

Mikrobiologisk kvalitet af minkfoder

Lyhs, Ulrike; Nonnemann, Bettina; Hjulsager, Charlotte Kristiane; Pedersen, Karl; Chriél, Mariann; Frandsen, Henrik Lauritz; Andersen, Birgitte

Published in:
Faglig Årsberetning

Publication date:
2017

Document Version
Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link back to DTU Orbit](#)

Citation (APA):

Lyhs, U., Nonnemann, B., Hjulsager, C. K., Pedersen, K., Chriél, M., Frandsen, H. L., & Andersen, B. (2017). Mikrobiologisk kvalitet af minkfoder. Faglig Årsberetning, 2017, 111-116.

DTU Library

Technical Information Center of Denmark

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.



Sundhed

MIKROBIOLOGISK KVALITET AF MINKFODER

Ulrike Lyhs, Bettina Nonnemann, Charlotte Kristiane Hjulsager, Karl Pedersen & Mariann Chriel, Sektion for Diagnostik og Rådgivning, Veterinærinstituttet, Danmarks Tekniske Universitet, 2800 Kgs. Lyngby, Danmark, Henrik Frandsen, Kemisk Fødevareanalyse, Fødevareinstituttet, Danmarks Tekniske Universitet, 2800 Kgs. Lyngby, Danmark, Birgitte Andersen, Institut for Bioteknologi og Biomedicin, Danmarks Tekniske Universitet, 2800 Kgs. Lyngby, Danmark

Sammendrag

Både den næringsmæssige sammensætning af et minkfoder og den eller mikrobiologiske kvalitet er helt fundamentale for styring af sundhed og opdræt af mink. Da minkfoder er en fersk og frisk produceret råvare, stiller det store krav til såvel leverandører af råvarer, produktion af foderet, men også håndtering på minkgårdene. Denne undersøgelse har fokuseret på den mikrobiologiske kvalitet af råvarer og færdigvare fra 3 danske minkfoderproducenter. Der er udtaget materiale til undersøgelse i november 2016 og maj 2017. Resultaterne viste, at der er stor variation i forekomsten af bakterier i de enkelte råvarer og dermed potentiale til at foderet fordærver ved uhensigtsmæssig opbevaring og anvendelse på minkgårdene. Der blev fundet MRSA og Salmonella i svineprodukter, men ikke i færdigvarer. Derudover blev der i enkelte af de vegetabiliske råvarer fundet svampetoksiner, der er kendt for at forårsage sygdomme i andre dyr. De anvendte metoder har en naturlig begrænsning, da der kun undersøges en mikroskopisk del af de store mængder af råvarer, der anvendes dagligt. Da råvaresammensætningen konstant er under forandring, bør mulige cocktaileffekter overvejes ved introduktion af nye typer råvarer.

Lyhs, U, Frandsen, H., Andersen, B., Nonnemann, B., Hjulsager, C.K., Pedersen, K., Chriél, M., 2018. Mikrobiologisk foderkvalitet af minkfoder. Faglig Årsberetning 2017, 111-117. Kopenhagen Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Abstract

Both the nutritional composition of mink feed as well as the microbiological quality are essential for the health and the breeding of mink. Mink feed is a fresh but perishable commodity. This study has focused on the microbiological quality of raw materials and mink feed from 3 Danish mink food producers. The samples were collected in November 2016 and May 2017. The results showed that there is a large variation in the bacterial load in the raw materials. The risk of degradation of the mink feed should be kept in mind during storage and use on the mink farms. MRSA and Salmonella were isolated in swine products, but not in the finished products. Products like barley and maize may have contained fungal toxins which are known to cause disease in other animals. The methods have a limitation, as only a microscopic part of the large amounts of ingredients used on a daily basis can be examined prior to use in the production. The raw materials are constantly

changing and cocktail effects should be assessed when introducing new ingredients in the feed production.

Lyhs, U, Frandsen, H., Andersen, B., Nonnemann, B., Hjulsager, C.K., Pedersen, K., Chriél, M., 2018. Microbiological quality of mink feed. Annual Report 2017, 111-117. Kopenhagen Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark

Keywords: Minkfoder, mikrobiologisk kvalitet.

Introduktion

I Danmark er der i alt 13 producenter af minkfoder, der fremstiller foder til ca. 17 mill. mink. Foderet bliver produceret dagligt undtagen i få vintermåneder hvor der produceres ca. hver anden dag. Det bringes ud til minkgårdene som et fersk foder klar til udfodring. Foderet består hovedsagelig af produkter af animalsk oprindelse (f.eks. fisk og slagtebiprodukter) samt produkter af vegetabilisk oprindelse (f.eks. korn og olier).

Da foderet består af ferske råvarer, er det nødvendigt med strenge krav til de råvarer, der indgår i produktionen. Når råvarerne formales eller hakkes, dannes en større overflade i produkterne, der øger mulighederne for de tilstedeværende mikroorganismers vækst i råvarerne.

Mikroorganismer i foderet kan være harmløse i forhold til sygdomme hos mink, men er der tale om fordævelsesbakterier, som altid vil betyde en forringelse af foderets kvalitet og holdbarhed og dermed i den sidste ende også en forringelse af dyrenes trivsel. Foderet kan indeholde patogene mikroorganismer, der findes i råmaterialerne. Dette kan være mikroorganismer, der producerer toksiner (f.eks. *Clostridium botulinum*) eller er direkte sygdomsfremkaldende (f.eks. *Salmonella*) (Dietz et al, 2006). Hovedparten af mikroorganismerne er ikke smittefarlige eller producerer specifikke toksiner, men nedbryder råvarerne og medfører ændring i lugt og smagelighed og eventuel dannelse af skadelige nedbrydningsprodukter, der kan give klinisk behandlingskrævende diarré hos dyrene (Rattenborg et al., 1999, Jensen et al., 2016, 2017) eller organskader med nedsat vækst.

Formålet med denne undersøgelse er at vurdere den mikrobiologiske profil for de råvarer, der anvendes til produktion af færdigblandet minkfoder.

Materiale og metoder

Tre minkfoderproducenter (A, B og C) blev udvalgt så de rent geografisk var repræsentative for hele Danmark, og der blev indsamlet prøver to gange: ved maksimal foderproduktion (ultimo oktober 2016) og til vurdering af kvalitet (medio maj 2017). Endvidere blev der undersøgt 8 prøver af færdigvarer for tilstedeværelsen af svampe og svampetoksiner indsamlet i juni og juli 2016.

På hver udtagingsdag blev der udtaget 20 prøver fra hver råvare af animalsk oprindelse, fem prøver fra hver råvare

af vegetabilsk oprindelse, samt fem prøver af producentens færdigvare. Prøverne blev anbragt i en køleboks og transporteret direkte til laboratoriet, hvor de blev behandlet inden for 4 til 6 timer efter udtagning (tabel 1).

Endvidere udtog hver foderproducent selv miljøprøver i fabrikken fra fem forskellige overflader (10 x 10 cm), og der blev anvendt 5 svaberprøver på hvert sted. Prøverne blev udtaget efter rengøring. Ved transport af svaberprøver blev de poollet i et rør med 10 ml 0,9 % NaCl (vægt / volumen) og 0,1 % (vægt / volumen) pepton før afsendelse.

TABEL 1 RÅVARER OG ANGIVELSE AF EVENTUEL FORBEHANDLING VED DE 3 FODERPRODUCENTER (A, B, C)

ANIMALSKE RÅVARER	FORBEHANDLING	PRODUCENT
Fjerkræ, biprodukt	Frisk/frost	A
Fjerkræ biprodukt/mix	Varmebehandlet 80-90 °C	A, B, C
Udsætterhøns	Ensileret	B
Svinekødprodukt	Frost	A
Svinelever	Frisk/frost	A
Svine slagtemix, incl. Progel, FurPro	Varmebehandlet 75-90 °C	A, B, C
Svinefedt	Varmebehandlet 70 °C	A, B
Fiskeafskær	Frisk/frost	A, B
Industri fisk	Frisk/frost	A, B, C
Fiskeensilage	Ensileret	A, B, C
Blod	Varmebehandlet	C
Hæmoglobin	Frisk/frost	A
Blod mel	Mel	B, C
Kød- og benmel	Mel	C
VEGETABILSKE RÅVARER	FORBEHANDLING	PRODUCENT
Poppet byg	Varmebehandlet	A, B, C
Sukkerroe		A, B, C
Poppet hvede	Varmebehandlet	A, B, C
Soya olie		B, C
Soya protein		A, C
Majsmel		A, B, C
Arbocel		A, B

Mikrobiologiske analyser

Påvisning af bakterier i prøver af animalsk oprindelse.

Der blev udtaget 5 gram fra 5 tilfældige prøvebeholdere af animalsk oprindelse og af færdigvaren (t=0) ved modtagelsen, samt færdigvaren efter henstand ved stuetemperatur i et døgn (t=24).

Prøvematerialet blev aseptisk overført til en Stomacher® 400-pose (Seward BA6041, Worthing, UK) indeholdende 225 ml 0,9 % NaCl (vægt / volumen) og 0,1 % (vægt / volumen) pepton. Posen blev blandet i en Stomacher 400 Lab Blender (Seward Medical, London, UK) i 3 minutter. Ti-fold seriefortyndinger blev anvendt til mikrobiologiske analyser. Tælling af bakterievækst (total viable counts, TVC) blev udført på Plate Count Agar (PCA) (Thermo Fisher Scientific, Roskilde, Danmark) i henhold til metode ISO / DIS 4833-2: 2012 (International Organization for Standardization, 2012).

Antallet af Enterobacteriaceae blev bestemt i Violet Red Bile Glucose (VRBG) agar (Oxoid, Basingstoke, UK) ifølge metoden i ISO 21528-2: 2004 (International Organization for Standardization, 2004). Antal clostridier blev udført på Tryptose Sulfite Cycloserine (TSC) agar (Oxoid) ved metoden ISO 7937: 2004 (E) (International Organization for Standardization, 2004). *Escherichia coli*-tællinger blev bestemt ved anvendelse af ISO 16649-2: 2001 (International Organization for Standardization, 2001), idet der dog blev brugt MacConkey agarplader (Thermo Fisher Scientific). Antal stafylokokker blev udført med Baird-Parker-agar (Thermo Fisher Scientific) ifølge metoden i ISO 6888-1: 1999 (International Organization for Standardization, 1999).

Alle PCA-plader blev talt efter 3 dages aerob inkubation ved 30 °C. Typiske Enterobacteriaceae kolonier blev talt på VRBG agar efter 18-24 timer aerob inkubation ved 37 °C. Kolonier på MacConkey og Baird-Parker plader blev talt efter henholdsvis 18-24 timer og 2 dage henholdsvis aerob inkubation ved 37 °C. TSC-plader tælles efter 18-24 timer anaerob inkubation ved 37 °C. Suspekter kolonier blev verificeret som beskrevet i ISO standarderne.

Til påvisning af *Salmonella* blev 25 g af hver råvare af animalsk oprindelse og færdigvare (t=0 og t=24) aseptisk overført til en Stomacher® 400-pose (Seward BA6041) indeholdende 225 ml peptonbuffer (PB) (Thermo Fisher Scientific) og derefter blandet i en Stomacher 400 Lab Blender (Seward Medical) i 3 minutter og inkuberet ved 37 °C i 16-20 timer. I alt 0,1 ml af denne PB præopformering blev podet på Modified Semisolid Rappaport-Vassiliadis (MSRV) agar (Thermo Fisher Scientific) plader og inkuberet ved 41,5 °C i 18-24 timer. Fra MSRV blev suspekt vækst subkultiveret på Brilliant Green Agar (BGA) (Thermo Fisher Scientific) på Xylose Lysine Desoxycholat (XLD) agar (Thermo Fisher Scientific). Ligeledes blev der fra PB foretaget selektiv opformering ved at overføre 1 ml PB præopformering til 9 ml Selenite-cystin (SC) bouillon (Thermo Fisher Scientific) og inkuberet i 18-24 timer ved 41,5 °C. Herfra blev der udstrøget på BGA og XLD agar. Suspekter kolonier fra XLD og BGA blev subkultiveret på blodagar og verificeret ved agglutination med polyvalent *Salmonella* serum (SSI Diagnostica)

Miljøprøver

Ved modtagelse af miljøprøverne blev der tilsat 90 ml 0,9 % NaCl (vægt / volumen) og 0,1 % (vægt / volumen) peptonvand til røret og vortextet i 30 sekunder. Ti-foldsfortyndinger blev anvendt til mikrobiologiske analyser. Tælling blev foretaget på Plate Count Agar (PCA) som ovenfor beskrevet.

Påvisning af methicillinresistent *Staphylococcus aureus* (MRSA)

Til påvisning af MRSA blev de animalske råvarer analyseret med en et-trins opformering, hvor 10 g prøve blev inokuleret i 90 ml Mueller-Hinton Broth med 6,5 % NaCl og inkuberet i 18-24 timer ved 37 °C uden omrøring. I alt 10 µl af denne opformering blev herefter overført til Brilliance MRSA2 agar (Oxoid) og inkuberet ved 37 °C i 18-24 timer. MRSA-lignende kolonier blev subkultiveret på agarplader (Oxoid) indeholdende 5% kalveblod for yderligere verifikation. Isolater blev identificeret som MRSA ved PCR-detektion af *mecA*- og *nuc*-generne (Maes et al., 2002). Spa-typing blev udført som tidligere beskrevet (Mellmann et al., 2006; Stegger et al., 2012).

pH

pH blev bestemt ud fra det første homogenat fremstillet til mikrobiologisk analyse ved hjælp af en Sartorius PB 310 Digital-pH-meter, Type PHM 92, (Radiometer, Analytical A / S, København, Danmark).

Påvisning af toksinproducerende svampe i vegetabiliske råvarer

Til bestemmelse af filamentøse svampe blev der fra de 10 færdigvareprøver udtaget 1 g og overført direkte til Dichloran 18% Glycerol agar (DG18 (Samson et al., 2010)) og udsået på agar. Ligeledes blev 1 g fra hver prøve udpladet på V8 vegetabilsk juiceagar (V8 (Samson et al., 2010)). Pladerne blev inkuberet i mørke ved 20 °C og aflæst efter 5, 7 og 10 dage. Repræsentative svampe blev isoleret og podet til speciesidentifikation ifølge Samson et al., 2010. *Aspergillus*-kulturer blev inokuleret 3-punkts på CYA, MEA (Samson et al., 2010) og DG18 og inkuberet i mørke ved 25 °C og CYA ved 37 °C. *Penicillium*-kulturer blev inokuleret 3-punkts på CYA, MEA og YES og inkuberet i mørke ved 25 °C og CYA ved 30 °C. *Zygomycetes* blev 1-point inokuleret på DG18.

Påvisning af mykotoksiner og andre bioaktive svampe metabolitter

Prøve forberedelse

0,2 g prøve (færdigvare eller råvare) blev overført til et "bead beater" rør og tilsat 1 ml 80% acetonitril. Efter homogenisering i 1 minut blev røret kølet til 4 °C og centrifugeret ved 10.000 omdrejninger pr minut i 10 minutter. Lidt af overstanden blev overført til et High Performance Liquid Chromatography (HPLC) prøveglas.

LC-MS analyse

Væske kromatografi blev udført på et Dionex Ultimate 3000 RS HPLC system med en Poroshell SB C-18 kolonne termostateret ved 30 °C og forbundet til et Bruker Daltonics, maXis qTOF masse spektrometer.

Stofferne i prøven blev adskilt ved gradvist at øge mængden af methanol i 0,02 % myresyre i vand over 20 minutter og datafilerne blev efterfølgende analyseret for tilstedeværelse af mykotoksinerne: af Aflatoxin B1, B2, G1, G2, citri-

nin, cyclopiazonic acid, deoxynivalenol, enniatin A1, B1 (ammonium addukter), fumonisin B1, B2, nivalenol, ocratoxin A, patulin, sterigmatocystin, T2 toxin and zearalenone.

PCR (influenza)

RNA blev oprenset fra de enkelte animalske råvarer (bortset fra blodmel og svinefedt) og fra færdigt foder. Flydende prøver blev forbehandlet ved lysning af 200 µl prøve i 400 µl RLT-Buffer (QIAGEN) med 1% β-mercaptoethanol, mens faste prøver blev homogeniseret ved beating på en TissuelyserII (QIAGEN) til fremstilling af 10 % homogenat i RLT-Buffer (QIAGEN) med 1% β-mercaptoethanol. RNA blev oprenset fra 600 µl homogenat/lysat med RNeasy Mini Kit (QIAGEN) på QIAcube (QIAGEN) oprensingsrobot med protokol for Animal tissues and cells, Large samples, version 2. RNA'et blev testet for influenza A virus med real-time (RT)-PCR rettet mod matrix-genet (Trebien et al. 2013). For at imødegå eventuel PCR inhibition, blev testen udført på både ufortyndet RNA og på RNA fortyndet 10 x i nukleasefrit vand.

MALDI TOF

Kolonier blev tilfældig udvalgt fra den agarplade indeholdende vækst med den højeste fortynding og derefter

subkultiveret på agarplader (Oxoid) indeholdende 5% kalveblod. Identifikation blev foretaget ved hjælp af matrix-assisteret laser desorption/ioniserings massespektrometri (MALDI-TOF MS). Isolater blev analyseret som beskrevet af Bizzini et al. (2010) ved hjælp af MALDI Biotyper RTC 3.1 software ved brug af BDAL database (Bruker Daltonics) kombineret med verificerede lokale spektre fra DTU Veterinærinstituttet på et Autoflex Speed instrument (Bruker Daltonics). MALDI Biotyper RTC 3.1-softwaren sammenligner de 10 nærmeste referencespektre i intervallet 2-20 kDa med prøven. Softwaren angiver en log-score mellem 0 og 3, med en cut-off værdi på 2,0 for identifikation på artsniveau og 1,7 for identifikation på slægtsniveau.

Resultater

Den mikrobiologiske kvalitet er anført i tabel 2. Der var en variation, der ses i den mikrobiologiske kvalitet af ingredienserne og slutproduktet mellem alle tre foderproducenter. Salmonella blev fundet i svinekødsprodukt. MRSA blev påvist i svinekødsprodukt, fjerkræblanding, hæmoglobin og svinelever.

TABEL 2 MIKROBIOLOGISK KVALITET AF ANIMALSKE RÅVARER (A, B, C)

PRODUKT	BACTERIAL GROUPS (CFU/G) ^A							
	TOTALKIM	ENTEROBACTERIACEAE	CLOSTRIDIER	E. COLI	STAFYLOCOCCER	MRSA	SALMONELLA	PH ^B
Fjerkræbiprodukt	2.2x10 ⁵	3.6x10 ³ -2.6x10 ⁷	<100-10 ³	2x10 ³ -4.7x10 ⁷	2x10 ⁵ -2.4x10 ⁶	N ^D	N	6.55
Fjerkræ biprodukt og mix	<100-7.7x10 ⁷	<100-4.7x10 ³	<100-4.5x10 ³	<100-3x10 ²	<100-4.1x10 ⁵	P e	N	4.53-6.71
Udsætterhøns	7.1x10 ³	<100	<100	<100	<100	N	N	2.95
Svinekød produkt	ND	ND	<100	9.2x10 ³	1.5x10 ⁴	P	P	7.25
Svinelever	7.6x10 ⁴	2.3x10 ²	<100	5.2x10 ³	<100	P	N	6.31
Svineslagtemix	<100-1.3x10 ⁴	<100-∞	<100-4x10 ⁵	<100-9.4x10 ³	<100-103	N	N	4.10-7.43
Svinefedt	<100	ND ^C	ND	ND	ND	N	N	5.88
Fiskeafskær	<100-9.3x10 ⁷	<100-9x10 ⁴	<100-1.9x10 ⁴	<100-9x10 ⁵	<100-4.5x10 ⁴	N	N	6.60-7.12
Industrifisk	1.1x10 ³ -3.1x10 ⁵	<100-2x10 ²	<100-1.8x10 ²	<100	<100-5x10 ³	N	N	5.90-7.84
Fiskeensilage	<100-4x10 ³	<100	<100-2x10 ²	<100	<100	N	N	2.52-3.52
Blod	4.4x10 ⁵	2.1x10 ³	<100	2.7x10 ⁴	8.1x10 ³	N	N	7.56
Hæmoglobin	3.6x10 ⁶	4.6x10 ⁴	<100	<100-4x10 ²	<100-1.8x10 ³	P	N	7.03-7.24
Blodmel	2.8x10 ⁴ -3.5x10 ⁴	<100	<100	<100	8x10 ³	N	N	7.09-7.20
Kød- og benmel	2.9x10 ⁴	ND	ND	ND	ND	N	N	5.66
Færdigvare (t=0)	9.8x10 ⁴ -1.3x10 ⁶	1.3x10 ² -9.4x10 ²	1.7x10 ² -3x10 ³	3x10 ² -6.7x10 ³	<100-8x10 ³	N	N	3.36-5.74
Færdigvare(t=24)	4.2x10 ⁵ -5.5x10 ⁷	<100-4.1x10 ³	<100-7x10 ³	10 ² -1.4x10 ⁴	10 ³ -3.4x10 ⁵	N	N	4.52-5.91

^A MINIMUM OG MAXIMUM

^B PH VÆRDI

^C ND IKKE BESTEMT

^D N=NEGATIV

^E P=POSITIV

Alle prøver indeholdt *Penicillium discolor* og *Zygomycetes*, mens halvdelen af prøverne også indeholdt *Aspergillus niger* og *A. flavus*. De kemiske analyser viste tilstedeværelse af aflatoxiner, samt enniatiner, som produceres af *Fusarium*-arter, i både foder og råvarer dog i meget varierende mængder.

Der blev ikke påvist influenza A virus i animalske råvarer eller færdigforarbejdet foder fra de tre fodercentraler.

Miljøprøverne fra forskellige steder i produktionen hos de tre foderproducenter viser høje kimtal efter rengøring (tabel 3). De højeste kimtal var typisk på steder, der var vanskelige at rengøre.

TABEL 3 TOTALKIM (CFU/G) I SVABERPRØVER FRA PRODUKTIONSMILJØET HOS DE 3 FODERPRODUCENTER (A-C)

FODERPRODUCENT	LOKALITET	TOTALKIM
A (2016)	Mixer 629	5.5x10 ⁵
	Snegl 626	4.6x10 ⁴
	Transportbånd 620	4.6x10 ⁸
	Transportbånd 810	1.5x10 ⁵
	Færdigvaresilo	1.7x10 ⁹
	Færdigvaresilo	1.5x10 ³
A (2017)	Transportbånd to homogenisator	4.5x10 ²
	Gulv rum 1	2.7x10 ⁶
	Hakker	<100
	Kædetransportør	<100
	Homogenisator	5x10 ⁸
	Transportbånd til hakker	3.5x10 ⁷
B (2016)	Mixer 1	1.5x10 ⁹
	Fordelersnegl	1.8x10 ⁹
	Transportbånd til silo	1.2x10 ⁵
	Færdigvaresilo 701	9x10 ²
	Færdigvaresilo 711	2.8x10 ⁴
	Transportbånd 810	1.9x10 ⁴
B (2017)	Transportbånd 620	6x10 ⁴
	Fordelersnegl 626	5x10 ²
	Snegl 391	1.3x10 ³
	Snegl 412	2.3x10 ³
	Snegl 410	<100
	Snegl 436	4x10 ⁷
C (2016)	Mixer 421	6x10 ²
	Snegl 410	2.9x10 ³
	Snegl 391	102
	Transportbånd	1.8x10 ⁵
	Snegl 412	2x10 ²
	Snegl 422	7.2x10 ²

Diskussion

Den mikrobiologiske foderkvalitet er lige så væsentlig som sammensætningen af foderet for at sikre optimal vækst og sunde dyr i produktionen. Denne undersøgelse har vist, at der er stor variation af kvaliteten både mellem de samme råvarer, men også mellem forskellige råvarer. Nogle af råvarerne indeholdt endog meget høje kimtal $>10^7$ cfu/g, ligesom flere miljøprøver indeholdt meget høje kimtal. Så høje kimtal må vurderes at have konsekvenser for den mikrobiologiske kvalitet af produktet, ligesom flere af prøverne indeholdt sygdomsfremkaldende bakterier så som Salmonella, MRSA eller *Staphylococcus aureus*.

Sygdomsfremkaldende bakterier og svampe kan spredes til foderet ved kontakt med kontamineret foderhåndteringsudstyr og opbevaringsbeholdere. Dette forhold gælder ikke bare ved foderproducenten men i lige så høj grad på minkgårde, hvor rengøring og desinfektion af fodersiloer og fodermaskiner bør indgå i de daglige rutiner. Denne undersøgelse har vist, at minkfoder kan indeholde en cocktail af mykotoksiner og bakterier, der ofte ikke hver for sig forårsager klinisk sygdom hos dyrene, men som sammen kan påvirke organerne. Disse synergier kan være ansvarlige for optræden af nye sygdomskomplekser med ukendt konsekvens for dyrene.

Der findes enkelte studier om mink og mykotoksiner, men ingen undersøgelser om andre biologisk aktive metabolitter (f.eks. enniatinerne). To tidligere studier viser, at mink taber i vægt og får nyreskader af foder, der indeholder ochratoxin (Bursian et al., 2004), mens aflatoxinholdigt foder forårsager dårlig pelskvalitet, væggtab og nyre- og leverskader (Bonna et al., 1991). Derimod har man adskillige eksempler på kæledyr, der er blevet syge af at have spist mykotoksinholdige produkter. Hunde, der spiste mugne fødevarer, der indeholdte penitrem A og roquefortine, fik rystesyg og døde (Naude et al., 2002), mens andre hunde kastede op, fik diarré og leversvigt af at spise mugne kornprodukter (Puschner, 2002). Katte, der blev fodret med T2-toxin, der er almindeligt i muggent majs, fik leukopeni (faldende antal hvide blodlegemer), blodig afføring og ataksi af bagkroppen (Lytsky og Mor, 1981). Ovennævnte studier inddrager dog ikke eventuelle "cocktaileffekter" af hverken bakterie/mykotoksin eller mykotoksin/mykotoksin i betragtning og kompleksiteten af problemstillingen.

Mykotoksinerne udgør kun en lille del af de mange biologisk aktive metabolitter skimmelsvampe kan udskille til minkfoder. Forskellige metabolitter har forskellig biologisk aktivitet afhængig af dosis: få er akut toksiske, nogle har en østrogen-lignende effekt, andre er lever- og nyreskadende og andre igen er kræftfremkaldende. En gruppe skimmelsvampemetabolitter er også i stand til at undertrykke immunforsvaret (Ghareeb et al., 2014), hvilket medfører en højere risiko for bakterielle og virale infektioner, som igen medfører øget mistrivsel og højere medicinforbrug. Det er derfor nødvendigt at forebygge og kontrollere både bakterie- og skimmelsvampbevæksten i såvel råvarer som færdigblandinger.

Der blev ikke påvist influenzavirus i foderet, men netop udbrud af influenza i mink er tidligere kædet sammen med foder som potentiel smitekilde, i tilfælde med utilstrækkelig varmebehandling af svineåvarer. Så vidt vides er influenzavirus aldrig påvist direkte i foder. Det kan imidlertid være ganske svært at påvise influenzavirus i foder, da virus ikke opformerer sig i foderet som bakterier kan, og da der kun testes på en meget lille andel af hver foderportion. Undersøgelse af foder for influenzavirus foretages ikke rutinemæssigt.

Konklusion

Undersøgelsen har vist, at den mikrobiologiske overvågning er særdeles vigtig, da mange råvarer har et meget højt kimtal og dermed kan nedsætte holdbarheden af foderet. Metoderne har en naturlig begrænsning, da der kun undersøges en mikroskopisk del af de store mængder af råvarer der anvendes. Da råvaresammensætningen konstant er under forandring, bør mulige cocktaileffekter overvejes ved introduktion af nye typer råvarer.

Tak

Denne undersøgelse var finansieret af Dansk Pelsdyravlereforenings Forskningsfond, Veterinærinstituttet og af Fødevarerstyrelsen

Tak til laborant Anna Boldt Eiersted for teknisk og praktisk gennemførelse af det mikrobiologiske arbejde.

Referencer

Bizzini A, Durussel C, Bille J, Greub G, Prod'homme G. Performance of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for identification of bacterial strains routinely isolated in a clinical microbiology laboratory. *J. Clin. Microbiol.* 2010;48:1549-54.

Bonna, R. J., et al. "Efficacy of hydrated sodium calcium aluminosilicate and activated charcoal in reducing the toxicity of dietary aflatoxin to mink." *Archives of environmental contamination and toxicology* 20.3 (1991): 441-447.

Bursian, S. J., et al. "Efficacy of a commercial mycotoxin binder in alleviating effects of ochratoxin A, fumonisin B1, moniliformin and zearalenone in adult mink." *Veterinary and human toxicology* 46.3 (2004): 122-129.

Dietz, H.H., Chriél, M., Andersen, T.H., Jørgensen, J., Torpdahl, M., Pedersen, H.: Outbreak of Salmonella Dublin-associated abortion in Danish fur farms. *Canadian Veterinary Journal* (2006). Vol 47:1201-1205.

Ghareeb, Khaled, et al. "Impacts of the feed contaminant deoxynivalenol on the intestine of monogastric animals: poultry and swine." *Journal of Applied Toxicology* 35.4 (2015): 327-337.

ISO 4833-2:2013. Microbiology of the food chain — Horizontal method for the enumeration of microorganisms — Part 2: Colony count at 30 °C by the surface plating technique.

ISO 21528-2:2004. Microbiology of the food chain -- Horizontal method for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae -- Part 2: Colony-count technique

ISO 7937:2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the enumeration of *Clostridium perfringens* -- Colony-count technique

ISO 16649-2:2001. Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the enumeration of beta-glucuronidase-positive *Escherichia coli* -- Part 2: Colony-count technique at 44 degrees C using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl beta-D-glucuronide

ISO 6888-1:1999. Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) -- Part 1: Technique using Baird-Parker agar medium.

Jensen VF, Sommer HM, Struve T, Clausen J, Chriél M: Factors associated with Usage of Antimicrobials in Commercial Mink (Neovison vison) Production in Denmark. *Prev.Vet.Med.* Vol. 126, Pp 170-182, 2016

Jensen VF, Sommer HM, Struve T, Clausen J, Chriél M. A cross-sectional field study on potential associations between feed quality measures and usage of antimicrobials in commercial mink (Neovison vison). *Preventive Veterinary Medicine.* 2017;143:54-60. Available from, DOI: 10.1016/j.prevetmed.2017.04.012

Lutsky, I. I., and N. Mor. "Alimentary toxic aleukia (septic angina, endemic panmyelotoxicosis, alimentary hemorrhagic aleukia): t-2 toxin-induced intoxication of cats." *The American journal of pathology* 104.2 (1981): 189.

Maes, N., Magdalena, J., Rottiers, S., De Gheldre, Y., Struelens, M.J., 2002. Evaluation of a triplex PCR assay to discriminate *Staphylococcus aureus* from coagulase-negative staphylococci and determine methicillin resistance from blood cultures. *J. Clin. Microbiol.* 40, 1514-1517.

Naude, T. W., et al. "Tremorgenic neuromycotoxicosis in 2 dogs ascribed to the ingestion of penitrem A and possibly roquefortine in rice contaminated with *Penicillium crustosum*: clinical communication." *Journal of the South African Veterinary Association* 73.4 (2002): 211-215.

Mellmann, A., Friedrich, A.W., Rosenkötter, N., Rothgänger, J., Karch, H., Reintjes, R., Harmsen, D., 2006. Automated DNA sequence-based early warning system for the detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* outbreaks. *PLoS Med.* 3, e33.

Puschner, B. "Mycotoxins" *The Veterinary Clinics Small Animal Practice* 32 (2002): 409-419.

Rattenborg E., Chriél M., Dietz, H.H. (1999): Influence of farm, feed-producer and season on incidence of gastrointestinal disorders in Danish farm mink. *Preventive Veterinary Medicine.* 1999, 38: 4, 231-237.

Samson, R. A., Houbraken, J., Thrane, U., Frisvad, J. C., & Andersen, B. (2010). *Food and indoor fungi.* CBS laboratory manual series 2. Utrecht: CBS-Fungal Biodiversity Centre.

Stegger, M., Andersen, P.S., Kearns, A., Pichon, B., Holmes, M.A., Edwards, G., Laurent, F., Teale, C., Skov, R., Larsen, A.R. 2012. Rapid detection, differentiation and typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* harbouring either *mecA* or the new *mecA* homologue *mecA(LGA251)*. *Clin Microbiol. Infect.* 18, 395-400.

Trebbien, R, Bragstad, K., Larsen, L.E, Nielsen, J., Bøtner, A., Heegaard, P.M.H., Fomsgaard, A., Viuff, B.M., Hjulsgaard, C.K. 2013. Genetic and biological characterisation of an avian-like H1N2 swine influenza virus generated by reassortment of circulating avian-like H1N1 and H3N2 subtypes in Denmark. *Virology Journal*, 10 (1):290-306. *