

NOTAT

Til Naturstyrelsen Camilla Uldal

Vedr. Kobber i markvildt

Fra Mariann Chriél, Rune Dietz, Christian Sonne

3. december 2012
march

Kobber i rådyr og harer

Mariann Chriél, Specialkonsulent, DVM, PhD, Sektion for myndighedsbetjening, beredskab og kommerciel diagnostik, DTU-Veterinærinstituttet, Bülowsvej 27, 1870, Frederiksberg C
Rune Dietz, Professor DSc og Christian Sonne, Seniorforsker, PhD DVM, Institut for Bioscience, Aarhus Universitet, Frederiksborgvej 399, DK-4000 Roskilde

Naturstyrelsen har den 26. november 2012 anmodet en sammenfatning af viden omkring kobber i markvildt herunder specielt hos rådyr og harer til brug for møde i Vildtforvaltningsrådet den 11. december 2012.

Nedenstående sammenfatning omfatter de undersøgelser, der er foretaget i projektet "Center for Vildtsundhed", hvor formålet var at belyse kobbers eventuelle sammenhæng med "den fynske rådyrsyge". Undersøgelserne havde **IKKE** til formål at kortlægge niveauet af kobber i rådyr eller harer. De refererede undersøgelser er udelukkende udført på rådyr og materialet er udtaget fra henholdsvis raske kontrol dyr fra Bornholm og Fyn samt fynske rådyr med tegn på rådyrsyge.

Indsamling af materiale

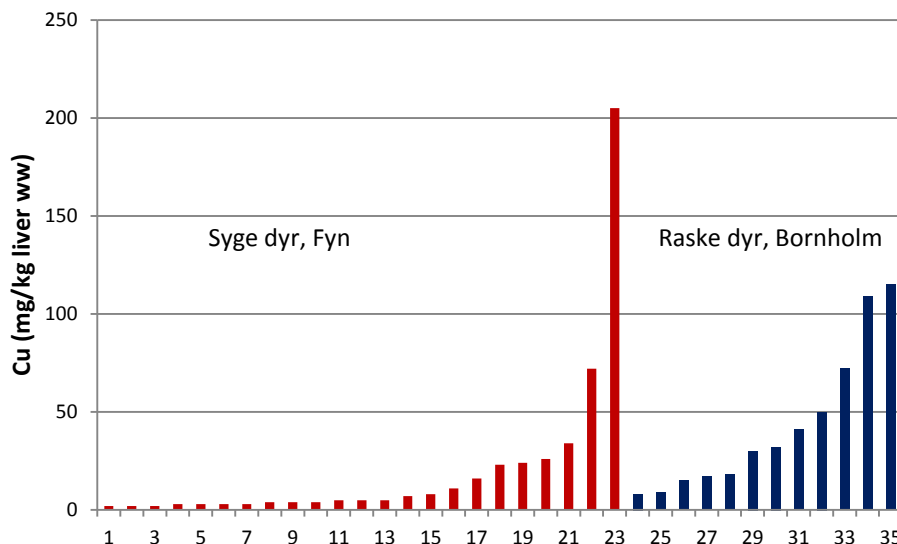
Der er gennemført 2 undersøgelser (A og B) til kvantitativ bestemmelse af kobberindholdet i lever fra rådyr.

Undersøgelse A

I forbindelse med den aktive indsamling af materiale til undersøgelse af årsagen til "råvildtsygen" på bl.a. Fyn, blev der i 2009-2010 indsendt materiale til undersøgelse på IDEXX Vet.Med.Lab. ApS med henblik på undersøgelser for forgiftninger eller mangelsygdomme. Der blev gennemført analyse af en lang række blodværdier (i alt 35 forskellige) med henblik på indholdet af proteiner, vitaminer, mineraler, og enzymer. I denne forbindelse blev der blandt andet lavet målinger af mineraler både i serum og på organprøver. Da mængden af prøvemateriale varierede, blev det ikke alle undersøgelser blevet udført på alle prøverne, men bl.a. kobberundersøgelserne blev prioriteret. Årsagen til den varierende materialetilgængelighed skyldes metoden til indsamling af materiale. En del dyr blev afhentet direkte hos jægeren i forbindelse med aflivning af dyret, mens en anden del af materialet blev udtaget af jægeren selv i forbindelse med aflivning og indsendt som "kit" til Veterinærinstituttet. Brugen af "kits" var af ressourcemæssige hensyn nødvendigt, da det typisk kun var muligt at afhente ét dyr ad gangen og endvidere oftest i aftenstimerne eller i weekenden, hvor jægerne færdes på terrænet.

Der blev undersøgt materiale fra 35 rådyr. Dyrene kom fra Ærø (n=1), Bornholm (n=12) og Fyn (n=23). Der var ialt 18 hundyr, 17 handyr, og en hermafrodit. Alderen på dyrene var 2 juvenile og 13 ældre (alderen på de øvri-

ge dyr var ikke oplyst). Dyret fra Ærø blev inkluderet i gruppen af fynske dyr. Det tvekønnede dyr blev ekskluderet i undersøgelse af kønseffekter. Resultatet af kobber niveauerne er anført i tabel 1 og figur 1.



Figur 2. Kobber koncentrationer i raske dyr (trafikdræbt og jagtskudte) rådyr fra Bornholm og syge (aflivet eller dødfundet) rådyr fra Fyn, 2009-2010.

Tabel 1: Kobberkoncentrationer (mg/kg vådvægt) i levervæv fra danske rådyr indsamlet i 2009-2010. Gennemsnit, antal og p-værdi (Kruskal-Wallis) er anført. Analyserne er foretaget af IDEXX Vet.Med.Lab.

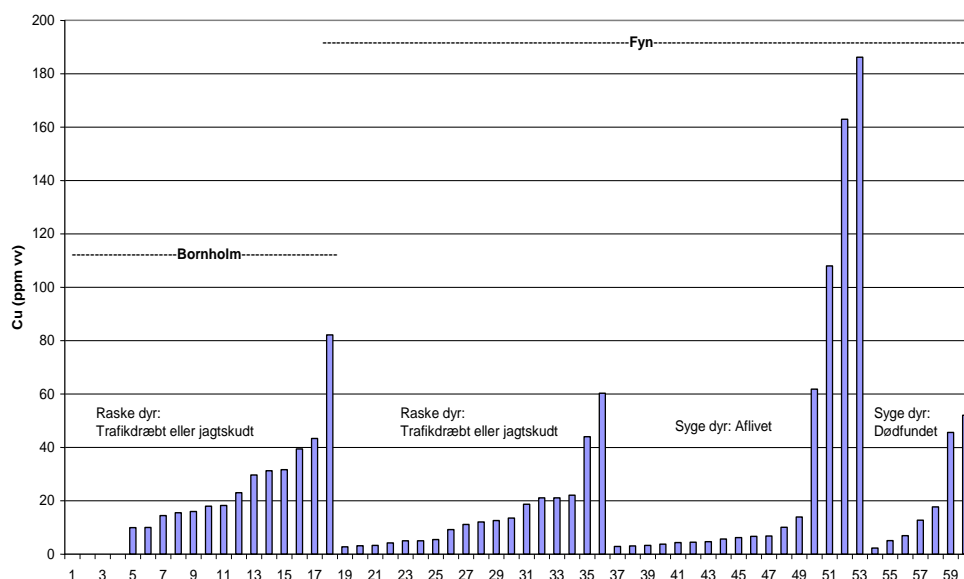
Lokalitet		Køn		Diarré		Afmagring	
Fyn (n=23)	Bornholm (n=12)	Hun (n=18)	Han (n=16)	Ja (n=13)	Nej (n=22)	Ja (n=19)	Nej (n=16)
20,5	43,0	15,6	43,9	5,9	41,4	20,5	37,9
p=0.002		p=0.05		P<0.001		p=0.01	

Undersøgelse B

Til denne undersøgelse blev der udvalgt 40 rådyr fra Fyn (23 dødfundne eller aflivede og 18 raske trafikdræbte eller jagtskudte) og 18 raske rådyr fra Bornholm (trafikdræbte eller jagtskudte). Generelt er det sådan, at grundstoffer er essentielle (livsvigtige og indgår for eksempel i enzymsystemer), mens andre er potentielt giftige som tungmetaller (for eksempel kviksølv, kadmium og kobber) eller kemiske ikke-aktive (for eksempel sølv).

Analyserne blev gennemført ved hjælp af ICP-MS (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry) på 48 grundstoffer. Koncentrationerne i lever af rådyr fremgår af figur 2 og tabel 2, hvor det ses at en betydelig spredning blandt dyrene forekommer. Der ikke påvises nogen signifikant forskel ($p=0,323$) mellem det gennemsnitlige kobberniveau i bornholmske (21,2 mg/kg) og fynske (15,2 mg/kg) rådyr. Der kunne heller ikke påvises forskel på rådyr med og uden diarre og afmagring.

Fra Fyn blev der re-analyseret i tre grupper. Højeste gennemsnit (35,0 mg/kg) og maksimale værdi (186,2 mg/kg) blev fundet hos syge dyr fra Fyn, der var blevet aflivet (se figur 2 og tabel 2). Det skal dog bemærkes at sygdomme eller dødsfald hos de analyserede rådyr kan skyldes en lang række årsager der i de fleste tilfælde ikke vil have noget med en kobber belastning at gøre. Ligeledes kan formodede raske dyr godt have været udsat for en kobberbelastning via føden. Koncentrationsniveauerne kunne imidlertid også antyde at enkelte rådyr har for lavt kobber-niveau idet kobberniveauer på under 6 mg/kg for nogle dyrearter er dødeligt.



Figur 2. Kobber koncentrationer i raske dyr (trafikdræbt og jagtskudte) rådyr fra Bornholm og Fyn samt syge (aflivet eller dødfundet) rådyr fra Fyn.

Tabel 2: Analyse af kobber i lever fra rådyr indsamlet i 2009-2010. Gennemsnit, standard afvigelse, minimum og maksimum samt antal analyser er anført. Analyserne er angivet i mg/kg vådvægt og analyseret af Aarhus Universitet, Institut for Bioscience.

	Bornholm	Fyn		
	Raske dyr (N=18)	Raske dyr (N=18)	Syge dyr – aflivet (N=17)	Dødfundet (N=7)
Gennemsnit	21,2	15,2	35,0	20,3
S.D.	20,3	15,2	59,4	20,2
Min.	0,025	2,7	2,8	2,3
Max.	82,1	60,3	186,2	52,0

Diskussion

Niveau af spor-mineraler i danske rådyr har ikke tidligere været genstand for systematiske undersøgelser, hvorfor det ikke er muligt at angive en normalværdi og relatere kobberniveauer for det enkelte dyr til denne. Undersøgelserne blev derfor tilrettelagt som en case-control undersøgelse, hvor råvildt fra Bornholm uden væsentlig sygdomsforekomst har fungeret som kontrol. Det skal bemærkes, at der ikke er komplet sammenfald mellem diarré og afmagring. Dette kan ses som en indikation på de problemer der er forbundet med at definere det enkelte individs sundhedsstatus i forhold til den "fynske råvildtsyge".

Dette forhold er vi blevet særlig opmærksomme på i forbindelse med indsamlingen af data, da det viste sig, at jægerne havde vanskeligt ved at fremskaffe raske fynske kontroldyr. Det er derfor ikke muligt at kategorisere enkelte individs sundhedsstatus, men udelukkende karakterisere dem ved to af de anførte symptomer (diarré og afmagring). Vi formoder, at denne kombination af kliniske symptomer kun ses i senstadiet af et længerevarende sygdomsforløb. Det vides endnu ikke, hvilke symptomer der kendetegner tidlige stadier af sygdommen. Det er således meget muligt, at dyrene først udvikler diarré relativt sent i sygdomsforløbet.

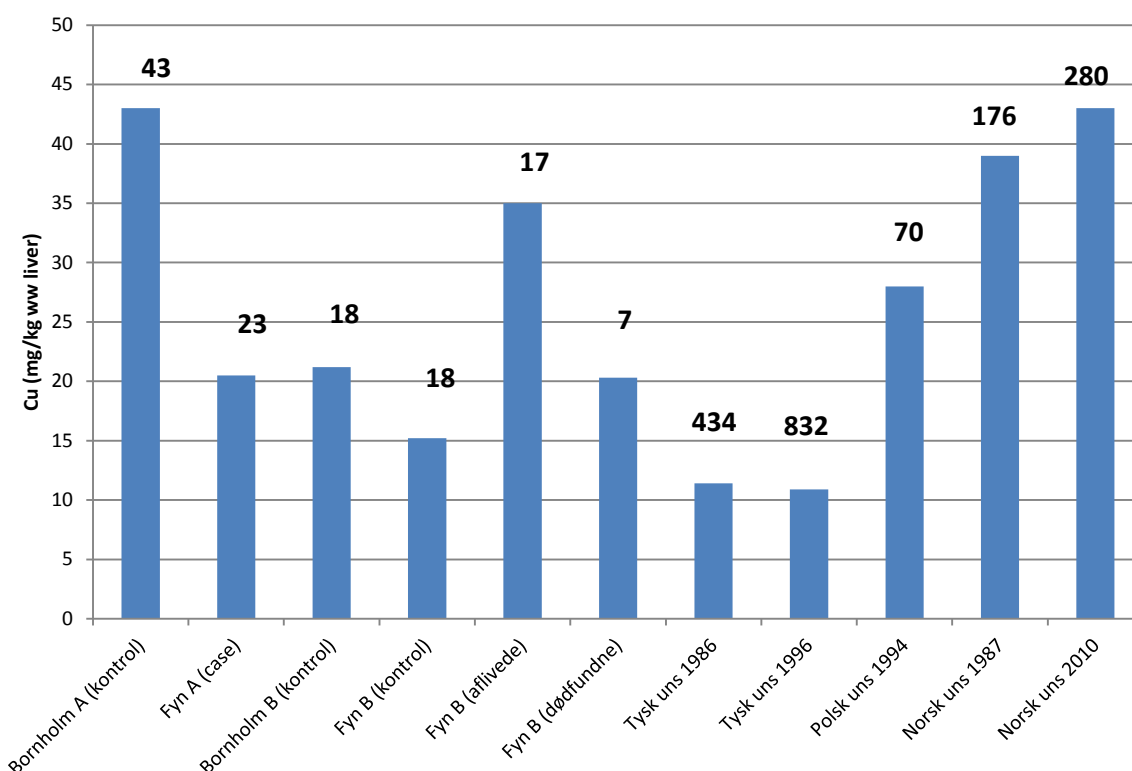
Der eksisterer rapporter om niveauer af spor-mineraler baseret på tyske undersøgelser (Humann-Ziehan, *et al.* 2008) på 15 rådyr (4 hhv. 11 fra to områder med 150 km afstand) skudt under efterårets jagt er der fundet kobber gennemsnit på 18,3 ($\pm 12,0$) mg/kg henholdsvis 28,6 ($\pm 28,6$) mg/kg. Disse resultater er sammenlignelige med andre tidligere tyske undersøgelser (Holm 1993) af 116 rådyr fra 3 områder med værdier fra 11,6 - 22,2

mg/kg. Endelig er der opgjort data fra 434 tyske rådyr (Hecht 1986) i 1986 hvor gennemsnittet var 11,5 mg/kg med en max-værdi på 98,7. Senere undersøgelser af Hecht (1996) på 832 dyr angiver gennemsnit på 10,9 mg/kg (range (10-90%): 2,15-35,9).

Polske undersøgelser (Falandysz 1994) udført på 70 rådyr skudt i 1987-88 viste gennemsnit på 28,0 mg/kg (range: 3,3-100,0). Konklusionen fra denne undersøgelse var, at der ikke var tegn på kobberforgiftning af dyrene til trods for høje værdier hos enkelte individer.

Ældre norske undersøgelser (Frøslie *et al.* 1987) på 176 rådyr viste gennemsnit på 39 mg/kg (range: 1,7-300) og der var ingen tegn på hverken mangel eller forgiftning med kobber hos de indsamlede dyr. Der er senere fulgt op med nye undersøgelser (Vikøren *et al.* 2011) for kobber i norske rådyr indsamlet ved jagt. Der er undersøgt lever fra 280 dyr med et gennemsnitligt indhold på 43 mg Cu/kg. De norske værdier ligger på niveau med bornholmske rådyr, medens de fynske rådyr ligger lavere og mere på niveau med de tyske og polske dyr. Der ikke er systematiske forskelle mellem bornholmske og fynske dyr.

Figur 3 sammenligner kobber-koncentrationer i levervæv fra rådyr i Danmark, Tyskland, Polen og Norge – 3 lande hvor der er udført meget omfattende undersøgelser. Selvom der i Tyskland, Polen og i Norge – som følge af det norske sundhedsovervågningsprogram - har været foretaget relativt omfattende overvågning af rådyrbestande, er der ikke rapporteret om unormal sygdomsforekomst eller overdødelighed svarende til sygdomsudbruddet på Fyn. Bornholm har heller ikke rapporteret om unormal sygdomsforekomst eller overdødelighed i rådyrbestanden (frem til ultimo 2010).



Figur 3. Plot over gennemsnit af rådyrs kobberkoncentrationer på baggrund af danske og udenlandske analyser. Tallene øverst for hver søjle angiver antallet analyserede rådyr i hver undersøgelse.

Der har tidligere været fokus på udledningen af kobber på landbrugsjorden. DMU gennemførte en kortlægning af forekomsten af tungmetaller i Danmark i 1992-1993 (Larsen *et al.* 1996,

<http://www.dmu.dk/kemigmo/tungmetallerjord/>). Det blev konkluderet, at danske jorder generelt ikke indeholder kritiske mængder af tungmetaller. Endvidere var indholdet af kobber et stykke under de opstillede kvalitetskriterier i hele landet, men at de højeste koncentrationer var på øernes og Østjyllands lerholdige jorder. Kobberindholdet var væsentlig lavere på naturarealer og i løv- og nåleskove end på marker med eller uden slamtilførsel, hvilket man ikke var overraskende over, da kobber tilføres landbrugsarealer som plantenæringsstof, samt gennem svinegylle.

Ved en senere redegørelse til miljøministeren i 2003 omkring miljøfremmede stoffer i gyllen blev det anført, at tilførslen af kobber og zink til jorden ved udbringning af gylle blev i 1996 var vurderet på baggrund af den daværende viden om gyllens indhold - bl.a. baseret på en undersøgelse foretaget af Landbrugets Rådgivningscenter i 1994 (Knudsen og Nørgård 1995). DMU's nye undersøgelse af indholdet af miljøfremmede stoffer i gylle tyder på en reduktion af gyllens indhold af kobber (fra ca. 600 til 260 mg/kg tørstof). Tilførslerne af tungmetaller til dyrkningsjorden gennem udbringning af gylle blev ikke vurderet til at udgøre et problem, men at der forsat skulle være fokus på anvendelsen af zink og kobber i foder til svin.

Kobber og zink kan ophobes i landbrugsjorden og være skadelig for dyr og planter. Kobberkoncentrationen steg fra 1986 til 1998 i de øvre jordlag som følge af tilførsel af svinegødning. De målte stigninger var i overensstemmelse med analyseværdier for kobberkoncentrationer i svinegødning målt i praksis. Totalkobber ophobes hovedsageligt i pløjelaget, mens plantetilgængeligt kobber, som følge af større mobilitet, ophobes både i pløjelaget og umiddelbart under pløjelaget (Hansen *et al.* 2005). Og svinegyllen er den væsentligste kilde for tilførsel af kobber til dyrkningsjorden.

At kobber kan være et problem for drøvtyggere specielt får kendes fra udlandet, hvor der er rapporteret om massedødsfald hos får, der har græsset på marker gødet med svinegylle (Nielsen 1989). At der ikke er tale om enkeltstående tilfælde fremgår af at en litteratursøgning på, "Mass mortality sheep copper", in PMC, National Institute of Medicine resulterede i 340 referencer. Får er meget følsomme i forhold til andre arter fremgår af at rapporteringer af forkert foder eller mineralblanding, f.eks. beregnet til svin eller kaniner har forårsaget forgiftning hos får (Nielsen 1989). Der er forskel på fåre-racernes kobberfølsomhed og Texel er blandt de mest følsomme (Wiener 1987). Det er dog uvist hvor sensitive rådyr er i forhold til får, men tyske undersøgelser pointerer, at der kan være forskel i kobberdeponering mellem får og rådyr, da får havde markant højere indhold i leveren (Humann-Ziehanke *et al.* 2008) end rådyr fra to områder. Akut forgiftning med kobber er også rapporteret ved forkert foderblandinger til dådyr i dyrehaver, der resulterede i leverniveauer på mellem 378-422 mg/kg (Körner 1987, citeret i Bogner), et niveau der er ca. dobbelt så højt som de højeste analyser fra Fyn. Forskellen på følsomheden overfor kobber mellem dådyr og rådyr er ikke kendt og i reglen ligger vævsniveauerne lavere for langtidsgiftvirkninger end ved akut forgiftning.

Forklaringen på at visse drøvtyggere så som får udvikler kobber forgiftning er at de har en nedarvet mangel til evne til at udskille kobber via galden (Gooneratne & Christensen 1984).

Kobber er imidlertid igen blevet aktuelt som følge af nye forskningsresultater i 2010 med titlen "Brug af kobber medfører antibiotikaresistens". Plantedirektoratet har til ministeren oplyst, "at det danske jordkvalitetskriterium for kobber er 30 mg pr. kg, hvilket betyder, at der ikke kan forventes skadelige effekter på jordens fauna og mikroorganismer. Miljøstyrelsen undersøgte i 1993-1996 kobberindholdet i danske jorder og fandt median på 7 mg/kg, dvs. langt under den kritiske grænse.

Efter en videnskabelig vurdering i SCAN (forgænger for EFSA, som foretog videnskabelige vurderinger af dyreernæring) blev indholdet af kobber i foder til svin i EU sænket i 2003. Maksimumindholdet for smågrise blev dog kun sænket fra 175 til 170 mg kobber/kg fuldfoder, men nok så vigtigt blev den periode, smågrisene kunne få dette foder, sænket fra 16 til 12 uger. Det betød en væsentlig sænkning, da de æder væsentlig mere om dagen, når de er 13 – 16 uger end når de er 4 til 12 uger. Maksimumindholdet for ældre grise blev samtidig sænket fra 35 mg kobber/kg fuldfoder til 25 mg kobber/kg fuldfoder.

Danmark støttede dengang ved forhandlingerne i EU, at indholdet blev sænket, og foreslog samtidig, at niveauet for kobber skulle revurderes, når ny videnskabelig viden forelå. Plantedirektoratet holdt i 2005 en høring i det daværende Tilsætningsstofudvalg, som havde til opgave at rådgive Plantedirektoratet i forbindelse med fodertilsætningsstoffer. Her deltog blandt andet Danmarks Fødevarerforskning (nu DTU-VET), Danmarks Jordbrugs Forskning, Seruminstittet og Landsudvalget for Svin (nu VSP). Konklusionen på høringen blev, at der ikke var tilstrækkeligt videnskabeligt grundlag for at foreslå niveauet af kobber i foder nedsat. Og i økologiske landbrug er det stadig tilladt at sætte kobber til foder i de samme mængder som i konventionelt landbrug." Plantedirektoratet har dog påpeget nødvendigheden af at Fødevarerministeriet bør igangsætte forskningsmæssige aktiviteter på området, da de miljømæssige konsekvenser af kobbertilsætning i foderet ikke kendes.

Konklusion

Formålet med de 2 kvantitative bestemmelser af kobber i levervæv fra rådyr var at vurdere om dette spormineral kunne være direkte årsag til det syndrom, der resulterer i afmagring og diarré – også kaldet "den fynske rådyrsyge". Ingen af de gennemførte undersøgelser har kunnet bekræfte kobber som en direkte årsag til syndromet.

Det skal understreges, at undersøgelserne udelukkende baseres på allerede indsamlet materiale. Udbringning af svinegylle sker på store arealer, og næsten alle dyr må formodes at kunne komme i kontakt med afgrøder, hvor svinegylle er bragt ud, men der foreligger ikke oplysninger om de enkelte dyrs fourageringsmønster og vi kender ikke fordelingen af tilgængelige arealer med eller uden svinegylle for de undersøgte dyr. Endvidere var rådyrenes ikke aldersbestemt, hvilket betød at en korrektion for eventuel alderseffekt ikke kunne gennemføres.

De mængder af kobber der ledes ud på arealerne via gylle og slam sammenholdt med visse drøvtyggers følsomhed over for kobber bør imidlertid vække bekymring. Dog har vi ikke på baggrund af gennemførte undersøgelser bevis for at kobber er et stort problem i danske rådyr.

Hvis man skal tage kobberproblematikken alvorligt bør man imidlertid gennemføre en større undersøgelse af markvildts indhold af spormineraler, således at det er muligt at fastlægge normalniveauerne for f.eks. danske harer, rådyr, dådyr og krondyr. Da der kan være forskel i følsomheden mellem drøvtyggervildt er det relevant med undersøge flere vildtarter, ligesom der skal tages højde for samspil med andre spormineraler og evt. pesticider, der kan have indvirkning på optagelse, synergi og dermed effekten af kobber. Desuden er der arealer i Danmark, hvor der ikke udbringes husdyrgødning eller slam, der kan fungere som reference i undersøgelserne.

Ydermere bør kobber-optaget hos dansk markvildt undersøges nærmere gennem kontrollerede forsøg, hvor et antal dyr sættes til at græsse på større sammenlignelige jordarealer med forskellig grad af gylle/kobber belastning. Dette er nødvendigt for at få kortlagt markvildts optag af kobber fra afgrøderne og belyst en mulig årsags-sammenhæng.

Referencer:

Anonym: Ministeriet for Fødevarer, Landbrug og Fiskeri: Plantedirektoratet. Kontor/initialer: Foder/GIR. Sagsnr: PD 10-2333-000001: Baggrundsnotat: Kobber i foder. D.23. november 2010

Boutrup, S. (red.), Fauser, P., Thomsen, M., Dahlöf, I., Larsen, M.M., Strand, J., Sortkjær, O., Ellermann, T., Rasmussen, P., Jørgensen, L.F., Pedersen, M.W., Munk, L.M. 2006: Miljøfremmede stoffer og tungmetaller i vandmiljøet. Tilstand og udvikling, 1998-2003. Danmarks Miljøundersøgelser. 140 s. - Faglig rapport fra DMU nr. 585. <http://faglige-rapporter.dmu.dk>

Falandysz, Jerzy: Some toxic and trace metals in big game hunted in the northern part of Poland in 1987-1991. *The Science of the Total Environment* 141, 1994: 59-73

Førslie, Arne, Gunnar Holt, Ragnar Høie, Atle Haugen (1987): Konsentrasjoner av kobber, selen og sink i lever hos elg, rein, rådyr og hare. *Norsk landbruksforskning* 1: 243-249. ISSN 0801-5333.

Gooneratne, S.R. and Christensen, D.A. 1984. Increased copper excretion in bile after thiomolybdate administration. *Fed. Proc.* 43:790.

Hansen, Jørgen, Svend Elsnab Olesen, Ilse Gräber, Jens Petersen, Hans S Østergaard og Hanne Damgaard Poulsen: Anvendelse af kobber og zink i svineproduktion og akkumulering i jorden. *Grøn Viden*, november 2005.

Hecht, Hermann: Unterscheide der Gehalte an Spurelementen in Muskeln und Organen von Wild- und landwirtschaftlichen Nutztieren. *Fleischwirtschaft* 66 (8), 1986.

Hecht Hermann: Kupfer in Muskeln und Lebern von Kälbern und anderen Säugetieren. *Fleischwirtschaft* 76 (5), 1996.

Holm, Jasper: Investigation of roe deer – criteria for use as a bioindicator in specimen banking. *The Science of the Total Environment* 139/140, 1993: 237-249.

Humann-Ziehank, Ester, Martin Ganter, Isabel Hennig-Pauka, BAlfred Binder: Trace mineral status and liver and blood parameters in sheep without mineral supply compared to local roe deer (*Capreolus capreolus*) populations. *Small ruminant research* 75, 2008: 185-191.

Knudsen og Nørgård, 1995 *Sammensætning af svinegylle*. Landbrugets Rådgivningscenter, 1995.

Körner 1987. citeret af Hermann Bogner i bogen: *Damwild und Rotwild in landwirtschaftlichen Gehegen* (Hrsg).

Larsen *et al*, 1996, <http://www.dmu.dk/kemigmo/tungmetallerjord/>)

Nielsen, K. 1989. *Kompendium I Intern medicin Bind I-IV*. DSR boghandel, Den Kongelige Veterinære og Landbohøjskole.

Vikoren T, Kristoffersen AB, Lierhagen S, Handeland K. (2011): A comparative study of hepatic trace element levels in wild moose, roe deer, and reindeer from Norway. *J Wildl Dis.* 2011 Jul; 47(3):661-72.