

Prítomnosť deoxynivalenolu v priemyselne vyrábaných krmivách pre psov

Michaela Harčárová¹
Andrej Marcin²
Alena Hreško Šamudovská³

¹ Katedra výživy a chovu zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach; Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika; michaela.harcarova@uvlf.sk

² Katedra výživy a chovu zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach; Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika; andrej.marcin@uvlf.sk

³ Katedra výživy a chovu zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach; Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika; alena.hreskosamudovska@uvlf.sk

Grant: VEGA č. 1/0698/24; KEGA č. 006UVLF-4/2022

Název grantu: VEGA č. 1/0698/24 Sledovanie účinku kŕmnych doplnkových látok prírodného pôvodu a alternatívnych kŕmnych komponentov na produkciu a zdravie monogastrických zvierat ; KEGA č. 006UVLF-4/2022 Študijné texty a virtuálne laboratórium pre e-vzdelávanie v oblasti technológií a bezpečnostných systémov pri výrobe krmív

Oborové zamčrení: GH - Výživa hospodárskych zvierat

© GRANT Journal, MAGNANIMITAS Assn.

Abstrakt V súčasnej dobe sa v chove spoločenských zvierat osvedčilo podávanie kompletných krmív. U psov sa často používajú suché kompletné krmivá, ktoré môžu okrem iných zložiek obsahovať obilniny. Obilniny predstavujú rizikový substrát v súvislosti s výskytom mykotoxínov. Táto práca bola zameraná na stanovenie koncentrácií deoxynivalenolu v 16 vzorkách suchých krmív pre dospelých psov získaných od rôznych predajcov. Prostredníctvom ELISA analýzy sme zistili, že deoxynivalenol sa vo vyšetrených krmivách nenachádzal v koncentráciách vyšších ako detekčný limit použitého kitu (<0,2 mg/kg; ppm).

Kľúčová slova Bezpečnosť krmív, mykotoxíny, pes

1. ÚVOD

Pes je už odjakživa považovaný za najlepšieho priateľa človeka. Každý zodpovedný majiteľ by mal okrem iných vecí myslieť na zabezpečenie kvalitnej výživy pre svojho štvornohého spoločníka. Pes patrí medzi monogastrické zvieratá a tak ako ostatné druhy zvierat potrebuje na zabezpečenie všetkých procesov prebiehajúcich v organizme živiny. Podľa fyziologického účinku môžeme živiny rozdeliť na stavebné (bielkoviny a niektoré minerálne látky), spotrebné (sacharidy a tuky) a náhradné (voda a minerálne látky).

Vplyvom ľudí a procesom udomácnovania sa psy stali všežravcami, napriek tomu zdieľajú niektoré podobné črty vo výžive s mačkami, ako napríklad chýbajúca slinná amyláza, krátky gastrointestinálny trakt a neschopnosť syntetizovať vitamín D (Di Cerbo a kol., 2017). Na rozdiel od mačiek existujú u psov 3 gény (AMY2B, MGAM a SGLT1) podieľajúce sa na trávení škrobu a absorpcii glukózy, ktoré sa u nich vyvinuli počas domestikácie (Axelsson a kol., 2013). Mačky tieto gény nemajú a vo všeobecnosti nie sú schopné efektívne stráviť škrob (Di Cerbo a kol., 2017). Ďalšou charakteristikou tráviaceho systému psov je, že dokážu syntetizovať niekoľko základných živín, ako je niacín, taurín a arginín (Bosch a

kol., 2015). Pokiaľ ide o mačky, tie dokážu katabolizovať a využiť ako zdroj energie aminokyseliny (Morris, 2002).

Vo výžive psov sa používajú kŕmne komponenty živočíšneho aj rastlinného pôvodu. Ako zdroj sacharidov sa v krmivách používajú predovšetkým obilniny ako kukurica, ryža, cirok, pšenica, ovos, jačmeň a iné. Rastlinné zložky v potrave, najmä spomínané obilniny, môžu predstavovať živnú pôdu pre rast a vývoj mikroskopických vláknitých húb a ich sekundárnych metabolitov, mykotoxínov. Medzi najčastejšie mykotoxíny, ktoré sa môžu vyskytovať v obilninách a iných krmovinách patrí deoxynivalenol.

Deoxynivalenol, tiež známy ako vomitoxín, je trichotecén typu B a epoxy-seskviterpenoid produkovaný predovšetkým mikroskopickou hubou *Fusarium graminearum*. Prvýkrát bol izolovaný z kontaminovaných zŕn jačmeňa a chemicky popísaný v roku 1970 (Han a kol., 2020). Je rozpustný vo vode, etanole, acetonitrile a iných polárnych rozpúšťadlách, vykazuje stabilitu pri vysokých teplotách a nízkom pH (Li a kol., 2023). Deoxynivalenol je prírodná toxická látka, ktorá môže negatívne ovplyvniť zdravotný stav zvierat. Uvádza sa, že u psov dochádza pri otrave deoxynivalenolom k podobným klinickým príznakom ako u ošípaných (vomitus, odmietanie potravy a s tým súvisiaci úbytok na váhe) (Hughes a kol., 1999). Songsermsakul a kol. (2007) popisujú okrem negatívneho vplyvu deoxynivalenolu na gastrointestinálny trakt psov aj jeho imunosupresívne účinky. Konzumácia krmív kontaminovaných týmto trichotecénom, môže viesť u psov k narušeniu imunitnej odolnosti voči patogénom, ako aj k reaktivácii chronických infekcií (Oswald a kol., 2005).

Cieľom tejto práce bolo stanovenie deoxynivalenolu v 16 vzorkách suchého krmiva pre dospelé psy prostredníctvom imunoenzymatickej analýzy ELISA.

2. MATERIÁL A METODIKA

2.1 Vzorky

Celkovo bolo vyšetrených 16 vzoriek suchých krmív pre psov vo forme granúl. Vzorky boli získané od rôznych komerčných a špecializovaných predajcov a boli určené na kŕmenie dospelých psov. Vzorky boli rozdelené do troch kategórií na generické, populárne a prémiové. Do skupiny generických krmív boli zaradené vzorky krmív, ktoré niesli meno výrobcu a boli uvádzané do obehu lokálne alebo regionálne. Do druhej kategórie tzv. populárnych krmív boli zaradené vzorky krmív, ktoré sú predávané v sieťach obchodov s potravinami. Do tretej kategórie boli zaradené prémiové krmivá od špecializovaných predajcov.

2.2 Príprava vzoriek

Reprezentatívne vzorky (á 500 g) boli pred spracovaním uchovávané na chladnom, suchom a tmavom mieste. Spracovanie vzoriek prebiehalo nasledovným spôsobom, ku 5 g rozomletej a homogenizovanej vzorky bolo pridaných 100 ml destilovanej vody. Potom prebiehalo 3-minútové pretrepávanie a extrakcia. Vzorky boli prefiltrované cez filtračný papier Whatman č. 1 (Cytiva, Kent, UK). Takto pripravené vzorky boli použité na kvantitatívne stanovenie deoxynivalenolu podľa protokolu RIDASCREEN FAST DON, kvantitatívny test (R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany).

2.3 ELISA analýza

Princípom ELISA testu je reakcia antigén-protilátka. Jamky v mikrotitračných prúžkoch sú potiahnuté záchytnými protilátkami namierenými proti anti-deoxynivalenolovým protilátkam. Do jamiek boli pridané štandardy (0 ppm; 0,222 ppm; 0,666 ppm, 2 ppm, 6 ppm), roztoky vzoriek, konjugát deoxynivalenol-enzým a protilátky proti deoxynivalenolu. Voľný a s enzýmom konjugovaný deoxynivalenol súťažia o väzbové miesta protilátok deoxynivalenolu (kompetitívny enzýmový imunotest). Súčasne sú protilátky proti deoxynivalenolu viazané imobilizovanými záchytnými protilátkami. Akýkoľvek nenaviazaný enzýmový konjugát bol potom odstránený v premývacom kroku. Do jamiek bol pridaný roztok substrátu/chromogén a inkubácia trvala 5 minút na tmavom mieste. Naviazaný enzýmový konjugát premieňa chromogén na modrý produkt. Pridanie zastavovacieho roztoku vedie k zmene farby z modrej na žltú. Meranie sa uskutočnilo fotometricky pri 450 nm, pomocou ELISA readeru (Dy nex Technologies, Inc., Chantilly, USA) kde platí, že absorpcia je nepriamo úmerná koncentrácii deoxynivalenolu vo vzorke.

3. VÝSLEDKY

V tabuľke číslo 1 sú uvedené výsledky kvantitatívneho stanovenia deoxynivalenolu vo vzorkách suchých krmív pre dospelých psov. Z uvedených výsledkov vyplýva, že v nami vyšetrených vzorkách koncentrácie deoxynivalenolu neboli detekované, resp. nachádzali sa pod detekčným limitom použitého testu ($<0,2$ mg/kg; ppm).

Tabuľka č. 1 Koncentrácie deoxynivalenolu (ppm; mg/kg) v suchých krmivách pre dospelé psy

Krmivo	Počet vzoriek (n=16)	Koncentrácia DON
generické	2	$<0,2$ ppm
populárne	4	$<0,2$ ppm
prémiové	10	$<0,2$ ppm

4. DISKUSIA

Fenoménom dnešnej doby je zdravá a vyvážená strava s použitím kvalitných a bezpečných surovín, nielen vo výžive ľudí, ale aj zvierat. Pozornosť sa upriamuje aj na výživu spoločenských zvierat, z ktorých sa neraz stávajú členovia rodiny. Psy s nami prežívajú niekoľko rokov, preto je dôležité zaoberať sa otázkou zdravotnej bezpečnosti krmív, ktoré im ponúkame. Hoci psy nemajú žiadne špeciálne požiadavky na sacharidy, väčšina výrobcov krmiva využíva schopnosť psov stráviť obilniny a pridávajú do krmív rôzne druhy obilnín (kukurica, ryža, pšenica, jačmeň alebo cirok, ako aj vedľajšie produkty z obilnín) ako lacný zdroj energie. Podiel týchto obilnín v kŕmnej receptúre môže byť až 70 %, no zvyčajne sa pohybuje medzi 30 a 50 % (Kempe a kol., 2004). Práve prítomnosť obilnín so sebou prináša aj riziko výskytu rôznych mykotoxínov. Štúdie ukázali, že pšenica znehodnotená mykotoxínom deoxynivalenolom je toxická aj po 4 rokoch skladovania (Cao et al., 2013).

V nami vyšetrených vzorkách suchých krmív pre dospelé psy od rôznych komerčných a špecializovaných predajcov sme nezaznamenali prítomnosť deoxynivalenolu v koncentráciách vyšších ako detekčný limit použitého kitu ($<0,2$ mg/kg; ppm). Vo 76 vzorkách suchého krmiva pre psov, ktoré boli pomocou ELISA metódy vyšetrené v Rakúsku, bol zaznamenaný 97 % výskyt deoxynivalenolu (Böhm a kol., 2010). Sedemdesiatšesť vzoriek suchého krmiva pre psov od 27 výrobcov bolo podobne zakúpených v maloobchodných predajniach, supermarketoch a špecializovaných predajniach krmiva pre domáce zvieratá. Okrem deoxynivalenolu, Böhm a kol., (2010) vo vyššie spomínaných vzorkách zaznamenali aj prítomnosť ďalších mykotoxínov ako zearalenón, ochratoxín A a fumonizín. Podobnej štúdií sa venovali v roku 2020 v Španielsku, kde bolo vyšetrených 60 vzoriek suchých krmív pre psov (34 vzoriek populárnych krmív a 26 vzoriek prémiových krmív) a zaznamenali 100 % prítomnosť deoxynivalenolu v obidvoch skupinách krmív. Autori upozorňujú aj na skutočnosť, že okrem deoxynivalenolu sa vo vyšetrených vzorkách vyskytovali aj ostatné mykotoxíny ako alfatoxíny, T2-toxín, ochratoxín A, fumonizíny a zearalenón. Avšak v závere poukazujú na fakt, že vyšetrené krmivá, by nemali predstavovať pre psov riziko akútnych zdravotných komplikácií vo forme mykotoxikóz (Macías-Montes a kol., 2020).

V minulosti sa uskutočnili štúdie, ktoré potvrdili fakt, že až u psov kŕmených krmivom s obsahom deoxynivalenolu 4,5 mg/kg krmiva dochádza k odmietaniu krmiva v dôsledku podráždenia tráviaceho traktu mykotoxínom (Hughes a kol., 1999; Songsermsakul a kol., 2007). Avšak podľa Songsermsakul a kol., (2007) nie je spomínaná koncentrácia deoxynivalenolu dostatočne vysoká na vyvolanie vomitu.

5. ZÁVER

Deoxynivalenol môže byť zdrojom znehodnotenia v ktoromkoľvek kroku od výroby, spracovania, prepravy, skladovania a spotreby krmív. Keďže existuje pomerne málo informácií o toxikologických účinkoch mykotoxínov na psov, sú potrebné ďalšie štúdie na určenie zdrojov mykotoxínov, ktoré by mohli kontaminovať krmivo určené pre tento druh spoločenských zvierat. Široký priestor pre budúce výskumy predstavuje najmä otázka dlhodobého podávania krmiva s obsahom deoxynivalenolu v súvislosti s jeho imunopresívnymi účinkami na organizmus a chronickými ochoreniami. V závere je potrebné skonštatovať, že nami vyšetrené vzorky krmív pre psov nepredstavujú riziko vzniku akútnych toxikóz u psov a bolo by potrebné stanoviť koncentrácie ďalších mykotoxínov, ktoré môžu byť príčinou narušenia zdravotného stavu zvierat.

Zdroje

1. AXELSSON, E., RATNAKUMAR, A., ARENDT, M. L., MAQBOOL, K., WEBSTER, M. T., PERLOSKI, M., LIBERG, O., ARNEMO, J. M., HEDHAMMAR, A., LINDBLAD-TOH, K. The genomic signature of dog domestication reveals adaptation to a starch-rich diet. *Nature*, 2013, 495, 360-364.
2. BÖHM, J., KOINIG, L., RAZZAZI-FAZELI, E., BLAJET-KOSICKA, A., TWARUZEK, M., GRAJEWSKI, J., LANG, C. Survey and risk assessment of the mycotoxins deoxynivalenol, zearalenone, fumonisins, ochratoxin A, and aflatoxins in commercial dry dog food. *Mycotoxin Research*, 2010, 26, 147-153.
3. BOSCH, G., HAGEN-PLANTINGA, E. A., HENDRIKS, W. H. Dietary nutrient profiles of wild wolves: insights for optimal dog nutrition? *British Journal of Nutrition*, 2015, 113, S40-S54.
4. CAO, H., WU, S., SUN, C. Research advancement on biosynthesis and biodegradation of Deoxynivalenol (DON). *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2013, 28, 116-123.
5. DI CERBO, A., MORALES-MEDINA, J. C., PALMIERI, B., PEZZUTO, F., COCCO, R., FLORES, G., IANNITTI, T. Functional foods in pet nutrition: Focus on dogs and cats. *Research in Veterinary Science*, 2017, 112, 161-166.
6. HAN, X., CHEN, L., LI, W., ZHANG, L., DONG, H. J. F. G. Endocytic FgEde1 regulates virulence and autophagy in *Fusarium graminearum*. *Fungal Genetics and Biology*, 2020, 141, 103400.
7. HUGHES, D. M., GAHL, M. J., GRAHAM, C. H., GRIEB, S. L. Overt signs of toxicity to dogs and cats of dietary deoxynivalenol. *Journal of Animal Science*, 1999, 77, 693-700.
8. KEMPE, R., SAASTAMOINEN, M., HYYPPÄ, S. Composition, digestibility and nutritive value of cereals for dogs. *Agricultural and Food Science*, 2004, 13, 5-17.
9. LI, Y., GAO, H., WANG, R., XU, Q. Deoxynivalenol in food and feed: Recent advances in decontamination strategies. *Frontiers in Microbiology*, 2023, 14, 1141378.
10. MACÍAS-MONTES, A., RIAL-BERRIEL, C., ACOSTA-DACAL, A., HENRÍQUEZ-HERNÁNDEZ, L. A., ALMEIDA-GONZÁLEZ, M., RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, Á., LUZARDO, O. P. Risk assessment of the exposure to mycotoxins in dogs and cats through the consumption of commercial dry food. *Science of The Total Environment*, 2020, 708, 134592.
11. MORRIS, J. G. Idiosyncratic nutrient requirements of cats appear to be diet-induced evolutionary adaptations. *Nutrition Research Reviews*, 2002, 15, 153-168.
12. OSWALD, I. P., MARIN, D. E., BOUHET, S., PINTON, P., TARANU, I., ACCENSI, F. Immunotoxicological risk of mycotoxins for domestic animals. *Food Additives & Contaminants*, 2005, 22, 4, 354-360.
13. SONGSERMSAKUL, P., RAZZAZI-FAZELI, E., BÖHM, J., ZENTEK, J. Occurrence of deoxynivalenol (DON) and ochratoxin A (OTA) in dog foods. *Mycotoxin Research*, 2007, 23, 65-67.