

Wpływ toksykozy zearalenonowej na wyniki badania morfologicznego i biochemicznego krwi dzików

JÓZEF NICPOŃ, PIOTR SŁAWUTA*, JAKUB NICPOŃ**

Centrum Diagnostyki Eksperymentalnej i Innowacyjnych Technologii Biomedycznych,

*Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów, Wydział Medycyny Weterynaryjnej,
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, pl. Grunwaldzki 47, 50-366 Wrocław

**Katedra i Klinika Chirurgii, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu,
pl. Grunwaldzki 51, 50-366 Wrocław

Otrzymano 17.06.2015

Zaakceptowano 22.10.2015

Nicpoń J., Sławuta P., Nicpoń J.

Effect of zearalenone toxicosis on the complete blood cell count and serum biochemical analysis in wild boars

Summary

The aim of this study was to assess the effect of zearalenones (ZEA) on the complete blood cell count and serum chemistry analysis in wild boars (*Sus scrofa*). At the beginning of the study, blood was collected from 24 wild boars. The following parameters were evaluated: the leukocyte and red blood cell counts, haemoglobin concentration, MCV, MCH, MCHC, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, alkaline phosphatase, urea, creatinine, total protein, albumin, total bilirubin, calcium, inorganic phosphorus and magnesium.

The wild boars were then divided into three study groups containing six sows and two boars each. The study was carried out over the course of three years. Group I received feed for fattening boars and corn containing 50 µg of ZEA. Group II received the same feed as group I, with the addition of a pure form of ZEA, supplemented at a dose of 150 µg/kg/day for 7 days every 2 months. In the course of the study, the animals in this group received a total of nine 7-day administrations of this toxin. Group III was the control group. A complete blood cell count and serum biochemical analysis were performed once again at the end of the study, and, in group I, three months after commencing the study. The CBC indices measured at the end of the study did not differ significantly among the three groups. There were significant differences in the AST, ALT and total bilirubin concentrations measured at the end of the study between group I and the remaining two groups. The high AST, ALT and total bilirubin concentrations suggest that a three-year-long ingestion of mouldy feed significantly affects the liver function, but does not cause clinical signs of poisoning.

Keywords: wild boar, zearalenone, mycotoxin

Zearalenon (ZEA) jest specyficznym hormonem regulującym rozmnażanie płciowe grzybów pleśniowych z rodzaju *Fusarium*. Już w latach dwudziestych, zauważono obecność w ziarnie kukurydzy substancji estrogennej powodującej zaburzenia układu rozrodczego zwierząt (22, 23), w latach sześćdziesiątych ub. wieku wyizolowano z kukurydzy, inokulowanej zarodnikami *Fusarium* substancję uterotropową, nazwaną początkowo toksyną F-2 (6), a potem zearalenonem. O wzroście grzybów pleśniowych i produkcji zearalenonu głównie decydują warunki mikroklimatyczne: największe ilości ZEA są wytwarzane w temperaturze poniżej 25°C, przy dużej dobowej amplitudzie temperatur i wilgotności około 16% (9, 20). Wydajność jego biosyntezy zależy także od rodzaju pleśni, gdyż np.

F. roseum produkuje ZEA na poziomie 3000-15 000 ppm, podczas gdy *F. moniliforme* tylko 1-19 ppm (2). ZEA jest laktonem kwasu 6-(-10-hydroksy-6-okso-E-1-undecynylo)-β-rezorcynowego o stabilnej budowie, nie ulegającym degradacji podczas przechowywania, mielenia i działania wysokich temperatur. U ssaków grupa ketonowa przy C-6 jest zredukowana i powstają dwa stereoizomeryczne metabolity zearalenonu α i β (11).

Fuzariotoksyny, a w tym i ZEA dostają się do organizmu zwierząt w bardzo niskich dawkach, głównie *per os* i oprócz ogólnego działania hepato- i nefrotoksycznego wykazują także właściwości rakotwórcze, mutagenne, teratogenne oraz powodują zaburzenia w funkcjonowaniu układu rozrodczego ludzi i zwierząt

(4, 12-15). Ocenia się, że około 20% zbiorów zbóż uprawianych w krajach Unii Europejskiej i używanych do produkcji środków spożywczych oraz środków żywienia zwierząt zawiera wykrywalne laboratoryjnie ilości mikotoksyn (3, 8, 10, 17). Wiadomo, że przy koncentracji około 1 ppm w osoczu zearalenon wywołuje procesy feminizacyjne. Wyższe koncentracje (50-100 ppm) powodują poważne zaburzenia rozrodu, utrudniające zapłodnienie, owulację, implantację zarodków i ich prawidłowy rozwój (7). U samic ssaków podczas ciąży ZEA powoduje obumieranie płodów i/lub spadek masy ciała noworodków, ma również wpływ na morfologię macicy poprzez obniżenie wydzielania hormonu lutenizującego i progesteronu. U wielu gatunków zwierząt, a szczególnie niedojrzałych płciowo loszek, z racji zaburzeń hormonalnych, spowodowanych stanem hyperestrogenizmu występują objawy rui nawet u zwierząt owariotomizowanych. U knurów ZEA może powodować spadek *libido*, obniżenie masy jąder, opóźnienie spermatogenezy i spadek stężenia testosteronu. W przebiegu intoksykacji ZEA zmiany anatomopatologiczne i histopatologiczne umiejscowione są głównie w tkankach układu rozrodczego (16, 22, 23). Makroskopowo stwierdza się zwiększenie masy i rozmiarów macicy, jej przekrwienie oraz zwiększenie lub zmniejszenie masy i rozmiaru jajników. W obrazie mikroskopowym tkanek układu rozrodczego widoczne jest zwiększenie indeksu proliferacyjnego nabłonka pochwy, przerost i rozrost komórek nabłonka *endometrium* i gruczołów macicy, tworzenie cyst, torbieli jajnikowych, wzmożoną atrezię pęcherzyków jajnikowych, zwiększenie indeksu apoptycznego w komórkach ziarnistych, wzmożenie lub zahamowanie follikulogenezy (11, 21).

Wiedza o mikotoksynach, jako o czynnikach wywołujących różnorodne zaburzenia u ludzi i zwierząt oraz o ich metabolizmie w ustroju, jest ciągle jeszcze niewystarczająca, a w przypadku dzików niemal zupełnie nieznaną (19). Można jednak założyć, że możliwość występowania zearalenonu w paszy podawanej dzikom, a tym samym mikotoksykozy zearalenonowej u tego gatunku, jest duża – leśnicy i myśliwi coraz częściej obserwują zaburzenia w rozrodzie dzików, takie jak: nienaturalna pora wyproszeń, niewielka liczba prosiąt w miocie, brak wyproszeń, proszenie się loszek o masie ciała 25-30 kg, martwe płody u dorosłych loch. Dotychczas, pomimo że odnotowano przypadki obecności ZEA w osoczu krwi dzików (13), nie badano jego wpływu na wartości parametrów hematologicznych i biochemicznych krwi u tego gatunku.

Celem badań było stwierdzenie ewentualnego wpływu ZEA na parametry hematologiczne i biochemiczne krwi dzików (*Sus scrofa*), żyjących w warunkach zbliżonych do ich środowiska naturalnego.

Materiał i metody

Na terenie Ośrodka Badania Środowiska Leśnego i Hodowli Zwierząt Łownych (OBSLiHŻL) Uniwersytetu Przy-

rodniczego we Wrocławiu wybudowano 3 zagrody doświadczalne, zaopatrzone w urządzenia do karmienia oraz miejsca przeznaczone do wypoczynku i wyproszenia. Przed rozpoczęciem eksperymentu właściwego od 24 dzików (18 loch i 6 odyńców) pobrano krew z żyły szyjnej zewnętrznej i wykonano badania morfologiczne oraz biochemiczne krwi, w których uwzględniono: liczbę leukocytów i erytrocytów, stężenie hemoglobiny, wartość hematokrytu, wskaźniki czerwonych krwinek: MCV, MCH, MCHC, oraz aktywność AST, ALT, ALP, stężenie mocznika, kreatyniny, białka całkowitego, albumin i bilirubiny, Ca, P-nieorganiczny i Mg. Po pobraniu krwi odrobaczono dziki za pomocą preparatu IVOMEC w dawce 0,4 mg/kg mc sc.

Doświadczenie właściwe zakładało 3-letnią obserwację badanych zwierząt. Dziki podzielono na 3 grupy po 6 loch i dwa odyńce w każdej, które umieszczono w osobnych zagrodach.

Grupa I dostawała paszę dla tuczników w ilości 1,5-2 kg + 0,5-1 kg ziaren kukurydzy, które zawierały średnio 50 µg ZEA na kg kukurydzy. Stężenie ZEA w podawanej zwierzętom karmie była regularnie kontrolowana w laboratorium Katedry Prewencji Weterynaryjnej i Higieny Pasz Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie przy użyciu techniki separacji z zastosowaniem kolumnienek powinowactwa immunologicznego (Zearala-Test™ Zearalenone Testing System, G1012< VICAM, Watertown, USA) wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) ze spektrometrią mas (MS). Grupie II podawano paszę dla tuczników w ilości 1,5-2 kg + 0,5-1 kg ziaren kukurydzy oraz ZEA w postaci czystej chemicznie substancji wg następującego schematu: 150 µg/kg/m.c. dziennie, doustnie w jednodniowych kurczakach, przez 7 dni, co 2 miesiące – w sumie czystą mitotoksynę podano 9 razy podczas trwania eksperymentu. Grupa III stanowiła kontrolę i była karmiona paszą dla tuczników i ziarnami kukurydzy, w dawkach jak w grupach poprzednich. Dodatkowo wszystkim zwierzętom podawano do woli zielonkę w okresie letnim i siano w okresie zimowym. Po zakończeniu badań (3 lata) od wszystkich zwierząt pobrano z żyły szyjnej zewnętrznej krew i wykonano badania morfologiczne i biochemiczne krwi, takie jak przed rozpoczęciem eksperymentu właściwego. Dodatkowo od dzików z grupy I krew pobrano po 3 miesiącach od momentu rozpoczęcia podawania karmy zawierającej ZEA i wykonano identyczne badania.

W celu stwierdzenia istotności różnic stosowano test t-Studenta oraz test kolejności par Wilcoxsona dla zmiennych powiązanych. Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę II Lokalnej Komisji Etycznej do Spraw Doświadczeń na Zwierzętach we Wrocławiu numer 35/2010 z dnia 22.02.2010 r.

Wyniki i omówienie

Wyniki badania biochemicznego i morfologicznego krwi dzików wykonane przed rozpoczęciem eksperymentu były zgodne z wartościami podanymi przez innych autorów dla tego gatunku (1, 5, 18) i mieściły się w zakresie wartości referencyjnych przyjętych dla świń (tab. 1 i 2). Badania wskaźników hematologicznych oznaczanych pod koniec eksperymentu nie wykazały

praktycznie żadnych różnic między grupami, a ich wartości były identyczne z wartościami referencyjnymi podanymi dla dzików i świń domowych (tab. 3, 5, 7, 9). W przypadku badań biochemicznych krwi do-

Tab. 1. Średnie wartości wskaźników hematologicznych u dzików przed rozpoczęciem badań, n = 24

WBC 10 ⁹ /l	RBC 10 ¹² /l	Hg mmol/l	Ht l/l	MCV fl	MCH fmol	MCHC mmol/l
14,00	8,80	9,70	0,50	62,00	1,22	19,70
± 3,00	± 0,83	± 1,25	± 0,06	± 3,61	± 0,92	± 4,07

Objaśnienia: WBC – leukocyty; RBC – erytrocyty; Hg – hemoglobina; Ht – hematokryt; MCV – średnia objętość krwinki czerwonej; MCH – średnia masa hemoglobiny w krwince; MCHC – średnie stężenie hemoglobiny w krwince

Tab. 2. Średnie wartości wskaźników biochemicznych w surowicy krwi dzików przed rozpoczęciem badań, n = 24

AST U/l	ALT U/l	ALP U/l	BUN mmol/l	Kreat μmol/l	Białko g/l	Alb g/l	Bili μmol/l	Ca mmo/l	P mmo/l	Mg mmo/l
56,72	36,02	185	6,20	156	65	38	4,1	2,38	1,60	0,94
± 10,11	± 9,78	± 21,30	± 0,58	± 36,21	± 5,44	± 3,99	± 2,01	± 0,09	± 0,12	± 0,10

Objaśnienia: AST – aminotransferaza asparaginowa; ALT – aminotransferaza alaninowa; ALP – fosfataza zasadowa; BUN – azot mocznika; Kreat – kreatynina; Białko – białko całkowite; Alb – albuminy; Bili – bilirubina

Tab. 3. Średnie wartości wskaźników hematologicznych krwi dzików z grupy kontrolnej i ich odchylenie standardowe w dniu zakończenia badań, n = 8

WBC 10 ⁹ /l	RBC 10 ¹² /l	Hg mmol/l	Ht l/l	MCV fl	MCH fmol	MCHC mmol/l
14,00	8,80	9,70	0,50	62,00	1,22	19,70
± 2,10	± 0,93	± 1,20	± 0,04	± 3,70	± 0,98	± 3,47

Objaśnienia: jak w tab. 1

Tab. 4. Średnie wartości wskaźników biochemicznych w surowicy krwi dzików z grupy kontrolnej i ich odchylenie standardowe w dniu zakończenia badań, n = 8

AST U/l	ALT U/l	ALP U/l	Mocz mmol/l	Kreat μmol/l	Białko g/l	Alb g/l	Bili μmol/l	Ca mmo/l	P nieorg. mmo/l	Mg mmo/l
51,75	51,37	49,25	3,42	157,87	72,00	41,50	3,00	2,65	1,97	0,89
± 13,11	± 8,88	± 20,53	± 0,60	± 36,59	± 3,84	± 4,79	± 1,56	± 0,097	± 0,32	± 0,11

Objaśnienia: jak w tab. 2

Tab. 5. Średnie wartości wskaźników hematologicznych krwi dzików z grupy, której podawano ZEA w czystej postaci przez okres 3 lat w dniu zakończenia badań, n = 8

WBC 10 ⁹ /l	RBC 10 ¹² /l	Hg mmol/l	Ht l/l	MCV fl	MCH fmol	MCHC mmol/l
11,00	9,40	9,64	0,48	60,00	1,11	18,70
± 2,14	± 0,83	± 1,1	± 0,07	± 3,30	± 0,78	± 3,44

Objaśnienia: jak w tab. 1

Tab. 6. Średnie wartości wskaźników biochemicznych w surowicy krwi dzików z grupy, której podawano ZEA w czystej postaci przez okres 3 lat w dniu zakończenia badań, n = 8

ASPT U/l	ALT U/l	ALP U/l	Mocz mmol/l	Kreat μmol/l	Białko g/l	Alb g/l	Bili μmol/l	Ca mmo/l	P nieorg. mmo/l	Mg mmo/l
52,62	48,50	38,62	4,50	169,37	69,50	44,87	2,22	2,66	1,90	0,91
± 7,82	± 5,54	± 14,43	± 0,79	± 30,51	± 5,56	± 4,39	± 0,66	± 0,09	± 0,34	± 0,16

Objaśnienia: jak w tab. 2

strzeżono jednak pewne różnice. Wartości oznaczone pod koniec eksperymentu w grupie, której podawano czystą mitotoksynę ZEA, nie różniły się od wartości uzyskanych w grupie kontrolnej (tab. 4 i 6). Po upływie trzech miesięcy podawania karmy zawierającej ZEA wartości parametrów biochemicznych były identyczne jak w grupach pozostałych (tab. 8), natomiast pod koniec eksperymentu aktywność enzymów wątrobowych – AST i ALT oraz stężenie bilirubiny całkowitej były podwyższone w sposób istotny w stosunku do kontroli i pozostałych wyników (tab. 10). Otrzymana w prezentowanych badaniach bardzo wysoka aktywność AST i ALT oraz stężenie bilirubiny całkowitej w grupie, której podawano karmę zawierającą mitotoksynę świadczą, zdaniem autorów, o tym, że długie – 3-let-

nie spożywanie paszy zanieczyszczonej mitotoksyną wpływa istotnie na czynność wątroby, choć nie powoduje wystąpienia objawów klinicznych zatrucia, z kolei nawet 3-letnie podawanie czystej chemicznie postaci ZEA w dawce 150 μg/kg m.c. przez 7 dni co dwa miesiące nie powoduje klinicznych objawów zatrucia ani zmian widocznych w diagnostyce laboratoryjnej. Dodać należy, że wg niektórych badaczy aktywność

AST rzędu 260 U/L stanowi „środek” normy dla dzików (1). Istnieje niewiele opracowań dotyczących badań morfologicznych i biochemicznych krwi dzików, a podawane w nich wyniki są mało precyzyjne (1, 5). Barasona i wsp. (1) twierdzą, że na uzyskiwane wyniki ma wpływ bardzo wiele czynników: metoda odłowu, stres powodowany obecnością człowieka, stres wywołany poskramianiem i odławianiem oraz czynniki środowiskowe, przez które autorzy rozumieją głównie

Tab. 7. Średnie wartości wskaźników biochemicznych w surowicy krwi dzików w 3. miesiącu podawania karmy zawierającej ZEA, n = 8

WBC 10 ⁹ /l	RBC 10 ¹² /l	Hg mmol/l	Ht l/l	MCV fl	MCH fmol	MCHC mmol/l
12,00	9,94	9,24	0,54	61,42	1,47	19,20
± 1,14	± 0,97	± 1,00	± 0,04	± 4,10	± 0,68	± 4,01

Objaśnienia: jak w tab. 1

Tab. 8. Średnie wartości wskaźników biochemicznych w surowicy krwi dzików w 3. miesiącu podawania karmy zawierającej ZEA, n = 8

AST U/l	ALT U/l	ALP U/l	Mocz mmol/l	Kreat μmol/l	Białko g/l	Alb g/l	Bili μmol/l	Ca mmo/l	P nieorg. mmo/l	Mg mmo/l
50,50	53,16	41,50	3,61	171,66	70,16	47,33	3,41	2,71	1,88	0,83
± 7,97	± 13,80	± 8,80	± 0,54	± 42,87	± 2,11	± 5,52	± 0,58	± 0,10	± 0,56	± 0,09

Objaśnienia jak w tab. 2

Tab. 9. Średnie wartości wskaźników hematologicznych krwi dzików w dniu zakończenia badań, po trzech latach podawania karmy zawierającej ZEA, n = 8

WBC 10 ⁹ /l	RBC 10 ¹² /l	HGB mmol/l	HCT l/l	MCV fl	MCH fmol	MCHC mmol/l
13,00	9,89	9,54	0,57	62,02	1,54	18,91
± 2,13	± 1,07	± 0,94	± 0,03	± 3,81	± 0,48	± 3,73

Objaśnienia: jak w tab. 1

Tab. 10. Średnie wartości wskaźników biochemicznych w surowicy krwi dzików w dniu zakończenia badań, po trzech latach podawania karmy zawierającej ZEA, n = 8

ASPat U/l	Alat U/l	ALP U/l	Mocz mmol/l	Kreat μmol/l	Białko g/l	Alb g/l	Bili μmol/l	Ca mmo/l	P mmo/l	Mg mmo/l
204,55*	117,22*	47,22	3,73	144,66	68,88	32,66	9,64*	2,65	2,62	1,07
± 39,63	± 28,56	± 18,19	± 1,23	± 23,31	± 6,98	± 6,61	± 2,08	± 0,09	± 0,69	± 0,19

Objaśnienia: * p ≤ 0,01 w stosunku do pozostałych wyników, pozostałe jak w tab. 2

jego zanieczyszczenie (1). Casas-Diaz i wsp. (5) opisując swoje spostrzeżenia, używają pojęcia interwału referencyjnego (Reference intervals – RI). RI opisuje zakres uzyskiwanych wartości, a jego wielkość jest zależna od stresu związanego z odławianiem. W badaniach wspomnianych autorów wartość RI, a zatem i rozrzut wyników, jest bardzo duży. Wpływ podawanej dzikom iwermektyny (IVOMEC) na wyniki badania hematologicznego krwi badali Lopez-Olvera i wsp. (18). Stosowany przez nich model doświadczenia zakładał porównanie wyników morfologii i biochemii krwi w grupie kontrolnej i badanej w dniu 0, oraz po 10 dniach stosowania iwermektyny. Autorzy we wnioskach stwierdzają, że podawanie leku wpływa istotnie na podwyższenie wartości AST. Analiza przedstawionych przez nich wyników wskazuje jednak, że przyczyna podwyższenia aktywności AST, stężenia triglicerydów, mocznika i kreatyniny musiała być inna, ponieważ przedstawione przez wspomnianych badaczy wyniki grupy kontrolnej i badanej w 10. dniu doświadczenia praktycznie nie różnią się od siebie.

Reasumując, na podstawie uzyskanych wyników, należy stwierdzić, że: stężenie ZEA 150 μg/kg mc podawane okresowo przez 7 dni w odstępach 2-mie-

sięcznych nawet przez okres 3 lat nie powoduje zmian w parametrach morfologicznych i biochemicznych krwi. Natomiast stężenie ZEA w ziarnie kukurydzy w stężeniu 50 μg w kilogramie paszy spożywana przez okres 3 lat powoduje statystycznie istotne podwyższenie aktywności ASP, ALT i stężenia bilirubiny całkowitej. Dodać należy, że stosowane w prezentowanych badaniach dawki ZEA zarówno w postaci

czystej substancji, jak i w zanieczyszczonej mikotoksyną kukurydzy były niskie (16), celem autorów było bowiem, by warunki doświadczenia, a zatem i kontakt dzików z ZEA, były jak najbardziej zbliżone do warunków naturalnych. Autorzy przedstawionej pracy nadal prowadzą badania nad wpływem niskich dawek ZEA na zaburzenia w rozrodzie dzików i kumulacją mikotoksyny w tkankach zwierząt.

Piśmienictwo

1. Barasona J. A., López-Olvera J. R., Beltrán-Beck B., Gortázar C., Vicente J.: Trap-effectiveness and response to tiletamine-zolazepam and medetomidine anaesthesia in Eurasian wild boar captured with cage and corral traps. *Vet. Res.* 2013, 23, 107-117.
2. Berg T.: How to establish international limits for mycotoxins in food and feed? *Food Control* 2003, 14, 219-224.
3. Binder E. M.: Managing the risk of mycotoxins in modern feed production. *Anim. Feed Sci. Tech.* 2007, 133, 149-166.
4. Bouhet S., Oswald I. P.: The effects of mycotoxins, fungal food contaminants, on the intestinal epithelial cell-derived innate immune response. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2005, 108, 199-209.
5. Casas-Díaz E., Closa-Sebastià F., Marco I., Lavín S., Bach-Raich E., Cuenca R.: Hematologic and biochemical reference intervals for Wild Boar (*Sus scrofa*) captured by cage trap. *Vet. Clin. Pathol.* 2015, 20, 1-8.
6. Christensen C. M., Nelson G. H., Mirocha C. J.: Effect on the white rat uterus of a toxic substance isolated from *Fusarium*. *Appl. Microbiol.* 1965, 13, 653-659.
7. Diekman M. A., Green M. L.: Mycotoxins and reproduction in domestic livestock. *J. Anim. Sci.* 1992, 70, 1615-1627.
8. Egmond H. P. van, Schothorst R. C., Jonker M. A.: Regulations relating to mycotoxins in food perspectives in a global and European context. *Anal. Bioanal. Chem.* 2007, 389, 147-157.
9. Eppley R. M., Stoloff L., Trucksess M. W., Chung C. W.: Survey of corn for *Fusarium* toxins. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 1974, 57, 632-635.
10. Fels-Klerx H. J. van der, Kandhai M. C., Brynestad S., Dreyer M., Börjesson T., Martins H. M., Uiterwijk M., Morrison E., Booij C. J. H.: Development of a European system for identification of emerging mycotoxins in wheat supply chains. *World Mycotoxin J.* 2009, 2, 109-112.
11. Gajęcka M., Jakimiuk E., Zielonka L., Obremski K., Gajęcki M.: The biotransformation of chosen the mycotoxins. *Pol. J. Vet. Sci.* 2009, 12, 293-303.

12. Gajęcki M.: Wchłanianie mikotoksyn u zwierząt, [w:] Posytniak A., Szkoda J. (red.): Leki weterynaryjne i zanieczyszczenia środowiskowe w żywności i paszach – aspekty analityczne i ochrona zdrowia publicznego. Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Puławy 2009, s. 91.
13. Gajęcki M.: Zearalenone – undesirable substances in feed. *Pol. J. Vet. Sci.* 2002, 5, 117-122.
14. Gajęcki M., Gajęcka M., Jakimiuk E., Zielonka Ł., Obremski K.: Zearalenone – undesirable substance. Mahendra Rai, Ajit Varma (ed.): *Mycotoxins in Food, Feed and Bioweapons*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg 2010, s. 131.
15. Gajęcki M., Przybyłowicz M., Obremski K., Zielonka Ł., Zwierzchowski W., Skorska-Wyższyńska E., Gajęcka M., Polak M., Jakimiuk E.: Preliminary results of monitoring research on zearalenone presence in blood of women with neoplastic lesions in reproductive system. *Pol. J. Vet. Sci.* 2004, 7, 153-156.
16. Hussein H. S., Brasel J. M.: Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicology* 2001, 167, 101-134.
17. Juskiewicz T., Piskorska-Pliszczyńska J.: Occurrence of mycotoxins in animal feeds. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.* 1992, 11, 211-215.
18. López-Olvera J. R., Höfle U., Vicente J., Fernández-de-Mera I. G., Gortázar C.: Effects of parasitic helminths and ivermectin treatment on clinical parameters in the European wild boar (*Sus scrofa*). *Parasitol. Res.* 2006, 98, 582-587.
19. Obremski K., Zalewski K., Gajęcka M., Giżejowski Z., Zielonka Ł., Gajęcki M., Nitkiewicz B.: Zearalenone intoxication of game animals. *Pol. J. Natur. Sci.* 2006, 21, 1099-1106.
20. Price K. R., Fenwick G. R.: Naturally occurring oestrogens in foods – a review. *Food Addit. Contam.* 1985, 2, 73-106.
21. Richard J. L.: Some major mycotoxins and their mycotoxicoses – An overview. *Int. J. Food Microbiol.* 2007, 119, 3-10.
22. Tiemann U., Tomek W., Schneider F., Vanselow J.: Effects of the mycotoxins alpha- and beta-zearalenol on regulation of progesterone synthesis in cultured granulosa cells from porcine ovaries. *Reprod. Toxicol.* 2003, 17, 673-681.
23. Tiemann U., Viergutz T., Jonas L., Schneider F.: Influence of the mycotoxins alpha- and beta-zearalenol and deoxynivalenol on the cell cycle of cultured porcine endometrial cells. *Reprod. Toxicol.* 2003, 17, 209-221.

Adres autora: prof. dr hab. dr h.c. Józef Nicpoń, pl. Grunwaldzki 47, 50-366 Wrocław; e-mail: jozef.nicpon@up.wroc.pl