

Univerzita Hradec Králové
Přírodovědecká fakulta
Katedra biologie

Toxinogenní vláknité mikroskopické houby rodu
Aspergillus a možné zdravotní dopady pro
člověka

Bakalářská práce

Autor: Veronika Rousková
Studijní program: B1407 Chemie
Studijní obor: Biologie se zaměřením na vzdělání
Chemie se zaměřením na vzdělání
Vedoucí práce: doc. RNDr. František Malíř, Ph.D.

Zadání bakalářské práce

Autor:	Veronika Rousková
Studijní program:	B1407 Chemie
Studijní obor:	Biologie se zaměřením na vzdělávání Chemie se zaměřením na vzdělávání
Název práce:	Toxinogenní vláknité mikroskopické houby rodu <i>Aspergillus</i> a možné zdravotní dopady pro člověka
Název práce AJ:	Toxigenic microscopic filamentous fungi of the genus <i>Aspergillus</i> and possible health effects to humans

Cíl a metody práce:

Vláknité mikroskopické houby rodu *Aspergillus* jsou velmi rozsáhlou skupinou plísní, které jsou všudypřítomné. Patří mezi ně i četné toxinogenní plísňe, které kontaminují jak potraviny, tak i celou řadu dalších substrátů. Navíc produkují celou řadu toxikologicky významných mykotoxinů, tzv. sekundárních metabolitů plísní, např. aflatoxiny B1, B2, G1, G2, sterigmatocystin, ochratoxin A a citrinin aj. Tyto plísňe a mykotoxiny snadno pronikají do potravního řetězce člověka, ale také kontaminují jeho životní a pracovní prostředí. K expozici člověka dochází například přívodem potravinami, ale i inhalačně a také přes kůži (transdermálně).

Cílem práce je aktualizovat některé vybrané informace a vzhledem k tomu řešit i případné možné dopady na lidské zdraví.

Garantující pracoviště:	Katedra biologie, Přírodovědecká fakulta UHK
Vedoucí práce:	doc. RNDr. František Malíř, Ph.D.
Oponent:	Ing. Vladimír Dvořák, Ph.D.
Datum zadání práce:	11. 2. 2014
Datum odevzdání práce:	30. 6. 2015

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a že jsem v seznamu použité literatury uvedla všechny prameny, z kterých jsem vycházela.

V Hradci Králové dne

30. 6. 2015

Veronika Rousková

Poděkování:

Touto cestou bych ráda poděkovala panu **doc. RNDr. Františku Malířovi, Ph.D.** za pomoc, cenné rady a informace, ochotu, trpělivost, laskavost a vstřícný přístup při vedení mé bakalářské práce.

Anotace

ROUSKOVÁ, V. *Toxinogenní vláknité mikroskopické houby rodu Aspergillus a možné zdravotní dopady pro člověka*. Hradec Králové, 2014. Bakalářská práce na Přírodovědecké fakultě Univerzity Hradec Králové. Vedoucí bakalářské práce doc. RNDr. František Malíř, Ph.D. 58 s.

Vláknité mikroskopické houby rodu *Aspergillus* jsou velmi rozsáhlou skupinou plísní, které jsou všudypřítomné. Patří mezi ně i četné toxinogenní plísňe, které kontaminují jak potraviny, tak i celou řadu dalších substrátů. Navíc produkují celou řadu toxikologicky významných mykotoxinů, tzv. sekundárních metabolitů plísní, např. aflatoxiny B1, B2, G1, G2, sterigmatocystin, ochratoxin A a citrinin aj. Tyto plísňe a mykotoxiny snadno pronikají do potravního řetězce člověka, ale také kontaminují jeho životní a pracovní prostředí. K expozici člověka dochází například přívodem potravinami, ale i inhalačně a také přes kůži (transdermálně).

Cílem práce je aktualizovat některé vybrané informace a vzhledem k tomu řešit i případné možné dopady na lidské zdraví.

Klíčová slova

Mykotoxiny, aflatoxiny, ochratoxin A, citrinin, sterygmatocystin

Annotation

ROUSKOVÁ, V. *Toxigenic microscopic filamentous fungi of the genus Aspergillus and possible health effects to humans*. Hradec Králové, 2014. Bachelor Thesis at Faculty of Science University of Hradec Králové. Thesis Supervisor doc. RNDr. František Malíř, Ph.D. 58 p.

Microscopic filamentous fungi of the genus *Aspergillus* are a very large group of fungi that are ubiquitous. These include numerous toxigenic fungi that contaminate both food and many other substrates. In addition, produce a variety of toxicological concern mycotoxins, the secondary metabolites of molds, such as aflatoxins B1, B2, G1, G2, sterigmatocystin, ochratoxin A and citrinin, etc. These fungi and mycotoxins easily penetrate into the human food chain, but also pollute the environment and the workplace. The human exposure for example food intake, as well as by inhalation and through the skin (transdermal).

The aim is to update some of the information selected and given to solve any possible impacts on human health.

Keywords

Mykotoxins, aflatoxins, ochratoxin A, citrinin, sterigmatocystin

Obsah:

Seznam použitých zkratek.....	10
Úvod	10
1 Vláknité mikroskopické houby	11
1.1 Charakteristika a dělení	11
1.1.1 Ekologie	11
1.1.2 Morfologie.....	12
1.1.3 Rozmnožování.....	12
1.1.4 Toxinogenní mikromycety	13
1.2 Mykotoxiny.....	13
1.3 Rod <i>Aspergillus</i>	15
2 Faktory ovlivňující produkci mykotoxinů	17
2.1 Vlhkost a teplota	17
2.2 Přítomnost kyslíku	17
2.3 Substrát.....	17
2.4 Chemické faktory	18
3 Osud cizorodých látek v organismu	19
3.1 Vstup cizorodých látek – absorpce	19
3.1.1 Vstup vdechováním – inhalací	19
3.1.2 Cesta perorální – požitím.....	19
3.1.3 Vstup kůží	20
3.2 Vylučování cizorodých látek a jejich metabolitů z organismu	21
4 Vliv vláknitých mikromycet na člověka.....	22
4.1 Negativní působení vláknitých mikromycet	22
4.1.1 Rozkladné procesy v potravinách	22
4.1.2 Snižování biologické hodnoty potravin.....	23
4.1.3 Parazitismus na rostlinách.....	23
4.1.4 Mykotická onemocnění člověka	23
5 Aflatoxiny.....	24
5.1 Druhy aflatoxinů	24
5.2 Chemická charakteristika a fyzikální vlastnosti	25
5.3 Producenti	26

5.4	Výskyt aflatoxinů v potravinách	27
5.5	Toxikologická charakteristika vybraných aflatoxinů	30
5.5.1	Aflatoxin B1	30
5.5.2	Aflatoxin B2	30
5.5.3	Aflatoxin G1	30
5.5.4	Aflatoxin G2	31
5.5.5	Aflatoxin M1	31
5.5.6	Aflatoxin M2	31
5.6	Onemocnění způsobená aflatoxiny.....	31
5.6.1	Kwashiorkor	32
5.6.2	Aflatoxikóza.....	33
5.6.3	Reyův syndrom	35
6	Citrinin.....	37
6.1	Vliv na člověka	37
6.2	Toxicita	38
6.3	Výskyt v potravinách.....	38
6.4	Chemická charakteristika.....	39
7	Ochratoxiny	40
7.1	Producenti	40
7.2	Chemická charakteristika.....	41
7.3	Toxicita	42
7.4	Výskyt v potravinách.....	42
7.5	Onemocnění způsobená ochratoxinem A.....	42
7.5.1	Balkánská endemická nefropatie (BEN)	43
8	Sterigmatocystin.....	46
8.1	Chemická charakteristika.....	46
8.2	Výskyt v potravinách.....	47
8.3	Toxicita	47
	Diskuze	48
	Závěr.....	50
	Použitá literatura a internetové zdroje	52
	Použité obrázky	55

Seznam obrázků:

Obr. 1: Nákresy třech nejrozšířenějších druhů rodu <i>Aspergillus</i>	16
Obr. 2: Průřez lidskou kůží	20
Obr. 3: Schéma vzorců jednotlivých aflatoxinů	25
Obr. 4: Porovnání vzhledu postavy zdravého člověka a člověka trpícího onemocněním kwashiorkor	33
Obr. 5: Vznik karcinomu jater	35
Obr. 6: Chemická struktura citrininu	39
Obr. 7: Chemická struktura ochratoxinu A	41
Obr. 8: Adukty aristolochových kyselin nalezené v DNA pacientů trpících AAN (A) a pacientů žijících v oblastech BEN (B-D)	44
Obr. 9: Chemická struktura sterigmatocystinu	46

Seznam tabulek:

Tab. 1: Základní ekologické skupiny mikroskopických hub	11
Tab. 2: Členění mykotoxinů dle toxických účinků k cílovým orgánům	14
Tab. 3: Přehled nejčastěji se vyskytujících mykotoxinů druhu <i>Aspergillus</i> v potravinách a krmivech	14
Tab. 4: Přehled chemických a fyzikálních charakteristik vybraných aflatoxinů	25
Tab. 5: NPM aflatoxinů v některých potravinách v mg.kg-1 v ČR v uplynulém období	27
Tab. 6: Výskyt významných aflatoxinogenních druhů rodu <i>Aspergillus</i> v potravinách	29
Tab. 7: Akutní a chronická onemocnění lidí spojená s aflatoxiny	31
Tab. 8: Přehled chemických a fyzikálních charakteristik citrininu	39
Tab. 9: Přehled chemických a fyzikálních charakteristik ochratoxinu A	41
Tab. 10: Přehled chemických a fyzikálních charakteristik sterigmatocystinu	46

Seznam použitých zkratk

%	Procenta
$[\alpha]_D$	Optická otáčivost při použití vlnové délky linie D sodíkového spektra (589nm)
°C	Stupně Celsia, jednotka teploty
μm	Mikrometr, jednotka délky
A.	<i>Aspergillus</i>
AFB	Aflatoxiny skupiny B
AFB ₁	Aflatoxin B ₁
AFB ₂	Aflatoxin B ₂
AFG	Aflatoxiny skupiny G
AFG ₁	Aflatoxin G ₁
AFG ₂	Aflatoxin G ₂
AFM	Aflatoxiny skupiny M
AFM ₁	Aflatoxin M ₁
AFM ₂	Aflatoxin M ₂
aj.	A jiný, a jiní, a jinak
a kol.	A kolektiv
apod.	A podobně
a _w	Vodní aktivita (označuje obsah volné vody)
BEN	Balkánská endemická nefropatie
c	Koncentrace, jednotka mol.dm ⁻³
Ca ²⁺	Vápenaté ionty
CAS	Chemical Abstracts Services Registry No., registrační číslo Chemical Abstracts
cca	Circa, přibližně
cit.	Citováno
CSc.	Candidatus scientiarum (kandidát věd)
Doc.	Docent
DNA	Deoxyribonukleová kyselina – nosič genetické informace
DrSc.	Doctor scientiarum (doktor věd)
EFSA	European Food Safety Agency (Evropský úřad pro bezpečnost potravin)
ER	Endoplazmatické retikulum
ES	Komise Evropských společenství
et al.	Et alii, a kolektiv
EU	Evropská unie
event..	Eventuálně
g	Gramy, jednotka hmotnosti
GA	Golgiho aparát
hod.	Hodina, jednotka času

IgG	Imunoglobulin G
IgM	Imunoglobulin M
Ing.	Inženýr
km	Kilometr, jednotka délky
LD ₅₀	Dosis letalis media (střední smrtná dávka)
mm	Milimetr, jednotka délky
MUDr.	Medicinae universae doctor (doktor medicíny)
např.	Například
NPM	Nejvyšší přípustné množství
OTA	Ochratoxin A
<i>P.</i>	<i>Penicillium</i>
pH	(Power of hydrogen), záporný dekadický logaritmus číselné hodnoty koncentrace vodíkových iontů v roztoku
Ph.D.	Philosophiæ doctor (doktor filosofie)
ppm	(Parts per milion), jednotka pro vyjádření nízkých koncentrací (=mg.kg ⁻¹ , mg.l ⁻¹ , mg.m ⁻³)
prof.	Profesor
příl.	Příloha
r.	Rod
resp.	Respektive
R _f	Retenční (retardační faktor)
RNA	Ribonukleová kyselina
RNDr.	Rerum naturalium doctor (doktor přírodních věd)
spp.	Za rodovým názvem označuje více druhů daného rodu
STC	Sterigmatocystin
SZPI	Státní zemědělská a potravinářská inspekce
SZÚ	Státní zdravotní ústav
t- RNA	Transferová ribonukleová kyselina
t. hm.	Tělesná hmotnost
tj.	To jest
tzv.	Takzvaný
USA	United States of America (Spojené státy americké)
viz	Odkaz na jinou stránku, informaci a podobně

Úvod

Vláknité mikromycety jsou rozsáhlou skupinou mikroorganismů, která je prakticky všudypřítomná. Plísně, jak je možné jinak tyto mikroorganismy označit, se mohou vyskytovat na rozmanitých substrátech – v ovzduší, vodě, půdě, živých či odumřelých organismech, různých předmětech, krmivu nebo i potravinách. Vlákňité mikroskopické houby produkují celou řadu toxických sekundárních metabolitů, které se označují jednotným názvem mykotoxiny. Tyto látky představují v dnešní době celosvětový problém, jelikož se podílejí na ničení rostlinné úrody či na snižování výnosu postižených plodin. Zároveň se jedná o látky, které mají negativní vliv na zdraví lidí, ale zároveň i na zdraví živočichů, protože téměř všechny mykotoxiny poškozují dlouhodobým působením játra, ledviny, krevní oběh a negativně také působí na imunitní systém. Obecně to jsou látky se silně toxickými účinky jako je například účinek genotoxický, estrogení, hematotoxický, hepatotoxický, imunotoxický, nefrotoxický, dermatotoxický, kardiotoxický a především účinek karcinogenní. Často mají mykotoxiny také pozitivní význam – využívají se k tvorbě léčiv, organických kyselin, vitamínů, při výrobě sýrů typu Roquefort, Camembert či Hermelín, nicméně jejich význam negativní vždy převažuje, což je důsledkem toho, že je toto téma dnes neustále diskutované a je mu věnována velká pozornost.

Plísně vylučují mykotoxiny do krmiv a zároveň potravin, čímž nejen snižují jejich kvalitu, ale můžou je také zcela znehodnotit. Výskyt mykotoxinů se v jednotlivých letech liší, což je závislé především na faktorech, jako je teplota, vlhkost, substrát a přítomnosti kyslíku. Jak již bylo zmíněno, jedná se o látky, které nevratně poškozují lidské zdraví. Mykotoxiny vstupují do lidského těla třemi hlavními cestami. První z nich je cesta inhalační, kdy se mykotoxiny dostávají do lidského organismu z prostředí, které je zamořené plísněmi. Jako příklad lze uvést člověka, který pracuje ve skladu s obilím, které je napadené plísní r. *Aspergillus*. Druhou cestou, jíž se mohou do lidského organismu mykotoxiny dostat, je cesta perorální, kterou si lze představit jako požívání potravin kontaminovaných jistým druhem toxické plísně. Poslední cestou je pak vstup mykotoxinů do lidského organismu kůží.

V dnešní době je známo obrovské množství plísní, které jsou schopny produkovat mykotoxiny. Tato bakalářská práce je zaměřená na jeden z nejvýznamnějších rodů – r. *Aspergillus* a slouží jako všeobecný přehled nejdůležitějších mykotoxinů – aflatoxiny, citrinin, ochratoxinu A a sterigmatocystin, které jsou tímto druhem plísní produkovány. Práce se věnuje především vlivu těchto mykotoxinů na lidské zdraví. Mimo to poskytuje přehled jednotlivých producentů, chemické i fyzikální charakteristiky a výskyt již předem zmíněných mykotoxinů v potravinách.

1 Vlákňité mikroskopické houby

1.1 Charakteristika a dělení

Vlákňité mikroskopické houby (mikromycety, plísně) jsou vícebuněčné mikroorganismy, které jsou zařazeny do samostatné říše hub. Klasifikace živých druhů se v současné době skládá z 5 říší: MONOTERA (sem patří např. bakterie, sinice), PROTISTA (sem patří např. řasy a prvoci), HOUBY, ROSTLINY a ŽIVOČICHOVÉ. Houby jsou vyděleny z říše rostlin, kam je zařadil Linné a tvoří samostatnou říši. Mikroskopické houby můžeme na základě současných poznatků definovat jako organismy: eukaryotní (mají pravé jádro buněčné), pokročile heterotrofní, saprofytické a parazitické, dekompozitoři (destruenti) organické hmoty, vázané na prostorově určené místo, žijící většinou v suchozemském prostředí, mající buněčnou stěnu, vakuoly, tukové kapénky, mitochondrie, ER, GA a jádro s jadérkem, nemající lysozomy. Mikroskopické houby dělíme z praktického hlediska na vlákňité mikroskopické houby (dále mikromycety), kvasinky a kvasinkovité mikroorganismy (Ostrý, 1998).

1.1.1 Ekologie

Velká morfoloická rozmanitost a schopnost hub přizpůsobit se nejrůznějším ekologickým podmínkám umožňuje jejich výskyt prakticky všude tam, kde existuje organická hmota. To umožňuje mikroskopickým houbám osídlit řadu rozdílných biotopů. Základní ekologické skupiny mikroskopických hub jsou uvedeny v tab. 1 (Ostrý, 1998).

Tab. 1: Základní ekologické skupiny mikroskopických hub (Ostrý, 1998, upraveno)

SKUPINA	PODSKUPINA	ZÁSTUPCI
Půdní	-	oomyceta, kvasinky, anamorfy a teleomorfy zástupců třídy Ascomycetes a Basidiomycetes
Na rostlinných zbytcích	<i>Dřevní</i>	zástupci třídy Basidiomycetes a Ascomycetes
	<i>Na bylinných zbytcích</i>	celulozotvorné houby, patří k zástupcům třídy Basidiomycetes a Ascomycetes
Se zvláštními ekologickými nároky	<i>Kapofilní</i>	výtrusy hub se dostávají na exkrementy vzduchem a pouze na nich jsou schopny vyklíčit, zástupci třídy Zygomycetes a Ascomycetes
	<i>Anthrakofilní</i>	zástupci hub rostoucí výhradně na spáleništích
	<i>Keratofilní</i>	houby rzokládající keratin výhradně z živočišné kůže a jejich derivátu (např. vlasů), zástupci třídy Ascomycetes čeledi Gymnoascaceae (Ctenomyces, Arthroderma) s konidiálními stádii Microsporum, Trichophyton, Epidermophyton, jež souhrnně nazýváme Dermatofyta
	<i>Na potravinách</i>	Potraviny jsou vhodným substrátem pro růst mikroskopických hub, na potravinách, potravinových surovinách a krmivech se nejčastěji vyskytují typické saprofytické houby z řádu

		Moniliales (Deuteromycetes), např. druhy <i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Botrytis</i> , a z řádu Mucorales (Zygomycetes), např. rod <i>Mucor</i> , <i>Rhizopus</i>
	Vzdušné	název se vztahuje na spory hub všech skupin, které se dostávají do ovzduší a tvoří stálou nebo sezonně ovlivněnou složku aeroplanktonu, např. spory druhů <i>Cladosporium</i> , <i>Alternaria</i> nebo spory dalších významných druhů – rzi, sněti (Basidiomycetes)
Parazitické	fytopatogenní	způsobují choroby kulturních i planě rostoucích rostlin, např. listoví paraziti
	zoopatogenní	houby parazitují na živém hmyzu a jsou patogenní pro člověka a teplokrevné živočichy, působí dermatomykózy (např. Gymnoascaceae), orgánové mykózy (např. <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Coccidioides immitis</i>)
Žijící ve vodě	-	např. vodní hlenky, chytridiomycety, oomycety, část vývojového cyklu probíhá ve vodním prostředí

1.1.2 Morfologie

Základem těla mikromycetů je vegetativní vláknitý útvar – stélka (thallus). Houbové vlákno se nazývá hyfa. Hyfy jsou coenocytické (mnohojaderný protoplast není rozlišen v jednotlivé buňky) – zástupci třídy Zygomycetes – nebo jsou rozděleny septy (příčnými přehrádkami) – zástupci třídy Ascomycetes, Basidiomycetes, Deuteromycetes. Soubor hyf se nazývá mycelium. Spleť rozvětvených hyf tvoří kolonii. Zbarvení povrchu a spodiny kolonie je různorodé (bílé, krémové, hnědé, černé, šedé, zelené, modré, žluté, fialové) a je způsobeno pigmenty, které zbarvují povrchovou membránu a spory. Některé pigmenty mohou difundovat do okolní živné půdy (Ostrý, 1998).

1.1.3 Rozmnožování

Rozmnožování mikromycetů je sexuální (pohlavní) a asexuální (nepohlavní). Rozmnožovací struktury jsou odlišné od somatických struktur. Rozmnožování je umožněno specializovanými orgány (Ostrý, 1998).

Sexuální rozmnožování - pohlavní

Dochází ke splývání vláken pohlavního ladění (+) a (-) za vzniku zygoty a zygospory (Zygomycetes) nebo dikaryonu, který vzniká tak, že dvě spory rozdílného pohlaví vytvoří pohlavní vlákna (např. anteridium a askogonium u Ascomycetes), která splynou. Z nich se vytvoří např. ascus s 1 – 8 ascosporami (Ascomycetes) nebo basidium se 4 basidiosporami (Basidiomycetes) (Ostrý, 1998).

Asexuální rozmnožování – nepohlavní

Zde dochází k růstu fragmentů stélky (thallu) a spor různých tvarů a velikostí (Deuteromycetes – mitosporické houby). Nepohlavní spory dělíme na exospory – konidiospory (*Aspergillus* spp., *Penicillium* spp.), chlamydospory (*Fusarium* spp.), arthrospory (*Geotrichum* spp.) a endospory – sporangiospory (*Mucor* spp.) (Ostrý, 1998).

1.1.4 Toxinogenní mikromycety

Toxinogenní mikromycety jsou mikroorganismy, které mají schopnost produkovat mykotoxiny. Toxinogenní mikromycety a jejich metabolické produkty mykotoxiny patří k významným faktorům, které mohou ovlivnit v negativním smyslu zdraví člověka. Významná je i schopnost toxinogenních mikromycetů produkovat v potravinách a krmivech mykotoxiny (sekundární metabolity), které mohou vyvolat mykotoxikózy (aflatoxikózu, ochratoxikózu, fuzáriové mykotoxikózy apod.) poškozující zdraví člověka a hospodářských zvířat. Toxinogenní mikromycety jsou díky svému enzymatickému vybavení velmi adaptabilní pro kontaminaci téměř jakéhokoliv substrátu a jsou rozšířeny po celém světě. Mají schopnost osídlit řadu rozdílných biotopů, tedy i prostředí domácnosti – zejména kuchyně, spíže a následně pak i potravin (Ostrý, 1998).

1.2 Mykotoxiny

Jako mykotoxiny označujeme toxiny produkované pouze vláknitými mikroskopickými houbami (*Micromycetes*), tzv. plísněmi. Plísně zasahují významným způsobem do života lidí tím, že mohou napadat živou tkáň (mykózy), vyvolávat hyperaktivní imunitní odpověď organismu (alergie) na nejrůznější chemické látky, které produkují, nebo vyvolat onemocnění. Mnohé houby produkují toxické a životu nebezpečné látky, tzv. mykotoxiny, které mohou způsobit alimentární otravy, jestliže jsou potraviny či potravinářské suroviny těmito houbami kontaminovány. Většina mykotoxinů má relativně nízkou akutní toxicitu, ale o to významnější je jejich toxicita chronická, projevující se karcinogenitou, teratogenitou, genotoxicitou nebo estrogení či imunosupresivní aktivitou (Patočka a kol., 2004).

Mykotoxiny, sekundární metabolity mikromycetů, patří mezi významné naturální (přírodní) toxiny v potravinách. V současné době je známo přes 400 mykotoxinů (Guavera – González, 2011). Mykotoxiny je možno rozdělit podle celé řady kritérií. V poslední době se používá členění mykotoxinů podle jejich toxicity k cílovým orgánům (Ostrý, 1998).

Mykotoxiny jsou produkovány širokou škálou různorodých druhů hub, které obvykle nejsou agresivními patogeny. Jsou adaptované na kolonie a rostou na substrátech s širokou škálou vlhkosti a nutričního obsahu. Většina mykotoxinů,

kteře jsou považovány za důležité, jsou produkovány především třemi rody hub a to –*r. Aspergillus*, *r. Penicillium* a *r. Fusarium* (Richard et al., 2003)

Tab. 2: Členění mykotoxinů dle toxických účinků k cílovým orgánům (Malíř, Ostrý a kol., 2003, Richard et al., 2003, Stark, 2005)

TOXICKÝ ÚČINEK	MYKOTOXINY
Genotoxický	aflatoxiny, ochratoxin A, patulin, fumonisiny, trichotheceny, zearalenon, citrinin (sterigmatocystin, aj.)
Estrogenní	zearalenon
Hematotoxický	aflatoxiny, ochratoxin A, trichotheceny, zearalenon
Hepatotoxický	aflatoxiny, fumonisiny (sterigmatocystin, aj.)
Imunotoxický	aflatoxiny, ochratoxin A, patulin, trichotheceny, aj.
Nefrotoxický	ochratoxin A, citrinin, fumonisiny, trichotheceny
Neurotoxický	fumonisin, trichotheceny, aj.
Toxický pro GIT	trichotheceny
Dermatotoxický	trichotheceny, aj.
Kardiotoxický	fumonisin

Tab. 3: Přehled nejčastěji se vyskytujících mykotoxinů druhu *Aspergillus* v potravinách a krmivech (Hrdina a kol., 2004, upraveno)

Mykotoxin	Vnímavé druhy	LD ₅₀ rozmezí (mg.kg ⁻¹)	Účinek
aflatoxiny	hlodavci, drůbež, prasata, skot, lidé	0,4 – 18 (AFG ₁), 170 (AFG ₂), 17 (AFM ₁)	hemoragie, hepatotoxicita, hepatokarcinogenita
citrinin	hlodavci, prasata, psi	19 - 67	nefrotoxicita

ochratoxinu A	hlodavci, drůbež, prasata	5,5 – 22	nefrotoxicita, nefropatie prasat, enteritida, tumor ledvin a močových cest, imunotoxicita
sterigmatocystin	hlodavci	32 – 166	hepatotoxicita, hepatokarcinogenita

1.3 Rod *Aspergillus*

Jde o mikromycety, kterým dal rodové jméno *Aspergillus* v roce 1729 botanik Pier Antonio Micheli. Česky je tento rod označován jako kropidlák, protože průřez rozmnožovacím orgánem připomíná tvar kropítka. Tento rod se řadí do říše Fungi (houby), oddělení Askomyceta, řádu Eurotiales a čeledi Trichocomaceae (Malíř, Ostrý a kol., 2003). Teplotní optimum pro jejich růst je okolo 35°C, mohou ale růst v rozmezí od 8 – 12°C do 47 – 53°C. Kolonie jsou zbarvené dle použitého kultivačního média od bílé, přes žlutou, oranžovou, zelenou až po modrozelenou, šedozelenou či černou (Jeřábková, 2012).

Jde o rod vyskytující se na nejrůznějším materiálu, neboť je velmi bohatě vybaven enzymy (amylolytickými, pektolytickými a proteolytickými). Některé druhy jsou vhodné pro průmyslovou přípravu těchto enzymů, jež se pak používají v potravinářském průmyslu (např. amylolytické a proteolytické enzymy v pivovarnictví, pektolytické enzymy v konzervárenství při přípravě ovocných šťáv) nebo při výrobě pracích prášků (hlavně proteolytické enzymy) (Šilhánková, 2002).

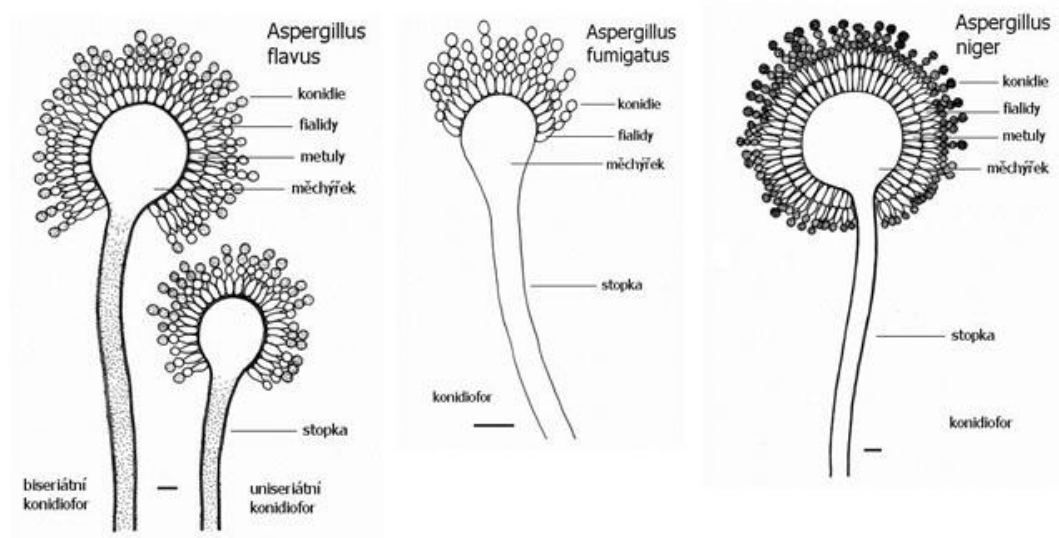
Tento rod se vegetativně rozmnožuje konidiiemi, které vznikají v řetězcích z fialid na rozšířeném konci konidioforu. U některých druhů je známa též tvorba neuspořádaných asků obsahujících 8 askospor. Asky jsou umístěny v kulovitém kleistotheciu, které má sírově žlutou barvu a je zřetelné pouhým okem jako drobné kuličky o průměru menším než 1mm (Šilhánková, 2002).

Tento rod lze nalézt v potravinách, jako jsou obiloviny (ječmen, pšenice), rýže, kukuřice, ovoce (ananas, granátová jablka, meloun, jahody, citrusové plody, mango či grepy), koření (kopr, pepř, koriandr) nebo ořechy (lískové, vlašské, pekanové či pistácie (Malíř, Ostrý a kol., 2003).

V současné době (do roku 2001) obsahuje rod *Aspergillus* více než 221 druhů. Do této doby bylo popsáno mnoho nových druhů, které byly několikrát revidovány. Z toho asi 18 druhů bylo popsáno jako patogenních pro člověka. Za více jak 95% infekcí zodpovídají pouze tři druhy – *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* (Malíř, Ostrý a kol., 2003).

Druhy ze skupiny *Aspergillus niger* jsou bohatě vybaveny enzymy. Jejich konidie jsou svým černým barvivem chráněny proti nepříznivým účinkům slunečního světla. *Aspergillus flavus* tvoří žlutozelené konidie, produkuje velmi účinné toxiny – aflatoxiny, způsobující rakovinu jater a jsou též mutagenní (Šilhánková, 2002).

Obr. 1: Nákresy třech nejrozšířenějších druhů rodu *Aspergillus* (Chumchalová a kol., 2008)



Rod *Aspergillus* zahrnuje převážně velmi rychle rostoucí mikromycety, které tvoří plně vybarvené kolonie po třech až pěti dnech inkubace. Zástupci tohoto rodu mají septované mycelium, které může být bezbarvé, žluté, modré i černé. Vegetativní rozmnožování probíhá pomocí konidií, které vznikají v řetězcích z fialid na rozšířeném konci konidioforu. U některých druhů je známá také tvorba neuspořádaných asků obsahujících 8 askospor. Asky se nachází v kulovitém kleistotheciu, které má sírově žlutou barvu a je zřetelné pouhým okem jako drobné kuličky o průměru menším než 1mm (Pražáková, 2008).

Plísňe rodu *Aspergillus* mají velmi bohatý enzymový aparát a jsou častými původci kažení potravin a krmiv. Díky silné lipolytické aktivitě způsobují znehodnocování olejnin, tuků, jedlých olejů a potravin bohatých na tuky. Některé druhy jsou schopné snášet i velmi nízkou vodní aktivitu, proto mohou napadat sušené potraviny nebo potraviny s vysokým podílem cukrů a soli jako je např. sušené maso, džemy, sušené ovoce a zelenina, obiloviny a pečivo. Zástupci rodu *Aspergillus* se vyskytují rovněž na čerstvém ovoci, citrusech a zelenině. Některé plísňe tohoto rodu produkují antibiotika, která jsou ovšem velmi toxická a tak nenašla uplatnění pro lékařské použití (Pražáková, 2008).

2 Faktory ovlivňující produkci mykotoxinů

2.1 Vlhkost a teplota

Polní vláknité mikromycety vyžadují ke svému růstu vysokou relativní vlhkost (20 – 25%), zatímco skladištní mikromycety jsou schopny růst na substrátech při nižší relativní vlhkosti (10 – 18%), proto je zde sledována tzv. vodní aktivita a_w . Růst všech mikroorganismů je charakterizován minimální, optimální a maximální vodní aktivitou. Minimální vodní aktivita pro mikromycety kontaminující cereálie je 0,7 (až 0,62 pro extrémně xerofilní mikromycety). Některé vláknité mikromycety (*Aspergillus flavus*, *Penicillium restrictum*) jsou schopny růst při a_w vyšším než 0,75. U rodu *Aspergillus* kolísá optimální vodní aktivita mezi 0,72 až 0,9. *Penicillia* rostou nejlépe při a_w nad 0,95. *Fusaria* vyžadují vysokou vodní aktivitu (0,98 – 0,995). Teplota je dalším určujícím faktorem pro růst mikromycetů a tvorbu jejich toxinů. Optimální teplota, při které tvoří plísně mykotoxiny je teplota, která je také optimální pro růst daného druhu vláknitých mikromycetů. Některé mykotoxiny, např. *zearalenon* potřebují teplotu nižší, než je optimum pro růst *Fusarium graminearum*, který tento toxin tvoří (Malíř, Ostrý a kol., 2003).

2.2 Přítomnost kyslíku

Většina vláknitých mikromycetů potřebuje pro svůj růst a rozmnožování aerobní podmínky. Vláknité mikromycety, vyžadující nejvíce kyslíku, kontaminují povrch substrátu. Vláknité mikromycety s nižšími nároky na kyslík bývají přítomny v hloubce substrátu. Zástupci některých rodů (např. *Byssosclamyces*) jsou schopny růst i v anaerobním prostředí. Tvorba mykotoxinů je citlivější na kolísání plynného složení atmosféry ve srovnání s růstem mikromycetů. Koncentrace kyslíku pod 1% při zvýšené koncentraci oxidu uhličitého jsou velmi účinné při prevenci růstu mikromycetů a tvorbě jejich toxinů (Malíř, Ostrý a kol., 2003).

2.3 Substrát

Mikromycety nejsou schopny se rozvíjet se stejnou intenzitou na jakémkoliv substrátu. Kvantitativní a kvalitativní složení některých nutrientů, především cukrů, hraje důležitou roli v kontaminaci substrátu. Aflatoxiny kontaminují především ořechy, mandle, pistácie a cereálie zejména v teplých oblastech. Arašídů a sója jsou nejčastěji kontaminovány ochratoxinem A produkovaným *Aspergillus ochraceus*. Citrinin je produkován pouze na kukuřici a obilí druhem *Penicillium verrucosum*. Rozdílná substrátová specifita vychází z rozličných chemických a fyzikálních vlastností (Malíř, Ostrý a kol., 2003).

2.4 Chemické faktory

Studovány jsou především účinky pesticidů na různé rostlinné kultury. Pokud jsou pesticidy při zásahu úspěšné, je riziko kontaminace mykotoxiny malé. Naopak při nevhodném použití (dávky pod hranicí účinnosti) může být jejich tvorba podpořena. Proto je nezbytné používat pesticidy cíleně v dávkách, které mají na tvorbu mykotoxinů požadovaný efekt (Malíř, Ostrý a kol., 2003).

Vyhnout se růstu plísní a produkci mykotoxinů ve skladovaných potravinách lze vytvořením podmínek (teploty a vlhkosti), které nejsou vhodné pro jejich růst (Whitaker, 2011).

3 Osud cizorodých látek v organismu

K expozici mykotoxinů může dojít požitím, vdechnutím a kontaktem s kůží, což je téměř vždy náhodné. Většina případů mykotoxikóz (u zvířat i lidí) vyplývá z požívání kontaminovaných potravin. Expozice u člověka může být přímá nebo nepřímá prostřednictvím obilovin nebo produktů zvířecího původu (maso, mléko, vejce)(Valdez, 2012).

Působení biologického systému a cizorodé látky je vzájemné. Nejen látka působí na organismus, ale i naopak, biologický systém působí na cizorodou látku, chemicky ji přeměňuje. Osud látky v organismu můžeme rozdělit do čtyř fází: vstup – absorpce, přenos – distribuce, metabolické přeměny – biotransformace a vylučování – exkrece. Biotransformace a vylučování se někdy označují společným názvem eliminace (Horák a kol., 2012).

3.1 Vstup cizorodých látek – absorpce

Cizorodá látka se může do organismu dostávat různými způsoby. Horák a kol. (2012) dělí tyto cesty na vstup vdechováním a pokožkou, který je např. z pohledu profese chemika nejčastější. Těmito cestami se látka může snadno dostat do těla neúmyslně. Třetí možností je vstup cizorodých látek požitím (orálně, per os), kde může k intoxikaci dojít při neopatrnosti nebo záměnou.

3.1.1 Vstup vdechováním – inhalací

Při této cestě vstupu se plyny, páry kapalin, kapičky aerosolu nebo prachové částice dostávají do těla dýchacími cestami. V horních cestách dýchacích se část vdechovaných látek může zadržovat. Zadržují se především látky dobře rozpustné ve vodě, které se rozpouštějí ve vlhkém povrchu sliznic, a také větší částice tuhých a kapalných látek, nad 1 μ m, které se zachycují na řasinkové výstelce sliznic. Zbytek se dostává s vdechovaným vzduchem až do plicních sklípků, alveolů, a odtud do krve. Dobrá absorpční schopnost plic je dána jejich vysokým prokrvením. Pro toxicitu má zásadní význam, je-li látka vdechována v podobě par nebo aerosolu. Aerosoly jsou mnohem toxičtější, zejména silněji dráždivé, než páry o stejné koncentraci ve vdechovaném vzduchu (Horák a kol., 2012).

3.1.2 Cesta perorální – požitím

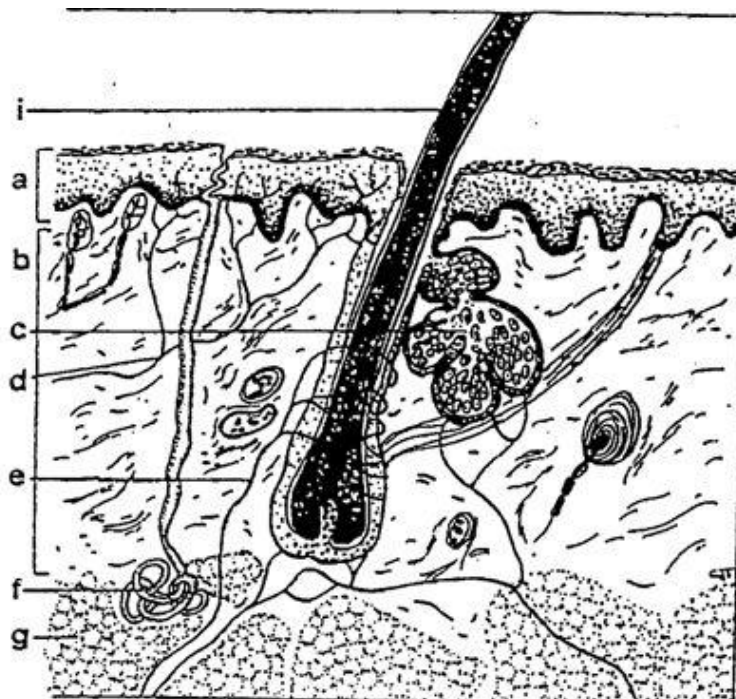
Zažívací trakt si můžeme představit jako trubici, kterou putují látky z potravy od úst ke konečníku. Pokud jsou škodlivé látky v zažívacím traktu, zpravidla nezpůsobují otravu, nejedná-li se o látky žíravé nebo dráždivé. Aby škodlivina mohla působit systémově, musí být ze zažívacího traktu absorbována do krve. K tomu dochází podél celého zažívacího traktu, ale nejvýznamnějším místem absorpce je tenké střevo. Hnací silou absorpce je lipofilita látky, rozpustnost v tucích. Protože ale povrch tenkého střeva je značný, je vstřebávání v tomto

orgánu mnohem významnější než na jiných místech zažívacího traktu (Horák a kol., 2012).

3.1.3 Vstup kůží

Neporušená lidská kůže tvoří určitou bariéru pro vstup cizorodých látek do těla. Na jejím povrchu je tenká vrstva keratinizovaných buněk, škára (*stratum corneum*), pod ní se nachází vrstvy živých buněk, epidermis a dermis. Kůže netvoří kompaktní celek, je protkána kanálky potních a mazových žláz. Spodní vrstva, dermis, je prokrvena krevními vlásečnicemi. Po absorpci kůží se látka dostane do krevního oběhu a s krví pak do celého těla. Účinek látky aplikované na kůži může být buď lokální (řada látek kůži dráždí, některé leptají) nebo systémový, pokud se látka vsřebává. Je těžké předpovídat schopnost látek procházet kůží. Svou roli zde hraje mnoho faktorů, jako např. vlhkost kůže, teplota, věk. Největší bariérou pro vstup cizorodých látek je povrchová vrstva, stratum corneum. Ochranné schopnosti kůže jsou výrazně oslabeny, je-li povrchová vrstva porušena (Horák a kol., 2012).

Obr. 2: Průřez lidskou kůží (Horák a kol., 2012, upraveno)



a) epidermis s povrchovou vrstvou stratum corneum, b) dermis, c) mazová žláza, d) kapilára, e) nervové vlákno, g) tuková tkáň, i) vlas

3.2 Vylučování cizorodých látek a jejich metabolitů z organismu

Cizorodé látky se vylučují z těla hlavně močí, stolicí a ve vydechovaném vzduchu. V malé míře se mohou vylučovat také potem a slinami. Většina látek se vylučuje z největší části močí. Dostává se tam stejným způsobem, jako produkty metabolismu živin, tedy z krevní plazmy přes ledviny do močových cest. Některé látky potřebují být biotransformovány, aby se mohly vylučovat ledvinami. Podmínkou je totiž rozpustnost ve vodě (Horák a kol., 2012).

Některé cizorodé látky se vylučují ve značné míře stolicí. Při tomto způsobu se cizorodá látka dostává z jater se žlučí do tenkého střeva. Odtud se může reabsorbovat do krve, je-li dostatečně lipofilní, nebo postoupit dále do tlustého střeva a vyloučit se stolicí. Nízkomolekulární látky se zpravidla stolicí nevylučují (nebo jen v malé míře). Molekuly o molekulové hmotnosti větší než zhruba 300 se na rozdíl od toho vylučují stolicí poměrně často, zvláště pokud se v játrech slučují s glutathionem (Horák a kol., 2012).

4 Vliv vláknitých mikromycet na člověka

4.1 Negativní působení vláknitých mikromycet

Některé vláknité mikroskopické houby mohou působit na člověka nepříznivě, a to buď přímo (jako například různá onemocnění vyvolaná houbami samotnými i jejich toxickými metabolity) jiné naopak účinkují nepřímo, například nedostatkem potravin v důsledku kažení či parazitismu hub na rostlinách (Koubková, 2008).

4.1.1 Rozkladné procesy v potravinách

Potraviny slouží plísním jako vhodný substrát. Kontaminují-li spory plísní povrch potravin, dochází k růstu mycelia a k aktivaci enzymového aparátu plísní. Poté se potraviny začnou kazit a rozkládat. Těnkavé druhotné metabolity plísní výrazně snižují senzorické vlastnosti potravin. Plísňový zápach může vzbuzovat odpor, zároveň je signálem přítomnosti a metabolické aktivity plísní. Plísním nejlépe vyhovují tyto podmínky růstu: pH 1,7 – 10, aktivita vody pro extrémně mezofilní plísně minimálně 0,62, pro většinu plísní pak je hodnota minimálně 0,85, nutný je přístup vzduchu (aerobní podmínky), koncentrace NaCl pouze do 20% koncentrace sacharózy pro *Aspergillus flavus* do 50% (Koubková, 2008).

Většina mykotoxinů je relativně tepelně stabilní při konvenčním zpracování potravin v rozsahu teplot 80 – 121°C. Tedy k velmi malému či žádnému zničení mykotoxinů dojde např. při vaření, smažení nebo dokonce po pasterizaci (Valdez, 2012).

Potraviny každodenní spotřeby, které se mohou stát v domácnostech epidemiologicky rizikovými potravinami z hlediska obsahu plísní, jsou např.:

- chléb a pečivo (kontaminace plísněmi může nastat z prostředí pekárny, přepravních prostředků, z prostředí obchodu, po dotyku rukou)
- masné výrobky, z hlediska možné kontaminace jsou významné trvanlivé masné výrobky tepelně opracované a tepelně neopracované, kontaminace může nastat ve výrobě (nesprávné rozvěšení salámů při uzení vede k tomu, že kouř, jehož složky mají fungicidní účinek, nemá přístup k celému povrchu salámu – právě v místě dotyku dvou salámů rostou plísně nejčastěji) nebo v prodejně
- tvrdé plísňové a tavené sýry, zejména u tvrdých sýrů dochází často k okrajování
- koření, významné z hlediska kontaminace jsou např. chilli koření, zázvor, koriandr, u ostatních koření (skořice, hořčice, nové koření, česnek a oregano) odborníci konstatují, že může obsahovat látky (např. eugenol, tymol, anetol), které brání toxinogenním plísním produkovat mykotoxiny
- rýže

- ovoce, zelenina a výrobky z nich, vykrájení poškozených částí nestačí, i zdravá část po vykrojení může být kontaminována mykotoxiny
- sušené ovoce a ořechy (Koubková, 2008)

4.1.2 Snížování biologické hodnoty potravin

Vláknité mikroskopické houby využívají po kontaminaci potravin jejich některé složky, např. vitamíny, esenciální aminokyseliny, mastné kyseliny, minerální a další živiny. Dochází ke snížení jejich obsahu v potravinách, a tím i ke snížení biologické hodnoty a jakosti potravin. Působením plísní se také snižuje obsah bílkovin. Mikromycety, které kontaminují obiloviny, využívají např. gluten (lepek). Po umletí obilovin na mouku dochází ke zhoršení kvality získané mouky a následně i z ní vyrobeného chleba (Koubková, 2008).

4.1.3 Parazitismus na rostlinách

Houbové choroby rostlin, které se přenášejí prostřednictvím vzduchu, hmyzu nebo půdou z kořene na kořen, způsobují každoročně obrovské ztráty rostlinné výroby. Houbové epidemie v rozvojových zemích znamenají hlad a často i smrt pro obrovský počet lidí. Ročně zde trpí hladem několik desítek milionů lidí vlivem nízkých výnosů zaviněných houbovými chorobami (Koubková, 2008).

Na druhou stranu je však nutno podotknout, že houby jsou též průmyslově využívány v biologickém boji proti škůdcům. Na mšicích, molicích, mandelinkách aj. houba vyklíčí, mycelium se rozroste a hmyz zahubí (Koubková, 2008).

4.1.4 Mykotická onemocnění člověka

Chorobné stavy vyvolané houbami, nebo podmíněné jejich přítomností v prostředí obvykle dělíme do čtyř základních skupin: *mykózy*, *mykoalergózy*, *mycetismy* a *mykotoxikózy* (Koubková, 2008).

Mykózy jsou v tomto výčtu zcela nesporně na prvním místě v pořadí důležitosti, která stále vzrůstá, tak jak se zvyšuje i počet případů onemocnění. Přímé příčiny vzrůstajícího počtu případů mykotických onemocnění spadají především do tří kategorií: zvýšení cestovní možnosti (tím dochází u mykóz s dosud výrazně endemickým výskytem k pasivnímu přenosu původců i na obrovské vzdálenosti), iatrogenní faktory (jedná se zejména o používání antibakteriálních, širokospektrých antibiotik, kortikoidů a cytostatik) a příčiny ekologické (Koubková, 2008).

5 Aflatoxiny

Významným mezníkem v objevu aflatoxinů byl rok 1960. Neznámé mykotoxiny byly identifikovány ve spojitosti s epidemií označovanou jako „onemocnění X“ u krůt, při kterém uhynuly desetitisíce mlád'at této drůbeže v okolí Londýna po zkonsumování krmiva s obsahem kontaminované arašídové Rosetti moučky původem z Brazílie (Malíř, Ostrý a kol., 2003). Otravu charakterizovala anorexie, letargie, slabost křídel. Histopatologicky bylo prokázáno poškození jaterního parenchymu a proliferace epitelu žlučovodu. Protože odborníci nebyli schopni identifikovat ani bakteriální ani virové agens, bylo onemocnění popsáno jako intoxikace (Hrdina a kol., 2004). Z kontaminované arašídové moučky byla izolována intenzivně modře a zeleně fluoreskující chemická individua, u kterých bylo experimentálně dokázáno, že se jeho etiologičtí činitelé podíleli na vzniku uvedeného onemocnění. Následně bylo zjištěno, že producentem těchto toxinů je *Aspergillus flavus*. Toxiny dostaly název aflatoxiny („*Aspergillus flavus* toxins“). Brzy poté bylo zaznamenáno v USA další onemocnění – epidemie hepatomu u pstruhů vyvolaná bavlníkovým olejem kontaminovaným aflatoxiny (Malíř, Ostrý a kol., 2003).

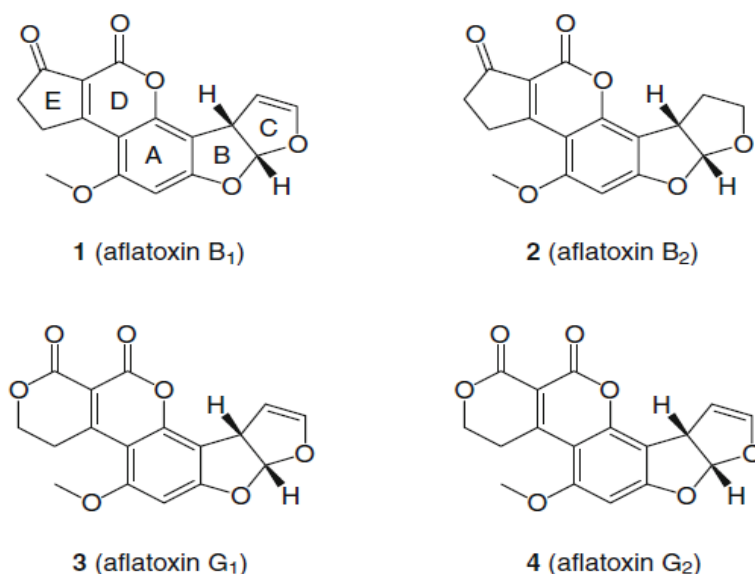
Později byly aflatoxiny nalezeny v dalších druzích z r. *Aspergillus* a také v některých druzích r. *Penicillium*. Dodnes jsou aflatoxiny řazeny mezi nejvíce známé toxické a karcinogenní látky. Ačkoliv většina zemí na světě má nyní stanovené limity, které určují maximální přípustné množství aflatoxinů v potravinách, kontaminace těmito sloučeninami je stále problémem (Bräse et al., 2013).

5.1 Druhy aflatoxinů

Aflatoxiny jsou mykotoxiny odvozené od difuranokumarinového skeletu. Jsou produkovány toxinogenními kmeny *Aspergillus flavus* (asi 35% kmenů produkuje aflatoxiny řady B), *A. parasiticus* (téměř 100% kmenů je schopno produkovat aflatoxiny řady B i G) a *A. nomius* (Hrdina a kol., 2004).

Nejvíce široce zkoumaným je aflatoxin B₁, ten je také nejvíce toxickým, karcinogenním a mutagenním aflatoxinem mezi všemi současně známými druhy. Tento druh se izoluje společně s aflatoxinem B₂, G₁ a G₂, jejichž vzorce jsou společně se vzorcem aflatoxinu B₁ uvedeny na Obr. 3. Strukturálně se tyto sloučeniny skládají z pěti kruhů, mající furofuranový zbytek (B a C), šestičlenný aromatický kruh (A), šestičlenný laktonový kruh (D), a to buď pětičlenný pentanon, nebo šestičlenný laktonový kruh (E). Zatímco aflatoxiny B a G jsou hlavní sloučeniny druhu *Aspergillus flavus*, tento druh obsahuje ještě další, v minoritním množství obsažené hydroxylované deriváty aflatoxinu B₁ a B₂ tzv. mléčné toxiny M₁ a M₂, které mají hydroxylovou skupinu na spojnici obou furanových kruhů (Bräse et al., 2013).

Obr. 3: Schéma vzorců jednotlivých aflatoxinů (Bräse et al., 2013)



Na možnost karcinogenního rizika aflatoxinu B₁ pro člověka upozornili již v r. 1962 LeBreton a Frayssinet. Následující epidemiologické studie v Africe a Asii, v oblastech s vysokou incidencí primárního karcinomu jater, prokázaly přímou závislost mezi tímto tumorem a stupněm kontaminace potravy. Aflatoxin M₁ byl nalezen v kravském mléce v roce 1960. Objasnění jeho strukturního vzorce bylo úspěšně provedeno v r. 1966 (Malíř, Ostrý a kol., 2003).

5.2 Chemická charakteristika a fyzikální vlastnosti

Aflatoxiny jsou polycyklické, nenasycené, vysoce substituované kumariny. Postupně byly identifikovány 4 přirozené typy aflatoxinů, a to AFB₁, AFB₂, AFG₁ a AFG₂, z nich se nejčastěji vyskytuje AFB₁. Aflatoxiny skupiny B (dále AFB) vykazují v UV světle intenzivní modrou fluorescenci, aflatoxiny skupiny G (dále AFG) pak zelenou fluorescenci. Aflatoxiny skupiny M (dále AFM) fluoreskují modře až fialově po expozici dlouhých vln UV světla, ale dělí se při nižší hodnotě R_f na tenké vrstvě než AFB a AFG (Malíř, Ostrý a kol., 2003).

Aflatoxiny z hlediska způsobu biosyntézy patří mezi decaketidy. Aflatoxinová molekula má pravděpodobně 2 reaktivní (toxická/karcinogenní) místa viz nenasycené terminální (koncové) místo v bihydrofuranové polovině a laktonový okruh kumarinové části (Malíř, Ostrý a kol., 2003).

Tab. 4: Přehled chemických a fyzikálních charakteristik vybraných aflatoxinů (Ostrý, Ruprich, Überhuberová, 1997, upraveno)

	AFB₁ – Aflatoxin B₁
CAS	1162 – 65 – 8
Název dle Chemical	Cyclopenta[c]furo[3'2':4,5]furo [2,3 - h] [1]benzopyran-1,11-dione,2,3,6a,9a-tetrahydro-4-methoxy-, (6aR- <i>cis</i>)-

abstracts	
Jiný název	6-methoxydifurokumaron
Sumární vzorec	C ₁₇ H ₁₂ O ₆
Molekulová hmotnost	312
Popis	světle žluté krystaly, emituje v UV světle modrou fluorescenci
Bod tání	268 – 269°C
Optická otáčivost	[α] _D - 480° (c = 0.1 v dimethylformamidu)
Rozpustnost	nerozpustný v nepolárních rozpouštědlech, málo rozpustný ve vodě (10 – 20 µg/ml), dobře rozpustný v polárních organických rozpouštědlech
	AFB₂ – Aflatoxin B₂
CAS	7220 – 81 – 7
Název dle Chemical abstracts	Cyclopenta[c]furo[3'2': 4,5]furo [2,3, - h] [1] benzopyran-1,11-dione, 2,3,6a,8,9,9a-hexahydro-4-methoxy-, (6aR-cis)-
Jiný název	Dihydro – aflatoxin B ₁
Sumární vzorec	C ₁₇ H ₁₄ O ₆
Molekulová hmotnost	314
Popis	světle žluté krystaly, emituje v UV světle modrou fluorescenci
Bod tání	286 – 289°C
Optická otáčivost	[α] _D - 490° (c = 0.1 v chloroformu)
Rozpustnost	nerozpustný v nepolárních rozpouštědlech, málo rozpustný ve vodě (10 – 20 µg/ml), dobře rozpustný v polárních organických rozpouštědlech

5.3 Producenti

Při produkci aflatoxinů se uplatňují především zástupci rodu *Aspergillus* ze sekce Flavi. Bylo prokázáno, že v tropických a subtropických oblastech jsou aflatoxiny produkovány zejména plísněmi *Aspergillus flavus* a *A. parasiticus*. *Aspergillus flavus* je rozšířen celosvětově. *A. parasiticus* je dominantní především v teplém klimatu, což vzhledem k celosvětovému globálnímu oteplování může mít vliv na jeho rozšíření. *A. nomius* se vyskytuje jako kontaminant potravin pouze sporadicky. Za určitých podmínek (vlhkost, teplota) *A. flavus* a *A. paraciticus* jsou schopny růst a tvořit aflatoxiny téměř na každém organickém substrátu (včetně všech zemědělských komodit). Teplota a vodní aktivita mají velký význam na produkci aflatoxinů u potravinových surovin před sklizní, během sklizně a po sklizni, i při jejich skladování. U podzemnice olejné a kukuřice se vyskytuje před sklizňové napadení mikromycety *Aspergillus flavus* a následná kontaminace aflatoxiny. Další faktory, které podporují a zvyšují kontaminaci, jsou stres rostlin ze sucha, zvýšené poškození hmyzem, použití genotypů rostlin náchylných ke kontaminaci (Malíř, Ostrý a kol., 2003).

Tvorba aflatoxinů začíná ve stejnou dobu, kdy se tvoří konidie. Největší koncentrace jsou syntetizovány v log fázi, tj. v období intenzivní sporulace. Po 6 dnech se většinou tvorba aflatoxinů snižuje. Za určitých daných podmínek se obvykle tvoří 2 – 3 typy aflatoxinů (Malíř, Ostrý a kol., 2003).

5.4 Výskyt aflatoxinů v potravinách

Tvorba mykotoxinů v přírodě bývá považována za celosvětový problém. V některých částech světa se některé mykotoxiny vyskytují častěji než jiné. Aflatoxiny jsou běžné ve vlhkých klimatických podmínkách v asijských zemích a v některých částech Austrálie. Mykotoxiny jsou pravidelně nacházeny v kukuřici, pšenici, rýži, krupici, arašidech a luštěninách (Bartošová, 2011).

V živočišných potravinách je jejich výskyt vzácný. Mléko může obsahovat aflatoxin M₁, který vzniká z aflatoxinu B₁ po průchodu organismem dojníc. V sušeném mléce jako následek sekundární kontaminace se může vyskytnout i aflatoxin B₁. Zejména aflatoxiny B₁ a M₁ byly prokázány jak v syrovém a konzumním mléce, tak i v dětské výživě a v tvrdých i měkkých sýrech. Mimo to byly nalezeny aflatoxiny v uměle infikovaných potravinách - ovocné šťávy, rajská šťáva a protlak, masné výrobky, slanina a podobně. Stejně tak byly nalezeny v pomocných potravinářských surovinách - želatině, umělých střívkách a obalovém materiálu jako je korek, lepenka či dřevitá vlna (Bartošová, 2011).

Tab. 5: NPM aflatoxinů v některých potravinách v mg.kg-1 v ČR (Hrdina a kol., 2004, upraveno) v uplynulém období

AFB ₁	NPM 0,0005 NPM 0,005 NPM 0,02 NPM 0,002	dětská kojenecká výživa potraviny obecně A potraviny obecně B ořechy včetně arašídů a sušené ovoce pro přímou spotřebu
AFM ₁	NPM 0,00005 NPM 0,00005	mléko syrové i tepelně ošetřené mléčná kojenecká a dětská výživa
Aflatoxiny suma B ₁ , B ₂ , G ₁ a G ₂	NPM 0,008 NPM 0,04 NPM 0,002 NPM 0,001 NPM 0,004	potraviny obecně A potraviny obecně B dětská výživa (od ukončeného 12. měsíce výše) kojenecká výživa (do ukončeného 12. měsíce) ořechy včetně arašídů a sušené ovoce pro přímou spotřebu

V současnosti jsou v ČR mykotoxiny regulovány Nařízením Komise (ES) č. 1881/2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách a dále např. Nařízením Komise (ES) č. 165/2010 (Malíř, 2015).

Problém u nás představuje dále výroba krmiv a manipulace s nimi. V tomto materiálu se často vyskytují aflatoxiny, které mohou pronikat z prachu do organismu inhalační cestou i vstřebáním pokožkou. Problém je o to závažnější, že v prachu bývá podstatně vyšší koncentrace aflatoxinů než v samotném substrátu. SZPI byl aflatoxin také prokázán v krvi a moči na konci směny u pracovníků výroben krmných směsí, paralelně byl prokázán i výskyt aflatoxinů a dalších mykotoxinů v samotném prachu. Stejně tak byl prokázán výskyt aflatoxinů v prachu ve stájích zemědělského družstva (Greifenthalová, 2008).

Dále jsou aflatoxiny relativně termostabilní a proto se při použití technologických postupů (např. vaření a sterilizace) nerozkládají. Byla sledována stabilita aflatoxinů v arašidech při běžných teplotách. V potravinách na bázi arašídů (v syrových a pražených arašidech, oříškovém másle), které byly skladovány při teplotě cca 23°C po dobu 2 let, nebyly nalezeny žádné změny koncentrace aflatoxinů. Bylo prokázáno, že technologický proces pražení vedl ke snížení koncentrace aflatoxinů např. v sušených pražených arašidech, nebo pražených arašidech s využitím mikrovlnného ohřevu. Pražení arašídů s využitím mikrovlnného ohřevu snižuje koncentraci aflatoxinů velmi významně. Jedná se však o technologický postup, který je značně nákladný (Greifenthalová, 2008).

Tab. 6: Výskyt významných aflatoxinogenních druhů rodu *Aspergillus* v potravinách (Bartošová, 2011)

DRUH	POTRAVINA
<i>Aspergillus flavus</i>	<p>kukuřice a výrobky z kukuřice, čirok, červená rýže, oves, pšeničná zrna, obiloviny a výrobky z obilovin, pšenice a pšeničná mouka, chléb, těstoviny, otruby, ječmen, millet</p> <p>boby, sója, mungo, hrách, sójové boby, čerstvé ovoce, citrony, rajčata, liči, ananas, granátová jablka</p> <p>ořechy, arašídy, ořechy kemiri, pistácie, pekanové ořechy, lískové ořechy, vlašské ořechy, ořechy kola, kokosové ořechy, betelové ořechy</p> <p>pepř, černý pepř, koriandr</p> <p>zpracovaná masa, uzená masa, slanina, šunky, šunky ze Španělska, africké rybí výrobky, sušené, uzené nebo solené ryby z jihovýchodu Asie</p> <p>mléko, sýr</p>
<i>Aspergillus parasiticus</i>	<p>amaranth, millet</p> <p>sójové boby</p> <p>arašídy, lískové ořechy, vlašské ořechy, pistácie, pekanové ořechy</p> <p>zpracovaná masa</p>
<i>Aspergillus tamarii</i>	<p>pšenice, ječmen, čirok, kukuřice, rýže</p> <p>sójové boby, zelené kávové boby, černé fazole, sója mungo</p> <p>arašídy, pistácie, pekanové ořechy, lískové ořechy, vlašské ořechy, ořechy kola, betelové ořechy, kakao, palmové jádro, kešu, ořechy kemiri</p> <p>koření, pepř</p> <p>masné výrobky, solené sušené ryby, uzené sušené ryby</p>

5.5 Toxikologická charakteristika vybraných aflatoxinů

Aflatoxiny mohou být akutně toxické, karcinogenní, mutagenní a teratogenní. Pořadí toxicity a genotoxicity je $AFB_1 > AFG_1 > AFB_2 > AFG_2$, což naznačuje, že nasycenost či nenasycenost terminálního furanového kruhu je určující pro šíři a hloubku biologické aktivity aflatoxinů. Tyto sloučeniny, jako i jiná nepolární xenobiotika, jsou primárně metabolizovány v játrech mikrosomálními oxidázami a cytosolickými enzymy. Většina primárních metabolitů je dále detoxikována konjugací s kyselinou glukuronovou nebo sírovou a eliminována močí nebo stolicí (Hrdina a kol., 2004).

5.5.1 Aflatoxin B1

Nejsilnější známý naturální karcinogen a hlavní zvířecí hepatokarcinogen, ačkoliv účinky kolísají s druhem, věkem, pohlavím a výživovým stavem. Např. pstruzi, prasata a kachňata jsou vysoce citlivé, zatímco skot a ovce jsou mnohem odolnější. Játra jsou primárně zasaženým orgánem (indukce jaterních lézí, jaterní karcinom, proliferace žlučvodů). Např. u potkanů Fischer je AFB_1 nejúčinnější hepatokarcinogen. Změny v jiných orgánech byly také pozorovány. Data obdržená z experimentů zahrnujících podávání dávek AFB_1 za účelem vyvolání akutní aflatoxikózy primátům byla extrapolována na člověka. Bylo odhadnuto, že dávka AFB_1 v potravine kontaminované $1\ 700\ \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ t. hm. v krátkém čase by měla být dostatečná pro závažné poškození jater, zatímco jedna dávka ve výši $75\ 000\ \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ t. hm. by měla navodit smrt. Akutní aflatoxikóza by se neměla vyskytnout, jestliže je konzumována strava o koncentraci $AFB_1\ 340\ \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ t. hm.den⁻¹. V USA požití AFB_1 v kukuřici a potravinách na bázi arašídů vedlo k většímu riziku rakoviny jater než požití AFM_1 v mléce a mléčných výrobcích. Ve srovnání s tím je přísun aflatoxinů masem a masnými výrobky zanedbatelný. Smrtelná dávka, dále jen LD užitá perorálně je $5,5 - 7,2\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ t. hm. samců potkana (hmotnosti 100g), u samic potkana je to $17,9\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ t. hm. (hmotnosti 150g) (Malíř, Ostrý a kol., 2003).

5.5.2 Aflatoxin B2

Možný karcinogen, genotoxická sloučenina, vykazující obdobné účinky jako AFB_1 , ale s nižší toxickou schopností. Ve srovnání s $3,9\ \mu\text{g}\ AFB_1$ je zapotřebí $50\ \mu\text{g}\ AFB_2$, aby došlo ke stejné proliferaci žlučvodů u kachňat. Odhad letální dávky pro člověka je $1-10\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. LD perorálně je $84,8\ \mu\text{g}\cdot 50\text{g}^{-1}$ t. hm. jednodenních kachňat (Malíř, Ostrý a kol., 2003).

5.5.3 Aflatoxin G1

Tento karcinogenní (způsobuje jaterní a ledvinné karcinomy) a genotoxický mykotoxin vykazuje podobnou toxicitu, která je menší než u AFB_1 , ale větší než AFB_2 . Kachňata po podání AFG_1 vykazují ta samá poškození jako po AFB_1 . LD u potkana byla dvakrát větší než u AFB_1 (Malíř, Ostrý a kol., 2003).

5.5.4 Aflatoxin G2

Možný karcinogen s genotoxickými mykotoxinovými vlastnostmi - nejmenší akutní toxicita ze 4 přírodně se vyskytujících aflatoxinů. LD perorálně je 172,5 μ g.50g⁻¹ t. hm. jednodenních kachňat (Malíř, Ostrý a kol., 2003).

5.5.5 Aflatoxin M1

4-hydroxyderivát aflatoxinu AFB₁, nalezený v játrech, ledvinách, krvi, žluči, stolici, moči a mléce savců. Později byl tento metabolit nalezen v dalších druzích mléka. AFM₁, který je výsledkem hydroxylace AFB₁, má asi 3 % mutagenní potenciál AFB₁ a je také méně toxický a kancerogenní. LD je 12 μ g/ AFB₁ jeden den starého kachněte (simultánní aplikace). Ve srovnání s AFB₁ byla jasně prokázána menší schopnost navození jaterního karcinomu (pstruh, potkan). Bylo však zjištěno, že AFM₁ navodil u pstruha karcinom jater. Po subkutánní injekci pak byl u pstruha prokázán sarkom (Malíř, Ostrý a kol., 2003).

V některých zemích je kontaminace mléka závislá na sezónním trendu. Během letních měsíců jsou nalezené koncentrace nižší, protože je méně doplňkových krmiv přidáváno ke kravskému krmivu. AFM₁ je spojen s proteinovou frakcí mléka. Tento fakt je odpovědný za kontaminaci sýrů (3 – 5x vyšší obsah). Oproti AFB₁ a AFG₁ na AFB₂ a AFG₂ se AFM₁ vyskytuje v nepřítomnosti jiných aflatoxinů. Lidská expozice je primárně odpovědná mléku a mléčným produktům ze zvířat než požitím stravy kontaminované AFB₁. Zejména může tato expozice představovat velký problém u dětí s vysokou konzumací mléka – z důvodu jejich relativně nízké hmotnosti, vysoké buněčné aktivity a pouze částečně rozvinutého imunitního systému (Malíř, Ostrý a kol., 2003).

5.5.6 Aflatoxin M2

4-hydroxyderivát aflatoxinu AFB₂ - nalezený v játrech, ledvinách, moči a mléce savců. Výskyt v mateřském lidském mléce. Ve srovnání s AFM₁ je značně méně toxický, pravděpodobně z důvodu chybění dvojné vazby na konci difuranového systému (Malíř, Ostrý a kol., 2003).

5.6 Onemocnění způsobená aflatoxiny

Tab. 7: Akutní a chronická onemocnění lidí spojená s aflatoxiny (Malíř, Ostrý a kol., 2003).

Onemocnění	Zjištění	Místo
aflatoxikóza	experimentálně u zvířat detekce v biologickém materiálu	Indie Keňa Mozambik
primární jaterní karcinom	experimentálně u zvířat epidemiologické studie detekce v biologickém	řada států Afriky a Asie

	materiálu	
cirhóza dětí v Indii	experimentálně u zvířat náhodné expozice detekce v biologickém materiálu	Indie
chronická gastritida	epidemiologické studie detekce v biologickém materiálu	Keňa
Kwashiorkor	detekce v biologickém materiálu	Súdán, Ghana, Nigerie J. Afrika
Reyův syndrom	detekce v biologickém materiálu	ČSSR, Thajsko, USA
respirační onemocnění	epidemiologické studie hygienické studie pracovní prostředí	Holandsko, USA, ČSFR
duševní retardace dětí	epidemiologické studie	USA

5.6.1 Kwashiorkor

Jedná se o nejčastější a nejrozšířenější nutriční poruchu u lidí žijících v rozvojových zemích. Lze ji považovat za formu podvýživy způsobenou nedostatkem bílkovin v přijímané potravě, což je charakteristické především pro oblasti, kde je omezená dodávka potravin nebo v místech s nízkou úrovní vzdělání. Nejvíce se nemoc projevuje u dětí a kojenců v Africe a Střední Americe, tedy v zemích, kde lidé zažívají hladomor, trpí politickými nepokoji či přírodními katastrofami jako jsou zemětřesení, sesuvy půdy, vichřice nebo povodně. Tyto události znesnadňují zásobování již zmíněných oblastí dostatkem potravin (Cofasso, 2012).

Mezi charakteristické příznaky tohoto onemocnění lze zařadit změny zbarvení kůže a vlasů (červeno-oranžové zbarvení), únavu, průjem, ztrátu svalové hmoty, edém (otok), poškození imunitního systému, což může vést k častějším a závažným infekcím, popudlivost, šupinatou vyrážku, velké břicho, které vyčnívá a šok. Lékařem bývá toto onemocnění diagnostikováno dle zvětšených jater či otoku (edému). Povinností lékaře je provést u pacienta testy, při nichž se měří hladina bílkovin a cukru v krvi. Takovéto testy se obvykle provádí na vzorku krve či moči člověka, u něhož je podezření na toto onemocnění. Lze také provádět další testy pomocí krve či moči, které měří faktory poukazující na podvýživu či nedostatek bílkovin jako jsou poruchy svalů, funkce ledvin, celkové zdraví a růst. Tyto testy zahrnují měření arteriálního krevního plynu, hladiny močovinového dusíku v krvi, hladiny kreatininu v krvi, hladiny draslíku v krvi. Dále se pak provádí celkový rozbor moči a kompletní krevní obraz (Cofasso, 2012).

Obr. 4: Porovnání vzhledu postavy zdravého člověka a člověka trpícího onemocněním kwashiorkor (Kaneshiro, 2012)



Toto onemocnění lze vyléčit přísunem dostatečného množství bílkovin a kalorií celkově, zejména pak, když je léčba zahájena včas. Nejprve je vhodné přijímat kalorie ve formě sacharidů a tuků, které poskytují dostatečnou energii, po dosažení potřebné energie lze konzumovat potraviny s obsahem bílkovin. Důležité je také užívat vitamínové a minerální doplňky stravy. I přesto, že byly děti léčeny na toto onemocnění, nikdy u nich nebylo dosaženo plného růstového potenciálu a výšky. Pokud léčba přichází pozdě, mohou u dětí nastat psychické a fyzické problémy. Pokud se toto onemocnění neléčí, vede často ke kómatu, šoku či smrti (Cofasso, 2012).

Blízký vztah mezi výskytem onemocnění a příjmem aflatoxinů potravou (hlavně u dětí) byl zjištěn při výzkumu v Etiopii. U nejtěžších forem kwashiorkoru byly zjištěny vždy aflatoxiny v potravě i tělních tekutinách (krev, moč) v toxikologicky významném množství (Bartošová, 2011).

5.6.2 Aflatoxikóza

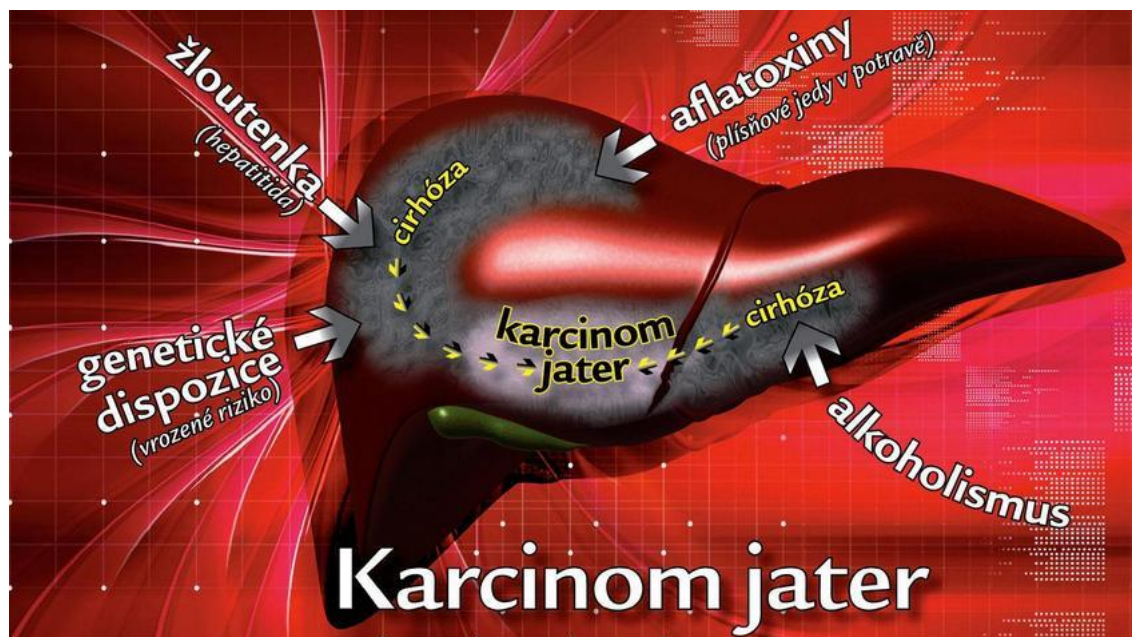
Nadměrný příjem aflatoxinů organizmem má za následek rozvinutí otravy nazývané aflatoxikóza. Je možné tento typ otravy rozdělit na dvě skupiny. Akutní aflatoxikózu, která vzniká nadměrnou intoxikací v rámci jednorázového příjmu nebo příjmu během velmi krátkého času mající za nejzávažnější následek částečné poškození jater, v extrémním případě naprosté selhání jejich funkce. Pozorována může být i krvácivost, vznik edémů. Chronická aflatoxikóza je druhým typem, který vzniká jako důsledek dlouhodobého příjmu aflatoxinů, nejčastěji ze zaplísňených potravin. Její diagnóza může být složitá a fyziologický projev málo patrný. Nejzávažnějším dopadem chronické aflatoxikózy je cirhóza respektive karcinom jater (Pohanka, 2008).

U chronické aflatoxikózy dochází k rozvoji rakoviny, potlačení imunity aj. pomalým patologickým účinkům. V rozvojových zemích je výskyt rakoviny jater mnohem vyšší ve srovnání s rozvinutými zeměmi. V rozvojových zemích riziko karcinomu jater významně koreluje s dietárním původem AFB₁. Aflatoxikózu může zesílit vitamínová deficiencie (např. pyridoxinu), podvýživa, alkoholismus a infekční onemocnění. Je odhadováno, že celosvětově je exponováno AFB₁ prostřednictvím dietární expozice přibližně 4,5 miliardy lidí a na základě epidemiologických studií ve světě umírá více než 600 000 lidí na rakovinu jater, především v Číně, jihovýchodní Asii a subsaharské Africe, v těchto oblastech navíc často dochází k synergickému kokarcinogennímu spolupůsobení s hepatitidou typu B. Je odhadnuto, že riziko karcinomu se zvyšuje 10x vlivem AFB₁ a infekční hepatitida typu B zvyšuje rizikový faktor také 10x. Jestliže však uvedené faktory spolupůsobí současně, zvyšuje se riziko karcinomu až 100x. Naopak synergické spolupůsobení není zatím prokázáno u hepatitidy typu C a AFB₁ (Malíř, Ostrý, 2012).

Akutní onemocnění u lidí vzniklé příivodem aflatoxinů se projevilo jako akutní hepatitida spojená s konzumováním vysoce kontaminovaných potravin, především kukuřice. Mezi typické, ale nespecifické změny u pacientů s akutní aflatoxikózou patří žloutenka s nízkým stupněm horečky, deprese, anorexie a průjem. Na histopatologických testech byly evidentní degenerativní tukové změny v játrech, jako jsou centrilobulární nekróza či tukové infiltrace (Richard et al., 2003).

Karcinogenita aflatoxinů se projevuje především indukci nádoru, vycházejícího z hepatocytů, funkčních buněk jaterního parenchymu. Vedle primárního hepatomu se v této lokalizaci uplatňují i další nádory, nicméně primární hepatom je mezi nimi nejčastější. Karcinogenita aflatoxinu je rozsáhle prozkoumána, a to od biochemických mechanismů účinku přes biologické modely (tkáňové kultury, pokusná zvířata) až po epidemiologické studie na lidských populacích. Primární hepatom má rovněž vztah k nosičství viru infekční hepatitidy B. Prodělání uvedené choroby zvyšuje riziko karcinomu jater cca dvacetinásobně. Tento virus je nyní považován za jeden z prokázaných lidských onkovirů, ovšem k onkogenezi potřebuje přítomnost karcinogenní látky, což je velice často právě aflatoxin. Je prokázán vznik volných radikálů z aflatoxinu, vážících se na DNA. Je rovněž popsána korelace mezi aflatoxiny v potravě a v lidském séru, je též popsán přechod aflatoxinů skrze placentu do plodu a do mateřského mléka. Nejvyšší hodnoty aflatoxinu v lidském biologickém materiálu bývají nalézány v tropických rozvojových zemích (Šimůnek, 2004).

Obr. 5: Vznik karcinomu jater (Fínek, 2010)



5.6.3 Reyův syndrom

Jedná se o akutní onemocnění dětského věku, pro které je charakteristický edém mozku a poškození funkce jater. Příčina tohoto onemocnění není známa. Zjištěna byla souvislost mezi virovými infekcemi a léčbou kyselinou acetylsalicylovou. Z těchto důvodů se již kyselina acetylsalicylová dětem při horečnatých onemocněních nepodává. Reyův syndrom může končit smrtí dítěte nebo doživotními následky (Šnajdr, 2012).

Velmi důležitá je při léčbě prevence (při horečce se dětem musí podávat léky, které kyselinu acetylsalicylovou neobsahují – nejlépe paralen). Prognóza již vzniklého stavu je nicméně velmi závažná. Terapie je možná pouze na jednotkách intenzivní a resuscitační péče (Šnajdr, 2012).

Toto onemocnění je spojeno s aflatoxiny od doby, kdy bylo zaznamenáno úmrtí 27 dětí ve věku 3 dnů do 8 let v 70. letech u nás, kdy byl u těchto pacientů popsán rozvinutý Reyův syndrom (encefalopatie a tuková degenerace vnitřních orgánů). Přítomnost aflatoxinů byla prokázána v sušeném mléce, které bylo součástí výživy kojenců. Vědci později potvrdili souvislost mezi účinky aflatoxinů a rozvojem Reyova syndromu (Pivoňková, 2013). Ve všech případech byl zjištěn v játrech aflatoxin B₁ (Hrdina a kol., 2004).

Toto onemocnění je hlavní příčinou úmrtí dětí například v Thajsku a uvažuje se, že alespoň z části má na jeho výskyt podíl především aflatoxin B₁. Onemocnění má zpravidla dvoufázový průběh. První fáze začíná jako banální respirační onemocnění, druhá fáze nastává za několik hodin nebo málo dní zvracením a

průjmy. Neurologické příznaky se manifestují agitačním deliriem, kómatem, křečemi a končí smrtí (Malíř, Ostrý a kol., 2003).

Reyův syndrom je polyetiologický chorobný stav, který lze vyvolat i některými léky (např. Acylpyrin), jedy, virovou infekcí a snad existuje i dědičná dispozice. Bylo prokázáno, že u řady kojenců do 1 roku života (a zejména do 6 měsíců), krmených umělou výživou, je etiologickým faktorem aflatoxin. Onemocnění se vyznačuje rychlým přechodem do těžkého bezvědomí po horečnatém onemocnění s nespecifickými příznaky, připomínajícími virózu. V kómatu se projeví současné těžké postižení jater a mozku, které je i příčinou smrti (Michálek, 2011).

6 Citrinin

Citrinin je polyketidický mykotoxin produkovaný několika druhy rodů *Aspergillus*, *Penicillium* a *Monascus* (EFSA Journal, 2012). Pro tento mykotoxin se taky zažili názvy jako antimycin nebo monascidin A (Weidenbörner, 2001). Některé houby produkující citrinin jsou schopny vytvářet také další druhy mykotoxinů, např. ochratoxin A či patulin. Tento mykotoxin se nejčastěji vytváří po sklizni při nevhodných skladovacích podmínkách především na obilí, ale můžeme ho nalézt také v jiných produktech rostlinného původu, např. fazolích, ovoci, ovocných a zeleninových šťávách, bylinách a koření a také zkažených mléčných výrobcích. Kromě toho byl tento mykotoxin nalezen jako nežádoucí znečišťující látka v červené formě rýže, která se používá jako konzervant potravin a barvivo v asijských potravinách (EFSA Journal, 2012). Jde o středně nefrotoxickou látku; prokázán je také teratogenní efekt (Hrdina a kol., 2004).

Tento toxin vyskytující se především ve žluté rýži a způsobující tzv. „nemoc žluté rýže“ byl poprvé izolován z *Penicillium citrinum* Thomem v roce 1931. Tato plíseň se nejčastěji vyskytuje na žluté rýži a produkuje velké množství žlutých toxických metabolitů. Z tohoto důvodu byl citrinin označen jako toxin způsobující syndrom žluté rýže v Japonsku (Weidenbörner, 2001).

V polovině minulého století zájem o citrinin prudce vzrostl, když byla prokázána jeho široká antibakteriální aktivita. Nicméně po identifikaci jeho toxicity pro savce jeho význam výrazně poklesl (EFSA Journal, 2012).

Původně byl objeven a používán jako antibiotikum, ale pro značnou toxicitu (je nefrotoxický) byl vyřazen. Může se vyskytovat společně s ochratoxinem a pravděpodobně se jedná i o jeho prekursor. Po vyvolání metabolických bloků lze u kmenů produkujících ochratoxinu zaznamenat pokles jeho produkce a objevení produkce citrininu (Greifenthalová, 2008).

6.1 Vliv na člověka

První toxikologické a farmakologické studie s citrininem pocházejí ze 40. a 50. let a jeho nefrotoxicitu objevil Krogh a kol. (Betina, 1990). Patogenita citrininu u člověka nebyla prokázána. Za zmínku však stojí, že bylo vysloveno též podezření, že je jednou z možných příčin endemické balkánské nefropatie, neboť se vyskytuje často v mykobiotě kulturních rostlin společně s ochratoxinem A, se kterým může svým působením na ledviny toto onemocnění spoluvyvolávat. Oba toxiny jsou totiž často produkovány stejnými druhy hub a jsou tedy často nalézány společně ve stejných druzích krmiva či potravinách (Herink a kol., 2007).

6.2 Toxicita

Citrinin je fetotoxický, embryocidní, mutagenní a mírně teratogenní, nefrotoxický a hepatotoxický mykotoxin (Weidenbörner, 2001). Vykazuje antibiotické, bakteriostatické, antimykotické a antiprotozoální vlastnosti. Působí jako nefrotoxin ve všech testovaných zvířatech, ale jeho akutní toxicita se liší v závislosti na živočišném druhu. Citrinin může být pravděpodobným karcinogenem pro člověka. Při testech na zvířatech se u krys objevily tumory ledvin. Z hlediska poškození ledvin a rozvoje nádorů ledvin, je velmi důležitý synergický efekt citriniu s ochratoxinem A. LD₅₀ je 50 mg.kg⁻¹ t. hm. potkana (Weidenbörner, 2001). Mechanismus účinku citriniu na buněčné úrovni je popsán akumulací citriniu v mitochondriích a narušením elektronového transportního systému v mitochondriích jater a ledvin. Citrinin také narušuje tok Ca²⁺ v mitochondriích a transport přes permeabilní membránu. Tento mykotoxin také inhibuje syntézu DNA a RNA v buňce, může indukovat apoptózu (buněčnou smrt). Citrinin může způsobit fragmentaci buněčného jádra a indukovat chromozomální aberace. Mutagenita a genotoxicita citriniu je objasněna pouze z malé části. Toxické účinky citriniu bývají často zesíleny působením ochratoxinu A (Škopcová, 2009).

6.3 Výskyt v potravinách

Citrinin bývá především nacházen v pšenici, ovsu, rýži, ječmeni, arašíděch a ovoci. Jeho výskyt byl také sledován v červené fermentované rýži, tradičně vyráběné asijské potraviny, k jejíž přípravě se používají plísně z rodu *Monascus*. Citrinin může také kontaminovat olivy (Škopcová, 2009). Přírodní výskyt tohoto mykotoxinu je především v pekárenských produktech, ječmenu, chlebu, kardamomu, cereáliích, sýrech, cukrovinkách, koriandru, kmínu, fenyklu, mouce, kukuřici, kukuřičné mouce, mase, řepce olejce, pečivu. Je také součástí ořechů, pepře, prasečích ledvin a rýže (Weidenbörner, 2001). Typické koncentrace, které můžeme nacházet v obilovinách a cereálních produktech, jsou v rozmezí 0,1 – 1 130 mg.kg⁻¹ (Škopcová, 2009).

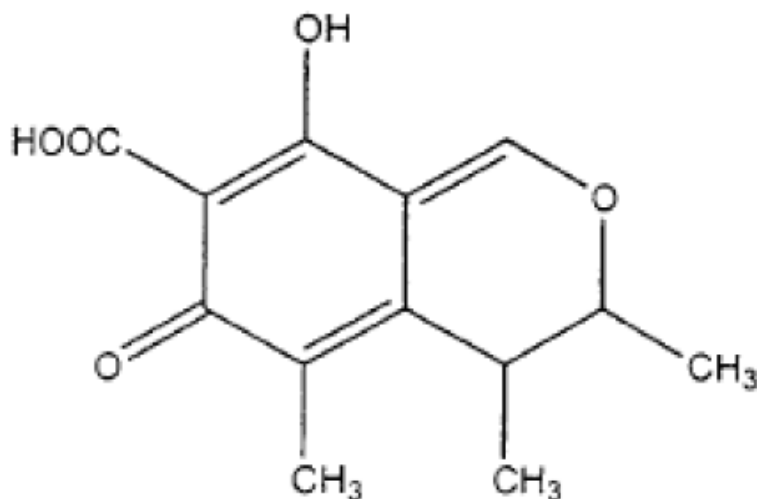
6.4 Chemická charakteristika

Chemická struktura byla objasněna ve stejném roce, kdy byl tento mykotoxin objeven, tedy v roce 1931 Coynem. Jde o heterocyklickou monobazickou kyselinu obsahující pyranové jádro (Herink a kol., 2007).

Tab. 8: Přehled chemických a fyzikálních charakteristik citrininu (Ostrý, Ruprich, Überhuberová, 1997, upraveno)

	Citrinin
CAS	518 - 75 - 2
Název dle Chemical abstracts	(3 <i>R-trans</i>)-4,6-Dihydro-8-hydroxy-3,4,5-trimethyl-6-oxo-6-3 <i>H</i> -benzopyran-7-carboxylic acid
Jiný název	Antimycin, S-52
Sumární vzorec	C ₁₃ H ₁₄ O ₅
Molekulová hmotnost	250
Popis	citronově žluté lesklé krystaly bez zápachu
Bod tání	170 - 173°C po vysušení 1 hod. při 60°C
Optická otáčivost	[α] ¹¹ _D - 37°
Rozpustnost	prakticky nerozpustný ve vodě, rozpustný v alkoholech, dioxanu a v zásaditých roztocích

Obr. 6: Chemická struktura citrininu (Škopcová, 2009)



7 Ochratoxiny

Mykotoxiny ze skupiny ochratoxinů byly poprvé izolovány a chemicky charakterizovány Jihoafričanem Scottem a kol. v roce 1965, jako produkt kultury *Aspergillus ochraceus*, kultivovaný na kukuřici. Strukturu stanovili Stein a Holzappel (1967). V praxi je známá celá řada derivátů ochratoxinů. Jejich význam je však ve srovnání s ochratoxinem A omezený (Ruprich, 1997).

Byly objeveny víceméně náhodou díky laboratornímu screeningu toxinogenních kmenů mikromycet, izolovaných v Jižní Africe (*Aspergillus ochraceus* aj.). Do této skupiny je zařazen ochratoxin A, 4 – hydroxyochratoxin A, ochratoxin α (Votava, 2003).

U člověka byly nálezy ochratoxinu A v krvi a v tkáních. V krvi je ochratoxinu A velmi silně vázán, až z 95% na plazmatické proteiny konkrétně na albumin, kde hraje významnou úlohu v organismu a podílí se na toxicitě ochratoxinu A (Malíř, Ostrý a kol., 2003).

Limit toxicity pro Ochratoxin A je 1 ppm. Tak jako ostatní mykotoxiny je vysoce termostabilní a není možné ho zničit pouhým varem (Vlková a kol., 2009).

7.1 Producenti

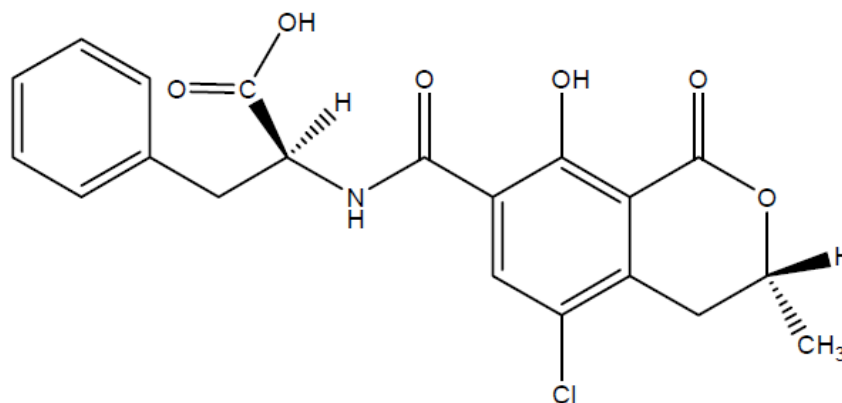
Ochratoxin A je sekundárním metabolitem některých mikroskopických hub rodu *Penicillium* a *Aspergillus*. Taxonomie těchto rodů je poměrně složitá a v průběhu let se měnila. To vedlo k řadě mylných závěrů z hlediska definice producentů tohoto toxinu (Ruprich, 1997). Pokud jde o rod *Aspergillus*, jsou uváděny především druhy *A. ochraceus* a další druhy z rodu *Aspergillus* (*A. melleus*, *A. sulphureus*, *A. alliaceus*). Z rodu *Penicillium* produkuje ochratoxinu A pouze *P. verrucosum* (Herink a kol., 2007).

Za nejdůležitějšího producenta je považována skupina *A. ochraceus*. Biosyntéza probíhá pravděpodobně acetátovou-polymalonátovou drahou, karbonylová skupina může pocházet např. z methioninu, fenylalaninová část z fenylalaninu, šikimátovou drahou. Dihydroizokumarinová část pochází z pěti acetátových jednotek a atom chlóru se připojuje z chloridu sodného působením chloroperoxidázy (Ruprich, 1997).

7.2 Chemická charakteristika

Po chemické stránce jde o látky kumarinové povahy s molekulovou hmotností 369 – 431. Část molekuly je tvořena aminokyselinou L- β - fenylalaninem, na kterou je vázána vazbou methylisokumarinová část. Z toxikologického hlediska má největší význam ochratoxin A, který ve své molekule obsahuje atom chloru, na rozdíl od ochratoxinu B (Ostrý, Ruprich, Überhuberová, 1997).

Obr. 7: Chemická struktura ochratoxinu A (Malíř, Ostrý, Novotná, 2013)



Tab. 9: Přehled chemických a fyzikálních charakteristik ochratoxinu A (Ostrý, Ruprich, Überhuberová, 1997, upraveno)

	OTA - ochratoxin A
CAS	303 - 47 - 9
Název dle Chemical abstracts	L-Phenylalanine, N-[(5-chloro-3,4-dihydro-8-hydroxy-3-methyl-1-oxo-1-H-2-benzopyran-7-yl)carbonyl]-, (R)-
Jiný název	(-)-N-[(5-chloro-8-hydroxy-3-methyl-1-oxo-7 isochromanyl)carbonyl]-3-phenylalanine
Sumární vzorec	C ₂₀ H ₁₈ O ₆ ClN
Molekulová hmotnost	403
Popis	bílá krystalická látka bez zápachu
Bod tání	168 - 173°C po vysušení 1 hod. při 60°C
Optická otáčivost	[α] ²¹ _D - 46,8° (c = 2,65mmol/L v chloroformu)
Rozpustnost	rozpustný v organických rozpouštědlech (chloroformu, ethanolu a metanolu)

7.3 Toxicita

Ochratoxin A byl prokázán jako původce toxické nefropatie vepřů z krmiva kontaminovaného plísněmi. Choroba byla známá od druhé poloviny 20. let 20. století z Dánska a později zjištěna v dalších evropských zemích. Postihuje také drůbež. Ochratoxin A se po vstřebání v trávicím ústrojí rychle váže na sérový albumin a distribuuje se do jater, ledvin a tukové tkáně. Z části je vylučován močí (Herink, 2007).

Mechanismus jeho toxicity spočívá v tom, že fenylalaninová část jeho molekuly je t-RNA zaměněna za fenylalanin. Ten je však v ochratoxinu A navázán na kumarinovou část, která brání jeho navázání do proteinového řetězce. Tím dojde k zastavení proteosyntézy (Greifenthalová, 2008).

Hlavním účinkem ochratoxinu A na úrovni organismu je útlum imunity a postižení ledvin. Novější práce zabývající se karcinogenitou ochratoxinu A, prokazují silný efekt promotoru karcinogenního procesu, ale nebyla prokázána schopnost iniciace. Z hlediska praktického přístupu ke kontaminaci potravin ochratoxinem A se tím nic nemění, protože v potravě i prostředí jsme atakováni karcinogeny se schopností iniciace z mnoha dalších zdrojů (Greifenthalová, 2008).

7.4 Výskyt v potravinách

Ochratoxin A se vyskytuje v celé řadě komodit jak rostlinného, tak živočišného původu. Tento mykotoxin byl objeven v kukuřici, cereáliích, vepřovém masu, kakau, sójových bobech, ovsu, ječmeni, citrusových plodech, kávě a podzemnici olejné. Ochratoxin A má silné nefrotoxické a hepatotoxické účinky, ale vykazuje i imunosupresivní, cytotoxické a karcinogenní účinky (Vlková a kol., 2009).

Hlavním zdrojem ochratoxinu A je obilí. I naše obilí zpravidla obsahuje detekovatelné, ale podlimitní koncentrace. Dalším zdrojem jsou masné výrobky, což je dáno faktem, že ochratoxinu A vytváří rezidua ve tkáních. Byla rovněž popsána produkce ochratoxinu A kulturními plísněmi, používanými k finalizaci některých uzenářských výrobků (uherský salám, apod.). Významným zdrojem ochratoxinu může být též káva. Toto zjištění souvisí s nálezy toxikologicky významných koncentrací ochratoxinu A v lidské krvi v krevních konzervách (Německo, Rakousko, Švýcarsko). Při cíleném pátrání po zdroji byl prokázán právě původ z kávy. Dalším význačným zdrojem ochratoxinu je vepřová krev, v níž je ochratoxinu vázán na albumin (domácí zabíjačky, krevní speciality) (Greifenthalová, 2008).

7.5 Onemocnění způsobená ochratoxinem A

Cílovým orgánem pro akutní toxický účinek ochratoxinu A jsou především ledviny a játra. Tento mykotoxin je znám i svými imunosupresivními, teratogenními a

potencionálně karcinogenními účinky. Na Balkánském poloostrově je již delší dobu známé onemocnění lidí s názvem „Balkánská endemická nefropatie“. Existují hypotézy o souvislosti vysoké incidence nádorů urogenitálního traktu v Bulharsku a Jugoslávii, s výskytem Balkánské endemické nefropatie a výskytem ochratoxinu A v kontaminovaných potravinách (Ruprich, 1997).

7.5.1 Balkánská endemická nefropatie (BEN)

V roce 1972 vyslovil P. Krogh podezření, že endemická balkánská nefropatie (resp. fibrotizující intersticiální nefritida, tehdy neznámého původu) je chronickou otravou člověka ochratoxinem A. Vycházel z podobnosti laboratorních, klinických a histologických vyšetření mezi již popsanou nefropatií vepřů vzniklou působením ochratoxinu A a endemickou nefropatií. Kroghův názor, že toto onemocnění vzniká chronickým působením ochratoxinu A, nebyl zatím bez výhrad přijat a řada autorů jej považuje spíše za spekulativní (Herink a kol., 2007).

Balkánská endemická familiární nefropatie je choroba rozšířená v geograficky limitovaných oblastech, a to v populaci žijící v oblasti podél řeky Dunaje (do vzdálenosti až 100 km od toku) v některých částech Bulharska, Rumunska a zemí bývalé Jugoslávie. Uvedené onemocnění je charakterizované pomalu postupujícím progresivním zánětem intersticia ledviny, který vede až k totálnímu selhání funkce tohoto orgánu. Proces je ireversibilní a končí zpravidla terapií formou dialýzy, event. následnou transplantací postiženého orgánu. Klinicky a morfologicky je balkánská endemická nefropatie charakterizována signifikantními změnami struktur ledvinných tubulů, intersticiální fibrosou a postupným poškozením renálního parenchymu vedoucím k totální atrofii orgánu. Je provázána anemií, ztrátou tělesné hmotnosti a bolestmi hlavy, u pacientů však absentuje hypertenze typická pro jiné nefropatie. Z charakteristických biochemických změn je nutné zmínit proteinurii, glukosurii, zvýšený obsah kreatininu v séru, zvýšení hladin některých enzymů (γ -glutamyltransferasy, alkalické fosfatasy, laktátdehydrogenasy), plasmatických imunoglobulinů IgM a IgG a pH moči 3,5. Choroba je spojena s multifokálními, pomalu rostoucími, povrchovými, „low-grade“ tumory pánvičky ledvin a s tvorbou tumorů i dalších částí močového traktu (Stiborová, Patočka a kol., 2005). Pacienti trpící tímto onemocněním byli výlučně lidé pracující v zemědělství (přičemž ženy byly více postiženy než muži), (Bárta, 2010).

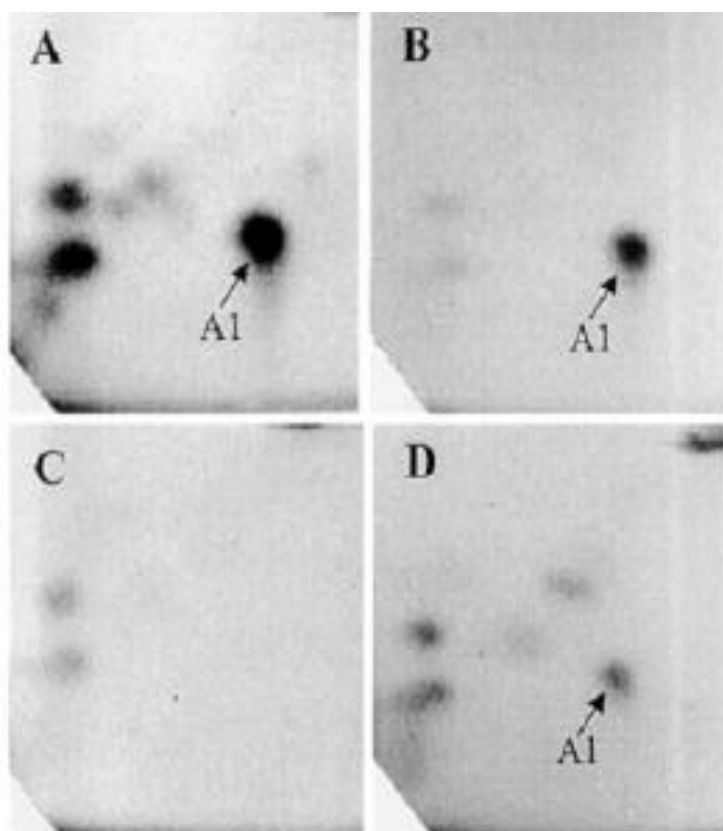
Stále nevyřešenou se zdá být otázka etiologie této choroby. Studie zabývající se hledáním příčiny BEN navrhly několik hypotéz (mezi nimi vliv těžkých kovů, mykotoxinů či aristolochových kyselin), nicméně je pravděpodobné že toto onemocnění je multifaktoriálního původu (Stiborová, Patočka a kol., 2005).

Jedním z navrhovaných původců BEN jsou polycyklické aromatické uhlovodíky a aromatické aminy, které jsou prokazatelnými karcinogeny (tzv. „lignitová teorie“). Vychází ze skutečnosti, že v postižených regionech se vyskytují ložiska

pliocénského lignitu a nekvalitního uhlí, jejichž zvětráním se výše zmíněné chemické sloučeniny (naftylamin, anilin, anthracen, pyren aj.) dostaly do pitné vody používané místním obyvatelstvem (Bárta, 2010).

Další hypotéza vysvětlující, resp. hledající původ BEN předkládá jako příčinu onemocnění mykotoxiny (tzv. „*mykotoxinová teorie*“). Jedná se především o ochratoxinu A (OTA) a v úvahu přichází také citrinin. Tuto teorii podporují skutečnosti, že onemocnění se vyskytuje pouze ve venkovských oblastech, kde se místní obyvatelstvo stravuje především potravinami, které si samo vypěstovalo a skladovalo (a právě skladování pšenice se působením plísní kontaminují potraviny ochratoxinem A). Nefrotoxické účinky ochratoxinu A byly demonstrovány při experimentech s živočišnými modely, jako jsou potkani, myši a prasata. Ochratoxin A je dále cytotoxický pro kultury renálních buněk a karcinogenní pro potkany. Ve studiích zabývajících se tvorbou aduktů ochratoxinu A - DNA byly získány zatím poměrně různorodé výsledky – pozitivní i negativní. Další z hypotéz považuje za původce BEN aristolochové kyseliny (Bárta, 2010).

Obr. 8: Adukty aristolochových kyselin nalezené v DNA pacientů trpících AAN (A) a pacientů žijících v oblastech BEN (B-D), (Bárta, 2010)



Jako původce BEN byly aristolochové kyseliny navrženy již v roce 1967 a následně v roce 1969 našel Ivić aristolochové kyseliny v mouce připravené z pšenice kontaminované semeny podražce křovištního (*Aristolochia clematitis*) v endemických regionech. *Aristolochia clematitis* se v těchto oblastech používá také v tradiční medicíně. Tyto poznatky soustřeďují ještě více pozornosti na aristolochové kyseliny (Bárta, 2010).

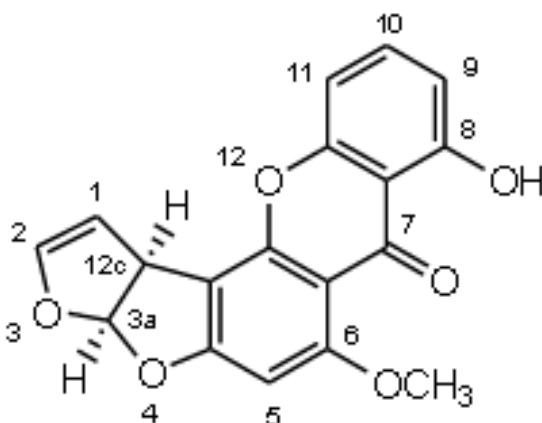
8 Sterigmatocystin

Sterigmatocystin je základní strukturou skupiny toxinů produkovaných *Aspergillus flavus*, *A. versicolor*, *A. nidulans*, *Emericella nidulans* a *Penicillium luteum*. Významnými producenty jsou především *A. versicolor* a *Emericella nidulans*. Optimální aktivita vody (a_w) pro tvorbu sterigmatocystinu je mezi 0,92 – 0,93. Minimální aktivita vody 0,80 je nezbytná pro tvorbu na chlebu (*A. versicolor*) a 0,85 na agarovém mediu (Malíř, Ostrý a kol., 2003, Hrdina a kol., 2004). Podobně jako aflatoxiny i sterigmatocystiny jsou hepatotoxické a hepatokarcinogenní, ale pouze s jejich desetinou silou. Vyskytují se především v mase jako rezidua kontaminovaných krmiv, ale také v obilí a vnější vrstvě tvrdých sýrů, pokud přišly do kontaktu s *A. versicolor* (Hrdina a kol., 2004).

8.1 Chemická charakteristika

Jedná se o prekursor v biosyntéze aflatoxinu B₁. Původně byl izolován a pojmenován v roce 1954 Hatsudou a kol. z kmene *Aspergillus versicolor*. V roce 1962 byla následně objasněna jeho molekulová struktura Bullockem a kol. (Weidenbörner, 2001, Malíř, Ostrý a kol., 2003). V roce 1975 se jeho biosyntézou a izolací zabývali Steyn a Rabie (Malíř, Ostrý a kol., 2003).

Obr. 9: Chemická struktura sterigmatocystinu (EFSA, 2013)



Tab. 10: Přehled chemických a fyzikálních charakteristik sterigmatocystinu (Ostrý, Ruprich, Überhuberová, 1997, upraveno)

	STC – sterigmatocystin
CAS	10048 – 13 – 2
Název dle Chemical abstracts	3a,12c – Dihydro-8-hydroxy-6-methoxy-7-H-furo-[3',2':4,5]furo[2,3-c]xanthen-7-one
Jiný název	-
Sumární vzorec	C ₁₈ H ₁₂ O ₆
Molekulová hmotnost	324
Popis	žlutá krystalická látka bez zápachu

Bod tání	242 - 244°C po vysušení 1 hod. při 60°C
Optická otáčivost	$[\alpha]^{21}_D - 369,0^\circ$ (c = 3,084mmol/L v chloroformu)
Rozpustnost	rozpustný ve vodě a silných zásaditých roztocích; šetrně rozpustný v mnoha organických rozpouštědlech

8.2 Výskyt v potravinách

Sterigmatocystin najdeme především v ječmenu, snídaňových cereáliích, sýrech (Gouda, Eidam), zrnkové kávě, corn flakes, fenyklu, kukuřici, řepce olejce, pepři, rýži či pšenici (Weidenbörner, 2001).

Obecně ale platí, že izolovat tento mykotoxin je možné pouze z těžce plesnivých substrátů. Kromě toho, se tento mykotoxin pouze zřídka vyskytuje v přírodě. Nicméně analytické metody nejsou pro jeho detekci tak citlivé jako např. pro aflatoxiny. Proto nízké koncentrace sterigmatocystinu v potravinách nemusí být vždy detekovány. Je nepravděpodobné očekávat zbytky či malá množství sterigmatocystinu v čerstvém mase, ačkoli v Kanadě byl tento mykotoxin detekován v některých krmivech. Zde byla hlášena i kontaminace vyšší množstvím sterigmatocystinu u zrn uskladněných ve skladu. Zároveň byl sterigmatocystin označen jako kontaminant marihuany. Sterigmatocystin je jen zřídka nalezený v potravinách, které jsou obvykle viditelně plesnivé (Weidenbörner, 2001).

8.3 Toxicita

V případě sterigmatocystinu se jedná o mykotoxin vyznačující se hepatotoxickými, nefrotoxickými, mutagenními a teratogenními účinky. Jeho toxické účinky jsou téměř stejné jako ty u aflatoxinu B₁, ale sterigmatocystin je méně akutně toxický (Weidenbörner, 2001). Akutní toxicita sterigmatocystinu je nízká vlivem jeho malé rozpustnosti ve vodě a v žaludečních šťávách a mění se v závislosti na způsobu aplikace, živočišném druhu a dalších faktorech (Malíř, Ostrý a kol., 2003). LD₅₀ perorálně je 60 – 166 mg.kg⁻¹ t. hm. potkana. U potkana je metabolizovaný sterigmatocystin primárně vylučován především gastrointestinálním traktem a méně močí a stolicí během 12 – 24 hodin. U sterigmatocystinu bylo navrženo podezření na chronické jaterní onemocnění u lidské populace v Africe. Přes svoji výraznou karcinogenita se nezdá být sterigmatocystin významným nebezpečím pro lidské zdraví. Jeho karcinogenní aktivita se rovná 1/10 karcinogenity aflatoxinu B₁ (Weidenbörner, 2001).

Diskuze

Vláknité mikroskopické houby neboli plísně, byly, jsou a budou vždy nedílnou součástí života. Setkáváme se s nimi každý den, i když si jejich existenci či přítomnost v našem prostředí nemusíme zrovna uvědomovat. Jedná se o mikroorganismy, které produkují látky charakteristické svými toxickými účinky. Nicméně navzdory těmto účinkům jsou to látky, které mají nejenom negativní význam, který se projevuje vznikem různých typů onemocnění, souhrnně nazývaných jako mykotoxikózy, ale zároveň to jsou látky, které svým pozitivním (benefitním) účinkem přispívají k tvorbě léčiv nebo antibiotik. Plísně jsou také schopny produkovat látky typu organických kyselin, zejména kyselinu citronovou, glukonovou, fumarovou a kojovou, které mají široké využití ve farmaceutickém průmyslu.

U mykotoxinů, jakožto sekundárních metabolitů vláknitých mikroskopických hub, se dá mluvit o tzv. synergismu (souhlasném působení) a antagonismu (protichůdném účinku), kdy se jedná o interakci chemických látek- např. mykotoxinů. V případě synergismu lze hovořit o souhlasném působení dvou a více mykotoxinů, kdy budou oba mykotoxiny v organismu působit, aniž by navzájem mezi sebou integrovaly a ovlivňovali svou toxicitu. V tomto případě je výsledný toxický účinek sumací (adicí) toxických účinků mykotoxinů. Toxický účinek mykotoxinů se ale může potencovat, tzn., že jeden mykotoxin bude zvyšovat citlivost biologického objektu k druhému. Vlivem této potenciace bude výsledný toxický účinek mnohonásobně větší než součet jednotlivých toxických účinků.

V dnešní době se obecně běžně vyskytují celkem tři typy synergismu. Jedná se o synergismus jednostranný, kdy jedna z látek zesiluje účinek látky druhé, ale nikoli naopak. Druhým typem je synergismus oboustranný, v tomto případě každá z obou či více látek je schopná zesílit účinek látky druhé či dalších. Poslední a v pořadí tedy třetím typem synergismu je synergismus chemický, kdy je látka chráněna před inaktivací, nejčastěji inhibicí rozkládajících enzymů. Nemusí se jednat pouze o synergické působení mykotoxinů, ale i o synergické spolupůsobení mykotoxinů a léků, či různých chemických látek.

O synergických vztazích lze hovořit například u ochratoxinu A, který je produkován některými druhy z r. *Aspergillus* a r. *Penicillium* a citrininu, jehož hlavním producentem je r. *Aspergillus*, r. *Penicillium* či r. *Monascus*. Oba mykotoxiny vynikají svojí vysokou nefrotoxicitou, tedy schopností poškozovat svými toxickými účinky ledviny jak lidského tak i zvířecího organismu. Ochratoxin A je také charakterizován jako možný karcinogenem, což nebylo u citrininu dosud zjištěno. Tento synergický vztah je velmi důležitý při vzniku tzv. Balkánské endemické nefropatie, u níž jsou citrinin a ochratoxin A či ochratoxiny označovány jako možná hlavní příčina vzniku tohoto onemocnění. Současný výskyt těchto mykotoxinů výrazně zvyšuje riziko karcinogenity ochratoxinu A.

V jedné studii bylo také zjištěno, že kombinace OTA a citrininu mají synergické účinky na zhoršení funkce ledvin u kuřat, myši, potkanů, morčat, psů a prasat . A také synergické cytotoxické účinky na prasečí a lidské linie ledvinných buněk (Malíř, Ostrý, Novotná, 2013).

Spotřeba kontaminovaných potravin OTA představuje hlavní zdroj expozice, kterou se tento mykotoxin dostává do lidského organismu. Menší význam má pak expozice inhalační nebo transdermální (kožní). OTA byl zjištěn především v potravinách rostlinného původu, ale výjimkou nebyly ani potraviny původu živočišného (syrové vepřové maso, vepřové ledviny aj.), u kterých se jedná o tzv. nepřímou kontaminaci, kdy jsou zvířata krmena již kontaminovanými krmivy.

Obecně lze říci, že ke kontaminacím potravinových surovin a potravin těmito mykotoxiny dochází přirozeně a nelze jim zamezit nebo je úplně odstranit před sklizní, po sklizni a při technologickém zpracování ani při dodržování správné zemědělské a technologické praxe a mykotoxiny jsou i v současnosti zdrojem nemocí zvířecích i lidských.

První část této bakalářské práce je věnována obecné charakteristice a dělení vláknitých mikromycetů, kde je možné získat užitečné informace o ekologii, morfologii, rozmnožování, mykotoxinech a r. *Aspergillus*. Další část je věnována faktorům (teplota, vlhkost, přítomnost kyslíku, chemické faktory, substrát), které ovlivňují produkci mykotoxinů. Třetí část práce je pak věnována expozici (vstupu) a vylučování cizorodých látek, tedy mykotoxinů. Čtvrtá část práce pojednává o negativním působení vláknitých mikromycetů. Části pět až osm jsou pak věnovány vybraným konkrétním mykotoxinům produkovaným r. *Aspergillus*, kde jsou rozpracovány chemické i fyzikální charakteristiky, nejčastější producenti, výskyt v potravinách, vliv na člověka, toxicita a nemoci vyvolané příslušnými mykotoxiny.

Závěr

Cílem bakalářské práce bylo aktualizovat a vytvořit literární přehled shrnující současné poznatky o dané problematice.

Bakalářská práce se zabývá konkrétním rodem plísní – *Aspergillus* a vybranými druhy mykotoxinů, které jsou velmi často tímto druhem produkovány. Největší význam mají aflatoxiny, které svými akutně toxickými, karcinogenními, mutagenními a teratogenními účinky působí negativně na lidské zdraví. V dnešní době je známo velké množství druhů těchto mykotoxinů, z nichž největší nebezpečí pro lidský organismus představuje aflatoxin B₁ vyskytující se především v produktech živočišného původu. Tento mykotoxin způsobuje závažné chronické i akutní aflatoxikózy, Reyův syndrom u dětí a onemocnění zvané Kwashiorkor vyskytující se především v rozvojových zemích. Tento mykotoxin je význačný svými vysoce karcinogenními účinky, které vyvolávají rakovinu jater a to mnohem častěji v rozvojových zemích.

Citrinin, což je mykotoxin produkováný jak r. *Aspergillus* tak r. *Penicillium*, je význačný svým již dříve zmíněným synergickým účinkem společně s OTA, u něhož zvyšuje riziko karcinogenity. Citrinin jako takový nepředstavuje pro lidstvo hrozbu vyvolávající rakovinu, jelikož jeho patogenita u lidských druhů nebyla zatím prokázána. Je to mykotoxin vyskytující se především na špatně skladovaném obilí, ale zároveň i na jiných potravinách rostlinného původu (např. ovocné šťávy, koření, byliny aj.). Prokázán byl jeho podíl na vzniku tzv. „nemoci žluté rýže“ v Japonsku. Původně byl používán pro své antibiotické účinky, od nichž se upustilo s objevení toxicity tohoto mykotoxinu.

Ochratoxiny jsou široce zastoupenou skupinou mykotoxinů produkováných především druhy r. *Aspergillus* v tropických a subtropických oblastech a r. *Penicillium* v oblastech s chladnějším podnebím. Největší hrozbu pro lidstvo představuje ochratoxin A, který je typický svými silnými nefrotoxickými a hepatotoxickými účinky, ale vykazuje i imunosupresivní, cytotoxické a karcinogenní účinky. Pravděpodobně se podílí na vzniku onemocnění zvaném balkánská endemická nefropatie, které je typické pro populace lidí žijící v oblasti řeky Dunaje. Tento fakt je ale do dnešní doby některými autory vyvrácen a upřednostňovanými činiteli tohoto onemocnění jsou především aristolochové kyseliny. Ochratoxin je především kontaminantem potravin rostlinného původu, ale i původu živočišného. Nejčastěji se OTA přivádí do organismu prostřednictvím kontaminovaných potravin a krmiv. Obzvláště negativně působí tento mykotoxin na ledviny, kdy zhoršuje jejich funkci a může vyvolat jejich úplné selhání. Za nebezpečné z hlediska nefrotoxických účinků se považují u člověka dlouhodobé koncentrace OTA v krevním séru - vyšší než 10 µg.l⁻¹.

Sterigmatocystin jakožto mykotoxin produkováný především r. *Aspergillus* a r. *Penicillium* je svým hepatotoxickým a hepatokarcinogenním účinkem příbuzný aflatoxinům, avšak pouze s jejich 10% účinností. Tento mykotoxin je možné nalézt jako kontaminant masa, ale také v krmivech, obilí nebo sýrech. Sterigmatocystin je oproti aflatoxinům méně akutně toxický, což je způsobeno malou rozpustností ve vodě a žaludečních šťávách. Jeho karcinogenita se rovná 1/10 karcinogenity aflatoxinu B₁.

Mykotoxiny i přes dnešní rozvinutý výzkum tvoří celosvětový problém, který je nutné neustále řešit. U člověka je riziko, které vytvářejí mykotoxiny nutno řídit, tj. minimalizovat dopady na lidské zdraví a to především dodržováním limitů v rámci EU a zároveň dodržovat také limity expoziční. Prevence plísní a mykotoxinů by měla být provedená již ve zdrojích (tj. u potravinových surovin), což je nejefektivnější způsob jak ochránit lidské zdraví, a způsob který představuje princip předběžné opatrnosti.

Použitá literatura a internetové zdroje

1. BÁRTA, F. *Nefropatie a nádorová onemocnění způsobená alkaloidy aristolochovými kyselinami*. Praha, 2010. Bakalářská práce na Přírodovědecké fakultě Univerzity Karlovy v Praze. Vedoucí bakalářské práce prof. RNDr. Marie Stiborová, DrSc. 55 s.
2. BARTOŠOVÁ, A. *Mykotoxiny a jejich vliv na lidský organismus*. Zlín, 2011. Bakalářská práce na fakultě technologické Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně. Vedoucí bakalářské práce Ing. Václav Forman. 54 s.
3. BETINA, V. *Mykotoxíny – chémie – biologie – ekologie*. 1. vyd. Bratislava: Alfa, 1990. 288 s. ISBN 80-05-00631-4.
4. BRÄSE, S., GLÄSER, F., KRAMER, C. S., LINDNER, S., LINSENMEIER, A. M., MASTERS, K. – S., MEISTER, A. C., RUFF, B. M., ZHONG, S. *The chemistry of mycotoxins*. Wien Heidelberg New York Dordrecht London: Springer, 2013. 303s. ISBN 978-3-7091-1311-0.
5. CAFASSO, J. *Kwashiorkor*. [online]. [cit. 2015-06-15]. Dostupné z: <http://www.healthline.com/health/kwashiorkor#Overview1>
6. EFSA. *Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in Food Chain on the risk for public and animal health related to the presence of citrinin in food and feed*. EFSA Journal. 2012, 10(3), 1-82. ISSN 1831-4732. Dostupné z doi: 10.2903/j.efsa.2012.2605
7. EFSA. *Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in Food Chain on the risk for public and animal health related to the presence of sterigmatocystin in food and feed*. EFSA Journal. 2013, 11(6), 1-81. ISSN 1831-4732. Dostupné z doi: 10.2903/j.efsa.2013.3254
8. GREIFENTHALOVÁ, I. *Endogenní cizorodé látky v potravinách*. Brno, 2008. Bakalářská práce na Chemické fakultě Vysokého učení technického v Brně. Vedoucí bakalářské práce Ing. Eva Vítová, Ph.D. 58 s.
9. GUEVARA – GONZÁLEZ, R. G. *Aflatoxins – biochemistry and molecular biology*. Croatia: InTech, 2011. 478 s. ISBN 978-953-307-395-8.
10. HERINK J., RYCHLÍK I., PELCLOVÁ D. *Toxické poškození ledvin houbami*. Praha: MAXDORF, 2007. 304 s. ISBN 978-80-7345-122-6.
11. HORÁK J., LINHART, I., KLUSOŇ, P. *Úvod do toxikologie a ekologie pro chemiky*. Praha: Vysoká škola chemicko – technologická v Praze, 2012. 187 s. ISBN 978-80-70-80-548-0.

12. HRDINA, V., HRDINA, R., JAHODÁŘ, L., MARTINEC, Z., MĚRKA, V. *Přírodní toxiny a jedy*. 1. vydání. Praha: Galén, 2004. 304 s. ISBN 80-7262-256-0.
13. JEŘÁBKOVÁ, L. *Toxinogenní plísně a mykotoxiny v životním prostředí člověka*. Pardubice, 2012. Bakalářská práce na fakultě chemicko – technologické Univerzity Pardubice. Vedoucí bakalářské práce Ing. Dana Hrubošová. 50 s.
14. KOUBKOVÁ, H. *Vláknité mikromycety a jejich vliv na zdraví člověka*. Brno, 2008. Bakalářská práce na Agronomické fakultě Mendelovy zemědělské a lesnické univerzity v Brně. Vedoucí bakalářské práce MVDr. Olga Cwíková. 46 s.
15. MALÍŘ, F. – ústní sdělení, 2015 (docent katedry biologie na Přírodovědecké fakultě Univerzity Hradec Králové, Rokitanského 62, Hradec Králové, dne 25. června 2015)
16. MALÍŘ, F., OSTRÝ, V. *Aflatoxiny – toxické účinky u člověka*. Kontakt. 2012, 16(1), 85-93. ISSN 1804-7122. Dostupné též z: <http://casopis-zsfju.zsf.jcu.cz/kontakt/administrace/clankyfile/20120516145724442435.pdf>
17. MALÍŘ, F., OSTRÝ, V. a kol. *Vláknité mikroskopické houby (plísně), mykotoxiny a zdraví člověka*. 1. vydání. Brno: Národní centrum ošetřovatelství a nelékařských zdravotnických oborů, 2003. 349 s. ISBN 80-7013-395-3.
18. MALÍŘ, F., OSTRÝ, V., NOVOTNÁ, E. *Toxicity of the Mycotoxin Ochratoxin A (OTA) in the light of recent data*. Toxin Reviews. 2013, 32 (2), 19-33. ISSN 1556-9543. Dostupné z doi: 10.3109/15569543.2013.782504
19. MICHÁLEK, P. *Termorezistentní mikroskopické houby v bylinách pro přípravu „čaje“*. Brno, 2011. Bakalářská práce na Lékařské fakultě Masarykovy univerzity v Brně. Vedoucí bakalářské práce Doc. MUDr. Jan Šimůnek, CSc. 54 s.
20. OSTRÝ, V. *Vláknité mikroskopické houby (plísně), mykotoxiny a zdraví člověka*. 1. vydání. Praha: Státní zdravotní ústav, 1998. 20 s. ISBN 80-7071-102-7.
21. OSTRÝ, V., RUPRICH, J., ÜBERHUBEROVÁ, M. *Metodický návod pro dekontaminaci a rozklad vybraných mykotoxinů v laboratořích*. Acta hygienica, epidemiologica et microbiologica. Praha: SZÚ, 1997, příl. 5. 87 s. ISSN 0862-5956.
22. PATOČKA, J., BAJGAR, J., CABAL, J., FUSEK, J., HERINK, J., KASSA, J., ŠTĚTINA, R. *Vojenská toxikologie*. 1. vydání. Praha: Grada Publishing, 2004. 180 s. ISBN 80-247-0608-3.
23. PIVOŇKOVÁ, E. *Otrava aflatoxinem, mykotoxinem – příznaky, projevy, symptomy*. [online]. [cit. 2015-06-15]. Dostupné z: <http://www.priznaky-projevy.cz/otravy/otrava-aflatoxinem-mykotoxinem-priznaky-projevy-symptomy>

24. POHANKA, M. *Aflatoxiny*. [online]. [cit. 2015-06-15]. Dostupné z: <http://www.toxicology.cz/modules.php?name=News&file=article&sid=177>
25. PRAŽÁKOVÁ, K. *Termorezistentní plísň v prostředí*. Brno, 2008. Bakalářská práce na Lékařské fakultě Masarykovy univerzity v Brně. Vedoucí bakalářské práce Doc. MUDr. Jan Šimůnek, CSc. 77 s.
26. RICHARD, J. L. et al. *Mycotoxins – risk in plant, animal and human systems*. Council for Agriculture Science and Technology. Ames (USA): Task Force Report, 2003, no. 139. ISBN 1-887383-22-0.
27. RUPRICH, J. *Mykotoxin ochratoxin A: hodnocení nebezpečnosti a zdravotního rizika*. Praha: Státní zdravotní ústav, 1997. ISSN 0862-5956.
28. SLONKOVÁ, L. *Možnosti ovlivnění obsahu mykotoxinů v potravním řetězci*. Brno, 2012. Bakalářská práce na Agronomické fakultě Mendelovy univerzity v Brně. Vedoucí bakalářské práce Doc. Ing. Jiří Skládanka, Ph.D. 47 s.
29. STARK, A. A. *Threat Assessment of mycotoxins as Weapons: Molecular Mechanism of Acute Toxicity*. Journal of Food Protection. 2005, 68(6), 1285 – 1293. ISSN 0362-028X.
30. STIBOROVÁ, M., PATOČKA, J., FREI, E. SCHMEISER, H. H. *Biochemické a toxikologické aspekty etiologie balkánské endemické nefropatie*. Chemické listy 99, 782 – 788. 2005
31. ŠILHÁNKOVÁ, L. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnologii*. 3. opravené a doplněné vydání. Praha: Academia, 2002. 363 s. ISBN 80-200-1024-6.
32. ŠIMŮNEK, J. *Plísň a mykotoxiny*. [online]. [cit. 2015-06-15]. Dostupné z: http://www.med.muni.cz/dokumenty/pdf/plisne_a_mykotoxiny.pdf
33. ŠKOPCOVÁ, L. *Sledování obsahu ochratoxinu A citrininu ve vzorcích rostlinného původu*. Brno, 2009. Diplomová práce na Agronomické fakultě Mendelovy zemědělské a lesnické univerzity v Brně. Vedoucí diplomové práce RNDr. Vlastimil Dohnal, Ph.D. 50 s.
34. ŠNAJDR, M. *Reyův syndrom – příznaky, projevy symptomy*. [online]. [cit. 2015-06-15]. Dostupné z: <http://www.priznaky-projevy.cz/pediatric/reyuv-syndrom-priznaky-projevy-symptomy>
35. VALDEZ, B. *Food industrial processes – methods and equipment*. Croatia: In Tech, 2012. 424 s. ISBN 978-953-307-905-9.
36. VLKOVÁ, E., RADA, V., KILLER, J. *Potravinářská mikrobiologie*. Praha: Česká zemědělská univerzita v Praze, 2009. 168 s. ISBN 978-80-213-1988-2.

37. VOTAVA, M. a kol. *Lékařská mikrobiologie speciální*. Brno: Neptun, 2003. 495 s. ISBN 80-902-896-6-5.
38. WEIDENBÖRNER, M. *Encyclopedia of food mycotoxins*. Verlag Berlin Heidelberg New York: Springer, 2001. 295 s. ISBN 978-3-642-08703-5.
39. WHITAKER, T. B., SLATE, A. B., DOKO, M. B., MAESTRONI, B. M., CANNAVAN, A. *Sampling to Detect Mycotoxins in Agricultural Commodities*. Verlag Berlin Heidelberg New York: Springer, 2011. 58 s. ISBN 978-90-481-9633-3.

Použité obrázky

Obr. 1: CHUMCHALOVÁ, J., NĚMEC, M., KOTOUČKOVÁ, L., PÁČOVÁ, Z., SAVICKÁ, D., KUBÁTOVÁ, A., PATÁKOVÁ, P. *Miniatlas mikroorganismů*. [online]. [cit. 2015-06-19]. Dostupné z: <http://old.vscht.cz/obsah/fakulty/fpbt/ostatni/miniatlas/images/plisne/perokresby/>

Obr. 2: HORÁK J., LINHART, I., KLUSOŇ, P. *Úvod do toxikologie a ekologie pro chemiky*. Praha: Vysoká škola chemicko – technologická v Praze, 2012. 187 s. ISBN 978-80-70-80-548-0.

Obr. 3: BRÄSE, S., GLÄSER, F., KRAMER, C. S., LINDNER, S., LINSENMEIER, A. M., MASTERS, K. – S., MEISTER, A. C., RUFF, B. M., ZHONG, S. *The chemistry of mycotoxins*. Wien Heidelberg New York Dordrecht London: Springer, 2013. 303 s. ISBN 978-3-7091-1311-0.

Obr. 4: KANESHIRO, N. K. *Kwashiorkor symptoms*. [online]. [cit. 2015-06-15]. Dostupné z: <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/imagepages/9563.htm>

Obr. 5: FÍNEK, F. *Léčba primární rakoviny jater*. [online]. [cit. 2015-06-16]. Dostupné z: <http://zdravi.e15.cz/clanek/priloha-pacientske-listy/lecba-primarni-rakoviny-jater-455479>

Obr. 6: ŠKOPCOVÁ, L. *Sledování obsahu ochratoxinu A citrininu ve vzorcích rostlinného původu*. Brno, 2009. Diplomová práce na Agronomické fakultě Mendelovy zemědělské a lesnické univerzity v Brně. Vedoucí diplomové práce RNDr. Vlastimil Dohnal, Ph.D. 50 s.

Obr. 7: ŠIMŮNEK, J. *Přehled nejdůležitějších mykotoxinů*. [online]. [cit. 2015-06-16]. Dostupné z: http://www.med.muni.cz/predmety/preventivni/MYKOTW/mtpr_idx.htm

Obr. 8: BÁRTA, F. *Nefropatie a nádorová onemocnění způsobená alkaloidy aristolochovými kyselinami*. Praha, 2010. Bakalářská práce na Přírodovědecké fakultě Univerzity Karlovy v Praze. Vedoucí bakalářské práce prof. RNDr. Marie Stiborová, DrSc. 55 s.

Obr. 9: EFSA. *Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in Food Chain on the risk for public and animal health related to the presence of sterigmatocystin in food and feed*. EFSA Journal. 2013, 11(6), 1-81. ISSN 1831-4732. Dostupné z doi: 10.2903/j.efsa.2013.3254