

Rapport 5 · 2014

Rapport overvåkingsprogram - fôr til landdyr

*Aksel Bernhoft
Per-Erik Clasen
Ellen Christensen
Trude Vrålstad*





Veterinærinstituttets rapportserie · 5 - 2014

Tittel

Rapport overvåkingsprogram
- fôr til landdyr

Publisert av

Veterinærinstituttet · Pb. 750 - Sentrum · 0106 Oslo

Form: Graf AS

Forsidebilde: Colourbox

Bestilling:

kommunikasjon@vetinst.no

Fax: + 47 23 21 60 95

Tel: + 47 23 21 60 00

ISSN 1890-3290 elektronisk utgave

Forslag til sitering:

Bernhoft, A, Clasen, PE, Christensen, E, Vrålstad, T. Rapport
overvåkingsprogram - fôr til landdyr. Veterinærinstituttets
rapportserie 5-2014. Oslo: Veterinærinstituttet; 2014.

© Veterinærinstituttet

Kopiering tillatt når kilde gjengis



Veterinærinstituttets rapportserie
— Norwegian Veterinary Institute's Report Series

Rapport 5 · 2014

Rapport overvåkingsprogram - fôr til landdyr

Forfattere

Aksel Bernhoft

Per-Erik Clasen

Ellen Christensen

Trude Vrålstad

Bestilt av

Mattilsynet

06.05.2014

ISSN 1890-3290 elektronisk utgave



Veterinærinstituttet
— Norwegian Veterinary Institute

Forord

På oppdrag for Mattilsynet (MT) har Veterinærinstituttet (VI) mottatt 58 prøver av havre, 34 prøver av fôr til gris, 21 prøver av fôr til drøvtyggere, samt 5 prøver av importerte fôrråvarer som er sendt inn i løpet av 2013. Prøvene utgjør MTs overvåkingsprogram for sopp og mykotoksiner i fôr og fôrråvarer. Havreprøvene er innsendt fra MTs distriktskontorer i Norges kornområder, mens fôrprøvene og importprøvene er innsendt fra diverse distrikter.

Denne rapporten oppsummerer resultatene for 2013 og sammenligner med resultater fra tidligere år. Prøvene er i hovedsak analysert fortløpende etter at de ble mottatt gjennom året, men analyser av *Fusarium*-arter med ny metodikk ble forsinket og ferdig først våren 2014. Prøvene av havre og svinefôr er undersøkt for trichothecener (DON, HT-2, T-2 og nivalenol), og utvalgte havreprøver er også undersøkt for zearalenon. Førte havreprøver er undersøkt mykologisk (total muggsopp, lagringssopp, og total *Fusarium*). For å bedre kunne følge med på utviklingen i sammensetningen av *Fusarium*-arter, har vi etter avtale med MT utviklet en molekylær metode for identifisering og relativ mengdefordeling av de ulike *Fusarium*-artene i kornprøvene. Denne metoden er benyttet på 20 av havreprøvene som viste høy forekomst av total *Fusarium*. Forskerne Hege Divon og David Strand har sammen med Trude Vrålstad stått bak metodeutviklingen. Prøvene er analysert ved VIs Avdeling for diagnostikk, mens Avdeling ved helseovervåking har hatt prosjektledelsen.

Kontaktpersoner i MT har vært Hans Birger Glende og Rolf Horntvedt, Tilsynsavdelingen, Hovedkontoret.

Oslo, 6. mai 2014

Aksel Bernhoft (seniorforsker), Ellen Christensen (forsker), Per-Erik Clasen (overingeniør) og Trude Vrålstad (seniorforsker).

Innhold

Innledning.....	6
Materiale og Metoder	7
Resultater og diskusjon	9
Havreprøver	9
Svinefôr og drøvtyggerfôr	13
Importprøver	13
Konklusjon	13
APPENDIX.....	14

Innledning

Mykotoksiner er sekundære metabolitter produsert av muggsopparter og er giftige for dyr eller mennesker. Det er ikke alle muggsopparter som produserer mykotoksiner. Noen arter produserer kun et enkelt mykotoksin, men det er vanligere at de kan produsere flere. Noen mykotoksiner kan produseres av flere muggsopparter. Blant de mest kjente mykotoksinene er aflatoksiner, okratoksin A, trichothecener, zearalenon og fumonisiner. Kjente giftproduserende muggsoppslekter er *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Claviceps* og *Alternaria*.

Klima og de årlige variasjonene i været har innvirkning på hvilke sopparter og mykotoksiner som dannes. Muggsoppene kan smitte korn i åkeren (feltmuggsopp), eller de kan dannes under lagring (lagringsmuggsopp). I norskprodusert korn har vi i mange år hatt oppmerksomhet på trichothecener som dannes av *Fusarium*. *Fusarium* tilhører feltmuggsoppene. De krever forholdsvis høy vannaktivitet (> 20 % vanninnhold), men kan vokse ved relativt lave temperaturer. De trives best ute på åkeren, men kan fortsette å vokse på lagret korn inntil vanninnholdet kommer under 20 %. Kornet er spesielt mottakelig for smitte i perioden under og etter blomstring. Ved mye nedbør i juli er det derfor stor sannsynlighet for at kornet blir kraftig smittet med *Fusarium*.

Trichothecenerne er den største gruppa av mykotoksiner som produseres av arter i soppfamilien *Fusarium*. Trichothecener deles opp i gruppene A, B, C og D. Det er først og fremst gruppene A og B som dannes av *Fusarium* arter som vokser på korn. Gruppe B omfatter bl.a. deoksynivalenol (DON) som er det toksinet som påvises oftest og i høyest konsentrasjoner både i Norge og det meste av verden (VKM, 2013). *Fusarium graminearum* og *F. culmorum* er de viktigste produsentene av DON. Til gruppe B hører også nivalenol som vanligvis påvises i ubetydelige mengder i korn, først og fremst av *F. poae*. Til gruppe A hører bl.a. T-2 toksin (T-2) og HT-2 toksin (HT-2) som hos oss først og fremst produseres av *F. langsethiae*.

Blant symptomer hos dyr som følge av høye DON-verdier er forvegring, redusert forutnyttelse og vekst, diaré og oppkast. Det har blitt observert redusert forinntak og redusert tilvekst hos slaktegris foret med nivåer av DON ned til 0,35-2,0 mg DON pr kg (VKM, 2013). DON i større doser kan nedsette immunforsvaret, mens det i lavere doser er vist å være immunstimulerende.

Gruppe A trichothecenerne er mer potente toksiner enn dem i gruppe B. I tillegg til redusert forinntak og vekst kan gruppe A-toksinene lettere gi sår i fordøyelseskanalen og immunsuppresjon (VKM, 2013).

Det østrogenlignende mykotoksinet zearalenon produseres av de samme *Fusarium*-artene som DON. Vi har hatt begrenset forekomst av zearalenon i norsk korn, men toksinet kan utgjøre et større problem sørover i Europa. Okratoksin A dannes av typisk lagringsmuggsopp i slektene *Penicillium* og *Aspergillus*, og kan bli problem dersom korn og annet for lagres for fuktig og varmt. De mest kjente effektene er nyreskade, men okratoksin A kan også redusere immunforsvaret og gi andre effekter. Aflatoksiner dannes av *Aspergillus*-arter ved tropisk varme og fuktighet. De kan være problem i forvarer som mais, fra tropiske områder. Aflatoksinene fremkaller leverkreft. Det vanligste og mest potente er aflatoksin B1. Dette toksinet omdannes lett til en annen aktiv metabolitt aflatoksin M1 i drøvtyggenes vom og skilles ut i melken.

Materiale og Metoder

Alle prøvene som inngår i overvåkingsprogrammet for 2013 ble tatt ut av de lokale distriktskontorene i Mattilsynet i perioden februar til november 2013. Det er analysert 58 prøver av havre, 34 prøver av svinefôr, 21 prøver av drøvtyggerfôr samt 5 prøver av importerte råvarer (mais, soya). Havreprøvene er samlet inn fra landets kornområder, hovedsakelig fra ulike distrikter på Østlandet og fire prøver fra Trøndelag. Prøvene av drøvtyggerfôr og svinefôr er samlet inn fra hele landet.

Alle havreprøvene er analysert for trichothecenene DON, nivalenol, HT-2 toksin og T-2 toksin. Det ble i tillegg analysert for zearalenon i 20 av havreprøvene med høyest innhold av DON. Det ble gjort en kvantifisering av total *Fusarium* og muggsopp i 40 av havreprøvene. I 20 utvalgte prøver med høyest forekomst av *Fusarium* ble det i tillegg gjort en molekylærbiologisk screening av de ulike *Fusarium*-artene som var til stede. Denne nyutviklede screening-metoden identifiserer artene, og angir samtidig den relative mengdefordeling av de involverte artene per prøve.

Alle prøvene av svinefôr er analysert for trichothecener. Alle prøvene av drøvtyggerfôr og de fem prøvene av importerte råvarer er analysert for aflatoksin (B1, B2, G1 og G2).

Analysemetode for bestemmelse av DON, nivalenol, HT-2 toksin, T-2 toksin

Metoden som er selvutviklet, omfatter opprensning ved bruk av MycoSep#225 kolonner fra Romers Lab, og videre kvantitativ bestemmelse ved bruk av gasskromatografi med massespektrometrisk deteksjon (GC-MS). Deteksjonsgrensene for DON, nivalenol, HT-2 og T-2 i kornprodukter er bestemt til 20 µg/kg for DON og HT-2 toksin, og 30 µg/kg for nivalenol og T-2. Grunnet feil på VIs GC-MS instrument ble alle trichothecen-analysene i perioden fra og med juni til og med oktober 2013 utført ved Premier Analytical Services i England. Deres metode er akkreditert og analysesvarene er korrigert for gjenfinning. Som VI benytter de GC-MS til analyse av toksinene. Samtlige trichothecener i deres metodikk har en deteksjonsgrense på 10 µg/kg og en kvantifiseringsgrense på 30 µg/kg.

Analysemetode for bestemmelse av zearalenon

Metoden omfatter opprensning ved bruk av en immunoaffinitetskolonne (VICAM) og kvantitativ bestemmelse ved hjelp av et væskechromatografisk system (HPLC) med fluorescensdetektor (Shimadzu RF 10-AXL). Deteksjonsgrensen for zearalenon i korn er 2,0 µg/kg.

Analysemetode for bestemmelse av aflatoksinene B1, B2, G1 og G2

Metoden baserer seg i stor grad på metode; Norsk Standard, NS-EN 12955; bestemmelse av aflatoksin B1 og summen av aflatoksinene B1, B2, G1 og G2 i korn, nøtter og produkter av disse. Metoden omfatter opprensning ved bruk av en immunoaffinitetskolonne (Aflaprep, Rhône Diagnostics) og kvantitativ bestemmelse ved hjelp av et væskechromatografisk system (HPLC) med fluorescens detektor (Shimadzu RF 10-AXL). Deteksjonsgrensen for aflatoksin B1, B2, G1 og G2 er henholdsvis 0,25, 0,10, 0,20 og 0,15 µg/kg i mais.

Analysemetode for kvantifisering av muggsopp og Fusarium

For kvantitativ forekomst av sopp ble det benyttet NMKL-metode No 981, der kun Malt-yeast extract-sucrose-agar (MYSA) ble benyttet som vekstmedium. I tillegg til total mengde muggsopp ble det gjort en kvalitativ bestemmelse av soppfloraens sammensetning, og *Fusarium* og lagringsopp ble telt for seg. Deteksjonsgrensen for muggsopp i fôrvarer er 50 kde/g.

Molekylær identifisering og relativ mengdefordeling av Fusarium-arter

Etter avtale med MT har vi utviklet en ny molekylær screeningmetode som parallelt identifiserer og angir relativ mengdefordeling av de ulike artene av *Fusarium* i kornprøvene. Metoden er basert på pyrosekvenseringsteknologi (PyroMark Q24), og kan identifisere de fleste arter av *Fusarium* som er kjent fra Norge som *F. avenaceum*/*F. tricinctum*, *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. langsethiae*.

Metoden skiller ikke godt mellom *F. avenaceum* og *F. tricinctum*, og resultatene for *F. avenaceum* som oppgis i denne rapporten har tilleggsstøtte i dyrkningsresultater. De 20 kornprøvene med høyest forekomst av total *Fusarium* ble valgt for PyroMark analyse. Kornprøvene ble kvernet og homogenisert, og DNA ble ekstrahert med FastDNA™ SPIN Kit for soil (MP Biomedicals, France) fra ~200 mg prøvemateriale. Deretter ble DNA videre oppformert med PCR hvor vi benyttet *Fusarium*-spesifikke PCR primere som skal fange opp alt DNA av *Fusarium* i prøven. Identifisering og relativ mengdefordeling av involverte *Fusarium*-arter ble deretter analysert med PyroMark. Nedre grense for deteksjon er 5 %, og usikkerhetsmarginen for den prosentvise mengdefordelingen er +/- 5 %. I tillegg ligger det en usikkerhet i selve PCR prosessen (oppformering av DNA). Her har dominerende art(er) et konkurransefortrinn, og arter som kun er representert i svært små DNA mengder risikerer å ikke bli oppformert i påviselig mengde for PyroMark sekvensering.

Generelt om analysene

Laboratoriet har vært akkreditert siden april 1998 og analysemetodene for bestemmelse av aflatoksiner og trichothecener har vært akkreditert siden den gang. Analysemetoden for kvantifisering av muggsopp har vært akkreditert siden 2010.

I hver analyseserie for mykotoksiner blir det kjørt referanseprøve eller kontrollprøve samt standard tilsetningsprøver. Hvis disse prøvene ikke kommer innenfor akseptable grenser, vil analyseserien bli kjørt på nytt. Alle prøveresultatene er korrigert for gjenfinning.

I tallberegningene er det benyttet halv deteksjonsgrense for prøver under deteksjonsgrensen, og middelvei av deteksjonsgrense og kvantifiseringsgrense der hvor det er påvist spormengder av mykotoksiner.

Den molekylære screeningmetoden er nyutviklet og ikke akkreditert. Den er kun utprøvd på et begrenset antall prøver i tillegg til det prøvematerialet som er analysert i dette prosjektet. Metoden trenger ytterligere optimalisering, bl.a. for bedre å skille mellom *F. avenaceum* og *F. tricinctum*.

Resultater og diskusjon

Havreprøver

Trichothecener

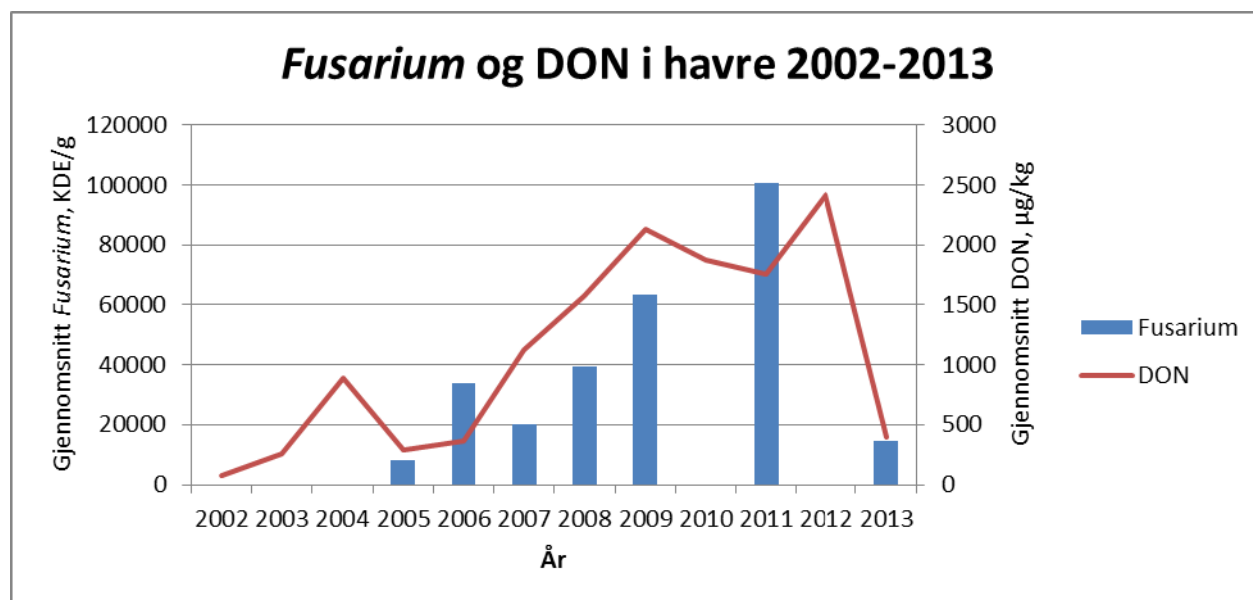
De 58 prøvene av havre hadde en gjennomsnittlig konsentrasjon av DON på 401 µg/kg, og høyeste målte DON-verdi var 4.780 µg/kg (tabell 1). Summen av HT-2 og T-2 var gjennomsnittlig 158 µg/kg og høyeste verdi 558 µg/kg. Nivalenol var kvantifiserbar i under halvparten av prøvene med beregnet gjennomsnitt i alle prøver på 28 µg/kg med høyeste verdi 214 µg/kg.

Tabell 1. Oversikt over gjennomsnitt, median, min.-maks. og standardavvik for alle havre-prøvene.

	Muggsopp, kde/g	Lagringssopp kde/g	<i>Fusarium</i> kde/g	DON, µg/kg	HT-2 + T2 µg/kg	NIV µg/kg	Zea µg/kg
Antall	40	40	40	58	58	58	20
Gjennomsnitt	551.225	39.801	14.638	401	158	28	34
Median	300.000	< 50	5.000	177	88	20	< 3
Minimum- maksimum	5.000- 3.300.000	< 50- 900.000	< 50- 200.000	< 20- 4.780	< 20- 625	< 10- 214	< 3- 441
St.avvik	648.955	144.371	32.691	715	161	40	101

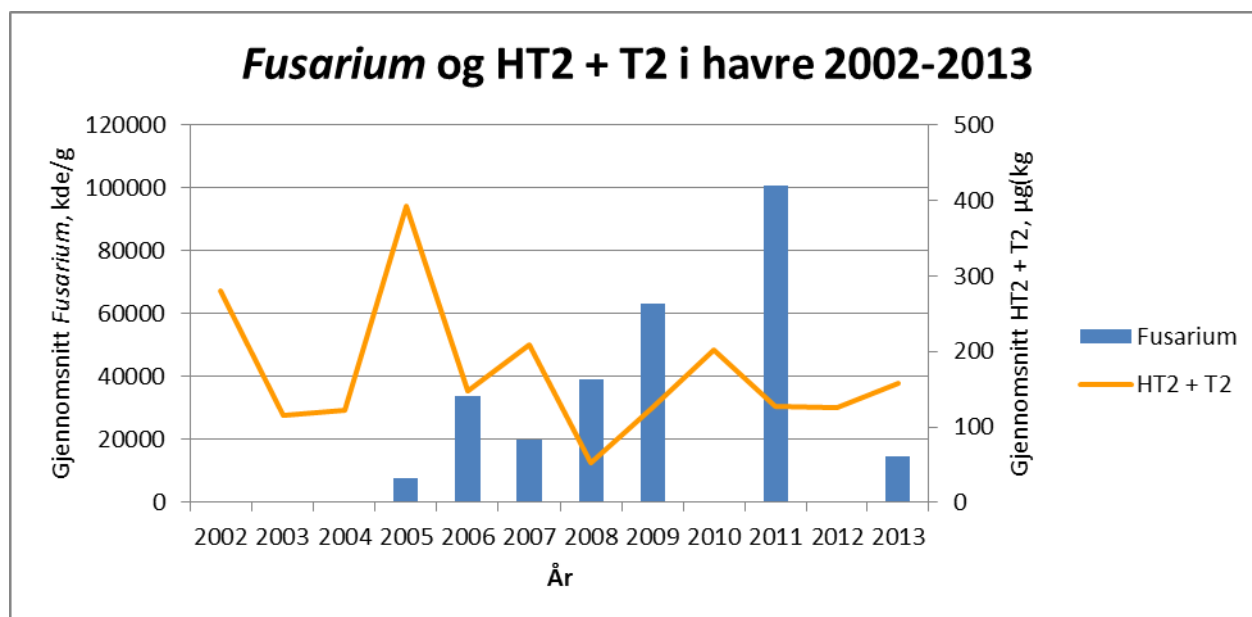
kde = kolonidannende enheter

Gjennomsnittsnivået av DON i havreprøvene er det laveste vi har målt siden 2005 og er om lag 1/6 av gjennomsnittet som ble målt i toppåret 2012 (figur 1). Sommeren 2013 var varm og mindre fuktig enn det vi opplevde en rekke tidligere somre, noe som kan være med på å forklare det lavere DON-nivået i kornet. Figur 1 antyder også at det er en viss sammenheng mellom total *Fusarium* og DON i kornet gjennom årene, men merk at *Fusarium* ikke er målt eller angitt for alle årene.



Figur 1. Gjennomsnittlig konsentrasjon per år av total *Fusarium* og DON i havreprøver (N=30-76 prøver pr år) samlet inn av Mattilsynet i årlig kontrollprogram av sopp og mykotoksiner i fôrråvarer i årene 2002-13.

HT-2 og T-2 viste i 2013 et nivå på gjennomsnittet av tidligere år (figur 2). DON og HT-2/T-2 produseres av forskjellige *Fusarium*-arter, og det er vanligvis liten grad eller ingen sammenheng mellom dem i korn. Figur 2 antyder at det ikke er noen sammenheng mellom total *Fusarium* og summen av HT-2 og T-2 i kornprøvene analysert gjennom årene.



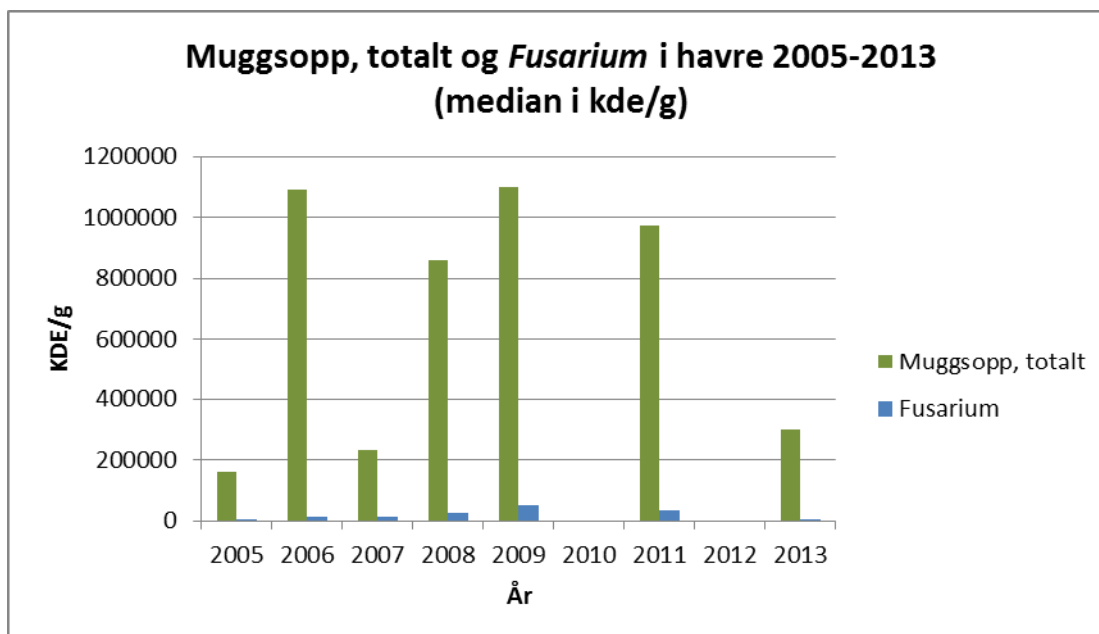
Figur 2. Gjennomsnittlig konsentrasjon per år av total *Fusarium* og HT-2 + T-2 toksin i havreprøver (N=30-76 prøver pr år) samlet inn av Mattilsynet i årlig kontrollprogram av sopp og mykotoksiner i forråvarer i årene 2002-13.

Zearalenon

De 20 prøvene med høyest nivå av DON ble også analysert for zearalenon. Gjennomsnittlig konsentrasjon av zearalenon var 33 µg/kg og høyeste verdi 441 µg/kg (tabell 1). Prøven med høyest innhold av zearalenon hadde også høyest DON-innhold og resultatene kan indikere en viss sammenheng mellom forekomsten av de to toksinene som produseres av samme *Fusarium*-arter. Men zearalenon ble kun funnet i kvantifiserbare konsentrasjoner i fem av prøvene, og resultatene bekrefter tidligere erfaring at det er må være forskjellige miljøfaktorer for produksjon av zearalenon og DON i kornet.

Fusarium og total muggsopp

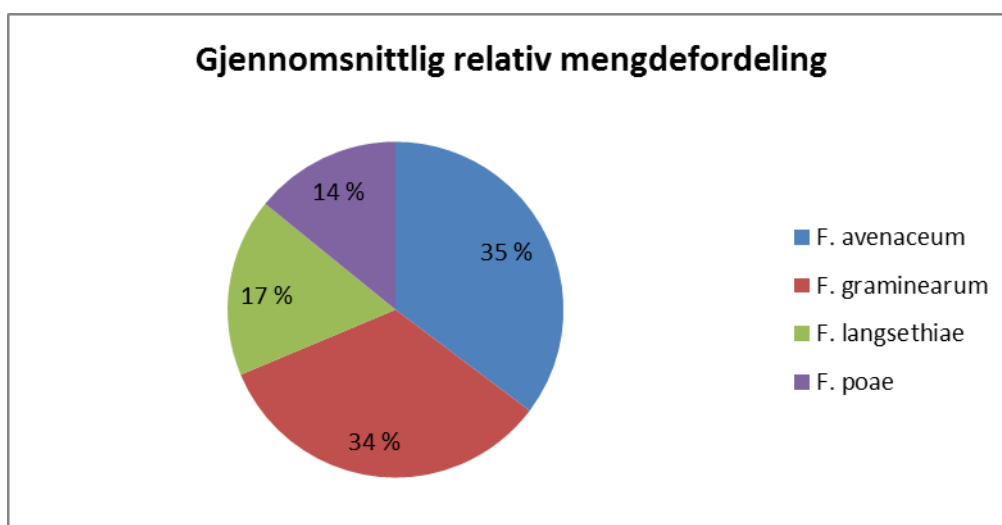
Gjennomsnittlig forekomst av total mengde muggsopp var 551.225 kde/g og høyeste verdi var 3.300.000 kde/g (tabell 1). Forekomsten av muggsopp var dominert av feltflora, og *Fusarium* utgjorde som vanlig en svært liten andel av den totale mengden muggsopp. Figur 3 illustrerer sammenhengen mellom muggsopp og *Fusarium* fra de senere årene. Gjennomsnittlig forekomst av *Fusarium* var 14.638 kde/g og høyeste verdi var 10.000 kde/g. Dette er laveste forekomst av *Fusarium* siden 2005. Gjennomsnittlig forekomst av lagringsmuggsopp var 39.801 kde/g og høyeste verdi var 900.000 kde/g. Seks prøver (15 %) hadde forekomst av lagringsmuggsopp over anbefalt grenseverdi på 50.000 kde/g, mens det i 22 prøver (55 %) ikke ble påvist forekomst av lagringsmuggsopp over deteksjonsgrensen på 50 kde/g.



Figur 3. Forekomst (median) av total *Fusarium* og total muggsopp i havreprøver samlet inn av Mattilsynet i årlig kontrollprogram av sopp og mykotoksiner i fôrråvarer i årene 2005-13.

Mengdefordeling og identifisering av *Fusarium*-arter

Fra de 20 prøvene analysert med PyroMark-sekvensering, ble det identifisert fire arter: *F. avenaceum*, *F. graminearum*, *F. langsethiae* og *F. poae*. Den gjennomsnittlige relative mengdefordelingen indikerer at *F. avenaceum* forekommer hyppigst, tett etterfulgt av *F. graminearum*, mens de to sistnevnte gjennomsnittlig har en lavere forekomst (figur 4). Imidlertid var det stor variasjon i fordelingen av *Fusarium*-arter fra prøve til prøve: *Fusarium avenaceum* varierte fra 16-70 %, *F. graminearum* fra 13-100 %, *F. langsethiae* fra 10-60 % og *F. poae* fra 5-50 % (figur 5). Dette er ikke et mål på kvantitativ infeksjonsgrad, men kun et mål på relativ mengdefordeling av artene som er til stede i den enkelte prøve. I 18 av prøvene ble det påvist 3-4 *Fusarium* arter, noe som indikerer at kornet sjeldent infiseres av kun en art alene.



Figur 4. Gjennomsnittlig fordeling av påviste *Fusarium*-arter i 20 havreprøver analysert med PyroMark-sekvensering.

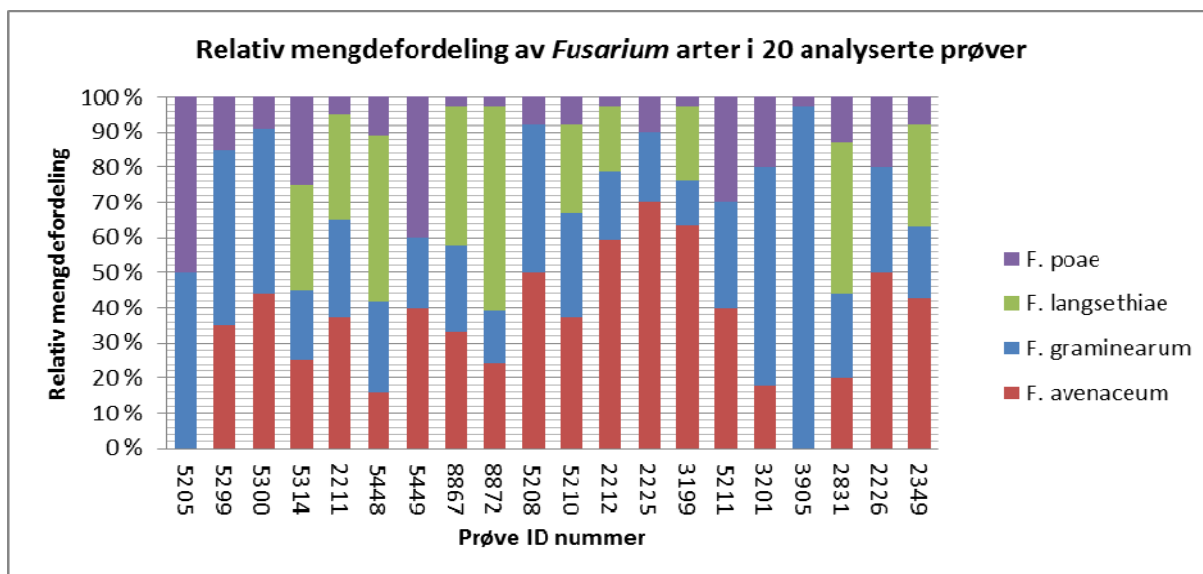
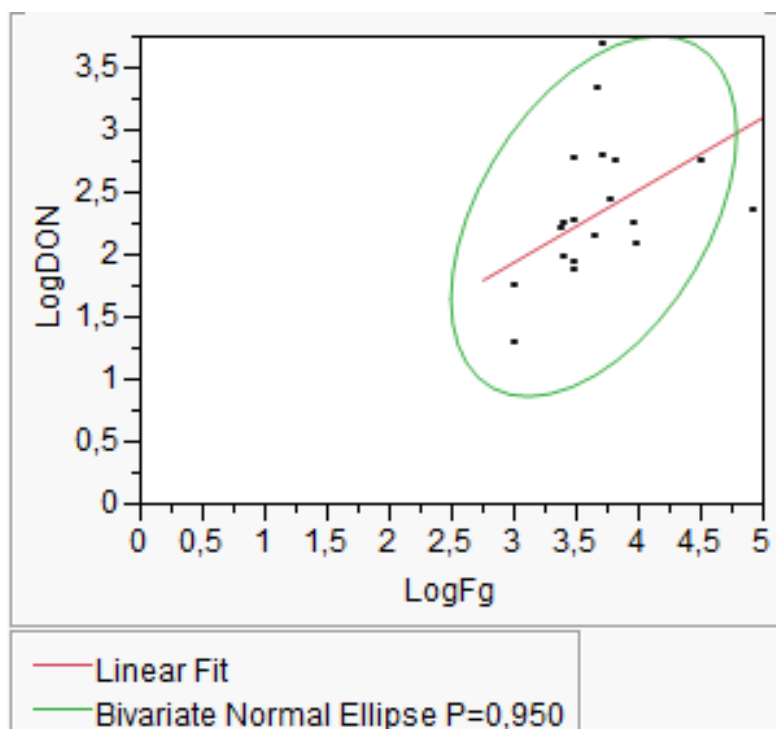


Fig 5. Resultatene fra 20 utvalgte kornprøver basert på PyroMark sekvensering (data fra Appendix Tabell 5). Relativ mengdefordeling av identifiserte *Fusarium*-arter per prøve.

Det er *F. graminearum* og *F. langsethiae* man er spesielt opptatt av i kornet fordi de er hovedproduktene av henholdsvis DON og HT-2/T-2. Statistisk undersøkelse av sammenhengen mellom estimert mengde *F. graminearum* (beregnet fra relativ fordeling vha Pyromark som andel av total *Fusarium*) og DON er vist i figur 6. Sammenhengen er statistisk signifikant, men de aller høyeste DON-verdiene ble funnet ved et moderat nivå av *F. graminearum*. I prøven med den aller høyeste DON-verdien på 4780 µg/kg ble *F. graminearum* imidlertid påvist som eneste *Fusarium*-art. Det ble ikke påvist en signifikant sammenheng mellom *F. langsethiae* og HT-2+T-2 i kornprøvene.



Figur 6. Sammenhengen mellom estimert mengde *F. graminearum* (beregnet fra relativ fordeling vha Pyromark som andel av total *Fusarium*, kde/g) og DON (µg/kg) i 20 havreprøver. Skalaene er log 10-transformerte. Korrelasjonskoeffisienten $r=0,46$, og $P=0,04$.

For to tiår siden var *F. culmorum* den dominerende DON-produsenten i norsk korn. Det er påfallende at *F. culmorum* ikke ble påvist i dette materialet, men det følger en tendens man har sett de senere årene med mer *F. graminearum* og mindre *F. culmorum* i kornet.

Det skal også bemerkes at *F. avenaceum* dominerte i de undersøkte prøvene, og denne arten er regnet for den dominerende i norsk korn over mange år basert på dyrkningsresultater. Også denne arten produserer toksiner, blant annet moniliformin og enniatiner, hvor de toksiske effektene foreløpig er lite studert. En ny Dr.-avhandling ved VI viser imidlertid at enniatiner er lite toksiske.

Geografiske forskjeller

Sammenligning av analyseresultater (sopp og toksiner) fra havreprøvene samlet inn fra ulike distrikter kan indikere distriktsforskjeller, men det er få prøver pr distrikt så man skal være forsiktig med å konkludere. Det ble funnet lite HT-2 og T-2 i kornet fra Trøndelag, noe som er i samsvar med resultater fra tidligere år. I Appendix er vist tabell over resultatene distriktsvis.

Svinefôr og drøvtyggerfôr

Det ble påvist DON i samtlige 34 prøver av svinefôr med gjennomsnitt 327 µg/kg og høyeste verdi 1365 µg/kg. Totalt fem av disse ble funnet til å være over 500 µg/kg, dermed over anbefalt grense for svinefôr. De relativt høye nivåene i 2013 kan muligens gjenspeile at fôret var laget av korn fra DON-toppåret 2012. Likevel er det noe overraskende med overskridelser av DON i fôr da næringen de siste årene har tatt i bruk hurtigtester for DON-måling. Prøver samlet fra Østfold og Trøndelag utmerket seg med relativt høye DON-nivåer.

I svinefôrprøvene ble det kun påvist spormengder av HT-2 og T-2 toksin i et fåtall av prøvene.

I drøvtyggerfôret ble det kun påvist spormengder av aflatoksin B1 i seks prøver (0,1-0,2 µg/kg) av totalt 21 analyserte prøver.

Importprøver

Importprøvene bestod av 4 prøver av soya samt en prøve av maisgluten. De ble alle analysert for aflatoksiner. Det ble påvist aflatoksin i en prøve av soya og i prøven av maisgluten på henholdsvis 4,2 og 1,1 µg/kg. Begge prøvene ligger godt under gjeldende grenseverdi. De få importprøvene er kun brukbare i samband med stikkprøve-kontroll, og resultatene kan ikke vurderes i kartleggingssammenheng.

Konklusjon

Innholdet av DON i havre i 2013 er det laveste vi har målt siden 2005 og er om lag 1/6 av gjennomsnittet som ble målt i toppåret 2012, noe som kan ha sammenheng med at sommeren 2013 var relativt varm med lite nedbør. HT-2 og T-2 toksin i havre viste i 2013 et nivå på gjennomsnittet av tidligere år. Zearalenon-innholdet i havre viste stor variasjon, men var gjennomgående lavt. DON og total *Fusarium* ser ut til å ha en viss sammenheng gjennom årene, men det er ingen sammenheng mellom summen av HT-2 og T-2 og total *Fusarium*. Resultatene med bruk av den nye molekylære metoden for *Fusarium*-identifisering viste at det var en signifikant sammenheng mellom *F. graminearum* og DON, men ingen tilsvarende sammenheng mellom *F. langsethiae* og HT-2+T-2.

Prøver av svinefôr som ble undersøkt for trichothecener, viste til dels betydelig innhold av DON, der en del prøver var over anbefalt grense. Drøvtyggerfôret som ble undersøkt for aflatoksiner, inneholdt kun spor av toksin i enkelte prøver.

APPENDIX

Appendix Tabell 1. Oversikt over forekomst av sopp (n=40) og mykotoksiner (n=58) i havreprøver fra 2013

Distriktskontor	ID	Kornsort	Muggsopp, kde/g	Lagringssopp kde/g	<i>Fusarium</i> kde/g	DON, µg/kg	HT-2 µg/kg	NIV µg/kg	T2 µg/kg	Zea µg/kg
Hadeland og Ringerike	2828	Havre	820000	10000	3000	160	322	P	93	
Hadeland og Ringerike	2832	Havre	170000	< 50	2000	157	P	< 10	< 10	
Hadeland og Ringerike	2826	Havre				131	38	< 10	P	
Hadeland og Ringerike	2831	Havre	350000	100000	40000	121	140	55	47	
Hadeland og Ringerike	2829	Havre				86	66	42	34	
Hadeland og Ringerike	2830	Havre	90000	< 50	1000	68	P	< 10	< 10	
Hadeland og Ringerike	2827	Havre				48	163	P	79	
Hedmarken	3904	Havre				1670	380	P	110	137
Hedmarken	3902	Havre	250000	< 50	3500	529	154	< 10	41	18
Hedmarken	3903	Havre				196	40	< 10	P	
Indre Østfold og Follo	2236	Havre				785	215	P	64	< 3
Indre Østfold og Follo	2215	Havre				741	68	P	P	< 3
Indre Østfold og Follo	2226	Havre	110000	< 50	10000	586	38	P	< 10	< 3
Indre Østfold og Follo	2228	Havre				252	82	30	P	
Indre Østfold og Follo	2213	Havre				195	P	< 10	P	
Indre Østfold og Follo	2211	Havre	550000	< 50	32000	181	68	32	P	
Indre Østfold og Follo	2227	Havre	130000	5000	3000	89	98	< 10	49	
Indre Østfold og Follo	2212	Havre	770000	70000	15000	87	157	< 10	96	
Indre Østfold og Follo	2225	Havre	200000	< 50	15000	74	< 10	< 10	< 10	
Indre Østfold og Follo	2210	Havre				P	P	< 10	< 10	
Nord-Gudbrandsdal	3905	Havre	40000	5000	5000	4780	281	64	102	441
Nord-Gudbrandsdal	3906	Havre				649	336	46	131	P
Nord-Gudbrandsdal	3912	Havre	73000	41000	4000	298	37	< 10	< 10	< 3
Nord-Gudbrandsdal	3910	Havre	220000	18000	4000	79	P	< 10	P	

Romerike	5300	Havre	1300000	< 50	10000	2110	165	40	55	< 3
Romerike	3200	Havre	550000	< 50	4500	1010	< 10	47	< 10	< 3
Romerike	5299	Havre	500000	< 50	10000	619	33	200	< 10	< 3
Romerike	3201	Havre	700000	50000	50000	574	76	64	P	24
Romerike	3199	Havre	800000	< 50	50000	552	183	P	58	< 3
Romerike	5296	Havre	200000	< 50	3500	257	237	< 10	89	
Romerike	5304	Havre	910000	< 50	5000	177	183	43	46	
Romerike	5297	Havre	860000	19000	2500	130	301	P	146	
Romerike	5298	Havre	680000	< 50	5000	128	370	118	73	
Romerike	5314	Havre	910000	5000	5000	56	498	53	127	
Sør-Innherred	3502	Havre	40000	< 50	500	774	33	< 10	P	< 3
Sør-Innherred	3488	Havre				289	P	< 10	< 10	P
Sør-Innherred	3489	Havre	21000	< 50	1000	285	29	< 10	< 10	< 3
Sør-Innherred	3501	Havre	5000	2000	500	128	< 10	< 10	< 10	
Valdres og Gjøvikreg.	2347	Havre	65000	< 50	1000	36	P	P	< 10	
Valdres og Gjøvikreg.	2349	Havre	210000	10000	5000	P	35	< 10	P	
Valdres og Gjøvikreg.	2348	Havre				P	37	< 10	< 10	
Valdres og Gjøvikreg.	2346	Havre	70000	< 50	2500	P	83	< 10	38	
Vestfold	5413	Havre				514	P	P	P	< 3
Vestfold	5211	Havre	1500000	< 50	20000	277	94	< 10	64	< 3
Vestfold	5209	Havre				241	178	< 10	100	
Vestfold	5208	Havre	3300000	180000	200000	231	< 10	214	< 10	
Vestfold	5210	Havre	210000	< 50	10000	187	211	32	98	
Vestfold	5205	Havre	450000	< 50	5000	96	48	38	32	
Vestfold	5207	Havre	1000000	100000	< 50	37	< 10	< 10	< 10	

Ytre Østfold	8851	Havre				1403	< 10	< 10	< 10	13
Ytre Østfold	8870	Havre				497	116	51	59	< 3
Ytre Østfold	8867	Havre	1800000	900000	10000	177	229	P	81	
Ytre Østfold	5448	Havre	50000	< 50	9000	162	P	P	P	
Ytre Østfold	8872	Havre	1600000	< 50	30000	142	400	< 10	158	
Ytre Østfold	8873	Havre	350000	14000	500	47	P	< 10	< 10	
Ytre Østfold	8871	Havre	35000	2500	2500	39	231	< 10	42	
Ytre Østfold	8850	Havre				35	50	P	P	
Ytre Østfold	5449	Havre	160000	60000	5000	P	< 10	36	< 10	

kde = kolonidannende enheter

P = påvist spormengder mellom deteksjonsgrensen (10 µg/kg) og kvantifiseringsgrensen (30 µg/kg).

Appendix Tabell 2. Oversikt over gjennomsnitt, median, minimum-maksimum, og standardavvik fordelt på de ulike distrikter som Mattilsynet som har samlet prøvene fra i 2013.

Hadeland og Ringerike								
	Muggsopp	Lagringssopp	Fusarium	DON	HT-2	NIV	T2	Zea
Antall	4	4	4	7	7	7	7	0
Mean	357500	27513	11500	110	110	22	40	
Median	260000	5013	2500	121	66	20	34	
Range	90000-820000	25-100000	1000-40000	48-160	20-322	5-55	5-93	
St.avvik	326943	48553	19018	44	110	20	35	
Hedmarken								
	Muggsopp	Lagringssopp	Fusarium	DON	HT-2	NIV	T2	Zea
Antall	1	1	1	3	3	3	3	2
Mean	250000	25	3500	798	191	10	57	78
Median	250000	25	3500	529	154	5	41	78
Range	250000	25	3500	196-1670	40-380	5-20	20-110	18-137
St.avvik				773	173	9	47	84
Indre Østfold og Follo								
	Muggsopp	Lagringssopp	Fusarium	DON	HT-2	NIV	T2	Zea
Antall	5	5	5	10	10	10	10	3
Mean	352000	15015	15000	301	77	15	30	2
Median	200000	25	15000	188	68	13	20	2
Range	110000-770000	25-70000	3000-32000	20-785	5-215	5-32	5-96	2
St.avvik	293632	30813	10700	290	66	11	30	0
Nord-Gudbrandsdal								
	Muggsopp	Lagringssopp	Fusarium	DON	HT-2	NIV	T2	Zea
Antall	3	3	3	4	4	4	4	3
Mean	111000	21333	4333	1452	169	30	65	150
Median	73000	18000	4000	474	159	26	61	6
Range	40000-220000	5000-41000	4000-5000	79-4780	20-336	5-64	5-131	2-441
St.avvik	95828	18230	577	2231	163	30	62	252
Romerike								
	Muggsopp	Lagringssopp	Fusarium	DON	HT-2	NIV	T2	Zea
Antall	10	10	10	10	10	10	10	5
Mean	741000	7418	14550	561	205	61	62	6
Median	750000	25	5000	405	183	45	57	2
Range	200000-1300000	25-50000	2500-50000	56-2110	5-498	5-200	5-146	2-24
St.avvik	294371	16110	18847	621	154	58	48	10
Sør-Innherred								
	Muggsopp	Lagringssopp	Fusarium	DON	HT-2	NIV	T2	Zea
Antall	3	3	3	4	4	4	4	3
Mean	22000	683	667	369	20	5	9	3
Median	21000	25	500	287	20	5	5	2
Range	5000-40000	25-2000	500-1000	128-774	5-33	5	5-20	2-6
St.avvik	17521	1140	289	280	11	0	8	2
Valdres og Gjøvikregionen								
	Muggsopp	Lagringssopp	Fusarium	DON	HT-2	NIV	T2	Zea
Antall	3	3	3	4	4	4	4	0
Mean	115000	3350	2833	24	44	9	17	
Median	70000	25	2500	20	36	5	13	
Range	65000-210000	25-10000	1000-5000	20-36	20-83	5-20	5-38	
St.avvik	82310	5759	2021	8	27	8	16	
Vestfold								
	Muggsopp	Lagringssopp	Fusarium	DON	HT-2	NIV	T2	Zea
Antall	5	5	5	7	7	7	7	2
Mean	1292000	56015	47005	226	80	46	46	2
Median	1000000	25	10000	231	48	20	32	2
Range	210000-3300000	25-180000	25-200000	37-514	5-211	5-214	5-100	2
St.avvik	1228849	81718	85845	153	84	76	41	0

Ytre Østfold								
	Muggsopp	Lagringssopp	Fusarium	DON	HT-2	NIV	T2	Zea
Antall	6	6	6	9	9	9	9	2
Mean	665833	162758	9500	280	119	19	44	8
Median	255000	8250	7000	142	50	20	20	8
Range	35000-1800000	25-900000	500-30000	20-1403	5-400	5-51	5-158	2-13
St.avvik	811396	361901	10686	446	139	16	50	8

Appendix Tabell 3. Oversikt over trichothecener i prøver av svinefôr i 2013.

Distriktskontor	ID	Fôrtype	DON µg/kg	HT-2 µg/kg	NIV µg/kg	T2 µg/kg
Indre Østfold og Follo	2202	Svinefôr	446	<10	<10	<10
Indre Østfold og Follo	2204	Svinefôr	964	P	<10	<10
Indre Østfold og Follo	2233	Svinefôr	1365	54	P	<10
Ytre-Østfold	8868	Svinefôr	418	P	<10	<10
Ytre-Østfold	8874	Svinefôr	636	<10	P	<10
Ytre-Østfold	5452	Svinefôr	186	P	P	<10
Hedmarken	3901	Svinefôr	p	P	P	<10
Hedmarken	1910	Svinefôr	43	P	<10	<10
Hedmarken	1911	Svinefôr	53	P	p	<10
Hadeland or Ringerike	5334	Svinefôr	240	<20	<30	<30
Hadeland or Ringerike	5336	Svinefôr	187	<20	<30	<30
Hadeland or Ringerike	5330	Svinefôr	109	<20	<30	<30
Valdres og Gjøvikregionen	5074	Svinefôr	52	<20	<30	<30
Vestfold	5212	Svinefôr	104	P	<10	<10
Vestfold	5412	Svinefôr	88	<10	P	<10
Haugalandet	7575	Svinefôr	218	P	p	10
Haugalandet	7576	Svinefôr	321	<10	<10	<10
Hardanger og Voss	6920	Svinefôr	368	<10	p	<10
Sunnfjord og Ytre Sogn	6321	Svinefôr	186	41	<30	<30
Midt-Rogaland	2606	Svinefôr	296	<20	<30	<30
Midt-Rogaland	2625	Svinefôr	326	<20	<30	<30
Midt-Rogaland	3566	Svinefôr	262	<20	<30	<30
Midt-Rogaland	3567	Svinefôr	256	<20	<30	<30
Midt-Rogaland	3582	Svinefôr	198	P	P	<10
Midt-Rogaland	3585	Svinefôr	386	P	P	<10
Midt-Rogaland	3587	Svinefôr	252	P	P	<10
Sør-Innherred	3432	Svinefôr	681	<20	<30	<30
Sør-Innherred	3434	Svinefôr	207	P	<30	<30
Sør-Innherred	3459	Svinefôr	465	47	<10	<10
Sør-Innherred	3460	Svinefôr	120	P	<10	<10
Sør-Innherred	3467	Svinefôr	497	<10	P	<10
Sør-Innherred	3487	Svinefôr	281	P	P	<10
Sør-Innherred	3505	Svinefôr	522	<10	<10	<10
Sør-Innherred	3506	Svinefôr	350	<10	<10	<10

Appendix Tabell 4. Oversikt over gjennomsnitt, median, minimum-maksimum, og standardavvik fordelt på de ulike distrikter som Mattilsynet som har samlet prøvene fra i 2013.

Indre Østfold og Follo	DON	HT-2	NIV	T-2
Antall	3	3	3	3
Mean	925	22	8	n.d
Median	964	6	5	n.d
Range	446-1365	0-54	0-26	n.d
Standard avvik	461	28	5	n.d
Ytre Østfold	DON	HT-2	NIV	T-2
Antall	3	3	3	3
Mean	413	5	8	n.d
Median	418	5	6,5	n.d
Range	186-636	0-11	0-22	n.d
Standard avvik	225	0	3	n.d
Hedmarken	DON	HT-2	NIV	T-2
Antall	3	3	3	3
Mean	37	7	6	n.d
Median	43	7	6	n.d
Range	0-53	0-15	0-15	n.d
Standard avvik	21	1	1	n.d
Hadeland og Ringerike	DON	HT-2	NIV	T-2
Antall	3	3	3	3
Mean	179	n.d	n.d	n.d
Median	187	n.d	n.d	n.d
Range	109-240	n.d	n.d	n.d
Standard avvik	66	n.d	n.d	n.d
Haugalandet	DON	HT-2	NIV	T-2
Antall	2	2	2	2
Mean	270	7	6	n.d
Median	270	7	6	n.d
Range	218-321	0-18	0-14	n.d
Standard avvik	73	3	1	n.d
Midt-Rogaland	DON	HT-2	NIV	T-2
Antall	7	7	7	7
Mean	282	9	14	n.d
Median	262	10	15	n.d
Range	198-386	0-19	0-21	n.d
Standard avvik	61	1	2	n.d
Sør-Innerred	DON	HT-2	NIV	T-2
Antall	8	8	8	8
Mean	390	13	n.d	n.d
Median	408	9	n.d	n.d
Range	120-681	0-47	n.d	n.d
Standard avvik	185	14	n.d	n.d
Vestfold	DON	HT-2	NIV	T-2
Antall	2	2	2	2
Mean	96	n.d	n.d	n.d
Median	96	n.d	n.d	n.d
Range	88-104	n.d	n.d	n.d
Standard avvik	11	n.d	n.d	n.d

Appendix Tabell 5. Identifisering og mengdefordeling av *Fusarium*-arter i prøven påvist ved hjelp av molekylær Pyromark basert sekvensering. For mengdefordelingen (angitt i %) må det påregnes en usikkerhet på om lag +/- 5 % . * indikerer usikkerhet i identifiseringen p.g.a suboptimale analyseresultater.

Distriktskontor	ID	Kornsort	Identifisering og relativ mengdefordeling (%) av <i>Fusarium</i> arter			
			<i>F. avenaceum</i>	<i>F. graminearum</i>	<i>F. langsethiae</i>	<i>F. poae</i>
Hadeland og Ringerike	2831	Havre	20	24	43	13
Indre Østfold og Follo	2226	Havre	50	30	-	20
Indre Østfold og Follo	2211	Havre	37	28	30	5
Indre Østfold og Follo	2212	Havre	61	20	19	-
Indre Østfold og Follo	2225	Havre	70	20	10	-
Nord-Gudbrandsdal	3905	Havre	-	100	-	-
Romerike	5299	Havre	35	50	-	15
Romerike	5300	Havre	44	47	-	9
Romerike	3201	Havre	18	62	-	20*
Romerike	3199	Havre	65	13	22	-
Romerike	5314	Havre	25	20	30	25
Valdres og Gjøvikreg.	2349	Havre	43	20	29	8
Vestfold	5211	Havre	40	30	-	30
Vestfold	5208	Havre	50	42	-	8
Vestfold	5210	Havre	37	30	25	8
Vestfold	5205	Havre	-	50	-	50
Ytre Østfold	8867	Havre	34	25	41	-
Ytre Østfold	5448	Havre	16*	26	47	11*
Ytre Østfold	8872	Havre	25	15	60	-
Ytre Østfold	5449	Havre	40	20	-	40

The Norwegian Veterinary Institute (NVI) is a nation-wide research institute in the fields of animal health, fish health, and food safety. The primary mission of the NVI is to give research-based independent advisory support to ministries and governing authorities. Preparedness, diagnostics, surveillance, reference functions, risk assessments, and advisory and educational functions are the most important areas of operation.

The Norwegian Veterinary Institute has its main laboratory in Oslo, with regional laboratories in Sandnes, Bergen, Trondheim, Harstad og Tromsø, with about 330 employees in total.

www.vetinst.no

Tromsø

Stakkevollvn. 23 b · N-9292 Tromsø
N-9010 Tromsø · Norway
t +47 77 61 92 30 · f +47 77 69 49 11
vitr@vetinst.no

Harstad

Havnegata 4 · N-9404 Harstad
N-9480 Harstad · Norway
t +47 77 04 15 50 · f +47 77 04 15 51
vih@vetinst.no

Bergen

Bontelabo 8 b · N-5003 Bergen
PO Box 1263 Sentrum · N-5811 Bergen · Norway
t +47 55 36 38 38 · f +47 55 32 18 80
post.vib@vetinst.no

Sandnes

Kyrkjev. 334 · N-4325 Sandnes
PO Box 295 · N-4303 Sandnes · Norway
t +47 51 60 35 40 · f +47 51 60 35 41
vis@vetinst.no

Trondheim

Tungasletta 2 · N-7047 Trondheim
PO Box 5695 Sluppen · 7485 Trondheim
t 73 58 07 50 · f 73 58 07 88
vit@vetinst.no

Oslo

Ullevålsveien 68 · N-0454 Oslo
PO Box 8156 Dep · N-0033 Oslo · Norway
t +47 23 21 60 00 · f +47 23 21 60 01
post@vetinst.no

