human exposure, and toxicological relevance. *Archives of Toxicology* **84**:663-679.
- 123) Flannery BM, Clark ES, Pestka JJ. 2012. Anorexia induction by the trichothecene deoxynivalenol (vomitoxin) is mediated by the release of the gut satiety hormone peptide YY. *Toxicological sciences* **130**:289-297.
- 124) Diesing AK, Nossol C, Dänicke S, Walk N, Post A, Kahlert S. 2011. Vulnerability of polarised intestinal porcine epithelial cells to mycotoxin deoxynivalenol depends on the route of application. *PloS one* **6**:e17472.
- 125) Sergent T, Ribonnet L, Kolosova A, Garsou S, Schaut A, De Saeger S, Scheneider YJ. 2008. Molecular and cellular effects of food contaminants and secondary plant components and their plausible interactions at the intestinal level. *Food and Chemical Toxicology* **46**:813-841.
- 126) Applegate TJ, Schatzmayr G, Prickett K, Troche C, Jiang Z. 2009. Effect of aflatoxin culture on intestinal function and nutrient loss in laying hens. *Poultry Science* **88**:1235-1241.
- 127) Gbore FA, Yinusa RI, Salleh B. 2010. Evaluation of subchronic dietary fumonisin B1 on nutrient digestibility and growth performance of rats. *African Journal of Biotechnology* **9**:6442-6447.

- 128) Dänicke S, Matthes S, Halle I, Ueberschär KH, Valenta H. 2003. Effects of graded levels of Fusarium toxin-contaminated wheat and of a detoxifying agent in broiler diets on performance, nutrient digestibility and blood chemical parameters. *British poultry science* **44**:113-126.
- 129) Leung MC, Smith TK, Karrow NA, Boermans HJ. 2007. Effects of foodborne Fusarium mycotoxins with and without a polymeric glucomannan mycotoxin adsorbent on food intake and nutrient digestibility, body weight, and physical and clinicopathologic variables of mature dogs. *American journal of veterinary research* **68**:1122-1129.
- 130) Da Silva S, Robbe-Masselot C, Ait-Belgnaoui A, Mancuso A, Mercade-Loubière M, Salvador-Cartier C. 2014. Stress disrupts intestinal mucus barrier in rats via mucin O-glycosylation shift: Prevention by a probiotic treatment. *Mucosal Biology* **307**:420-429.
- 131) Smith MC, Madec S, Coton E, Hymery N. 2016. Natural Co-Occurrence of Mycotoxins in Foods and Feeds and Their in vitro Combined Toxicological Effects. *Toxins* **8**:94.
- 132) Vinderola G, Ritieni A. 2015. Role of Probiotics Against Mycotoxins and Their Deleterious Effects. *Journal of Food Research* **4**:10-10.
- 133) Soccol CR, de Souza Vandenberghe LP, Spier MR, Medeiros ABP, Yamaguishi CT, De Dea Lindner J. 2010. The potential of probiotics: a review. *Food Technology and Biotechnology* **48**:413-434.
- 134) Lilly MD, Stillwell RH. 1965. Probiotics: Growth-promoting factors produced by microorganisms. *Science* **147**:747-748.
- 135) Hemarajata P, Versalovic J. 2013. Effects of probiotics on gut microbiota: mechanisms of intestinal immunomodulation and neuromodulation. *Ther Adv Gastroenterol* **6**:39-51.
- 136) Manafi M, Mohan K, Noor Ali M. 2011. Effect of ochratoxin A on coccidiosis-challenged broiler chicks. *World Mycotoxin Journal* **4**:177-181.
- 137) Butel MJ. 2014. Probiotics, gut microbiota and health. *Médecine et maladies infectieuses* **44**:1-8.
- 138) Johansson MEV, Hansson GC. 2016. Immunological aspects of intestinal mucus and mucins. *Nature Reviews Immunology* **16**:639.
- 139) El-Nezami H, Kankaanpää P, Salminen S, Ahokas J. 1998. Physicochemical alterations enhance the ability of dairy strains of lactic acid bacteria to remove aflatoxin from contaminated media. *Journal of food protection* **61**:466-468.

- 140) Minervini F, Garbetta A, D'Antuono I, Cardinali A, Martino NA, Debellis L, Visconti A. 2014. Toxic mechanisms induced by fumonisin B1 mycotoxin on human intestinal cell line. *Archives of environmental contamination and toxicology* **67**:115-123.
- 141) Marín Sillué S, Cano Sancho G, Sanchís-Almenar V, Ramos-Girona AJ. 2018. The role of mycotoxins in the human exposome: Application of mycotoxin biomarkers in exposome-health studies. *Food and Chemical Toxicology* **121**:504-518.
- 142) Prentice AM. 2014. Dairy products in global public health. *The American Journal of Clinical Nutrition* **99**:1212S–1216S.
- 143) Du K, Wang C, Liu P, Li Y, Ma X. 2017. Effects of Dietary Mycotoxins on Gut Microbiome. *Protein and peptide letters* **24**:397-405.
- 144) Cutting SM. 2011. Bacillus probiotics. *Food Microbiology* **28**:214-220.
- 145) Gareau MG, Sherman PM, Walker WA. 2010. Probiotics and the gut microbiota in intestinal health and disease. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology* **7**:503.
- 146) Wang, Chen Y, Zhai I, Chen X, Gan, Li h, Huang. 2017. Ochratoxin A induced apoptosis of IPEC-J2 cells through ROS-mediated mitochondrial permeability transition pore opening pathway. *Journal of agricultural and food chemistry* **65**:10630-10637.
- 147) Ribeiro DO, Pinto DC, Lima LMT, Volpato NM, de Sousa VP. 2011. Chemical stability study of vitamins thiamine, riboflavin, pyridoxine and ascorbic acid in parenteral nutrition for neonatal use . *Nutrition journal* **10**:47.
- 148) Abassi H, Ayed-Boussema I, Shirley S, Abid S, Bacha H, Micheau O. 2016. The mycotoxin zearalenone enhances cell proliferation, colony formation and promotes cell migration in the human colon carcinoma cell line HCT116. *Toxicology letters* **254**:1-7.
- 149) Marin D, Motiu M, Taranu I. 2015. Food contaminant zearalenone and its metabolites affect cytokine synthesis and intestinal epithelial integrity of porcine cells. *Toxins* **7**:1979-1988.
- 150) Taranu I, Braicu C, Marin DE, Pistol GC, Motiu M, Balacescu L, Burlacu R. 2015. Exposure to zearalenone mycotoxin alters in vitro porcine intestinal epithelial cells by differential gene expression. *Toxicology letters* **232**:310-325.
- 151) Zoghi A, Khosravi-Darani K, Sohrabvandi S, Attar H, Alavi SA. 2017. Effect of Probiotics on Patulin Removal from Synbiotic Apple Juice. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **97**:2601-2609.
- 152) Dailé DKD, Deschamps AM, Richard-Forget F. 2010. Lactic acid bacteria – Potential for control of mould growth and mycotoxins: A review. *Food Control* **21**:370-380.