

# Czy mikotoksyny mogą być substancjami hamującymi w mleku?

Is mycotoxins can be used as inhibitors in milk?

**Magdalena Gajęcka**<sup>1</sup>

**Maciej Gajęcki**<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Katedra Epizootiologii, Wydział Medycyny Weterynaryjnej,  
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

<sup>2</sup> Katedra Prewencji Weterynaryjnej i Higieny Pasz, Wydział Medycyny  
Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

*Praca zostanie przedstawiona w formie referatu podczas  
Konferencji pt. Nowoczesne Technologie w Praktyce Bujatrycznej  
w dniach 9-11.10.2014 w Łomży.*

## Streszczenie

Zwierzęta mogą być narażone na działanie mikotoksyn w łańcuchu paszowym. Mikotoksyny występują głównie, jako zanieczyszczenia w paszy i mogą być wydalone w płynach biologicznych, takich jak mocz lub w mleku zwierząt lub ludzi, jako substancja macierzysta lub jako metabolit. Wiele prób dotyczących obecności mikotoksyn zostało przeprowadzonych na całym świecie i z badań tych wynika, że ma miejsce współwystępowanie mikotoksyn w materiałach paszowych i żywności. W rzeczywistości, wyniki sugerują, że w pewnych sytuacjach nawet 50% produktów mleczarskich może być zanieczyszczone przez mikotoksyny. Jednak opierając się na danych analitycznych w celu określenia stopnia ekspozycji mikotoksynami zwierząt i ludzi wyniki są słabo obiecujące ze względu na niejednorodny rozkład mikotoksyn w materiałach paszowych i produktach spożywczych, odstęp czasu pomiędzy pobraniem mikotoksyn, rozwojem choroby przewlekłej i niedokładności dietetycznych podczas określania danych w paszy i żywności. Jednak w porównaniu do innych płynów ustrojowych, takich jak krew, osocze czy mocz, to poziom wielu mikotoksyn w mleku zwierząt i ludzi jest raczej mały. Mleko matki jest istotnym źródłem mikotoksyn dla noworodków zwierząt i ludzi, ponieważ ich obecność została udokumentowana w próbkach pobranych w kilku krajach europejskich. Dlatego obecność mikotoksyny w mleku krów może być ważnym i poważnym problemem.

**Słowa kluczowe:** mikotoksyny • krowy • mleko

## Summary

Animals can be exposed to mycotoxins through the feed chain. Mycotoxins are mainly found as contaminants in feed and could be subsequently excreted via biological fluids such as urine or animal breast milk in native or metabolized form. Many attempts to study the occurrence of mycotoxins have been carried out around the world and these surveys have commonly demonstrated the co-occurrence of mycotoxins in feed materials and food. In fact, results suggest that in certain situations as much as 50% of the dairy products may be contaminated by mycotoxins. However, relying on analytical data for determining mycotoxin exposure of animal and human populations is difficult due to the heterogeneous distribution of mycotoxins in feed materials and food commodities, the time lag between toxin intake and the development of chronic disease and the inaccuracies of dietary for determining feed and food intake data. Yet, in comparison to other biological fluids such as blood, plasma and urine, the database on multi-mycotoxin levels in animal and human milk is rather small. Breast milk is a relevant source of mycotoxins for animal and human neonates since their presence in samples collected in several European countries has been documented. Therefore, the presence of mycotoxins in cow's milk could be a important and serious problem.

**Key words:** mycotoxins • dairy cows • mleko

---

Wpłynęło: 25-08-2014

Zaakceptowano: 28-08-2014

Opublikowano on-line: 01-09-2014

---

## Adres do korespondencji:

dr hab. Magdalena Gajęcka  
Katedra Epizootiologii,  
Wydział Medycyny Weterynaryjnej,  
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski  
w Olsztynie  
ul. Oczapowskiego 13  
10-718 Olsztyn  
e-mail: mgaja@uwm.edu.pl

## Wprowadzenie

Mikotoksyny to są związki wytwarzane przez pleśnie w określonych warunkach środowiskowych. Około 25% upraw na świecie jest zanieczyszczonych grzybami pleśniowymi lub mikotoksynami, które mogą być produkowane zarówno przed jak i po zbiorze (Bryden, 2007). U ludzi i zwierząt spożycie lub pobranie materiału roślinnego zanieczyszczonego mikotoksynami może prowadzić do mikotoksykoz (Rubert i wsp., 2014). Są to choroby cechujące się specyficznymi efektami u zwierząt gospodarskich, takimi jak: w przypadku aflatoksyn – stany patologiczne i/lub zmiany nowotworowe wątroby; uszkodzenia nerek w przypadku ochratoksyny A; zaburzenia płodności przy zearalenonie (ZEN); utrata łaknienia i wymioty po pobraniu deoksyniwalenolu (DON) (Cortinovis i wsp., 2013). Jednocześnie, wszystkie mikotoksyny cechuje działanie niespecyficzne, przejawiające się zmniejszeniem wykorzystania paszy i ogólnym pogorszeniem zdrowotności zwierząt (Bryden, 2007; Fink-Gremmels, 1999, 2008). Wiele mikotoksyn cechuje się też aktywnością antybiotyczną oraz fitotoksyczną. Aktywność fitotoksyczna metabolitów grzybów nabiera znaczenia wtedy, gdy grzyb pleśniowy jest patogenem a tworzony przez niego metabolit jest toksyczny dla komórek roślinnych, w których się rozwija. Natomiast aktywność antybiotyczna metabolitów grzybów pleśniowych wpływać może na rozwój i wzajemne oddziaływanie drobnoustrojów w poszczególnych niszach ekologicznych – w glebie, na pozostawionej w polu słomie czy łodygach kukurydzy, na pleśniejącym na skutek zbyt dużej wilgotności ziarnie zbóż czy w organizmie zwierząt (Culpepper i Mai, 2013).

Przewód pokarmowy jest pierwszą barierą chroniącą przed substancjami niepożądanymi, jakimi są mikotoksyny obecne w paszach (Zachariasova i wsp., 2014). Po wnikięciu do ściany jelit mikotoksyny z zasady dostają się do krwi i wraz z nią są rozprowadzane po organizmie gdzie mogą prowokować określone zmiany patologiczne lub być obojętne (Maresca i Fantini, 2010). Począwszy od światła jelit mikotoksyny podlegają procesom biotransformacji w wyniku, której powstają często substancje bardziej toksyczne niż substancja macierzysta (Frizell i wsp., 2011). Wszystko zależy od dawki. Małe dawki począwszy od dawki NOAEL (najmniejsza dawka niewywołująca objawów klinicznych) wywołują zupełnie inne objawy miejscowe i ogólne, do których byliśmy przyzwyczajeni podczas mikotoksykoz prowokowanych wyższymi dawkami powyżej wartości NOAEL (Calabrese, 2005; Dobrzyński i Fornalski, 2011; Gajęcka i wsp., 2013).

Stwierdzano zmiany w bakteryjnym profilu metabolicznym. Miał miejsce wzmożony metabolizm aminokwasów podczas równoczesnego narażenia ZEN i DON, które mogą być szkodliwe ze względu na powstawanie biogenicznych amin i związków pro-kancerogennych. Udokumentowano, że ekspozycja zwierząt na mikotoksyny fuzaryjne, podawanych w dawkach NOAEL niekorzystnie wpływa na stabilność biocenozy przewodu pokarmowego, który jest ważnym wskaźnikiem zdrowia zwierząt

(Piotrowska i wsp., 2014).

Sześć mikotoksyn na ponad tysiąc poznanych uznaje się, jako znaczące z punktu widzenia toksykologicznego i ekonomicznego w skali światowej: aflatoksyny, ochratoksynę A, DON, ZEN, mikotoksyny T-2 i fumonizyny. Aflatoksyny, tworzone głównie przez gatunek *Aspergillus flavus* stanowią poważny problem w krajach produkujących orzeszki arachidowe, makuchy bawełniane, a w niektórych krajach występują w ziarnie kukurydzy. W naszym klimacie nie są czynnikiem zanieczyszczającym zboża, natomiast występują w importowanych, np. makuchach. Ochratoksyna A to typowy przedstawiciel mikotoksyn, tworzonych w trakcie niewłaściwego przechowywania ziarna zbóż we wszystkich strefach klimatycznych przez gatunki rodzajów *Aspergillus* i *Penicillium*. Pozostałe mikotoksyny: DON, T-2, ZEN i fumonizyny wytwarzane są przez patogeniczne wobec zbóż gatunki *Fusarium*, porażające kłosa zbóż i kolby kukurydzy (Gajęcki i wsp., 2011).

Obok przedstawionych wcześniej czynników należy również wziąć pod uwagę ilościową ocenę narażenia. Jest metodologia stosowana do analizy informacji naukowych w celu oszacowania prawdopodobieństwa i wielkości zdarzenia niepożądanego. Metodologia ta została zastosowana do modelowania narażenia ludzi na mikotoksyny wynikających z zanieczyszczenia mikotoksynami pasz dla krów mlecznych, następnie przeniesienie tychże do mleka i produktów mlecznych spożywanych przez ludzi. Obecność mikotoksyn w mleku krowim została już wcześniej udokumentowana (Blüthgen i wsp., 2004; Yiannikouris i Jouany, 2002) lecz ich prawdopodobne przenieszenie do produktów mlecznych może stanowić potencjalne zagrożenie dla zdrowia ludzkiego (brak danych). Z kolei stwierdzono, że narażenia człowieka na mikotoksyny może prowadzić do różnych poważnych stanów chorobowych, nawet do raka wątroby (Marquardt, 1996). Dotyczy to w szczególności sześciu mikotoksyn – Aflatoksyny B<sub>1</sub>/M<sub>1</sub>, Ochratoksyny A, DON-u, Fumonizyny B<sub>1</sub>, ZEN-u i Mikotoksyny T-2 – których dane przeanalizowano z racji ich występowania w trzech materiałach paszowych (jęczmieniu, pszenicy i kukurydzy), procentowego udziału w paszy dla bydła mlecznego, stopnia przeniesienia do mleka i poziomu narażenia człowieka. Przez szacunkowe zestawienie poszczególnych stężeń mikotoksyn w mleku określono dawkę mikotoksyn pobieranych przez mieszkańców Unii. Stopień narażenia mikotoksynami w mleku daje wszelkie podstawy by twierdzić, że zagrożenie jest realne dla człowieka. Informacje i dane do opracowania modelu są niepełne, ponieważ nie we wszystkich krajach są dostępne tego rodzaju wyniki (Coffey i wsp., 2009).

W przedłożonej pracy pragniemy przedstawić ewentualne problemy z najczęściej występującymi mikotoksynami w naszym kraju, czyli z ZEN i DON w mleku. Inne są również ważne, ale występują sporadycznie. Z drugiej strony, nie potrafimy postawić podejrzania obecności określonej mikotoksyny, co jest spowodowane problemem braku umiejętności rozpoznawania stanów subklinicznych,

spowodowanych obecnością substancji niepożądanych w paszy w małych dawkach poniżej wartości NOAEL.

### Mikotoksyny

- ZEN i jego metabolity  $\alpha$ -zearalenol ( $\alpha$ -ZEL) i  $\beta$ -zearalenol ( $\beta$ -ZEL), powodują zaburzenia w rozrodzie zwierząt, ponieważ w swej aktywności są podobne do estradiolu (Diekman i Greek, 1992; Wielogórska i wsp., 2014).  $\alpha$ -ZEL jest dominującym metabolitem ZEN występującym w organizmie świń, podczas gdy u innych gatunków zwierząt jak np. u broilerów, krów i owiec dominującym produktem metabolizmu ZEN jest  $\beta$ -ZEL o dużo mniejszej aktywności metabolicznej (Marczuk i wsp., 2012; Gajęcka i wsp., 2013). Efekt aktywności ZEN zależy od wyniku procesów metabolicznych mających miejsce w organizmie zwierząt a nawet w organizmach roślinnych oraz od statusu immunologicznego (Martin i wsp., 2010; Dunbar i wsp., 2012) układu rozrodczego (w okresie dojrzewania organizmu, cyklu płciowego czy etapu ciąży – w wyniku zmian koncentracji hormonów sterydowych) dotkniętych organizmów (Alm i wsp., 2006). Stan zdrowotny komórek pęcherzykowych i oocytów w tych pęcherzykach jest bardzo istotny dla procesu dojrzewania i wczesnego rozwoju embrionów. Wcześniejsze obserwacje hodowli komórkowej warstwy ziarnistej i osłonki wewnętrznej pęcherzyków jajnikowych loszek i suk ujawniły, że ZEN oddziałuje na dojrzewanie i stopień degeneracji oocytów zależnie od dawki i czasu narażenia (Skorska-Wyszyńska i wsp., 2004).  $\alpha$ -ZEL jest bardziej aktywny hormonalnie niż  $\beta$ -ZEL z racji jego większej aktywności estrogenowej. Ponadto, z badań *in vitro* i *in vivo* wynika, że ZEN redukuje aktywność wielu enzymów biorących udział w procesie sterydogenezy u zwierząt i należących do cytochromów P450scc oraz dehydrogenaz hydroksysteroidowych typu  $3\beta$ - lub  $17\beta$ - i ich izomerów, które biorą udział w procesie konwersji pregnenolonu do progesteronu lub estronu do estradiolu (Skorska-Wyszyńska i wsp., 2004; Gajęcka i wsp., 2011; Gajęcka i Otrócka-Domagała, 2013; Woźniak i wsp., 2014).
- DON – jest to jedna z najbardziej znanych i omawianych mikotoksyn fuzaryjnych, z powodu częstego jej występowania w materiale roślinnym. Drugim powodem dużego zainteresowania świata naukowego DON-em jest fakt wysokiego ryzyka zdrowotnego wobec człowieka i zwierząt (De Angelis i wsp., 2014). Strukturalnie DON jest polarnym związkiem organicznym o wzorze 12, 13-epoksy-3 $\alpha$ , 7 $\alpha$ , trichotech, 15-trihydrokso-9-en-8-on. Ketonowa grupa w pozycji C8 jest charakterystyczna dla trichotecenów klasy B, również liczba i położenie grup hydroksylowych i acetylo-estrów może mieć wpływ na toksyczność względną wewnątrz komórek. Poprzez grupę epoksydową, mikotoksyna ta jest w stanie wiązać się z dużą liczbą podjednostek rybosomów eukariotycznych i zakłócać aktywność transferazy peptydowej, pogarszając procesy rozbudowy lub skracania łańcuchów peptydowych. DON z racji możliwości zakłócania syntezy

białka, przypisuje się wiele właściwości, jak np. wpływ na: szybkość transportu do komórek, metabolizm enzymów w cytoplazmie, zmiany w powinowactwie do aktywnego miejsca wiążącego lub zakłócania syntezy białek (Waśkiewicz i wsp., 2014). Z tego powodu wpływa na określonej tkanki lub narządy. Musi być jednak dostępny, to znaczy uwolniony z matrycy i ewentualnie powinien być wchłonięty z jelita do krążenia ogólnoustrojowego gdzie może być przyczynkiem do określonego odchylenia od norm wskaźników hematologicznych i biochemicznych surowicy krwi.

- Mikotoksyna T-2 – jest rozpowszechnioną mikotoksyną z grupy trichotecenów produkowaną głównie przez *Fusarium sporotrichioides*, który znajduje się w ziarniakach zbóż w Europie (CAST, 2003). Długotrwałe narażenia trichotecenami klasy A prowadzi do utraty apetytu, spadku masy ciała, zmian w jamie ustnej i przelyku. Podobnie jak inne trichoteceny T-2 jest inhibitorem syntezy białka (Meissonnier i wsp., 2008). Narażenie mikotoksyną T-2 powoduje leukopenię w narządach limfoidalnych, hamuje erytropoezę w szpiku kostnym i śledzionie (Grizzle i wsp., 2004). Zatrucie tą mikotoksyną pogarsza produkcję przeciwciał (Li i wsp., 2006), zmniejsza odpowiedź proliferacyjną limfocytów i hamuje rozwój komórek dendrytycznych (Obremski i wsp., 2013).
- Fumonizyny – stanowią odmienną klasę mikotoksyn (Voss i wsp., 2007). Produkowane są przez *Fusarium verticilloides*. Fumonizyny a szczególnie, fumonizyna B<sub>1</sub>, która jest podobna w swej budowie strukturalnej do komórkowych sfingolipidów powodując różne zespoły chorobowe jak np. neurotoksemię u koni zwaną leukoencefalomalacją u koni (ELEM - equine leukoencephalomalacia), zmiany sercowo-naczyniowe i obrzęk płuc u świń (PPE - porcine pulmonary edema) oraz uszkodzenia nerek i wątroby u gryzoni. U bydła objawom uszkodzenia nerek i wątroby towarzyszył wzrost aktywności enzymów diagnostycznych oraz poziomów cholesterolu i bilirubiny w surowicy krwi. Fumonizyna B<sub>1</sub> jest znana, jako czynnik powodujący zmniejszenie ilości bakterii żwaczowych, lecz biodostępność fumonizyny B<sub>1</sub> po podaniu doustnym wraz z paszą jest dużo niższa niż u innych zwierząt, co tłumaczy rzadkie występowanie ostrych form zatrucia tą mikotoksyną u bydła fermowego.

### Mikroflora żwacza

Badania mikotoksyn skupiały się przez wiele lat na samych mikotoksynach, które są mutagenne i genotoksyczne i z racji tej, że często są karcinogenne jak aflatoksyny, ochratoksyny czy fumonizyny. W ostatnim czasie wiele nowych mikotoksyn wzbudziło duże zainteresowanie z punktu widzenia ich oddziaływań na zdrowie i produktywność zwierząt. Ogólna wiedza o mikotoksynach zwierzęcych dowodzi, że przeżuwacze są zwierzętami najbardziej opornymi na mikotoksyny z racji tej, że mikroflora przedżołądków w sposób dość skuteczny je rozkłada i dezaktywuje a przez to chroni (Macri i wsp., 2005).

Zdolność detoksykacyjna mikroflory żwacza jest określona i zmienia się zależnie od diety lub może być wynikiem toczących się chorób metabolicznych takich np. jak kwasica żwacza.

Ogólne obserwacje na poziomie gospodarstwa pozwalają stwierdzić obecność pleśni tak w paszach magazynowanych jak i zakiszanych (Cheli i wsp., 2013). W magazynowanym materiale roślinnym stwierdza się obecność różnych gatunków grzybów pleśniowych z rodzaju *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Monascus*, *Trichoderma* i *Mucor* jak również *Byssoschlamys* i *Geotrichum* zależnie od warunków klimatycznych i rejonu geograficznego (Zachariasova i wsp., 2014). Częścią ich procesów metabolicznych jest produkcja tzw. mikrobiologicznych lotnych związków organicznych (microbial volatile organic compounds - MVOCs), które są odpowiedzialne za charakterystyczny odór (zapach) pleśniowy. Obecnie jest opisanych ponad 150 lotnych związków zawierających ketony, estry, alkohole, aldehydy, węglowodory i terpeny, lecz u żadnego gatunku pleśni ich nie stwierdzono. W większości były obecne 1,3-oktadien, 1-okten-3-ol, aceton, oktanon-3, farnesen- $\beta$  oraz seskwiterpenowe. Ustalono zostało, że MVOCs występują podczas zespołu chorego budynku (sick-building syndrome - SBS) u ludzi będąc przyczyną odoru pleśniowego, podrażnienia oczu, niewydolności oddechowej i astmy. U bydła, które źle znosi odór pleśni, obserwuje się spadek zużycia paszy oraz wydłużenie czasu trwania odpasu. W krytycznych okresach cyklu produkcyjnego krowy, zużycie paszy powinno być wyższe z racji znacznego zapotrzebowania na energię strawną. Jednakże obecność mikotoksyn powoduje zniżenie ilości pobieranej paszy, co doprowadza do wystąpienia ujemnego bilansu energetycznego (NEB).

Infestacja pleśni w suchych materiałach roślinnych jak np. siano, sianokiszka czy słoma powoduje ilościowy wzrost frakcji kurzowej, w której jest obecna bardzo duża liczba konidii pleśniowych (spor) (Lanier i wsp., 2010). U koni frakcje kurzowe są głównym czynnikiem wywołującym stany przewlekłej lub nawracającej obturacji dróg oddechowych (equine recurrent airway disease - RAD). Tego rodzaju badań u bydła nie wykonywano. Można natomiast sugerować, że inhalacja spor pleśniowych jest stałym przyczynkiem do narażeń prozapalnych górnych i dolnych dróg oddechowych również u bydła. Spleśniałe siano jest przyczyną spadku jakości nasienia u buhai oraz wywołuje światłoczułość u bydła. Do chwili obecnej nie określono, które z mikotoksyn mogą być czynnikiem etiologicznym wspomnianych schorzeń. Niektóre gatunki grzybów pleśniowych takie jak *Aspergillus fumigatus*, występujące często w kiszunkach i sianie, mogą również zakażać zwierzęta powodując grzybicę płuc, poronienia lub stany zapalne gruczołu mlekowego. *A. fumigatus* jest znanym producentem toksyn a w szczególności gliotoksyny, która w określonych tkankach przyczynia się do wywoływania procesów zapalnych.

W jednym z pierwszych badań stwierdzono, że mikroflora i mikrofauna żwacza jest pierwszą linią obrony u przeżuwaczy przekształcającą takie mikotoksyny jak aflatok-

syna, ochratoksyna A i trichoteceny a wśród nich DON, do metabolitów mniej toksycznych - odpowiednio aflatoksinol, ochratoksin- $\alpha$  i de-epoksy-trichoteceny. W kolejnych badaniach stwierdzono, że wpływ, mikotoksyn na stabilność żwacza jest znaczna, lecz nie wszystkie metabolity pleśni ulegają wpływom enzymów mikroorganizmów żwaczowych i tak np. fumonizyny przechodzą przez żwacz nienaruszone a ZEN ulega transformacji do metabolitu bardziej aktywnego, jakim jest  $\alpha$ -ZEL. Stwierdza się, że w żwaczu populacja pierwotniaków wykazuje wysoką sprawność w procesie odtruwania pobranych z paszą mikotoksyn, lecz może to ulegać różnego rodzaju zmianom zależnie od rodzaju mikotoksyn (ich budowy chemicznej) oraz udziału ilościowego i jakościowego bakterii i innych organizmów obecnych w żwaczu, które należałoby wziąć pod uwagę by móc rzetelnie ocenić, co powoduje degradację tych substancji w przedżołądkach (Dänicke i wsp., 2005).

Różne mikotoksyny są w stanie zmienić mikroflorę żwacza wykorzystując swe właściwości przeciwbakteryjne, przeciwpierwotniacze i przeciwgrzybiczne. Typowym tego przykładem jest patulina, która jest cyklicznym laktonem produkowanym przez wiele gatunków pleśni jak np. *Penicillium*, *Aspergillus* czy *Byssoschlamys*. Patulina charakteryzuje się szerokim spektrum działania przeciwbakteryjnego wobec bakterii Gram+ i Gram- oraz pierwotniaków. Podczas badań *in vitro* udowodniono, że działanie antybakteryjne patuliny (zależnie od stężenia) ma ujemny wpływ na produkcję lotnych kwasów tłuszczowych i octanów jak również na syntezę protein w płynie żwaczowym. Stwierdzono również, że patulina w znaczny sposób obniża rozkład siana z lucerny, co wynika z faktu, że mikotoksyna ta ma silne właściwości antybakteryjne powodując wyhamowanie procesu rozpadu celulozy (Morgavi i wsp., 2003).

Sprawdzano również wpływ mikotoksyn fuzaryjnych na *Ruminoicoccus albus* i *Methanobrevibacter ruminatum*. Proces namnażania obu mikroorganizmów został w znacznym stopniu wyhamowany przez kwas fuzarowy. *R. albus* i *M. ruminatum* nie mogły przystosować się do jego obecności. Nie stwierdzono tego w odniesieniu do DON, który często jest stwierdzany w paszy, jako główny reprezentant trichotecenów. Jak wiadomo, wiele gatunków *Fusarium* jest zdolnych produkować kwas fuzarowy, nawet w dużych ilościach, co ma miejsce w ziarniakach zbóż i w paszach zbożowo-pochodnych (May i wsp., 2000).

Inne mikotoksyny, ze znaną aktywnością antybakteryjną to bowercyna i eniatyna. Odkrycie, że mikotoksyny wpływają ujemnie na mikroflorę żwacza koresponduje z obserwacjami klinicznymi w praktyce. Podczas karmienia zwierząt kiszunkami zanieczyszczonymi pleśniami (Cheli i wsp., 2013) stwierdzano zmniejszenie wypełnienia żwacza, słabe wykorzystanie paszy oraz nieznaczną biegunkę. Dłużej trwającym objawom zatrucia towarzyszyło zmniejszenie produkcji mleka (straty > 15%) oraz zwiększała się częstotliwość występowania stanów subklinicznych zapalenia wymion z równoczesnym

liczby komórek somatycznych w mleku (Cheli i wsp., 2013).

Wtórny skutkiem niewydolnej mikroflory żwaczowej jest zwiększenie udziału innych mikotoksyn w płynach żwaczowych, które uniknęły mikrobiologicznej degradacji (detoksykacji). W efekcie docierają one nietknięte do dwunastnicy, gdzie ulegają wchłonięciu w taki sam sposób i w takich samych stężeniach jak u zwierząt monogastycznych, wywołując różne stany chorobowe u krów. Występująca interakcja pomiędzy różnymi mikotoksynami może wyjaśnić różnice w uzyskiwanych wynikach eksperymentów żywieniowych. W prowadzonych badaniach zwierzęta były intoksykowane pojedynczymi lub określonymi grupami mikotoksyn (mikotoksykozy mieszane) i stwierdzano dużą tolerancję krów zdrowych na ich obecność w paszach. Zupełnie inaczej wygląda sytuacja podczas wypasania krów zdrowych na pastwisku, gdzie zwierzęta są wystawione na działanie wielu różnych metabolitów pleśni obecnych w sposób skoncentrowany w częściach niestrawnych pasz. Po ich pobraniu, w wyniku niewydolności detoksykacyjnej mikroflory żwacza, niezmiennione mikotoksyny dostają się do dwunastnicy, gdzie ulegają wchłonięciu, powodując zaburzenia stanu zdrowotnego zwierząt.

### Kiszonki

W przeszłości obraz kliniczny mikotoksykoz był przedstawiany tylko w sporadycznych przypadkach w odniesieniu do kilku toksyn. Oceniając wielopłaszczyznowo np. z punktu widzenia pleśni i mikotoksyn zanieczyszczających materiały paszowe a szczególnie kiszonki (Cheli i wsp., 2013), powodowały stany chorobowe, które nie miały nic wspólnego z towarzyszącymi im zmianami analitycznymi. Ostatnio zaczęto coraz więcej uwagi zwracać na fakt obecności mikotoksyn w kisonkach (Zachariasova i wsp., 2014). Silosowane trawy lub siano-kiszonki mogą zawierać bogatą mieszankę mikotoksyn, które zostały wyprodukowane przez grzyby pleśniowe przed zbiorem traw, chociaż bardzo często zdarza się, że zanieczyszczenie kisonek ma miejsce podczas silosowania materiału roślinnego. Wiele mikotoksyn takich jak patulina i inne produkowane przez *Penicillium*, *Aspergillus*, *Monascus* czy *Trichoderma* spp., mają właściwości przeciwbakteryjne i z racji tej ograniczają ilościowo oraz modyfikują florę bakteryjną żwacza. W efekcie wynikające stany chorobowe różnią się od typowych mikotoksykoz a przypominają stany niedożywienia z towarzyszącą dysbakteriozą, prowadzącą (poprzedzającą) do kwasicy, dochodzi do spowolnienia procesów przetwarzania pasz, spadek masy ciała i wystąpienia łagodnej biegunki z niestrawionym błonnikiem w kale. Zaistniała sytuacja dowodzi, że mikotoksyny obecne w paszach treściwych są prawdopodobnie łatwiej i w większym odsetku wchłaniane. Hipoteza ta jest bardzo prawdopodobna z racji dokonywanych obserwacji klinicznych, z których wynika, że spadkowi produkcji mleka towarzyszy zwiększenie liczby komórek somatycznych w mleku, zwiększa się liczba zwierząt ze stanami laminitis i innymi chorobami zakaźnymi. Prowadząc dalej tego rodzaju dochodzenia

stwierdza się, że kisonki są silnie, infestowane przez grzyby pleśniowe i stwierdza się znaczną koncentrację takich mikotoksyn jak deoksyniwalenol czy zearalenon oraz wiele innych (Cheli i wsp., 2013). Spada również użytkowość rozrodzca krów w chorujących stadach. W wyniku znaczących zmian metabolicznych i hormonalnych (Woźniak i wsp., 2014) oraz wystąpienia ujemnego bilansu energetycznego u wielu zwierząt, a szczególnie w okresach przejściowych, stają się one bardziej podatne na wpływ grzybów pleśniowych i mikotoksyn.

### Mleko

#### Uwagi ogólne

Mleko jest podstawą żywieniową w wielu krajach i ma olbrzymie znaczenie ze względu na dużą zawartość wapnia. Dotychczas nie zostały ustalone dopuszczalne poziomy dla koncentracji mikotoksyn fuzaryjnych w mleku lub przetworach mlecznych. Jednak w 2005 roku, Unia Europejska (UE) wyznaczyła maksymalne dopuszczalne poziomy ZEN w nieprzetworzonych zbożach innych niż kukurydza i w nieprzetworzonej kukurydzy odpowiednio w wartościach 100  $\mu\text{g kg}^{-1}$  i 200  $\mu\text{g kg}^{-1}$  (Rozporządzenie Komisji (WE) nr 856/2005, z dnia 6 czerwca 2005). W Rosji, maksymalny poziom ZEN w zbożach dla ludzi wynosi 1000  $\mu\text{g kg}^{-1}$  (Creppy, 2002). Bydło jest narażone na mikotoksyny o właściwościach estrogenowych w naturalnie zanieczyszczonej paszy lub poprzez podawanie zeranolu ( $\alpha$ -ZEL), jako stymulatora wzrostu. W UE jest zakazane jego stosowanie (Dyrektywa Rady 96/22/WE z dnia 29 kwietnia 1996 r). Z kolei jest dozwolone jego stosowanie w USA i Kanadzie (Le Guevel i Pakdel, 2001). Przeżuwacze, zostały uznane za odporne na obecność ZEN, ponieważ pierwotniaki żwaczowe są zdolne do przekształcania mikotoksyn na mniej toksyczne związki (Fink Gremmels, 2008). Jednakże na przełomie wieków stwierdzono obecność ZEN w mleku krowim (Mirocha i wsp., 1981; Prelusky i wsp., 1990; Coffey i wsp., 2009) i produktach mlecznych (El-Hoshy, 1999). Ponadto, stwierdzono, że sprawność metaboliczna żwacza krów narażonych na ZEN jest na granicy swych możliwości w zależności od rodzaju systemów żywieniowych (Seeling i wsp., 2005). Typowa dieta u bydła składa się głównie z pasz objętościowych takich jak siano. W nowoczesnej hodowli, krowy są karmione dodatkowo paszą wysokobiałkową w celu ominięcia żwacza, aby zwiększyć wydajność mleka (Zachariasova i wsp., 2014). Może to mieć wpływ na zdolność fermentacyjną drobnoustrojów w żwacu (nierównowaga metaboliczna), co w efekcie powoduje spadek możliwości metabolizowania ZEN żwaczem. W związku z tym, monitorowanie obecności mikotoksyn w środkach spożywczych przemysłu mleczarskiego jest niezwykle istotne dla zmniejszenia ryzyka narażenia ludzi (Välilä i wsp., 2010; Bryden, 2012; Rubert i wsp., 2014).

#### Stan zdrowia krów

Nierównowaga metaboliczna występuje z dużą częstotliwością w cyklu produkcyjnym krowy. Są to okresy przejściowe podczas zasuszania, w późnym okresie ciąży,

w okresie porodu oraz w okresie poporodowym. W tych terminach mają miejsce najbardziej dramatyczne zmiany cyklu metabolicznego. Popyt paszy jest zmniejszany do około 20% na kilka dni przed porodem i pozostaje na niskim poziomie w pierwszych dniach po porodzie najprawdopodobniej w wyniku stresu przebytego podczas porodu, bólu i zmian hormonalnych związanych z fizjologicznym spadkiem stężenia progesteronu i estradiolu (Dunbar i wsp., 2012). W tym samym czasie mamy bardzo duże zapotrzebowanie na Ca i energię strawną a pobór jest bardzo ograniczony. W konsekwencji u krów ma miejsce ujemny bilans energetyczny (negative energy balance - NEB) czemu towarzyszy wykorzystanie zapasów wapnia i ciał tłuszczowych nie tylko z racji pogorszenia stanu ogólnego zwierzęcia, ale również z racji stłuszczenia wątroby, niedoboru wapnia czy ogólnoustrojowej ketozy (Fink-Gremmels, 2008).

Jedną z form złagodzenia ujemnego bilansu energetycznego jest zaspokojenie popytu na łatwo fermentujące (strawne) węglowodany obecne w paszy treściwej, która powinna być dostarczona krowom w początkowym okresie laktacji. Związane to jest jednak z możliwością wystąpienia podostrej formy kwasicy żwacza (subacute ruminal acidosis - SARA), jako wynik sumującego się efektu nadmiernej produkcji lotnych kwasów tłuszczowych oraz zmniejszenie wydzielania śliny z powodu niskiej ilości włókna, która mogłaby zbuforować kwasy żwaczowe (Enemark i wsp., 2002).

Codziennym problemem zdrowotnym towarzyszą niepowodzenia w utrzymaniu odpowiedniego poziomu energii i bilansu związków mineralnych w okresach przejściowych krów, co zwiększa ryzyko wystąpienia stanów zapalnych wymion, gorączki mlecznej czy przemieszczenie trawieńca. W tym samym czasie wzrasta prawdopodobieństwo wystąpienia stanów zapalnych wymienia i aseptyczne, rozlane zapalenie tworzywa (syn.: laminitis (ang.), ochwat racicy, rozwarstwienia) wskazujące na upośledzenie systemu odporności wrodzonej i spadku odporności na czynniki zakaźne (Fink-Gremmels, 2008) lub niezakaźne, jakimi są mikotoksyny (substancje niepożądane w paszy).

#### Stopień przeniesienia mikotoksyn

Wartości stopnia przeniesienia, AFM1 do mleka mogą się znacznie różnić. Opisano stopień przeniesienia na około 1.7%, podczas gdy badania przeprowadzone przez Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) w 2004 r. zaproponował średni stopień przeniesienia dużo wyższy podnosząc z niskiej wartości 2% do 6%, lecz tylko dla wysoko produkcyjnych krów mlecznych. W innych badaniach (Coffey i wsp., 2009) sugerowano podobne zmiany, ale w zakresie od 0.2% do 4%. Nowsze badania sugerują, podniesienie wartości przeniesienia począwszy od 0.3% lecz do 6.2%.

Ze względu na fakt, że Ochratoksyna jest rozkładana przez mikroflorę żwacza bydła, sugerowano, że problem jej przeniesienia do mleka jest minimalny. Sporadyczne badania zostały przeprowadzone w tej dziedzinie. W

badaniach Galtier (1998) udokumentowano, że jeśli krowie podawano *per os* mikotoksynę w ilości 1 g/dobę, to stwierdzano 100 µg/kg ochratoksyny A w mleku. Prowadzi to do przeniesienia na wysokości 0.01%, co przyjęto, jako stałą wartość przeniesienia dla ochratoksyna A w mleku.

Podobnie jest z DON, gdzie stopień przeniesienia do mleka krowiego jest mały, z racji niewielkiej liczby badań tego rodzaju. Wartość stopnia przeniesienia wyniosła 0.22%, co obliczono z wielkości dawki narażenia i wartości stężenia stwierdzanego w mleku (Galtier, 1998).

W przypadku fumonizyny B<sub>1</sub> przedstawia się dwie wartości stopnia przeniesienia do mleka. Pierwsza wynosi 0.11% i zgłoszona jest przez EFSA (2005). Wcześniej odnotowano wielkość transferu w wysokości 0.05%, który przyjęto, jako średni wskaźnik przeniesienia dla pojedynczego podania mikotoksyny w dawce 3 mg/kg paszy (Yiannikouris i Jouany, 2002).

Wartości stopnia przeniesienia ZEN do mleka są różne i rzadko określane. Yiannikouris i Jouany (2002) stwierdzili wartości przeniesienia w wysokości 0.06%, 0.016% i 0.008%, w zależności od dawki podawanej mikotoksyny. Wartości 0.00625% i 1.924% pozyskano w innych badaniach żywieniowych (Galtier, 1998).

Obecność Mikotoksyny T-2, w mleku krów zostało stwierdzone w przedziale 0.05-2% (Yiannikouris i Jouany, 2002). W badaniach Galtier (1998) stwierdzono wartości stopnia przeniesienia w mleku w przedziale od 0.02 do 0.32% dla krów mlecznych, którym podawano 50000 µg/kg masy ciała.

W chwili obecnej stężenia ocenianych mikotoksyn w środkach spożywczych w UE poniżej norm zaordynowanych odpowiednimi aktami prawnymi. Inaczej wygląda problem w przypadku pasz gdzie wartości są tylko zalecane. Przy czym należy również zwrócić uwagę na fakt, że dla wszystkich mikotoksyn z wyjątkiem aflatoksyn, istnieją ograniczenia jedynie na ich obecność w produktach spożywczych produkowanych na bazie zbóż, przez co nie są one kompatybilne z omawianym modelem ryzyka, który dotyczył mleka. W chwili obecnej powinniśmy być świadomi, że większość przypadków szacowania ryzyka na początku powinna być uzależnione od czułości metody określającej wartości badanej mikotoksyny w kukurydzy (pozostałe materiały paszowe zawsze zawierały mniej czynnika narażenia). Analiza czułości wyróżnia problem mikotoksyn w kukurydzy, jako obszar, który wymaga największej uwagi w odniesieniu do zarządzania uprawami i stosowanych praktyk rolniczych. Sugeruje to również wskaźnik przeniesienia.

#### **Podsumowanie**

Podatność krów mlecznych i wszystkich zwierząt przeżuwających na mikotoksyny w głównej mierze zależy od ich eliminacji przez mikroorganizmy żwaczowe zanim będą miały okazję być wchłonięte do organizmu krowy. Nieliczne mikotoksyny są odporne na aktywność detoksykacyjną mikroorganizmów żwacza i wywołują typowe obja-

wy zatrucia tymi metabolitami. Niektóre mikotoksyny występujące w kiszonkach lub w innych zmagazynowanych materiałach paszowych mogą mieć właściwości antybakteryjne i modyfikujące mikroflorę żwacza, przez co mogą zmniejszać właściwości detoksykacyjne w treści żwacza, która wraz z tymi mikotoksynami może dotrzeć do dwunastnicy, gdzie zostaną wchłonięte powodując wystąpienie bardzo wysokich stężeń mikotoksyn w organizmie zwierząt oraz w mleku a w dalszej konsekwencji w produktach mleczarskich przeszkadzając w dalszych procesach technologicznych podczas produkcji twarogów lub serów twardych czy napojów typu kefir lub jogurt. Zasugerowany model oceny potencjalnego narażenia ludzi na którąś lub wszystkimi razem mikotoksynami

w mleku lub produktach mlecznych jest bardzo prawdopodobny. Jest bardzo mało publikacji na ten temat. Uzyskiwane jednak wyniki przystają do obserwacji służb inspekcyjnych borykających się z obecnością substancji niepożądanych w materiałach paszowych. Wyjątkiem niepotwierdzającym regułę, jest aflatoksyna. Dostępne wyniki badań sugerują, że obecność pozostałych mikotoksyn w paszy dla bydła zdrowego na normalnym poziomie zanieczyszczenia (w rejonie wartości NOAL), nie powinien prowadzić do znaczących stężeń mikotoksyn w mleku. Można byłoby się pokusić na stwierdzenie, że z punktu widzenia ryzyka, obecność mikotoksyn w mleku pochodzącym od krów zdrowych (nie tylko klinicznie) stanowi niewielkie zagrożenie dla człowieka.

## Literatura:

1. Alm, H., Brüßow, K.-P., Torner, H., Vanselow, J., Tomek, W., Dänicke, S., Tiemann, U., 2006. Influence of *Fusarium*-toxin contaminated feed on initial quality and meiotic competence of gilt oocytes. *Reproductive Toxicology* 22, 44-50.
2. Blüthgen, A., Hammer, P., Teufel, P., 2004. Mycotoxins in milk production. Occurrence, relevance and possible minimization in the production chain feeds milk. *Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte* 56(4), 219-263.
3. Bryden, W.L., 2007. Mycotoxins in the food chain: human health implications. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition* 16, 95-101.
4. Bryden, W.L., 2012. Mycotoxin contamination of the feed supply chain: Implications for animal productivity and feed security. *Animal Feed Science and Technology* 173, 134-158.
5. Calabrese, E.J., 2005. Paradigm lost, paradigm found: the re-emergence of hormesis as a fundamental dose response model in the toxicological sciences. *Environmental Pollution* 138, 378-411.
6. Cortinovis, C., Pizzo, F., Spicer, L.J., Caloni, F., 2013. *Fusarium* mycotoxins: Effects on reproductive function in domestic animals - A review. *Theriogenology* 80, 557-564.
7. CAST, 2003. Mycotoxins risks in plant, animal and human systems, Task Force Report, No. 139. Council for Agricultural Science and Technology, Ames, Iowa, pp. 1-191.
8. Cheli, F., Campagnoli, A., Dell'Orto, V., 2013. Fungal populations and mycotoxins in silages: From occurrence to analysis. *Animal Feed Science and Technology* 183, 1-16.
9. Coffey, R., Cummins, E., Ward, S., 2009. Exposure assessment of mycotoxins in dairy milk. *Food Control* 20, 239-249.
10. Creppy, E.E., 2002. Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. *Toxicology Letters* 127, 19-28
11. Culpepper, T., Mai, V., 2013. Evidence for contributions of gut microbiota to colorectal carcinogenesis. *Current Nutrition Reports* 2, 10-18.
12. Dänicke, S., Matthaues, K., Lebzien, P., Valenta, H., Stemme, K., Ueberschar, K.H., Razzazi-Fazeli, E., Bohm, J., Flachowsky, G., 2005. Effects of *Fusarium* toxin-contaminated wheat grain on nutrient turnover, microbial protein synthesis and metabolism of deoxynivalenol and zearalenone in the rumen of dairy cows. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition (Berlin)* 89, 303-315.
13. De Angelis, E., Monaci, L., Visconti, A., 2014. Investigation on the stability of deoxynivalenol and DON-3 glucoside during gastro-duodenal in vitro digestion of a naturally contaminated bread model food. *Food Control* 43, 270-275.
14. Diekman, M.A., Green, M.L., 1992. Mycotoxins and reproduction in domestic livestock. *Journal of Animal Science* 70, 1615-1627.
15. Dobrzyński, L., Fornalski, K.W., 2011. Hormesis - Natural phenomenon of answer of organism on stress. *Proceeding, VII International Scientific Conference: Veterinary Feed Hygiene - The Effects of Mycotoxins on Gastrointestinal Function*. 23-24 September 2011, Olsztyn, Poland, p. 6-14.
16. Dunbar, B., Patel, M., Fahey, J., Wira, C., 2012. Endocrine control of mucosal immunity in the female reproductive tract: Impact of environmental disruptors. *Molecular and Cellular Endocrinology* 354, 85-93.
17. EFSA, 2004. Opinion of the scientific panel on contaminants in food chain on a request from the commission related to aflatoxin B<sub>1</sub> as undesirable substance in animal feed. *The European Food Safety Authority Journal* 39, 1-27.
18. EFSA, 2005. Opinion of the scientific panel on contaminants in food chain on a request from the commission related to fumonisins as undesirable substance in animal feed. *The European Food Safety Authority Journal* 235, 1-32.
19. El-Hoshy, S.M., 1999. Occurrence of zearalenone in milk, meat and their products with emphasis on influence of heat treatments on its level. *Archives of Food Hygiene* 50, 140-143.
20. Enemark, J., Jorgensen, R., Enemark, P., 2002. Rumen acidosis with special emphasis on diagnostic aspects of subclinical rumen acidosis: a review. *Veterinarija IR Zootechnika* 20, 16-29.
21. Fink-Gremmels, J., 1999. Mycotoxins: their implications for human and animal health. *Veterinary Quarterly* 21, 115-120.
22. Fink-Gremmels, J., 2008. The role of mycotoxins in the health and performance of dairy cows. *The Veterinary Journal* 176, 84-92.
23. Frizzell, C., Ndossi, D., Verhaegen, S., Dahl, E., Eriksen, G., Sflie, M., Ropstad, E., Muller, M., Elliott, C.T., Connolly, L., 2011. Endocrine disrupting effects of zearalenone, alpha- and beta-zearalenol at the level of nuclear receptor binding and steroidogenesis. *Toxicology Letters* 206, 210-217.
24. Gajęcka, M., Otrócka-Domagala, I., 2013. Immunocytochemical expression of 3 $\beta$ - and 17 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase in bitch ovaries exposed to low doses of zearalenone. *Polish Journal of Veterinary Sciences* 16(1), 55-62.
25. Gajęcka, M., Stopa, E., Tarasiuk, M., Zielonka, Ł., Gajęcki, M., 2013. The expression of type-1 and type-2 nitric oxide synthase in selected tissues of the gastrointestinal tract during mixed mycotoxicosis. *Toxins* 5(11), 2281-2292; doi:10.3390/toxins5112281

26. Gajęcka, M., Zielonka, Ł., Dąbrowski, M., Mróz, M., Gajęcki, M., 2013. The effect of low doses of zearalenone and its metabolites on progesterone and 17 $\beta$ -estradiol concentrations in blood of pre-pubertal female Beagle dogs. *Toxicon* 76, 260-269, doi.org/10.1016/j.toxicon.2013.08.060
27. Gajęcki, M., Gajęcka, M., Jakimiuk, E., Łuczyński, M., Obremski, K., Zielonka, Ł., 2011. *Patologia i Terapia Mikotoksykoz*. In: Zdzisław Gliński, Krzysztof Kostro, Maciej Gajęcki (Eds.), *Mikozy i Mikotoksykozy Zwierząt*. Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, pp. 234-268. (ISBN 978-83-7259-195-1).
28. Galtier, P., 1998. Biological fate of mycotoxins in animals. *Revue du Médecine Vétérinaire* 149, 549-554.
29. Grizzle, J.M., Kersten, D.B., McCracken, M.D., Houston, A.E., Santon, A.M., 2004. Determination of the acute 50% lethal dose T-2 toxin in adult bobwhite quail: additional studies on the effect of T-2 mycotoxin on blood chemistry and the morphology of internal organs. *Avian Disease* 48, 392-399.
30. Lanier, C., Richard, E., Heutte, N., Picquet, R., Bouchart, V., Garon, D., 2010. Airborne molds and mycotoxins associated with handling of corn silage and oilseed cakes in agricultural environment. *Atmospheric Environment* 44, 1980-1986.
31. Le Guevel, R., Pakdel, F., 2001. Assessment of oestrogenic potency of chemicals used as growth promoter by in-vitro methods. *Human Reproduction* 16, 1030-1036.
32. Li, M., Harkema, J.R., Islam, Z., Cuff, C.F., Pestka, J.J., 2006. T-2 toxin impairs murine immune response to respiratory reovirus and exacerbates viral bronchiolitis. *Toxicology and Applied Pharmacology* 217, 76-85.
33. Macri, A., Schollenberger, M., Drochner, W., Tafaj, M., Morar, M.V., 2005. Investigation on the "In vitro" degradation of zearalenone in rumen fluid. *Mycotoxin Research* 21, 65-67.
34. Marczuk, J., Obremski, K., Lutnicki, K., Gajęcka, M., Gajęcki, M., 2012. Zearalenone and deoxynivalenol mycotoxicosis in dairy cattle herds. *Polish Journal of Veterinary Sciences* 15 (2), 365-372.
35. Maresca, M., Fantini, J., 2010. Some food-associated mycotoxins as potential risk factors in humans predisposed to chronic intestinal inflammatory diseases. *Toxicon* 56, 282-294.
36. Martin, L.M., Wood, K.M., McEwen, P.L., Smith, T.K., Mandell, I.B., Yannikouris, A., Swanson, K.C., 2010. Effects of feeding corn naturally contaminated with *Fusarium* mycotoxins and/or a modified yeast cell wall extract on the performance, immunity and carcass characteristics of grain-fed veal calves. *Animal Feed Science and Technology* 159, 27-34.
37. Marquardt, R.R., 1996. Effects of molds and their toxins on livestock performance: a western Canadian perspective. *Animal Feed Science and Technology* 58, 77-89.
38. May, H., Wu, Q., Blake, C., 2000. Effects of the *Fusarium* spp. mycotoxins fusaric acid and deoxynivalenol on the growth of *Ruminococcus albus* and *Methanobrevibacter ruminantium*. *Canadian Journal of Microbiology* 46, 692-699.
39. Meissonnier, G.M., Laffitte, J., Raymond, I., Benoit, E., Cossalter, A.M., Pinton, P., Bertin, G., Oswald, I.P., Galtier, P., 2008. Subclinical doses of T-2 toxin impair acquired immune response and liver cytochrome P450 in pigs. *Toxicology* 247, 46-54.
40. Mirocha, C.J., Pathre, S.V., Robison, T.S., 1981. Comparative metabolism of zearalenone and transmission into bovine milk. *Food and Cosmetics Toxicology* 19, 25-30.
41. Morgavi, D., Boudra, H., Jouany, J., Graviou, D., 2003. Prevention of patulin toxicity on rumen microbial fermentation by SH-containing reducing agents. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 51, 6906-6910.
42. Obremski, K., Podlasz, P., Żmigrodzka, M., Winnicka, A., Woźny, M., Brzuzan, P., Jakimiuk, E., Wojtacha, P., Gajęcka, M., Zielonka, Ł., Gajęcki, M., 2013. The effect of T-2 toxin on changes in the percentages of CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> and CD21<sup>+</sup> lymphocytes and mRNA expression levels of selected cytokines in porcine ileal Peyer's patches. *Polish Journal of Veterinary Sciences* 16(2), 341-349.
43. Piotrowska, M., Śliżewska, K., Nowak, A., Zielonka, Ł., Żakowska, Z., Gajęcka, M., Gajęcki, M., 2014. The effect of experimental *Fusarium* mycotoxicosis on microbiota diversity in porcine ascending colon contents. *Toxins*, 6, 1-xmanuscripts; doi:10.3390/toxins60x000x
44. Prelusky, D.B., Scott, P.M., Trenholm, H.L., Lawrence, G.A., 1990. Minimal transmission of zearalenone o milk of dairy cows. *Journal of Environmental Science and Health, Part B* 25, 87-103
45. Rubert, J., León, N., Sáez, C., Martins, C.P.B., Godula, M., Yusà, V., Mañes, J., Soriano, M.J., Soler, C., 2014. Evaluation of mycotoxins and their metabolites in human breast milk using liquid chromatography coupled to high resolution mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 820, 39-46.
46. Seeling, K., Dänicke, S., Ueberschär, K.H., Lebzien, P., Flachowsky, G., 2005. On the effects of *Fusarium* toxin-contaminated wheat and the feed intake level on the metabolism and carry over of zearalenone in dairy cows. *Food Additives and Contaminants* 22, 847-855.
47. Skorska-Wyszyńska, E., Jakimiuk, E., Gajęcka, M., Młynarczyk, J., Obremski, K., Gajęcki, M., 2004. Preliminary evaluation of influence of zearalenone on co cultures of granulosa and internal theca cells of ovarian follicles in bitches in *in vitro* culture. *Polish Journal of Veterinary Sciences* 7, 305-309.
48. Välimaa, A.-L., Kivistö, A.T., Leskinen, P.I., Karp, M.T., 2010. A novel biosensor for the detection of zearalenone family mycotoxins in milk. *Journal of Microbiological Methods* 80, 44-48.
49. Voss, K.A., Smith, G.W., Haschek, W.M., 2007. Fumonisin: Toxicokinetics, mechanism of action and toxicity. *Animal Feed Science and Technology* 137, 299-325.
50. Waškiewicz, A., Beszterda, M., Kostecki, M., Zielonka, Ł., Goliński, P., Gajęcki, M., 2014. Deoxynivalenol in the gastrointestinal tract of immature gilts under *per os* toxin application. *Toxins* 6, 973-987; doi: 10.3390/toxins6030987.
51. Wielogórska, E., Elliott, C.T., Danaher, M., Connolly, L., 2014. Validation and application of a reporter gene assay for the determination of estrogenic endocrine disruptor activity in milk. *Food and Chemical Toxicology* 69, 260-266.
52. Woźniak, B., Minta, M., Stypuła-Trębas, S., Radko, L., Żmudzki, J., 2014. Evaluation of estrogenic activity in animal diets using in vitro assay. *Toxicology in Vitro* 28, 70-75.
53. Yiannikouris, A., Jouany, J.P., 2002. Mycotoxins in feeds and their fate in animals: A review. *Animal Research* 51, 81-89.
54. Zachariasova, M., Dzumana, Z., Veprikova, Z., Hajkova, K., Jiru, M., Vaclavikova, M., Zachariasova, A., Pospichalova, M., Florian, M., Hajslova, J., 2014. Occurrence of multiple mycotoxins in European feeding stuffs, assessment of dietary intake by farm animals. *Animal Feed Science and Technology* 193, 124-140.