

Univerzita Hradec Králové

Přírodovědecká fakulta

Katedra biologie

PLÍSNĚ, MYKOTOXINY, MOŽNÍ PŮVODCI ONEMOCNĚNÍ LIDÍ A ZVÍŘAT

Bakalářská práce

Autor: Kateřina Musilová

Studijní program: P-BSB

Studijní obor: Systematická biologie a ekologie

Vedoucí práce: doc. RNDr. František Malý, Ph.D.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma: **Plísně, mykotoxiny, možní původci onemocnění lidí a zvířat** pod vedením vedoucího práce vypracovala samostatně pouze s použitím literatury uvedené v seznamu použité literatury a v seznamu internetových zdrojů, který je součástí této práce.

V Hradci Králové dne

Jméno a příjmení

Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala vedoucímu své bakalářské práce, panu doc. RNDr. Františku Malířovi, Ph.D., za cenné rady, ochotu a věcné připomínky a také vstřícnost při konzultacích, které mi pomohly při zpracování této práce.

Ráda bych poděkovala i své rodině za morální podporu a pomoc při tvorbě bakalářské práce i v dosavadním studiu.

Anotace

MUSILOVÁ, K. *Plísňe, mykotoxiny, možní původci onemocnění lidí a zvířat*. Hradec Králové, 2016. Bakalářská práce na Přírodovědecké fakultě Univerzity Hradec Králové. Vedoucí bakalářské práce František Malíř. 51 s.

Cílem a smyslem této práce je podat vybrané informace o některých plísňích, vláknitých mikroskopických houbách, a dále jejich sekundárních metabolitech - mykotoxinech. Podstatná část práce se soustřeďuje na vybrané mykotoxiny a jejich toxické účinky s následnými možnými projevy formou mykotoxikóz, otrav a onemocnění, která vykazují nepříznivé účinky na lidský a zvířecí organismus.

Pozornost je věnována některým vybraným plísňovým onemocněním a dále např. aflatoxinům, ochratoxinům a fusariovým mykotoxinům ze skupiny trichotecenů ve vztahu k možným následným onemocněním zvířat a lidí.

Klíčová slova

plísňe, plísňová onemocnění, mykotoxiny, aflatoxiny, ochratoxiny, trichoteceny, vybrané mykotoxikózy zvířat a lidí

Annotation

MUSILOVÁ, K. *Molds, mykotoxins, possible causative agents of diseases in humans and animals*. Hradec Králové, 2016. Bachelor Thesis at Faculty of Science University of Hradec Králové. Thesis Supervisor František Malíč. 51 s.

The aim and purpose of this thesis is to provide information about mold, filamentous microscopic fungi, as well as their secondary metabolites - mycotoxins. A considerable part of the thesis is focused on selected mycotoxins and their toxic effects causing possible subsequent symptoms demonstrated by mycotoxicoses, poisons and diseases, which are proved to have a negative effect on human and animal organism.

Attention is paid to selected mold diseases and such, for example aflatoxins, ochratoxins and fusarium mycotoxins from the group of trichothecenes in relation to possible subsequent diseases of animals and humans.

Keywords

mold, mold diseases, mycotoxins, aflatoxins, ochratoxins, trichothecenes, selected mycotoxicoses of animals and humans

Obsah

Úvod	1
1. Přehled významných mykotoxinů.....	3
1.1 Aflatoxiny.....	3
1.2 Ochratoxin A (OTA).....	11
1.3 Deoxynivalenol (DON).....	16
1.4 Zearalenon (ZEA).....	20
1.5 Fumonisin.....	24
2. Mykotoxiny, kontaminanty okolního prostředí a potravin.....	28
2.1 Expozice mykotoxiny	29
2.2 Kontaminace mykotoxiny, metody prevence	29
2.3 Interakce mykotoxinů.....	31
2.4 Toxické účinky mykotoxinů.....	31
2.5 Legislativa, regulační a expoziční limity	32
3. Vybraná onemocnění lidí a zvířat způsobená mykotoxiny	34
3.1 Aflatoxikózy	35
3.1.1 Primární karcinom jater.....	35
3.1.2 Bronchoalveolární karcinom plic	35
3.2 Ochratoxikózy	36
3.2.2 Balkánská endemická nefropatie (BEN).....	37
3.3 Trichotecenové toxikózy.....	37
3.3.1 Alimentární toxická aleukie (ATA).....	38
3.3.2 Glomerulonefritida.....	38
3.4 Zearalenové toxikózy	39
3.4.1 Hyperestrogenismus.....	39
3.4.2 Vulvovaginitida.....	40

3.4.3	Předčasná puberta.....	40
3.5	Fumonisinové toxikózy	40
3.5.1	Leukoencefalomalacie u koní (ELEM)	40
3.5.2	Plicní edém u prasat.....	41
3.5.3	Rakovina jícnu.....	41
	Závěr.....	42
	Literatura	44
	Elektronické knihy.....	49

Seznam zkratk

AFB1	aflatoxin B1
AFB2	aflatoxin B2
AFG1	aflatoxin G1
AFG2	aflatoxin G2
AIDS	syndrom získaného imunodeficitu (Acquired Immune Deficiency Syndrome)
ATA	alimentární toxická aleukie
BEN	balkánská endemická nefropatie
CAST	rada pro zemědělské technologie a vědu (Council for Agricultural Science and Technology)
CIN	chronická intersticiální nefropatie
DNA	deoxyribonukleová kyselina, nositelka genetické informace
DON	deoxynivalenol
GIT	gastrointestinální trakt – trávicí ústrojí
IARC	Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny (International Agency for Research on Cancer) je součástí WHO, se sídlem ve francouzském městě Lyon a zabývá se výzkumem příčin rakoviny
WHO	Světová zdravotnická organizace (World Health Organization)
ZEA	zearalenon

Terminologický slovník

adenokarcinom	zhoubný nádor
adice	sumace
afinita	schopnost chemických látek slučovat se s jinou látkou nebo částicí
agens	příčina onemocnění, původce
antagonismus	protichůdné působení
apoptóza	programovaná buněčná smrt
aspergilom	kulovitý patologický útvar vyplněný plísněmi rodu <i>Aspergillus</i>
ataxie	porucha hybnosti způsobená onemocněním nervového systému
atrofie	regresivní změna postihující normálně vyvinutý orgán nebo tkáň; dochází k úbytku živé tkáně
bioakumulace	růst koncentrace chemické látky v organismu
biomarker	ukazatel biologického stavu
biotransformace	přeměna chemické struktury látky působením živého organismu
citinin	mykotoxin produkovaný plísněmi rodu <i>Aspergillus</i> a <i>Penicillium</i>
deficience	nedostatek
destruent	organismus rozkládající organickou hmotu na jednodušší látky
dermatotoxická látka	látka, která vykazuje toxické účinky na kůži
DNA addukt	chemicky modifikovaná DNA
edém	otok; stav, při kterém se v tkáni nebo orgánu vyskytuje více tekutiny, než za normálních fyziologických okolností
etiologie	nauka o příčinách vzniku nemocí

embryotoxická látka	látka, která vykazuje toxické účinky na zárodek, embryo
endokrinní disruptor	též hormonálně aktivní látky; označení pro exogenní látky, které účinkují jako hormony v endokrinním systému a narušují fyziologické funkce endogenních hormonů
expozice	působení, vliv něčeho; přírodní cesta do organismu
extrakce	vyluhování; metoda získávání látek z různých, většinou přírodních materiálů
fibróza	zmnožení, zhuštění vaziva ve tkáni
<i>Fusarium</i> head blight	fusariosa klasů kukuřice, pšenice a ječmene (hniloba)
fytotoxická látka	látka, která vykazuje toxické účinky na rostliny
genotoxická látka	látka, která má toxické účinky vůči genomu; poškozují genetickou informaci
glomerulonefritida	zánět glomerulu ledvin
hematotoxická látka	látka, která vykazuje toxické účinky na krev a krvetvorné tkáně
hemoragie	krvácení, výstup krve z cév mimo krevní řečiště
hepatotoxická látka	látka, která vykazuje toxické účinky na játra
hydroxylace	enzymová reakce spočívající ve vnesení hydroxylové skupiny do sloučeniny
hyperestrogenismus	prodloužená říje a nadprodukce pohlavních hormonů
chromozomální aberace	strukturní změna chromozomů
imunotoxická látka	látka, která vykazuje toxické účinky na imunitní systém
inhibice	zpomalení některých procesů v organismu
iniciátor	původce, podněcovatel
integrita	neporušenost, celistvost
interakce	vzájemné působení dvou nebo více činitelů
invertovat	změnit, obrátit
karcinogenní látka	látka, která vyvolává zhoubné rakovinné bujení
latence	skrytost, utajenost
letalita	smrtnost
letargie	otupělost, lhostejnost, stav ospalosti
leukoencefalomalacie	měknutí a zkapalňování bílé hmoty v mozku
lymfocyt	typ bílé krvinky, imunitní buňka
malformace	vrozené vývojové vady
mikromycety	vícebuněčné eukaryontní mikroorganismy
moniliformin	mykotoxin produkovaný plísněmi rodu <i>Fusarium</i>
mutagenní látka	látka, která je schopná vyvolat genetickou mutaci
mykoalergie	hypersenzitivní reakce (reakce přecitlivělosti) imunitního systému na určité plísňové antigeny zvané alergeny
mykotoxikóza	onemocnění způsobené toxiny hub, zejména mikroskopickými vláknitými houbami (plísněmi)
mykotoxin	toxin produkovaný mikroskopickými vláknitými houbami (plísněmi)
mykóza	plísňové onemocnění, je vyvoláno mikroskopickými houbami
nauzea	nevolnost
nefropatie	onemocnění, postižení ledvin
nefrotoxická látka	látka, která vykazuje toxický účinek na tkáň ledvin

neurotoxická látka	látka, která vykazuje toxický účinek na nervový systém
potenciace	zesílení
proliferace	hojné množení, bujení
promotor	chemická látka, jež zvyšuje aktivitu katalyzátoru
pseudopuberta	předčasná puberta
pubarche	počátek vzniku ochlupení ve stydké oblasti, jeden ze znaků puberty
reziduum	zbytky obtížně rozložitelných, více či méně jedovatých a v přírodě cizích, látek
screening	vyšetřování za účelem vyhledávání chorob v jejich časných stádiích, kdy ještě nenastaly potíže a příznaky
sekundární metabolit	organická látka vznikající v těle organismu, která není přímo zahrnuta do procesu růstu, vývoje či rozmnožování daného organismu
sfgingolipidy	lipidy obsahující dlouhý řetězec s bazickou skupinou
sterigmatocystin	mykotoxin produkovaný některými druhy plísní rodu <i>Aspergillus</i> , přirozeně se vyskytuje v krustách sýrů
synergismus	působení stejným směrem, souhlasné působení
telarche	počátek vývoje ženského prsu v pubertě
teratogenní látka	látka způsobující vznik vrozených vývojových vad a defektů
toxikokinetika	věda sledující osud toxické látky v organismu
transdermální látka	látka působící přes kůži
vulvovaginitida	zánět vulvy a pochvy

Úvod

Vláknité mikromycety neboli plísně jsou vícebuněčné nebo jednobuněčné eukaryontní organismy. Jsou přítomny v ovzduší, půdě, vodě, na povrchu organismů, předmětů a zejména v surovinách a potravinách. Většinou se jedná o saprofytické organismy, které fungují především jako destruenti, kteří se významně podílejí na koloběhu látek a energie v přírodě. Může se však také jednat o parazity jiných organismů, to však jen v nepatrném množství. Spory mikromycetů slouží zejména k jejich rozmnožování, šíření a přežívání v nepříznivých podmínkách. Avšak u mnoha patogenních hub hrají spory významnou roli v patogenezi mykotických onemocnění, jako je např. mykóza, mykoalergie a mykotoxikózy (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003).

Mykotoxiny jsou sekundární metabolity vláknitých mikroskopických hub, které způsobují toxický efekt u zvířat a lidí. K nejvýznamnějším mikromycetům patří např. rody *Aspergillus*, *Penicillium* a *Fusarium* (CAST, 2003; Malíř *et al.*, 2013a). Název mykotoxiny byl poprvé použit Forgaczem a Carllem v roce 1955. V současnosti je známo více než 400 mykotoxinů, ale i nadále jsou objevovány a charakterizovány další nové mykotoxiny (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003). Mykotoxiny jsou velmi stabilní látky a jejich toxicita nebývá při běžném ošetření surovin a potravin podstatně snížena. Následkem toho se mohou mykotoxiny kumulovat v organismu a díky jejich toxickému účinku na zvířecí a lidský organismus může docházet ke zjevnému onemocnění (Malíř *et al.*, 2013a). Mezi rozhodující faktory pro celkový toxický účinek mykotoxinů na zvířecí a lidské zdraví patří toxicita daného mykotoxinu, velikost dávky a délka doby jejich působení. Roli také sehrává věk, pohlaví, individuální citlivost a zdravotní stav napadeného organismu, také stav výživy, vitamínová deficiencie nebo infekční onemocnění (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003; Malíř *et al.*, 2013a).

Hlavní skupiny mykotoxinů zahrnují aflatoxiny, trichoteceny, fumonisiny, zearalenon a ochratoxin A (CAST, 2003; Fratamico *et al.*, 2005). Aflatoxiny jsou primárně produkovány plísní rodu *Aspergillus*. Aflatoxiny mohou způsobovat různé onemocnění např. aflatoxikózu, duševní retardaci u dětí, chronickou gastritidu a další. Trichoteceny jsou velká třída mykotoxinů. Jsou produkovány

několika houbovými rody, z nichž nejvýznamnější je rod *Fusarium*, ale rod *Stachybotrys* je též významným producentem vybraných trichotecenů. Pravděpodobně nejčastěji se vyskytující trichotecen je deoxynivalenol. Fumonisin se primárně vyskytuje v kukuřici a jsou produkovány druhem *Fusarium verticillioides*, jako téměř univerzální patogen kukuřice. Tyto toxiny jsou schopny způsobit významná onemocnění u koní a prasat a nejspíše mají i karcinogenní účinky u myší a potkanů. Zearalenon je prvotně produkován plísní druhu *Fusarium graminearum* a způsobuje rakovinu děložního čípku. Také se může souběžně s deoxynivalenolem vyskytovat u obilí jako je pšenice, oves, ječmen a kukuřice. Ochratoxiny jsou primárně produkovány plísní druhu *Penicillium verrucosum* a způsobují významné onemocnění u zvířat, zvláště pak u prasat (CAST, 2003).

1. Přehled významných mykotoxinů

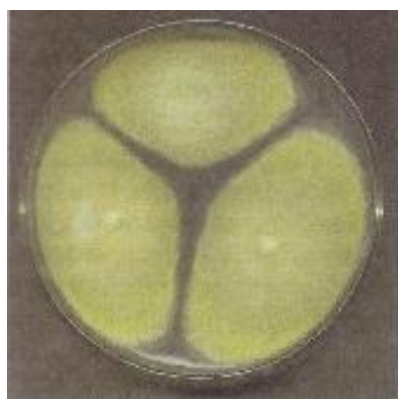
Mezi nejdůležitější mykotoxiny z hlediska komerčního dopadu a ohrožení lidského, ale také zvířecího zdraví patří aflatoxiny, ochratoxin A (OTA), deoxynivalenol (DON), zearalenon (ZEA) a fumonisiny (Reddy *et al.*, 2010).

1.1 Aflatoxiny

Nástup opravdového moderního vědeckého bádání v oblasti mykotoxinů započal s objevením aflatoxinů na počátku roku 1960 (CAST, 2003; Kensler *et al.*, 2010). Kolem roku 1960 v Anglii nedaleko Londýna vypukla epidemie označovaná jako „onemocnění X“ u krůt. Zvířata byla krmena krmivem s obsahem kontaminované arašídové moučky z Brazílie (Goldblatt, 1969; Malíř, Ostrý *et al.*, 2003; Hrdina *et al.*, 2004; Bräse *et al.*, 2013; Van Alfen, 2014). Následně bylo zjištěno, že kontaminace byla způsobena toxinem, který je produkován plísní druhu *Aspergillus flavus*. Toxiny tedy posléze dostaly název aflatoxiny - „*Aspergillus flavus* toxins“ (Goldblatt, 1969; Eaton & Groopman, 1994; Malíř, Ostrý *et al.*, 2003; Kensler *et al.*, 2010).

Aflatoxiny jsou toxické metabolity produkované plísněmi rodu *Aspergillus*. Zejména to jsou druhy *Aspergillus flavus* (obrázek č. 1, 2), *Aspergillus parasiticus* a *Aspergillus nomius* (Hrdina *et al.*, 2004; Flores – Flores *et al.*, 2015), *Aspergillus pseudotamarii*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus bombycis* a *Aspergillus australis* (IARC, 2002, 2012). Mezi dva hlavní producenty aflatoxinů řadíme druhy *Aspergillus flavus*, který produkuje pouze aflatoxin B, a *Aspergillus parasiticus*, který je producentem aflatoxinu B, ale také aflatoxinu G (IARC, 1993; Peraica *et al.*, 1999; IARC, 2002; Hrdina *et al.*, 2004; IARC, 2012; Malíř & Ostrý, 2012). Další dva druhy *Aspergillus nomius* a *Aspergillus bombycis* též produkují aflatoxiny B a G. Od sebe se liší díky odlišnostem v DNA a také díky rozdílnému rozsahu růstu při 37°C. V poslední době bylo též prokázáno, že druh *Aspergillus ochraceoroseus* je též producentem aflatoxinů. Mimo to je i producentem jiného mykotoxinu – sterigmatocystinu (IARC, 2002). Téměř výhradně na jižní polokouli Země se vyskytuje *Aspergillus australis*, který je kromě již zmíněných též producentem aflatoxinů B i G. Avšak převážná část aflatoxinů nalezených v potravinách po celém

světě je podle důkazů produkována výhradně druhy *Aspergillus flavus* a *Aspergillus parasiticus*. Je však pravděpodobné, že i když *Aspergillus parasiticus* má stejné geografické rozšíření jako *Aspergillus flavus*, je distribuován v menším rozsahu (IARC, 2002, 2012). Tyto mikromycety rostou zejména v oblastech s horkým a vlhkým podnebím (Flores – Flores *et al.*, 2015). Zejména z těchto důvodů jsou aflatoxiny velkým problémem v tropech, než v mírných pásmech světa. Avšak díky pohybu zemědělských výrobků po celém světě neexistuje snad žádný region světa, který by nebyl napadený aflatoxiny (IARC, 2002, 2012). Také z důvodů globálního oteplování následovaného extrémními změnami počasí dochází a v budoucnu nadále docházet bude k šíření toxinogenních mikromycetů do mírných pásem světa. Docházet též bude i ke změně jejich ekologie, hlavně pak při osídlení kulturních plodin. Řeč je zejména o mikromycetách druhu *Aspergillus flavus*, jakožto producent aflatoxinů B1 a B2, i o některých dalších druzích rodů *Aspergillus*, *Penicilium* a *Fusarium* (Ostrý *et al.*, 2016).



Obrázek č. 1 a č. 2: makrohabitus a mikrohabitus plísně *Aspergillus flavus* (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003).

Aflatoxiny jakožto všudypřítomné kontaminanty lidských potravin po celém světě mají různé nepříznivé toxikologické důsledky, proto mohou představovat zdravotní riziko pro lidské zdraví. Velmi významný byl brzký vývoj analytických metod, které jsou schopné detekovat a kvantifikovat aflatoxiny z extraktů potravin

(Kensler *et al.*, 2010). Expozice aflatoxinů se uskutečňuje obvykle požitím kontaminované potravy či krmivy, tedy orálně a je považována za hlavní přírodní cestu mykotoxinů do organismu, tzv. dietární expozice (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003; Flores – Flores *et al.*, 2015). Další možnost přívodu aflatoxinů do organismu člověka může probíhat inhalační cestou nebo dermálním kontaktem. Tato expozice se však týká pouze menších skupin obyvatelstva, např. byla prokázána u mlynářů, u pracovníků v mísírnách krmiv, popř. u pracovníků mykotoxikologických laboratoří (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003). Aflatoxiny se můžou nacházet v několika typech potravin, které jsou určeny jak pro lidskou, tak i živočišnou spotřebu (Flores – Flores *et al.*, 2015). Aflatoxiny kontaminují zemědělské suroviny, jako jsou arašídy, kukuřice, rýže, semena bavlny, ořechy, koření, ale také zelený čaj nebo mléko (Elshafie *et al.*, 2010). Po dietárním přívodu do organismu se aflatoxiny metabolizují a vylučují se močí, stolicí atd., proto byly detekovány v lidské moči, mateřském mléce a ve vzorcích krve. Mimo to mohou aflatoxiny u člověka procházet skrz placentární bariéru (IARC, 1993). Také byla prokázána přítomnost aflatoxinů v polétavém prachu z továren určených na výrobu krmiv (IARC, 2002).

Frekvence kontaminace potravin a úroveň kontaminace se liší. Vysoká hladina kontaminace aflatoxiny byla nejvíce zaznamenána u kukuřice a podzemnice olejné zejména pak v jihovýchodní Asii a Africe. Potravinami mohou být aflatoxiny kontaminovány jak během předsklizňové, tak i po posklizňové úpravě. K expozici může docházet i během manipulace a zpracování potravin kontaminovaných aflatoxiny a při běžných metodách vaření nejsou aflatoxiny z potravin degradovány (IARC, 1993). Kontaminace nelze předvídat a dochází k nim přirozeně, tudíž jim nelze zamezit nebo je úplně odstranit (Malíř, ústní sdělení, 2016). Avšak v rámci správné zemědělské praxe může být množství aflatoxinů v potravinách alespoň sníženo. A to díky vylepšeným postupům obhospodařování farem, jako je např. rychlejší sušení, řízené skladování (IARC, 2002), také ozařování, řízení vlhkosti nebo díky biotechnologiím (IARC, 2012).

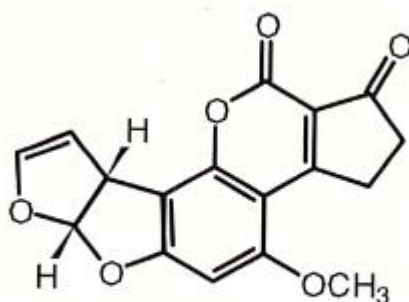
Aflatoxiny jsou akutně toxické, imunosupresivní, mutagenní, teratogenní a karcinogenní látky. Hlavním cílovým orgánem toxicity a karcinogenity jsou zejména játra (Peraica *et al.*, 1999). Aflatoxiny byly také zaznamenány v lidských

tkáních a to jak ve volné formě, tak i ve formě vázané na DNA. Aflatoxiny byly též nahlášeny v případě adenokarcinomu tlustého střeva a ve dvou případech i u rakoviny plic. U potkanů pak byly hlášeny léze na ledvinách a žaludečních žlázách (IARC, 1993). K dispozici jsou i údaje, které naznačují, že děti jsou zranitelnější k akutní hepatotoxicitě, vyvolané požitím aflatoxinů, než dospělí (IARC, 2002). Toxický vliv aflatoxinů závisí zejména na jejich toxicitě, velikosti a délce expozice, věku a stavu výživy, individuálním zdravotním stavu jak už u člověka, tak u zvířete a také na možném synergistickém spolupůsobení dalších chemických látek (Malíř & Ostrý, 2012).

Mezi 4 nejdůležitější přirozeně se vyskytující typy patří aflatoxin B1, aflatoxin B2, aflatoxin G1 a aflatoxin G2 (Barceloux, 2008; Kensler *et al.*, 2010; Malíř & Ostrý, 2012; Bräse *et al.*, 2013; Van Alfen 2014). Aflatoxiny jsou bezbarvé až světle žluté krystaly. Aflatoxiny B1 a B2 vykazují modrou fluorescenci pod ultrafialovým světlem, zatímco aflatoxiny G1 a G2 fluorescenci žluto – zelenou a aflatoxin M1 vykazuje fluorescenci modrofialovou (IARC, 1993, 2002; Malíř, Ostrý *et al.*, 2003; IARC, 2012). Jsou také velmi málo rozpustné ve vodě a nerozpustné v nepolárních rozpouštědlech, avšak v organických rozpouštědlech, které jsou mírně polární, jsou rozpustné dobře. Při reakci s amoniakem nebo chlornanem sodným jsou aflatoxiny degradovány (IARC, 1993, 2002, 2012). Relativní poměry aflatoxinů B1, G1, B2 a G2 v produkci plodin závisí především na přítomnosti jednotlivých druhů rodu *Aspergillus*. Aflatoxin B2 a aflatoxin G2 jsou přítomny v mnohem nižším množství než aflatoxiny B1 a G1 (IARC, 1993). Toxicita aflatoxinů, jak akutní, tak chronická klesá v daném pořadí: AFB1 > AFG1 > AFB2 > AFG2 (IARC, 1993; Malíř, Ostrý *et al.*, 2003). Pro toto pořadí toxicity a mutagenity následně platí, že AFG1 je 2x méně toxický než AFB1, AFB2 je asi 5x méně toxický než AFB1 a AFG2 je dokonce 10x méně toxický než AFB1 (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003).

Chemické struktury 4 nejdůležitějších aflatoxinů dle Chemical Abstracts jsou následující (IARC, 1993):

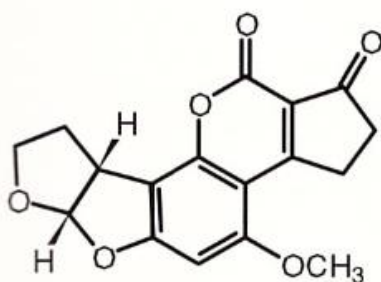
Chemická struktura aflatoxinu B₁: (2,3,6a,9a) Tetrahydro - 4 - methoxycyklopenta [c] furo [3',2':4,5] furo [2,3-h] [l] benzopyran - 1,1l - dione.



Aflatoxin B₁

Obrázek č. 3: chemický vzorec aflatoxinu B₁ (Weidenbörner, 2001).

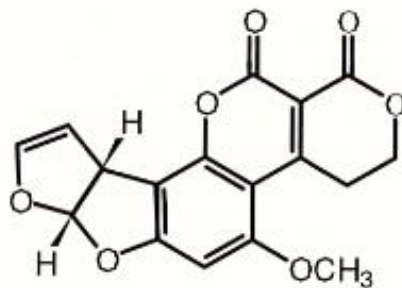
Chemická struktura aflatoxinu B₂: (2,3,6a,8,9a) Hexahydro - 4 - methoxycyklopenta [c] furo [3',2':4,5] furo [2,3-h] [l] benzopyran - 1,1l - dione.



Aflatoxin B₂

Obrázek č. 4: chemický vzorec aflatoxinu B₂ (Weidenbörner, 2001).

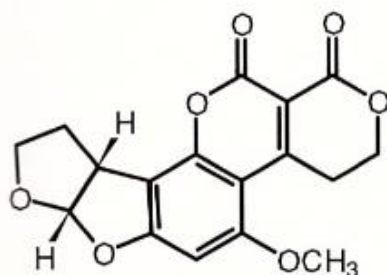
Chemická struktura aflatoxinu G₁: (3,4,7a,10a) Tetrahydro – 5 – methoxy – 1H,12H – furo [3',2':4,5] furo [2,3-h] pyrano [3,4-c] [l] benzopyran – 1,12 – dione.



Aflatoxin G₁

Obrázek č. 5: chemický vzorec aflatoxinu G₁ (Weidenbörner, 2001).

Chemická struktura aflatoxinu G₂: (3,4,7a,9,10,10a) Hexahydro – 5 – methoxy – 1H,12H – furo [3',2':4,5] furo [2,3-h] pyrano [3,4-c] [l] benzopyran – 1,12 – dione.



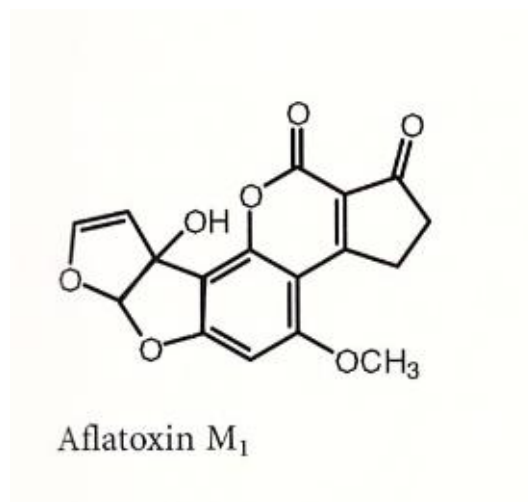
Aflatoxin G₂

Obrázek č. 6: chemický vzorec aflatoxinu G₂ (Weidenbörner, 2001).

Aflatoxin B₁ je nejvýznamnější ze všech aflatoxinů (Barceloux, 2008; Malíř & Ostrý, 2012) a je také nejčastěji přítomným typem z aflatoxinů, který se vyskytuje v kontaminovaných vzorcích (IARC, 1993). Je to nejběžnější a nejvíce prozkoumaný aflatoxin, který je též nejvíce toxický, karcinogenní a mutagenní mezi všemi aflatoxiny, které jsou dosud známé (Bräse *et al.*, 2013). Bylo zjištěno, že

aflatoxin B1 ovlivňuje humorální a látkovou imunitu, avšak přímé a komplexní účinky aflatoxinu na lymfocyty byly popsány u myší (IARC, 1993). Aflatoxin B1 způsobuje neplánovanou syntézu DNA, chromozomální aberace, výměnu sesterských chromatid a buněčnou transformaci v různých buněčných systémech (IARC, 1993, 2002, 2012). Existuje interakce mezi aflatoxinem B1 a virem hepatitidy B. Při infekci virem hepatitidy B se může zvýšit metabolismus aflatoxinu a následkem toho se může rozvinout karcinom jater (IARC, 2002, 2012). Zajímavé však je, že primární hepatocelulární karcinom byl nalezen pouze po dietární expozici, zatímco po inhalační expozici byly nalezeny jiné typy nádorů a také např. bronchoalveolární karcinom plic. To, že hepatitida typu B zesiluje karcinom, bylo epidemiologicky prokázáno v Africe a Asii. Dnes se také v afrických zemích, díky konzumaci potravin obsahující aflatoxiny, zkoumá možný synergismus ve smyslu adice a případně dokonce potenciace negativních účinků na zdraví zvířat a především lidí – a to s dalšími mykotoxiny za vzniku těchto nádorů, dále pak také možnou interakci aflatoxinů s onemocněním AIDS (Malíř, ústní sdělení, 2016).

Hydroxylací aflatoxinu B1 vzniká aflatoxin M1 (IARC, 1993, 2002, 2012), který je i méně toxický a karcinogenní než aflatoxin B1. Chemická struktura aflatoxinu M1 je dle Chemical Abstracts následující: (2,3,6a,9a) Tetrahydro – 9a – hydroxy – 4 – methoxycyklopenta [c] furo [3',2':4,5] furo [2,3-h] [l] benzopyran - 1,11 – dione (IARC, 1993). Aflatoxin M1 (obrázek č. 7) se pak nejčastěji nachází v mléce, ať už v syrovém, tak i tepelně zpracovaném a také v mléčné kojenecké výživě. Vyskytuje se však pouze v mléce živočichů, kteří zkonsumovali aflatoxin B1 s krmivem. Právě přítomnost aflatoxinu B1 v mléce je podle několika studií spojována s Reyeovým syndromem (Hrdina *et al.*, 2004). Koncentrace aflatoxinu M1 v lidské moči a lidském mateřském mléce koreluje s přívodem aflatoxinů v potravě (IARC, 2012). Je nutné zmínit, že díky globálnímu oteplování se vlivem vysoké teploty a sucha během posledních pár let zvýšila produkce aflatoxinu B1 v kukuřici zejména v jižních státech Evropy. To mělo za následek i zvýšený výskyt aflatoxinu M1 v kravském mléce. Do budoucna tedy lze předpokládat, že bude docházet ke zvýšené produkci aflatoxinu B1 v kukuřici, ale i ostatních kulturních plodinách (Ostrý *et al.*, 2016).



Obrázek č. 7: chemický vzorec aflatoxinu M₁ (Weidenbörner, 2001).

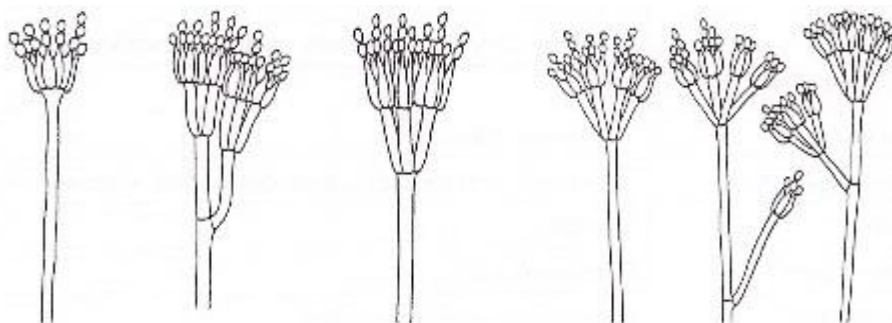
Snahy o snížení expozice lidí a zvířat aflatoxiny, tzv. řízení rizika, jehož účelem je minimalizace zdravotních dopadů na lidské zdraví, vyústily ve zřízení regulačních limitů a monitorovacího programu po celém světě (IARC, 2002). Podle Mezinárodní agentury pro výzkum rakoviny jsou nově od roku 2012 všechny aflatoxiny, tedy včetně aflatoxinu M₁, přeřazeny do skupiny A – prokázaný karcinogen pro člověka (IARC, 2012). U pokusných zvířat existuje dostatek důkazů o karcinogenitě, kterou způsobují zejména aflatoxin B₁, G₁ a M₁. U aflatoxinu B₂ u pokusných zvířat existují jen omezené důkazy o jeho karcinogenitě a pro aflatoxin G₂ neexistují dostatečné důkazy o jeho karcinogenitě (IARC, 1993, 2002, 2012).

1.2 Ochratoxin A (OTA)

Rok 1965 se stal významným mezníkem v objevu ochratoxinu A, kdy byl objeven jako metabolit plísně *Aspergillus ochraceus* během laboratorního screeningu toxinogenních mikromycetů (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003; Reddy *et al.*, 2010). Stejného roku byl ochratoxin A poprvé popsán v časopise Nature (Heussner & Bingle, 2015).

Ochratoxiny jako takové jsou skupina strukturálně podobných sekundárních metabolitů produkovaných především plísněmi druhu *Aspergillus ochraceus* a *Penicillium verrucosum* (CAST, 2003; Raiola *et al.*, 2015). Plíseň druhu *Aspergillus ochraceus* se nachází v tropickém až subtropickém podnebí, zatímco plíseň druhu *Penicillium verrucosum* se nachází v mírném podnebí (Fratamico *et al.*, 2005). Za hlavní toxikologicky významný mykotoxin v této skupině je považován ochratoxin A (CAST, 2003; Van Alfen, 2014; Raiola *et al.*, 2015). Mezi tři hlavní producenty ochratoxinu A patří druhy *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus carbonarius* a *Penicillium verrucosum*, které se však liší jak ekologicky, tak fyziologicky, z toho důvodu je snadné určit, který druh je zodpovědný za syntézu OTA v dané potravine nebo v určité geografické lokalitě. Často bývá druh *Aspergillus ochraceus* udáván jako hlavní producent OTA, avšak produkce OTA tímto a jemu příbuzných druhů nebyly tak časté, proto se zdá, že jejich důležitost bývá nadhodnocena. Podle Ostrý *et al.*, (2013) je nejvýznamnějším producentem OTA zejména *Aspergillus carbonarius*, který dokonce roste při vyšších teplotách než druh *Aspergillus ochraceus*. Hlavním zdrojem OTA v severní Evropě a dalších oblastech mírného pásma je pak *Penicillium verrucosum*. Silný producent OTA je též druh *Penicillium nordicum*, u kterého bylo prokázáno, že roste na výrobcích z vepřového masa při jejich zrání. OTA byl též nalezen i v masných výrobcích pocházejících od zvířat, která byla krmena kontaminovanými krmivy (Ostrý *et al.*, 2013). Mimo jiné existuje také ochratoxin B, který je mnohem méně toxický, dokonce až 10 krát méně než OTA (Van Alfen, 2014; Flores – Flores *et al.*, 2015). Úroveň kontaminace potravin a krmiv ochratoxinem B bývá obecně nízká. Avšak lze předpokládat, že úroveň kontaminace může být někdy téměř stejně vysoká jako kontaminace ochratoxinem A. Ačkoliv však není k dispozici dostatek údajů o kontaminaci potravin a krmiv ochratoxinem B, bylo zjištěno, že se často vyskytuje společně s OTA (Heussner & Bingle, 2015). Kromě již dvou zmíněných, existuje dále

ochratoxin C, ochratoxin D, 10 – hydroxyochratoxin a ochratoxin α (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003).



Obrázek č. 8: plíseň rodu *Penicillium*, různé variace stavby a uspořádání konidioforů (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003).

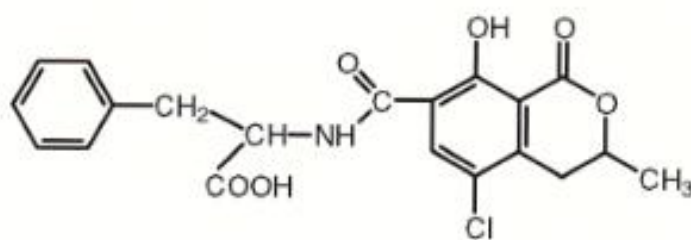
Ochratoxin A je stabilní sloučenina, kterou není možné zničit běžnými postupy při přípravě potravin. Aby se snížila koncentrace toxinu je vyžadována teplota nad 250°C po dobu několika minut (Flores – Flores *et al.*, 2015). Lidé jsou vystaveni OTA několika cestami – nejdůležitější z nich je dietární expozice, tedy příjem OTA s potravou. Méně důležité pro populaci jsou pak kožní kontakt a inhalační expozice (Malíř *et al.*, 2012). Obecně platí, že průměrné hladiny kontaminace OTA v evropských potravinářských výrobcích jsou relativně nízké, avšak určitá míra kontaminace se zdá být nevyhnutelná. Navíc v některých zemích, kde jsou stále v provozu zastaralé skladovací a přepravní podmínky, může dojít k mnohem vyšší úrovni kontaminace (Heussner & Bingle, 2015).

Vzhledem k tomu, že má OTA vysokou afinitu k proteinům, dochází k jeho bioakumulaci v orgánech zvířat (Heussner & Bingle, 2015). Ochratoxin A byl nalezen v krmivech pro zvířata a také v široké škále lidských potravin, zejména pak v sýrech a mastných výrobcích pocházející od intoxikovaných zvířat, která byla vyživována krmivem kontaminovaným OTA (Coppock & Jacobsen, 2009; Raiola *et al.*, 2015). Výskyt ochratoxinu A v krmivech a následně i ve vepřovém mase a ledvinách by mohl být přisuzován vlivům změn klimatu, zejména pak vysoké teplotě a suchu, avšak průkaznost dosud nebyla potvrzena (Ostrý *et al.*, 2016). Ochratoxin A se dále přirozeně vyskytuje v obilovinách, jako je např. kukuřice, pšenice, žito, ječmen, rýže, ale také v kávě (Peraica *et al.*, 1999; CAST, 2003; Reddy *et al.*, 2010). Víno, káva a pivo, ale také hroznová šťáva jsou zdroje, které se

významně podílejí na expozici ochratoxinu A u lidí (Leslie *et al.*, 2008). Kromě již zmíněné kávy se však OTA vyskytuje také v čaji, ať už černém, tak ovocném či bylinkovém. Jsou – li bylinkové čaje nesprávně uloženy, představují ideální substrát pro růst plísní, které mohou představovat nezanedbatelnou část denního příjmu OTA (Malíř *et al.*, 2014b). Jako další zdroje expozice OTA se uvádí kakao a čokoládové výrobky, také káva bez kofeinu, dále koření a ořechy (Ostrý *et al.*, 2015). V nedávné době byli identifikováni další noví původci OTA expozice, mezi které patří např. rozinky, lékořice, kurkuma a sušené červené papriky (Malíř *et al.*, 2012). Je potvrzen i výskyt ochratoxinu A v lidském mateřském mléce, jakož i v ostatních živočišných tkáních, i ve vzorcích lidské krve (Reddy *et al.*, 2010; Malíř *et al.*, 2013c) a to na celosvětové úrovni. Proto je za jeden z hlavních ukazatelů lidské expozice OTA považována hladina OTA v krvi. Ačkoliv je hladina OTA v mléce mnohem nižší, než hladina OTA v krvi, kontaminace lidského mateřského mléka představuje potenciálně značné zdravotní riziko (Malíř *et al.*, 2012; Malíře *et al.*, 2014a). Nízké koncentrace OTA v mléce mohou být důležité pro spotřebitele velkých množství tohoto výrobku, zejména pro děti. Bylo zjištěno, že malé děti, které konzumují velké množství mléka, mohou mít celkový denní příjem OTA větší, než je tolerovatelný denní příjem (Flores – Flores *et al.*, 2015). Někteří autoři se domnívají, že je množství OTA v moči lepší ukazatel expozice ochratoxinu A než hladina OTA v krvi, i když je hladina OTA v moči ve srovnání s hladinou v krvi velmi nízká, alespoň pokud se jedná o dietární expozici (Malíř *et al.*, 2012; Malíř *et al.*, 2014a). Chronická expozice OTA je častější než expozice akutní a to zejména ve vyspělých zemích. Chronická expozice nízkými dávkami OTA může být mnohem škodlivější, než akutní expozice vysokých dávek (Malíř *et al.*, 2013b). Nejvyšší hodnoty a četnosti výskytu ochratoxinu A se pak nacházejí v některých částech Evropy (IARC, 1993).

Ochratoxin A (obrázek č. 9) je bílá krystalická látka bez zápachu, je rozpustná v organických rozpouštědlech, jako je např. chloroform, etanol a metanol (IARC, 1993; Malíř, Ostrý *et al.*, 2003). Pod ultrafialovým světlem intenzivně fluoreskuje. Vyzařována je zejména zelená a modrá fluorescence (IARC, 1993). Chemická struktura ochratoxinu A dle Chemical Abstracts je následující: L – Phenylalanine, N – [(5 – chloro – 3,4 – dihydro – 8 – hydroxy – 3 – methyl – 1 – oxo – 1H – 2 – benzopyran – 7 – yl) – carbonyl] (IARC, 1993; Weidenbörner, 2001). Bylo

prokázáno, že ochratoxin A je nefrotoxická, hepatotoxická, imunotoxická, karcinogenní, teratogenní (Peraica *et al.*, 1999), embryotoxická, genotoxická, neurotoxická látka (Ostrý *et al.*, 2013), též patří mezi látky, které jsou toxické pro reprodukci (Malíř *et al.*, 2014a). Hlavním cílovým orgánem toxicity jsou ledviny (Reddy *et al.*, 2010), dalším cílovým orgánem jsou poté játra a také dochází k napadení imunitního systému (Coppock & Jacobsen, 2009). Podle Hrdiny *et al.* (2004) je primárním cílovým orgánem toxicity vyvíjející se centrální nervový systém. Expozice OTA může vést i k tvorbě DNA adduktů, které podporují jeho genotoxicitu a karcinogenitu (Malíř *et al.*, 2012; Ostrý *et al.*, 2013). Studie ukazují, že OTA působí jako kompletní karcinogen, tedy jak iniciátor, tak i promotor (Malíř *et al.*, 2013c; Ostrý *et al.*, 2013). Chronická expozice OTA má dále vliv na metabolismus vápníku, sacharidů a lipidů (Malíř *et al.*, 2012). Toxikokinetické parametry ochratoxinu A se značně liší a to zejména v závislosti na dávce a také na živočišném druhu (IARC, 1993). Toxický účinek OTA může být posílen některými léčivy nebo synergickým působením s dalšími mykotoxiny a jinými znečišťujícími látkami (Malíř *et al.*, 2012). Jelikož jeden druh plísně může vytvářet více různých mykotoxinů a stejný mykotoxin může být produkován několika druhy plísní je pravděpodobné, že lidé i zvířata jsou vystavováni spíše směsi mykotoxinů, např. OTA se často vyskytuje spolu s fumonisiny a aflatoxiny (Heussner & Bingle, 2015). Také bylo prokázáno, že OTA vykazuje aditivní a synergické účinky s citrininem, který zvyšuje jeho karcinogenní účinky (Ostrý *et al.*, 2013).



Ochratoxin A

Obrázek č. 9: chemický vzorec ochratoxinu A (Weidenbörner, 2001).

OTA způsobuje řadu nepříznivých účinků u většiny domácích zvířat, hlavně pak u prasat (Van Alfen, 2014) a také psů (IARC, 1993) a to dokonce více než u potkanů a

myší pokud se jedná o akutní toxicitu (Malíř *et al.*, 2013b). U myší, potkanů a křečků způsobuje OTA embryofetální letalitu a vyvolává hrubé strukturální malformace. Nadměrná expozice ochratoxinu A hraje roli ve vývoji Balkánské endemické nefropatie, nicméně není vyloučeno, že zde hrají určitou roli i jiné nefrotoxické látky (IARC, 1993). Balkánská endemická nefropatie je spojena s nádory močových cest a onemocněním ledvin u lidí. Tento fakt potvrzuje hypotézu, že OTA patří mezi nefrotoxické a karcinogenní mykotoxiny (Malíř *et al.*, 2012). Jelikož OTA prochází i placentární bariérou a to zejména v raných fázích těhotenství, zejména pak v období organogeneze (přibližně prvních 12 týdnů těhotenství), může OTA expozice matky představovat riziko pro vyvíjející se plod. OTA může být potenciální příčinou vrozených vývojových vad plodu, také existuje riziko samovolného potratu (Malíř *et al.*, 2013c). Odhaduje se, že přibližně 99% OTA se váže na plazmatické bílkoviny placenty a pouze malé množství prochází volně přes placentu. OTA má také vliv na reprodukční systém mužů. Mužská plodnost může být ovlivňována poškozením produkce spermií nebo poškozením varlat. Dietární expozice OTA může mít vliv na karcinogenezi ve varlatech, avšak je zapotřebí více studií, které by potvrdily OTA jako původce rakoviny varlat (Malíř *et al.*, 2014a).

Je důležité zmínit, že hlavní vláknité mikroskopické houby, které produkují ochratoxin A v potravinách nejsou spojeny s rostlinami a tudíž obvykle nejsou přítomny v potravinářských plodinách před sklizní. Kontrola ochratoxinu A v potravinách je tedy v zásadě problémem potravinářské technologie (WHO, 2008). U člověka dosud neexistují dostatečné důkazy o karcinogenitě ochratoxinu A, ale u pokusných zvířat existuje dostatek důkazů o karcinogenitě ochratoxinu A (IARC, 1993). Proto podle Mezinárodní agentury pro výzkum rakoviny je ochratoxin A klasifikován jako možný karcinogen pro člověka – skupina 2B (Peraica *et al.*, 1999; Dijksterhuis & Samson, 2007; Reddy *et al.*, 2010; Malíř *et al.*, 2014a; Raiola *et al.*, 2015; Flores – Flores *et al.*, 2015).

1.3 Deoxynivalenol (DON)

Deoxynivalenol byl objeven roku 1973. Nezávisle na sobě ho objevili Yoshizawa a Mooroka. V USA byl DON roku 1973 izolován z kukuřice, která byla napadena mikromycetami rodu *Fusarium graminearum*. Tato kukuřice byla podána prasatům jako krmivo, avšak způsobila zvracení neboli vomitus. Na základě této skutečnosti byl odvozen triviální název tohoto mykotoxinu - vomitoxin (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003).

Deoxynivalenol, též známý jako vomitoxin (Peraica *et al.*, 1999; Coppock & Jacobsen, 2009; Reddy *et al.*, 2010) patří do skupiny trichotecenů. Trichotecenové mykotoxiny jsou velká skupina toxinů, která je produkována především mikromycetami rodů *Fusarium*, *Myrothecium* a *Stachybotrys* (Peraica *et al.*, 1999). Tyto mikromycety během svého růstu v potravinách produkují asi 200 sekundárních metabolitů trichotecenů (Raiola *et al.*, 2015). Díky vysoké toxicitě trichotecenů a jejich četnému rozšíření se řadí mezi zdravotně nejzávažnější mykotoxiny. Všeobecně vykazují trichoteceny genotoxický, hematotoxický, imunotoxický, nefrotoxický, neurotoxický, dermatotoxický a kardiotoxický účinek a také i toxicitu gastrointestinálního traktu (Malíř *et al.*, 2013a). Trichoteceny byly zjištěny i ve vzorcích vzduchu odebraného během procesu sušení a mletí na farmách, dále ve ventilačních systémech soukromých domů a kancelářských budov a na stěnách domů s vysokou vlhkostí vzduchu. Trichoteceny se tak zúčastňují vývoje tzv. „syndromu nemocných budov“. Příznaky otravy však vymizely, když se napadené budovy a ventilační systémy důkladně vyčistily (Peraica *et al.*, 1999).

Deoxynivalenol je mykotoxin produkováný několika plísněmi rodu *Fusarium* (obrázek č. 10), (CAST, 2003; Malíř, Ostrý *et al.*, 2003; Coppock & Jacobsen, 2009). Hlavní producent deoxynivalenolu je druh *Fusarium graminearum* a v některých geografických polohách druh *Fusarium culmorum* (Coppock & Jacobsen, 2009; Reddy *et al.*, 2010; Malíř *et al.*, 2013a; Raiola *et al.*, 2015). Rozšíření těchto druhů se zdá být podmíněné klimatem. *Fusarium graminearum* se vyskytuje nejčastěji v Severní Americe, jižní Číně a východní Evropě, zatímco druh *Fusarium culmorum* je běžný spíše v chladnějších oblastech, např. v západní Evropě (Wegulo, 2012).

DON také může koexistovat s dalším mykotoxinem – zearalenonem, který je produkován stejnými druhy plísní (Reddy *et al.*, 2010).

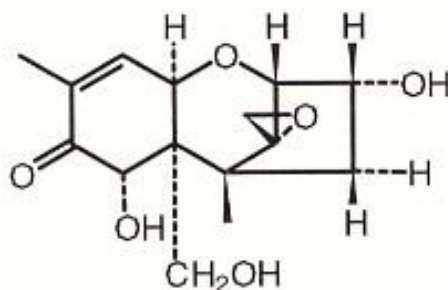


Obrázek č. 10: mikrohabitus plísně rodu *Fusarium* (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003).

Deoxynivalenol je s největší pravděpodobností nejběžnější a nejznámější mykotoxin, který kontaminuje potraviny a krmiva. Vyskytuje se všude tam, kde jsou pěstovány obiloviny, zejména je hodně vázán na obilky (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003), které jsou nedílnou složkou drůbežích krmiv (Awad *et al.*, 2013). Deoxynivalenol se vyskytuje převážně u obilovin, jako je např. kukuřice, pšenice, ječmen, oves (CAST, 2003; Coppock & Jacobsen, 2009; Reddy *et al.*, 2010; Rai & Varma, 2010; Raiola *et al.*, 2015), méně často se pak nachází v rýži, žitu, triticales a čiroku (Raiola *et al.*, 2015). Kromě již zmíněných se dále deoxynivalenol může vyskytovat v dětské výživě, prosu, otrubách, chlebu, špagetách, müsli, nudlích, pivě, chili prášku, koriandru, zázvoru, v sojových bobech, česneku i bramborách (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003). Mokrý, deštivý a teplý počasí podporuje fusariové infekce obilovin. Nízké teploty po infekci pak mohou zvyšovat produkci deoxynivalenolu (Coppock & Jacobsen, 2009). Nevhodné podmínky při skladování obilovin, jako je zejména vysoká vlhkost, též podporují infekci obilovin. Tato infekce pak může mít za následek onemocnění známé jako *Fusarium* head blight hniloba klasů kukuřice, ječmene nebo pšenice (Awad *et al.*, 2013). Kontaminace deoxynivalenolem může být eliminována, ale pouze v případě dodržování zásad správné zemědělské praxe a při použití vhodných agrotechnických opatření a prostředků na ochranu rostlin (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003). Během mletí je DON soustředován do otrub. Při použití produktů na bázi mouky, která byla

kontaminována tímto mykotoxinem, nedochází běžnými kuchyňskými pracemi jako je např. vaření k výraznému snížení hladiny tohoto mykotoxinu. Výskyt deoxynivalenolu v potravinách v Severní Americe, Japonsku a Evropě je běžný, avšak jeho koncentrace jsou nízké, zatímco výskyt DON v obilovinách v některých rozvojových zemích, zejména pak v jižní Číně, části jižní Ameriky a Afriky, je relativně vysoký (IARC, 1993).

Deoxynivalenol (obrázek č. 11) je tvořen bílými krystalickými jehličkami. Je dobře rozpustný v chloroformu, metanolu a etanolu (IARC, 1993; Malíř, Ostrý *et al.*, 2003). Chemická struktura deoxynivalenolu je dle Chemical Abstracts následující: Trichothec - 9 - en - 8 - one, 12,13 - epoxy - 3,7,15 - trihydroxy - (3 α ,7 α). Deoxynivalenol je jeden z nejméně akutně toxických sloučenin trichotecenové třídy mykotoxinů (IARC, 1993), i přesto je to však nejčastěji detekovaný fusariový mykotoxin (Wegulo, 2012). Jeho chemická struktura je stabilní a odolává nízké úrovni pH, v důsledku toho může DON kontaminovat stravu lidí a krmiva zvířat (Awad *et al.*, 2013).



Deoxynivalenol

Obrázek č. 11: chemický vzorec deoxynivalenolu (Weidenbörner, 2001).

Hlavní toxický účinek deoxynivalenolu spočívá především v postižení GIT, dále to je nauzea, vomitus, průjem, závratě a také bolesti hlavy (Malíř *et al.*, 2013a). Bylo prokázáno, že v lidských buňkách střevního epitelu DON inhibuje absorpci určitých živin (Wegulo, 2012). Antonissen *et al.*, (2015) udává, že má DON negativní vliv na střevní morfologii a snižuje celkovou povrchovou plochu střeva pro vstřebávání živin a to redukováním výšky klků a hloubky krypt. Též uvádí, že DON mění integritu a propustnost střevního epitelu tím, že má vliv na funkci těsných spojů.

Toxický účinek deoxynivalenolu též spočívá v inhibici syntézy bílkovin, což má za následek indukci apoptózy buněk (Ali *et al.*, 2015). Jako další negativní vliv lze považovat fakt, že DON v nízkých dávkách způsobuje anorexii. Kromě toho při určitých dávkách DON v potravinách inhibuje aktivitu T-lymfocytů, a tím pádem podstatně snižuje imunitu (Malíř *et al.*, 2013a).

Nejčastěji postižená zvířata tímto mykotoxinem jsou prasata (Reddy *et al.*, 2010). Krmivo, které je kontaminované deoxynivalenolem je většinou pro prasata nestrávitelné a způsobuje odmítání a zvracení podaného krmiva (CAST, 2003; Coppock & Jacobsen, 2009). Za méně citlivá zvířata v porovnání s ostatními druhy, zejména pak prasaty, jsou považována kuřata (Awad *et al.*, 2013). Clark *et al.*, (2015) uvádí, že výzkumy naznačují fakt, že obecně samci jsou mnohem citlivější k nepříznivým účinkům při spotřebě DON než samice. To podporuje tvrzení, že odpověď na účinky tohoto mykotoxinu se odlišují podle pohlaví. Hodnoty citlivosti jsou připisovány rozdílům v absorpci, distribuci, metabolismu a vylučování DON (Awad *et al.*, 2013). Lidé při konzumaci potravin z obilovin kontaminovaných deoxynivalenolem vykazují podobný syndrom zvracení (Reddy *et al.*, 2010). Skrz krmiva je umožněn i přenos mykotoxinu na skot, avšak nálezy DON v mléce dosahují extrémně nízkých hodnot (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003). Stejně tak je přechod DON do masa a vajec zanedbatelný (IARC, 1993). Bylo však prokázáno, že při dietární expozici může DON procházet přes lidskou placentu během těhotenství. To přispívá k expozici plodu, jehož detoxikační mechanismy nejsou dosud dostatečně rozvinuté (Ali *et al.*, 2015). Deoxynivalenol má imunosupresivní účinky a u zvířat může způsobit problémy s ledvinami (Reddy *et al.*, 2010). Je pravděpodobné, že DON mění životaschopnost a proliferaci imunitních buněk a může tak zvyšovat náchylnost k infekčním chorobám (Awad *et al.*, 2013). Podle Mezinárodní agentury pro výzkum rakoviny je DON zařazován do kategorie 3 – není klasifikován jako karcinogen pro člověka (Raiola *et al.*, 2015).

1.4 Zearalenon (ZEA)

Roku 1964 pravděpodobně zearalenon izolovali Stob a kolektiv z kultury *Giberella zea* z mleté kukuřice (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003). Zearalenon jehož původní název zněl F – 2 toxin (Peraica *et al.*, 1999; Barceloux, 2008; Coppock & Jacobsen, 2009; Reddy *et al.*, 2010) izolovali také Christensen a kolektiv v roce 1965. Roku 1966 určili Urry a kolektiv chemickou strukturu zearalenonu (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003). Triviální název zearalenonu je kombinace „zea“ (od *Giberella zea*), „ral“ (od laktonů kyseliny resorcylové – resorcylic acid laktone), „en“ (díky přítomnosti dvojných vazeb ve vzorci) a „on“ (díky přítomnosti ketonu), (Reddy *et al.*, 2010; Dänicke & Winkler, 2015).

Zearalenon je produkován různými druhy rodu *Fusarium* (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003; Dänicke & Winkler, 2015). Hlavním producentem je druh *Fusarium graminearum* (Peraica *et al.*, 1999; Malíř, Ostrý *et al.*, 2003; CAST, 2003; Reddy *et al.*, 2010). Kromě již zmíněného druhu, mezi další producenty patří *Fusarium culmorum*, *Fusarium equiseti* (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003; Coppock & Jacobsen, 2009) a v neposlední řadě *Fusarium cerealis* (Van Alfen, 2014; Dänicke & Winkler, 2015; Flores – Flores *et al.*, 2015). Stejnými druhy plísní je kromě zearalenonu produkován i deoxynivalenol, tudíž se velmi často vyskytují společně (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003; Reddy *et al.*, 2010).

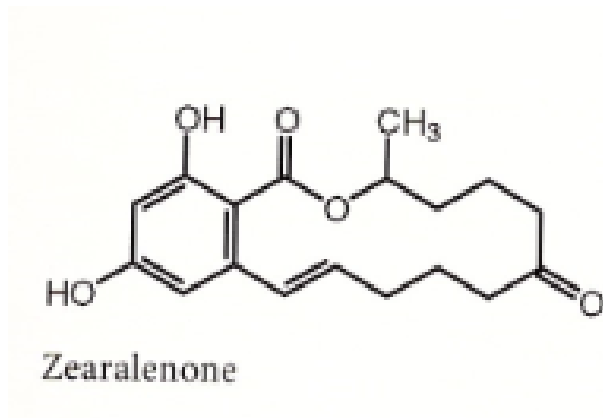
Klimatické podmínky během vývoje rostlin před sklizní hrají podstatnou roli při tvorbě zearalenonu, jsou to hlavní činitelé, kteří mohou za kontaminaci zejména obilných zrn používaných jako potravina nebo krmiva (Dänicke & Winkler, 2015). Teploty v rozsahu 12°C – 14°C jsou ideální pro tvorbu zearalenonu (Barceloux, 2008), avšak jeho produkce byla prokázána i při teplotách nižších než 10°C a to dokonce i pod bodem mrazu (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003). Chladné teploty, které se vyskytují kolem již infikovaného semene, přispívají k tvorbě zearalenonu (Coppock & Jacobsen, 2009). Jeho tvorba však není ovlivněna pouze nízkými teplotami, ale je zvýhodněna i vysokou vlhkostí, což jsou podmínky, které se vyskytují během podzimní sklizně na středozápadě (CAST, 2003).

Zearalenon patří mezi nejvíce hojně distribuované fusariové mykotoxiny (IARC, 1993). Zearalenon se vyskytuje nejvíce zejména v kukuřici, dále pak v pšenici,

ječmeni a čiroku (Peraica *et al.*, 1999; Hayes *et al.*, 2008) obvykle však jen v nízkých koncentracích. Byl také nalezen v plesnivém senu (CAST, 2003). Kromě již zmíněných se dále zearalenon nachází v těchto potravinách: slad, pivo, cornflakes, popcorn, žito, oves, chléb, rýže, proso, boby, ořechy, banány, chilli koření a omáčka, koriandr, kari, fenykl, pepř a olej (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003). Zearalenon byl též identifikován v obilném prachu. V Severní Americe jsou hlavním zdrojem expozice člověka zejména kukuřičné a pšeničné výrobky, v Evropě jsou to poté výrobky z pšenice, žita a ovsa (Coppock & Jacobsen, 2009). Obecně lze říci, že koncentrace zearalenonu v potravinách v Severní Americe, Japonsku a Evropě jsou nízké, zatímco zejména v rozvojových zemích může být expozice vysoká (IARC, 1993). V důsledku nesprávného ošetřování a uchovávání obilovin a krmiv vznikají vysoké koncentrace zearalenonu. Jeho primární vznik na poli není tak častý. Zearalenon je velmi stabilní mykotoxin a v nezměněné podobě zůstává i po tepelném zpracování, či fermentaci (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003; Hrdina *et al.*, 2004). Obecně platí, že díky průměrným koncentracím zearalenonu v krmivech je jeho přechod do mléka, masa a vajec zanedbatelný (CAST, 2003) a netvoří tak významné zdravotní riziko pro člověka (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003). Zearalenon je do mateřského mléka vylučován na nízké úrovni (Coppock & Jacobsen, 2009), proto není expozice zearalenonu z mléka považována pro člověka za zdravotní riziko (Flores – Flores *et al.*, 2015).

Zearalenon (obrázek č. 12) je bílá krystalická látka bez zápachu, není rozpustná ve vodě, avšak v organických rozpouštědlech, jako je např. metanol, etanol a aceton, je rozpustná dobře (IARC, 1993; Malíř, Ostrý *et al.*, 2003). Zearalenon je také stabilní vůči hydrolýze v neutrálních nebo kyselých roztocích. Chemická struktura zearalenonu je dle Chemical Abstracts následující: 1H – 2 – Benzoxacyclotetradecin – 1,7(8H) – dione, 3,4,5,6,9,10 – hexahydro – 14,16 – dihydroxy – 3 – methyl (IARC, 1993). Zearalenon je klasifikován jako nesteroidní estrogen (Rai & Varma, 2010) nebo mykoestrogen a někdy je též označován jako fytoestrogen (Reddy *et al.*, 2010). Hlavní účinky zearalenonu jsou tedy estrogenní účinky (CAST, 2003; Malíř, Ostrý *et al.*, 2003; Hrdina *et al.*, 2004; Dänicke & Winkler, 2015), rovněž tak i u jeho derivátů, způsobují pak toxický efekt u různých živočišných druhů (Raiola *et al.*, 2010). U zvířat biotransformace zearalenonu spočívá v tvorbě dvou hlavních metabolitů a to α -zearalenolu (α -ZOL) a β -zearalenolu (β -ZOL). Z hlediska

estrogenního účinku se zearalenon nachází mezi jeho deriváty, α -ZOL tedy vykazuje vyšší estrogenní aktivitu než mateřská sloučenina a β -ZOL je naopak z těchto tří nejméně estrogenní. Biotransformace zearalenonu za přítomnosti kvasinek nese jak pozitivní, tak negativní ohlasy. Negativní v tom smyslu, že oba hlavní konečné produkty jsou stále estrogenní, avšak z hlediska pozitivní stránky lze říci, že biotransformace podporuje zejména tvorbu β -zearalenolu, který vykazuje nižší estrogenní účinky než ZEA a α -ZOL (Keller *et al.*, 2015). ZEA i jeho metabolity také soutěží s endogenními hormony o vazebná místa na estrogenové receptory. Kromě toho ZEA ovlivňuje činnost enzymů, které se podílejí na metabolismu steroidů (Przybylska – Gornowicz *et al.*, 2015). Ukazuje se, že zearalenon spadá do skupiny endokrinních disruptorů (Zielonka *et al.*, 2015).



Obrázek č. 12: chemický vzorec zearalenonu (Weidenbörner, 2001).

Nejcitlivější a nejčastěji postižená zvířata jsou prasata (CAST, 2003; Malíř, Ostrý *et al.*, 2003; Hrdina *et al.*, 2004; Leslie *et al.*, 2008; Coppock & Jacobsen, 2009; Dänicke & Winkler, 2015). U prasat způsobuje zearalenon např. vulvovaginitidu (CAST, 2003) nebo hyperestrogenismus. Hyperestrogenismus se vyskytuje více u nedospělých prasnic a mezi příznaky patří např. otok vulvy nebo zvětšení prsních žláz. V závažných případech může dojít k vaginálnímu a rektálnímu vyhřeznutí. Mezi další zvířata, která mohou být ovlivněna, patří skot, drůbež a laboratorní hlodavci (CAST, 2003; Malíř, Ostrý *et al.*, 2003). Nedávná studia také ukazují, že ZEA velmi převládá v přísadách i kompletních krmivech v akvakultuře (Pietsch *et al.*, 2015). U prasat a skotu zearalenon může způsobit embryonální smrt, inhibici ve vývoji plodu a tedy snížení počtu plodů (CAST, 2003). Intoxikace zearalenonem u plodu nebo u malých dětí může být etiologicky významná, neboť má za následek

předčasnou zralost, dochází pak např. k předčasnému ochlupení nebo zvětšení prsou, což bylo popsáno u dětí v Portoriku (CAST, 2003). Významná také může být expozice zearalenonu a jeho metabolitů prostřednictvím produktů z obilovin na člověka (Hayes *et al.*, 2008). Kromě toho vykazuje zearalenon genotoxické účinky, to díky jeho potenciálu tvořit DNA addukty (Dänicke & Winkler, 2015). Zearalenon také patří mezi mykotoxiny, které vykazují teratogenní účinky a toxické účinky na reprodukční systém (CAST, 2003). Byl nalezen v děloze, ve varlatech a ve folikulech vaječníků (IARC, 1993). Zearalenon též narušuje činnost endokrinního systému (CAST, 2003; Dänicke & Winkler, 2015). Ačkoli existuje názor dle Hsieh (1989), že se zearalenon s největší pravděpodobností podílel na lidské rakovině děložního čípku, je přesto v dnešní době podle Mezinárodní agentury pro výzkum rakoviny zearalenon zařazován do kategorie 3 – není klasifikován jako karcinogen pro člověka (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003).

1.5 Fumonisin

Rok 1988 byl významným mezníkem v objevu mykotoxinů fumonisinů (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003). Tohoto roku byly fumonisin y poprvé popsány a charakterizovány (Reddy *et al.*, 2010). Fumonisin y byly identifikovány výzkumnou skupinou v jižní Africe (Coppock & Jacobsen, 2009). Tato výzkumná skupina vedená Gelderblomem izolovala z kukuřice neznámé mykotoxiny, které později dostaly název fumonisin y (CAST, 2003). Ve stejném roce nezávisle na zmíněném výzkumu se jiné výzkumné skupině vedené Laurentem v Nové Kaledonii podařila izolace neznámého mykotoxinu – macrofusinu. Následným zkoumáním se podle chemické charakterizace a toxikologických pokusů zjistilo, že se jedná o identické mykotoxiny. Při modelových pokusech pak bylo zjištěno, že tyto mykotoxiny vyvolávají onemocnění podobné leukoencefalomalacii u koní (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003) a způsobují plicní edém u prasat (IARC, 1993; CAST, 2003; Fratamico *et al.*, 2005; Reddy *et al.*, 2010; Van Alfen, 2014). Obě tyto onemocnění způsobují narušení metabolismu sfingolipidů a kardiovaskulární dysfunkci (IARC, 2002). Fumonisin y také vyvolávají jaterní a ledvinné onemocnění u dalších domestikovaných druhů zvířat (Leslie *et al.*, 2008; Coppock & Jacobsen, 2009). Jsou též spojovány s rakovinou jícnu u lidí (Leslie *et al.*, 2008).

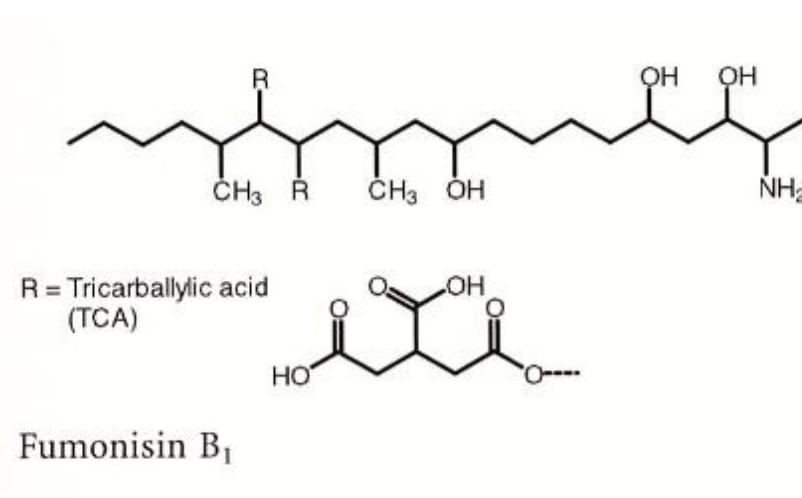
Fumonisin y jsou skupinou mykotoxinů produkované toxinogenními kmeny rodu *Fusarium* (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003; Raiola *et al.*, 2015) a jsou nacházeny po celém světě (IARC, 2002). Nejznámějším producentem fumonisinů je druh *Fusarium verticillioides* též někdy nazývaný jako *Fusarium moniliforme* (Peraica *et al.*, 1999; CAST, 2003; Malíř, Ostrý *et al.*, 2003; Coppock & Jacobsen, 2009; Reddy *et al.*, 2010; Flores – Flores *et al.*, 2015; Raiola *et al.*, 2015). Mezi další producenty patří druhy *Fusarium proliferatum* (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003; Coppock & Jacobsen, 2009; Reddy *et al.*, 2010; Flores – Flores *et al.*, 2015; Raiola *et al.*, 2015), *Fusarium nygamai* (CAST, 2003; Malíř, Ostrý *et al.*, 2003; Reddy *et al.*, 2010; Flores – Flores *et al.*, 2015) a dalších asi 11 druhů rodu *Fusarium* (Coppock & Jacobsen, 2009). Rod *Fusarium* je velmi mnohostranný a kromě fumonisinů produkuje mnoho dalších mykotoxinů, jako jsou např. trichoteceny, mezi které patří již zmiňovaný deoxynivalenol a zearalenon nebo také moniliformin. Je to též významný patogen a parazit kořenového systému a báze stébel rostlin. Způsobuje fusariózy rostlin

(Malíř, Ostrý *et al.*, 2003). Právě spolupůsobení druhů *Fusarium verticillioides* a *Fusarium proliferatum* způsobuje v horkých oblastech, kde se pěstuje kukuřice, fusariovou hnilobu jader kukuřice (IARC, 2002).

Fumonisinů se nejvíce vyskytují v kukuřici, dále v potravinách a krmivech, které jsou na bázi kukuřice. Fumonisinů byly nalezeny i v nudlích, koření, pivu a také chlebě (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003). V nedávné době bylo zjištěno, že se též nacházejí v čiroku a prosu (CAST, 2003). V mléce, mase a vejcích byla rezidua fumonisinů buď nezjistitelná, nebo byla detekována pouze v extrémně nízkých koncentracích (IARC, 1993, 2002). Jsou to tedy mykotoxiny, které se nacházejí zejména v kukuřici jako celku, a to hlavně pokud je pěstována v teplých a suchých podmínkách v teplejších regionech (IARC, 1993; Raiola *et al.*, 2015). Kontaminace může nastat v různých fázích, např. při pěstování plodin, při sklizni nebo skladování a také v závislosti na teplotě a vlhkosti (Van Alfen, 2014). Avšak rozvoj fumonisinů nastává zejména před sklizní, nebo v časných fázích skladování, kdy jsou stále vysoké hodnoty vlhkosti vzduchu (Van Alfen, 2014; Raiola *et al.*, 2015). Vysoké koncentrace fumonisinů vznikají tedy zejména při horkém a suchém počasí. Pro druh *Fusarium moniliforme* je ideální teplota pro maximální růst 30°C, zatímco pro druh *Fusarium proliferatum* je to teplota 35°C. V syrové kukuřici, která byla poškozena hmyzem, též může docházet ke vzniku vysokých koncentrací fumonisinů. Bylo však zjištěno, že geneticky modifikovaná kukuřice (Bt – kukuřice) nese geny produkující proteiny, které jsou toxické pro hmyz, tudíž je Bt - kukuřice méně náchylná k fusariové infekci než kukuřice, která není geneticky upravená (IARC, 2002).

Fumonisin B1 (obrázek č. 13) je nejvíce produkovaný (Reddy *et al.*, 2010), nejvíce rozšířený (Barceloux, 2008) a pravděpodobně také nejvíce toxický fumonisin (IARC, 2002). Jedná se o pevnou amorfní látku (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003). Fumonisin B1 je velice dobře rozpustný ve vodě a projevuje významnou biologickou aktivitu (Hrdina *et al.*, 2004). Je však nerozpustný v nepolárních rozpouštědlech (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003). Chemická struktura fumonisinu B1 je dle Chemical Abstracts následující: 1,2,3 - Propanetricyrcarboxylic acid, 1,1' - [1 - (12 - amino - 4,9,11 - trihydroxy - 2 - methyltridecyl) - 2 - (1 - methylpentyl) - 1,2 - ethanediyl] ester (IARC, 1993). Fumonisin B1 byl nalezen v černém čaji, dokonce

v některých léčivých rostlinách jako jsou např. listy pomerančovníku nebo listy a květy lípy (IARC, 2002). Toxikologicky významné jsou fumonisin B1 a B2, zatímco jiné fumonisiny např. B3, B4, A1 a A2 se vyskytují jen ve velmi nízkých koncentracích a jsou i méně toxické (Peraica *et al.*, 1999). Fumonisiny B1, B2 a B3 jsou významné, neboť se přirozeně vyskytují v přírodě jako kontaminanty potravin a krmiv (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003). Fumonisin B4 se vyskytuje jen v relativně malých množstvích (IARC, 1993).



Obrázek č. 13: chemický vzorec fumonisinu B1 (Weidenbörner, 2001).

Fumonisiny jsou fyto toxické k širokému spektru rostlinných druhů (Kohmoto & Yoder, 1998). Mezi další hlavní účinky fumonisinů patří hepatotoxicita, neurotoxicita, imunotoxicita a nefrotoxicita (CAST, 2003). Fumonisiny B1 a B2 jsou nejvíce hepatotoxické a imunotoxické fumonisiny (García – Moraleja *et al.*, 2015). Zejména fumonisin B1 je iniciátor rakoviny (Raiola *et al.*, 2015). Lze říci, že u fumonisinu B1 bylo prokázáno, že je karcinogenní u samic myší a samců potkanů (CAST, 2003). Fumonisin B1 je toxický pro centrální nervový systém, játra, slinivku břišní, ledviny a plíce u řady živočišných druhů. Fumonisin B2 je hepatotoxický u potkanů (IARC, 1993). Fumonisiny však nejsou genotoxické (Raiola *et al.*, 2015) a netvoří žádné addukty s DNA (CAST, 2003). Mezi hlavní cílové orgány toxicity patří ledviny a játra, avšak toxický efekt závisí na druhu mykotoxinu a také na reakci v závislosti na množství dávky. Možným cílem toxicity může být též tenké střevo (Raiola *et al.*, 2015). Podle Mezinárodní agentury pro výzkum rakoviny jsou fumonisiny řazeny do skupiny 2B – možný karcinogen pro člověka (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003; Reddy *et al.*, 2010; Flores – Flores *et al.*, 2015; Raiola *et al.*, 2015).

Poslední tři jmenované mykotoxiny (deoxynivalenol, zearalenon a fumonisiny) patří mezi tzv. fusariové mykotoxiny a to z toho důvodu, že jsou produkovány stejnou mikroskopickou plísní rodu *Fusarium*. Právě fusariové mykotoxiny jsou v poslední době velmi diskutovaným tématem, a to díky změnám klimatu a tím i jejich zvýšené produkci v zemědělských plodinách, hlavně pak v kukuřici, i při dodržování zásad správné zemědělské praxe a to především v Evropě, tedy i včetně České Republiky. Z dostupných dat v ČR se tato nepříznivá situace ohledně kontaminace potvrdila, lze tedy říci, že úroveň kontaminace byla prokazatelně vyšší, než bývá obvyklé (Ostrý *et al.*, 2016).

2. Mykotoxiny, kontaminanty okolního prostředí a potravin

V dnešní době je více než 38 % potravin kontaminováno plísněmi, které mohou negativně ovlivňovat zdraví člověka, jak přímou, tak i nepřímou cestou (Malíř, ústní sdělení, 2016). Produkce a obsah mykotoxinů je ovlivňován různými faktory, zejména to jsou faktory biologické, fyzické a chemické, mezi které se řadí např. teplota, vlhkost, složení substrátu, přítomnost kyslíku a oxidu uhličitého, způsob ošetřování rostlin, ale také mikrobiální interakce nebo přítomnost hmyzu (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003).

Ke kontaminaci pracovního a životního prostředí člověka sporami a následnému osídlení tohoto prostředí vláknitými mikromycetami a tedy možné produkci mykotoxinů dochází během nepříznivých situací. Aby byl tento sled událostí umožněn, je k tomu zapotřebí několik podmínek:

- Existence zdrojů kontaminace (spory jsou všudypřítomné – voda, ovzduší, půda, povrch organismů).
- Existence vhodného substrátu (jeho složení a obsah živin).
- Existence vhodných podmínek pro osídlení pracovního a životního prostředí sporami vláknitých mikromycetů.
- Nedodržování vhodných hygienických podmínek a nedůsledné provádění čištění a dekontaminace pracovního a životního prostředí člověka (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003).

Celosvětově hlášená vysoká míra výskytu mykotoxinů v nízkých koncentracích, jak v potravinách, tak krmivech, vede k závěru, že lidé i zvířata jsou často vystavováni na kratší či delší dobu nízkým dávkám rozličných mykotoxinů. Ačkoliv se to zdá nenápadné, tak příjem nízkých dávek mykotoxinů může mít za následek více či méně závažné poškození buněk, tkání a orgánů (Przybylska – Gornowicz *et al.*, 2015).

2.1 Expozice mykotoxiny

Za hlavní přívodnou cestu mykotoxinů do organismu je považována dietární expozice. Je to také hlavní expozice u člověka. Dietární expozici můžeme rozdělit na přímou a nepřímou. Přímá expozice nastává v případě, kdy dochází ke konzumaci zejména kontaminovaných obilovin, olejnin, koření ale také čajů a podobných výrobků. Nepřímá expozice nastává v případě konzumace kontaminovaného masa, mléčných výrobků, jako jsou mléko a sýry. Za nejvíce rizikově ohroženou skupinu jsou považovány děti a kojenci, to zejména kvůli značně vysokému přívodu kontaminovaného mléka a dalších mléčných produktů do jejich organismu, díky svému specifickému metabolismu, nízké hmotnosti, ale také díky nedostatečně vyvinutému imunitnímu systému. Za méně významnou, avšak též důležitou expozici je považována profesionální expozice, ke které dochází dvěma způsoby a to buď inhalační, nebo transdermální cestou. Profesionální expozice je nejčastěji zjišťována u lidí, kteří pracují např. jako krmiči dobytka, pracovníci mlýnů, pracovníci v mísírnách krmiv či balírnách koření, avšak byla zaznamenána i u pracovníků mykotoxikologických laboratoří (Malíř, ústní sdělení, 2016).

Existují dva způsoby hodnocení dietární expozice mykotoxiny:

- Odhadem dietární expozice mykotoxinů na základě stanovení mykotoxinů v potravinách a spotřeby uvedených potravin.
- Stanovením příslušného mykotoxinu, případně jeho metabolitu v tělních tekutinách a tkáních člověka např. v krvi, plazmě nebo moči.

Odhad dietární expozice se následně stanoví výpočtem na základě znalostí o metabolizaci, distribuci a exkreci mykotoxinů a jejich biomarkerů v organismu (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003).

2.2 Kontaminace mykotoxiny, metody prevence

Během pěstování kulturních plodin probíhá řada složitých vztahů a společné působení mezi rostlinami, mikromycetami, hmyzem a způsobem ošetřování rostlin. Tyto interakce mohou mít za následek produkci mykotoxinů v surovinách, potravinách a krmivech (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003). Kromě případné kontaminace

mykotoxiny dochází při růstu mikromycet u zemědělských komodit i k jejich zhoršování a ztrátě kvality (Keller *et al.*, 2015). Celkový objem zemědělských produktů vysoce kontaminovaných mykotoxiny činí odhadem 100 milionů tun. Z tohoto množství je pak zhruba 20 milionů tun zemědělských produktů kontaminováno v rozvojových zemích. Ke kontaminacím dochází přirozeně a jsou nepredikovatelné. Kontaminacím nelze zamezit nebo je zcela odstranit a to ani při dodržování doporučených správných zemědělských a technologických postupech, které by měly vést ke snížení výskytu toxinogenních mikromycetů a produkci mykotoxinů během vegetačního růstu rostlin, jejich sklizně a skladování. Pokud jsou k výrobě potravin použity suroviny, které jsou již kontaminované mykotoxiny, mluvíme o primární kontaminaci. V případě sekundární kontaminace dochází k růstu toxinogenních mikromycetů na nevhodně skladovaných potravinách, které následně produkují mykotoxiny. Metody správné zemědělské praxe, mezi které patří např. autokontrola (kontrola při sušení, transportu, uložení, před transportem), vstropovatelnost produktu a dekontaminace, slouží jako opatření, která vedou ke snižování obsahu mykotoxinů v surovinách, potravinách a krmivech a to za účelem snížení ztrát úrody potravin a krmiv a zejména za účelem zdraví konzumentů (Malíř, ústní sdělení, 2016).

Mykotoxiny a obecně chemické kontaminanty se do potravin dostávají neúmyslně při výrobě, zpracování, balení, přepravě nebo skladování. Proto existují preventivní metody před sklizní a preventivní metody posklizňové. Mezi ochranné metody před sklizní lze zařadit chemické ošetření a to aplikací insekticidů nebo antifungálních přípravků, z agronomického hlediska lze za prevenci považovat obměnu druhů zemědělských kultur, z hlediska genetického lze využít rezistentní druhy, nebo druhy geneticky modifikované a jako poslední možnost prevence je využití biologického boje. Za ochranné metody posklizňové lze považovat rychlé usušení posklizňové úrody a její uložení za správných podmínek. V tomto případě musí být odstraněna rizika opětovného zvlhčení, musí probíhat pravidelná kontrola teploty a vlhkosti úrody a musí se minimalizovat riziko napadení hmyzem a hlodavci (Malíř, ústní sdělení, 2016).

2.3 Interakce mykotoxinů

Mykotoxiny se v přirozených podmínkách mohou vyskytovat jednotlivě nebo společně (a to dokonce více než 2 mykotoxiny) a může mezi nimi docházet k interakcím neboli současnému vzájemnému toxickému ovlivňování. Pak rozlišujeme 3 situace. Buď nastane souhlasné působení (synergismus), protichůdné působení (antagonismus) nebo může dojít k nulové interakci. Při nulové interakci nedochází ani k souhlasnému ani k protichůdnému působení a přidání dalšího mykotoxinu neoslabuje ani nezesiluje účinek prvního mykotoxinu (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003).

U synergismu mohou 2 i více mykotoxinů v organismu spolupůsobit, aniž by navzájem mezi sebou interagovaly a navzájem ovlivňovaly svou toxicitu. Výsledný toxický účinek se pak může rozdělit do dvou směrů. Buď nastane sumace toxických účinků obou i více mykotoxinů, v tom případě se jedná o prosté sčítání intenzity účinku. Nebo, a to je horší varianta, nastane potenciace, kde již nejde o prosté sčítání účinků, ale o mnohonásobné zesílení konečného nežádoucího efektu mykotoxinů. Výsledný toxický účinek je pak tedy mnohonásobně větší než součet jednotlivých toxických účinků (Malíř, ústní sdělení, 2016).

U antagonismu, protichůdnému působení mykotoxinů mezi dvěma i více mykotoxiny, je výsledný toxický účinek menší, než by odpovídalo součtu toxických účinků jednotlivých látek (Malíř, ústní sdělení, 2016). Antagonista tak oslabuje účinek druhého mykotoxinu, případně jej úplně potlačuje či dokonce invertuje (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003).

2.4 Toxické účinky mykotoxinů

Působení cizorodých látek a tedy i mykotoxinů na organismus probíhá dvojným způsobem:

- Prahové působení – je definován práh expozice, pod kterým nejsou zjišťovány žádné nepříznivé účinky.
- Bezprahové působení – neexistuje žádná bezpečná hladina expozice.

Příznaky zasažení organismu daným toxinem se projeví buď bezprostředně, nebo až za delší dobu (Malíř, ústní sdělení, 2016).

Rozdělení mykotoxinů podle toxických účinků na cílové orgány je uvedeno v tabulce č. 1 (zahrnuty jsou pouze mykotoxiny zmiňované v této práci):

Toxický účinek	Mykotoxin
genotoxický	aflatoxiny, ochratoxin A, zearalenon, trichoteceny, fumonisiny
dermatotoxický	trichoteceny
estrogenní	zearalenon
hematotoxický	aflatoxiny, ochratoxin A, zearalenon, trichoteceny
hepatotoxický	aflatoxiny, fumonisiny
imunotoxický	aflatoxiny, ochratoxin A, trichoteceny
nefrotoxický	ochratoxin A, fumonisiny, trichoteceny
neurotoxický	fumonisin, trichoteceny
kardiotoxický	fumonisin
toxický pro GIT	trichoteceny

Tabulka č. 1: členění mykotoxinů dle jejich toxických účinků (CAST, 2003; Malíř, Ostrý *et al.*, 2003).

2.5 Legislativa, regulační a expoziční limity

Potraviny a vstupní suroviny včetně krmiv obsahují konkrétně v ČR různé koncentrace mykotoxinů. V důsledku toho dochází k již zmiňovaným primárním a sekundárním kontaminacím a také ke globalizaci potravinového trhu, díky které může dojít k výskytu potravin s vysokým obsahem mykotoxinů. Proto byly zavedeny regulační limity. Nutno podotknout, že mykotoxiny v rozvojových zemích jsou často neregulovány a v důsledku toho, při dodržování legálního limitu, dochází k nedostatku potravin, příp. k obrovskému navýšení jejich původní ceny (Malíř, ústní sdělení, 2016).

Mezi hlavní zemědělské plodiny a výrobky ve světě ošetřené legislativou na mykotoxiny patří zejména suché ovoce, jako jsou např. arašídy, pistácie nebo mandle, dále koření, olejniny a rezidua po extrakci oleje, obilniny a výrobky z nich, mezi které patří kukuřice, pšenice, mouka, snídaňové cereálie, ale také i těstoviny a chléb, dále pak víno a hroznová šťáva, mléko a mléčné výrobky, ovoce a výrobky z něj (kompoty), káva, kakao a výrobky z něj a v neposlední řadě také pivo (Malíř, ústní sdělení, 2016).

V EU jsou mykotoxiny regulovány dle nařízení Evropského parlamentu a Rady č. 1881/2006 a ve znění pozdějších předpisů. V oblasti EU je zakázáno míchat podíly plodin a potravin neodsouhlasených s odsouhlasenými a také dekontaminovat podíly chemickými metodami. Regulační limity poté stanovují:

- Maximální hodnoty pro aflatoxin B1, sumu aflatoxinů B a G, aflatoxin M1, ochratoxin A, deoxynivalenol, zearalenon a fumonisiny B1 a B2.
- Maximální hodnoty obsahu pro toxiny rodu *Fusarium*, to znamená pro fumonisiny, deoxynivalenol a zearalenon.
- Maximální limity ochratoxinu A v kořeni a lékořici.
- Maximální limity aflatoxinů v podzemnici olejné a jiných skořápkových plodech, obilovinách, kořeni a sušeném ovoci.

Nejsou – li však regulační limity k dispozici lze využít tzv. expoziční limity:

- PTWI = prozatímní tolerovatelný týdenní přívod
- PTDI = prozatímní tolerovatelný denní přívod
- PMTDI = prozatímní maximální tolerovatelný denní přívod
- TWI = tolerovatelný týdenní přívod

Regulační limity mají vliv na obchod se zemědělskými výrobky. Pro ohlašování rizikových potravin a krmiv za účelem zamezení jejich uvádění do oběhu nebo za účelem jejich stažení ze společného evropského trhu existuje systém RASFF = systém rychlého varování pro potraviny a krmiva. Jako základní kritérium pro oznámení zasílané prostřednictvím tohoto systému je poznatek, že rizikový výrobek představuje přímé nebo nepřímé riziko pro zdraví a bezpečnost spotřebitele. Mykotoxiny, jakožto hlavní důvod zamítnutí vstupu zemědělských plodin na trh EU, sebou nesou negativní důsledky a to buď embargo (zákaz obchodních styků) či likvidaci veškeré zemědělské produkce s přítomností mykotoxinů vyšší, než jsou regulační limity v zemích určení. V rámci regulace mykotoxinů existují sankce EU, mezi které patří: odročení dovozu, dále systematická kontrola dovozu a zesílená kontrola dovozu (Malíř, ústní sdělení, 2016).

3. Vybraná onemocnění lidí a zvířat způsobená mykotoxiny

Lidstvo se už od nepaměti setkávalo s mykotoxiny a jimi vyvolanými chorobami. Díky tehdejší neznalosti, i co se týče technických možností, nešlo kontaminaci účinně zabránit, proto docházelo k neustálým kontaminacím potravin patogenními a toxinogenními mikromycetami. Patogenní vláknité mikromycety způsobují zejména mykózy a mykoalergie, protože mohou působit přímo na zdraví člověka. V pracovním a životním prostředí člověka se pak vláknité mikromycety podílejí na tvorbě mykotoxikóz (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003). Za mykotoxikózu se dá označit patologický stav, který způsobuje mykotoxin a který má škodlivý vliv, jak na lidský, tak i zvířecí organismus a díky jeho působení může vyvolat onemocnění, v horším případě i smrt (Malíř, ústní sdělení, 2016). V následující tabulce č. 2 jsou uvedeny vybrané mykotoxikózy u lidí a zvířat spojované s mykotoxiny.

Mykotoxin	Mykotoxikóza
aflatoxiny	aflatoxikóza
deoxynivalenol	akutní DON toxikóza
trichoteceny	alimentární toxická aleukie
ochratoxin A	balkánská endemická nefropatie, CIN
aflatoxiny	cirhóza dětí v Indii
aflatoxiny	duševní retardace dětí
aflatoxiny	encefalopatie Udorn
susáriové mykotoxiny	fusariotoxikóza v Číně
trichoteceny	jihoafrická osteoartróza
fumonisin	karcinom jícnu
fusáriové mykotoxiny	kašín-Beckova nemoc
aflatoxiny	kwashiorkor
ochratoxin A	nádory ledvin
trichoteceny	nemoc mseleni
fumonisin	leukoencefalomalacie
deoxynivalenol	otrava červenou plísní
fumonisin	plicní edém
aflatoxiny	primární jaterní karcinom
zearalenon	předčasná puberta
zearalenon	rakovina děložního krčku
zearalenon	hyperestrogenismus
aflatoxiny	respirační onemocnění
aflatoxiny	Reyův syndrom

aflatoxiny	tuková degenerace jater
trichotecen	Urovova nemoc

Tabulka č. 2: mykotoxikózy lidí a zvířat (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003).

3.1 Aflatoxikózy

Roku 1974 byla popsána první epidemie aflatoxikózy u lidí v Indii. Avšak již roku 1967 byly pravděpodobně popsány první sporadické případy u dětí na Taiwanu (Weidenbörner, 2001; Malíř, Ostrý *et al.*, 2003). Akutní aflatoxikózy jsou dobře zdokumentované u lidí, zejména po požití vysoce kontaminovaných potravin, hlavně pak kukuřice (CAST, 2003). S konzumací potravin kontaminovaných aflatoxiny bývají spojeny také dvě onemocnění s nejasnou etiologií a to Kwashiorkor a Reyův syndrom (CAST, 2003; Malíř, Ostrý *et al.*, 2003). Chronická aflatoxikóza u lidí se dává do souvislosti s hepatocelulárním karcinomem (CAST, 2003).

3.1.1 Primární karcinom jater

Existuje přímá závislost mezi karcinomem jater a aflatoxinem B1. Již roku 1962 upozornili LeBreton a Frayssinet na možné karcinogenní účinky aflatoxinu na člověka. Karcinogenní účinky aflatoxinu B1 byly prokázány u mnoha živočišných druhů. Také bylo zjištěno, že se při vzniku nádoru uplatňuje i virus hepatitidy B (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003). Infekce hepatitidy B a aflatoxin B1 se běžně společně vyskytují v oblastech s vysokou mírou hepatocelulárního karcinomu (Reddy *et al.*, 2010). V porovnání s dalšími nádorovými onemocněními se primární jaterní karcinom nevyskytuje tak často, ovšem např. v tropických oblastech představuje primární jaterní karcinom až 50% všech zhoubných nádorů. V Evropě a USA byl tento karcinom poměrně vzácný, avšak v posledních 30 letech vykazuje opačnou tendenci (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003).

3.1.2 Bronchoalveolární karcinom plic

Aflatoxin B1 je v první řadě hepatokarcinogen, kdy jeho přívod do organismu probíhá dietární expozicí, avšak existuje i riziko spojené s inhalací prachu kontaminovaného aflatoxinem B1. V takovém případě se jedná o inhalační expozici, při které aflatoxin B1 poškozují buňky respiračního traktu. Pozitivní nálezy aflatoxinu B1 byly pozorovány v ČR u 5 případů plicního onemocnění

(Malíř, Ostrý *et al.*, 2003). První případ byl osmašedesátiletý chemik, který pracoval 3 měsíce na různých metodách pro sterilizaci brazilské arašídové moučky, silně kontaminované mikromycety *Aspergillus flavus*. 3 měsíce po ukončení práce onemocněl. Zpočátku se zdálo, že se jedná o tuberkulózu, ale později se zjistilo, že se jednalo o plísňové onemocnění. Pitva u něj prokázala alveolární karcinom. Druhý pacient byl devětapadesátiletý krmič dobytka, kuřák 20 cigaret denně, který onemocněl zápalem plic. Pacient umřel na kardiovaskulární nedostatečnost. Později byl diagnostikován aspergilom v hrotu pravé plíce. Ve vzorku plicní tkáně byl prokázán aflatoxin B1. Třetí pacient šedesátiletý krmič dobytka, nekuřák, který údajně onemocněl bronchopneumonií. Po 2 letech, co se objevily první příznaky, pacient umřel na dechovou nedostatečnost. Histologické vyšetření odhalilo difúzní intersticiální fibrózu plic. Opět byl v plicní tkáni prokázán aflatoxin B1. Čtvrtému pacientovi, třiašedesátileté ženě, která 35 let pracovala, jako tkadlena v textilní továrně se 7 let před smrtí vyvinul dráždivý kašel a dušnost. Pacientka zemřela s následující diagnózou: difúzní plicní fibróza a poškození plic z povolání. Ve vzorku plic byl identifikován aflatoxin B1. Pátý pacient, devětapadesátiletý skladník, onemocněl zápalem plic následovaný dušností a malátností. Objevilo se podezření na rakovinu plic, avšak než pacient podstoupil terapii, zemřel na respirační nedostatečnost. Nakonec však žádný tumor nebyl nalezen. Pacient opět podlehl plicní fibróze (Dvořáčková, 1990).

3.2 Ochratoxikózy

Příjem ochratoxinu A vyskytujícího se na několika komoditách převládající v lidské stravě i zvířecích krmivech, podněcuje celosvětově vyskytující se mykotoxikózu – ochratoxikózu (CAST, 2003; Malíř, Ostrý *et al.*, 2003). OTA je známý pro jeho nefrotoxické účinky, avšak může mít vliv i na játra (CAST, 2003). Jeho výskyt pak závisí na různých faktorech, zejména to jsou geografické zóny, roční doba, klima a dietní zvyklosti. Ochratoxikóza byla popsána ve spoustě zemí, jmenovitě pak např. v Kanadě, Dánsku, Bulharsku, Jugoslávii, ale také v USA nebo bývalé ČSSR (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003).

3.2.2 Balkánská endemická nefropatie (BEN)

OTA má hepatotoxické, nefrotoxické, imunotoxické a teratogenní účinky u zvířat a může způsobit poškození ledvin a nádory jater u potkanů a myší (Raiola *et al.*, 2015). Bylo prokázáno, že by OTA mohl hrát velkou roli v etiologii nefropatie prasat (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003). Prasečí nefropatie se vyskytovala v některých evropských zemích, zejména pak v Dánsku a je spojena se spotřebou ječmene kontaminovaným OTA. V průběhu experimentu s prasaty byla objevena většina účinků OTA (CAST, 2003). Studie na pokusných zvířatech pak ukázaly vztah mezi expozicí ochratoxinu A a prasečí nefropatií, proto byl OTA navržen jako původce Balkánské endemické nefropatie (IARC, 1993; Peraica *et al.*, 1999). Toto smrtelné ledvinové onemocnění bylo zjištěno kolem roku 1950 v jihovýchodní Evropě, zejména v oblasti Bulharska, Jugoslávie a Rumunska (IARC, 1993; Reddy *et al.*, 2010; Raiola *et al.*, 2015), ale také u obyvatelstva Chorvatska a Bosny a Hercegoviny (Peraica *et al.*, 1999). Roku 1964 byla nemoc rozpoznána jako nový diagnostický subjekt a začala se označovat jako Balkánská endemická nefropatie (IARC, 1993). První příznaky a symptomy onemocnění nejsou specifické a zahrnují únavu, bolest hlavy, ztrátu tělesné hmotnosti a bledou kůži (Peraica *et al.*, 1999). Hlavní rysy onemocnění jsou bilaterální, především to jsou chronické léze na kůře ledvin (tubulární atrofie, intersticiální fibróza). V pokročilém stádiu onemocnění je pak výrazně snížena hmotnost a velikost ledvin (IARC, 1993; Peraica *et al.*, 1999; Heussner & Bingle, 2015). Nemoc také souvisí s nádory močového ústrojí, neboť výskyt těchto nádorů byl několikrát větší (až 100 krát větší) v rodinách, které byly postiženy BEN (Peraica *et al.*, 1999; Reddy *et al.*, 2010; Raiola *et al.*, 2015). V posledních letech někteří autoři uvádějí, že BEN je způsobena díky vystavení kyselině aristolochové (Heussner & Bingle, 2015; Raiola *et al.*, 2015). Epidemiologické důkazy pak naznačují, že přibližně polovina evropské populace je vystavena ochratoxinu A (CAST, 2003).

3.3 Trichotecenové toxikózy

Trichoteceny jsou nejpočetnější a největší třídou známých mykotoxinů. Mezi nejvýznamnější mikromycety, které produkují trichoteceny patří rod *Fusarium*, avšak za zmínku stojí i další rody např. *Stachybotris*, *Myrothecium* nebo

Trichoderma (CAST, 2003). Trichoteceny mohou způsobovat chronické účinky u zvířat i lidí, včetně potlačení imunitního systému (Anater *et al.*, 2015).

3.3.1 Alimentární toxická aleukie (ATA)

Za první uznanou trichotecenovou mykotoxikózu byla považována alimentární toxická aleukie v SSSR (Peraica *et al.*, 1999). ATA se jako rozsáhlá epidemie nejvíce projevila v letech 1944 – 1945 v Orenburgu a to díky válečnému hladomoru. Následkem války nebylo možné sklídit obilí z pole (zejména proso), které poté přes celou zimu zůstalo na poli a mezitím zplesnivělo. Obilí bylo kontaminováno mikromycetami rodu *Fusarium* (teprve v 70. letech Yoshi Ueno a další výzkumníci zjistili, že se jednalo o druhy *Fusarium poae* a *Fusarium sporotrichoides*), které jsou schopné přežít i pod bodem mrazu. V důsledku válečné situace nastal nedostatek potravinových zdrojů, proto lidé zkonzumovali i toto plesnivé obilí. Jelikož však chyběly i potravinové zdroje typu živočišných bílkovin, které mohou do určité míry zmírnit účinky trichotecenů, bylo celkově postiženo 10% obyvatelstva, z nichž 60% zemřelo (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003). Mezi klinické příznaky tohoto onemocnění patřily průjem, podráždění krku, zvracení, vyrážka na obličeji, nevolnost a zvýšené výskytu infekce horních cest dýchacích (Coppock & Jacobsen, 2009) to zejména pokud se jednalo o lehčí případy. V závažných případech se objevovala fatální kožní vyrážka a nekrotické léze zažívacího traktu a dalších orgánů (Wegulo, 2012). První příznaky onemocnění jmenované výše, po několika dnech vymizely a lidé se cítili lépe. Poté následovalo období latence, během kterého však docházelo k úbytku bílých krvinek a krevních destiček. Po tomto období se začala objevovat zmíněná nekrotická poškození, dále také rozsáhlé hemoragie a poškození kostní dřeně. V tomto stádiu pak smrt nastala buď v souvislosti s krvácením, nebo s infekcí. Také díky tvorbě edémů mohlo ke smrti docházet i neočekávaně, následkem udušení (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003).

3.3.2 Glomerulonefritida

Deoxynivalenol je jeden z nejčastěji izolovaných trichotecenů z obilí a potravin. Bylo prokázáno, že nepřímo souvisí s nefropatií u myší, kdy zvyšuje hladinu imunoglobulinu A v séru, což vede k hromadění tohoto imunoglobulinu a k onemocnění podobné lidské glomerulonefritidě. Zapojení DON do glomerulonefritidy je spekulativní, avšak se udává, že je do tohoto onemocnění

zapletený jako etiologický agens. Příznaky onemocnění zahrnují nevolnost, podráždění krku, bolesti GIT a zvracení. Některým pacientům se rozvinula vyrážka nebo dokonce měli krev ve stolici. Další příznaky u lidí, jako bolest hlavy, zvracení a průjem byly připisovány k řadě trichotecenů způsobující jiná onemocnění (CAST, 2003).

3.4 Zearalenové toxikózy

Informace o účincích zearalenonu na člověka, které jsou k dispozici, jsou málo přesvědčivé. Existují však důkazy o trvalých účincích zearalenonu na endokrinní systém. Zájem o tento mykotoxin započal z důvodu předčasné puberty u dětí do 10 let (CAST, 2003). Účinky zearalenonu a jeho derivátů však byly prokázány u různých živočišných druhů (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003).

3.4.1 Hyperestrogenismus

Hyperestrogenismus vyvolaný zearalenonem postihuje vepře, hovězí dobytek a drůbež, avšak nejvíce jsou prasata. Už po 4 až 7 dnech po konzumaci kontaminovaného krmiva se mohou projevit známky hyperestrogenismu. Po ukončení příjmu kontaminovaného krmiva projevy mizí během 3 až 4 týdnů. Nejvíce postižené jsou předpubertální prasnice. Typickým projevem onemocnění je zduření rodidel (obrázek č. 14). K dalším příznakům patří např. oteklá rodidla s vaginálním výtokem, zvětšené prsní žlázy (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003), u mladých samců prasat pak dochází k testikulární atrofii, otokům předkožky a též se jim rozšiřují prsní žlázy (CAST, 2003). V těžkých případech dochází k vaginálnímu a rektálnímu vyhřeznutí. Díky napadení vyhřeznutých orgánů bakteriální infekcí většinou dochází k úmrtí zvířat (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003). Zearalenon tak snižuje reprodukční potenciál hospodářských zvířat a zejména prasat (Klaassen, 2008).



Obrázek č. 14: zduření rodidel u prasnice (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003).

3.4.2 Vulvovaginitida

Vulvovaginitida jakožto zánět vulvy a pochvy je spolu s dalšími příznaky jako jsou zvětšená děloha, otoky vulvy, prsních žláz a bradavek příznakem chronické toxicity zearalenonu. Mezi další příznaky řadíme atrofii vaječnicků, prodlouženou nebo naopak přerušenou říjí, neplodnost a falešné těhotenství. Nejčastěji postižená zvířata jsou stejně jako u hyperestrogenismu předpubertální prasnice, avšak postiženy jsou i další živočišné druhy např. opice, myši nebo potkani (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003).

3.4.3 Předčasná puberta

Jak už bylo výše řečeno je k dispozici jen málo přesvědčivých informací o účincích zearalenonu na člověka. Avšak v Portoriku roku 1984 byl zearalenon prokázán u dětí s předčasnou pubertou (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003). Tento předčasný vývoj zahrnoval předčasné telarche a pubarche, pseudopubertu u dívek a předpubertální zvětšení prsů u chlapců. Vědci zkoumali zdejší jídlo a zjistili vysoké koncentrace estradiolu v mase. Nejpravděpodobnější zdroj expozice byla exogenní kontaminace potravin. Avšak je možné, že expozice mohla nastat již během těhotenství, kdy matky konzumovaly jídlo kontaminované zearalenonem (CAST, 2003).

3.5 Fumonisinové toxikózy

Mykotoxiny zvané fumonisin jsou produkovány mikromycetami rodu *Fusarium*. Z důvodu výskytu různých druhů rodu *Fusarium* na kukuřici, např. druh *Fusarium verticillioides* nebo *Fusarium proliferatum*, jsou tyto druhy celosvětově distribuovány. Nejdůkladněji prozkoumaný fumonisin je fumonisin B1, se kterým jsou spojována onemocnění koní (leukoencefalomalacie) a prasat (plicní edém). Otázkou zůstává, zda fumonisin hrají roli v rakovině jícnu u lidí a dalších onemocnění. Je nutné vzít v úvahu celou řadu faktorů, včetně možnosti, že toxické mohou být i deriváty fumonisinů (CAST, 2003).

3.5.1 Leukoencefalomalacie u koní (ELEM)

Leukoencefalomalacii u koní vyvolávají fumonisin B1 a B2 (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003). Kromě zmíněných koní leukoencefalomalacie postihuje také muly a osli. Zvířata se nejčastěji nakazila při spásání obilí, které zůstalo na poli po sklizni, nebo když byla krmena zrny silně infikovanými *Fusarium verticillioides* a dalšími

Fusarium spp. (Coppock & Jacobsen, 2009). Nemoc se vyznačuje přítomností nekrotických lézí v bílé hmotě mozku, ačkoliv šedá hmota může být též zapojena (Raiola *et al.*, 2015). Dochází k lokálnímu měknutí a zkapalňování bílé hmoty mozkové, často se vyskytuje i obvodové krvácení (CAST, 2003). Prvními příznaky jsou letargie, neschopnost jíst ani pít, které jsou následovány ataxií, křečí a smrtí po několika dnech. Kromě poškození mozku jsou hlášeny i abnormality v játrech a ledvinách (IARC, 2002; Klaassen, 2008). Přesný mechanismus, kterým fumonisiny podporují toto onemocnění, není znám, ale nejspíš souvisí s jejich schopností inhibice syntézy sfingolipidů (CAST, 2003).

3.5.2 Plicní edém u prasat

U prasat fumonisiny vedou k plicnímu edému v důsledku srdeční nedostatečnosti (Coppock & Jacobsen, 2009; Antonissen *et al.*, 2015). Fumonisin B1 kromě plicního edému a kardiovaskulárních problémů způsobuje i poškození jater a imunitního systému (IARC, 2002). Hlášené symptomy jsou dušnost a cyanóza až do smrti (Raiola *et al.*, 2015).

3.5.3 Rakovina jícnu

Rakovina jícnu je připisována vysokým koncentracím fumonisinu B1 a to zejména v kukuřici. Jako vysoký demografický ukazatel je karcinom jícnu pozorován v několika oblastech Jižní Afriky, v Číně a v severovýchodní části Itálie (Malíř, Ostrý *et al.*, 2003; Coppock & Jacobsen, 2009). Fumonisin B1 byl také izolován v kukuřičné mouce a kukuřičné krupici v Jižní Karolíně, jakožto ve městě s nejvyšším výskytem rakoviny jícnu v USA (Redy *et al.*, 2010). Výskyt rakoviny jícnu také vysoce koreluje s kouřením a konzumací alkoholu (IARC, 2012).

Závěr

Mykotoxiny, jakožto sekundární metabolity vláknitých mikroskopických hub, patří k celosvětově rozšířeným látkám a k nejzávažnějším kontaminantům přírodního původu zejména pak v oblasti zemědělství. Mykotoxiny vykazují různé nepříznivé toxické účinky, které zásadně ovlivňují lidský a zvířecí organismus. Mezi takovéto toxické účinky patří jmenovitě např. karcinogenní účinky, mutagenní účinky a v neposlední řadě neurotoxické účinky. Neustále také dochází k objevování nových mykotoxinů, které představují zdravotní riziko, proto se mykotoxiny řadí mezi látky, které je nutné neustále sledovat a věnovat jim trvalou pozornost.

Za hlavní přívodnou cestu mykotoxinů do organismu je považována dietární expozice. K největšímu přívodu mykotoxinů dochází požitím zejména cereálních výrobků. A to dokonce více než při požití živočišných tkání, to díky prostému důvodu – v organismu živočicha dochází k metabolizaci, tedy k látkové přeměně. V poslední době velkou roli v rozšíření mykotoxinů hraje i globální oteplování. Dochází pak k výskytu mykotoxinů v zeměpisných šířkách, ve kterých se dříve nenacházely. Například aflatoxiny, které se dříve vyskytovaly pouze ve skladovacích zařízeních v dané zeměpisné šířce, se nyní už běžně vyskytují i v polních podmínkách. The World Mycotoxin Forum (2012) zveřejnilo článek o tom, že roku 2004 výzkumné centrum BIOMIN zahájilo průzkumný program pro posouzení rozsahu kontaminace mykotoxinů v krmivech. Data z tohoto průzkumu potvrzují, že vysoká kontaminace mykotoxiny je často spojena s neobvyklými nebo extrémními klimatickými jevy. Celkově pak 72% vzorků obsahovalo detekovatelné množství aflatoxinů, fumonisinů, deoxynivalenolu, zearalenonu nebo ochratoxinu A. Společná kontaminace dvěma a více mykotoxiny byla zjištěna u 38 % vzorků.

Díky nepřesně známým mechanismům toxických účinků mykotoxinů jsou stále nejasné souvislosti mezi chronickými intoxikacemi způsobené mykotoxiny a vznikem chorob. Zejména riziko pozdních toxických účinků je v ČR považováno za významné. Navíc díky globalizaci potravinového trhu už i v ČR dochází ke zvýšenému riziku akutních toxických účinků mykotoxinů. Proto Evropská komise stanovuje maximální limity mykotoxinů v potravinách. U krmiv je to však složitější

a řešení probíhá jen formou doporučení (v krmivech se nachází více mykotoxinů), z toho důvodu mají mykotoxiny větší dopad na zvířata než na lidi.

Literatura

- [1] ALI N., BLASZKEWICZ M., AL NAHID A., RAHMAN M., DEGEN G. H. 2015: Deoxynivalenol Exposure Assessment for Pregnant Women in Bangladesh. *Toxins*, 7: 3845-3857. ISSN 2072-6651.
- [2] ANATER A., MANYES L., MECA G., FERRER E., LUCIANO B. F., PIMPÃO C. T., FONT G. 2015: Mycotoxins and their consequences in aquaculture. *Aquaculture* 451: 1-10.
- [3] ANTONISSEN G., DEVREESE M., VAN IMMERSEEL F., DE BAERE S., HESSENBERGER S., MARTEL A., CROUBELS S. 2015: Chronic Exposure to Deoxynivalenol Has No Influence on the Oral Bioavailability of Fumonisin B1 in Broiler Chickens. *Toxins*, 7: 560-571. ISSN 2072-6651.
- [4] AWAD W., GHAREEB K., BÖHM J., ZENTEK J. 2013: The Toxicological Impacts of the Fusarium Mycotoxin, Deoxynivalenol, in Poultry Flocks with Special Reference to Immunotoxicity. *Toxins*, 5: 912-925. ISSN 2072-6651.
- [5] CAST: Council for Agricultural Science and Technology 2003: *Mycotoxins: Risks in Plant, Animal, and Human Systems*. Ames, Iowa, USA, 199 s. ISBN 1-887383-22-0.
- [6] CLARK E. S., FLANNERY B. M., PESTKA J. J. 2015: Murine Anorectic Response to Deoxynivalenol (Vomitoxin) Is Sex-Dependent. *Toxins*, 7: 2845-2859. ISSN 2072-6651.
- [7] COPPOCK R. W., JACOBSEN B. 2009: Mycotoxins in animal and human patients. *Toxicology and Industrial Health* 25(9-10): 637-655.
- [8] DÄNICKE S., WINKLER J. 2015: Diagnosis of zearalenone (ZEN) exposure of farm animals and transfer of its residues into edible tissues (carry over). *Food and Chemical Toxicology* 84: 225-249.
- [9] DVOŘÁČKOVÁ I. 1990: *Aflatoxins and Human Health*. ISBN 0-8493-4628-2.

- [10] ELSHAFIE S. Z. B., ELMUBARAK A., EL-NAGERABI S. A. F., ELSHAFIE A. E. 2010: Aflatoxin B1 Contamination of Traditionally Processed Peanuts Butter for Human Consumption in Sudan. *Mycopathologia* 171: 435–439.
- [11] FLORES-FLORES M. E., LIZARRAGA E., LOPÉZ DE CERAIN A., GONZÁLEZ-PEÑAZ E. 2015: Presence of mycotoxins in animal milk. *Food Control* 53: 163-176.
- [12] GARCÍA-MORALEJA A., FONT G., MAÑES J., FERRER E. 2015: Simultaneous determination of mycotoxin in commercial coffee. *Food Control* 57: 282-292.
- [13] HEUSSNER A. H., BINGLE L. E. H. 2015: Comparative Ochratoxin Toxicity: A Review of the Available Data. *Toxins*, 7: 4253-4282. ISSN 2072-6651.
- [14] HRDINA V., HRDINA R., JAHODÁŘ R., MARTINEC Z., MĚRKA V. 2004: Přírodní toxiny a jedy. Galén-Karolinum 1. vyd., 302 s. ISBN 80-246-0823-5
- [15] HSIEH 1898: In Council for Agricultural Science and Technology 2003: *Mycotoxins: Risks in Plant, Animal, and Human Systems*. Ames, Iowa, USA, 199 s. ISBN 1-887383-22-0.
- [16] IARC (International Agency for Research on Cancer). 1993: IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans: Some naturally occurring substances, food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins, Vol. 56. 599 s. ISBN 92 832 1256-8.
- [17] IARC (International Agency for Research on Cancer). 2002: IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans: Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene, Vol. 82. 590 s. ISBN 92 832 1282 7.
- [18] IARC (International Agency for Research on Cancer). 2012: IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans: Chemical agents and related occupations, A review of human carcinogens, Vol. 100 F. 599 s. ISBN 978 92 832 1323 9.
- [19] KELLER L., ABRUNHOSA L., KELLER K., ROSA C. A., CAVAGLIERI L., VENANCIO A. 2015: Zearalenone and Its Derivatives α -Zearalenol and β -Zearalenol

Decontamination by *Saccharomyces cerevisiae* Strains Isolated from Bovine Forage. *Toxins*, 7: 3297-3308. ISSN 2072-6651.

[20] KENSLER T. W., ROEBUCK B. D., WOGAN G. N., GROOPMAN J. D. 2010: Aflatoxin: A 50-Year Odyssey of Mechanistic and Translational Toxicology. *Toxicological Sciences* 120(S1): 28–48.

[21] KLAASSEN C. D. 2008: Casarett and Doull's Toxicology The Basic Science of Poisons, Seventh Edition. The McGraw-Hill Companies. 1309 s. ISBN 0-07-147051-4.

[22] MALÍŘ F., OSTRÝ V., BÁRTA I., BUCHTA V., DVOŘÁČKOVÁ I., PAŘÍKOVÁ J., SEVERA J., ŠKARKOVÁ J. 2003: Vlákňité mikromycety (plísňe), mykotoxiny a zdraví člověka. Vyd. 1. Brno: Národní centrum ošetřovatelství a nelékařských zdravotnických oborů v Brně, 349 s. ISBN 80-7013-395-3.

[23] MALÍŘ F., OSTRÝ V. 2012: Aflatoxiny – toxické účinky u člověka. *Časopis KONTAKT*: 14/1: 85–93. ISSN 1212-4117.

[24] MALÍŘ F., OSTRÝ V., PFOHL-LESZKOWICZ A., ROUBAL T. 2012: Ochratoxin A exposure biomarkers in the Czech Republic and comparison with foreign countries. *Biomarkers*: 1–13. ISSN 1354-750X.

[25] MALÍŘ F., OSTRÝ V., NOVOTNÁ E. 2013a: Toxické účinky vybraných trichotecenových (epoxytrichotecenových) mykotoxinů u člověka. *Časopis KONTAKT*: 15/1: 89–99, ISSN 1212-4117.

[26] MALÍŘ F., OSTRÝ V., NOVOTNÁ E. 2013b: Toxicity of the mycotoxin ochratoxin A in the light of recent data. *Toxin Reviews*, 32(2): 19–33. ISSN 1556-9551.

[27] MALÍŘ F., OSTRÝ V., DOFKOVÁ M., ROUBAL T., DVOŘÁK V., DOHNAL V. 2013c: Ochratoxin A levels in blood serum of Czech women in the first trimester of pregnancy and its correspondence with dietary intake of the mycotoxin kontaminant. *Biomarkers*, 18(8): 673–678. ISSN 1366-5804.

[28] MALÍŘ F., OSTRÝ V., PFOHL-LESZKOWICZ A., NOVOTNÁ E. 2014a: Ochratoxin A: Developmental and Reproductive Toxicity — An Overview. *Wiley Periodicals, Inc. Birth Defects Research (Part B)* 00:1–10.

- [29] MALÍŘ F., OSTRÝ V., PFOHL-LESZKOWICZ A., TOMAN J., BAZIN I., ROUBAL T. 2014b: Transfer of Ochratoxin A into Tea and Coffee Beverages. *Toxins*, 6: 3438-3453. ISSN 2072-6651.
- [30] OSTRÝ V., MALÍŘ F., RUPRICH J. 2013: Producers and Important Dietary Sources of Ochratoxin A and Citrinin. *Toxins*, 5: 1574-1586. ISSN 2072-6651.
- [31] OSTRÝ V., MALÍŘ F., DOFKOVÁ M., SKARKOVA J., PFOHL-LESZKOWICZ A., RUPRICH J. 2015: Ochratoxin A Dietary Exposure of Ten Population Groups in the Czech Republic: Comparison with Data over the World. *Toxins*, 7: 3608-3635. ISSN 2072-6651.
- [32] OSTRÝ V., MALÍŘ F., JEFREMOVA M., RUPRICH J. 2016: Global warming, climate change and food safety of animal origin. *Časopis Maso* 1/2016. Brno. ISSN 1210-4086.
- [33] PERAICA M., RADIĆ B., LUCIĆ A., PAVLOVIĆ M. 1999: Toxic effects of mycotoxins in humans. *Bulletin of the World Health Organization*, 77(9): 754-766.
- [34] PIETSCH C., KERSTEN S., VALENTA H., DÄNICKE S., SCHULZ C., BURKHARDT-HOLM P., JUNGE R. 2015: Effects of Dietary Exposure to Zearalenone (ZEN) on Carp (*Cyprinus carpio L.*). *Toxins*, 7: 3465-3480. ISSN 2072-6651.
- [35] PRZYBYLSKA-GORNOWICZ B., TARASIUK M., LEWCZUK B., PRUSIK M., ZIÓLKOWSKA N., ZIELONKA L., GAJECKI M., GAJECKA M. 2015: The Effects of Low Doses of Two Fusarium Toxins, Zearalenone and Deoxynivalenol, on the Pig Jejunum. A Light and Electron Microscopic Study. *Toxins*, 7: 4684-4705. ISSN 2072-6651.
- [36] RAIOLA A., TENORE G. C., MANYES L., MECA G., RITIENI A. 2015: Risk analysis of main mycotoxins occurring in food for children. *Food and Chemical Toxicology* 84: 169-180.
- [37] REDDY K. R. N., SALLEH B., SAAD B., ABBAS H. K., ABEL C. A., SHIER W. T. 2010: An overview of mycotoxin contamination in foods and its implications for human health. *Toxin Reviews*, 29(1): 3-26. ISSN 1556-9543.

[38] The World Mycotoxin Forum: 7th conference of The World Mycotoxin Forum and 13th IUPAC International Symposium on Mycotoxins and Phycotoxins. Rotterdam, the Netherlands: 5 – 9 November 2012.

[39] WEGULO S. N. 2012: Factors Influencing Deoxynivalenol Accumulation in Small Grain Cereals. *Toxins*, 4: 1157-1180. ISSN 2072-6651.

[40] WEIDENBÖRNER M. 2001: *Encyclopedia of Food Mycotoxins*. Springer-Verlag. ISBN 3540675566.

[41] ZIELONKA L., WAŚKIEWICZ A., BESZTERDA M., KOSTECKI M., DABROWSKI M., OBREMSKI K., GOLIŃSKI P., GAJECKI M. 2015: Zearalenone in the Intestinal Tissues of Immature Gilts Exposed *per os* to Mycotoxins. *Toxins*, 7: 3210-3223. ISSN 2072-6651.

Elektronické knihy

[1] BARCELOUX D. G. 2008: Medical Toxicology of Natural Substances: Foods, Fungi, Medicinal Herbs, Plants, and Venomous Animals. John Wiley & Sons. 1200 s. ISBN: 978-0-471-72761-3 [online]. [cit. 2015-10-22]. Dostupné z: <https://books.google.cz/books?id=aTTBPedwFfAC&pg=PT817&dq=mycotoxins+illness&hl=cs&sa=X&ved=0CDoQ6AEwBGoVChMI4ZO77pixyAIVw4ksCh3qtQv1#v=onepage&q=mycotoxins%20illness&f=false>

[2] BRÄSE S., GLÄSER F., KRAMER C. S., LINDNER S., LINSSENMEIER S. M., MASTERS K.-S., MEISTER A. C., RUFF B. M., ZHONG S. 2013: The Chemistry of Mycotoxins. Progress in the Chemistry of Organic Natural Products. Vienna: Springer. 300s. ISBN 978-3-7091-1312-7 [online]. [cit. 2015-10-20]. Dostupné z: <https://books.google.cz/books?id=6SFGAAAAQBAJ&pg=PA237&dq=mycotoxins+and+their+metabolites+in+humans+and+animals+pdf&hl=cs&sa=X&ved=0CCIQ6AEwAWoVChMI6e6H6Z2GyQIVS55yCh3SIQk0#v=onepage&q=mycotoxins%20and%20their%20metabolites%20in%20humans%20and%20animals%20pdf&f=false>

[3] DIJKSTERHUIS J., SAMSON R. A. 2007: Food Mycology: A Multifaceted Approach to Fungi and Food. Boca Raton: CRC Press. 424s. ISBN 978-0-8493-9818-6 [online]. [cit. 2015-10-15]. Dostupné z: <https://books.google.cz/books?id=AyQT3zQm14QC&printsec=frontcover&dq=food+mycology&hl=cs&sa=X&ved=0CBsQ6AEwAGoVChMIhqH507jdyAIVyrsUCh2ccAuA#v=onepage&q=food%20mycology&f=false>

[4] EATON D. L., GROOPMAN J. D. 1994: The toxicology of aflatoxins human health veterinary and agricultural significance. Academic Press, Inc. 544s. ISBN 0-12-228255-8 [online]. [cit. 2015-11-18]. Dostupné z: <https://books.google.cz/books?id=6SAlBQAAQBAJ&pg=PA428&dq=aflatoxins&hl=cs&sa=X&ved=0CDAQ6AEwA2oVChMIvIXc-ZTZyAIVBC4aCh1VEAOf#v=onepage&q=aflatoxins&f=false>

[5] FRATAMICO P. M., BHUNIA A. K., SMITH J. L. 2005: Foodborne Pathogens: Microbiology and Molecular Biology. Wymondham, Norfolk, UK: Caister Academic Press. 453 s. ISBN 1-904455-00-X [online]. [cit. 2015-11-4]. Dostupné z:

<https://books.google.cz/books?id=-HNavPPs->

[JoC&pg=PA210&dq=mycotoxins,+possible+causative+agents+of+diseases+in+humans+and+animals&hl=cs&sa=X&ved=0CB4Q6AEwAGoVChMI9KqW5JmxyAIVRNgsCh0Iewp5#v=onepage&q=mycotoxins%2C%20possible%20causative%20agents%20of%20diseases%20in%20humans%20and%20animals&f=false](https://books.google.cz/books?id=-HNavPPs-)

[6] GOLDBLATT L. A. 1969: Aflatoxin: Scientific Background, Control, and Implications. Academic Press, London, New York. 472 s. [online]. [cit. 2015-10-21].

Dostupné z:

https://books.google.cz/books?id=0rhSiCG3li4C&printsec=frontcover&dq=aflatoxin&hl=cs&sa=X&ved=0CCIQ6AEwAWoVChMI7Juwj_TYyAIVhu0UCh3O3Aoe#v=onepage&q=aflatoxin&f=false

[7] HAYES A. W. 2008: Principles and methods of toxicology, fifth edition. New York: Informa Healthcare. 2296 s. ISBN 978-0-8493-3778-9 [online]. [cit. 2015-10-27]. Dostupné z:

https://books.google.cz/books?id=vgHXTId8rnYC&pg=PA662&dq=trichothecenes&hl=cs&sa=X&ved=0CGcQ6AEwCmoVChMI7jfyZfZyAIVyNoaCh0x_grz#v=onepage&q=trichothecenes&f=false

[8] KOHMOTO K., YODER O. C. 1998: Molecular Genetics of Host-Specific Toxins in Plant Disease: Proceedings of the 3rd Tottori International Symposium on Host-Specific Toxins, Daisen, Tottori, Japan, August 24-29. Dordrecht: Springer Netherlands. 413 s. ISBN 978-94-011-5218-1 [online]. [cit. 2015-11-9]. Dostupné z:

https://books.google.cz/books?id=M-L6CAAQAQBAJ&pg=PA16&dq=trichothecenes&hl=cs&sa=X&ved=0CEYQ6AEwBmoVChMI7jfyZfZyAIVyNoaCh0x_grz#v=onepage&q=trichothecenes&f=false

[9] LESLIE J. F., BANDYOPADHYAY R., VISCONTI A. 2008: Mycotoxins Detection Methods, Management, Public Health and Agricultural Trade. Cambridge, CAB International. ISBN 978-1-84593-082-0 [online]. [cit. 2015-10-14]. Dostupné z: <https://books.google.cz/books?id=15uD7bddmCAC&printsec=frontcover&dq=mycotoxins&hl=cs&sa=X&ved=0CCsQ6AEwAmoVChMI3Kb5rJixyAIVRwcsCh2qbgzA#v=onepage&q=mycotoxins&f=false>

- [10] RAI M., VARMA A. 2010: Mycotoxins in Food, Feed and Bioweapons. New York: Springer. 405 s. ISBN 978-3-642-00725-5 [online]. [cit. 2015-10-29]. Dostupné z: <https://books.google.cz/books?id=4TBIAxuz0Z8C&pg=PA147&dq=Rai,+Varma+et+al.:+Mycotoxins+in+Food,+Feed+and+Bioweapons.&hl=cs&sa=X&ved=0CCAQ6AEwAGoVChMlirYiJqxyAIVw1wsCh3UrgvC#v=onepage&q=Rai%2C%20Varma%20et%20al.%3A%20Mycotoxins%20in%20Food%2C%20Feed%20and%20Bioweapons.&f=false>
- [11] VAN ALFEN N. K. 2014: Encyclopedia of Agriculture and Food Systems. Academic Press. ISBN 978-0-444-52512-3 [online]. [cit. 2015-11-24]. Dostupné z: <https://books.google.cz/books?id=Y-VfAwAAQBAJ&pg=RA2-PA222&dq=mycotoxins,+possible+causative+agents+of+diseases+in+humans+and+animals&hl=cs&sa=X&ved=0CCYQ6AEwAWoVChMI1dycopuxyAIViA8sCh1VHAuo#v=onepage&q=mycotoxins%2C%20possible%20causative%20agents%20of%20diseases%20in%20humans%20and%20animals&f=false>
- [12] WHO (World Health Organization) 2008: Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants: Sixty-eighth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Geneva: International Programme on Chemical Safety. 471 s. ISBN 978-92-4-166059-4 [online]. [cit. 2015-11-10]. Dostupné z: https://books.google.cz/books?id=xjeKTJhsqH4C&pg=PA361&dq=ochratoxiny&hl=cs&sa=X&ved=0CDcQ6AEwAmoVChMI0LWoyjXZyAIViToaCh2kiQ_0#v=onepage&q=ochratoxiny&f=false