

Vědecký výbor výživy zvířat

Vliv mykotoxinů sterigmatocystinu, moniliforminu, diacetoxyscirpenolu, phosmopsinu A a toxinů mikromycet rodu *Alternaria* na zdraví zvířat a bezpečnost potravin

**doc. MVDr. Ivan Herzig, CSc.
prof. MVDr. Ing. Pavel Suchý, CSc.
prof. Ing. E. Straková, Ph.D.**

Praha, září 2008



Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i.
Přátelství 815, Praha - Uhřetěves,
PSČ: 104 01, www.vuzv.cz

Obsah

Seznam použitých zkratek.....	3
1.0 Úvod	5
2.0 Zařazení sledovaných mykotoxinů z hlediska jejich chemického dělení, způsobu biosyntézy, toxicity kvalitativní, toxicity kvantitativní a podle účinku na buňku.....	6
2.1 Chemické dělení mykotoxinů.....	6
2.2 Dělení mykotoxinů podle způsobu biosyntézy.....	6
2.3 Dělení mykotoxinů podle toxicity – kvantitativní.....	7
2.4 Dělení mykotoxinů podle toxicity – kvalitativní.....	7
2.5 Rozdělení podle účinku na buňku.....	8
2.6 Původ nejdůležitějších mykotoxinů vyskytujících se v běžných krmivech.....	8
3.0 Mykotoxin <i>sterigmatocystin</i>	10
4.0 Mykotoxin <i>moniliformin</i>	13
5.0 Mykotoxin <i>diacetoxyscirpenol</i> (DAS)	17
6.0 Mykotoxin <i>phomopsin A</i>	22
7.0 Mykotoxiny rodu <i>Alternaria</i>	29
8.0 Souhrn.....	36
9.0 Závěr.....	38

Seznam použitých zkratk:

AAT	Alternaria alternata toxin
AFB-1	Aflatoxin B-1
ALT	Altenuene
AME	Alternariol monometyl éter
AOH	Alternariol
ATX I	Altertoxin I
ATX II	Altertoxin II
BEA	Beauvericin
CAS	Chemical Abstracts Services Registry No., registrační číslo Chemical Abstracts
DAS	Diacetoxyscirpenol
DNA	Deoxyribonucleic Acid, deoxyribonukleová kyselina
DON	Deoxynivalenol nebo jeho acetylované deriváty
EFSA	European Food Safety Authority, Evropský úřad pro bezpečnost potravin
EC	European Communiny, Evropská komise
EU	European Union, Evropská unie
FAO	Food and Agriculture Organization, Organizace pro potraviny a zemědělství
FB	Fumonisin B-1, B-2, B-3
FP	Fusaproliferin
FUS	Fusarin C
GB	Gibereliny
GIT	Gastrointestinální trakt
HT-2	HT-2 toxin
IARC	International Agency for Research on Cancer, Mezinárodní organizace pro výzkum rakoviny
LD ₅₀	Lethal Dosis 50, letální dávka pro 50 % testovaných organismů
LOEL	Lowest Observed Effect Level - nejnižší úroveň expozice, při které je ještě pozorována statisticky významná odpověď na statisticky významné úrovni ve srovnání s kontrolní skupinou, nejnižší dávka (koncentrace) vyvolávající škodlivý účinek
MAS	Monoacetoxyscirpenol
MED	Minimální efektivní dávka
MON	Moniliformin
NIV	Nivalenol nebo jeho acetylované deriváty
NOEL	No Observed Effect Level - nejvyšší úroveň expozice, při které není pozorována žádná odpověď na statisticky významné úrovni ve srovnání s kontrolní skupinou - odpovídá prahové hodnotě v grafech LD _x , hodnota dávky (koncentrace) bez pozorovaného účinku

PHO	Phomopsiny
SBS	Sick Building Syndrom - Syndrom nezdravých budov
SCIRP	Scirpentriol
STE	Sterigmatocystin
SZPI	Státní zemědělská a potravinářská inspekce
SZÚ	Státní zdravotní ústav
T-2	T-2 toxin
TAS	Triacetoxyscirpenol
TeA	Kyselina tenuazonová
URL	Uniform Resource Locator, jednotný lokátor zdrojů
ÚZPI	Ústav zemědělských a potravinářských informací
VVP	Vědecký výbor pro potraviny
VVVZ	Vědecký výbor výživy zvířat
WHO	World Health Organisation, Světová zdravotní organizace
ZEA	Zearalenon

1.0 Úvod

Zpracování literárních poznatků o výskytu a významu mykotoxinů sterigmatocystinu, moniliforminu, diacetoxyscirpenolu, phomopsinu A a toxinů mikromycet rodu *Alternaria* z hlediska vlivu na zdraví hospodářských zvířat, resp. bezpečnosti potravin je téma, které bylo navrženo v materiálu EFSA „Preliminary Management Plan of the European Food Safety Authority for 2008“ (EFSA, 2007).

V části Contam Panel tohoto materiálu je uvedeno „Four new mycotoxins have been detected and the EC might ask for opinion on the impact of these compounds on human and animal health“. Dále se uvádí (částka 133): „Requests related to the impact of mycotoxins such as sterigmatocystin, moniliformin, diacetoxyscirpenol (DAS), phomopsin A and alternaria toxins on human and animal health can also be envisaged“.

Návrh na vypracování studie na toto téma byl po diskuzi přijat na zasedání Vědeckého výboru výživy zvířat 7.12.2007 (Zápis ze zasedání VVVZ ze dne 7.12.2007).

Pro bezpečnost potravin a zdraví lidí představují mikromycety a mykotoxiny závažné riziko stejně jako pro kvalitu krmiv, užitkovost zvířat a jejich zdraví (Miller a Trenholm, 1994; Herzig, 2000). FAO odhaduje, že 25 % světových zásob zrnin je ročně kontaminováno mykotoxiny (Mannion a Blaney, 1985; Pasteiner, 1997) a dá se předpokládat, že ještě větší množství může být kontaminováno mykotoxiny dosud neidentifikovanými. Ekonomické ztráty v chovech hospodářských zvířat způsobené kontaminací krmiv mykotoxiny se odhadují na miliony dolarů (Jones et al., 1994).

Z pohledu ochrany zdraví spotřebitele se v současnosti stává prioritou zajištění zdravotní nezávadnosti potravin. Bezpečnost potravního řetězce je ovlivňována řadou faktorů. Významně se zde uplatňují biotechnologie výroby zemědělských produktů, zvláště pak oblast výroby krmiv a jejich bezpečnost (zdravotní a hygienická nezávadnost).

Cílem této studie bylo zpracování literárních poznatků o výskytu a významu uvedených mykotoxinů z hlediska vlivu na zdraví hospodářských zvířat, resp. bezpečnosti potravin a zdraví lidí. Studie shrnuje základní toxikologické a další informace o uvedených mykotoxinech.

Literatura

EFSA (2007): Parma, 13 April 2007 EFSA/AF/RU/2007/18/PUB/FINAL) Preliminary management plan of the European food safety authority for 2008.

Herzig I. (2000): Mykotoxiny – hrozba pro kvalitu krmiv, užitkovost zvířat i bezpečnost potravin. *Zemědělec*, VIII, 28: 6.

Jones T.J., Genter M.B., Hagler W.M., Hansen J.A., Mowrey B.A., Poors M.H., Whitlow L.W. (1994): Understanding and coping with effect of mycotoxins in live stock feed and forage. AG 523, NC State Univ. Raleigh, NC.

Mannion P.F., Blaney B.J. (1985): Fungi down on the farm. *New Scientist* 105, 1446: 12-16.

Miller J.D., Trenholm H.L. (1994): Mycotoxins in grain: Compounds other than aflatoxin. EganPress, St. Paul, Mn. 552.

Pasteiner S. (1997): Coping with mycotoxins-contaminated feedstuffs. *Feed International*: 12–18.

2.0 Zařazení sledovaných mykotoxinů z hlediska jejich chemického dělení, způsobu biosyntézy, toxicity kvalitativní, toxicity kvantitativní a podle účinku na buňku (Šimůnek, 2003)

Mykotoxiny lze rozdělit podle řady kritérií. Žádné z dosud používaných však nelze považovat za univerzálně použitelné. Nejjednodušší je rozdělení podle chemické struktury. Jeho výhodou je poměrně snadné a jednoznačné zařazení jakékoli látky o známé chemické struktuře.

2.1 Chemické dělení mykotoxinů (Polster, 1971; Polster, 1975)

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

Z hlediska toxikologické praxe má značný význam dělení podle toxicity, popř. vyčlenění mykotoxinů genotoxických a karcinogenních. Na konci 70. let se objevuje i třídění podle způsobu biosyntézy (Ueno, 1985; Uruguchi a Yamazaki, 1978). Jeho výhodou je velice dobré postižení vztahu k produkujícímu organismu a do určité míry respektuje i vztahy dané chemickou strukturou.

2.2 Dělení mykotoxinů podle způsobu biosyntézy (Ueno, 1985; Uruguchi a Yamazaki, 1978)

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

2.3 Dělení mykotoxinů podle toxicity - kvantitativní (Poster, 1975; Ueno, 1985)

Silně toxické:

aflatoxiny, patulin, luteoskyrin, sporidesminy, ochratoxin A, cyklochlorotin (islandotoxin), zearalenon (F-2 toxin), T-2 toxin, **diacetoxyscirpenol**, citreoviridin, rubratoxiny, penitrem A (nejnižší LD₅₀ ze známých mykotoxinů)

Středně toxické:

citrinin, kyselina penicillová, **sterigmatocystin**, kyselina cyklopiazonová

Slabě toxické:

griseofulvin, kyselina koji, trihothecin, kyselina mykofenolová, chaetomin

Nejtoxičtější mykotoxiny mají LD₅₀ pro běžná laboratorní zvířata blízkou KCN (cca 1 mg/kg tělesné hmotnosti) (Uraguchi a Yamazaki, 1978). Této hodnotě se blíží např. penitrem A. Většina důležitých mykotoxinů má LD₅₀ asi desetinásobnou. Existuje ovšem možnost vysoké toxicity vůči organismům v určité fázi vývoje. Např. toxicita aflatoxinu B-1 vůči savčím a ptačím mláďatům bývá i více než desetinásobná proti toxicitě vůči dospělým, jiné jsou s to vyvolat v dávkách netoxických pro dospělé úhyn a resorpci plodu. Toxicita pro člověka je ovšem pouhým odhadem podle toxicity vůči různým živočichům a dalším biologickým objektům. Karcinogenní účinky se zpravidla projevují již při dávkách, které nemají jiné pozorovatelné účinky. U některých látek je nutné zohledňovat i chronické nekarcinogenní účinky. Na základě extrapolací je poté stanovována tolerovatelná denní dávka, tj. taková, která by ani při dlouhodobém příjmu neměla mít negativní účinky.

2.4 Dělení mykotoxinů podle toxicity – kvalitativní

Toxické účinky mykotoxinů (Ostrý, 2000)

Dermatotoxiny	trichotheceny, psolareny verrucariny, sporidesminy, sterigmatocystin
Estrogeny	zearalenon
Genotoxiny	aflatoxiny, sterigmatocystin , ochratoxin A, citrinin, zearalenon, patulin, trichotheceny, fumonisiny, fusarin C, griseofulvin
Hematotoxiny	aflatoxiny, ochratoxin A, zearalenon, trichotheceny
Hepatotoxiny	aflatoxiny, luteoskyrin, sterigmatocystin , phomopsin A
Imunotoxiny	aflatoxiny, ochratoxin A, trichotheceny, patulin, gliotoxin, sporidesmin
Nefrotoxiny	citrinin, ochratoxin A
Neurotoxiny	penitrem A, fumitremorgeny, verruculogeny, fumonisiny
Toxiny zažívacího traktu	trichotheceny

Toxické účinky mykotoxinů (Nilipour, 2002; Šimůnek, 2003)

Hepatotoxiny	aflatoxiny, sporidesminy, luteoskyrin, sterigmatocystin , phomopsin A aj.
Nefrotoxiny	AFB-1, ochratoxin A, citrinin, sterigmatocystin
Toxiny zažívacího traktu	T-2 toxin a další trichotheceny
Neurotoxiny a mykotoxiny	tremorgeny (např. penitrem A), citreoviridin
Dermotoxiny	verrucariny, psoraleny, sporidesminy, trichotheceny aj.
Toxiny dýchacího traktu	paulin
Genitotoxiny	zearalenony
Imunotoxiny	aflatoxiny, ochratoxin A, trichotheceny aj.
Toxiny nezařaditelné nebo málo prozkoumané	

Austvickovo schéma z roku 1976 bylo z praktických důvodů doplněno o poslední dvě skupiny. V jiných obdobných schématech bývají spojovány neuro- myo- a genitotoxiny do jedné skupiny - toxinů narušujících přenos informací v organismu. Upraveno podle Postera (1975).

Uvedené rozdělení má některé nevýhody. Již na poměrně malém výběru lze najít toxiny rovnocenně zařazené do více skupin (trichotheceny mají účinky dermatotoxické, neurotoxické i vůči zažívacímu traktu). V podobných případech bývá toxin často zařazen podle historického aspektu - které účinky byly objeveny jako první a více se vžily.

2.5 Rozdělení podle účinku na buňku

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

Řadu mykotoxinů do tohoto schématu dosud nedovedeme zařadit (Ueno, 1985).

2.6 Původ nejdůležitějších mykotoxinů vyskytujících se v běžných krmivech a pícech je uveden v následujícím přehledu (D'Mello, 1999, cit. Suchý a Herzig, 2005).

Mykotoxiny	Druhy plísní
Aflatoxiny	Aspergillus flavus, A. parasiticus

Kyselina cyklopiazonová	A. flavus
Ochratoxin A	A. ochraceus, Penicillium viridicatum, P. cyclopium
Citrinin	P. citrinum, P. expansum
Patulin	P. expansum
Citreoviridin	P. citreo-viride
Deoxynivalenol	Fusarium culmorum, F. graminearum
T-2 toxin4	F. sporotrichiodes, F. poae
Diacetoxyscirpenol (DAS)	F. sporotrichioides, F. graminearum, F. poae, F. culmorum, F. graminearum, F. sporotrichoides
Zearalenon	F. culmorum, F. graminearum, F. sporotrichoides
Fumonisy, moniliformin , kyselina fusarová	F. moniliforme
Kyselina tenuazonová, alternariol, aternariol methyl ester, altenuen	Alternaria alternata
Ergopeptinové alkaloidy	Neotyphodium coenophialum
Lolitremové alkaloidy	N. lolii
Námelové alkaloidy	Claviceps purpurea
Phomopsiny	Phomopsis leptostromiformis
Sporidesmin A	Pithomyces chartarum

Literatura

- D'Mello J.P.F., Palcinta C.M., MacDonald A.M:C. (2004): Fusarium mycotoxins: A review of global implications for animal health, welfare and productivity. Anim. Feed Sci. Technol., 80 (3-4): 183-205.
- Nilipour A.H. (2002): Mycotoxins, an insidious global concern. World Poul., 2: 18-20.
- Ostrý V. (2000): Mikroskopické vláknité houby. Účinky mykotoxinů na lidské zdraví. Vesmír 79, 4: 187.
- Polster M. (1971): Toxinogenní plísně a mykotoxiny v potravinách. Ústav pro další vzdělávání středních zdravotnických pracovníků, Brno. 84 s.
- Polster M. (1975): Mykotoxiny. (Přednáška pro brněnskou pobočku ČSVSM), Brno.
- Suchy P., Herzig I. (2005): Plísně a mykotoxiny. Prevence jejich vzniku a dekontaminace v krmivech. Studie VVVZ. 25 s.
- Šimůnek J. (2003): Mykotoxiny. www.med.muni.cz/prelek/mykotw/mtobec.htm -16k.
- Ueno Y. (1985): The toxicology of mycotoxins. CRC Crit. Rev. Toxicol., 14 (2), 99 – 132.
- Uraguchi K., Yamazaki M. (1978): Toxicology biochemistry and pathology of mycotoxins. Kodansha LTD., Tokyo. 290 s.

3.0 Mykotoxin *sterigmatocystin*

Název: 3a,12c-dihydro-8-hydroxy-6-methoxy-7-H-furo-[3',2':4,5]furo[2,3-c]xanthen-7-on

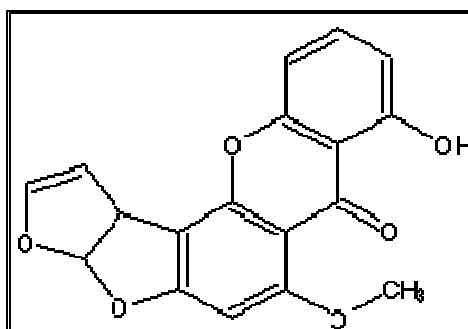
CAS: 10048-13-2

Sumární vzorec: C₁₈H₁₂O₆

Molekulová hmotnost: 324.29 g/mol

Teplota tání: 242 - 244 °C

IARC: 2B



Rod *Aspergillus*, kam patří i hlavní producent sterigmatocystinu *Aspergillus versicolor*, zahrnuje více než 185 druhů. Dosud bylo u asi 20 druhů prokázáno, že byly příčinou příležitostných infekcí u člověka. Mezi ně patří *A. fumigatus* nejběžněji izolovaný druh, dále *A. flavus* a *A. niger*. Mezi druhy méně často izolované a označené jako příležitostné patogeny patří *A. clavatus*, *A. glaucus*, *A. nidulans*, *A. oryzae*, *A. terreus*, *A. ustus* a *A. versicolor*.

Sterigmatocystin byl poprvé izolován v roce 1954 (Hadsuda a Kuyama, 1954). Je produkován mikroskopickými houbami *Aspergillus versicolor*, *A. rugulosus*, *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. nidulans* a *Penicillium sp.* (Bartoš a Matyáš, 1983), dále druhy *Bipolaris nodulosa*, *Farrovia malayensis* a *Monocillium nordinii*. V poslední době byly jako producenti sterigmatocystinu potvrzeny další druhy *Emericella venezuelensis* a *E. astellata* (Frisvad a Samson, 2004a; Frisvad et al., 2004b).

Sterigmatocystin stojí poněkud v pozadí za chemicky příbuznými aflatoxiny. Svoji strukturou a účinky se mykotoxin sterigmatocystin podobá aflatoxinům. Je prekurzorem aflatoxinu B-1, je hepatotoxický, karcinogenní, i když jeho toxicita je menší než u aflatoxinu.

Zdá se, že část biochemických pochodů, vedoucích ke tvorbě mykotoxinů, mají sterigmatocystin a aflatoxiny společnou. Při uměle zavedených metabolických blocích končí biosyntéza u versicolorinů. Sterigmatocystin září pod ultrafialovým zářením (365 nm) slabě cihlově, pod krátkovlnným intenzívně žlutě. Po postříku AlCl₃ září i pod UV 360 nm intenzívně žlutě.

Podle klasifikace Mezinárodní organizace pro výzkum rakoviny (IARC) je sterigmatocystin zařazen do skupiny 2B^{*}), což znamená, že je možným karcinogenem pro lidi. Prakticky je riziko velmi nízké, neboť tato substance se nachází na kůře sýrů s plísní a proto

pravděpodobnost denní expozice je velmi malá. Zaplísňená kůra sýru by neměla být konzumována, ale po odstranění kůry, sýr může být konzumován.

*) IARC třídí činitele, směsi a ohrožení do pěti kategorií.

- Category 1: carcinogenic to humans (karcinogenní pro lidi).
- Category 2A: probably carcinogenic to humans (pravděpodobně karcinogenní).
- Category 2B: possibly carcinogenic to humans (možná karcinogenita).
- Category 3: not classifiable as to carcinogenicity in humans (nezařaditelný jako karcinogenní).
- Category 4: probably not carcinogenic to humans (pravděpodobně nekarcinogenní).

Sterigmatocystin je toxin typu dermatotoxin. Je hepatotoxický, jeho karcinogenita je pravděpodobná. Je spojován s karcinomem jícnu v Číně a karcinomem jater v Mosambiku. Sterigmatocystin vyvolává u opic a potkanů nephritis a hepatitis a je hepatokarcinogenní u potkanů. Sterigmatocystin je mykotoxin, inhibující syntézu DNA. Popsány byly jeho účinky antibiotické, hepatotoxické, mutagenní a karcinogenní (Adensam et al., 1990; Betina, 1991).

Zdrojem jsou obiloviny a výrobky z nich (mouka, chléb), sýry, masné výrobky (Dlouhý, 1998). Sterigmatocystin byl zjištěn jako přirozený kontaminant kukuřičné mouky z Jižní Afriky (Holzapfel et al., 1966), zelené kávy z Jižní Afriky (Purchase a Pretorius, 1973), pšenice z Kanady (Wallace a Sinha, 1962, Scott et al., 1972) a ječmene z Anglie (Shreewe et al., 1975). Sterigmatocystin kontaminuje slad, rýži, obilí, kávové boby a sýry. Weidenboerner (2000) (cit. Tanaka et al., 2007) např. uvádí rozsah koncentrace sterigmatocystinu v rýži od 50 do $\leq 16\,300$ $\mu\text{g}/\text{kg}$. U nás byl nalezen v sýrech i dalších substrátech. Bartoš a Matyáš (1983) prokázali přítomnost sterigmatocystinu ve dvou vzorcích kukuřice a dvou vzorcích ječmene ze 74 vyšetřených vzorků zrnin získaných z území bývalé ČSR.

Northolt et al. (1980) zjistili v Holandsku při zrání sýrů výskyt různých mikromycet. Při zaplísňení *A. versicolor* provedli vyšetření na přítomnost sterigmatocystinu a z 39 vzorků potvrdili přítomnost tohoto mykotoxinu v povrchové vrstvě sýrů u 9 vzorků v množství 5 až 600 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Pozitivní průkaz sterigmatocystinu v tvrdých sýrech vyrobených v našich podmínkách zaznamenali Bartoš a Matyáš (1982). Uvádějí, že mikroskopické houby se do sýrů dostanou velmi snadno při zrání v sýrárnách, ve skladištích, v obchodech, ale i v domácnosti. Toxické metabolity mikromycet nemusí mít vliv na organoleptickou jakost sýrů, pronikají pod povrch a tak čištění povrchu sýrů nemusí být postačující. Např. v Ras sýru, což je velmi populární tvrdý sýr konzumovaný v Egyptě, byl sterigmatocystin prokázán v 35 % vzorků, při průměrné hodnotě 22,2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (Abd Alla et al., 1996). Aly et al. (2007) uvádějí, že propolis v koncentraci 1000 ppm může preventivně ovlivnit růst mikroskopických hub v Ras sýru a i produkci sterigmatocystinu.

V našich podmínkách v rámci monitoringu SZPI (Anonym, 2002) jsou systematicky sledovány aflatoxiny, ochratoxin A a patulin. Sledování bylo rozšířeno o mykotoxiny deoxynivalenol, sterigmatocystin a aflatoxin M-1. Celkem bylo na přítomnost uvedených mykotoxinů odebráno 473 vzorků, z čehož byl u 36 vzorků zaznamenán pozitivní nález některého z mykotoxinů. Ve čtyřech případech došlo k překročení hygienického limitu. Přítomnost sterigmatocystinu (Anonym, 2002) nebyla zjištěna v žádném ze vzorků rýže (n = 11), skořápkových plodů (n = 14) a mlýnských obilných výrobků (n = 10).

V laboratořích SZPI bylo rovněž analyzováno 40 vzorků pšeničné a kukuřičné mouky, rýže, krupice a bezlepkové mouky na obsah mykotoxinu deoxynivalenolu a 44 vzorků různých druhů mouky, rýže, krup, müsli, pšeničných, ječných a žitných vloček a pšenice na přítomnost

mykotoxinu sterigmatocystinu. Ani v jednom případě se neprokázal nadlimitní obsah těchto látek a všechny odebrané vzorky byly zdravotně nezávadné (Anonym, 2002).

Literatura

- Abd Alla E.A.M., Metwally M.M., Mehriz A.M., Abu Sree Y.H. (1996) Sterigmatocystin : Incidence, fate and production by *Aspergillus versicolor* in Ras cheese. *Nahrung* 40, 6: 310-313.
- Aly S.A., Elewa N.A. (2007): The effect of Egyptian honeybee propolis on the growth of *Aspergillus versicolor* and sterigmatocystin biosynthesis in Ras cheese. *Journal of Dairy Research*, 74: 74-78.
- Anonym (2002): Celkový přehled sledovaných komodit a analytů v rámci plánované kontroly cizorodých látek v roce 2002 (www.szpi.gov.cz). Odbor kontroly, laboratoří a certifikace SZPI.
- Adensam L., Lebedová M., Turek M. (1990): Stanovení nízkých koncentrací sterigmatocystinu. *Čs. Hyg.*, 35, 1: 8-12.
- Bartoš J., Matyaš Z. (1982): Examination of cheeses for sterigmatocystine. *Vet. Med.*, 27 (12): 747-752.
- Bartoš J., Matyaš Z. (1983): Research on sterigmatocystine in czechoslovak-produced grain. *Vet. Med.*, 28 (3): 189-192.
- Betina V. (1991): Biochemické mechanismy účinku mykotoxínů z mikromycét. *Biol. listy*, 56, 3: 174-193.
- Dlouhý P. (1998): Mykotoxiny I. Diabetologie, metabolismus, endokrinologie, výživa, 2: 80-85 (cit. Adensam et al., 1990; Betina, 1991).
- Frisvad J.C., Samson R.A. (2004a): *Emericella venezuelensis*, a new species with stellate ascospores producing sterigmatocystin and aflatoxin B-1. *Systematic and applied microbiology*, 27: 672-680.
- Frisvad J.C., Samson R.A., Smedsgaard, J. (2004b): *Emericella astellata*, a new producer of aflatoxin B-1, B-2 and sterigmatocystin. *Letters in Applied Microbiology*, 38 (5): 440-445.
- Hatsuda Y., Kuyama S. (1954) cit. Bartoš J., Matyaš Z. (1983): Research on sterigmatocystine in czechoslovak-produced grain. *Vet. Med.*, 28 (3): 189-192.
- Holzappel C.W., Purchase I.F.H., Steyn P.S., Gouws L. (1966): The toxicity and chemical assay of sterigmatocystin, a carcinogen mycotoxins, and its isolation from two new fungal sources. *S. Afr. Med. J.*, 40: 11000-1101.
- Northolt M.D., Egmont van H.P., Soentoro P., Deijl E. (1980): Fungal growth and the presence of sterigmatocystin in hard cheese. *J. Ass.analyt. Chem.*, 63: 113-119.
- Purchase I.F.H., Pretorius M. (1973): Sterigmatocystinin coffee beans. *J. Assoc. Off. Analys. Chem.*, 56: 225-226.
- Scott P.M., Walbeek van W., Kennedy B., Anyeti D. (1972): Mycotoxins (ochratoxin A, citrinin and sterigmatocystine) and toxigenic fungi in grains and other agricultural products. *J. agric. Fd. Chem.*, 20: 1103-1109.
- Shreewe B.J., Patterson D.S.P., Roberts B.A. (1975): Investigation of suspected CASE of mycotoxicosis in farm animals in Britatain. *Vet. Rec.*, 97: 275-278.
- Tanaka K., Sago Y., Zheng Y., Nagakawa H., Kushihiro M. (2007): Mycotoxins in rice. *J. Food Mikrob.*, 119: 59-66.
- Wallace H.A.H., Sinha R.N. (1962): Fungi associated with hot spots in farm stored grain. *Can. J. Plant Sci.*, 42: 130-141.

4.0 Mykotoxin *moniliformin*

Název: 1-hydroxycyklobut-1-ene-3,4-dion

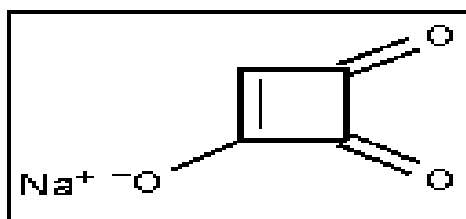
CAS: 71376-34-6

Molekulová hmotnost volné kyseliny: 98

Sumární vzorec $C_4H_2O_3$.

Molekulová hmotnost sodné soli: 120

Sumární vzorec: C_4HO_3Na



Moniliformin (MON) byl poprvé izolován a strukturně charakterizován v roce 1973 (Cole et al., 1973) jako sekundární metabolit mikroskopické houby *Fusarium moniliforme*, odtud také pochází jeho název. MON, hydroxycyklobutenedion, byl původně charakterizován jako extrakt z kultury *F. proliferatum* druh NRRL 6322 (Burmeister et al., 1979).

MON je mykotoxin vytvářený řadou Fusariových druhů, které zahrnují vedle *Fusarium moniliforme* (syn. *F. proliferatum*), *F. avenaceum*, *F. subglutinans*, *F. acuminatum*, *F. concolor*, *F. semitectum* a dalšími, v mnoha cereáliích, kukuřici, pšenici, rýži, ovsu, žitě, čiroku a prosu.

V současnosti výčet druhů rodu *Fusarium*, které produkují MON publikoval Glenn (2007), přehled zahrnuje druh fusarií, jeho nejčastější hostitele, oblast kde se endemicky vyskytuje a další vytvářené mykotoxiny.

Druhy rodu *Fusarium* tvořící moniliformin (Glenn, 2007)

Druh fusarií	Nejčastější hostitel	Endemický region	Další vytvářené mykotoxiny
<i>F. avenaceum</i>	kukuřice, pšenice, ječmen, oves	celosvětově	BEA, FUS
<i>F. furikuroi</i>	rýže	celosvětově	GB, BEA, FB
<i>F. napiforme</i>	čirok, proso	Afrika, Argentina	FB
<i>F. nygamai</i>	čirok, proso	Afrika, Austrálie	FB, BEA
<i>F. proliferatum</i>	kukuřice	celosvětově	FB, BEA, FP
<i>F. pseudonygemai</i>	proso	Afrika	FP
<i>F. subglutinans</i>	kukuřice	celosvětově	BEA, FP
<i>F. thapsinum</i>	čirok	celosvětově	
<i>F. verticillioides</i>	kukuřice	celosvětově	FB, FUS

MON byl identifikován jako sodná a draselná sůl 3-hydroxy-3-cyklobuten-1,2-dionu. Je velmi dobře rozpustný ve vodě a v polárních rozpouštědlech jako je methanol. Krystaly získané z vodného methanolu se rozkládají při 350 °C. Sodná a draselná sůl netaje při teplotách pod 320 °C. Záhřevem kontaminované kukuřice (1 mg K⁺ soli MON/kg materiálu) 30 minut na teplotu 100 °C se rozložilo 45 % moniliforminu.

F. moniliforme jako polní plíseň napadá oves, len, sóju, proso, ječmen, kukuřici a pšenici, může být přítomná i v kukuřici, která se zdá být zdravá (Christensen a Kaufmann, 1969). Houba způsobuje řadu onemocnění kukuřice a může při vyšší vlhkosti napadnout zrno.

F. moniliforme je uváděno jako původce kožních onemocnění lidí (Collins a Rinaldi, 1977), jako původce mycetomatosy v Evropě (chronické granulomatosní onemocnění především v tropických zemích) (Ajello et al., 1985), původce keratitidy (Duran et al., 1989), septické artritidy (Gradon et al., 1990), diseminovaných infekcí u pacientů s maligním lymfomem (Young et al., 1978) a u akutní lymfatické leukémie (Smith et al., 1993). Je také uváděn jako původce myotické pneumonie u aligátorů (Frelier et al., 1985).

Vzhledem k tomu, že houba *F. moniliforme* je přítomna jak na polních porostech, tak na skladovaném zrnu, produkované mykotoxiny ovlivňují zdraví zvířat. V práci Joffee et al. (1973) 74 extraktů z 87 druhů *F. moniliforme* vyvolaly toxické reakce na kůži králíků. Další práce (Korpinen a Yliimaki, 1972; Ueno et al., 1971; Ueno et al., 1973) prokázaly, že relativně vysoké procento druhů *F. moniliforme* produkuje mykotoxiny toxické pro myši.

Na základě laboratorních studií toxicity se potvrdilo, že MON je vysoce toxický pro drůbež (Burmeister et al., 1979). LD₅₀ pro kuřecí embrya byla 2,8 µg na vejce. Pro jednodenní kuřata infikovaná intraperitoneálně, byla LD₅₀ pro slepičky 20,9, pro kohoutky 29,1 mg/kg ž. hm. U kuřat, která byla krmena dávkou infikovanou *F. moniliforme* se vyvinulo onemocnění charakterizované těžkými deformitami běháků (Sharby et al., 1973). Houba *F. moniliforme* byla rovněž prokázána jako původce nemoci koňovitých (*Equidae*) uváděné jako blind staggers (slepá závrať), nemoc kukuřičných stvolů, nemoc plesnivé kukuřice a leukoencefalomalácie, která později implikuje CNS koní a oslů (Itellerman et al., 1972; Wilson a Maronpot, 1971).

MON vykazuje vysokou akutní toxicitu pro laboratorní zvířata, např. potkani, kuřata, kachny. LD₅₀ pro jednodenní kohoutky je 4,0 mg MON podané *per os*/kg ž. hm. (160 µg/40 g ž. hm.), při dávce 40 mg/kg nastala smrt do 45 minut. LD₅₀ pro myši samce je 20,9 mg MON/kg ž. hm. U pokusných zvířat byla pozorována progresivní svalová slabost, dýchací obtíže, cyanosa, následovalo koma a smrt. MON je také cytotoxický pro savčí buňky a je řazen mezi potenciální kardiotoxiny. Mechanismus toxického účinku spočívá v inhibici enzymů odpovědných za oxidativní dekarboxylaci pyruvátu na acetyl CoA a α-ketoglutarátu na sukcinyl CoA.

U krůtích kuřat, která dostávala krmnou směs s obsahem 0 až 300 mg MON/kg krmiva, zaznamenali Bermudez et al. (1997) významné hynutí kuřat u hladin 200, 250 a 300 mg MON/kg krmiva. Kuřata přijímající 100 a více mg MON/kg krmiva měla významně nižší příjem krmiva než kontrola. Snížená živá hmotnost byla rovněž zaznamenána u kuřat přijímající diety se 100 a více mg MON/kg. Výsledky pokusu ukázaly, že krmivo s obsahem vyšším než 50 mg MON/kg je pro krůtí kuřata toxické.

Sharma et al. (2008) ověřili samotný a kombinovaný účinek fumonisinu B-1 a MON u japonských křepelek. Pokusné skupiny byly krmeny 200 ppm fumonisinu B-1 (*Fusarium verticillioides*), 100 ppm MON (*Fusarium fujikuroi*) a kombinací 200 ppm fumonisinu B-1 a 100 ppm MON. Diety byly podávány od 1. do 35. dne věku kuřat a byly sledovány klinické příznaky, růst zvířat, biochemické parametry a buněčná imunita. Hynutí kuřat bylo u skupiny s fumonisinem 12,38 %, u skupiny MON 7,62 % a při kombinaci mykotoxinů byla nejvyšší 20,95 %. Všechny skupiny vykázaly nižší živou hmotnost než kontrola. Ve srovnání s kontrolou byly všechny sledované biochemické ukazatele (celkový protein, albumin, cholesterol, AST, LDH a kreatinkináza) u pokusných skupin vyšší. Kromě mortality a aktivity AST synergický efekt podávání kombinace fumonisinu a MON nezaznamenali.

Na Slovensku Labuda a Taninová (2006) mykologicky vyšetřili 100 vzorků krmných směsí pro drůbež. Nejčastěji byly zachyceny mikromycety rodu *Penicillium*, následoval rod *Aspergillus* a *Mucor*. Výsledky mykotoxikologického screeningu u potenciálních toxikogenních druhů ukázaly počet producentů mykotoxinů, zvláště těch tvořící aflatoxin B-1 (n = 3), citrinin (17), kyselina cyklopiazonová (76), fumonisin B-1 (86), griseofulvion (42), moniliformin (18), ochratoxin A (5), patulin (56), penitrem A (30) a sterigmatocystin (10).

Literatura

- Ajello L., Padhye A.A., Chandler F.W., McGinnis M.R., Morganti L., Alberici F. (1985): *Fusarium moniliforme*, a new mycetoma agent. Restudy of a European case. *Eur. J. Epidemiol.*, 1: 5-10.
- Bermudez A.J., Ledoux D.R., Rottinghaus G.E., Stogsdill P.L., Bennett G.A. (1997): Effects of feeding *Fusarium fujikuroi* culture material containing known levels of moniliformin in turkey poults. *Avian Pathol.*, 26 (3): 565-577.
- Burmeister H.R., Ciegler A., Vesonder R.F. (1979): Moniliformin, a metabolite of *Fusarium moniliforme* NRRL 6322: Purification and toxicity. *Appl. Environ. Microbiol.*, 37: 11-13.
- Cole R.J., Kirksey J.W., Cutler H.G., Doupnik B.L., Peckham J.C. (1973): Toxin from *Fusarium moniliforme*: effect on plants and animals. *Science*, 179: 1324-1326.
- Collins M.S., Rinaldi M.G. (1977): Cutaneous infection in man caused by *Fusarium moniliforme*. *Sabouraudia*, 15: 151-160.
- Duran J.A., Malvar A., Pereiro M. (1989): *Fusarium moniliforme* keratitis. *Acta Ophthalmol (Copenh)*, 67: 710-713.
- Frelter P.F., Sigler L., Nelson P.E. (1985): Mycotic pneumonia caused by *Fusarium moniliforme* in an alligator. *Sabouraudia*, 23: 399-402.
- Glenn A.E. (2007): Mycotoxigenic *Fusarium* species in animal feed. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 137: 213-240.
- Gradon J.D., Lerman A., Lutwick L.I. (1990): Septic arthritis due to *Fusarium moniliforme*. *Rev. Infect. Dis.*, 12: 716-717.
- Christensen C.M., Kaufmann H.H. (1969): Braun storage. University of Minnesota Press, Minneapolis.
- Itellerman T.S., Marasas W.F.O., Pienaar J.G., Naude T.W. (1972): A mycotoxicosis of Equidae caused by *Fusarium moniliforme* Sheldon. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 39:205-208.
- Joffe A.Z., Palti J., Arabel-Sherman R. (1973): *Fusarium moniliforme* Sheld. in Israel (*Gibberella fujikuroi* [Saw] [Wollenw.]). *Mycopathol. Mycol. Appl.* 50:85-107.
- Korpinen E.L., Yliimaki A. (1972): Toxicogenicity of some *Fusarium* strains. *Ann. Agric. Fenn.*, 11: 308-314.
- Labuda R, Tancinová D. (2006): Fungi recovered from Slovakian poultry feed mixtures and their toxinogenicity. *Ann. Agric. Environ. Med.*, 13 (2): 193-200.

Sharby T.F., Templeton G.E., Beasley J.N., Stephenson E.L. (1973): Toxicity resulting from Frediny experimentally molded corn to broiler chicks. *Poult. Sci.*, 52:1007-1014.

Sharma D., Asrani R.K., Ledoux D.R., Jindal N., Rottinghaus G.E., Gupta V.K. (2008): Individual and combined effects of fumonisin B-1 and moniliformin on clinicopathological and cell-mediated immune response in Japanese quail. *Poult. Sci.*, 87 (6): 1039-1051.

Smith A.G., Bustamante C.I., Wood C. (1993): Disseminated cutaneous and vascular invasion by *Fusarium moniliforme* in a fatal case of acute lymphocytic leukemia. *Mycopathologia*, 122: 15-20.

Ueno Y., Ishikawa Y., Nakajima M., Salai K., Ishii K., Tsunodo H., Saito L., Enomoto M., Ohtsubo K., Umeda M. (1971): Toxicological approaches to the metabolites of *Fusaria*. *Jpn. J. Exp. Med.*, 41: 257-272.

Ueno Y., Sato N., Ishii K., Tsunodo H., Enomoto M. (1973): Biological and chemical detection of trichothecene mycotoxins of *Fusarium* species. *Appl. Microbiol.*, 25: 699-704.

Young N.A., Kwon-Chung K.J., Kubota T.T., Jennings A.E., Fisher R. I. (1978): Disseminated infection by *Fusarium moniliforme* during treatment for malignant lymphoma. *J Clin Microbiol.*, 7: 589-594.

Wilson B.J., Maronpot R.R. (1971): Causative fungus agent of leucoencephalomalacia in equine animals. *Vet. Rec.*, 88: 484-486.

5.0 Mykotoxin *diacetoxyscirpenol*

Jednotlivé druhy mikroskopických hub rodu *Fusarium* jsou široce rozšířené rostlinné patogeny a jsou producenty značně rozdílných sekundárních metabolitů - mykotoxinů, které ovlivňují zdraví lidí a zvířat. Hlavní třídy mykotoxinů produkované druhy *Fusarium* zahrnuje **trichotheceny, fumonisiny a zearalenony** (Glenn, 2007).

Přehled o výskytu mykotoxinů mikroskopických hub rodu *Fusarium* v potravinách v zemích EU publikoval Gareis (2005). Shrnuje informace členěné podle druhu mykotoxinů, počtu zemí podléjících se na monitoringu, počtu analyzovaných vzorků a procenta pozitivních vzorků. Databáze zahrnuje 17 fusariových mykotoxinů a 44 959 provedených analýz. Z B typu trichothecenů bylo nejvyšší procento pozitivních u deoxynivalenolu (57 %), z A typu u T-2 toxinu (20 %) a z fumonisínů u fumonisínu B-1 (46 %). Výsledky dokládají, že fusariové mykotoxiny jsou široce rozšířené v potravním řetězci zemí EU. Hlavním zdrojem jsou cereálie. Z tabulky je patrné, že výskyt diacetoxyscirpenolu (DAS) v komponentách potravního řetězce byl prokázán v 75 vzorcích, což představuje 4 % z vyšetřených a u monoacetoxyscirpenolu (MAS) 1 % z 853 analyzovaných vzorků.

Přehled výskytu mykotoxinů rodu *Fusarium* v participujících zemích EU (Gareis, 2005)

Fusarium toxiny	Počet zúčastněných zemí	Počet analyzovaných vzorků	Pozitivní vzorky %
Typ B trichotheceny			
Deoxynivalenol	11	11022	57
Nivalenol	7	4166	16
3-Acetyldeoxynivalenol	6	3721	8
15-Acetyldeoxynivalenol	3	1954	20
Fusarenon X	3	1872	10
Typ A trichotheceny			
T-2 Toxin	8	3490	20
HT-2 Toxin	6	3032	14
T-2 Triol	2	1389	6
Neosolaniol	2	1323	1
Diacetoxyscirpenol	3	1886	4
Monoacetoxyscirpenol	1	853	1
Verrucarol	1	121	0
Zearalenon	9	5018	32
Fumonisin			
Fumonisin B-1	9	3863	46
Fumonisin B-2	6	1010	42
Fumonisin B-3	1	239	36
Celkem vzorků		44 959	

Důležitou skupinu těchto mykotoxinů představují trichotheceny. V současnosti je izolováno více než 170 trichothecenů (Krska et al., 2001). Na základě jejich charakteristických funkčních skupin jsou tyto substance rozděleny do čtyř typů, trichotheceny A, B, C a D.

Scirpentriol (SCIRP) a jeho acetylované deriváty patří do skupiny A. SCIRP obsahuje tři hydroxylové skupiny, které mohou být nebo nejsou acetylovány. Scirpentriolová skupina zahrnuje tři monoacetoxyscirpenoly (3-, 4-, 15-MAS), tři diacetoxyscirpenoly (3,4-, 3,15-, 4,15 DAS) a kompletně acetylovaný triacetoxyscirpenol (3,4,15-TAS).

Chemická struktura scirpentriolových toxinů (Schollenberger et al., 2007)

	R1	R2	R3
Scirpentriol	OH	OH	OH
3-monoacetoxyscirpenol	OAC	OH	OH
4-monoacetoxyscirpenol	OH	OAC	OH
15-monoacetoxyscirpenol	OH	OH	OAc
3,4-diacetoxyscirpenol	OAC	OAC	OH
3,15-diacetoxyscirpenol	OAc	OH	OAc
4,15-diacetoxyscirpenol	OH	OAc	OAc
3,4,15-triacetoxyscirpenol	OAC	OAc	OAc

U toxinů skupiny scirpentriolu byla prokázána toxicita pro rostliny (Hasan, 1999; Dahleen a McCormick, 2001), buněčné kultury (Thompson a Wannemacher, 1986; Rio et al., 1997; Lee et al., 2006), mikroorganismy (Madhyastha et al., 1994; Engler et al., 1999) a zvířata (Ueno, 1983; Richardson a Hamilton, 1990; Dänicke, 2002), což vyplývá z jejich schopnosti inhibovat syntézu proteinů (Smith, 1992).

Ze scirpentriolové skupiny toxinů byla nejčastěji studována toxicita 4,15-DAS a byla zjištěna obdobná jako u T-2 toxinu (Ueno, 1983). Určitá pozornost byla věnována 15-MAS a SCIRP, toxicita dalších členů této skupiny byla studována zřídka. V řadě publikací, ve kterých jsou vzpomenuy diacetoxyscirpenol a monoacetoxyscirpenol není poloha acetylové skupiny specifikována. Vzhledem k tomu, že jako standardy byly komerčně dostupné pouze 4,15-DAS a 15-MAS lze se domnívat, že uváděné termíny „DAS“ a „MAS“ se vztahují k těmto izomerům.

Dřívější literární údaje o produkci mykotoxinů jednotlivými druhy *Fusarií* shrnul Marasas et al. (1984) a Marasas et al. (1991):

<i>F. sporotrichioides, F. acuminatum, F. oxysporum</i>	DAS
<i>F. poae</i>	DAS a MAS
<i>F. semitectum</i>	DAS, MAS a SCIRP
<i>F. equiseti</i>	DAS, MAS, SCIRP a TAS
<i>F. sambucinum</i>	DAS, MAS a TAS

Poznatků o společném výskytu DAS, MAS a SCIRP je velmi málo (Schollenberger et al., 2007). Langseth a Rundberget (1999) uvádějí, že obsah acetoxyscirpentolů v cereáliích je obecně nižší než deacetylované formy, scirpentriolu. Na základě vyšetření 3453, 1224 a 954 vzorků cereálií byl výskyt DAS, MAS a SCIRP zjištěn v 1,1 %, 1,5 % a 6,3 %.

Glenn (2007) uvádí následující druhy rodu *Fusarium*, které produkují DAS:

Druh fusarií	Nejčastější hostitel	Endemický region	Další produkované mykotoxiny
<i>F. kyushuense</i>	pšenice	Japonsko	NIV, T-2
<i>F. langsethiae</i>	pšenice, ječmen, oves	Evropa	T-2, HT-2, BEA
<i>F. poae</i>	pšenice, ječmen, oves	celosvětově	NIV, BEA, FUS, T-2, HT-2
<i>F. sporotrichioides</i>	pšenice, ječmen, oves	celosvětově	T-2, HT-2, BEA, FUS

F. poae a *F. sporotrichioides* jsou spojovány s onemocněními vyskytujícími se u lidí a zvířat. Oba druhy mikroskopických hub byly izolovány z obilí při vzniku alimentární toxické aleukie v Rusku, stejně jako se vznikem hemoragického syndromu u skotu, prasat a drůbeže v USA (Marasas et al., 1984; Desjardins, 2006). Experimentální zkrmování čistých kultur obou druhů mikroskopických hub ukázalo, že *F. sporotrichioides* může být toxičtější (Marasas et. al., 1984).

Toxicitu všech členů scirpentriolové skupiny sledovali Richardson a Hamilton (1990). Z osmi scirpentriolů byl pro morče (dermální toxicita), mořské krevety a kuřata nejtoxictější 4,15-DAS. Po orální aplikaci je pro kuřata LD₅₀ 4,15-DAS 2,0, 15-MAS 2,5, TAS 7,2 a SCIRP 9,3 mg/kg ž. hm. a minimální účinná dávka (MED) pro dermální toxicitu u morčat je 50, 400, 150 a 1800 ng.

Podle Mirocha et al. (1985) byl 4,15-DAS toxičtější pro kuřecí embrya než TAS a MAS s hodnotami LD₅₀ 123, 232 a 189 ng/vejce. U kuřat a potkanů zjistili tuto autoři, že 15-MAS je nejaktivnější, následovaly 4,15-DAS a TAS.

U kuřat (orální aplikace) byly hodnoty LD₅₀ pro TAS 8,0, pro 4,15-DAS 5,9 a pro 15-MAS 3,4 mg/kg, u potkanů (orální aplikace) 2,3, 1,6 a 1,8 mg/kg. Pro srovnání Ueno (1983) uvedl LD₅₀ po orální aplikaci DAS a T-2 kuřatům 3,82 a 4,97 mg/kg. Podle Thompsona a Wannemachra (1986) hodnoty LD₅₀ 4,15-DAS, 15-MAS, T-2 a DON pro myši (intraperitoneální aplikace) byly 15,3, 4,5, 9,1 a 43 mg/kg ž. hm. Toto významně připomíná, že toxicity 4,15-DAS, 15-MAS, TAS a SCIRP jsou stejné jako T-2.

Jaké riziko představují scirpentriolové mykotoxiny v potravinách a krmivu pro lidi a zvířata zatím nelze stanovit (Schollenberger et al., 2007) neboť to závisí na řadě faktorů. Obdobný názor mají i Pronk et al. (2002) pokud jde o TDI pro DAS a další mykotoxiny ze skupiny trichothecenů, neboť není dostatek dostupných informací. Pro zrniny a jejich produkty se kontaminace scirpentriolovými toxiny zdá být méně významná než dalších trichothecenů, jako je např. DON. Pozornost by měla být především zaměřena na další komodity. Např. brambory byly v určitých případech silně kontaminovány vysoce toxickým DAS (Schollenberger et al., 2007).

Syndrom nezdravých budov

Světová zdravotnická organizace (WHO) oznámila v roce 1984, že 30 % obyvatel ve vyspělých zemích trpí nemocí SBS (Sick Building Syndrom - Syndrom nezdravých budov). V roce 2002 už WHO oznamuje 60 % lidí postižených SBS.

Syndrom nezdravých budov je dáván do souvislosti i s trichothecenovými toxiny. Jde o souhrn chronických multifaktoriálních zdravotních problémů, snad ve vztahu ke klimatizaci (air conditioning) obydlených prostor. Několik kontaminantů vzduchu jako jsou alergen, organický a anorganický prach, vlákna, tabákový kouř, plyny a mikroby jsou suspektní faktory vedoucí k chronickým zdravotním problémům lidí v těchto budovách. Symptomy vzduchem šířených toxikóz zahrnují bolesti hlavy, chronickou vyčerpanost, reakci na chlad a chřipkové příznaky, podráždění kůže a další. Několik autorů poukázalo na analogii mezi symptomy nezdravých budov a vznikem trichothecenové toxikózy. Smoragiewicz et al. (1993) doložili přítomnost trichothecenových toxinů ve vzorcích prachu z ventilačních systémů obytných prostor způsobující syndrom nezdravých budov. DAS a SCIRP byly zjištěny jako hlavní trichotheceny. Některé trichothecenové mykotoxiny včetně diacetoxyscirpenolu byly nalezeny ve vzorcích prachu ventilačních systémů kancelářských budov v Montrealu (Hintikka et al., 2005). Tuomi et al. (1996) analyzovali vzorky mikroskopických hub z interiérů finských budov, kde byly problémy s vlhkostí a detekovali DAS v koncentraci do 3300 pg/kg. V souvislosti s tímto je nutné uvést, že účinnost inhalace je více než 40krát vyšší než expozice *per os*.

Vzduch ve městě je plný smogu, prostor uvnitř budov je hermeticky uzavřený okny a obohacený o celou řadu chemikálií z nábytku, umělých hmot, PVC, kouře, statické elektřiny. Ze syntetických potahů a koberců stoupá doslova koktejl chemikálií. Tento vzduch – uvnitř budovy je až 10krát prašnější než venkovní vzduch. Je jasné, že tento vzduch organismu nemůže prospívat.

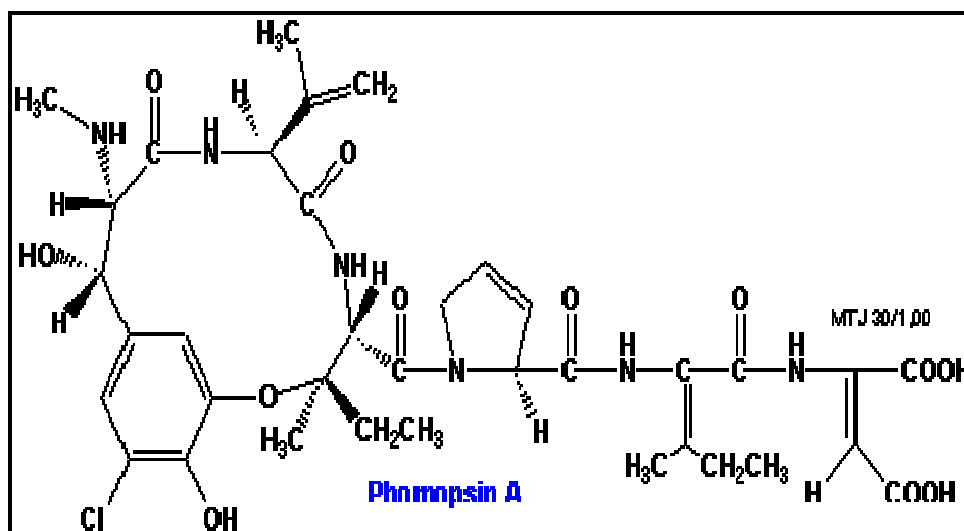
Literatura

- Dahleen L.S., McCormick S.P. (2001): Trichothecene toxin effects on barely cyklus and seedling growth. *Ceres Res. Commun.*, 29: 115-120.
- Dänicke S. (2002): Prevention and control of mycotoxins in the poultry production chain: a European view. *Worlds Poult. Sci. J.*, 58: 451-474.
- Desjardins A.E. (2006): *Fusarium Mycotoxins: Chemistry, Genetics, and Biology*. APS Press, St. Paul, Minnesota, USA.
- Engler K.H., Coker R.D., Evans I.H. (1999): A colorimetric technique for detecting trichothecenes and assessing relative potencies. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65: 1854-1857.
- Gareis M. (2005): Occurrence of *Fusarium* mycotoxins in food and assessment of dietary intake. In: Abstract of lectures and posters the third conference „The Mycotoxin“. Noordwijk aan Zee, the Netherlands. s. 25-27.
- Glenn A.E. (2007): Mycotoxigenic *Fusarium* species in animal feed. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 137: 213-240.
- Hasan H.A.H. (1999): Phytotoxicity of pathogenic fungi and their mycotoxins to cereal seeding viability. *Mycopathologia*, 148: 149-155.
- Hintikka E.L., Johnsson T., Tuomi T., Reijula K. (2005): Aerosol mycotoxins in indoor air: animal and human health effect. In: Abstract of lectures and posters the third conference „The Mycotoxin“. Noordwijk aan Zee, the Netherlands. s. 28-30.
- Krska R., Baumgartner S., Josephs R. (2001): The state-of the art in the analysis of type A and B trichothecene mycotoxins in cereals. *Freseb J. Anal. Chem.*, 371: 285-299.
- Langseth W., Rundberget T. (1999): The occurrence of HT-2 toxin and other trichothecenes in Norwegian cereals. *Mycopathologia*, 147: 157-165.
- Lee D.H., Park T., Kim H.W. (2006): Induction of apoptosis by disturbing mitochondrial-membrane potential and clearing PARP in Jurkat T cells through treatment with acetoxyscirpentriol mycotoxins. *Biol. Pharm. Bull.*, 29: 648-654.

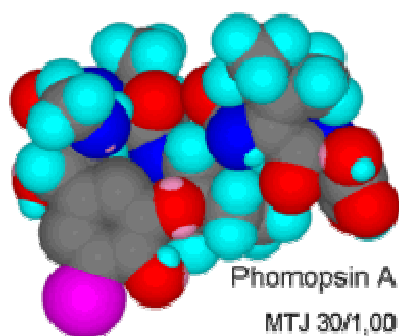
- Madhyastha M.S., Marquardt R.R., Masi A., Borsa J., Frolich A.A. (1994): Comparison of toxicity of different mycotoxins to several species of bacteria and yeasts: Use of *Bacillus brevis* in a disc diffusion assay. *J. Food Protect.*, 57: 48-53.
- Marasas W.F.O., Nelson P.E., Toussoun T.A. (1984): *Toxigenic Fusarium species: Identity and mycotoxycology*. Pennsylvania State University Press, University Park, PA.
- Marasas W.F.O., Thiel P.G., Sydenham E.W., Rabie C.J., Lubben A., Nelson P.E. (1991): Toxicity and miniliformin production by four recently described species of *Fusarium* and two uncertain taxa. *Mycopathologia* 113: 191-197.
- Mirocha C.J., Pawlowsky R.J., Zhu T.X., Lee Y.W. (1985): Chemistry and biological activity of *Fusarium roseum* mycotoxins. In: Lacey J., editor: *Trichothecenes and other mycotoxins*. Chichester, UK. John Wiley and sons.s. 291-305.
- Pronk M.E.J., Schothorst R.C., van Edmond H.P. (2002): Toxicology and occurrence of nivalenol, fusaron X, disacetoxyscirpenol, neosolaniol and 3- and 15-acetyldeoxynivalenol: a review of six trichothecenes. *RIOVM Report 388802024/2002*.
- Richardson K.E., Hamilton P.E. (1990): Comparative toxicity of scirpentriol and its acetylated derivatives. *Poult. Sci.*, 69: 397-402.
- Rio B., Lautraite S., Parent-Massin D. (1997): In vitro toxicity of trichothecenes on human erythoblastic progenitors. *Hum. Exp. Toxicol.*, 16: 673-679.
- Schollenberger M., Drochner W., Miller H.M. (2007): *Fusarium* toxin of the scirpentriol subgroup: a review. *Mycopathologia*, 164: 101-118.
- Smith T.K. (1992): Recent advances in the understanding of *Fusarium* trichothecene mycotoxins. *J. Anim. Sci.*, 70: 3989-3993.
- Smoragiewicz W., Cossette B., Boutart A., Krzystyniak K. (1993): Trichothecene mycotoxins in the dust of ventilation systems in office buildings. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 65: 113-117.
- Thompson W.L., Wannemacher R.W. (1986): Structure function relationship of 12, 13-Epoxytrichothecene mycotoxins in cell culture: comparison to whole animal lethality. *Toxicon.*, 24: 985-994.
- Tuomi T., Reijula K., Johannson T., Hemminki K., Hintikka E.L., Lindroos O., Kalso S., Koukila-Käkkölä P., Mussalo-Rahamaa H., Haahtela T. (1996): Mycotoxins in trade building materials from water-damaged buildings. *Appl. Environ. Microbiol.*, 66: 1899-1904.
- Ueno Y. (1983): General toxicology. In: Ueno Y., editor. *Developments in food science. IV. Trichothecenes-Chemical, biological and toxicological aspects*. Tokyo, Amsterdam: Kodansha/Elsevier. 135-146.

6.0 Mykotoxin *Phomopsin A*

Název: N-methyl-3-(3-chloro-4,5-dihydroxyphenyl)-3-hydroxyalanin a 3-hydroxyisoleucin units

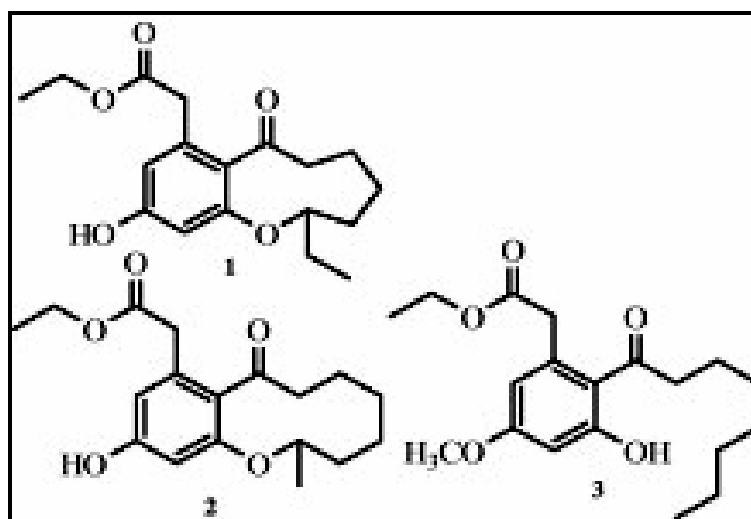


Chemický strukturní vzorec Phomopsinu A.



Phomopsiny (PHO) představují skupinu makrocyclických hexapeptidů vytvářené mikroskopickou houbou *Phomopsis leptostromiformis* (Culvenor et al., 1977; Allen a Hancock, 1989). Sloučeniny phomopsinaminu A a oktahydrophomopsinu A jsou chemické deriváty phomopsinu A. Oba mají podobnou biochemickou aktivitu jako phomopsin A. Další phomopsin C byl, jak uvádí Edgar (1991), identifikován částečně. V té době jeho struktura známa nebyla. Huang et al. (2008) izolovali z houby *Phomopsis* sp. (ZSU-H76) tři metabolity,

jmenovitě phomopsin A (1), B (2) a C (3), společně s cytosporinem B a C a testovali jejich antimikrobiální aktivity.



Phomopsin A je rozpustný ve vodě, méně v alkoholu, těžko je rozpustný v tukových rozpouštědlech. Phomopsin je rezistentní k destrukci různým ošetřením, včetně varu (Cockrum et al., 1994).

Phomopsis leptostromiformis (Kuhn) Bubak ex Lind, je parazit lupiny polní, zvláště *Lupinus luteus*. Roste také saprofytický na mrtvých rostlinách tohoto i dalších druhů lupin jako je *L. albus* a *L. angustifolius*. Houba je schopna infikovat všechny části rostliny. Infekce vegetativních částí rostlin může vést k vysokým hladinám mykotoxinu phomopsinu, které bývají přítomny na strnisku a jsou hlavním zdrojem expozice zvířat.

Tato houba byla v Jižní Africe určena jako původce ovčí lupinózy, mykotoxického onemocnění jater u ovcí, vznikající po příjmu infikovaného sena lupiny nebo po pastvě na strništi po sklizni lupiny (Van Warmelo et al., 1970). V Austrálii byla identifikována jako příčina lupinózy u myší a ovcí *Phomopsis rossiana* (Sacc), později se však ukázalo, že jde o synonymum pro *P. leptostromiformis*. Onemocnění kůže lupinózou ovcí bylo vyvoláno podáním kultury nebo extraktu z kultury *P. leptostromiformis* prasatům (Van Rensburg et al., 1975), kuřatům (Kung et al., 1977), potkanům (Peterson et al., 1978) morčatům a králíkům (Lanigan a Peterson, 1979). Toxicita pro skot se zdá být limitována saprofytickou fází životního cyklu houby. Ojedinelé zprávy uvádějí, že k vývoji lupinózy u ovcí dochází i po příjmu „zdravých“ rostlin lupiny, ale takový případ mohl být způsoben infikovaným zestárlým nebo odumřelým stonkem nebo odpadem z předcházející sklizně (Lanigan et al., 1979).

Phomopsiny A a B jsou dva metabolity izolované z extraktů lupinových semen kultury *P. leptostromiformis* a prokázanou příčinou lupinózy (Culvenor et al., 1977). Krystalická směs phomopsinu A a B (v poměru 4:1), pokud byla podána intraperitoneálně ovcím, vyvolala klinické, biochemické a histologické změny charakteristické pro lupinózu.

Peterson (1990) aplikoval PHO subkutánně dospělým potkanům v denní dávce 30 µg/kg ž. hm. po dobu 2, 6 nebo 17 týdnů a sledoval vývoj poškození jater během pokusu a následně po dva roky. U všech potkanů, kterým byl aplikován PHO po 17 týdnů byly nalezeny změny na játrech (modulární cirhóza, rozsáhlé biliární hyperplasie). Ztlustění žlučvodů (cholangioma) se projevilo u 60 % potkanů a u 13 % byl zaznamenán cholangiokarcinom a hepatocelulární karcinom. Stejně nálezy byly zaznamenány u některých potkanů, kterým byl PHO aplikován po 6 týdnů, zatímco u ostatních jedinců po přerušení aplikace, došlo k vymizení jaterních lézí. Poškození jater vyvolané dvou týdenní aplikací zcela vymizelo během několika týdnů.

Lupinóza

Lupina patří mezi významné rostliny nejen nutriční hodnotou lupinových semen, ale také proto, že vrací do půdy dusík a představuje hodnotnou strništní pastvu. S pastvou je spojené určité riziko, protože mnoho lupinových strnišť je v různé míře kolonizováno houbou *P. leptostromiformis*, která může produkovat smrtící toxin. Mezi predispoziční faktory patří teplo a vlhko, které se vyskytují po letních deštích nebo po vydatné rose, umožňující *P. leptostromiformis*, která je na strništi přítomna, vytvářet toxin.

Akutní forma lupinózy, se může projevit od dvou do 14 dní po letním dešti nebo vydatné rose, úhynem ovcí, které spásaly napadené strniště. Ovce jsou postiženy nejčastěji, ale napaden však bývá i skot, koně a osli. U skotu mohou být pozorovány salivace a slzení očí, u chronických případů atrofická artróza. U koní byly zaznamenány ataxie, červenohnědá moč. Kozy mohou být rovněž postiženy, i když lupinóza nebyla zatím v praxi zjištěna.

Klinické příznaky se u napadených ovcí projeví sníženým příjmem krmiva, vyskytuje se apatie, deprese, polehávání. Bližší prohlídka odhalí ikterus projevující se žlutým zbarvením sliznic. V mnoha případech může být prvním příznakem náhlý úhyn. Chronicky napadené ovce jsou ve špatném výživném stavu a může se projevit fotodermatóza (ovce, skot). Příznaky u skotu jsou obdobné jako u ovcí.

Diagnóza lupinózy vychází z anamnézy, klinického vyšetření a vyšetření uhynulých zvířat *post mortem*. Je nezbytné odlišit další onemocnění jako je těhotenská toxikóza (*Toxicosis gravidarum*), otrava mědí, otrava rostlinou *Heliotropium spp.*, příp. další otravy z rostlin.

Velmi limitované jsou údaje o metabolismu a kinetice PHO. Po perorální aplikaci může být phomopsin částečně absorbován z GIT. V játrech je PHO metabolizován na reaktivní formu. Údaje získané ze studií, ve kterých byl PHO aplikován dalšími cestami potvrdily, že jaterní metabolismus je pro toxicitu PHO nezbytný. PHO, resp. jeho metabolity jsou vylučovány ledvinami.

Jak se zdá závisí toxicita PHO na vazbě k tubulinu. Tubulin globulární bílkovina, jejíž molekuly se v buňkách spojují ve vláknité útvary - mikrotubuly. Mikrotubuly tvoří spolu s mikrofilamenty "trámoví" buněk, tzv. cytoskelet (Chaudhuri a Ludueña, 1997). Výsledkem je inhibice významných buněčných funkcí jako jsou přenos genetické informace (tvorba šroubovice) během mitózy a při intracelulárním transportu lipidů. Dále byly pozorovány deformace tvaru buněčného jádra. Tyto toxické projevy jsou vázány především k játrům.

Většina dostupných studií na zvířatech se vztahuje na akutní a subchronické expozice při subkutánní nebo intraperitoneální aplikaci, nebo v případě ovcí cestou intra ruminální. Údaje o orálním podání jsou limitovány zprávami z pozorování v terénu postižených zvířat.

Společným příznakem toxicity u zvířat, vzniklé po akutní a subchronické expozici, bez ohledu na její cestu, je poškození jater, které je hlavní společnou příčinou úhynu. Nejvýznamnějším klinickým příznakem toxicity je inapetence zasažených zvířat. Snížený apetit bývá pozorován u zvířat kde patologicko anatomické změny na játrech nejsou ještě patrné a u ovcí bývá spojen s intraruminální dávkou 12,5 µg/kg/ž. hm./den. Zvířata, která přijala subletální dávku PHO, mají určitou možnost uzdravení, pokud je přerušeno jeho příjem.

Studie věnované akutní a chronické toxicitě ukázaly, že řada parametrů může být ovlivněna toxicitou phomopsinu. Především vnímavost k toxinu se zdá být různá mezi druhy. Např. ovce se zdají být vnímavější k toxickým účinkům a dávce PHO než potkani. Z toxikologických akutních a subchronických studií vyplývá, že toxicita PHO může být různá v závislosti na cestě aplikace, při stejné dávce je PHO méně toxický po orální aplikaci. To naznačuje, že absorpce phomopsinu GIT traktem může být omezeno, nebo PHO podstoupí určitou degradaci během trávení. Toxicita podané celkové dávky PHO se zdá být vyšší jestliže je podávána v menších dávkách po delší časové období. To ukazuje na kumulativní efekt.

Existuje jen velmi málo údajů k možné genotoxicitě PHO. Negativní výsledky byly získány v testech bakteriální mutagenicity. Nicméně existují určitá podezření, a to z kultur savčích buněk, že PHO může vyvolávat chromosomální aberace. Neexistují informace o genotoxicitě PHO in vivo.

Studie reprodukční toxicity nebyly prováděny. V jedné studii s potkany byla zaznamenána embryotoxicita (Peterson, 1983). Děložní toxicita byla pozorována při všech testovaných hladinách. Proto není možné přisuzovat úhyny embryí k závislosti na phomopsinu.

Výsledky ze subchronických studií po subkutánní aplikaci ukazují, že u potkanů existuje spojení mezi podáváním PHO a zvýšenou incidencí cholangiokarcinomu jater a karcinomem hepatocelulárním, v dávce 30 µg/kg ž. hm./den podávané 17 týdnů. Možná karcinogenita PHO po aplikaci per os zůstává nejasná a vyžaduje další studium.

Lze konstatovat, že phomopsiny jsou potenciální cytotoxické látky, především vzhledem k játrům a jsou zřejmě karcinogenní u potkanů. Některé druhy zvířat jsou vnímavější než jiné k toxickému působení PHO. Phomopsin může být méně toxický po podání *per os*, i když způsobuje lupinózu ovcí. Cytotoxické vlastnosti PHO naznačují, že vnímaví k toxickému působení mohou být i lidé, i když studie na zvířatech nedovolují stanovit bezpečnou hladinu jeho dietní expozice.

Absence NOEL pro PHO ze studií na zvířatech stejně jako absence údajů o potenciální toxicitě PHO u lidí znamená, že není možné stanovit tolerovatelnou hladinu pro expozici u lidí.

PHO je, jak ukázaly studie na zvířatech, potenciální jaterní toxin a karcinogen u potkanů. I když přímé důkazy toxicity pro lidi nejsou k dispozici, jejich mechanismus působení je takový, že lidé jsou vnímaví k jejich toxickému působení. PHO se zdá být méně toxický po per orální aplikaci než dalšími cestami.

Cílovým orgánem toxicity PHO u ovcí, myší a potkanů jsou játra, i když je uváděno působení na další tkáň a orgány, především ledviny. Leze spojené s tkání ledvin mohou svědčit pro exkreci PHO nebo jeho metabolitů močí. Leze na játrech jsou spojovány s úhynem.

Průzkumem bylo zjištěno, že 20 % skladovaného semene lupiny může být infikováno *P. leptostromiformis*. Vyšetření komerčních semen lupiny ze západní Austrálie (Victoria a New South Wales) provedené v roce 1980 ukázalo, že hladiny PHO se pohybovaly od ≤ 6 μg do 360 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Později byly u semene lupiny zjištěny hladiny vyšší než 4522 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

Třídění lupinového semene bylo efektivním prostředkem redukce kontaminace semen PHO. Sledování u netříděných semen ze sklizně 1991-1992 v Western Australia ukázalo, že průměrná kontaminace byla 6,1 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Jestliže semena byla tříděna na základě zbarvení, průměrná hodnota u vyčištěných semen byla 1,3 $\mu\text{g}/\text{kg}$, ve srovnání s průměrnou hodnotou 355,1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ u netříděných.

K prevenci nebo alespoň k minimalizaci ztrát z lupinózy lze využít následující opatření. Nepást na strništi dobytek, který je vnímavější ke stresu, jako jsou březí ovce nebo březí a laktující krávy. Zabránit pastvě dobytka, který má v předchozí anamnéze poškození jater po otravě rostlinnými toxiny. Zabránit pastvě po dešti (více než 6 mm) nebo po vydatné rose.

Po sklizni lupiny paseme co nejdříve. Pokud se ve stádě objeví příznaky lupinózy pastvu ihned ukončíme. Napadené ovce dobře krmíme (kvalitní seno, obiloviny), nekrmíme lupinou nebo jinými vysoce proteinovými krmivy, neboť zvířata s poškozenými játry nejsou schopna vylučovat amoniak vytvářený během odbourávání proteinu.

Příjem phomopsinu je dosud spojován s nepříznivými účinky u zvířat s lupinózou a oslabením onemocnění u ovcí. Pravděpodobný mechanismus toxicity dovoluje závěr, že lidé by mohly být k toxickým účinkům phomopsinů senzitivní. Přítomnost PHO v semenech lupiny nebo mouce z lupiny je vzhledem ke karcinogennímu působení nezbytné monitorovat.

Lupinová mouka (www.soja.cz/html/lupinovamouka.htm)

Lupina úzkolistá (*Lupinus angustifolius*) a boby sladké bílé lupiny, se pěstovaly v oblasti Středomoří už po staletí. Používaly se pro výživu lidí a zvířat. Z více než 250 známých druhů lupiny mají dnes význam tři – modrá, žlutá a bílá lupina. Začátkem minulého století byly vyšlechtěny druhy lupiny s nízkým obsahem hořkých látek a s obsahem bílkovin až 45 %.

Za určitých podmínek mohou být semena lupiny infikována významnými hladinami PHO. Zatím je převážné množství semen lupiny používáno ve výživě zvířat, produkty lupiny jsou však ve zvýšené míře zařazovány i do potravy lidí. Proto celé zrna a mouka mohou být zdrojem ohrožení PHO, který jak se ukázalo je stabilní při opracování, včetně vaření.

Hlavní oblasti pěstování jsou dnes v Austrálii a jižní Americe. Lupina úzkolistá se zásadně pěstuje bez genetických modifikací. Lupinová mouka se vyrábí z bobů, které jsou podrobeny čištění, loupání, mletí a upravování (lupinová mouka LP/20 toustovaná – není enzymaticky aktivní, lupinová mouka LP/70 – je zachována přirozená aktivita enzymů).

Obě mouky mají žlutou barvu, která je ovlivněna vysokým obsahem karotenoidů, a mají příjemnou ořechovou chuť. Působí antioxidantně a mají vynikající schopnost vázat vodu a za přítomnosti volné tukové fáze působí emulgačně, částečně nahrazují vaječný žloutek.

Z výživového hlediska bílkoviny lupiny patří ve velké míře mezi globuliny. Zvláště významná je vysoká biologická hodnota a dobrá stravitelnost lupinové bílkoviny. Například alergenní potenciál lupinové bílkoviny je významně nižší než u sójové bílkoviny. Významný je u lupinové mouky také vysoký obsah bílkovin kombinovaný s nízkým obsahem tuku. Ve spektru aminokyselin je nápadný obsah lysinu, který se ideálně nabízí na doplnění k pšeničné a žitné bílkovině.

Spektrum mastných kyselin ukazuje velmi vysoký obsah nenasycených mastných kyselin, přibližně 80% a proto představuje ideální tuk pro zdravou výživu. Lupinové lecitiny jsou složeny mimo jiné také z fosfolipidů jako je fosfatidylcholin, inositol, serin. Jaderná substance lupiny obsahuje tzv. „rozpustnou“ vlákninu, která se skládá hlavně z hemicelulózy. Škrob se v semenech lupiny vyskytuje nepatrně a pektiny pouze v zanedbatelných množstvích. Lupina takřka neobsahuje kyselinu fytovou. Lupina se považuje za dobrý zdroj minerálních látek a stopových prvků.

Lupinová mouka nachází uplatnění v širokém spektru pekařského průmyslu – výroba chleba, veškerého pečiva, zákusků, cukrovinek a těstovin. Při výrobě sladkostí a čokoládových cukrovinek hraje velkou úlohu podíl tuku ve spojení s lecitinem, tokoferolem a karotenoidy, které jsou v něm obsaženy.

Přídavek lupinové mouky do pekařských produktů má výhodné technologické vlastnosti: intenzivnější, časově kratší a jednodušší promíchávání jednotlivých složek zajistí úsporu pracovního času a energie. Přítomný lecitin způsobuje vzájemný optimální emulgační a spojovací účinek surovin obsahujících vodu a tuk. Tímto se především snižuje tvorba tukového výkvětu v čokoládových a pralinkových hmotách. Karotenoidy přirozeně obsažené v lupinové mouce se pozitivně projevují tam, kde se požaduje žluté zbarvení konečného produktu.

Lupinová mouka je přirozený antioxidant a zpomaluje hořknutí a žluknutí tuků a tím rychlé kažení tuků. Přídavek lupinové mouky tedy prodlužuje trvanlivost konečných produktů a uchovává po dlouhou dobu intenzivní chuť výrobků (www.soja.cz/html/lupinovamouka.htm).

U lupinové mouky LP/20 a LP/70 se uvádí následující obsah phomopsinu a alkaloidů:

Phomopsin	< 5 ppb	max. < 5 ppb
Alkaloidy	120 ppm	max. < 200 ppm

Literatura

Allen J.G., Hancock G.R. (1989): Evidence that phomopsins A and B are not the only toxic metabolites produced by *Phomopsis leptostromiformis*. *J. Appl. Toxicol.*, 9: 83-89.

Anonym (2001): Australia New Zealand Food Authority: Phomopsins in food. A Toxicological Review and Risk Assessment. Technical report series No. 1. ISBN 0 642 34602 X, ISSN 1446 – 4977. 22s.

Anonym: www.soja.cz/html/lupinovamouka.htm

- Cockrum P.A., Petterson D.S., Edgar, J.A. (1994): Identification of novel phomopsins on lupin seed extracts. In: *Plant. associated Toxins* (Eds. S.M. Colegate and P.R. Dorling), CAB International, Wallingford, UK, pp 232-237.
- Culvenor C.C.J., Beck A.B., Clarke M., Cockrum P.A., Edgar J.A., Frahn J.L., Jago M.V., Lanigan G.W., Payne A.L., Peterson J.E., Petterson D.S., Smith L.W., White R.R. (1977): Isolation of toxic metabolites of *Phomopsis-leptostromiformis* responsible for lupinosis. *Aust. J. Biol. Sci.*, 30: 269-277.
- Edgar J.A. (1991): Phomopsins: antimicrotubule mycotoxins. In: *Handbook of Natural toxins*, (Eds. R.F. Keeler and A.T. Tu), Marcel Dekker Inc, pp 371-395.
- Frahn J.L. (1969): Paper electrophoresis of pyrrolizidine alkaloids. *Aust. J. Chem.* 22: 1655-1667.
- Gardiner M.R., Petterson D.S. (1972): Pathogenesis of mouse lupinosis induced by a fungus (*Cytospora* spp.) growing on dead lupins. *J. Comp. Pathol.* 82: 5-13.
- Huang Z., Cai X., Shao C., She Z., Xia X., Chen Y., Yang J., Zhou S., Lin Y. (2008): Chemistry and weak antimicrobial activities of phomopsins produced by mangrove endophytic fungus *Phomopsis* sp. ZSU-H76. *Phytochemistry*, 69 (7): 1604-1608.
- Chaudhuri A.R., Ludueña R.F. (1997): Interaction of phomopsin A with normal and subtilisin-treated bovine brain tubulin. *J. ProteinChem.*, 16, 2: 99-105.
- Kung H.C., Chipley J.R., Latshaw J.D., Kerr K.M., Wilson R.F. (1977): Chronic mycotoxicosis in chicks caused by toxins from *Phomopsis* grown on soybeans. *J. Comp. Pathol.* 87: 325-333.
- Lanigan G.W., Payne A.L., Smith L.W., Wood P.McR., Petterson D.S. (1979): Phomopsin A production by *Phomopsis leptostromiformis* in liquid media. *Appl. Environ. Microbiology*, 37, 2: 289-292.
- Lanigan G.W., Petterson D.S.
- Peterson J.E. (1978): *Phomopsis leptostromiformis* toxicity (Lupinosis) in nursing rats. *J. Comp. Pathol.* 88: 191-203.
- Peterson J.E. (1990): Biliary hyperplasia and carcinogenesis in chronic liver-damage induced in rats by phomopsin. *Pathology* 22 (4): 213-222.
- Smith G. (1969): *An introduction to industrial mycology*, 6th ed., p. 232. Arnold, London.
- Trevelyan W.E., Harrison J.S. (1952): Studies on yeast metabolism. 1. Fractionation and microdetermination of cell carbohydrates. *Biochem. J.* 50: 298-303.
- Van Rensburg I.B.J., Marasas W.F.O., Kellerman T.S. (1975): Experimental *Phomopsis leptostromiformis* mycotoxicosis of pigs. *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 46: 197-204.
- Van Warmelo K.T., Marasas W.F.O. (1972): *Phomopsis leptostromiformis*: the causal fungus of lupinosis, a mycotoxicosis, in sheep. *Mycologia*, 64: 316-324.
- Van Warmelo K.T., Marasas W.F.O., Adelaar T.F., Kellerman T.S., van Rensburg I.B.J., Minne J.A. (1970): Experimental evidence that lupinosis of sheep is a mycotoxicosis caused by the fungus, *Phomopsis leptostromiformis* (Kuhn) Bubak. *J. S. Afr. Vet. Med. Assoc.*, 41: 235-247.
- Wood P. McR., Brown A.G.P., Petterson D.S. (1973). Production of the lupinosis mycotoxin by *Phomopsis rossiana*. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.*, 51: 557- 558.

7.0 Mykotoxiny mikromycet rodu *Alternaria*.

Rod: *Alternaria* spp.

Metabolity: kyselina tenuazonová (TeA), alternariol (AOH), alternariol metyl éter (AME).

Alternaria je rod vřeckovýtrusných hub (*Ascomycetinae*). Jednotlivé druhy rodu *Alternaria* jsou známy jako významné rostlinné patogeny. Existuje 44 nesporných, velmi dobře známých druhů mikromycet rodu *Alternaria*, ale může jich být mnohem více. Rostou na nejrůznějších typech biotopů (jsou ubikvitární) a jsou přírodní součástí houbové flóry kdekoliv. Jsou běžnými spolučiniteli hnití a rozkladu. Spory jsou přenášeny vzduchem a nacházejí se v půdě a vodě, stejně jako v budovách a na objektech. Kyjovité spory jsou buď jednotlivě nebo tvoří dlouhé řetězce. Mohou vytvářet husté kolonie, které jsou obvykle černé nebo šedé. Uvádí se, že nejméně 20 % ztrát na zemědělských produktech je způsobena druhy mikroskopických hub *Alternaria*.

Ne všechny druhy *Alternaria* jsou škodlivé a patogenní; některé dokonce vzbuzují naději jako činitelé biokontroly proti invazivním rostlinným druhům.

Vybrané druhy rodu *Alternaria* spp.

- A. arborescens* – způsobuje rakovinu stopky rajčat
- A. arbusti* – způsobuje leze na listech Asian pear (*Pyrus pyrifolia*)
- A. blumeae* – vyvolává leze na *Blumea aurita*
- A. brassicae* – alternariová skvrnitost brukvovitých
- A. brassicicola* – alternariová skvrnitost zelí
- A. carotiincultae* – je příčinou sněti listů karotky
- A. conjuncta* – roste na pastináku
- A. dauci* – alternariová skvrnitost listů mrkve
- A. euphorbiicola* – infikuje zelí
- A. gaisen* – vyvolává čerň na plodech hrušně
- A. infectoria* – napadá pšenici
- A. japonica* – napadá zelí
- A. molesta* – může vyvolávat leze na kůži delfínů
- A. panax* – napadá kořen ženšenu
- A. petroselini* – napadá petrželovité
- A. selini* – napadá petrželovité
- A. smyrnii* – infikuje Děhel černočervený (*Angelica atropurpurea*) *Smyrniolum olusatrum*

Další zdroj uvádí následující druhy rodu *Alternaria alternata* (<http://www.doctorfungus.org>).

- A. tenuis* (je staré synonymum pro tento druh)
- Alternaria anamorph*, *Pleospora* (*Lewia*) *infectoria* (zastaralé)
- A. chartarum*
- A. chlamydospora*
- A. dianthicola*
- A. geophilia*
- Lewia infectoria* - je telemorfni (stadium tvorby pohlavních výtrusů; askospor a basidiospor)
- A. longipes*
- A. stemphyloides*
- A. tenuis* (zastaralé)

Tento druh je synonymem pro *A. alternata*
A. tenuissima



Alternaria spp.

Rod *Alternaria* zahrnuje řadu rostlinných patogenů. Kolonizují velký počet hospodářsky důležitých rostlin. Mohou napadnout zdravé stejně jako oslabené nebo odumřelé rostliny před sklizní a za určitých podmínek poškodí i skladované produkty (Kwasna, 1992). Rod *Alternaria* spp. vytváří 71 známých myko a fytotoxinů (Montemurro a Visconti, 1992). Mezi mykotoxiny, produkované ve velkých množstvích jsou uváděny alternaliol (AOH) a alternariol monomethyl ether (AME) (Combe et al., 1970; Pero et al., 1973; Rosett et al. 1957). Jako zdroje těchto toxinů jsou uváděny *A. alternata*, *A. dauci*, *A. cucumerina*, *A. solani* a *A. tenuissima* (Montemurro a Visconti, 1992).

Toxiny AME a AOH byly prokázány u čiroku (*Sorghum*), semene slunečnice, ječmene, pšenice, ovsa, oliv, rajčat, mandarinek, paprik, melounů a ořechů. Druhy *Alternaria* inokulují jablka, rajčata, borůvky, pomeranče a citrony, vytváří toxiny demonstrující kontaminační potenciál.

Jak se uvádí ve zprávě SZÚ Pardubice (Anonym, 2008) nejen autotrofní kvetoucí rostliny a jejich pyl jsou příčinou alergií rostlinného původu. Na prvním místě mezi tzv. nižšími rostlinami vyvolávajícími alergie stojí houby. Z vřekovýtrusých hub patří z tohoto hlediska k nejdůležitějším houby nedokonalé a na stanicích pylové informační služby jsou sledovány rody *Alternaria*, *Cladosporium*, *Epicoccum* a *Stemphylium*. *Alternaria* vytváří na rostlinách černé sametové povlaky, některé druhy napadají hospodářsky důležité plodiny (řepku, tabák) a působí tzv. spálu rostlin. Celkem je popsáno na 50 druhů.

Řada zdravotních potíží u lidí může být způsobena druhy mikroskopické houby *Alternaria*, které rostou na kůži a na sliznicích, včetně oční bulvy a respiračního traktu. Alergie jsou běžné, ale vážné infekce jsou ojedinělé, s výjimkou u lidí s nedostatečným imunitním systémem. Druhy tohoto rodu jsou producenty hojně se vyskytujícími toxických sloučenin. Účinky mnoha z těchto sloučenin na zdravotní stav zvířat a rostlin nejsou známy. Termíny alternariosis a alternariatotoxicosis jsou používány pro onemocnění lidí a zvířat vyvolané houbami tohoto rodu.

Jsou častými alergeny u lidí, nachází se v budovách, vyvolávají senou rýmu nebo hypersenzitivní reakce, které někdy vedou k astma (Bush et al., 1999). Snadno způsobují příležitostné infekce u lidí s nedostatečnou imunitou, jako jsou nemocní AIDS. Příležitostné infekce jsou infekce vyvolané patogeny, které u plně funkčního imunitního systému nevyvolají onemocnění. Oslabený imunitní systém dává patogenům příležitost k infekci.

Toxiny AOH a AME, jak ukazují jejich LD₅₀, která je vyšší než 400 mg/kg ž. hm. pro myši, vyvolávají slabé akutní toxické efekty. AME je cytotoxický a AOH a AME vykazují synergické efekty. AOH je letální pro nenarozené myši v hladině 100 mg/kg ž. hm. (Pero et al., 1973). Studie ukázaly, že AME je karcinogenní a slabě mutagenní AMES testem využívající *Salmonella typhimurium* (McCann et al., 1981). Jako silný mutagen působil v testech s *Escherichia coli* (An et al., 1989). Mutagenita nebyla pozorována u AOH (Stack et al., 1985).

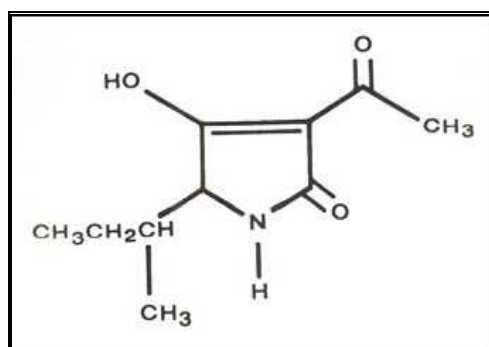
Alternaria spp. byl potvrzen jako podmiňující patogen zvláště u pacientů s imunosupresí, např. u pacientů s transplantovanou kostní dření (Morrison et al., 1993; Vartivarian et al., 1993). Způsobuje plísňové onemocnění nehtové ploténky (onychomykózu), sinusitidy, vředy na kůži, keratitis stejně jako viscerální infekce a osteomyelitis (Anaissie et al., 1989; Garau et al., 1977; Manning et al., 1991; Schell, 2000). U pacientů s nedostatečnou imunitou, kolonizuje *Alternaria* vedlejší dutiny nosní, což vede k chronické hypertrofické sinusitidě a může skončit vývojem invazivního onemocnění (Vennewald et al., 1999). U pracovníků v zemědělství patří mezi původce *otitis media* (Wadhvani a Srivastava, 1984).

V poslední době se zdá být důležité a potřebné sledovat obsah kyseliny tenuazonové (TeA), kterou produkují mikroskopické houby rodu *Alternaria* a kyselinu cyklopiazonovou (produkuje ji rod *Penicillium* a *Aspergillus*) v rajčatech a výrobců z nich, jako jsou protlaky, kečupy a pod. (Ostrý et al., 2008).

Kyselina tenuazonová (TeA)

(3-Acetyl-5-sec-butyl-4-hydroxy-3-pyrrolin-2-one).

CAS: 610-88-8.

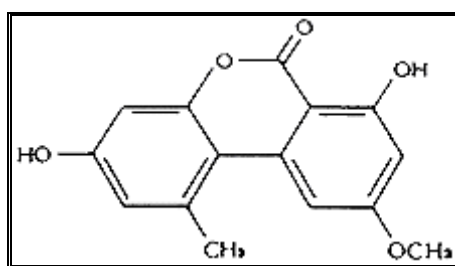


TeA patří k akutně toxickým alternáriovým mykotoxinům. Inhibuje syntézu proteinů, může způsobit kardiovaskulární kolaps, vyvolává salivaci, anorexii, erytémy, křeče, zvracení, tachykardii, masivní gastrointestinální hemoragii a smrt. U myších samic je LD₅₀ TeA 81 mg/kg ž. hm., u myších samců 168 mg/kg ž. hm. při podání *per os*. U psů způsobuje TeA hemoragie v různých orgánech při denním přívodu 10 mg/kg ž. hm. U drůbeže byla subakutní toxicita pozorována při koncentraci 10 mg/kg krmiva. TeA není mutagenní v systému

bakteriálních testů (AMES test) (Steyn a Rabie, 1976). Výskyt TeA v prosu je spojován s mykotoxikózou „Onyalai disease“ v centrální jižní Africe a je jejím pravděpodobným původcem (Bottalico a Logrieco, 1998). Prekarcinogenní změny u myši na sliznici jícnu byly zjištěny u TeA při přívodu krmiva 25 mg/kg ž. hm./den po dobu 10 měsíců (Yekeler et al., 2001).

Alternariol monometyl éter (AME)

AME (3,4'-Dihydroxy-5-methoxy-6'-methylbenzo[a]pyrone).
CAS: 26894-49-5.



AME vykazuje fetotoxické a teratogenní účinky. Po intraperitoneální aplikaci AME 200 mg/kg ž. hm. zlatým křečkům byl zjištěn fetotoxický účinek. Žádné účinky nebyly zjištěny po dávce AME 50 a 100 mg/kg ž. hm. (Pollock et al., 1982a; Coulombe a Heimsch, 1980; Pollock et al., 1982b). Dále byly zjištěny u AME účinky mutagenní, genotoxické a pravděpodobně i karcinogenní (Yekeler et al., 2001; Pfeiffer et al., 2007). Prekarcinogenní změny u myši na mukóze jícnu byly zjištěny u AME při přívodu krmiva 50-100 mg/kg ž. hm./den po dobu 10 měsíců (Yekeler et al., 2001).

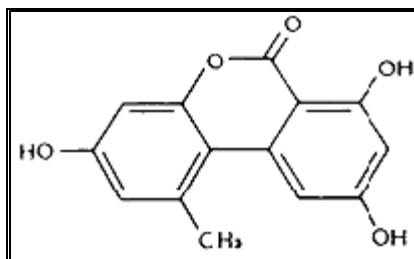
AME signifikantně zvyšuje při koncentraci 25 μ M počet zlomů DNA řetězce u lidských buněk karcinomu tlustého střeva (Marko, 2007). Možnost synergických toxických účinků AME s dalšími alternariiovými mykotoxiny je vysoká (Pero et al., 1973).

Alternariové mykotoxiny (AOH a AME) vykazují nízkou akutní toxicitu. AOH vykazuje cytotoxické, fetotoxické a teratogenní účinky. Po jeho intraperitoneální aplikaci v dávce 200 mg/kg ž. hm. myším uhynulo 30 % pokusných myši. AOH vykazuje mutagenní aktivitu, genotoxicitu a pravděpodobně i karcinogenitu (Brugger et al., 2006; Pfeiffer et al., 2007). AOH signifikantně zvyšuje při koncentraci $>1 \mu$ M počet zlomů DNA řetězce u lidských buněk karcinomu tlustého střeva (Marko, 2007). U AOH bylo nově stanoveno, že působí toxicky na enzym topoizomerázu I a II z hlediska inhibice její katalytické aktivity. Výsledkem je genotoxický efekt AOH a poškození DNA integrity u lidských buněk karcinomu tlustého střeva.

Alternariol (AOH)

AOH (3,7,9-Trihydroxy-1-methyl-6H-dibenzo[b,d]pyran-6-one).

CAS: 641-38-3.



Mykotoxín alternariol často kontaminuje kukuřici a v oblastech, kde se konzumuje, se zjišťuje vyšší úmrtnost na rakovinu jícnu. Známé jsou mutagenní účinky extraktů mikroskopické houby *Alternaria alternata*, ale méně informací je o jejich jednotlivých mykotoxínech. Jeden z hlavních mykotoxínů je alternariol, který se vyskytuje v rajčatech, olivách, mandarinkách, melounech, paprice, jablkách, malinách, různých ovocných džusech, zrninách, slunečnicových semenech atd. V experimentu in vitro se nejnověji zjistily estrogenní účinky jednoho z metabolitů alternariolu. Jeho estrogenní účinek je porovnatelný s fytoestrogénem daizeinem. Zároveň se zjistila indukce tvorby mikrojader obsahující fragmenty DNA v kulturách lidských buněk, co svědčí o genotoxickém potenciálu alternariolu (Lehmann et al., 2006).

Radová a Hajšlová (2003) uvádějí, že v analyzovaných vzorcích siláží (vojtěšková, kukuřičná, travní, cukrovarské řízky, GPS ječmen) byl u všech vzorků identifikován alternariol (AOH) a alternariol monomethylether (AME). Pro alternariové mykotoxiny nejsou v ČR stanoveny žádné hygienické limity.

Literatura

An Y., Zhao T., Miao J., Liu G., Zheng Y., Xu Y., Van Etten R.L. (1989): Isolation, identification, and mutagenicity of alternariol monomethyl ether. *J. Agric. Food Chem.*, 137: 1341-1343.

Anaissie E.J., Bodey G.P., Rinaldi, M.G. (1989): Emerging fungal pathogens. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 8: 323-330.

Anonym (2008): www.zupu.cz-alternaria.

Bottalico A., Logrieco A. (1998): Toxigenic *Alternaria* species of economic importance. In: Sinha, K.K. and Bhatnagar, D. (eds) *Mycotoxins in Agriculture and Food Safety*, Marcel Dekker, Inc, New York. s. 65-108.

Bush R.K., Sanchez H., Geisler D. (1999): Molecular cloning of a major *Alternaria alternata* allergen, rAlt a 2. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 104 (3): 665-671.

Brugger E.M., Wagner J., Schumacher D.M., Koch K., Podlech J., Metzler M., Lehmann L. (2006): Mutagenicity of the mycotoxin alternariol in cultured mammalian cells. *Toxicol. Lett.*, 164 (3): 221-230.

Combe R.G., Jacobs J.J., Watson T.R. (1970): Metabolite of some *Alternaria* species. The structure of altenuisin and dehydroaltenuisin. *Aus. J. Chem.*, 23: 2343-2351.

- Coulombe R.A., Heimsch R.C. (1980): Alternariol and alternariol monomethyl ether from *Alternaria solani* and related fungi. Presented at the Annual Meeting of the Federation of American Societies for Experimental Biology, Anaheim., 39: 621.
- Da Motta S., Valente Soares L.M. (2000): A method for the determination of two alternaria toxins, alternariol and alternariol monomethyl ether, in tomato products. *Braz. J. Microbiol.*, 31 (4): 315-320.
- Garau J., Diamond R.D., Lagrotteria L.B., Kabins S.A. (1977): *Alternaria osteomyelitis* [letter]. *Ann. Intern. Med.*, 86: 747-748.
- Kwasna H. (1992): Ecology and nomenclature of *Alternaria*. In: Chelkowski J., Visconti, A. (eds.). *Alternaria: Biology, plant diseases and metabolites*. Elsevier, Amsterdam. s. 63-100.
- Lehmann L., Wagner J., Metzler M. (2006): Estrogenic and clastogenic potential of the mycotoxin alternariol in cultured mammalian cells. *Food Chem. Toxicol.*, 44: 398-408.
- Manning S.C., Schaefer S.D., Close L.G., Vuitch F. (1991): Culture-positive allergic fungal sinusitis. *Archives of Otolaryngology - Head & Neck Surgery*, 117: 174-178.
- Marko D. (2007): Mechanisms of the genotoxic effect of *Alternaria* toxins. In: 29th Mycotoxin Workshop, Stuttgart - Fellbach, Society for Mycotoxin research, 48.
- McCann J., Choi J., Iamasaki E., Ames B.N. (1981): Detection of carcinogens as mutagens in the Salmonella/ microsome test: Assay of 300 chemicals. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 72: 39-47.
- Montemurro N., Visconti A. (1992): *Alternaria* metabolites, chemical and biological data. In: Chelkowski, J.; Visconti, A. (eds). *Alternaria: Biology, plant diseases and metabolites*. Elsevier, Amsterdam. s. 449-557.
- Morrison V.A., Haake R.J., Weisdorf D.J. (1993): The spectrum of non-*Candida* fungal infections following bone marrow transplantation. *Medicine (Baltimore)*, 72: 78-89.
- Opletal, L., Šimerda, B. (2006): Toxické látky přírodního původu (sekundární metabolity rostlin a hub) v surovinách pro výrobu krmiv a možnosti jejich stanovení). *VÚŽV - VVVZ, Praha-Uhřetěves, červen 2006*. 59 s.
- Ostrý V. Ruprich J., Malíř F. (2008): Alternariové mykotoxiny: toxikologické informace a výskyt v potravinách. Státní zdravotní ústav, Palackého 3a, 612 42 Brno. URL: <http://www.chpr.szu.cz/vedvybor/vvp.htm>.
- Pero R.W., Posner H., Blois M., Harvan D., Spalding J.W. (1973): Toxicity of metabolites produced by the "*Alternaria*". *Environ. Health Perspect.*, 4: 87-94.
- Pfeiffer E., Schebb N.H., Podlech J., Metzler M. (2007): Novel oxidative in vitro metabolites of the mycotoxins alternariol and alternariol methyl ether. *Mol. Nutr. Food Res.*, 51 (3): 307-316.
- Pfeiffer E., Eschbach S, Metzler M. (2007): *Alternaria* toxins: DNA strand-breaking activity in mammalian cells in vitro. In: 29th Mycotoxin Workshop, Stuttgart - Fellbach, Society for Mycotoxin research, 129.
- Pollock G.A., DiSabatino C.E., Heimsch R.C., Hilbelink D.R. (1982a). The subchronic toxicity and teratogenicity of alternariol monomethyl ether produced by *Alternaria solani*. *Food Chem. Toxicol.*, 20: 899-902.
- Pollock G.A., DiSabatino C.E., Heimsch R.C., Coulombe R.A. (1982b): The distribution, elimination, and metabolism of ¹⁴C-alternariol monomethyl ether. *J. Environ. Sci. Health B*, 17: 109-124.
- Pero R.W., Harvan D., Blois M.C. (1973): Isolation of the toxin, altenuisol, from the fungus, *Alternaria tenuis* Auct. *Tetrahedron Lett.*, 12: 945-948.
- Radová Z., Hajšlová J. (2003): Incidence mykotoxinů v cereáliích produkovaných v ČR, vazba na agrotechnická opatření. Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha 6 – Ruzyně. URL: <http://www.phyosanitary.org>

- Rosett T., Sankhala R.H., Sitckings C.E., Taylor M.E.U., Thomas R. (1957): Studies in the biochemistry of microorganisms. Metabolites of *Alternaria tenuis* Auct: culture filtrate products. *Biochem. J.*, 67: 390-400.
- Schell W.A. (2000): Unusual fungal pathogens in fungal rhinosinusitis. *Otolaryngol. Clin. N. Amer.*, 33: 367-373, X.
- Stack M.E., Mislivec P.B., Roach J.A., Pohland A.E. (1985): Liquid chromatographic determination of tenuazonic acid and alternariol methyl ether in tomatoes and tomato products. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 68: 640-642.
- Steyn P.S., Rabie C.J. (1976): Characterisation of magnesium and calcium tenuazonate from *Phoma sorghina*. *Phytochemistry*, 15: 1977-1979.
- Vartivarian S.E., Anaissie E.J., Bodey G.P. (1993): Emerging fungal pathogens in immunocompromised patients: classification, diagnosis, and management. *Clin. Infect. Dis.*, 17: S487-491.
- Vennewald I., Henker M., Klemm E., Seebacher C. (1999): Fungal colonization of the paranasal sinuses. *Mycoses*, 42: 33-36.
- Wadhvani K., Srivastava A.K. (1984): Fungi from otitis media of agricultural field workers. *Mycopathologia*, 88: 155-159.
- Yekeler H., Bitmis K., Özcelik N., Doymaz M.Z., Calta M. (2001): Analysis of toxic effects of *Alternaria toxins* on esophagus of mice by light and electron microscopy. *Toxicol. Pathol.*, 29 (4): 492-497.

8.0 Souhrn

V materiálu EFSA (2007), jsou v části Contam Panel, zmiňovány mykotoxiny **sterigmatocystin, moniliformin, diacetoxyscirpenol, phomopsin A a toxiny mikromycet rodu *Alternaria*** jako ty, u kterých by měl být zvažován a aktualizován vliv na zdraví lidí a zvířat. Nejde o mykotoxiny neznámé, o jejich významu z hlediska jejich vlivu na zdraví lidí a zvířat, resp. vlivu na bezpečnost potravin, existují starší i novější literární informace. Ty jsme se pokusili shromáždit, porovnat a posoudit. Nejde však o vyčerpávající literární přehled, spíše o souhrn významnějších poznatků ke studovanému problému.

Hlavní producent **sterigmatocystinu** *Aspergillus versicolor*, patří do rodu *Aspergillus*. Dosud bylo u asi 20 druhů prokázáno, že byly příčinou příležitostných infekcí u člověka. Mezi ně patří *A. fumigatus* nejběžněji izolovaný druh, dále *A. flavus* a *A. niger*. Mezi druhy méně často izolované a označené jako příležitostné patogeny patří *A. clavatus*, *A. glaucus*, *A. nidulans*, *A. oryzae*, *A. terreus*, *A. ustus* a *A. versicolor*. Sterigmatocystin stojí poněkud v pozadí za chemicky příbuznými aflatoxiny. Svoji strukturou a účinky se mykotoxin sterigmatocystin podobá aflatoxinům. Je prekurzorem aflatoxinu B-1, je hepatotoxický, karcinogenní, i když jeho toxicita je menší než u aflatoxinu. Sterigmatocystin představuje přirozený kontaminant rostlinných zdrojů potravin. Významná se zdá být jeho kontaminace sýrů i dalších substrátů. V našich podmínkách zatím nebyly prokázány nadlimitní hladiny. Na Slovensku bylo mykologicky vyšetřeno 100 vzorků krmných směsí pro drůbež, sterigmatocystin byl prokázán v 10 vzorcích.

Moniliformin je mykotoxin vytvářený řadou Fusariových druhů v mnoha cereáliích. *F. moniliforme* je uváděno jako původce kožních onemocnění lidí, jako původce mycetomatosy, původce keratitidy, septické artritidy, diseminovaných infekcí u pacientů s maligním lymfomem a u akutní lymfatické leukémie. Je také uváděn jako původce mykotické pneumonie u aligátorů. Vzhledem k tomu, že houba *F. moniliforme* je přítomna jak na polních porostech, tak na skladovaném zrně, produkované mykotoxiny ovlivňují zdraví zvířat. Na základě laboratorních studií toxicity se potvrdilo, že MON je vysoce toxický pro drůbež. U kuřat, která byla krmena dávkou infikovanou *F. moniliforme* se vyvinulo onemocnění charakterizované těžkými deformitami běháků. Houba *F. moniliforme* byla rovněž prokázána jako původce nemoci koňovitých (Equidae). Na Slovensku z vyšetřených 100 vzorků krmných směsí pro drůbež byly mikromycety produkující moniliformin zachyceny v 18 vzorcích.

Fusariové mykotoxiny jsou široce rozšířené v potravním řetězci zemí EU. Hlavním zdrojem jsou cereálie. Výskyt **diacetoxyscirpenolu** v komponentách potravního řetězce byl prokázán ve 4 % a u monoacetoxyscirpenolu v 1 % analyzovaných vzorků. Jaké riziko představují scirpentriolové mykotoxiny v potravinách a krmivu pro lidi a zvířata zatím nelze stanovit neboť závisí na řadě faktorů a není dostatek informací. Pro zrniny a jejich produkty se kontaminace scirpentriolovými toxiny zdá být méně významná než dalších trichothečenů. Pozornost by měla být především zaměřena na další komodity. Do souvislosti s trichothečenovými toxiny je dáván tzv. syndrom nezdravých budov.

Phomopsiny představují skupinu makrocyclických hexapeptidů vytvářené mikroskopickou houbou *Phomopsis leptostromiformis*, která je parazit lupiny polní, zvláště *Lupinus luteus*. Roste také saprofytický na mrtvých rostlinách tohoto i dalších druhů lupin jako je *L. albus* a *L. angustifolius*. Infekce vegetativních částí rostlin může vést k vysokým hladinám mykotoxinu phomopsinu, které bývají přítomny na strnisku a jsou hlavním zdrojem expozice

zvířat. S pastvou je spojené určité riziko, protože mnoho lupinových strnišť je v různé míře kolonizováno houbou *P. leptostromiformis*, která může produkovat smrtící toxin a vyvola lupinózu. Akutní forma lupinózy, se může projevit krátce po letním dešti nebo vydatné rose, úhynem ovcí, které spásaly napadené strniště. Ovce jsou postiženy nejčastěji, ale napaden však bývá i skot, koně a osli.

Rod *Alternaria* zahrnuje řadu rostlinných patogenů. Kolonizují velký počet hospodářsky důležitých rostlin. Mohou napadnout zdravé stejně jako oslabené nebo odumřelé rostliny před sklizní a za určitých podmínek poškodí i skladované produkty. Rod *Alternaria* spp. vytváří 71 známých myko a fytotoxinů. Mezi mykotoxiny, produkované ve velkých množstvích jsou uváděny alternaliol a alternariol monomethyl ether. Jako zdroje těchto toxinů jsou uváděny *A. alternata*, *A. dauci*, *A. cucumerina*, *A. solani* a *A. tenuissima*. *Alternaria* spp. byl potvrzen jako podmiňující patogen zvláště u pacientů s imunodeficiencí, např. u pacientů s transplantovanou kostní dřeví. Způsobuje plísňové onemocnění nehtové ploténky (onychomykózu), sinusitidy, vředy na kůži, keratitidy stejně jako viscerální infekce a osteomyelitidy. U pacientů s nedostatečnou imunitou, kolonizuje *Alternaria* vedlejší dutiny nosní, což vede k chronické hypertrofické sinusitidě a může skončit vývojem invazivního onemocnění. U pracovníků v zemědělství patří mezi původce otitis media. V poslední době se zdá být důležité a potřebné sledovat obsah kyseliny tenuazonové, kterou produkují mikroskopické houby rodu *Alternaria* a kyselinu cyklopiazonovou (produkuje ji rod *Penicillium* a *Aspergillus*) v rajčatech a výrobků z nich, jako jsou protlaky, kečupy a pod.

Hodnocení literárních zdrojů a následné zpracování studie bylo ovlivněno řadou faktorů. V souvislosti se stále dokonalejšími způsoby laboratorního stanovení mykotoxinů se rychle mění a upřesňují publikované poznatky. Velmi často je upřesňována taxonomie, rozšiřuje se paleta mikroskopických hub, které jsou producenty několika různých mykotoxinů, nacházejí se další producenti již známých mykotoxinů apod. To vše do jisté míry znepřehledňuje a znesnadňuje studium a zpracování studie.

Literatura

EFSA (2007): Parma, 13 April 2007 EFSA/AF/RU/2007/18/PUB/FINAL) Preliminary management plan of the European food safety authority for 2008.

9.0 Závěr

V předložené literární studii byly shromážděny, porovnány a aktualizovány poznatky o mykotoxinech sterigmatocystinu, moniliforminu, diacetoxyscirpenolu, phomopsinu A a toxinů mikromycet rodu *Alternaria*. Studie je určitou odezvou na požadavek EFSA zvážit jaký vliv mají tyto mykotoxiny na zdraví lidí a zvířat a na bezpečnost potravin.

První část studie zařazuje sledované mykotoxiny do různých, již existujících, systémů z hlediska jejich chemického dělení, způsobu biosyntézy, toxicity kvalitativní, toxicity kvantitativní a podle účinku na buňku. Je třeba zdůraznit, že rozdělení není dokonalé, má některé nevýhody, např. jednotlivé toxiny jsou řazeny do více skupin, nebo jsou řazeny podle historického aspektu, resp. podle určitých zvyklostí.

Následující kapitoly jsou věnovány jednotlivým mykotoxinům a to z hlediska jejich producentů, kvalitativní toxicity, nejčastějších hostitelů, vlivu na zdraví lidí a zvířat a pokud byly k dispozici informace, i o možném jejich výskytu v našich podmínkách. V případě diacetoxyscirpenolu byl přiřčen problém Sick Building Syndromu, u phomopsinu A, vzhledem k aktuální problematice využití lupiny ve výživě zvířat, problematika lupinózy. Za vysoce aktuální lze považovat problematiku mykotoxinů mikromycet rodu *Alternaria*.

Studie není vyčerpávajícím literárním přehledem současných znalostí, spíše jde o souhrn významnějších poznatků ke studovanému problému, který by měl být i nadále sledován a obohacován. Lze se domnívat, že základní požadavky studie naplňuje.