



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för husdjurens utfodring och vård

Mykotoxiner i hästfoder



Åsa Andersson

Examensarbete för kandidatexamen, 15 hp

Agronomprogrammet – Husdjur

Institutionen för husdjurens utfodring och vård, 571

Uppsala 2016

Mykotoxiner i hästfoder

Mycotoxins in horse feed

Åsa Andersson

Handledare: Cecilia Müller, SLU, Institutionen för husdjurens utfodring och vård

Examinator: Rolf Spörndly, 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, 571

Omslagsbild: Åsa Andersson

Nyckelord: aflatoxiner, fusarium, häst, mykotoxikos, mögel, penicillium, sekundära metaboliter, svamp

Key words: aflatoxins, equine, fungi, fusarium, horse, mycotoxicosis, penicillium, secondary metabolites

Sammanfattning

Mykotoxiner är giftiga sekundära metaboliter producerade av mögelsvampar. Mögelsvampar uppträder på grödor världen över, och de mest frekvent förekommande släkten som producerar toxiner är *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. och *Fusarium* spp. Vanliga mykotoxiner i foder är deoxynivalenol, zearalenon, fumonisiner, trichotecener, aftatoxin och ochratoxin. Hästar som exponerats för mykotoxiner kan drabbas av allvarliga sjukdomar som leukoencephalomalasi och stachybotryotoxikos. Studier har visat att mykotoxiner ofta förekommer i kraftfoder såsom havre, korn, müsli, majs och betfiber, men även i grovfoder som hö, ensilage, majsensilage och hösilage. I denna litteraturstudie påvisades mykotoxinkoncentrationer över EU:s rekommendationer för hästfoder i endast två foderslag, vilka var havre kontaminerat av zearalenon eller deoxynivalenol och halm kontaminerat av deoxynivalenol. Få studier har dock genomförts gällande hälsopåverkan hos häst efter exponering för mykotoxiner, vilket kan betyda att EU:s gräns- och riktvärden för hästfoder är dåligt underbyggda. Även studier på mykotoxiner i kraftfoder speciellt ämnat för häst saknar mångfald, detsamma gäller grovfoder till alla djurslag. Fler studier behövs för att säkert veta om EU:s direktiv och rekommendationer gällande mykotoxiner i hästfoder är rimliga eller om nya gräns- och riktvärden behövs.

Abstract

Mycotoxins are poisonous secondary metabolites produced by moulds. Moulds are found on crops worldwide and the most frequently found mykotoxin-producing genera are *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. and *Fusarium* spp. Commonly found mycotoxins are deoxynivalenol, zearalenon, fumonisins, trichotecenes, aflatoxins och ochratoxins. Horses exposed to mycotoxins could be at risk of diseases such as leukoencephalomalaci and stachybotryotoxikosis. Studies have shown that mycotoxins are frequently present in feed such as oats, barley, mixed grains and beet pulp, but also in roughages such as hay, silage, corn silage and haylage. In this literature study, only two types of feed displayed concentrations of mycotoxins above EU recommendations in horse feed and that was oats contaminated by zearalenone or deoxynivalenol and straw contaminated by deoxynivalenol. However, few studies have been done considering health effects in horses due to mycotoxin exposure, which could mean that the guidelines from the EU are poorly substantiated. Abundance of studies considering mycotoxins in feed especially made for horses are also lacking and the same is valid for roughages for all kinds of animals. More studies are required to be certain that the EU directives or recommendations considering mycotoxins in horse feed are correct or if new limits or guidelines should be obtained.

Introduktion

Mögelsvampar som producerar giftiga sekundära metaboliter (mykotoxiner) har länge varit ett problem i djurfoder där bland annat förgiftningar hos svin och nötkreatur var vanligt under 1950-talet (Kiessling & Pettersson, 1977). Mykotoxiner var dock ett relativt outforskat ämne fram till 1960-talet då aflatoxiner först upptäcktes (Butler, 1974) efter ett sjukdomsutbrott i

England där över 100 000 kalkoner dog (Kiessling & Pettersson, 1977). Sedan dess har intresset för mykotoxiners effekter ökat (Kiessling & Pettersson, 1977) och många studier som genomförts har påvisat negativa hälsoeffekter hos både enkelmagade djur och idisslare (Kiessling & Pettersson, 1977; Quinn & Markey, 2003). Exponering för mykotoxiner via föda eller luft kan leda till allt från nedsatt immunförsvar (Quinn & Markey, 2003) till cancer (Kiessling & Pettersson, 1977). Fler än hundra svamparter kan producera mykotoxiner (Quinn & Markey, 2003) men bara ett fåtal mykotoxiner har gräns- eller riktvärde i djurfoder (Kiessling & Peterson, 1977). Två allvarliga sjukdomar som kan drabba hästar på grund av mykotoxinexponering är leukoencephalomalasi (equine leukoencephalomalacia, ELEM) och stachybotryotoxikos (Quinn & Markey, 2003). Få studier har dock gjorts på mykotoxiner i hästfoder och hälsoeffekter på hästar som utsatts för mykotoxiner. Förekomsten av mykotoxiner i hästfoder och hälsopåverkan hos häst är viktig att studera då hästen i stora delar av världen är ett högt värderat djur som används både för sport och sällskap, hästar lever därmed längre än produktionsdjur vilket bland annat kan öka risken för cancer efter långvarig exponering av mykotoxiner. Det är också viktigt för att undvika sjukdomar hos hästar i utvecklingsländer där de har en avgörande roll för jordbruket och därmed försörjning. Enligt Burn *et al.*, (2010) som refererar till FAOSTAT (Food and Agricultural Organisation of the United Nations Statistical Database Website) (2006) bor ca 85 % av världens hästdjur i utvecklingsländer där de i första hand används som arbetshästar. Djupare kunskap om hur de vanligast förekommande mykotoxinerna i hästfoder påverkar hästars hälsa kan leda till minskade hälsorisker genom att ge en klarare bild över vilken halt som är skadlig. Det skulle i sin tur kunna leda till striktare kontroller av hästfoder, att fler mykotoxiner får gräns- eller riktvärden och att riktvärden sänks, alternativt ändras från riktvärden till gränsvärden.

Följande litteraturstudie fokuserar på de vanligast förekommande mykotoxinerna i typiska hästfoder, vilka mykotoxiner som främst orsakar hälsoproblem hos häst och vilka mykotoxin som kan ge negativa effekter på hästars hälsa. Syftet med uppsatsen var att besvara följande frågeställningar:

- Vad är mykotoxiner?
- Vilka mykotoxiner förekommer i hästfoder?
- Hur påverkas hästars hälsa av mykotoxiner?

Studiens hypotes var att skadliga nivåer av mykotoxiner påträffas i kraftfoder och grovfoder till häst.

Litteraturgenomgång

Mykotoxiner

Mykotoxiner är giftiga sekundära metaboliter producerade av mögelsvampar (Ciegler, 1978), vilka kan uppkomma på grödor, bete och lagrat foder (Quinn & Markey, 2003) utan för ögat synliga tecken (Buckley *et al.*, 2007). Det finns många orsaker till att mögelsvampar producerar mykotoxiner, bland annat stressfaktorer, fukthalt och temperatur i omgivningen (Kiessling & Pettersson, 1977). Somliga mögelsvampar, till exempel vissa arter ur *Fusarium*

spp. kan producera mykotoxin ända ner till nollgradiga temperaturer, men de flesta svampar växer bäst och har förmåga att producera mykotoxiner mellan 20 och 30°C (Ciegler, 1978).

Mögelsvampar förekommer världen över och de vanligast förekommande släkten som producerar mykotoxiner i foder är *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. och *Fusarium* spp. (Ciegler, 1978; Quinn & Markey, 2003). Mykotoxiner har påvisats i de flesta vanligaste grödorna och foderslagen, till exempel i vete, havre, korn och majs, men även i vissa frukter och nötter (Ciegler, 1978). Frekvent förekommande mykotoxiner i foder och livsmedel är bland andra ochratoxin, trichotecener, aflatoxin, zearalenon (ZEN), fumonisiner, sporidesminer (Quinn & Markey, 2003), patulin och citrinin (Ciegler, 1978). Dock utgör nämnda mykotoxiner bara en bråkdel av vad mögelsvamparna är kapabla att producera, och därmed kan problem orsakade av mykotoxiner vara betydligt större än vad som är känt (Ciegler, 1978). Ett annat stort problem är att många mykotoxiner tål hög värme och är därför svåra att avlägsna ur redan kontaminerade foder via pelletering eller annan värmebehandling (Kiessling & Pettersson, 1977; Quinn & Markey, 2003).

Mykotoxiner delas in i två huvudgrupper; mykotoxiner från fältfloran och mykotoxiner från lagringsfloran. Detta har att göra med vattenhalten i grödorna, mögelsvampar som växer i fält kräver en vattenhalt på 22-25 procent medan mögelsvampar som växer under lagring klarar en lägre vattenhalt på 13-18 procent (Ciegler, 1978). *Fusarium* spp. är dominerande i fältfloran, medan *Penicillium* spp. samt *Aspergillus* spp. är typiska lagringsflorasvampar (Ciegler, 1978), dock har aspergillusarter även påvisats i fältfloran på majs (Ehrlich *et al.*, 1985).

Förtäring av mykotoxiner är den vanligaste orsaken till (förgiftning av mykotoxiner), även om både inandning av mögelsporer samt direkt hudkontakt med mögel kan ge hälsonegativa effekter (Quinn & Markey, 2003). Mykotoxikos kan beskrivas som akut eller kronisk (Quinn & Markey, 2003). Akut mykotoxikos ger direkta tecken på förgiftning medan kronisk mykotoxikos uppstår efter exponering för låga doser under längre tid med bland annat cancer som utfall (Bennett & Klich, 2003). Hos djur kan förtäring av mykotoxinkontaminerade foder bland annat leda till mutationer, nedsatt immunförsvar, tumörbildning och fosterskador (Quinn & Markey, 2003).

De mögelsläkten som skapar problem hos häst är främst *Fusarium* spp. och *Aspergillus* spp. (Buckley *et al.*, 2007). Fusarietoxinet fumonisin är ett av de mest kända och kan orsaka den allvarliga neurologiska sjukdomen ELEM (Quinn & Markey, 2003). Få studier har gjorts om hur andra mykotoxiner påverkar hästars hälsa. Hästar är dock icke-idisslande djur som saknar våm innehållande protozoer och bakterier som till viss grad kan bryta ned mykotoxiner innan de når tunntarmen (Kiessling *et al.*, 1984), detta innebär att hästar kan vara känsligare än idisslare vid förtäring av mykotoxiner (Liesener *et al.*, 2010).

I nuläget har endast två toxiner producerade av mögelsvampar gränsvärden enligt EU-direktiv i djurfoder (Europeiska Unionen, 2011), dessa är mykotoxinet aflatoxin, bildat bl.a. av *Aspergillus flavus* och ergotalkaloider bildat av mjöldryga, *Claviceps purpurea* (Quinn *et al.*

2002). Med gränsvärde menas den högsta halt av toxiner som enligt lag får förekomma i djurfoder, det är förbjudet att utfodra djur med foder som innehåller halter över EU:s direktiv (Europeiska Unionen, 2002). Andra mykotoxiner har endast riktvärden enligt EU, vilket är en rekommenderad högstanivå av mykotoxiner som får förekomma i djurfoder. Högsta riktvärde av respektive toxin är bestämt efter de mest toleranta djurarterna (European Union, 2006a).

Mykotoxiner från fältfloran

Fusariumtoxiner

Fusarietoxiner i djurfoder kan resultera i förgiftning hos många djurslag, dock finns en stor variation i förgiftningsdos mellan de olika djurslagen (Kiessling & Pettersson, 1977). Fusariesvampar lever i tempererade områden och har påträffats i Asien, Europa och Amerika, där många arter förekommer naturligt i jorden (European Union, 2006b). Fusariearterna kan bilda en rad olika mykotoxiner (Kiessling & Pettersson, 1977), exempel på toxiner från fusariesvampar är ZEN, fumonisin B₁ och B₂ och trichotecener (Quinn & Markey, 2003). En studie av Raymond *et al.*, (2005) visade att hästar som utfodrats med fusariekontaminerat foder fick dämpad aptit och tappade i vikt.

Zearalenon

Zearalenon är en östrogen metabolit som kan produceras av flertalet fusariearter (Kiessling & Pettersson, 1977). Zearalenon bildas under låga temperaturer (Kiessling & Pettersson, 1977) (ner till nollgradigt) och påträffas oftast i korn och majs (Ciegler, 1978). Effekter på suggor som exponerats för ZEN är slidframfall (Kiessling & Pettersson, 1977) utebliven brunst och mindre kullar, hos nötkreatur och får har minskad fertilitet påvisats (Quinn & Markey, 2003). Enligt Gimeno & Quintanilla (1983) refererad av Caloni & Cortinovic (2010) fick ston exponerade för ZEN symptom som förstörd livmoder och inre blödningar, även fodervägran påvisades. Zearalenonkoncentrationen i det kontaminerade fodret låg på ca 2700 µg/kg (Caloni & Cortinovic, 2010).

Fumonisin

Fumonisin produceras av *Fusarium moniliforme* samt ett flertal andra fusariearter och kan orsaka lungödem hos gris (Quinn & Markey, 2003) samt den tidigare nämnda sjukdomen ELEM hos häst, vilken bland annat kan orsaka blödningar i hjärnstammen (Wilson *et al.*, 1990). Efter 29 ELEM-utbrott i Brasilien mellan 1988-1990 undersöktes de foder som var kopplade till utbrotten, 82 % av analyserade foder innehöll *F. moniliforme*, även *F. proliferatum* och *F. sugblutinans* påvisades i 23,8 % respektive 2,6 % av analyserade foder (Meireles *et al.*, 1994). Ett annat ELEM-utbrott i Arizona 1989 där 14 av totalt 18 insjuknade Arabiska fullblod dog, orsakades av att majsen de utfodrats med var kontaminerad av fumonisin B₁ (FB₁) i koncentrationer från 37 000 till 122 000 µg/kg (Wilson *et al.*, 1990).

Trichotecener

Trichotecener med 12, 13-epoxyringstruktur är giftiga för både människor och djur och kan orsaka multipla hälso negativa effekter såsom kräkningar och blödningar från hud och mag-tarmkanalen hos gris, nötkreatur och fjäderfä (Quinn & Markey, 2003), hos gris har även matvägran påvisats (Kiessling & Pettersson, 1977; Ciegler, 1978). En sjukdom som kan drabba häst men även påvisats hos nötkreatur, får och grisar är stachybotryotoxikos, vilken ger symtom såsom hämrat immunförsvar, blödningar och skador i mag-tarmkanalen (Quinn & Markey, 2003), stachybotryotoxikos orsakas troligtvis av 12, 13-epoxytrichotecener (Ciegler, 1978). Exempel på trichotecener förekommande i svensk spannmål är bland andra deoxynivalenol (DON), nivalenol och T-2, där DON är den mest frekvent förekommande men också den minst giftiga (Pettersson, 1996). I en studie av Johnson *et al.* (1997) där fem friska hästar utfodrades med DON-kontaminerat foder upptäcktes inga negativa hälsoeffekter eller matvägran, hästarna utfodrades med det kontaminerade fodret i 40 dagar vilket innehöll DON-koncentrationer mellan 36 000-44 000 µg/kg. Den giftigare trichotecenen T-2 och dess metabolit HT-2 bildas av flera fusariearter, bland annat av *F. poae.* och *F. sporotrichioides* (Torp & Langseth, 1999). In vitro-studier på mänskliga celler har visat att T-2- och HT-2-toxin kan orsaka apoptos (Weidner *et al.* 2012), studier om hur T-2 och HT-2 kan påverka hästars hälsa är dock få.

Mykotoxiner från lagringsfloran

Aspergillustoxiner

Aflatoxin

Det finns ett flertal aspergillusarter som producerar aflatoxiner som vid förtäring kan leda till förgiftning. *Aspergillus flavus* och *A. parasiticus* är vanliga arter (Kiessling & Pettersson, 1977) och producerar aflatoxinerna B₁, B₂, G₁ och G₂ (Quinn & Markey, 2003). Förgiftning kan resultera i bland annat cancer och leverskador (Kiessling & Pettersson, 1977) men även hämrad proteinsyntes och fosterskador hos gris, fjäderfä, nötkreatur och hundar (Quinn & Markey, 2003). Aflatoxiner har påträffats i de flesta grödor och höga halter hittas ofta i grödor som vuxit i varma och fuktiga klimat (Kiessling & Pettersson, 1977; Ciegler, 1978). Exempel på djurfoder som ofta är kontaminerade av *A. flavus* och *A. parasiticus* är majs (Kiessling & Pettersson, 1977) och sojabönor (Quinn & Markey, 2003). Efter att flera hästar insjuknat på en gård i Arkansas (varav tre dog av leversvikt) misstänktes aflatoxiner i majsens de utfodrads med (Vesonder *et al.*, 1991). Majsens analyserades och visades vara kontaminerad av *A. flavus* med aflatoxinkoncentrationer på 130 µg/kg (Vesonder *et al.*, 1991).

Ochratoxin

Ochratoxiner kan bildas av *A. ochraceus* (Ciegler, 1978) men även av penicilliumarter. Ochratoxin A (OTA) är cancerframkallande och hämmar proteinsyntes samt immunsystemet hos gris och fjäderfä (Quinn *et al.*, 2002), även letala njurskador har påvisats hos gris, hund och fjäderfä (Kiessling & Pettersson, 1977). Hälsopåverkan hos häst är okänd, dock visade en

studie av Minervini *et al.*, (2013) förekomst av OTA i blodserum från både ston och hingstar, studien visade även att OTA kan överföras mellan sto och föl via navelsträngen.

Penicilliumtoxiner

Ochratoxin

Ochratoxiner kan bildas av penicilliumarter, främst av *Penicillium viridicatum* (Kiessling & Pettersson, 1977) och har samma egenskaper som ochratoxiner producerade av *A. ochraceus* som ovan nämnt.

Roquefortine C

Roquefortine C (ROQ-C), produceras av penicilliumarter och är ett frekvent förekommande mykotoxin i ensilage (Auerbach *et al.*, 1998; O'Brien *et al.*, 2006; Zachariasova *et al.*, 2014). Det är neurotoxiskt och kan orsaka förlamning hos fjäderfä (Wagener *et al.*, 1980). Det finns ingen information om hälsoinverkan på häst och EU-rekommendationer eller gränsvärden saknas.

Mykotoxiner i hästfoder

Kraffoder och halm

Nordkvist & Häggblom (2014) undersökte förekomsten av mykotoxinerna DON, ZEN, T-2 och HT-2 i halm och spannmål till grisar (tabell 1). De fann att DON var det mest frekvent förekommande mykotoxinet av de ovan nämnda och förekom i 89 % av alla kontaminerade foderprover, följt av ZEN som påträffades i 54 % av alla kontaminerade foder. Av de tio högsta DON-koncentrationerna stod havre för hälften, resterande hälft var halm som även stod för åtta av de tio högsta ZEN-koncentrationerna. T-2- och HT-2-toxin påträffades i 29 % respektive 16 % av alla kontaminerade foder (Nordkvist & Häggblom, 2014). Havre var det foder som hade högst andel foderprover med mykotoxinhalter över studiens riktvärden (tabell 1). Nordkvist & Häggblom (2014) valde egna riktvärden för DON, T-2 och HT-2 (tabell 2), där högsta nivå för DON sattes lägre än EU:s rekommendationer med hänvisning till Drochner *et al.* (2004) och Verstraete (2013) vilka visat negativa hälsoeffekter på grisar vid DON-nivåer lägre än 350 µg/kg foder. EU:s riktvärde ligger på 900 µg/kg foder (tabell 2), det vill säga ca 2,5 gånger högre än vad som framkommit som skadligt. EU:s riktvärde för häst ligger på 8000 µg/kg foder och därmed översteg högsta DON-koncentrationerna EU:s rekommendationer i både halm och havre (tabell 1), i övriga foder var DON-koncentrationerna under EU:s riktvärden för häst (tabell 3). Inga foderprover kontaminerade med ZEN, HT-2 eller T-2 översteg EU:s riktvärden för häst (tabell 3). Exakt antal foderprover som översteg 8000 µg/kg foder framgick inte i studien.

Tabell 1. Tabellen visar hur många procent av alla kontaminerade foderprover som innehöll detekterbara koncentrationer av DON, ZEN, HT-2 och T-2, högsta koncentration ($\mu\text{g}/\text{kg}$) och medelvärden ($\mu\text{g}/\text{kg}$) av respektive mykotoxin samt hur många procent av proverna som överskred författarnas egna rekommenderade riktvärde (Nordkvist & Häggblom, 2014)

Gröda		DON	ZEN	HT-2	T-2
Halm (N=79)	Kontaminerade (%)	86	58	18	5
	Medelvärde ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	884	134	14	3
	Högsta koncentration ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	11195	1771	201	87
	Över rekommendation (%)	33	20	5	0
Havre (N=27)	Kontaminerade (%)	96	59	59	59
	Medelvärde ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	2123	77	92	89
	Högsta koncentration ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	21613	1030	1224	647
	Över rekommendation (%)	48	11	15	22
Korn (N=41)	Kontaminerade (%)	88	29	41	22
	Medelvärde ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	321	20	20	13
	Högsta koncentration ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	1729	449	153	171
	Över rekommendation (%)	20	5	5	5
Vete (N=29)	Kontaminerade (%)	90	34	10	7
	Medelvärde ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	551	17	1	0
	Högsta koncentration ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	3230	116	13	12
	Över rekommendation (%)	28	7	0	0
Müsli (N=11)	Kontaminerade (%)	100	45	45	0
	Medelvärde ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	202	25	14	0
	Högsta koncentration ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	969	175	90	<1
	Över rekommendation (%)	9	9	0	0

Tabell 2. Riktvärden för förekomst av fusarietoxiner i foder för gris enligt Nordkvist & Häggblom (2014) och EU (2006a; 2013a)

Mykotoxin	Riktvärde (Nordkvist & Häggblom) ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Riktvärde (EU), gris ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
DON	600	900
ZEN	100	100 (smågrisar) 250 (vuxna grisar)
HT-2	100	2000 (summan av HT-2 och T-2)
T-2	100	

EU:s rikt- och gränsvärden för bland annat bland annat foderråvaror, tillskottsfoder och helfoder redovisas i tabell 3. Foderråvaror innefattar bland annat spannmål och grovfoder och helfoder är foderblandningar som ska täcka hela djurets näringsbehov. Tillskottsfoder är foderblandningar definierade som kompletterande foder, exempelvis till idisslande djur som behöver grovfoder i tillägg (Jordbruksverket, 2015).

Tabell 3. Rikt- och gränsvärden för förekomst av mykotoxiner i hästfoder samt högsta rikt- och gränsvärde i livsmedel (European Union, 2006a; 2013a, Europeiska Unionen, 2006; 2011; 2013b, 2015)

Mykotoxin	Högsta rek. nivå i hästfoder (µg/kg)	Foderslag	Högsta rek. nivå i livsmedel (µg/kg)
Fumonisin B ₁ & B ₂	5000	Tillskottsfoder och helfoder	2000 (gränsvärde)
DON	8000	Foderråvaror och foderblandningar	1750 (gränsvärde)
	12000	Majsbiprodukter	
	5000	Tillskottsfoder och helfoder	
ZEN	2000	Foderråvaror och foderblandningar	200 (gränsvärde)
	3000	Majsbiprodukter	
OTA	250	Foderråvaror och foderblandningar	10 (gränsvärde)
Aflatoxin B ₁	20 (gränsvärde)	Foderråvaror	8 (gränsvärde)
	10 (gränsvärde)	Tillskottsfoder och helfoder	
Mjöldryga	1000 000 (gränsvärde)	Foderråvaror och foderblandningar som innehåller omald spannmål	500 (gränsvärde)
T-2 och HT-2 (summa)	2000 500 250	Malda havreprodukter (skal) Övriga spannmålsprodukter Foderblandningar	200

I en studie av Liesener *et al.* (2010) (tabell 4) undersöktes förekomsten av DON, ZEN, fumonisin B₁, T-2, summan av T-2 och HT-2, OTA och mjöldryga i müsli, pellets, majs, havre och korn ämnat för häst. Alla foderprover visade förekomst av DON, T2 samt T-2+HT-2, och nästintill alla (98 % respektive 94 %) innehöll även ZEN och fumonisin B₁ (tabell 4). Mjöldryga upptäcktes i 62 % av foderproverna och lägst frekvens hade OTA med 42 % (Liesener *et al.*, 2010).

Tabell 4. Förekomst av mykotoxiner i spannmål till häst (frekvens kontaminerade prov angett i procent). Högsta koncentration av respektive toxin anges, vilket foder koncentrationen tillhör samt hur många procent av foderproverna som överskred EU:s rikt- eller gränsvärde för mykotoxiner i hästfoder (tabell 3) (Liesener *et al.*, 2010)

	DON	ZEN	FB ₁	T2+HT2	T2	OTA	Mjöldryga
Kontaminerade foderprover (%)	100	98	94	100	100	42	61
Högsta koncentration (µg/kg)	4900	310	2200	230	91	4	1200
Foder tillhörande högsta koncentration	Majs	Pellets	Majs	Havre	Müsli	Müsli	Korn
Över EU-rekommendation (%)	0	0	0	0	0	0	0

I svensk havre undersökte Fredlund *et al.* (2013) (tabell 5) förekomsten av fusarietoxiner där det främst förekommande mykotoxinet var DON med 95 % kontaminerade foderprover,

medan ZEN var det enda mykotoxin vars högsta koncentration överskred EU:s riktvärden för häst (tabell 3).

Tabell 5. Förekomst av fusarietoxiner i svensk havre från 2011, andel kontaminerade foderprover i procent, högsta koncentration av respektive mykotoxin samt om värdet överskred EU:s riktvärden för hästfoder (tabell 3) (Fredlund *et al.*, 2013)

	DON	ZEN	HT-2	T-2
Kontaminerade foderprover (%)	95	23	63	63
Högsta koncentration (µg/kg)	5544	2297	571	185
Högsta koncentration över EU-rekommendation	Nej	Ja	Nej	Nej

I italienska hästfoder (tabell 6) påträffades DON och T-2 där korn var det foder med högst kontamineringsfrekvens (Cortinovicis *et al.*, 2012). T-2 upptäcktes endast i majs medan DON upptäcktes i majs, korn och vete där högsta koncentrationen påträffades i majs (Cortinovicis *et al.*, 2012). Inga maxvärden översteg dock EU:s rekommendationer för häst (tabell 3).

Tabell 6. Förekomst av DON och T-2 i italienska hästfoder (majs, korn och vete) (Cortinovicis *et al.*, 2012)

	DON		T-2	
	Antal kontaminerade foderprover (%)	Högsta koncentration (µg/kg)	Antal kontaminerade foderprover (%)	Högsta koncentration (µg/kg)
Majs	37,1	1900	13,8	102
Korn	73,3	900	-	-
Vete	8,3	-	-	-

Zachariasova *et al.* (2014) (tabell 7) upptäckte DON och ZEN i korn, havre och betfiber. HT-2 och T-2 påträffades i korn och havre, FB₁ påträffades i betfiber, medan OTA och fumonisin B₂ (FB₂) avsaknades i alla tre foder. Inga koncentrationer överskred EU:s rekommendationer för häst (tabell 3).

Tabell 7. Högsta upptäckta koncentration (µg/kg) av mykotoxiner i korn, havre och betfiber (Zachariasova *et al.*, 2014)

	DON	ZEN	HT-2	T-2	OTA	FB ₁	FB ₂
Korn	1582	17	78	58	-	-	-
Havre	296	21	64	48	-	-	-
Betfiber	128	11	-	-	-	39	-

Hö och hösilage

Förekomst av ZEN, aflatoxin, OTA, T-2 och fumonisin undersöktes i en studie på irländskt hö, kanadensiskt hö samt hösilage (Buckley *et al.*, 2007). Aflatoxiner och ZEN hade högst

kontamineringsfrekvens i alla tre foder, medan ochratoxin, T2 och fumonisin påträffades i irländskt hö och hösilage men avsaknades helt i kanadensiskt hö (tabell 8). ZEN var det enda mykotoxinet som överskred studiens riktvärden (tabell 9), koncentrationen överskred i alla tre foder där irländskt hö hade högst procentandel över riktvärdet (Buckley *et al.*, 2007). I tabell 9 redovisas de riktvärden Buckley *et al.* (2007) använde som rekommenderad maximihalt av olika mykotoxiner i hästfoder.

Tabell 8. Tabellen visar hur många foderprover (i procent) som var kontaminerade av mykotoxiner, samt hur många av de kontaminerade proven som översteg studiens riktvärden (Buckley *et al.*, 2007)

Foder		ZEN	Aflatoxin	OTA	T-2	Fumonisin
Irländskt hö	Kontaminerade (%)	71	71	24	24	24
N=62	Över rekommendation (%)	21	0	0	0	0
Kanadensiskt hö	Kontaminerade (%)	100	100	0	0	0
N=63	Över rekommendation (%)	8	0	0	0	0
Hösilage	Kontaminerade (%)	74	74	63	63	63
N=54	Över rekommendation (%)	8	0	0	0	0

Tabell 9. Högsta riktvärden för mykotoxiner i hästfoder (Buckley *et al.*, 2007)

Mykotoxin	Riktvärde (µg/kg foder)
Aflatoxin	50 (gränsvärde EU)
OTA	20
Fumonisin	50 000
ZEN	150
T-2	150

Förekomsten av DON, ZEN, HT-2, T-2, OTA, ROQ-C, FB₁ och FB₂ undersöktes av Zachariasova *et al.* (2014) i hö, majsensilage och gränsilage vilket redovisas i tabell 10. De högsta koncentrationerna av nämnda mykotoxiner understeg EU:s riktvärden för häst i hö och majsensilage (tabell 3), ensilaget innehöll inga detekterbara mykotoxiner.

Tabell 10. Högsta koncentration (µg/kg) av mykotoxiner i hö, majsensilage och ensilage gjort på klöver, gräs och lusern (Zachariasova *et al.*, 2014)

	DON	ZEN	HT-2	T-2	OTA	ROQ-C	FB₁	FB₂
Hö	62	91	78	58	-	-	-	-
Majsensilage	2950	190	111	-	-	746	190	36
Ensilage (klöver, gräs och lusern)	-	-	-	-	-	-	-	-

Raymond *et al.* (2000) undersökte förekomsten av DON, ZEN och T-2 i hö från tio olika hästgårdar och fann att alla foderprov innehöll koncentrationer av nämnda mykotoxiner. Högsta koncentration av respektive mykotoxin uppges i tabell 11.

Tabell 11. Högsta koncentration ($\mu\text{g}/\text{kg}$) och medelvärde av mykotoxinerna som påträffades i hö från tio hästgårdar samt om högsta koncentrationen av respektive mykotoxin översteg rekommendationerna i hästfoder enligt EU:s riktvärden (tabell 3). Efter Raymond *et al.* (2000)

	DON	ZEN	T-2
Högsta värde ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	3600	1210	400
Medelvärde ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	1940	≤ 385	< 325
Högsta koncentration över EU-rekommendation för hästfoder	Nej	Nej	Nej

Förekomsten av roquefortine C i inplastat vallfoder undersöktes av O'Brien *et al.* (2006), där över 96 % av 79 mögelisolat innehöll mykotoxinet. Auerbach *et al.* (1998) påvisade roquefortine C i en studie på majs- och gräsensilage där 100 % av provtaget majensilage och 75 % av provtaget gräsensilage var kontaminerade av *Penicillium roquefortine*.

Diskussion

I sju studier och totalt 79 foderprover fanns högsta upptäckta koncentration av undersökta mykotoxiner redovisat, av dessa påvisade tre foderprover ($< 4\%$) koncentrationer över EU:s rikt- eller gränsvärden för häst. I alla studier och i nästan alla undersökta foder påvisades dock förekomst av mykotoxiner, det enda foder där mykotoxiner inte upptäcktes alls var ensilage i studien Zachariasova *et al.* (2014). Samtliga studier som undersökte förekomst av mykotoxinet DON påvisade det i hög frekvens, bortsett från nyss nämnda ensilage. Att DON förekom ofta är föga förvånande då det anses vara det främst förekommande mykotoxinet. Nordkvist & Häggbloms studie från 2014 var dock den enda som visade ett överskridande av riktvärdet för DON, enligt deras egna värden överskred koncentrationerna i alla foder. Hur många procent som överskred EU:s rekommendationer för häst ($8000\ \mu\text{g}/\text{kg}$) är dessvärre omöjligt att svara på då studien inte hade några exakta siffror på antal foder över $8000\ \mu\text{g}/\text{kg}$. Den högsta koncentrationen Nordkvist & Häggblom (2014) upptäckte av DON ($21613\ \mu\text{g}/\text{kg}$ i havre) var dock långt över de $8000\ \mu\text{g}/\text{kg}$ som EU rekommenderar för häst och även högsta DON-koncentrationen i halm på $11195\ \mu\text{g}/\text{kg}$ var en god bit över, det kan betyda att flertalet havre- och halmfoder i studien innehöll halter över EU:s riktvärden i hästfoder.

Buckley *et al.* (2007) har troligtvis gjort slarvfel i sin studie där de skrivit att totalt antal foderprover kanadensiskt hö var 63, senare har de skrivit att 65 prover kanadensiskt hö innehöll aflatoxin och ZEN. De uppger att fyra *A. Fumigatus*, fyra *A. Niger* och två *A. Flavus* upptäckts i totalt 63 foderprover. Summan av dessa redovisades till åtta vilket antas vara felräknat då summan bör bli tio, detta kan förklara minusdifferensen på två. Resultatet av felräkningen blir antingen att totalt antal foderprover innehållande patogener eller totalt antal prover som innehöll för höga halter ZEN är felräknade. I samma studie har även $50\ 000\ \mu\text{g}/\text{kg}$ foder angetts som högsta rekommenderade koncentration av fumonisiner i hästfoder, vilket inte stämmer då FDA (U.S. Food and Drug Administration) som de hänvisar till rekommenderar $5000\ \mu\text{g}/\text{kg}$. Därmed är det svårt att avgöra om det verkligen stämmer att inga prover innehöll högre koncentration fumonisiner än vad FDA rekommenderar, det vill säga

om de skrivit en nolla för mycket i rapporten men utgått från rätt riktvärde eller om de faktiskt utgått från det högre riktvärdet. Har de utgått från 50 000 µg/kg foder finns risk att en stor andel överskred rekommendationen. Även gränsvärdet för aflatoxiner på 50 µg/kg foder i samma studie överensstämde inte med EU:s direktiv som de refererar till, EU:s förordning från 2011 anger ett gränsvärde på 20 µg/kg. Studien publicerades dock 2007 så eventuellt var gränsvärdet högre då än det nuvarande, det kan betyda att vissa foderprover faktiskt kan ha överskridit dagslägets gränsvärde för aflatoxin i hästfoder enligt EU:s direktiv. Zearalenonhalten överskred gränsen i alla foder i studien av Buckley *et al.*, (2007) dock hade de en gräns på 150 µg/kg foder medan EU-rekommendationer ligger på 200 µg/kg. Eftersom inga exakta siffror fanns på hur många foderprover som överskred EU:s rekommendationer på 200 µg/kg foder är det omöjligt att säga hur många (om några) som faktiskt överskred riktvärdet. På grund av den osäkerheten utelämnades zearalenonkontaminerat hö och hösilage från sammanfattningen och abstract där antal foder med mykotoxinkoncentrationer över EU-rekommendation nämns.

Nordkvist & Häggblom (2014) satte egna högsta rekommenderade gränser eftersom studier visat negativa effekter på grisar vid lägre koncentrationer än EU-rekommendation, det kan betyda att fler mykotoxiner kan ge skadliga effekter vid lägre koncentrationer än vad EU rekommenderar hos både gris och häst men också för andra djurslag. För livsmedel har de flesta mykotoxiner gränsvärden och är i de flesta fall markant lägre än högsta rekommendation i djurfoder som visat i tabell 3. EU:s högsta riktvärden gällande mykotoxiner i djurfoder är satta efter de mest toleranta djurslagen vilket innebär att foder som innehåller högsta rekommenderade mängd är tillåtet för utfodring av alla djur som inte har specifika bestämmelser för respektive mykotoxin. Detta kan medföra stora hälsorisker för bland annat hästar där få forskningsstudier gjorts gällande hälsopåverkan vid mykotoxinexponering. Mängden studier som gjorts på häst varierar mellan mykotoxiner, där fumonisin B₁ troligtvis är det mest utforskade efter att allvarliga ELEM-utbrott ägt rum, dock är studierna få även där. Foder ämnat specifikt för häst saknar också mångfald av studier och speciellt studier på grovfoder vilket bör vara hästens främsta energikälla. Mer forskning på häst och hästfoder behövs så att mer underlagsbyggda rekommendationer eller gränsvärden för respektive mykotoxin kan bestämmas för förekomsten i hästfoder.

Vad beträffar hypotesen är den svår att inte förkasta då ett såpass få antal studier påvisade skadliga koncentrationer av mykotoxiner i foder för häst enligt EU:s direktiv eller rekommendationer. Jag förkastar hypotesen med bedömningen att fler studier behövs för att kunna avgöra om EU:s gräns- och riktvärden för mykotoxinförekomst i hästfoder är rimliga.

Slutsats

Mykotoxiner förekommer ofta i hästfoder, dock oftast i en så låg nivå att det understiger EU:s rikt- eller gränsvärden. Fler studier om mykotoxiners hälsoinverkan på häst behövs för att kunna avgöra om EU:s direktiv och rekommendationer för mykotoxinkoncentrationer i hästfoder är rimliga eller om nya erfordras.

Referenser

- Auerbach, H., Oldenburg, E. & Weissbach, F. (1998). Incidence of penicillium roqueforti and roquefortine C in silages. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 76(4), ss. 565-572.
- Bennett, J.W. & Klich, M. (2003). Mycotoxins. *Clinical Microbiology Review* 16(3), ss. 497-516.
- Brien, M., Kiely, P., Fuller, H.T., Nielsen, K.F., Frisvad, J.C. & Forristal, P.D. (2006). Mycotoxins and other secondary metabolites produced in vitro by *Penicillium paneum* Frisvad and *Penicillium roqueforti* Thom isolated from baled grass silage in Ireland. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(24), ss. 9268-9276.
- 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(4), ss. 231-236.
- Burn, C.C., Dennison, T.L. & Whay, H.R. (2010). Relationships between behaviour and health in working horses, donkeys, and mules in developing countries. *Applied Animal Behaviour Science* 126(3), ss. 109-118.
- Butler, W. H. (1974). Aflatoxin. I: Purchase I. F. H., *Mycotoxins*. Amsterdam: Elsevier scientific publishing company, ss. 1.
- Caloni, F. & Cortinovis, C. (2010). Effects of fusariotoxins in the equine species. *The Veterinary Journal* 186(2), ss. 157-161.
- Ciegler, A. (1978). Fungi that produce mycotoxins: Conditions and occurrence. *Mycopathologia* 65(1), ss. 5-11.
- Cortinovis, C., Caloni, F. & Battini, M. (2012). Deoxynivalenol and T-2 Toxin in Raw Feeds for Horses. *Journal of Equine Veterinary Science* 32(2), ss. 72-74.
- Ehrlich, K., Ciegler, A., Klich, M. & Lee, L. (1985). Fungal competition and mycotoxin production on corn. *Experientia* 41(5), ss. 691-693.
- Europeiska Unionen (2002) Europaparlamentets och rådets direktiv av den 7 maj 2002 om främmande ämnen och produkter i djurfoder (2002/32/EG). *Europeiska unionens officiella tidning L140, 10-21. Tillgänglig: http://eur-lex.europa.eu/resource.html?uri=cellar:aca28b8c-bf9d-444f-b470-268f71df28fb.0011.02/DOC_1&format=PDF [2016-05-07]*
- European Union (2006a) 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 (2006/576/EC). *Official Journal of the European Union L229, 7-9. Tillgänglig: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32006H0576&from=EN> [2016-03-22]*
- European Union (2006b) Commission recommendation of 17 August 2006 on the prevention and reduction of *Fusarium* toxins in cereals and cereal products (2006/583/EC). *Official Journal of the European Union L234, 35-40. Tillgänglig: https://www.fsai.ie/uploadedFiles/Commission_Recommendation_2006_583_EC.pdf [2016-03-16]*
- Europeiska Unionen (2006) Kommissionens förordning av den 19 december 2006 om fastställande av gränsvärden för vissa främmande ämnen i livsmedel (2006/1881/EG). *Europeiska unionens officiella tidning L364, 5-24. Tillgänglig: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/SV/TXT/PDF/?uri=CELEX:32006R1881&from=SV> [2016-05-24]*
- Europeiska unionen (2011) Kommissionens förordning av den 16 juni 2011 om ändring av Europaparlamentets och rådets direktiv 2002/32/EG vad gäller gränsvärden för nitrit, melamin, Ambrosia spp. och för korskontamination av vissa koccidiostatika eller histomonostatika samt om konsolidering av bilagorna I och II till det direktivet (2011/574/EU). *Europeiska unionens officiella tidning L159, 7-24. Tillgänglig: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:159:0007:0024:SV:PDF> [2016-03-19]*

- European Union (2013a) Commission recommendation of 27 March 2013 on the presence of T-2 and HT-2 toxin in cereals and cereal products (2013/165/EU). *Official Journal of the European Union L91, 12-15*. Tillgänglig: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32013H0165&from=EN> [2016-03-16]
- Europeiska Unionen (2013b) Kommissionens rekommendation av den 27 mars 2013 om förekomsten av T-2-toxin och HT-2-toxin i spannmål och spannmålsprodukter (2013/165/EU). *Europeiska unionens officiella tidning L91, 12-17*. Tillgänglig: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/SV/TXT/PDF/?uri=CELEX:32013H0165> [2016-05-24]
- Europeiska Unionen (2015) Kommissionens förordning av den 28 oktober 2015 om ändring av förordning (EG) nr 1881/2006 när det gäller gränsvärden för mjöldryga i vissa typer av obearbetad spannmål och bestämmelserna om övervakning och rapportering (2015/1940/EU). *Europeiska unionens officiella tidning L283, 3-6*. Tillgänglig: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/SV/TXT/PDF/?uri=CELEX:32015R1940&from=SV> [2016-05-24]
- 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(2), ss. 284-291.
- Johnson, P. J., Casteel, S., W. & Messer, N. T. (1997). Effect of feeding deoxynivalenol (vomitoxin)-contaminated barley to horses. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 9, ss. 219-221.
- Jordbruksverket (2015-12-29). *Vad är foder?* Tillgänglig: <http://www.jordbruksverket.se/arnesomraden/djur/foder/foderforolikadjurslag/vadarfoder.4.4857c20614f85be661ba7dba.html> [2016-05-02]
- Kiessling, K.H. & Pettersson, H. (1977). Har vi ett mykotoxinproblem i Sverige? Uppsala: Lantbrukshögskolans meddelanden: Serie A, nr 270.
- Kiessling, K.H., Pettersson, H., Sandholm, K. & Olsen, M. (1984). Metabolism of aflatoxin, ochratoxin, zearalenone, and 3 trichothecenes by intact rumen fluid, rumen protozoa, and rumen bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 47(5), ss. 1070-1073.
- Liesener, K., Curtui, V., Dietrich, R., Martlbauer, E. & Usleber, E. (2010). Mycotoxins in horse feed. *Mycotoxin research* 26 (1), ss. 23-30.
- Meireles, M., Corrêa, B., Fischman, O., Gambale, W., Paula, C., Chacon-Reche, N. & Pozzi, C. (1994). Mycoflora of the toxic feeds associated with equine leukoencephalomalacia (ELEM) outbreaks in Brazil. *Mycopathologia* 127(3), ss. 183-188.
- Minervini, F., Giannoccaro, A., Nicassio, M., Panzarini, G. & Lacalandra, G. M. (2013). First Evidence of Placental Transfer of Ochratoxin A in Horses. *Toxins* 5(1), ss. 84-92.
- Nordkvist, E. & Häggblom, P. (2014). Fusarium mycotoxin contamination of cereals and bedding straw at Swedish pig farms. *Animal Feed Science and Technology* 198, ss. 231-237.
- Pettersson, H. (1996). Trichotecener, vanliga mykotoxiner i spannmål. *30:e Svenska Växtskyddskonferensen, 4*, ss. 43-48. (SLU Info/Redaktionen)
- Quinn, P. J., Markey, B. K., Carter, M. E., Donnelly, W. J., Leonard, F. C. (2002). *Veterinary microbiology and microbial disease*. Oxford: Oxford : Blackwell Science, ss. 260-268.
- Quinn, P. J., Markey, B. K. (2003). *Concise review of veterinary microbiology*. Oxford: Oxford : Blackwell Science, ss. 84-87.
- Raymond, S., Heiskanen, M., Smith, T., Reiman, M., Laitinen, S. & Clarke, A. (2000). 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(10), ss. 616-621.
- Raymond, S.L., Smith, T.K. & Swamy, H.V.L.N. (2005). Effects of feeding a blend of grains naturally contaminated with Fusarium mycotoxins on feed intake, metabolism, and indices of athletic performance of exercised horses. *Journal of animal science* 83(6), ss. 1267-1273.
- Torp, M. & Langseth, W. (1999). Production of T-2 toxin by a Fusarium resembling Fusarium poae. *Mycopathologia* 147(2), ss. 89-96.

- Vesonder, R., Haliburton, J., Stubblefield, R., Gilmore, W. & Peterson, S. (1991). Aspergillus flavus and aflatoxins B 1 , B 2 , and M 1 in corn associated with equine death. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 20(1), ss. 151-153.
- Wagener, R.E., Davis, N.D. & Diener, U.L. (1980). Penitrem A and Roquefortine Production by *Penicillium commune*. *Applied and Environmental Microbiology* 39(4), ss. 882.
- Weidner, M., Welsch, T., Hübner, F., Schwerdt, G., Gekle, M. & Humpf, H.-U. (2012). Identification and apoptotic potential of T- 2 toxin metabolites in human cells. *Journal of agricultural and food chemistry* 60(22), ss. 5676-5674.
- Wilson, T.M., Ross, P.F., Rice, L.G., Osweiler, G.D., Nelson, H.A., Owens, D.L., Plattner, R.D., Reggiardo, C., Noon, T.H. & Pickrell, J.W. (1990). Fumonisin B1 levels associated with an epizootic of equine leukoencephalomalacia. *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc* 2(3), ss. 213.
- Zachariasova, M., Dzuman, Z., Veprikova, Z., Hajkova, K., Jiru, M., Vaclavikova, M., Pospichalova, M., Florian, M. & Hajslova, J. (2014). Occurrence of multiple mycotoxins in European feedingstuffs, assessment of dietary intake by farm animals. *Animal Feed Science and Technology* 194, ss. 124-140.