



Ochratoksin A og citrinin i byg til grise i vækstperioden 25–55 kg

*Arne Madsen og H. P. Mortensen
Afdelingen for forsøg med svin og heste*

B. Hald

Institut for veterinær mikrobiologi og hygiejne, KVL

F. Elling

Rigshospitalets afdeling for patologi

Et bygparti indeholdende 1878 μg ochratoksin A og 839 μg citrinin pr. kg udgjorde 73,5 pct. af foderet i 2, 4, 6 og 8 uger fra en vægt af 25 kg. Efter et døgn på toksinfrit foder blev grisene slagtet ved en levendevægt varierende fra 31 til 54 kg.

Den daglige tilvækst reduceredes med ca. $\frac{1}{3}$, og foderforbruget steg tilsvarende. Vandforbruget steg til det dobbelte af det normale.

Nyrevægten var forøget, og nyrerne indeholdt allerede efter 2 ugers fodring med den toksinholdige byg store mængder toksin, mens indholdet var lavere i kød, fedt og lever.

Først efter 6 ugers fodring var der så udtalte nyreforandringer, at de kunne afsløres ved den makroskopiske undersøgelse.

Endelig er der givet en oversigt over igangværende undersøgelser med ovennævnte bygparti.

Indledning

Forsøg med ochratoksin A til slagtesvin på forsøgsstationen Sjælland II er tidligere omtalt i 33., 285. og 296. Meddelelse fra Statens Husdyrbrugsforsøg. Forsøgene har hidtil vist, at grise, der får ochratoksin A, hurtigt mister ædelysten og drikker meget vand. Ved ombytning af den toksinholdige byg med sund byg, vokser grisene atter normalt.

Hos grise, der fik 1000 μg krystallinsk ochratoksin A pr. kg foder i en måned fra en vægt af 20 kg og derpå toksinfrit foder i en måned, fandtes ikke patologiske nyreforandringer, ligesom der ikke kunne påvises toksin i nyrer, kød og fedt.

Andre grise fik byg, der indeholdt fra 28 til 339 μg ochratoksin A pr. kg foder i perioden 25–70 kg og derpå sund byg til 90 kg. Kun én gris indeholdt over 10 μg ochratoksin A pr. kg nyre, og der kunne ikke påvises toksin i kødet hos nogen af grisene.

Af 24 grise, der fik ca. 2000 μg ochratoksin A pr. kg foder i perioden 32–70 eller 50–70 kg og derpå sund byg til 90 kg, blev 4 kasseret ved slagtning på grund af et for højt toksinindhold i nyrerne. Der kunne derimod ikke påvises ochratoksin i kødet.

Forsøg med afgiftning af toksinholdig byg ved ammoniakbehandling viste, at indholdet af och-

ratoksin A reduceredes, at byggen ikke gav anledning til de samme nyreskader som den ubehandlede byg, men at toksinindholdet var større end 10 µg pr. kg nyre. Det skal endelig nævnes, at ammoniakbehandlingen reducerede bygproteinets biologiske værdi.

På grund af det dårlige høstvejr i 1978 har mange bygpartier indeholdt ochratoksin A, hvilket har medført, at et meget stort antal grise er blevet kasseret i 1979. Endnu flere er blevet tilbageholdt ved kødkontrollen på grund af mugnefrose, d.v.s. lyse nyrer med øget tekstur, uden at indeholde over 10 µg ochratoksin A pr. kg. Spørgsmålet rejser sig derfor, om mugnefrosen er opstået ved fodring med ochratoksinholdig byg på et tidligt tidspunkt, og grisene derpå har fået sund byg i så lang tid, at eventuelle rester er udskilt igen.

Formålet med nærværende forsøg har været at undersøge hvor længe, der skal fodres med toksinholdig byg for at fremkalde mugnefrose, og hvorledes en sådan fodring påvirker indholdet af ochratoksin A i nyrer, kød og fedt.

Den toksinholdige byg

I samarbejde med Statens Foderstofkontrol og Bornholms Andels Foderstofforretning fremkaffedes i juli 1979 toksinholdig byg, der var høstet og oplagret hos tre landmænd på Bornholm. Byggen blev nedtørret og blandet inden levering til svineforsøgsstationen Sjælland II. Analyser af såvel den toksinholdige som den normale byg er anført i tabel 1. Den toksinholdige byg indeholdt både ochratoksin A og citrinin; der blev derimod ikke fundet zearalenon, aflatoxiner eller T-2 toksin.

Forsøgsmetodik

10 kuld à 4 SPF-galte blev indkøbt ved ca. 20 kg. Foderet var sammensat af 73,5 pct. byg, 24 pct. sojaskrå og 2,5 pct. mineralstoffer og vitaminer. Indtil 25 kg indgik den normale byg i foderblandingen, men derefter påbegyndtes den egentlige forsøgsperiode, hvor den normale byg blev ombyttet med den toksinholdige byg. Ved den sidste aftenfodring samt ved morgenfodringen på slagtedagen blev der atter givet normal byg. Forsøgsplanen er vist i tabel 2. Foderet er

Tabel 1. Analyser af de to bygpartier

Bygparti	normal	toksinholdig
Pct. vand	12,3	14,6
<i>I pct. af tørstof:</i>		
Råprotein	12,9	13,0
Råfedt	2,0	2,1
N-fri ekstrst.	78,1	78,0
Træstof	4,7	4,6
Aske	2,3	2,3
<i>Pr. kg tørstof:</i>		
g ford. protein	101	102
g ford. lysin	3,2	3,3
g ford. treonin	3,2	3,2
g ford. metionin+cystin	3,7	4,0
Ochratoksin A, µg pr. kg byg	0	1878
Citrinin, µg pr. kg byg	0	839

udvejet hver dag, ligesom det daglige vandforbrug er målt.

Ved slagtning blev nyrene vurderet makroskopisk, fotograferet og vejet, ligesom der blev udtaget prøver til histologiske undersøgelser. Der er endvidere udtaget prøver af nyrer, lever, mørbrad og flomme til toksinanalyser.

Resultater og diskussion

Det fremgår af tabel 2, at grisene er slagtet ved forskellig vægt. Dette skyldes, at de har været henholdsvis 2, 4, 6 og 8 uger på forsøgsfoder og derefter slagtet. Vægten ved levering har derfor varieret fra 31 til 55 kg. En række resultater kan således ikke umiddelbart sammenlignes.

Tilvækst og foderforbrug

Grisene skulle efter forsøgsplanen have følgende daglige fodermængder:

Vægt	25	30	35	40	45	50
FEs dgl.	1,2	1,5	1,7	1,9	2,1	2,2

Resultaterne i tabel 2 viser imidlertid, at de ikke kunne følge denne norm. Den daglige tilvækst er reduceret med ca. 1/3, foderforbruget pr. kg tilvækst er steget tilsvarende, og grisene har drukket 6–10 l vand daglig, mens det normale er 3–5 l. Nævnte resultater er helt i overensstemmelse med tidligere forsøg.

Tabel 2. Forskellig tid på toksin fra 25 kg

Hold	1	2	3	4
Uger på toksin	2	4	6	8
Sund byg før slagtning	(1 døgn)			
Antal galte	10	10	10	10
Vægt ved beg., kg	25,2	25,4	25,2	25,5
Vægt ved slutn., kg	31,1	37,9	44,1	54,3
<i>Hele forsøgsperioden:</i>				
FES pr. gris dgl.	1,29	1,42	1,46	1,59
I vand pr. dag	5,9	7,6	8,9	10,4
Daglig tilvækst, g	421	446	450	527
FES pr. kg tilvækst	3,41	3,33	3,30	3,04
Foderdage	14	28	42	56
kg foderbl., toksinholdig	16,0	36,6	57,2	84,4
kg. foderbl., sund	1,4	1,6	1,7	1,9
Afregningsvægt, kg	20,4	24,0	28,9	36,3
Slagtesvind, pct.	34,5	35,1	34,5	34,0
Nyrernes vægt, g	138	187	246	298
<i>µg ochratoksin A pr.:</i>				
kg foderblanding	(1380)			
dag	1577	1804	1879	2080
kg gris daglig	56	57	54	52
kg nyre	71	60	49	45
kg lever	21	22	20	20
kg flomme	28	30	59	51
kg mørbrad	38	37	44	33

Det ses af tabel 2, at den daglige tilvækst har været stigende og foderforbruget faldende, jo længere forsøgstiden har været, men dette skyldes vægtkurvens form og ikke en gunstig indflydelse af ochratoksinet. Dette fremgår af tabel 3, hvor der, på grundlag af 195 grises normale vægtkurve i samme stald, er beregnet den daglige tilvækst i de samme fire perioder som i nærværende forsøg.

Tabel 3. Daglig tilvækst i forskellige vægtperioder

Vægtinterval, kg	25-31	25-38	25-44	25-54
<i>Daglig tilvækst, g:</i>				
På sundt foder	630	666	693	710
På toksinholdigt foder ..	421	446	450	527

Ochratoksin A i nyrer, kød og fedt

Nyrevægten udgjorde 0,44-0,56 pct. af vægten før slagtning, hvilket tyder på, at nyrevægten i procent af legemsvægten øges, jo længere tid, der fodres med toksinholdigt foder.

Da der er benyttet samme foderblanding, men stigende mængder, er den fortærede toksinmængde stigende fra 1,6 til 2,1 mg pr. dag.

Indholdet af ochratoksin A pr. kg nyrevæv var større ved 2 og 4 uger end ved 6 og 8 uger på toksinholdigt foder. Det omvendte er fundet for flommens indhold. Kød (mørbrad) og lever indeholdt derimod en konstant mængde gennem hele forsøgstiden, men indholdet var dobbelt så højt i kødet som i leveren.

Der er ikke påvist citrinin i nyrene.

Patoanatomiske undersøgelser

Nyreforandringerne er anført i tabel 4. De histologiske undersøgelser af nyrene viser, at fodring med toksinholdig byg i 2 uger gav lette beskadigelser af proximale tubulusafsnit med afstødning af epithelceller og let atrofi samt let bindevævsdannelse omkring glomeruli og omkring proximale tubuli i enkelte marvstriber hos én gris. De øvrige 9 grise havde normale nyrer.

Efter 4 uger sås tilsvarende lette forandringer hos 5 grise, mens 2 dyr havde svære forandringer med mere udtalt atrofi af flere proximale tubulusafsnit ledsaget af basalmembranfortykkelse samt mere udtalt og mere udbredt bindevævsdannelse. Tre grise havde normale nyrer.

Efter 6 uger sås lette forandringer hos 8 dyr, mens 2 dyr havde svære forandringer.

Efter 8 uger havde 7 dyr lette forandringer og 3 dyr svære forandringer i nyrene.

Tabel 4. Makro- og mikroskopiske nyreforandringer

Hold	1	2	3	4
Forandringer	a-b	a-b	a-b	a-b
Kuld 1	0-0	0-0	1-1	3-1
» 2	0-0	1-0	2-1	2-1
» 3	1-0	1-0	2-1	2-1
» 4	1-0	1-1	2-2	3-2
» 5	0-0	1-1	2-1	3-2
» 6	1-0	1-1	3-2	3-1
» 7	1-0	1-2	3-1	2-1
» 8	0-0	1-1	2-1	3-2
» 9	0-1	2-0	2-1	3-1
» 10	0-0	2-1	3-1	2-1

a = makroskopiske forandringer
(0 = normal nyre; 3 = lys og hård)
b = mikroskopiske forandringer
(0 = ingen; 1 = lette; 2 = svære)

Som det fremgår af tabel 4, er der god overensstemmelse mellem de makroskopiske og de mikroskopiske forandringer. Forsøget viser endvidere, at fodring med den toksinholdige byg i 2 uger kun for 4 af grisene gav sådanne forandringer af nyrerne, at disse ville give anledning til tilbageholdelse ved kødkontrollen. Først efter 6 ugers fodring med den toksinholdige byg blev forandringerne så udtalte, at man med sikkerhed kan diagnosticere sygdommen ved den makroskopiske undersøgelse.

Igangværende undersøgelser

I vinteren 1979/80 er der iværksat en række forsøg med ovennævnte bygparti fra Bornholm. Planerne til fire af forsøgene fremgår af tabel 5. Samtlige grise indsættes i forsøg ved en vægt af 20 kg og slagtes ved 90 kg. Som vist i tabellen får grisene i to af forsøgene toksinholdigt foder i 6 uger fra 20 kg for at fremkalde de i nærværende meddelelse omtalte nyreforandringer. Formålet med disse undersøgelser er at undersøge, om nævnte nyreforandringer vil kunne afhele ved fodring med toksinfrit foder i resten af vækstperioden. Det vil også kunne belyses, om de tidlige nyreskader har indflydelse på den senere toksin-aflejring. Endelig vil betydningen af små toksinmængder i foderet blive undersøgt.

Der fodres efter samme norm, og byggen udgør 74 og 85 pct. henholdsvis i perioderne 20–50 og 50–90 kg. Alle grise får sund byg ved morgenfodringen på slagtedagen samt ved den foregående aftenfodring. Hvert hold omfatter 10 galte. Ved slagtingen udtages prøver af nyrer, lever, flomme, mørbrad og blod til analyse for indholdet af ochratoksin A og citrinin. Nyrerne fotograferes, ligesom der udtages en prøve til histologiske undersøgelser. Fra en række grise udtages desuden blodprøver i vækstperioden.

Da der forekommer såvel ochratoksin A som citrinin i det anvendte bygparti, er der planlagt et forsøg med det normale bygparti, der tilsættes krystallinsk ochratoksin A og/eller citrinin for at teste en eventuel synergistisk effekt af citrinin.

Endelig er der i samarbejde med Bioteknisk Institut, Kolding iværksat fornyede afgiftningsforsøg, hvor byggen behandles i en tromletørret ved 90–100°C med efterfølgende påsprøjtning af natronlud.

Resultaterne af ovennævnte forsøgsrække forventes at foreligge i efteråret 1980 og skulle forhåbentlig give svar på en række af de spørgsmål, der stilles af svineproducenterne, vedrørende eventuel kassation af svin, der har fået toksinholdig byg.

Tabel 5. Forsøg under udførelse.

Hold	1	2	3	4	5
<i>Forsøg 430</i>					
µg ochratoksin A pr. kg byg	(1878)	–
Uger på toksin før slagting	1	2	3	4	–
<i>Forsøg 432</i>					
µg ochratoksin A pr. kg byg i perioden 70–90 kg	0	25	50	100	200
<i>Forsøg 434</i>					
µg ochratoksin A pr. kg byg	(1878)	
Ochratoksin A fra 20 kg	(i 6 uger)	
Dage på toksin før slagting	0	1	3	5	7
<i>Forsøg 439</i>					
µg ochratoksin A pr. kg byg	(188)	
Ochratoksin A fra 20 kg	(i 6 uger)	
Uger på toksin før slagting	0	1	2	3	4