



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin
och husdjursvetenskap

Institutionen för husdjurens utfodring och vård

Mykotoxin i foder till häst

Pernilla Karlsson Bergkvist

*Uppsala
2017*

Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen

Delnummer i serien: 2017:49

Mykotoxiner i foder till häst

Mycotoxins in equine feedstuffs

Pernilla Karlsson Bergkvist

Handledare: Rolf Spörndly, institutionen för husdjurens utfodring och vård

Examinator: Eva Tydén, institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap.

Omfattning: 15 hp

Nivå och fördjupning: grund nivå, G2E

Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin

Kurskod: EX0700

Program: Veterinärprogrammet

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2017

Serienamn: Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen

Delnummer i serie: 2017:49

Elektronisk publicering: <http://stud.epsilon.slu.se>

Nyckelord: Mykotoxin, häst, hästfoder.

Key words: Mycotoxin, horse, horsefeed.

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för husdjurens utfodring och vård

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Sammanfattning	1
Summary	2
Inledning	4
Material och metoder	5
Litteraturöversikt	5
Hälsoeffekter	5
Förekomst av mykotoxin i grovfoder	8
Förekomst av mykotoxin i kraftfoder	9
Förebyggande åtgärder	11
Diskussion	12
Referenslista	15

SAMMANFATTNING

Mykotoxikos är ett samlingsbegrepp för sjukdomstillstånd orsakat av förgiftning med mykotoxin, ett gift producerat av mögelsvampar. Det finns flera olika potentiellt patogena mögelsvampar som kan kontaminera grödor under tillväxt, skörd och lagring och därmed utgöra en hälsorisk för djur som äter dessa grödor. Det finns dock en skillnad i känslighet för toxinerna mellan olika djurarter och hur mottagliga de är för olika toxiner och därmed vilka symtom som uppstår. Denna litteraturöversikt har som syfte att undersöka olika mykotoxiners hälsoeffekt hos hästar, de olika mykotoxinernas prevalens i hästfoder och hur hästar skulle kunna skyddas mot de eventuellt negativa effekterna som toxinet har.

Litteraturöversikten har visat ett brett fokus i genomförda studier. Studierna skiljer sig åt i vilka toxiner, djurslag och fodervarianter man undersökt. Det är även en stor geografisk spridning på studierna. Ett av de vanligaste förekommande toxinerna är deoxynivalenol (DON). Detta toxin verkar dock ha en låg effekt på hästars hälsotillstånd där de flesta studierna framförallt rapporterar aptitförlust som symtom. I kombination med toxinet zearalenon (ZEN) har man dock sett att DON kan hämma hästars perifera mononukleära celler *in vitro*. Zearalenon (ZEN) ensamt har visats minska motiliteten och påskynda akrosomreaktionen hos hingstars sperma vilket har en fertilitetssänkande effekt.

Andra mer allvarliga symtom har visats uppstå vid förgiftning med lolitrem B och ergovaline. Dessa båda toxiner har visats ge neurologiska symtom efter fyra till nio dagar. Även roquefortin C har visats ha en negativ inverkan på nervceller. Mer diskreta symtom har uppstått hos hästar som ätit ergot som innehåller alkaloider. Där rapporteras symtom som svullna ben, svullen öronspottkörtel, stelhet, hälta och vattnig avföring.

En av studierna har rapporterat dödsfall orsakat av förgiftning med fumonisin B1 (FUM). Studien visar på ett eskalerande händelseförlopp som börjar med ökad salivering och svettning, apati och ataxi. Detta följs av förlorad djup känsel, dilaterade pupiller och död inom 24 timmar från de första symtomen.

Fodertillsatser såsom mineralföreningar, natriumbentonit och glukomannan-polymer har visats kunna binda till vissa mykotoxiner och har därmed en teoretisk möjlighet att förhindra mykotoxikos. Däremot finns få studier som undersöker den faktiska effekten *in vivo*.

Flera studier visar att toxiner ofta finns i låga doser i alla foder. Där varierar vilken variant och halt av toxin. De är dock inte synliga för blotta ögat om det inte finns en kraftig mögeltillväxt vilket kan göra mykotoxikos svårare att förebygga. Fler studier skulle behöva genomföras för att få en mer enhetlig bild av prevalens av toxiner och för att på ett mer effektivt sätt kunna förhindra effekten av mykotoxiner hos hästar.

SUMMARY

Mycotoxigenesis is a group of diseases that can affect our domestic animals. It is symptoms caused by ingestion of a toxin produced by mould. There are several different species of mould that have the ability to produce toxin. These moulds can infect plants during growth, harvest and storage. This is why mycotoxins can be a health issue to animals through their feed. There is a variation in the susceptibility between different species determining the effect of the toxin and what symptoms that may appear. The aim of this review was to determine the health effects of mycotoxins in horses as well as the prevalence of different toxins in horsefeed and how one can prevent their negative effects.

Many studies in this review have been performed with a narrow geographic area but are spread all around the world. This gives poor data if you are interested in a specific country, such as Sweden. There are also differences in what animals are included, what type of feed is analyzed and what toxin the study has been focused on. Of all the toxins reported in the studies the most common is Deoxynivalenol (DON). This toxin alone seems to have a small importance when it comes to effects on health in horses. A common symptom of deoxynivalenol is inappetence. Although in combination with Zearalenone (ZEN) it has been proved to have a negative effect on equine peripheral mononuclear blood cells *in vitro*. On its own ZEN can also reduce the motility of horse sperm and lower the fertility of stallions.

Other toxins have been reported to have greater negative impact on horses. Lolitrem B and Ergovaline have proved to cause neurologic symptoms in horses after only four to nine days of ingestion. The toxin Roquefortin C has also been proved to have a negative effect on neurologic cells.

Ergot and its toxic substance alkaloids has been reported to cause more subtle symptoms such as swelling of the limbs and the parotic glands, stiffness, lameness and diarrhea.

A report on Fumonisin B1 (FUM) shows an escalation in symptoms caused by the toxin. It starts with increase in salivation and sweating, depression and ataxia. These are followed by even more severe symptoms such as loss of proprioception, dilated pupils and death within 24 hours of onset.

Several different additives to feed has been tested for their protective abilities against mycotoxigenesis. Among these are different mineral compounds, sodiumbentonite and a glucomannan-polymer. They have been proven to bind different mycotoxins but have not been thoroughly tested *in vivo*. To these additives there is another dilemma. It is hard to determine when they should be used since the toxins are seldom analyzed and not clearly connected to visible moulds in the feed. Many reports state that the mycotoxins are prevalent in lower doses in almost all feeds and feedstuffs.

In summary, there is a need to further investigate the prevalence of mycotoxins in horsefeed and pastures to give a more reliable view and to more effectively prevent negative health effects in horses.

1. INLEDNING

Det finns flera olika sjukdomar och sjukdomstillstånd som kan drabba våra husdjur. Ett av dem är mykotoxikos som är ett förgiftningstillstånd orsakat av mykotoxin. Mykotoxin bildas av mögelsvampar under särskilda betingelser och därför är växtätande djur särskilt utsatta eftersom mögelsvamparna kan växa på spannmål och växter som används till grovfoder. Olika svampar har olika växtsätt och optimala förhållanden och det kan därför skilja mellan arterna om de infekterar grödor under tillväxt, skörd eller lagring, se tabell 1 (Quinn *et al.*, 2015).

Tabell 1. Mögelsvampar redovisade med producerat toxin, vilka vanliga grödor där de återfinns och när de infekterar grödan (Quinn *et al.*, 2015).

Toxin	Svampart	Huvudsaklig gröda	Infekterande stadie
Aflatoxin	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aspergillus parasiticus</i>	Majs, spannmål, jordnötter, sojaböner.	Lagring och fält under fuktiga och varma förhållanden
Ochratoxin	<i>Aspergillus spp</i> , <i>Penicillium spp</i>	Korn, majs och vete	Lagring i fuktiga förhållanden
Fumonisin	<i>Fusarium spp</i>	Majs	Lagring och fält under fuktiga förhållanden
Zearalenon	<i>Fusarium spp</i>	Möglig majs, korn, majssilage, pelleterat spannmålsfoder	Lagring och fält under fuktiga förhållanden
Deoxynivalenol	<i>Fusarium spp</i>	Spannmål	Lagring och fält under fuktiga förhållanden.
T2-toxin	<i>Fusarium spp</i>	Spannmål	Lagring och fält under fuktiga förhållanden
Ergotamin	<i>Claviceps purpurea</i> (Mjöldryga)	Frökapslar hos rajgräs och sädeslag.	Endofytisk svamp, fält
Lolitrem B	<i>Neotyphodium lolii</i>	Rajgräs	Endofytisk svamp, fält
Ergovaline	<i>Neotyphodium coenophilaum</i>	Rörsvingel	Endofytisk svamp, fält

För att säkerställa kvaliteten hos djurfoder har svenska jordbruksverket utfärdat en föreskrift med rekommenderade gränsvärden för olika mykotoxiner i foder och foderråvaror. De toxiner som inkluderas i föreskriften är deoxynivalenol (DON), zearalenon (ZEN), ochratoxin A (OTA), fumonisin B1 och B2 (FUM) (SJVFS 2011:40). Även aflatoxin och mjöldryga har bestämda gränsvärden inom EU ((EU) nr 574/2011). En svampart kan producera flera olika toxiner och ett toxin kan även produceras av flera olika svamparter. Toxinerna följer med från skörd och lagring till produktion av koncentrerat foder och finns ofta kvar där som rests substans då många toxiner klarar höga temperaturer. Beroende av vilket toxin djuret utsätts för drabbas olika organ och ger upphov till olika symtom. Det finns även en variation mellan djurslag för hur känsliga de är för toxinernas effekt (Quinn *et al.*, 2015). För att kontrollera hur foderkvaliteten kan man skicka in prover för analys. Vid analysen odlas mögel från provet på agarplattor där man sedan försöker artbestämma svampen. En sådan analys kostar cirka 900 kr (Eurofins, 2017).

Denna kandidatuppsats kommer fokusera på olika mykotoxiners hälsoeffekter hos hästar och prevalensen av toxinerna i hästars grov- och kraftfoder. Den kommer även beskriva metoder som verkar förebyggande mot toxinernas negativa hälsoeffekter.

2. MATERIAL OCH METODER

Informationssökning till denna kandidatuppsats har skett under februari månad 2017 i databaserna PUBmed central, Web of science, Scopus och sökmotorn Google scholar. Använda sökkombinationer är “horse OR equine, feed, mycotoxin”, “endophytic fungi AND horse” och “ryegrass staggers”, “T2-toxin AND effects” och “Horse AND aflatoxin”.

3. LITTERATURÖVERSIKT

3.1 Hälsoeffekter

Olika mykotoxiner skadar olika organ och ger därmed olika symtom. Eftersom känsligheten varierar mellan djurslag är det svårt att göra direkta jämförelser mellan olika arter av djur. Därför har denna litteraturöversikt fokuserat på studier som undersökt mykotoxinernas specifika effekter hos hästar.

Aflatoxin har rapporterats ligga bakom dödsfall hos hästar. Studien utfördes på en gård i USA där man odlade majs som användes till hästfoder. Tre hästar dog och flera blev sjuka från majsen. Två av hästarna obducerades och hade tecken på allvarliga leverskador med nekros. Majsen visades sedan innehålla aflatoxin B1, B2 och M1 (Vesonder *et al.*, 1991)

Deoxynivalenol och ZEN med respektive sekundära metaboliter har undersökts *in vitro* med hänsyn till deras hämmande effekt på perifera mononukleära blodceller hos häst. De nivåer som undersöktes var den koncentration av toxinerna som krävdes för att hämma 50% av cellerna (IC50) respektive 10% av cellerna (IC10). Resultaten visar IC50 nivåer för DON på 3,09 μM och ZEN 98,15 μM , de mononukleära blodceller som var i ett prolifererande stadium hade lägre IC50 nivåer för både DON och ZEN med koncentrationer på 0,73 μM och 82,51 μM . Författarna fastställde även IC10 nivå för DON till 26 ng/ml blod. I samma studie screenades 49 friska hästar för blodkoncentrationer av dessa mykotoxiner, de visade att även friska hästar har koncentrationer av DON och ZEN i blodet men lägre än de beskrivna IC50-nivåerna. Där DON upptäcktes hos de friska hästarna översteg blodkoncentrationerna den IC10-nivå som uppmätts *in vitro* (Schumann *et al.*, 2016). Hästar som ätit vete och majs kontaminerat med en blandning av fusariumtoxinerna DON och ZEN i 21 dagar visades ha en nedsatt aptit jämfört med kontrollgruppen. Studien kunde dock inte påvisa någon skillnad i blodkoncentrationer av IgM, IgG eller IgA mellan de olika grupperna (Raymond *et al.*, 2003). Toxinet ZEN har även visats kunna hämma motiliteten hos hingstars sperma *in vitro* samt påskynda akrosomreaktionen och därmed verka hämmande på hingstars fertilitet (Filannino *et al.*, 2011).

Flera studier har gjorts på mykotoxinet DON med varierande resultat. I en studie kunde man påvisa nedsatt aptit efter intag av DON. Tolv valacker deltog i studien där de delades in i tre grupper. Alla grupper fick äta 4 kg vete och 1,7 kg ensilage av gräs per 100 kg kroppsvikt, två gånger per dag. Ensilaget innehöll 0,02 - 0,29 mg DON/ kg torrs substans och var detsamma i alla grupper. Kontrollgruppen fick sedan äta vete med ett medelinhåll av DON på 0,5 mg/ kg torrs substans. En grupp fick ett lågt DON innehåll med vete som innehöll i medeltal 7,9 mg/ kg torrs substans vete. Den tredje gruppen fick ett högt intag av DON i vete, medelinhåll 12,9 mg DON/ kg torrs substans. Hästarna stod på denna diet i 21 dagar och de som åt vete med högt DON-innehåll visade tecken på nedsatt aptit. Författarna kunde dock inte notera något fall med kolik eller depression som var en av deras förväntade effekter. De såg att koncentrationer av DON i serum ökade med ökat intag av toxinet via fodret (Schulz *et al.*, 2015). En annan studie utförd på 10 ston som under två veckor fick äta havre innehållande DON kunde inte visa några tecken på påverkan av allmäntillståndet eller några uppmätta förändringar av lymfocyternas aktivitet (Khol-Parisini *et al.*, 2012). Efter båda studierna konstaterade författarna att hästar troligtvis har en högre tolerans för DON än grisar.

I ett försök att närmare beskriva de kliniska symtomen hos hästar med förgiftning av lolitrem B, ett mykotoxin producerat av endofytiska svampen *Neotyphodium lolii*, fick sju hästar i två grupper äta infekterat hö under två veckor. Under studien hade de fri tillgång till hö men fick även äta infekterade frön av rajgräs som hästarna fodrades med individuellt. I analys av fodret detekterades lolitrem B i koncentration av 2,1 ppm. I analysen av fröna som hästarna fodrades med upptäcktes även toxinet ergovaline. Ergovaline-nivåerna uppmättes till $2,0 \pm 0,4$ ppm och $3,6 \pm 0,7$ ppm i de två olika grupperna. Samtliga hästar fick neurologiska symtom som uppkom efter fyra till nio dagar. Symtomen bestod av fascikulationer i muskulaturen, posturalt svaj och nedsatt gånghastighet. Det var stor variation i hur kraftiga symtom hästarna fick trots att de hade ett liknande intag av toxin (Johnstone *et al.*, 2011). Effekterna av ergovaline har undersökts närmare i en annan studie genom att giftet getts intravenöst till hästar i en dos om 15µg/kg kroppsvikt. Inom en halvtimme uppstod symtom såsom utmattning, överdriven svettning och kalla öron och mule. Författarna påpekade att detta var en låg dos av giftet men som ändå gav tydliga symtom. I studien noterade man även att halveringstiden för giftet var relativt kort och därmed förväntas effekterna klinga av relativt fort om hästarna skulle få i sig giftet på bete (Bony *et al.*, 2001).

Ergots är en form av mjöldryga (*Claviceps purpurea*) som är en endofytisk svamp som kan tillverka giftiga alkaloider. I en studie utförd i Tyskland studerades effekterna av ergot som infekterat en beteshage. Hästarna i denna studie fick diffusa symtom såsom svullnad av öronspottkörteln och ben, stelhet, hålta, vattmig avföring och dämpat temperament. Dessa symtom uppkom återkommande flera år i rad under betessäsongen och de hästar som betade flest timmar per dag hade kraftigare symtom än övriga i samma hage. Författarna kunde dock i denna studie inte fastställa en dos-respons nivå utifrån hästarnas symtom och de mängder av ergot som fanns i hagarna. De påpekade generellt att fler studier behöver göras kring endofytiska svampar för att få en bättre förståelse för alkaloidernas verkan och risker för betande djur (Aboling *et al.*, 2016).

En studie har hittats som undersökt roquefortin C:s effekt på nervceller. Roquefortin C är ett mykotoxin som produceras av svampen *Penicillium Roqueforti*. Studien kunde visa att cellernas vitalitet minskade när de kom i kontakt med mykotoxinet. Det visades även att nervceller som utsattes för 100µM roquefortin C under 24 timmar hade högre nivåer av reaktiva syreradikaler som potentiellt kan skada cellen (Malekinejad *et al.*, 2015).

På två hästgårdar i Brasilien blev totalt 13 hästar sjuka efter förgiftning med fumonisin B1 (Vendruscolo *et al.*, 2016). De visade symtom som ökad salivering, apati, ataxi och ökad svettning. En av hästarna togs till klinik för diagnostik där hjärtfrekvensen mättes till 130 slag/minut, andningsfrekvens 46 andetag/min, temperatur 40,4 grader. Hästen hade även en sänkt tarmmotilitet och muskelfascikulationer. Symtomen eskalerade med sväljsvårigheter, förlorad djup känsel, dilaterade pupiller och blindhet. Hästen dog inom 24 timmar från att symtomen började försämrats. Hästen obducerades och man fann områden i hjärnan med ödem, blödning och malaci. Undersökning av levern visade akut centrilobulär nekros. Sammantaget ställdes diagnosen leukoencephalomalaci. På båda gårdarna återfanns fumonisin B1 och svampen *F. moniliforme* i höet. Fumonisin B1 uppmättes i nivåerna 0,12 µg/g hö respektive 0,02 µg/g hö. Författarna påpekar att detta är ett ovanligt fall då den aktuella svampen oftast återfinns i spannmål men inte i hö och att nivåerna av toxinet är lägre än vad man normalt anser orsaka sjukdom. En orsak tror dem kan vara variationer i höpartiet där vissa delar av höet kan innehålla högre koncentrationer (Vendruscolo *et al.*, 2016).

Inga studier för att undersöka effekterna av T2-toxin hos hästar har hittats i den här litteraturöversikten. Det har dock gjorts studier på andra djurslag för att undersöka T2-toxinets effekter. Hos zebrafiskembryon har det visats att T2-toxin i koncentration 0,20 µmol/l vatten och högre påverkar utvecklingen av svansen efter 24 timmar medan koncentrationer upp till 0,10 µmol/l vatten inte visar någon påverkan på svansen utveckling. Efter 48 och 72 timmar sågs defekter i det kardiovaskulära systemet hos embryon som utsatts för 0,20 µmol/l vatten och högre koncentrationer. Efter 144 timmars exponering för toxinet kunde man även observera defekta simrörelser. De embryon som utsatts för koncentrationer mellan 0 och 0,10 µmol/l visade inga tecken på påverkan av den normala utvecklingen och hade en 0% mortalitet. Den grupp som utsattes för högst koncentration, 0,80 µmol/l vatten, visade en mortalitet på 100% efter 24 timmar (Yuan *et al.*, 2014). Även broilerkycklingar har visats få en negativ påverkan på kroppsvikten av intag av en kombination med OTA och T2-toxin (Wang *et al.*, 2009). Tre grupper av fåglar fick under tre veckor olika dieter. En kontrollgrupp fick mykotoxinfritt foder, en grupp fick foder med låg toxinkoncentration (0,25 mg OTA/kg foder och 0,5 mg T2-toxin/kg foder) och en grupp fick foder med hög toxinkoncentration (0,5 mg OTA/kg foder och 1 mg T2-toxin/kg foder). Under studien hade fåglarna fri tillgång till foder och vatten och man mätte kroppsvikt och foderkonsumtion varje vecka. Vid slutet av experimentet avlivades fåglarna och man mätte vikten på mjälte, thymus och bursa fabricii. Gruppen med hög toxinhalt i fodret hade en lägre kroppsvikt vid slutet av studien medan den grupp som hade ätit en lägre toxinhalt inte skiljde sig från kontrollgruppen. Däremot sågs i både hög- och lågtoxingroupen en lägre vikt på mjälte, thymus och bursa fabricii jämfört med kontrollgruppen. Det sågs också en skillnad

mellan grupperna som fått toxinet där den grupp som fått högre toxinhalter hade lägre organvikt (Wang *et al.*, 2009).

3.2 Förekomst av mykotoxin i grovfoder

Svenska jordbruksverkets gränsvärden för mykotoxin i foder varierar med typ av råvara och bearbetning samt mellan djurslag. För häst finns gränsvärden för vall- och grovfoder där produkten bör innehålla mindre än 2 ppm ZEN och 8 ppm DON. I grovfoder som kommer från majs, såsom majsensilage, bör halten FUM ej överstiga 60 ppm. Dessa toxiner produceras av svampsläktet *Fusarium* (SJVFS 2011:40, bilaga 17).

I en studie undersöktes förekomsten av mykotoxin i prover från olika sorters spannmål, ensilage och behandlade foderprodukter från flera olika länder representerande alla kontinenter. Vid undersökning av ensilage hittade man förekomst av ZEN, DON, FUM, OTA och aflatoxiner (Rodrigues & Naehrer, 2012). Tyvärr är det svårt att få en helhetsbild av mykotoxinernas förekomst i denna studie eftersom man använt både ELISA och HPLC som analysmetoder och att man tagit olika många prover till båda analysmetoderna. Det var högst andel av proverna för norra Europa som innehöll DON när de analyserades med ELISA. Där fick man positiva resultat i 72% av 123 prover. HPLC användes för att analysera 41 prover från samma region och fick 37% positiva svar för DON. Deoxynivalenol var även det toxin som fanns i högst halter när det upptäcktes (Rodrigues & Naehrer, 2012). En studie utförd på höprover i USA visade att 50% av 120 prover innehöll halter av flera olika mögelsvampar och mykotoxinerna DON, ZEN och T2-toxin. De högsta halterna uppmättes på DON. Studien undersökte då hö som lagrats i elva månader och som torkats ute på fältet i samband med skörden. Samma studie jämförde även ägarnas eller hästränarnas bedömning av höets kvalitet med analyserna och upptäckte att de subjektiva bedömningarna oftast var fel (Raymond *et al.*, 2000). I en studie genomförd i Irland och Kanada hittade man ZEN i både hö och hösilage. Proverna från irländskt hö innehöll ZEN i 9 av 44 fall. I det kanadensiska höet innehöll 5 av 65 prover ZEN och hösilage hade 3 av 40 positiva resultat (Buckley *et al.*, 2007).

En studie utförd i Sverige och Norge undersökte förekomsten av mykotoxin i hösilage. Prover togs från 100 gårdar och hälften av dessa visades innehålla mykotoxin. De vanligaste mykotoxinerna kom från *Fusarium spp*, däribland DON. Däremot detekterades växt av *Fusarium* från endast fem av gårdarna. De vanligaste svamparna som upptäcktes var av arten *Pencillium*. Man hittade inget samband mellan mögelväxt och mykotoxininnehåll i proverna (Schenck *et al.*, 2013).

Ensilage har visats kunna innehålla roquefortin C. Studien som utfördes under 1993 i norra Tyskland tog 60 prover på ensilage producerat från gräs. 30 av proverna var synligt mögliga och 30 prover såg inte mögliga ut. I analyser av ensilaget såg man roquefortin C i 40% av proverna men man såg svampen i 70% av både mögliga och icke mögliga partier. De mögliga proverna hade halter av toxinet som varierade mellan 0,2 – 15 mg/kg torrsubstans. De icke mögliga delarna hade halter som var strax över det lägst möjliga detekterbara nivåerna och

varierade mellan 0,1 – 0,3 mg/kg torrsubstans (Auerbach *et al.*, 1998). I en annan studie på ensilage kunde man se mykotoxinerna ZEN och Roquefortin C. Studien utfördes under åren 2002 - 2004 där man varje år tog 40 prover från olika gårdar i Nederländerna. Förekomsten av toxinerna var relativt låg. Roquefortin C upptäcktes i ett prov från 2003 och ZEN i 7 prover totalt. I samma studie undersöktes ensilage från majs där förekomsten av DON och ZEN var vanlig. Även här togs 40 prover under 2002 och 2003 men 60 prover under 2004. I totalt 101 av proverna upptäcktes DON med en medelkoncentration av 651 µg/kg silage och den högsta uppmätta koncentrationen 3142 µg/kg silage. I samma prover upptäcktes ZEN 69 gånger under alla tre år. Medelkoncentrationen av ZEN i alla prover var 92 µg/kg ensilage och maximal koncentration var 943 µg/kg silage (Driehuis *et al.*, 2009). Svampen *P. roqueforti* upptäcktes även i samtliga 30 prover från ensilage tillverkad av en blandning av majs och gräs. I samma studie fann man även att ca 14% av proverna även innehöll *Aspergillus spp.* Studien rapporterar dock inte innehållet av toxiner i foderproverna (Malekinejad *et al.*, 2015).

Toxinerna DON, ZEN, Roquefortin C och mykofenolsyra återfanns i ensilageprover från 24 gårdar i Nederländerna under 2005. Totalt togs 47 prover ensilage tillverkat av en blandning mellan majs och gräs. Nio av proverna visade förekomst av roquefortin C, sex prover var positiva för mykofenolsyra, 25 visade innehåll av DON och åtta var positiva för ZEN. I samma studie togs även 13 prover från färskt gräs och hö. Dessa prover visades vara positiva för DON och ZEN i två respektive ett fall (Driehuis *et al.*, 2008).

I norra Tyskland studerades två gårdar där man misstänkte att några av hästarna förgiftats från betet. Hagarna undersöktes och man fann ergot från svampen *Claviceps purpurea* i flera olika gräsarter medan andra giftiga växter kunde uteslutas, bedömningen blev att det var denna svamp som orsakat förgiftningen. I en av hagarna hittades tolv olika grässorter där nio var infekterade av svampen. I jämförelse mellan de olika gårdarna kunde man se en skillnad i vilken grässort som var kraftigast infekterad samt att svampen fanns i högre frekvens i utkanten av hagarna. Att svampen oftare infekterade växter i ytterkanten troddes bero på att dessa områden inte klipptes regelbundet och därför hade svampen en bättre chans att ta fäste i dessa områden. (Aboling *et al.*, 2016).

3.3 Förekomst av mykotoxin i kraftfoder

För spannmål och spannmålsprodukter (ej biprodukt av majs) är gränsvärdet för DON 8 ppm, ZEN 2 ppm och OTA 0,25 ppm. Biprodukter av majs får endast innehålla 12 ppm DON och 3 ppm ZEN. Fumonisin B1 och B2 (FUM) har gränsvärdet 60 ppm i majs och majsprodukter (SJVFS 2011:40, bilaga 17). För tillskotts- och helfoder är gränsvärdet för DON och FUM 5 ppm vardera och de får endast innehålla 0,01 ppm aflatoxin. Även foderråvaror har en reglering på aflatoxin där maximalt innehåll är 0,02 ppm. Foderråvaror och foderblandningar som innehåller omalda spannmål har även en reglering på mjöldryga på maximalt 1000 ppm (SJVFS 2011:40, bilaga 17; (EU) nr 574/2011).

Man har i en irländsk studie hittat spår av T2-toxin i havre, müsli och pelletsfoder. I müsli fann man T2 i 4 av 28 prover, havreproverna var positiva i 7 av 17 prover och pelletsfodret var positivt i 27 av 50 prover. Havre var det kraftfoder som visade högst nivåer av T2-toxinet. I müsli och pelletsfodret fann man även ZEN i 6% (35 prover) respektive 16% (50 prover) av proverna. Müsli innehöll även FUM (2 av 31 prover) och OTA (1 av 28 prover) men dessa toxiner var inte lika vanliga och kunde inte påvisas i de andra kraftfodren som undersöktes (Buckley *et al.*, 2007). I Svenskodlad havre uppmättes halter av DON i flera prover under 2010 och 2011. Toxinet uppmättes i 90% av de 93 prover som samlades in och 5% av de positiva proverna visade nivåer över de rekommenderade gränsvärdena. Samtidigt kunde man detektera *Fusarium*svampar av arterna *langserhiae*, *avenaceum* och *poae*. Förutom DON uppmättes även nivåer av mykotoxinerna beauvericin (BEA), nivalenol (NIV) och enniatin (ENN). Samtliga uppmätta toxiner tydde på en nationell geografisk variation i produktion av toxiner (Fredlund *et al.*, 2013). En italiensk studie utförd med prover från majs, korn, havre och riskli visade att korn var den gröda som oftast innehöll DON medan det i majs uppmättes högre halter av toxinet. T2 toxin hittade man framförallt i majs och riskli och 12,3% av samtliga prover var positiva för detta toxin. I studien sågs också att det som regel fanns T2 toxin i kombination med DON och sällan som ensamt förekommande toxin. Författarna till studien påpekar dock att de uppmätta halterna av toxinet inte var höga (Cortinovis *et al.*, 2012). Även kommersiellt kraftfoder på den tyska marknaden har undersökts. Där undersöktes 62 olika prover fördelat på både koncentrerat foder och rena spannmål. Där kunde man se en blandning av mykotoxiner i samtliga prover. DON och T2-toxin förekom i alla prover, ZEN i 98%, fumonisin B1 i 94% medan ergot endast fanns i 61% och OTA hade lägst förekomst med endast 42% av proverna. Ingen av toxiner fanns i en koncentration som anses toxisk men de högsta koncentrationerna kunde man se bland spannmålen (Liesener *et al.*, 2010).

En studie utförd på vete i Serbien hittade mykotoxinerna ZEN, DON, T2 och fumonisin B1. Samtliga prover kom från vete lagrad i mellan fyra och sex månader under åren 2005 och 2007. Högst koncentration uppmättes av fumonisin B1 där samtliga prover där toxinet påträffades var över 500 µg toxin per kg vete. Under 2005 togs 28 prover och 2007 75 prover. Under 2005 var 82,1% av proverna kontaminerade av fumonisin B1 och i proverna från 2007 fanns toxinet i 92%. Även DON återfanns i koncentrationer över 500 µg toxin per kg vete men det var vanligare med lägre koncentrationer. Under båda åren var koncentrationerna för ZEN och T2 under 500 µg/kg vete (Stankovic *et al.*, 2012).

En norsk studie utförd mellan 1996–1998 visade att havre var den gröda som innehöll mest av mykotoxinerna DON, NIV, HT-2 och T2. Alla fyra mykotoxiner återfanns även i prover av vete och korn. Totalt togs 449 prover fördelade enligt följande: havre 178 st, korn 102 st och vete 169 st. 22% av proverna från korn innehöll T2 och HT2 toxiner i koncentrationer över 0,20µg/kg. Även havren hade mest av HT2 och T2 toxin där 70% av proverna hade halter över 0,20 µg/kg. Vete var dock mest kontaminerad med DON där 14% av proverna hade koncentration över 0,20µg/kg (Langseth & Rundberget, 1999).

3.4 Förebyggande åtgärder

Det har visats att klimat och väder under växt och skörd samt förhållanden under lagring av grovfoder spelar roll för tillväxt av mögel och därmed en risk för produktion av mykotoxiner. Man har visat att en lägre torrsubstans i hö vid skörd i kombination med regn efter att höet har klippts och att man balar höet med en högre densitet ökar mängden mögelsvamp och dammpartiklar. I studien kunde man även visa en skillnad i om höet fick torka på fält eller i lada. Det hö som torkats i en ladugård hade en mindre mängd mögelsvamp än det hö som torkats på fält. Även en högre temperatur (25-30°C) ökade tillväxten av mögelsvamp. (Séguin *et al.*, 2010). Frågan är då vad man kan göra för att minska upptag och negativa effekter av de mykotoxiner som redan finns i fodret?

Olika tillsatser har undersökts med tanken att de ska kunna binda mykotoxiner eller förhindra upptag. En sådan tillsats är en glukomannan-polymer som tillsats i kraftfoder. Det visades att tillsats av denna polymer i kontaminerat foder förhindrade minskning av aptit jämfört med hästar som endast fått mykotoxinkontaminerat foder. Polymerens effekt var dock inte total då man kunde se tydlig skillnad i aptit jämfört med kontrollgruppen som inte fick någon påverkan på aptiten alls (Raymond *et al.*, 2003).

I en studie där man testat flera olika ämnens förmåga att binda DON och ZEN kunde det mest effektiva kunna binda DON till 21% och ZEN 70%. Studien utfördes *in vitro* där man försökte återskapa de förhållanden som råder i gastrointestinkanalen hos grisar med avseende på temperatur, pH och passagehastighet. Som kontroll användes aktivt kol som absorberade DON till 90% och ZEN till 100%. I studien användes tre olika mineralföreningar innehållande smektit, kvarts, dolomit och fältspat i olika proportioner. Smektit var i alla föreningar den dominerande substansen och utgjorde 93%, 95% och 96% av innehållet. Ytterligare humusprodukter användes. Två av dessa var lignosulfonat med två olika funktinnehåll (7,4% och 8% fuktighet). En annan var leonardit och sedan tre olika blandningar av olika humusföreningar med olika fuktighet. Även fyra olika jästprodukter testades. Av dessa var mineralföreningen med 93% smektit och humusprodukten med lignosulfat på 7,4% fuktighet mest effektiva för DON-absorption. Även för absorption av ZEN var mineralföreningen med 93% smektit mest effektiv (Sabater-Vilar *et al.*, 2007).

Natriumbentonit har visats kunna minska den negativa påverkan av aflatoxin B1 på broilerkyckling. Den grupp som endast åt aflatoxin B1 med sitt foder hade 21,6% lägre kroppsvikt än kontrollgruppen som inte åt kontaminerat foder. Den grupp som åt både aflatoxin B1 och natriumbentonit i fodret hade en kroppsvikt som var 3,2% lägre än kontrollgruppen. Ytterligare en grupp broilerkyckling fick foder innehållande både aflatoxin B1 och fumonisin B1. Även denna grupp hade lägre kroppsvikt än kontrollgruppen (-28,3%). När fodret tillsattes natriumbentonit samtidigt som aflatoxin B1 och fumonisin B1 blev förändringen inte lika stor som med endast aflatoxinet, denna grupp hade en kroppsvikt som var 19,3% lägre än kontrollen (Miazzo *et al.*, 2005). En annan studie undersökte om fumonisin B1 försämrar den bindande förmågan mellan aflatoxin B1 och natriumbentonit. Resultaten av studien visade att så var fallet men att en samtidig användning av aktivt kol kunde minska fumonisin B1:s inverkan på

natriumbentonitens bindande förmåga. Författarnas förklaring till detta var att det aktiva kolet kan binda fumonisin B1 och att mer natriumbentonit då blir tillgänglig att binda till aflatoxinet (del Pilar Monge *et al.*, 2016). Ännu en studie har undersökts hur andra ämnen kan påverka natriumbentonitens bindningsförmåga till aflatoxin B1. Studien utfördes på Cobb-kycklingar som delats upp i fem grupper med olika diet. Alla fick samma grundfoder och sedan delades dieterna in i aflatoxin, natriumbentonit och aflatoxin, aflatoxin med natriumbentonit och koccidiostatika och till sist koccidiostatika i grundfoder. En grupp var kontroll och fick basfoder under hela studien. Resultaten visade ingen större skillnad i allmänpåverkan mellan grupperna men kunde visa på leverförändringar som tecken på en subklinisk aflatoxikos hos de kycklingar som endast hade tillsats av aflatoxinet i sin diet. De kycklingar som ätit en kombination av aflatoxin, natriumbentonit och koccidiostatika hade också tydliga leverskador av toxinet. Detta tolkas av författarna som att koccidiostatikan kan tävla med aflatoxinet om bindningsplatser till natriumbentonit och därmed förhindra att allt aflatoxin binds upp. Denna kompetitiva egenskap hos koccidiostatikan kunde även visas av författarna i ett *in vitro* experiment (Magnoli *et al.*, 2011).

4. DISKUSSION

Det finns flera vetenskapliga studier om förekomst av mykotoxiner i foder. De är dock mycket varierande i sina upplägg. Vissa studier är begränsade till att leta efter specifika toxiner medan andra begränsar sig till ett visst sorts foder. Fler studier finns kring kraftfoder och spannmål än grovfoder. De studier som finns kring grovfoder är oftast utförda på ensilage för nötboskap och få kring hö och hösilage till häst. I vissa fall är ensilage och hö eller hösilage producerat av samma grässort vilket ger en indikation på att samma svampar kan finnas med från fälten till båda produkterna. Skillnaden i torrsubstans kan dock selektera för att vissa svampar överlever bättre i olika konserveringsförutsättningar och att det därmed bildas olika toxiner i olika mängder.

Många av de rapporter som granskats rapporterar förekomst av DON. Det har upptäckts i spannmål, processat foder och grovfoder men verkar vara vanligast i spannmål, hö och ensilage. Deoxynivalenol (DON) rapporteras oftare i högre halter än andra mykotoxiner i foder. Studier om hälsoeffekter av DON rapporterar dock inga stora eller allvarliga symtom av toxinet. Det har visats att halterna av DON i blodet ökar när hästarna äter större mängder men det främsta symtomet är framförallt nedsatt aptit (Raymond *et al.*, 2003; Schulz *et al.*, 2015). En *in vitro* studie har hittats som rapporterar att toxinet tillsammans med ZEN kan hämma perifera mononukleära blodceller (Schumann *et al.*, 2016). De friska hästar som undersöktes hade dock koncentrationer i blodet som översteg IC10 för toxinet utan att visa symtom. *In vitro* studier är bra på att ge en indikation på hur ett toxin kan fungera i kontakt med olika ämnen och celler men det är svårt att dra en direkt slutsats kring hur de fungerar i en levande kropp. *In vitro* miljön är noga kontrollerad och har specifika förutsättningar. En levande häst utsätts för många fler faktorer och har även egna skyddsmekanismer med sig. En annan *in vitro* studie visade ZEN:s effekt på hingstesperma och att toxinet kan ha en negativ effekt på hingstars fertilitet

(Filannino *et al.*, 2011). Ingen studie har hittats som undersökt detta *in vivo* vilket gör att det är svårt att veta om effekten är densamma hos levande hästar. Två av studierna rapporterar även en skillnad i känslighet för DON jämfört med grisar (Khol-Parisini *et al.*, 2012; Schulz *et al.*, 2015). Eftersom DON är ett så vanligt toxin kanske det är något som hästarna länge utsatts för och med evolutionen utvecklat ett försvar eller tolerans emot i lägre koncentrationer. Orsaken till detta kan kanske tänkas ligga i skillnader i avelsmål och hållningssätt för de två djurslagen. Så gott som alla foderprover som undersökts har visat åtminstone små halter av toxin. Det betyder att de flesta hästar antagligen kommer i kontakt med mykotoxiner dagligen via fodret. Om detta ger skador på lång sikt är svårt att säga. De flesta av studierna i denna uppsats är begränsade till några veckor eller någon månad. Antagligen ser vi därmed de akuta effekterna av toxinerna. Den kroniska påverkan kanske också ger symptom på lång sikt men eftersom den då är svårare att koppla till toxin-intaget kanske den tillskrivs ett idiopatiskt ursprung.

Det är få av de prover som studierna har hittat som visar på höga värden av toxiner. Vissa författare kommenterar att det kan finnas lokala variationer i foderlager som innehåller högre koncentrationer än de delar som ingår i provet. Det kan vara en förklaring till att de foder som rapporterats ha gett sjukdom har halter av toxin som anses icke-toxiska. Andra författare diskuterar istället möjliga cocktaileffekter. Att det istället för höga nivåer av ett specifikt toxin är blandningen av toxiner som ger symptom. Kanske kan det vara att man då får en samverkan mellan de toxiska effekterna och på det viset får en långsam kronisk påverkan som kan ge sjukdom.

Ett annat toxin som är svårt att dra slutsatser kring med hänsyn till dess effekt på hästar är T2-toxin. Denna litteraturöversikt har inte genererat några vetenskapliga artiklar som undersöker hälsoeffekter av T2-toxin hos hästar. Toxinet är bevisat teratogent hos zebrafisk och påverkar kropps- och organvikt hos broilerkyckling (Wang *et al.*, 2009; Yuan *et al.*, 2014). Svårigheten är snarare att översätta dessa resultat till ett annat djurslag och veta att det ger samma effekter. Toxinet har påvisats i hö, spannmål och processat foder så det finns troligtvis i en del av det foder som hästar normalt äter.

Mer allvarliga symptom finns rapporterat från fumonisin B1, ergot, ergovaline och lolitrem B. De tre sistnämnda verkar ha övergående effekt vilket indikerar att en uppmärksam djurägare efter råd från veterinär kan byta foder och på det viset hjälpa hästen tillbaka till hälsa. Det ställer dock krav på att man har möjlighet att byta beteshagar eller har möjligheten att köpa in nytt foder. Ergot till exempel har hittats på bete där hela hagen har varit infekterad vilket gör att även om hästarna tillfrisknat från sina symptom inte kan gå ut på samma bete innan man försökt åtgärda problematiken. Fumonisin B1 har rapporterats orsaka dödsfall hos flera hästar trots att behandling av hästen pågått (Vendruscolo *et al.*, 2016). Detta gör att förekomsten av fumonisin B1 genast blir mer allvarlig. I de studier som granskats har man sett fumonisin B1 i vete och ensilage. De allvarliga symptomen ställer krav på att man som djurskötare/djurägare på något sätt kan bedöma kvaliteten hos det foder som ges. Man har sett att det är svårt för djurägare att bedöma högkvalitet och sett att dessa bedömningar sällan stämmer överens med vetenskapliga

analyser av höets innehåll. Kombinerat med att synligt mögel inte säkert innebär att det finns mykotoxin och tvärtom indikeras en svårighet i att sortera bort dåligt foder vilket är en hälsorisk för djuren. För att med säkerhet konstatera mykotoxin-innehåll behövs en foderanalys. En studie rapporterade om förekomsten av *P. roqueforti* och roquefortin C i ensilage (Auerbach *et al.*, 1998). Där visades att svampen var mycket vanlig i ensilage både i de fall där fodret var synligt möjligt och inte. Dock var det färre prover som innehöll det faktiska toxinet och de flesta prover som påvisade förekomst kom från synligt möjliga partier. De partier utan mögel som visades innehålla toxin innehöll mycket låga halter. Roquefortin C har visats kunna påverka nervcellers vitalitet *in vitro* samt orsaka fler fria syreradikaler i cellerna (Malekinejad *et al.*, 2015). Detta skulle därför teoretiskt även kunna ske *in vivo* men med tanke på den rapporterade förekomsten kan det till stor del undvikas genom att ta bort de partier av ensilage som är möjliga.

Det finns tillsatser till foder som är framtagna för att binda mykotoxiner i magtarmkanalen och hålla dem bundna tills de passerat ut. Detta är ett tänkbart sätt att förhindra toxiska effekter. Eftersom det kan vara svårt att med blotta ögat bedöma innehållet av mykotoxiner i fodret skulle det kunna fungera som en säkerhet för oroliga djurägare. Det finns resultat som visar på att olika mineral tillsatser, natriumbentonit och en glukomannan-polymer kan binda olika mykotoxiner (Miazzo *et al.*, 2005; Raymond *et al.*, 2003; Sabater-Vilar *et al.*, 2007). Det finns dock en osäkerhet kring hur detta fungerar i mag- och tarmkanalen hos hästen. Här blandas flera olika ämnen vilket kan påverka de olika tillsatsernas bindningsförmåga till det mykotoxin som är tänkt att det ska skydda emot. Det finns också en risk att hästen inte vill äta den tillsats som ges. Exempelvis natriumbentonit är ett geologiskt material som kanske inte är naturligt att äta för en häst. Det finns en utmaning i att både servera en tillsats med god effekt utan för stora biverkningar som även upplevs som smaklig av hästen. Utöver det behöver produkten vara prissatt så att hästägaren anser kostnaden skäligen jämfört med risken för mykotoxikos.

Det måste även påpekas att flera av de studier som har undersökt hälsoeffekter inkluderade i denna litteraturöversikt är baserade på ett litet material av djur. Framförallt de studier direkt utförda på hästar har till stor del baserats på grupper om ett dussin hästar. Där kan de sedan ha delats upp i flera grupper. Det gör det svårt att generalisera resultaten till hela världens population av hästar. Mer forskning behövs för att vidare avgöra specifika regioners prevalens av mykotoxin och deras långvariga effekter på hästars hälsa.

REFERENSLISTA

- Aboling S., Drotleff A. M., Cappai M. G, Kamphues J. (2016). Contamination with ergot bodies (*Claviceps purpurea* sensu lato) of two horse pastures in Northern Germany. *Mycotoxin Research*, 32: 207–219.
- Auerbach H., Oldenburg E., Weissbach F. (1998). Incidence of and *Penicillium roqueforti* and Roquefortine in Silages. *Journal of the Science of Food Agriculture*, 76: 565-572.
- Bony S., Durix A., LeBlond A., Jaussaud P. (2001). Toxicokinetics of ergovaline in the horse after an intravenous administration. *Veterinary Research*, 32: 509–513.
- Buckley T., Creighton A., Fogarty U. (2007). Analysis of Canadian and Irish forage, oats and commercially available equine concentrate feed for pathogenic fungi and mycotoxins. *Irish Veterinary Journal*, 60: 231-236.
- Cortinovis C., Battini M., Caloni F. (2012). Deoxynivalenol and T-2 toxin in Raw Feeds for Horses. *Journal of Equine Science*, 32: 72-74.
- del Pilar Monge M., Magnoli A., Bergesio M., Tancredi N., Magnoli C., Chiacchiera S. (2016). Activated carbons as potentially useful non-nutritive additives to prevent the effect of fumonisin B1 on sodium bentonite activity against chronic aflatoxicosis. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 6:1043-1052.
- Driehuis F., Spanjer M. C., Scholten J. M., te Giffel M. C. (2008). Occurrence of Mycotoxins in Feedstuffs of Dairy Cows and Estimation of Total Dietary Intakes. *Journal of Dairy Science*, 91: 4261–4271.
- Driehuis F., Spanjer M.C., Scholten J.M., Te Giffel M.C. (2009). Occurrence of mycotoxins in maize, grass and wheat silage for dairy cattle in the Netherlands. *Food Additives & Contaminants: Part B*, 1: 41-50.
- Eurofins. *Våra analyspaket – grovfoder häst*.
http://grovfoder.eurofins.se/productcatalogues/grovfoder_hast/. [2017-04-03].
- Europakommissionens förordning (2011). Bryssel. (EU nr 574/2011).
- Filannino A., Stout T., Gadella B., Sostaric E., Pizzi F., Colenbrander B., Dell’Aquila M., Minervini F. (2011). Dose-response effects of estrogenic mycotoxins (zearalenone, alpha- and beta-zearalenol) on motility, hyperactivation and the acrosome reaction of stallion sperm. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 9:134-144.

- Fredlund E., Gidlund A., Sulyok M., Börjesson T., Krska R., Olsen M., Lindblad M. (2013). Deoxynivalenol and other selected *Fusarium* toxins in Swedish oats – occurrence and correlation to specific *Fusarium* species. *International Journal of Food Microbiology*, 167: 276-283.
- Johnstone, L. K., I. G. Mayhew & L. R. Fletcher (2012) Clinical expression of lolitrem B (perennial ryegrass) intoxication in horses. *Equine Veterinary Journal*, 44: 304-309.
- Khol-Parisini A., Hellweg P., Razzazi-Fazeli E., Saalmüller A., Strasser A., Tichy A., Zentek J. (2012) Highly deoxynivalenol contaminated oats and immune function in horses. *Archives of Animal Nutrition*, 2:149-161.
- Liesener K., Curtui V., Dietrich R., Märtlbauer M., Usleber E. (2010). Mycotoxins in horse feed. *Mycotoxin Research*, 26: 23-30.
- Langseth W., Rundberget T. (1999). The occurrence of HT-2 toxin and other trichothecenes in Norwegian cereals. *Mycopathologia*, 147: 157–165.
- Malekinejad H., Aghazadeh-Attari J., Rezaabakhsh A., Sattari M., Ghasemsoltani-Momtaz B. (2015). Neurotoxicity of mycotoxins produced in vitro by *Penicillium roqueforti* isolated from maize and grass silage. *Human and Experimental Toxicology*, 10:997-1005.
- Magnoli AP., Texeira M., Rosa CAR., Miazzo RD., Cavaglieri LR., Magnoli CE., Dalcero AM., Chiacchiera SM. (2011). Sodium bentonite and monensin under chronic aflatoxicosis in broiler chickens. *Poultry Science*, 90: 352–357.
- Monge, M. D., A. P. Magnoli, M. V. Bergesio, N. Tancredi, C. E. Magnoli & S. M. Chiacchiera (2016) Activated carbons as potentially useful non-nutritive additives to prevent the effect of fumonisin B-1 on sodium bentonite activity against chronic aflatoxicosis. *Food Additives and Contaminants Part a-Chemistry Analysis Control Exposure & Risk Assessment*, 33, 1043-1052.
- Quinn PJ., Markey BK., Leonard FC., FitzPatrick ES., Fanning S., Hartigan PJ. (2015). *Veterinary microbiology and microbial disease*. 2: a uppl. Chichester, West Sussex, UK: Wiley-Blackwell.
- Raymond SL., Heiskanen M., Smith YK., Reiman M., Laitinen S., Clarke AE. (2000). Veterinary review: An investigation of the concentrations of selected fusarium mycotoxins and the degree of mold contamination of field-dried hay. *Journal of Equine Veterinary Science*, 20: 616-621.
- Raymond, S. L., T. K. Smith & H. Swamy (2003) Effects of feeding a blend of grains naturally contaminated with *Fusarium* mycotoxins on feed intake, serum chemistry, and hematology of horses, and the efficacy of a polymeric glucomannan mycotoxin adsorbent. *Journal of Animal Science*, 81, 2123-2130.

- Rodrigues, I. & K. Naehrer (2012) Prevalence of mycotoxins in feedstuffs and feed surveyed worldwide in 2009 and 2010. *Phytopathologia Mediterranea*, 51, 175-192.
- Seguin, V., S. Lemauiel-Lavenant, D. Garon, V. Bouchart, Y. Gallard, B. Blanchet, S. Diquelou, E. Personeni, P. Gauduchon & A. Ourry (2010) Effect of agricultural and environmental factors on the hay characteristics involved in equine respiratory disease. *Agriculture Ecosystems & Environment*, 135, 206-215.
- Schenck, J., Müller, C and Spörndly, R. (2014). Mycotoxins in haylage. In: Udén, P (Red) *Proceedings of the 5th Nordic Feed Science Conference, Swedish University of Agricultural Sciences, Department of Animal Nutrition and Management*, Report 290, pp 47-50.
- Schulz, A.-K., S. Kersten, S. Daenicke, M. Coenen & I. Vervuert (2015) Effects of deoxynivalenol in naturally contaminated wheat on feed intake and health status of horses. *Mycotoxin Research*, 31, 209-216.
- Schumann B., J. Winkler, N. Mickenautsch, T. Warnken & S. Daenicke (2016) Effects of deoxynivalenol (DON), zearalenon (ZEN), and related metabolites on equine peripheral blood mononuclear cells (PBMC) *in vitro* and background occurrence of these toxins in horses. *Mycotoxin Research*, 32, 153-161.
- Stanković S., Lević J., Ivanović D., Krnjaja V., Stanković G., Tančić S. (2012). Fumonisin B1 and its co-occurrence with other fusariotoxins in naturally-contaminated wheat grain. *Food Control*, 23: 384–388.
- Statens jordbruksverks föreskrifter och allmänna råd om foder. (2011). Jönköping. (SJVFS 2011:40).
- Sabater-Vilar M., Malekinejad H., Selman MHJ., van der Doelen MAM., Fink-Gremmels J. (2007). *In vitro* assessment of adsorbents aiming to prevent deoxynivalenol and zearalenon mycotoxicoses. *Mycopathologia*, 163:81–90.
- Vendruscolo CP., Frias NC., de Carvalho CB., de Sá LRM., Belli CB., Baccarin RYA. (2016). Leukoencephalomalacia outbreak in horses due to consumption of contaminated hay. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 30:1879–1881.
- Vesonder R., Haliburton J., Stubblefield R., Gilmore W., Peterson S. (1991). *Aspergillus flavus* and Aflatoxin B1, B2 and M1 in corn associated with equine death. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 20:151-153.

Wang GH., Xue CY., Chen F., Ma YL., Zhang XB., Bi YZ., Cao YC. (2009). Effects of combinations of ochratoxin A and T-2 toxin on immune function of yellow-feathered broiler chickens. *Poultry Science*, 88:504–510.

Yuan G., Wang Y., Yuan X., Zhang T., Zhao J., Huang L., Peng S. (2014). T-2 toxin induces developmental toxicity and apoptosis in zebrafish embryos. *Journal of Environmental Sciences*, 26: 917–925.