



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för Husdjurens Utfodring och Vård

Förekomsten av aflatoxin B1 och ochratoxin A i kött och mjölk från livsmedelsproducerande djur samt dess påverkan på livsmedelssäkerheten

Maja Möller

Examensarbete, 15 hp

Agronomprogrammet – Husdjur, examensarbete för kandidatexamen

Institutionen för husdjurens utfodring och vård, **565**

Uppsala 2016

Förekomsten av aflatoxin B1 och ochratoxin A i kött och mjölk från livsmedelsproducerande djur samt dess påverkan på livsmedelssäkerheten

Prevalence of aflatoxin B1 and ochratoxin A in meat and milk from farm animals and their effect on food safety

Maja Möller

Handledare:	Thomas Pauly, SLU, Institutionen för husdjurens utfodring och vård
Bitr. Handledare:	Martin Knicky, SLU, Institutionen för husdjurens utfodring och vård
Examinator:	Kjell Holtenius, SLU, Institutionen för husdjurens utfodring och vård
Omfattning:	15 hp
Kurstitel:	Kandidatarbete i husdjursvetenskap
Kurskod:	EX0553
Program:	Agronomprogrammet - Husdjur
Nivå:	Grund, G2E
Utgivningsort:	Uppsala
Utgivningsår:	2016
Serienamn, delnr:	Examensarbete / Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för Husdjurens utfodring och vård, 565
Nyckelord:	mögelsvamp, ackumulering, mykotoxin, toxikos, aflatoxikos, OTA, AF, AFB1, livsmedelssäkerhet, fodersäkerhet, kontamination
Key words:	mould, transfer, mycotoxin, toxicosis, aflatoxicosis, OTA, AF, AFB1, food safety, feed safety, contamination

Sammanfattning

Mykotoxiner är sekundära metaboliter som produceras av mögelsvampar. De mykotoxiner som anses farliga för människor och djur samt har potential att övergå i animalier via metabolisering av foder, är AFB1 (aflatoxin B1) och OTA (ochratoxin A). Dessa produceras av mögelsvampar som livnär sig på lagrade spannmål. Toxinerna kan förorsaka akut leverskada, levercancer, påverka njurar och nerver samt kan verka fosterskadande, vilket gör toxinerna hotfulla mot livsmedelssäkerheten. EU och FDA (U.S. Food and Drug Administration) har regelverk samt rekommendationer som berör gränsvärden av mykotoxiner i foder till livsmedelsproducerande djur samt i mjölk. Dessa skiljer sig åt i både nivåer och omfattning.

EU och FDA har inga gränsvärden som avser tillåtna halter AFB1 eller OTA i köttprodukter dock har både EU och FDA regelverk gällande AFM1 (aflatoxin M1) -koncentration samt AFB1 i andra livsmedel. AF (aflatoxiner) utgör ett större problem än OTA globalt sett. Sydostasien och södra Asien har värden överstigande EU:s gränsvärden i majs och i färdigblandat foder.

EU:s gränsvärden för mjölk och foder till produktionsdjur har en god säkerhetsmarginal. Bristen på gränsvärden för kött vägs upp av kontrollerna på foder, vilka anses vara tillräckliga. FDA bör fastställa gränsvärden för fler foderslag för att öka livsmedelssäkerheten samt skilja på AFB1 och AF.

Abstract

Mycotoxins are secondary metabolites produced by moulds. The mycotoxins, considered dangerous for humans and animals besides having the potential to transfer to animal products by metabolism of feed, are AFB1 (aflatoxin B1) and OTA (Ochratoxin A). They are produced by moulds growing on stored grains. The toxins can cause acute liver damage, liver cancer, damage kidneys and nerves and can be teratogenic, posing a potential threat to food safety. EU and FDA (U.S. Food and Drug Administration) have regulations and recommendations regarding tolerance levels of mycotoxins in milk and in feed aimed for farm animals. These differ in levels and extent.

EU and FDA have no tolerance levels regarding AFB1 or OTA in meat products; however both EU and FDA have regulations regarding concentrations of AFM1 and AFB1 in other foodstuff. AF is a bigger problem than OTA globally. Southeast Asia and South Asia have values above the tolerance levels determined by EU in corn and in mixed feed.

EU has safe tolerance levels for milk and feed for farm animals. The lack of tolerance levels concerning AFB1 concentrations in meat, are covered by the feed controls which are considered sufficient. FDA should determine tolerance levels involving more feeds to enhance the food safety, as well as separate AFB1 from AF in their tolerance levels.

1 Introduktion

Mykotoxiner är mögelgifter som produceras av mögelsvampar under särskilda förhållanden. AF (aflatoxiner) produceras i varmare klimat och finns främst i importerade produkter i svenska matbutiker, alternativt i lagrade spannmål så som korn, majs, ris, durra och vete samt på oljeväxter (Bryden, 2012). Om AF-gruppen AFB1 (aflatoxin B1) ges till livsmedelsproducerande djur kan det efter metabolisering ackumuleras i mjölk som metaboliten AFM1 (aflatoxin M1). Vid förtäring kan toxinet orsaka akut leverskada och levercancer hos människor och djur. Även OTA (ochratoxin A) kan kontaminera spannmålen korn, havre, ris, råg och vete vid lagring (Bryden, 2012). Om OTA-kontaminerat foder ges till enkelmagade köttproducerande djur kan toxinet ackumuleras i njure, lever och blod. OTA är ett njur- och neurotoxin och kan verka fosterskadande, immunosuppressivt och carcinogent (Bryden, 2012). ZEN (zearalenone) och fumonisin B1 ackumuleras inte i betydande mängd i animalier, men kan verka östrogen respektive lever- och njurtoxiskt hos djuren (Livsmedelsverket, 2007).

Syftet med denna litteraturstudie är att undersöka AFB1 och OTA:s ackumulering i animalier hos idisslare och enkelmagade djur, samt att se skillnaden mellan djurslagen. Målet är även att undersöka de gränsvärden som EU och FDA har formulerat, samt risken för insjuknad av mykotoxinkontaminerade animalieprodukter.

2 Litteratursammanställning

2.1 Mykotoxiner

2.1.1 Mykotoxinproduktion

Mykotoxiner är sekundära metaboliter som produceras av filamentösa (trådformiga) mögelsvampar. Toxinerna finns i mögelsvampens mycelium eller i sporer och är svåra och dyra att analysera, vilket gör att många inte är identifierade än. De flesta toxiner är stabila och påverkas därmed inte av värmebehandling. Därför är det väsentligt att kontrollera mögeltillväxt samt mykotoxinbildning vid odling och lagring av foder. De mykotoxiner som anses farliga för människor och djur produceras av saprofytiska mögelsvampar som livnär sig på förmultnande växter eller lagrade spannmål; dessa är AF, OTA, ZEN, trichothecener, fumonisiner, citrinin och CPA (cyclopiazonic acid). DON (deoxynivalenol), nivalenol, T-2 och HT-2 toxin och diacetoxyscirpenol tillhör trichothecener och nämns ofta i dessa sammanhang (Bryden, 2012).

De flesta mögelsvampar har förmågan att producera flera olika toxiner, men då de inte producerar mykotoxiner under alla förhållanden är det svårt att förutsäga hur stor mängd samt exakt vilka toxiner som kommer produceras. Trots detta är det samma faktorer som påverkar såväl tillväxten av mögelsvampar som mykotoxinbildningen bland annat yttre komponenter så som grödans vattenaktivitet, temperatur, syretillgång och näringssammansättning (Livsmedelsverket, 2007), vilka fungicider som används och huruvida grödan utsätts för stress och insektsangrepp (Bryden, 2012). Många insekter som angriper växter bär med sig mögelsporer som på så vis transporteras direkt in i växtceller där de i regel finner bra

förhållanden för tillväxt. AF produceras under särskilda omständigheter, och i tabell 1 visar Pitt och Hocking (1997) vilka förhållanden som krävs för AF-produktion.

Tabell 1: Faktorer som påverkar mögeltillväxt samt bildning av aflatoxin (Pitt & Hocking, 1997)

	Tillväxt	Bildning av aflatoxin
Max-temperatur (°C)	43-48	37
Minitemperatur (°C)	10-12	13
Optimal temperatur (°C)	33	16-31
Vattenaktivitet, minimum	0,78- 0,84	0,82

Ljus har en kraftig effekt, röda (627 nm) och blå (455-470 nm) våglängder minskar kraftigt OTA-produktionen hos *Penicillium* spp. Blått ljus med en våglängd på 455 nm och en hög intensitet på 1700 Lux kan inhibera mögeltillväxt och OTA-produktion (Fanelli *et al.*, 2015).

2.1.2 Aflatoxin

På 1960-talet drabbades engelska kalkonbesättningar av ett stort sjukdomsutbrott, även känt som "The Turkey X Disease". Runt 100 000 kalkoner som utfodrats jordnötsmjöl, som senare visats vara kontaminerat med AF och CPA, drabbades (Bradburn *et al.* 1994). Kombinationen av dessa mykotoxiner tros ha orsakat det kraftiga insjuknandet (Bradburn *et al.*, 1994). Symptom så som fodervägran, försämrad tillväxt, högre tendens till fjäderplockning och leverskador konstaterades vara ännu större i en studie utförd av Asplin och Carnaghan (1962), där AF-kontaminerat jordnötsmjöl gavs till unga ankor och kycklingar. Studier har visat att AFB1 förts över i muskelmage, lever och njurar hos slaktkycklingar som utfodrats med AF-kontaminerat foder (Chen *et al.*, 1984) och därför utgör AF-kontaminerat foder ett hot mot livsmedelssäkerheten.

Aflatoxin delas in i fyra olika grupper; B1, B2, G1 och G2 utefter struktur. Mögelsvamparna *A. parasiticus* och *A. nomius* kan producera samtliga AF-grupper, medan *A. flavus* endast producerar B1 och B2 (D'Mello & Macdonald, 1997). Den mest toxiska AF-gruppen är AFB1 som är klassad i grupp 1 av IARC (International Agency for Research of Cancer), vilket innebär att toxinet är carcinogent för människor (IARC, 2003). AFB1 anses även vara hepatotoxiskt (ger leverskador) och kan i synergi med hepatit B orsaka levercancer (Raad *et al.*, 2014). LD₅₀¹ av AFB1 för grisar är 0,62 mg/kg BW² och för apor är LD₅₀: 2,2 mg/ kg BW. LD₅₀ beräknas vara ungefär samma för människor som för apor (Cayman Chemical Ltd, 2013). En dos på 0,055 mg/ kg BW beräknas vara extremt toxisk vid långvarig exponering av AFB1 efter ett utbrott 1974 i Indien som drabbade 150 byar i två närliggande distrikt. Det andra stora välkända utbrottet av aflatoxikos hos människor drabbade Kenya, där en toxisk dos på 0,038 mg/ kg BW resulterade i 20 sjukhusbesök och en dödlighet på 60 % (FDA, 2014). AFB1 är därmed den grupp som studeras mest gällande överföring i animalier. FDA har ett rekommenderat gränsvärde för AF på 0,02 ppm för livsmedel (CPG Sec. 555.400 Foods).

¹ LD₅₀ = dosen där 50 % av individerna dör, per kg kroppsvikt (BW)

² kroppsvikt

2.1.3 Ochratoxin A

På 1950-talet utbröt en epidemi känd som BEN (Balkan Endemic Nephropathy). Befolkningen i tre balkanländer drabbades av en obotlig njursjukdom som orsakades av OTA-kontaminerade livsmedel. Substansen upptäcktes vara både njurtoxisk och carcinogen, då det orsakade nedbrytning av njurarna samtidigt som det främjade bildandet av tumörer i njurbäcken och urinröret. Detta resulterade i symptom så som anemi, nedbrytning av njurtubuli, enzymuria (enzymer i urinen) och viktnedgång (Pfohl-Leszkowicz *et al.*, 2002). Eftersom OTA binder till albumin kan toxinet ackumuleras i köttprodukter och bli en riskfaktor i hela livsmedelskedjan. OTA degraderas i våmmen hos idisslare, men kan i vissa fall ackumuleras i väldigt låga halter i mjölken (Flores-Flores *et al.*, 2015) och även ackumuleras i vävnader hos enkelmagade djur (Gareis & Scheuer, 2000).

Ochratoxin förekommer i fyra olika former i naturen; A, B, C och som alfa. Av dessa är OTA den mest potenta och toxiska formen (Duarte *et al.*, 2011) som produceras av *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium viridicatum* och *P. cyclopium*, vars tillväxt gynnas av fuktiga och varma förhållanden (Richard, 2007). LD₅₀ för råttor som ges dosen oralt är 20 mg/ kg BW (Cayman Chemical Ltd, 2013). År 1991 utvärderade JECFA (The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) riskerna med OTA och utgick från LOAEL (lowest-observed-adverse-effect-level) hos gris med ett gränsvärde på 0,000112 mg/ kg BW och vecka. För människor avrundades detta värde till 0,0001 mg/ kg och vecka (WHO, 1995).

2.1.4 Andra mykotoxiner som övergår i animalier

CPA kan ackumuleras i mjölk, i kycklingkött, i ägg samt påverka äggskallets kvalitet om kontaminerat foder ges till livsmedelsproducerande djur (Dorner *et al.*, 1994; Norred *et al.*, 1988). Toxinet produceras av *Penicilium spp.* och *Aspergillus spp.* Det har ännu inte bevisats att CPA orsakar toxikos; men eftersom det produceras tillsammans med AF tros det ha en samverkande effekt (Oswald & Taranu, 2008).

Citrinin produceras av vissa *Penicillium*, *Aspergillus spp.* och *Monascus spp.*, som tillhör lagringsflora och finns på spannmål. EFSA (European Food Safety Authority) utreder fortfarande riskerna med citrinin i livsmedel. Toxinet verkar neurotoxiskt, men fler studier krävs för att kunna fastsätta gränsvärden i livsmedel samt i foder till livsmedelsproducerande djur (EFSA Journal 2012: 10(3):2605).

På grund av avsaknad av litteratur är CPA och citrinin inte inkluderade ytterligare i denna litteraturstudie. Även fumonisin B1 och ZEN har hittats i mjölkprover, men anses vara i tillräckligt låga halter för att inte utgöra risk för insjuknad (Flores-Flores *et al.*, 2015).

2.2 Regelverk

Det finns inga lagstadgade gränsvärden för specifika mögelsvampar. Däremot finns det en gemensam lagstiftning inom EU där EU-kommissionen framställt direktiv som berör mykotoxiner i foder. Sveriges lagstiftning berörande mykotoxiner baseras främst på dessa lagar, men det finns även rekommendationer på global nivå från Codex Alimentarius där gränsvärdet för mjölk är 0,0005 ppm AFM1 (Codex Standard 193-1995). I EU är det lagstiftade gränsvärdet för maximal mängd AFM1 i mjölk 0,00005 ppm (Regulation (EC) No 1881/2006). Detta gränsvärde är alltså 10 gånger lägre än Codex Standard och FDA. Därför

finns det endast lagstadgade direktiv på AFM1 i mjölk och AFB1 i foder (tabell 2). I EFSA Journal (2012) skrivs att mykotoxinerna deoxynivalenol (DON), ZEN och fumonisin B1 och B2 endast ackumuleras i väldigt små mängder i animalier och därmed inte anses vara riskfaktorer. OTA kan ackumuleras i animalier, men animaliska livsmedel anses vara en marginell orsak till insjuknad av människor. EU-kommissionen har fastställt rekommendationer gällande maximal mängd OTA i foder till produktionsdjur (tabell 3), men ännu finns ingen förordning gällande detta.

*Tabell 2: EU- direktiv gällande maximal mängd AFB1 i foder (Förordning (EU) nr 574/2011). Tabellen avser inte sällskapsdjur eftersom de högsta tillåtna koncentrationerna för lantbruksdjur är lägre än för sällskapsdjur. *Avser inte: Foderblandningar för mjölkkor och kalvar, mjölkfår och lamm, mjölkgetter och killingar, smågrisar och kycklingar, samt foderblandningar för nötkreatur, får, getter, svin och fjäderfä.*

Foder till produktionsdjur	AFB1 (ppm) beräknat på foder med vattenhalt på 12 %
Allt fodermaterial	0,02
Tillskottsfoder- och helfoder *	0,01
Foderblandningar för mjölkkor och kalvar, mjölkfår och lamm, mjölkgetter och killingar, smågrisar och kycklingar	0,005
Foderblandningar för nötkreatur, får, getter, svin och fjäderfä	0,02

Tabell 3: EU-kommissionens rekommendation gällande restriktioner för maximal mängd OTA i foder (Commission Recommendation, 2006/576/EC).

Foder till produktionsdjur	OTA (ppm) beräknat på foder med vattenhalt på 12 %
Spannmål och spannmålsprodukter	0,25
Tillskotts- och helfoder för svin	0,05
Tillskotts- och helfoder för fjäderfä	0,01

I USA har FDA formulerat samma gränsvärde på AFM1 i mjölk som Codex Standard på 0,0005 ppm AFM1 (CPG Sec. 527.400), samt satt gränsvärden gällande AF-halten i foder till livsmedelsproducerande djur, som listas i tabell 4 (CPG Sec. 683.100). Ännu har inga gränsvärden eller rekommendationer satts för OTA för foder eller livsmedel.

Tabell 4: FDA:s gränsvärden för AFB1 i foder ämnat åt livsmedelsproducerande djur i USA (CPG Sec. 683.100).

Foder	Gränsvärde AF (ppm)
Majs- och jordnötsbaserade produkter som slutgiva (feedlot) för nötdjur	0,3
Bomullsfrökaka till nötdjur, svin eller fjäderfä (oavsett ålder)	0,3
Majs- och jordnötsbaserade produkter till slaktsvin över 45 kg	0,2
Majs- och jordnötsbaserade produkter, samt andra fodermedel (inte bomullsfrökaka) för	0,02

ungdjur

Majs- och jordnötsbaserade produkter, 0,02
bomullsfrökaka samt andra fodermedel till
mjölkkor samt djur som inte listats ovan

2.3 Mykotoxinförekomst

2.3.1 Foder

För att undersöka och få en överblick över mykotoxinförekomst i foder världen över gjordes en omfattande studie av Rodrigues och Naehrer (2012) med foderprover från Nordamerika, Sydamerika, Asien, Oceanien och Europa. Under en treårsperiod samlades 7049 prover in på majs, sojaböna och sojamjöl, vete, drav och färdigblandat foder. Det fanns spår av AF (B1, B2, G1 och G2) i 33 % av proverna; och av OTA i 28 % av proverna (Rodrigues & Naehrer, 2012). Tabell 5 visar en sammanställning över medeltalet för halten AF och OTA angett i (ppm) vid foderprovtagning i respektive geografiskt område från Rodrigues och Naehrer (2012) studie, för att visa var problemen är som störst.

Tabell 5: En sammanställning över medeltalet för halten aflatoxin och OTA (ppm) vid foderprovtagning i respektive geografiskt område (Rodrigues & Naehrer, 2012).

	AF (majs)	OTA (majs)	AF (soja)	OTA (soja)	AF (vete)	OTA (vete)	AF (drav)	OTA (drav)	AF (hel)	OTA (hel)
Nordamerika	0,017	0,001	0	0,001	0,001	0	0,002	0,001	0,007	-
Sydamerika	0,002	0,016	0	0	0	0,013	-	-	0,002	0,003
Central	0,001	0	0	0,007	0	0,016	-	-	0	0,002
Europa										
Södra	0,003	0,004	0	0	0,001	0	-	-	0,003	0,001
Europa										
Norra Asien	0,013	0	0,003	0,004	0	0	0,011	0,003	0,005	0,001
Sydostasien	0,104	0,001	0	0,001	-	-	-	0,001	0,023	0,001
Södra Asien	0,197	0,008	0,001	0,001	0	0,002	-	-	0,091	0,021
Oceanien	0,001	0	0,001	0,001	0	0	-	0,001	0	0,002

Vid jämförelse av EU-kommissionens direktiv och rekommendationer gällande halter AFB1 och OTA i foder (tabell 2 och 3) där den maximala halten för AFB1 i allt fodermaterial ska vara 0,02 ppm samt maximalt 0,25 ppm för OTA i spannmål- och spannmålsprodukter; kan konstateras att AF utgör ett större problem än OTA globalt sett. Sydostasien och södra Asien har genomsnittsvärden överstigande EU:s gränsvärden i majs och i det färdigblandade fodret. Observera att studien avser AF-grupperna (B1, B2, G1 och G2), EU-kommissionens direktiv och rekommendationer syftar endast på AFB1. FDA har gränsvärden som påverkar Nordamerikas AF-nivåer i foder. Dessa gränsvärden är betydligt högre än EU:s rekommendationer (tabell 2 och 4), vilket gör att nivåerna inte överstiger de rekommendationer som avser denna geografiska plats. FDA:s gränsvärden för AF i foder berör endast majsfoder i försöket sammanställt i tabell 5. Den genomsnittliga halten 0,017 ppm kan jämföras med FDA:s gränsvärden 0,3; 0,2 och 0,02 ppm AF i majsfoder.

2.3.2 Ochratoxin A i animalier

I en tysk studie av Gareis och Scheuer (2000) analyserades 620 prover från nöt, fläsk, kyckling, inälvor och färdiga köttprodukter. Proverna kom från industrier och slaktare från hela Tyskland, där positiva prov förekom i njurar, lever och muskelkött hos gris. Njurarna innehöll även den högsta halten OTA 0,0093 ppm, levern innehöll näst mest OTA 0,0027 ppm. Fläskköttet innehöll betydligt lägre halter OTA 0,00014 ppm. Endast ett av 58 prover var positivt för nötkött 0,00003 ppm. OTA bryts ned i våmmen hos idisslare, vilket tyder på att detta prov blivit kontaminerat vid slakt eller provtagning. Inget positivt prov hittades för kyckling.

År 1978 införde Danmark ett kontrollsystem för OTA-kontaminerade slaktkroppar för gris. På slakterierna undersöks njurarna efter indikationer på njursjukdom och om skador upptäcks tas prover för OTA-kontamination. Om njurarna innehåller mer än 0,025 ppm OTA kasseras hela slaktkroppen (Jørgensen & Petersen, 2002). Gränsvärdena bygger på äldre studier som kommit fram till att 40 % av OTA-halten i njurarna övergår i köttet och därför är gränsvärdet för OTA i kött satt till 0,01 ppm (Büchmann and Hald, 1985). I en studie gjord för att undersöka frekvensen av OTA-kontaminerat kött, togs 300 slumpmässigt utvalda prover på danska slaktsvin. Köttets medelvärde uppmättes till 0,00012 och maxvärde 0,0029 ppm OTA i vävnaden (Jørgensen & Petersen, 2002).

2.4 Mykotoxinernas ackumulering i animalier

2.4.1 Aflatoxin

År 1963 konstaterade Allcroft och Carnaghan att kor som ges AF-kontaminerat foder producerar en hepatotoxisk metabolit i mjölk. Några år senare förklarades fenomenet mer specifikt med att vid biotransformering av AFB1 i levern och i tunntarmen bildas reaktiva produkter. AFB1 genomgår en mikrosomal oxidation av cytochrome P450 och bildar produkten 8,9-exo-epoxide. Denna reaktiva produkt har hepatocarcinogena effekter och potential att binda till värdorganismens DNA. Människor har endast en låg halt av enzymet alfa-glutation S-transferas (GST) som kan detoxifiera 8,9-exo-epoxide, och detta gör oss väldigt känsliga för AFB1. Enzymet finns i höga halter hos möss, vilket tyder på en skillnad i tolerans mot AFB1 mellan arter. Den mikrosomala oxidationen leder även till produktion av metaboliterna AFM1, AFQ1 och AFP1. Dessa metaboliter har inte samma carcinogena effekt som 8,9-exo-epoxide (Eaton & Gallagher, 1994; Johnson *et al.*, 1997). AFM1 har 10 % av AFB1s mutageniska förmåga (Wogan *et al.*, 1974); men kan utsöndras i mjölk och urin (Richard, 2007). Polan *et al.* (1974) konstaterade att om fodret innehåller minst 0,046 ppm AFB1 kommer dess metabolit AFM1 att ackumuleras i mjölken hos kor. I tabell 6 sammanfattas studier som undersökt AFM1:s ackumulering i mjölk hos kor (Polan *et al.* 1974); och hos får, samt vidare ackumulering i ostmassa och vassle från fårmjölk (Battacone *et al.*, 2005).

Tabell 6: En sammanställning av AFM1:s ackumulering i mjölk, ostmassa och vassle från idisslare.

AFB1 foder	i	AFM1 mjölk (ppm)	i	AFM1 ostmassa (ppm)	i	AFM1 vassle (ppm)	i	Referens
---------------	---	------------------------	---	---------------------------	---	-------------------------	---	----------

Kor	0,01 ppm	0	-	-	Polan <i>et al.</i> 1974
	0,05 ppm	0,00001	-	-	
	0,25 ppm	0,00026	-	-	
	1,25 ppm	0,00082	-	-	
Får	32 µg/dag	0,0001844	0,0003693	0,0001121	Battacone <i>et al.</i> , 2005
	64 µg/dag	0,0003247	0,0005452	0,0001855	
	128 µg/dag	0,0005969	0,0010283	0,0003657	

I tabell 7 sammanställs data från studier som undersökt AFB1:s ackumulering i vävnader från foder till stutar (Helferich, 1986), får (Fernández *et al.*, 1997), slaktkycklingar (Chen *et al.*, 1984; Fernández *et al.*, 1994; Hussain *et al.*, 2010) och smågrisar (Fu *et al.*, 2013).

Tabell 7: En sammanställning av AFB1:s ackumulering i vävnader hos idisslare och enkelmagade djur.

	AFB1 i foder (ppm)	AFB1 i njurar (ppm)	AFB1 i lever (ppm)	AFB1 i muskelkött (ppm)	AFM1 i lever (ppm)	AFM1 i njurarna (ppm)	Referens
Stutar	0,06	-	0,0001	0	0	-	Helferich 1986
	0,3	-	0,00038	0	0,00052	-	
Får	2-5	0,00129	0,00194	-	0,00035	0,00545	Fernández <i>et al.</i> , 1997
	2,057	-	0,00017	0,00004 (bröst)	-	-	
Slaktkycklingar				0,00009 (lår)			Chen <i>et al.</i> , 1984
Slaktkycklingar	5	0,00029	0,00023	0,00012	-	-	Fernández <i>et al.</i> , 1994
Slaktkycklingar	1,6		0,00351	-	-	-	Hussain <i>et al.</i> , 2010
	3,2		0,00374	-	-	-	
	6,4		0,00697	-	-	-	
Smågrisar	0,3728	0,253	0,302	-	-	-	Fu <i>et al.</i> , 2013

2.4.2 Ochratoxin A

OTA verkar njurtoxiskt på enkelmagade djur. Det absorberas i joniserad form (OTA⁻) från magen och tunntarmen. Det binder även lätt till plasmaproteiner i blod och kan på så sätt finnas kvar i blodet under en längre period (Pfohl-Leszkowicz & Manderville, 2007). Toxinet kan metaboliseras i njurarna, levern och i tarmarna genom hydrolysering, hydroxylering, lactone-opening och konjugering. Vid klyvning av OTA:s peptidbindning bildas ett tjugotal derivater. OT-alfa produceras i störst volym hos djur och människor, men är inte toxisk. Den mest toxiska metaboliten anses vara derivatet OP-OTA som metaboliseras genom lactone-opening. Hos grisar produceras lactone-opened produkten 4(S)-OH-OTA i störst mängd efter metabolisering av OTA (Wu *et al.*, 2011). OTA-nivåerna kan ackumuleras i kroppsvävnader och kroppsvätskor hos djur och människor, eftersom toxinet lämnar kroppen långsamt

(Richard, 2007). Hos enkelmagade däggdjur är halveringstiden 24-39 timmar för möss, 55-120 timmar för råttor, 72-120 timmar för grisar och 456-504 timmar för silkesapor (Stander *et al.*, 2001). Curtui *et al.*, 2001 beräknade att förhållandet av OTA mellan vävnader hos slaktsvin beräknades vara: serum 100 % > njure 22,6 % > lever 8,5 % > muskel 2,57 %. På grund av svårigheter att hitta lämpliga studier som berör OTA:s ackumulering hos enkelmagade djur är detta inte inkluderat.

På grund av nedbrytningen av OTA i vämnen är ackumuleringen i mjölk väldigt låg, men är fortfarande mätbar om känsliga analysmetoder används (González-Osnaya *et al.*, 2008). Ribelin *et al* (1977) gav en singeldos 13,3 mg/ kg BW till en lakterande ko, för att 24 timmar senare kontrollera mjölken. Mjölken som mjölkades vid detta tillfälle innehöll totalt 650 mg OTA och 450 mg OT-alfa. Kon var svårt sjuk och återhämtade sig först efter fyra dagar, men mjölkproduktionen översteg inte en tredjedel av normalt under resten av laktationen.

Mortensen *et al.* (1983) undersökte OTA:s påverkan på suggors och smågrisars prestation; samt potentiell ackumulering i mjölk, blod och lever. Suggorna gavs 1,914 och 3,718 ppm OTA i foder under dräktigheten och 3,707 och 7,484 ppm OTA i foder under laktationen. Suggorna och smågrisarnas prestation påverkades inte av OTA-kontaminationen. Det blev ingen signifikant skillnad mellan behandlingarna i form av antal kullar, antal födda/ dödfödda, antal avvanda, födelsevikt eller på daglig viktökning inga OTA-rester hittades i mjölken och ingen överföring skedde via placentan (Mortensen *et al.* 1983).

3 Diskussion

EU och FDA har inga gränsvärden som avser tillåtna halter AFB1 eller OTA i köttprodukter, och det kan därför anses irrelevant att jämföra LD₅₀ med de övergående halterna av toxinerna i produkten.

FDA har ett rekommenderat gränsvärde för AF på 0,02 ppm för livsmedel (CPG Sec. 555.400 Foods). Dock torde det vara mer relevant att fokusera på halter i muskelkött än inälvsmat eftersom svenskars konsumtion av muskelkött är störst. Chen *et al.* (1984) gav slaktkycklingar 2,057 ppm AFB1 och då blev halterna 0,00004 ppm och 0,00009 i bröst- respektiv lår-muskeln (tabell 7). Detta är betydligt lägre än FDA:s rekommenderade gränsvärde. Fodergivorna överstiger EU:s rekommendation på 0,02 ppm AFB1. Följaktligen är risken minimal att AF-kontaminerat foder, med värden under EU:s gränsvärden, ackumuleras i animalier i en sådan halt som kan orsaka sjukdom hos människa. FDA har endast en rekommendation som berör bomullsfrökaka till fjäderfä. Detta gränsvärde ligger på 0,3 ppm AF vilket även detta är betydligt lägre än de doser som getts till fjäderfä, vilket indikerar att nivån kan anses säker. Dock borde deras lagstiftning involvera fler fodermedel, med tanke på deras höga halt AF i foderblandningar (tabell 5), där den genomsnittliga halten AF är 0,007 ppm jämfört med EU:s lagstiftning där foderblandningar för mjölkkor och kalvar, mjölkfår och lamm, mjölkgetter och killingar, smågrisar och kycklingar ska understiga 0,005 ppm AFB1 (tabell 2). Fu *et al.* (2013) gav smågrisar doser motsvarande 0,3728 ppm AFB1 vilket resulterade i halter om 0,302 ppm AFB1 i lever. Denna halt överskrider FDA:s gränsvärde på 0,02 ppm AFB1 i livsmedel. FDA:s regelverk gällande majs- och

jordnötsprodukter som foder medel är 0,2 ppm AF och i EU är gränsvärdet på 0,05 ppm. AFB1-halten i fodret ligger alltså i försöket över de tillåtna gränserna, vilket tyder på lämpliga rekommendationsnivåer från myndigheterna. En risk är att FDA:s gränsvärden inte avser alla foderslag.

Polan *et al.* (1974) konstaterade att om fodret innehåller minst 0,046 ppm AFB1 kommer dess metabolit AFM1 ackumuleras i mjölken hos kor. FDA och Codex Alimentarius tillåter maximalt 0,02 ppm AF i kontaminerat foder till mjölkkor (tabell 4). EU har en större säkerhetsmarginal och har satt sin gräns för mjölkkor till 0,005 ppm AFB1 (tabell 2). Battacone *et al.* (2005) undersökte AFB1 dosen som krävs för betydelsefull ackumulering av AFM1 i mjölk hos får (tabell 6). Tackorna gavs doserna 32 och 64 µg/dag, vilket resulterade i koncentrationerna 0,00018 respektive 0,00032 ppm AFM1 i mjölken. Samtliga mjölkprover översteg EU-kommissionens gränsvärde i mjölk på 0,00005 ppm medan de tillåtits av FDA där gränsvärdet är 0,0005 ppm AFM1. Ostmassan innehöll en AFM1-koncentration på 0,00036 och 0,00054 ppm och vasslen innehöll 0,0001121 och 0,0001855 ppm AFM1. Om lagstiftningen även hade berört mejeriprodukter hade dessa produkter varit godkända i USA av FDA, men inte i EU.

Stutar som medverkade i Helferichs försök år 1986 gavs en, enligt EU:s lagstiftning, otillåten halt AFB1 i fodret, som för nötkreatur är satt till 0,02 ppm (tabell 3). FDA:s gränsvärde för fodergiva till nötdjur får uppnå 0,3 ppm AF för majs- och jordnötsbaserade produkter. Nötkreatur som gavs denna av FDA godkända dos hade 0,00038 ppm AFB1 i levern. Baserat på AF-utbrottet i Kenya, som orsakade många fall av aflatoxikos, kan halten 38 µg/kg BW AFB1 antas verka akut toxiskt för en människa. En människa på 70 kg skulle behöva äta 7 000 000 kg lever för att bli allvarligt sjuk. Fernández *et al.* (1997) gjorde ett liknande försök där doser om 2-5 ppm AF gavs till lamm. Ackumulering skedde endast i lever och njurar, i liknande låga koncentrationer som Helferich (1986) konstaterat. Därmed kan anses att risken för insjuknad av AF-kontaminerade animalier från idisslare är väldigt låg.

Det finns ingen lagstiftning eller rekommendation från FDA eller EU som berör OTA i animalier. Därför används i denna diskussion gränsvärdet för fläskkött i Danmark, som är 0,01 ppm (Büchmann & Hald, 1985). I en studie genomförd av Jørgensen och Petersen (2002) undersöktes frekvensen av OTA-kontamination i danskt griskött. Köttets innehöll i genomsnitt 0,00012 ppm OTA och det högsta värdet som uppmättes var 0,0029 ppm OTA i vävnaden, vilket inte överstiger det danska gränsvärdet. Gareis och Scheuer (2000) undersökte detta problem i Tyskland och fann att grisarnas lever innehöll 0,0027 ppm OTA. Fläskköttet innehöll betydligt lägre halter OTA 0,00014 ppm. Samtliga prover var också under det danska gränsvärdet.

OTA bryts ned i våmmen hos idisslare, vilket gör att en väldigt stor dos krävs för att ackumulering i mjölk faktiskt ska ske. Ribelin *et al.* (1977) gav en ko en singeldos 13,3 mg OTA/kg BW som gjorde kon väldigt sjuk. Enligt Cayman Chemical Ltd är LD₅₀ för råttor som ges dosen oralt 20 mg/kg BW, vilket tyder på att det inte är rimligt att anta att OTA-kontaminerade animalier utgör någon risk eftersom det krävs så pass höga doser att djuren insjuknar innan ackumulering i animalier skett. Gällande överföring av OTA i mjölk hos

grisar är detta inte heller någon risk då Mortensen *et al.* (1983) kom fram till att ingen överföring sker varken till mjölken eller via placentan till smågrisar. Det hade varit intressant att göra en liknande studie idag för att se om nyare och säkrare mätmetoder kan visa ett annat resultat.

4 Slutsats

AFB1 är ett hot mot mjölkproduktionen på grund av ackumuleringen i mjölk, vilket gör att restriktionerna behöver vara mer strikta för foder till idisslare. EU:s gränsvärden för mjölk och foder till produktionsdjur har en god säkerhetsmarginal. Bristen på gränsvärden i kött vägs upp av kontrollerna på foder, vilka anses vara tillräckliga. FDA bör fastställa gränsvärden för fler foderslag för att öka livsmedelssäkerheten samt skilja på AFB1 och AF i sina gränsvärden, eftersom AFB1 är mer toxiskt än de andra grupperna.

OTA är ett större hot mot grisproduktionen, då störst andel derivat som produceras vid metabolisering är toxisk. EU:s rekommendationer gällande OTA i fodermedel tillräckliga, men kontroller liknande Danmarks initiativ inom grisproduktionen bör inrättas i samtliga länder för ökad livsmedelssäkerhet, gäller även FDA. OTA är inget hot för dem som konsumerar livsmedel från idisslare. Vidare forskning på konsekvenser av långtidsexponering av AFB1 och OTA i animalier skulle vara intressant.

5 Referenser

- Alexander, J., Benford, D., Boobis, A., Eskola, M., Fink-Gremmels, J., Fürst, P., Heppner, C., Schlatter, J. & Leeuwen, R. (2012). Risk assessment of contaminants in food and feed. *EFSA Journal* 2012, vol. 10, no. 10, p. 1004
- Alexander, J., Benford, D., Boobis, A., Ceccatelli, S., Cottrill, B., Cravedi, J., Di Domenico, A., Doerge, D., Dogliotti, E., Edler, L., Farmer, P., Filipič, M., Fink-Gremmels, J., Fürst, P., Guérin, T., Katrine Knutsen, H., Machala, M., Mutti, A., Rose, M., Schlatter, J. & van Leeuwen, R. (2012). Scientific Opinion on the risks for public and animal health related to the presence of citrinin in food and feed. *EFSA Journal* 2012; 10(3):2605 [82 pp.].
- Asplin, F.D. & Carnaghan, R. B. A. (1961). The toxicity of certain groundnut meals for poultry with special reference to their effect on ducklings and chickens. *Veterinary Record*, vol 73, p 1215-1219.
- Battacone, G., Nudda, A., Palomba, M., Pascale, M., Nicolussi, P. & Pulina, G. (2005). Transfer of Aflatoxin B1 from Feed to Milk and from Milk to Curd and Whey in Dairy Sheep Fed Artificially Contaminated Concentrates. *J. Dairy Sci.*, vol. 88, ss. 3063–3069.
- Bradburn, N., Coker, R.D. & Blunden, G. (1994). The aetiology of turkey “x” disease. *Phytochemistry*, vol. 35, ss. 817.
- Bryden, W.L. (2012). Mycotoxin contamination of the feed supply chain: Implications for animal productivity and feed security. *Anim. Feed Sci. Technol.*, vol. 173, ss. 134–158.
- Büchmann, N.B. & Hald, B. (1985). Analysis, occurrence and control of Ochratoxin A residues in Danish pig kidneys. *Food Addit. Contam.*, vol. 2, ss. 193–199.
- Cayman Chemical Company. (2013). *Safety Data Sheet AFB1*. Tillgänglig: <https://www.caymanchem.com/msdss/11293m.pdf> [Hämtad: 2016-04-01]

- Cayman Chemical Company. (2013). *Safety Data Sheet Ochratoxin A*. Tillgänglig: <https://www.caymanchem.com/msdss/11439m.pdf> [Hämtad: 2016-04-01]
- Chen, C., Pearson, A.M., Coleman, T.H., Gray, J.I., Pestka, J.J. & Aust, S.D. (1984). Tissue deposition and clearance of aflatoxins from broiler chickens fed a contaminated diet. *Food Chem. Toxicol.*, vol. 22, ss. 447–451.
- Commission Recommendation of 17 August 2006 on: *The presence of deoxynivalenol, zearalenone, ochratoxin A, T-2 and HT-2 and fumonisins in products intended for animal feeding*. Official Journal of the European Union (2006/576/EC)
- Commission Regulation (EC). *Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs*. No 1881/2006 of 19 December 2006. OJ L 364, 20.12.2006, p. 5
- Creppy, E.E. (2002). Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. *Toxicol. Lett.*, vol. 127, ss. 19–28.
- D’Mello, J.P.F. & Macdonald, A.M.C. (1997). Mycotoxins. *Anim. Feed Sci. Technol.*, vol. 69, ss. 155–166.
- Dorner, J.W., Cole, R.J., Erlington, D.J., Suksupath, S., McDowell, G.H., Bryden, W.L., (1994). Cyclopiazonic Acid Residues in Milk and Eggs. *J. Agric. Food Chem.*, vol. 42, ss. 1516–1518.
- Duarte, S.C., Lino, C.M., Pena, A. (2011). Ochratoxin A in feed of food-producing animals: An undesirable mycotoxin with health and performance effects. *Vet. Microbiol.*, vol. 154, ss. 1–13.
- Eaton, D.L., Gallagher, E.P., (1994). Mechanisms of aflatoxin carcinogenesis. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, vol. 34, ss. 135–172.
- Egmond, H.P. & Jonker, M.A. FAO, (2003). *Worldwide regulations for mycotoxins in food and feed in 2003*. Tillgänglig: <http://www.fao.org/3/a-y5499e.pdf> [Hämtad: 2016-03-17]
- EU. Official Journal of the European Union. Commission Regulation (EU) No 574/2011. Tillgänglig: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:159:0007:0024:EN:PDF> [Hämtad: 2016-04-01]
- FAO. (1995). *Codex general standard for contaminants and toxins in food and feed*. Codex Standard 193-1995. Tillgänglig: http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/agns/pdf/CXS_193e.pdf [Hämtad: 2016-03-14]
- Fanelli, F., Geisen, R., Schmidt-Heydt, M., Logrieco, A.F., Mulè, G., (2015). Light regulation of mycotoxin biosynthesis: new perspectives for food safety. *World Mycotoxin J.*, vol. 1–17.
- FDA. (2015). CPG Sec. 527.400 Whole Milk, Lowfat Milk, Skim Milk - Aflatoxin M1. Issued: 10/1/80. Tillgänglig: <http://www.fda.gov/ICECI/ComplianceManuals/CompliancePolicyGuidanceManual/ucm074482.htm> [Hämtad: 2016-03-28]
- FDA. (2015). CPG Sec. 683.100 Action Levels for Aflatoxins in Animal Feeds. Issued: 11/21/79. Tillgänglig: <http://www.fda.gov/ICECI/ComplianceManuals/CompliancePolicyGuidanceManual/ucm074703.htm> [Hämtad: 2016-04-01]
- FDA. (2005). CPG Sec. 555.400 Foods - Adulteration with Aflatoxin. Issued: 10/1/80. Tillgänglig: <http://www.fda.gov/ICECI/ComplianceManuals/CompliancePolicyGuidanceManual/ucm074555.htm> [Hämtad: 2016-04-01]
- FDA: Bad Bug Book. (2014). Handbook of Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins 2nd edition. Tillgänglig:

<http://www.fda.gov/Food/FoodborneIllnessContaminants/CausesOfIllnessBadBugBook/default.htm> [Hämtad: 2016-04-19]

- Fernández, A., Belío, R., Ramos, J.J., Sanz, M.C., Sáez, T. (1997). Aflatoxins and their Metabolites in the Tissues, Faeces and Urine from Lambs Feeding on an Aflatoxin-Contaminated Diet. *J. Sci. Food Agric.*, vol. 74, ss. 161–168.
- Flores-Flores, M.E., Lizarraga, E., López de Cerain, A., González-Peñas, E., (2015). Presence of mycotoxins in animal milk: A review. *Food Control*, vol. 53, ss. 163–176.
- Fu, J.-C., Chen, Q., Du, J., Shi, B.-M. & Shan, A.-S. (2013). Effectiveness of maifanite in reducing the detrimental effects of aflatoxin B1 on hematology, aflatoxin B1 residues, and antioxidant enzymes activities of weanling piglets. *Livest. Sci.*, vol. 157, ss. 218–224.
- Gareis, M. & Scheuer, R. (2000). Ochratoxin A in Meat and Meat Products. Institute for Microbiology and Toxicology. *Archiv für Lebensmittelhygiene*, vol 51, nr 4-5, ss. 102-104.
- González-Osnaya, L., Soriano, J.M., Moltó, J.C. & Mañes, J. (2008). Simple liquid chromatography assay for analyzing ochratoxin A in bovine milk. *Food Chem.*, vol 108, ss. 272–276.
- Helferich, W.G., Garrett, W. N., Hsieh, D.P.H. & Baldwin, R. L. (1986). Feedlot performance and tissue residue of cattle consuming diets containing aflatoxin. *Journal of Animal Science*, vol 62, no 3, ss. 691-6
- IARC. (2003). IARC Monographs – 100F. Tillgänglig: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol100F/mono100F-23.pdf> [Hämtad: 2016-03-10]
- Johnsson, P. & Thim, A. M. (2007). Riskprojekt 2006: Mögel och mykotoxiner. Livsmedelsverket: rapport 13. Tillgänglig: http://www.livsmedelsverket.se/globalassets/rapporter/2007/2007_livsmedelsverket_13_riksprojekt2006.pdf [Hämtad: 2016-04-19]
- Johnson, W.W., Ueng, Y.-F., Widersten, M., Mannervik, B., Hayes, J.D., Sherratt, P.J., Ketterer, B. & Guengerich, F.P. (1997). Conjugation of Highly Reactive Aflatoxin B₁ *exo*- 8,9-Epoxyde Catalyzed by Rat and Human Glutathione Transferases: Estimation of Kinetic Parameters †. *Biochemistry (Mosc.)*, vol. 36, ss. 3056–3060.
- Jordbruksverket. (2016): EU:s foderbestämmelser. Tillgänglig: <http://www.jordbruksverket.se/amnesomraden/djur/foder/eusfoderbestammelser.4.7caa00cc126738ac4e880004153.html> Hämtad [2016-04-10]
- Jørgensen, K. & Petersen, A. (2002). Content of ochratoxin A in paired kidney and meat samples from healthy Danish slaughter pigs. *Food Addit. Contam.*, vol. 19, ss. 562–567.
- Norred, W.P., Porter, J.K., Dorner, J.W. & Cole, R.J. (1988). Occurrence of the mycotoxin cyclopiazonic acid in meat after oral administration to chickens. *J. Agric. Food Chem.*, vol. 36, ss. 113–116.
- Oswald, I.P. & Taranu, I. (2008). Mycotoxins in farm animals. Transworld Research Network, Trivandrum.
- Pfohl-Leszkowicz, A. & Manderville, R.A., (2007). Ochratoxin A: An overview on toxicity and carcinogenicity in animals and humans. *Mol. Nutr. Food Res.*, vol. 51, ss. 61–99.
- Pfohl-Leszkowicz, A., Petkova-Bocharova, T., Chernozemsky, I.N. & Castegnaro, M. (2002). Balkan endemic nephropathy and associated urinary tract tumours: a review on aetiological causes and the potential role of mycotoxins. *Food Addit. Contam.*, vol. 19, ss. 282–302.

- Pitt, J. I. & Hocking, A. D. (1997). *Aspergillus* and related teleomorphs, Fungi and food spoilage, Pitt, J. I. och Hocking, A. D (red.), *Blackie Academic and Professional, London, 2:a upplagan*, ss. 339–416.
- Polan, C. E., Hayes, J. R & Campbell, T. C. (1974). Consumption and Fate of Aflatoxin B1 by Lactating Cows. *J. Agr. Food Chem.*, vol. 22, no. 4. ss. 635-638
- Richard, J.L. (2007). Some major mycotoxins and their mycotoxicoses—An overview. *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 119, ss. 3–10.
- Rodrigues, I. & Naehrer, K., (2012). A Three-Year Survey on the Worldwide Occurrence of Mycotoxins in Feedstuffs and Feed. *Toxins*, vol. 4, ss. 663–675.
- Stander, M., Nieuwoudt, T., Steyn, P., Shephard, G., Creppy, E. & Sewram, V. (2001). Toxicokinetics of ochratoxin A in vervet monkeys (*Cercopithecus aethiops*). *Arch. Toxicol.* vol. 75, ss. 262–269.
- Ribelin, W.E., Fukushima, K. & Still, P.E. (1977). The toxicity of Ochratoxin to Ruminants. *Canada Journal of Comparative Medicine*.
- WHO. (1995). Evaluation of certain food additives and contaminants, (1995). . World Health Organ. Tech. Rep. Ser. 859, 1–54.
- Wogan, G.N., Paglialunga, S. & Newberne, P.M. (1974). Carcinogenic effects of low dietary levels of aflatoxin B1 in rats. *Food Cosmet. Toxicol.* vol. 12, ss. 681–685.
- Wu, Q., Dohnal, V., Huang, L., Kuča, K., Wang, X., Chen, G. & Yuan, Z. (2011). Metabolic pathways of ochratoxin A. *Curr. Drug Metab.*, vol. 12, ss. 1–10.