

Norges miljø- og biovitenskapelige universitet

Fakultet for Veterinærmedisin  
Veterinærhøgskolen  
Institutt for sports- og familiedyrmedisin  
Seksjon for hestesykdommer

Fordypningsoppgave 2020, 15 stp  
Fordypningsretning: Hestemedisin

## ***Salmonella*-utbruddet på Hesteklinikken ved NMBU**

Outbreak of salmonellosis in the Equine Hospital of  
Norwegian University of Life Sciences

Maria Lien og Camille Wagner  
Kull 2014

Veiledere: Siv Hanche-Olsen og Ane Mohn Bjelland

# Innhold

Sammendrag .....	3
Definisjoner og forkortelser .....	4
Innledning.....	5
Generelt om <i>Salmonella</i> .....	5
<i>Salmonella</i> hos hest.....	6
<i>Salmonella</i> -utbruddet på Hesteklinikken .....	7
Formål .....	8
Materiale.....	8
Hestene oppstallet under første episode .....	8
Hestene oppstallet under andre episode .....	8
Hestene oppstallet under tredje episode .....	9
Hesteklinikken.....	9
Eksternt isolat .....	10
Metode.....	11
Prøvetakning av faecesprøver fra smittede hester .....	11
Prøvetakning av miljøprøver fra Hesteklinikken og det eksterne isolatet .....	11
Bakteriologisk dyrkning av faecesprøver og miljøprøver.....	11
Antibiotikasensitivitetstesting .....	16
Resultater.....	16
Første episode av utbruddet.....	17
Tiltak på Hesteklinikken .....	27

Planlegging av tiltak før sanering.....	29
Flytting av hester til eksternt isolat .....	30
Sanering av Hesteklinikken.....	30
Andre episode av utbruddet.....	33
Tredje episode av utbruddet .....	38
Diskusjon.....	42
Monofasisk <i>Salmonella</i> Typhimurium hos mennesker .....	42
Sanering.....	42
Smittekilde .....	44
Smitterisiko .....	46
Risikofaktorer for utbrudd.....	47
Symptomer .....	48
Overvåkning underveis .....	49
PCR for påvisning av <i>Salmonella</i> .....	49
Forflytning av hest .....	50
Smitteutskillelse .....	50
Konklusjon .....	51
Takk til bidragsyttere.....	52
Summary .....	52
Referanser.....	54

## Sammendrag

*Tittel:* *Salmonella*-utbruddet ved Hesteklinikken på NMBU

*Forfattere:* Maria Lien og Camille Wagner

*Veiledere:* Siv Hanche-Olsen, Institutt for sports- og familiedyrmedisin

Ane Mohn Bjelland, Institutt for parakliniske fag

Denne oppgaven beskriver et utbrudd med *Salmonella* Typhimurium som forårsaket at Hesteklinikken på NMBU måtte stenge tre ganger i 2018 og 2019. Totalt 33 hester som sto oppstallet på klinikken under utbruddet fikk påvist *Salmonella*-smitte, av disse ble fire avlivet som følge av infeksjonen. Det er samlet informasjon om hester som har vært pasienter på Hesteklinikken underveis og en del av disse blir presentert som en kasus-serie. Det har også blitt samlet informasjon om avføringsprøver og miljøprøver tatt i perioden som en del av et overvåkningsprogram og resultatene av disse. En av de smittede hestene ble persistent utskiller av *Salmonella* og skilte ut bakterien i 7,5 måneder inntil den ble avlivet. Smittekilden er ikke fastslått, men man mistenker at den kan ha blitt bragt inn på klinikken via grøvfor.

## Definisjoner og forkortelser

<i>Salmonella</i>	Gram negativ stavbakterie
Salmonellose	Sykdom forårsaket av <i>Salmonella</i> -infeksjon
Nosokomiell infeksjon	Sykehusinfeksjon
Zoonose	Infeksjonssykdom som kan smitte mellom dyr og mennesker
Subklinisk infeksjon	Etablering av et agens i en vert som ikke gir utslag i synlige symptomer
Sanering	Å bringe tilbake til frisk tilstand
Kolitt	Betennelse i stortarm
Serotype	Betegnelse på ulike typer mikroorganismer av samme art som bare kan skjelnes ved typespesifikke sera
B-sykdom	Sykdom som ansees som alvorlig, og hvor systematisk bekjempelse er påkrevd for å kontrollere sykdommen. Jfr. dyrehelseforskriften §28 (1).
Nøytropeni	Nøytrofile granulocytter < 2 x 10 <sup>9</sup> /L (Referanseverdier: 2,1 til 7 x 10 <sup>9</sup> /L)
Lymfopeni	Lymfocytter < 1 x 10 <sup>9</sup> /L (Referanseverdier: 1,5 til 5 x 10 <sup>9</sup> /L)
Leukopeni	Leukocytter < 4 x 10 <sup>9</sup> /L (Referanseverdier: 5 til 12 x 10 <sup>9</sup> /L)
Feber	Rektal morgentemperatur over 38,1°C

## Innledning

I løpet av 2018 og 2019 har Hesteklinikken ved NMBU Veterinærhøgskolen blitt stengt hele tre ganger på grunn av påvist *Salmonella*-smitte. Dette har gitt store ringvirkninger for klinikken, de ansatte og studenter. Utbruddet har hatt flere ulike negative konsekvenser, som mangel på pasienter til undervisning, store økonomiske tap og økt morbiditet og mortalitet hos pasienter. Flere kontaktbesetninger ble også båndlagt under utbruddet slik at mange i hestemiljøet har blitt påvirket. Det er den samme serotypen av *Salmonella* som har blitt påvist i alle tilfellene på Hesteklinikken. Dette indikerer at det er en sammenheng mellom de tre episodene og at det finnes en felles smittekilde.

*Salmonella* er en viktig årsak til sykdom hos mange dyrearter inkludert hest og menneske (2). Det finnes flere tusen serotyper av bakterien og mange av disse har et bredt spekter av verter (3). Symptomer hos smittede individer kan variere fra subklinisk infeksjon til mild diaré eller alvorlig påkjent allmenntilstand og død (4, 5). Både mennesker og dyr kan være subkliniske bærere av *Salmonella* (5-8). Det er relativt lite *Samonella* hos husdyr i Norge sammenlignet med andre land og det er høyt prioritert å beholde denne gunstige situasjonen (9). *Salmonella* er derimot relativt utbredt hos småfugler og pinnsvin i Norge (10). *Salmonella* er ifølge dyrehelseforskriften en B-sykdom og dette medfører ulike lovpålagte tiltak ved mistanke om smitte og utbrudd. Ved utbrudd av B-sykdom skal det blant annet ikke føres mottakelige dyr verken ut eller inn av besetningen og Mattilsynet pålegger restriksjoner også i andre staller som har vært i kontakt med besetningen (1) .

### Generelt om *Salmonella*

*Salmonella* er et genus av Gram-negative stavbakterier i familien Enterobacteriaceae. De er ikke sporedannende, faktultativt anaerobe bakterier (11). Bakteriene er hovedsakelig

bevegelige og har flageller rundt cellekroppen. Cellediameter varierer mellom 0,7 og 1,5 µmeter. Det finnes to arter av *Salmonella*: *S. enterica* og *S. bongori*. *S. enterica* blir videre delt inn i seks underarter som inkluderer over 2500 serotyper. *S. enterica* finnes i varmblodige dyr og i miljøet i hele verden (12). *S. bongori* finnes hovedsakelig i vekselvarme dyr som reptiler. *Salmonella* er fakultativt intracellulære patogener og kan invadere ulike typer celler i kroppen som f. eks. epitelceller i tarm, makrofager og dendritiske celler. Selv om de fleste infeksjoner med *Salmonella* er forårsaket av inntak av mat eller fôr kontaminert med avføring, såkalt fekal-oral smitte, kan bakterien overleve lenge og replikere i fuktig miljø og gjøre kilden til smitten vanskelig å lokalisere (3).

### ***Salmonella* hos hest**

*Salmonella* Typhimurium ble for første gang beskrevet som årsak til kolitt hos hest i 1919 og det har siden den gang blitt beskrevet utbrudd på hesteklinikker rundt om i verden med denne bakterien flere ganger (2, 3, 8, 13-15). Salmonellose ses oftest på hesteklinikker og avlsstasjoner og det finnes mange faktorer som predisponerer hospitaliserte hester og føll for å få salmonellose. Blant annet gir pågående sykdom, stress assosiert med transport, kirurgi og administrering av ulike medisiner som antibiotika og anthelmintika økt risiko for å bli rammet av salmonellose og kan øke utskillelsen fra asymptomatiske bærere. (2, 7, 16). Unge føll er mer utsatt for bakterien pga. ufullstendig utviklet immunforsvar (3). Det er også observert at antall utbrudd med *Salmonella* og utskillelse av bakterien fra subkliniske bærere øker i varmt vær (3, 16).

Alvorlighetsgraden av *Salmonella*-infeksjon hos hester varierer mye ut ifra blant annet pasientens alder, immunstatus og stressnivå. I tillegg gir de ulike serotypene av *Salmonella* ulike kliniske presentasjoner (17). Akutt diaré er den vanligste kliniske manifestasjonen av *Salmonella* og feber og leukopeni blir også ofte observert i forbindelse med salmonellose

(18). Hos føll kan man også ofte observere bakteriemi (3, 7). Utbruddet på Hesteklinikken skilte seg noe fra den typiske manifestasjonen ved at få av de smittede hestene hadde leukopeni, ca. halvparten hadde feber og et fåtall hadde diaré.

### ***Salmonella*-utbruddet på Hesteklinikken**

Den første episoden startet med at *Salmonella* ble funnet hos et føll avlivet på klinikken på grunn av leddinfeksjon i slutten av mai 2018. *Salmonella* ble deretter påvist hos de fleste hestene oppstallet på klinikken i den perioden. *Salmonella* ble også påvist i mange områder av stallmiljøet. Klinikken ble stengt og all trafikk av hester inn og ut av stallen ble stoppet for å unngå spredning av smitten. Videre ble det tatt jevnlige prøver av hestene på klinikken for å undersøke om noen av dem kvittet seg med infeksjonen. Hestene som sto på Hesteklinikken ble etterhvert flyttet til et eksternt isolat slik at sanering av miljøet på Hesteklinikken kunne starte. Saneringen ble krevende og det ble nødvendig med totalt tre nedvaskinger før alle miljøprøvene ble negative og klinikken kunne åpnes igjen i september 2018.

Den andre episoden oppsto kun to uker etter gjenåpningen av Hesteklinikken. Samme type *Salmonella* som ble påvist i juni ble også funnet i oktober 2018. Dette indikerte en kobling mellom de to episodene. Den samme prosedyren for smittehåndtering som ble brukt i den første episoden ble satt i gang. Da klinikken igjen kunne åpnes 4. april 2019, ble dette gjort gradvis ved at man begrenset inntaket av pasienter til kun noen få hester. Klinikken ble etter hvert satt i normal drift i juli 2019.

Etter kun en drøy måned med normal drift ble det påvist *Salmonella* for tredje gang. Det ble bestemt at Hesteklinikken på Veterinærhøyskolen i Oslo skulle forbli stengt inntil nye lokaler kunne tas i bruk på Ås.



## **Formål**

Målet med denne oppgaven er å beskrive *Salmonella*-utbruddet med vekt på pasientene som fikk påvist *Salmonella* på Hesteklinikken ved NMBU Veterinærhøgskolens i 2018 og 2019. I tillegg vil det bli redegjort for mulige opphav til smitten, faktorer som kan ha påvirket spredning av smitten på klinikken og overvåkning underveis. Det vil også bli redegjort for utskillelestiden for pasientene som ble smittet.

Utbruddet har vært komplekst og langvarig og bakterien har kommet tilbake etter flere omfattende saneringer av miljøet. Derfor ønsker vi å lage en god beskrivelse over de ulike fasene av utbruddet for å gi en oversikt over det som har skjedd.

## **Materiale**

### **Hestene oppstallet under første episode**

Vi har samlet informasjon om de 24 hestene som var oppstallet og to hester som nylig hadde blitt avlivet på Hesteklinikken da *Salmonella* ble påvist for første gang i 2018. Informasjon om disse hestene inkluderer årsak til at de ble innlagt på Hesteklinikken, sykdomsutvikling under oppholdet og resultater av faecesprøver under hele isoleringsperioden. Informasjonen har blitt hentet fra journaler tilgjengelig i Hesteklinikkens journalsystem og fra Siv Hanche-Olsen sin samling av informasjon og prøveresultater.

### **Hestene oppstallet under andre episode**

Fra den andre episoden har det også blitt samlet samme type informasjon om 11 hester som var oppstallet på Hesteklinikken da *Salmonella* ble påvist for andre gang i 2018. Hestene fra første episode inngår ikke i denne delen da de på dette tidspunktet var oppstallet på et eksternt isolat.

## **Hestene oppstallet under tredje episode**

Den tredje episoden i september 2019 oppsto mens 7 hester var oppstallet på Hesteklinikken.

Vi har samlet informasjon om disse hestene på samme måte som for de andre episodene.

## **Hesteklinikken**

Hesteklinikken består av tre stallavdelinger i et felles bygg, hvor stallavdeling 1 og 2 ligger ved siden av hverandre adskilt av en smal gang og et fôrrom, mens stallavdeling 3 ligger mer isolert på andre side av bygget (Figur 1). Mellom stallavdeling 3 og de to andre er inngangen til klinikken og mønstringshallen. Stallavdeling 1 består av syv bokser med fire på en side og tre større på andre siden. Stallavdeling 2 består av åtte bokser med fire på hver side.

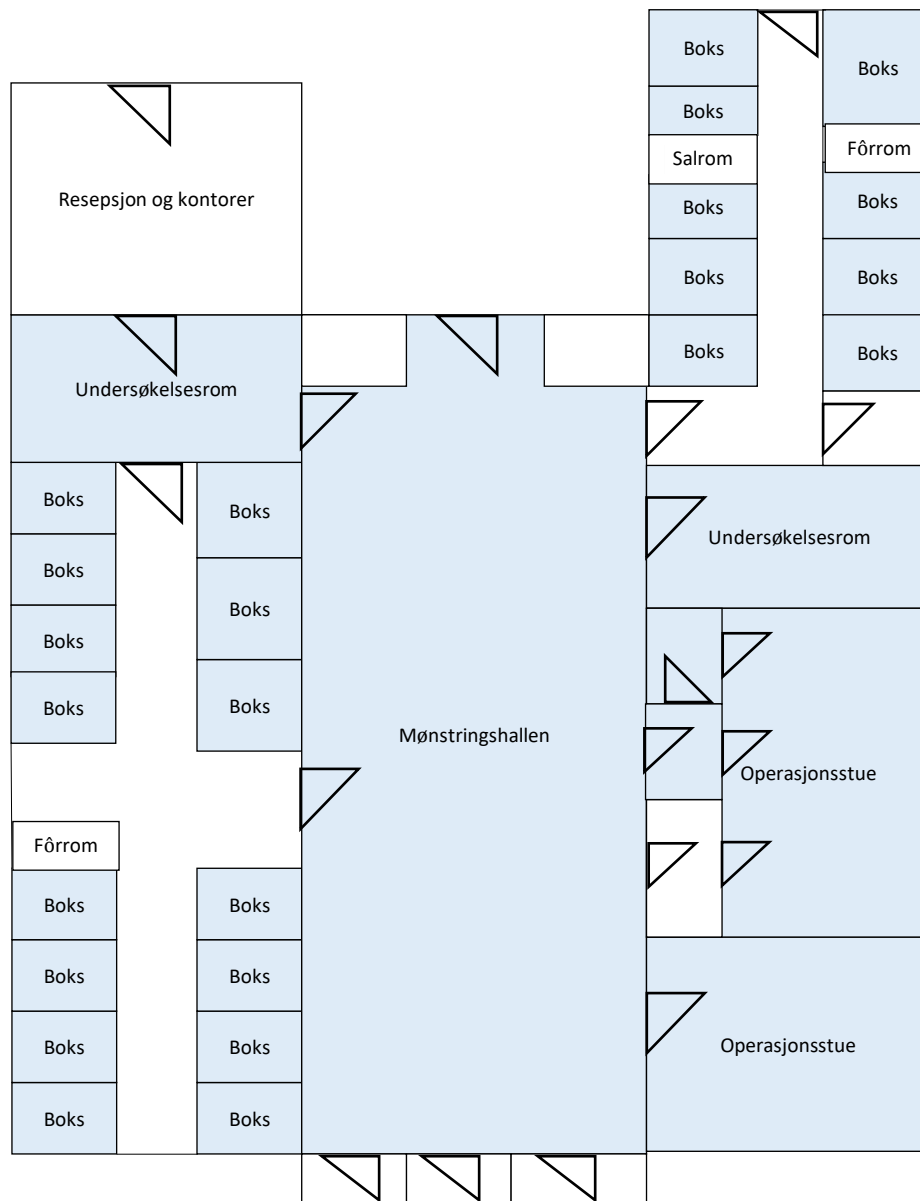
Stallavdeling 3 har ni bokser med fire på en side og fem på motsatt side. Denne avdelingen er delt med et fôrrom og et salrom imellom, slik at tre bokser ligger litt for seg selv.

Det finnes en isolatboks med smittesluse som ligger i en annen del av området et stykke unna selve stallen.

Det finnes også to undersøkelsesrom i bygget, hvorav det som ligger ved siden av stall 3 i hovedsak brukes til rene prosedyrer som endoskopi og ultralydundersøkelser. Ved siden av dette undersøkelsesrommet ligger det to operasjonssaler. Det andre undersøkelsesrommet ved siden av stall 1 brukes til urene behandlinger som bandasjeskift, skylling av bihuler, rektalisering og lignende. I overetasjen er det kontorer og på loftet er det lagret høy og kraftfôr. En bygning med tredemølle og smie ligger i en annen bygning ca 50 meter unna klinikken.

Vi har samlet resultatene av miljøprøvene fra stallene og de ulike rommene hvor hester passerer. Disse prøvene har blitt tatt av Mattilsynet og av ansatte på Hesteklinikken. De har

vært analysert på laboratoriet til Veterinærinstituttet eller på Veterinærhøgskolens mikrobiologiske laboratorium.



Figur 1: Tegning av Hesteklinikken ved NMBU Veterinærhøgskolen. Trekkanter indikerer dører.

## Eksternt isolat

Hestene fra det første og andre utbruddet ble transportert til et eksternt isolat. Isolatet ble laget under den første episoden. Stedet som ble brukt var en uisolert låve på ca. 25 x 10 m. Vi har samlet resultatene fra miljøprøvene tatt fra isolatet under perioden juli til desember 2018.

## Metode

### **Prøvetakning av faecesprøver fra smittede hester**

For å påvise at en hest er smittet av *Salmonella* analyserer man avføringen til denne hesten. Avføringen kan enten tas opp fra boksgulvet eller tas ut rektalt av en veterinær eller annet personell med hansker og glidemiddel. Avføringen overføres så til et sterilt prøveglass. Prøven med informasjon om hesten og dato sendes videre til Veterinærhøgskolens mikrobiologiske laboratorium eller til Veterinærinstituttet.

### **Prøvetakning av miljøprøver fra Hesteklinikken og det eksterne isolatet**

Miljøprøver tas med en steril kompress fuktet med sterilt saltvann. Prøvetager bruker hansker og gnir kompressen over et stort område, for eksempel over en hel boksvegg eller over hele innsiden av en krybbe. Det tas også prøver av dørhåndtak, under utstyr, fra sluk og gulv. Hver kompress settes i et sterilt prøveglass eller steril pose og merkes med området som testes så presist som mulig og dato før prøven sendes videre til laboratoriet for bakteriedyrkning.

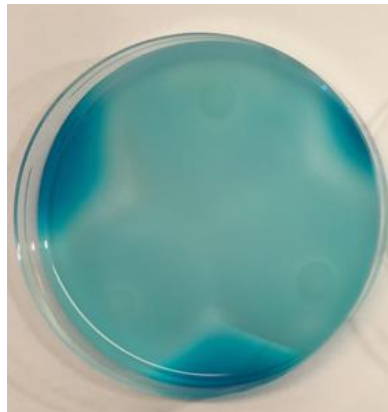
### **Bakteriologisk dyrkning av faecesprøver og miljøprøver**

Laboratoriet følger en detaljert protokoll for å påvise *Salmonella*. Protokollen baserer seg på en europeisk standard som heter NS-EN ISO 6579-1:2017.

Dag 0: Når prøven kommer til laboratoriet veies det ut 10 gram avføring som overføres til et nytt glass hvor det tilsettes 100 ml bufret peptonvann. Prøven blir da fortynnet 1:10. Prøven inkuberes i 18 timer ved 35 °C. Dette steget fører til at bakteriene i prøven oppformerer, det vil si at antallet bakterier inkludert antallet *Salmonella* øker slik at det blir lettere å påvise *Salmonella* i de videre stegene.

Dag 1: Det overføres 100 µl til tre jevnt fordelte dråper på en Modifisert Rappaport-Vassiliadis (MRSV) agar fra det øverste sjiktet av det bufrete peptonvannet. Skålen inkuberes i 18 timer ved 42 °C. Denne skålen påviser bevegelige *Salmonella*. Samme dag gjennomføres det også en selektiv oppformering av *Salmonella* om den er tilstede i prøven. 1000 µl fra det øverste sjiktet av det bufrete peptonvannet overføres til et rør med 9 ml Muller-Kauffmann tetrathionate-novobiocin (MKTTn) medium som inkuberes i 18 timer ved 35 °C.

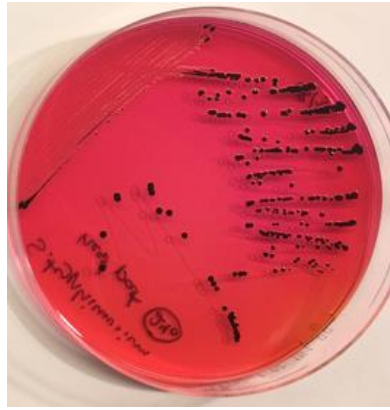
Dag 2: MSRV-skålen avleses for å se etter vekst av bevegelige bakterier. Hvis en koloni viser typisk vekst overføres denne med en podeøse på Xylose Lysine Deoxycholate (XLD) agar med standard metode. Skålen inkuberes i 24 timer ved 35 °C. Hvis ingen vekst er observert på MSRV-skålen inkuberes denne i nye 18 timer ved 42 °C.



Bilde 1: MSRV-skål med vekst av *Salmonella* Typhimurium påvist under utbruddet på Hesteklinikken

Samme dag overføres også MKTTn-mediet med 10 µl podeøse på XLD-skål med standard metode. Skålene inkuberes som nevnt ovenfor i 24 timer ved 35 °C. Ved lite vekst i MKTTn-mediet etter et døgn kan denne inkuberes i nye 18 timer ved 35 °C.

Dag 3: Alle skålene avleses for å se etter positiv vekst, det vil si sorte kolonier på XLD-skål. Mistenkte kolonier på skålene sås på blodskål som inkuberes i 18 timer ved 35 °C.



Bilde 2: XLD-skål med vekst av *Salmonella Typhimurium* fra utbruddet på Hesteklinikken

Dag 4: Gjennomføring av biokjemiske tester fra koloniene på blodskål. De biokjemiske testene som rutinemessig brukes inkluderer IMViC (indol, metylrødt, Voges-Proskauer og citrat) i tillegg til TSI (Triple Sugar Iron test), ureasetest og API20E-kit (Biomérieux). Typiske biokjemiske reaksjoner for *Salmonella Typhimurium* er negative tester for indol og Voges-Proskauer, og positive tester for metylrødt og citrat (IMViC - + - +). I tillegg er bakterien H<sub>2</sub>S-positiv og ureasenegativ. For verifisering av *Salmonella Typhimurium* vil kolonier som viser typiske resultater for *Salmonella* i tillegg undersøkes serologisk. Ved hjelp av Kaufmann-White-systemet klassifiseres *Salmonella* i ulike serogrupper og serotyper på grunnlag av overflateantigener. Den serologiske undersøkelsen utføres ved hjelp av agglutinasjonstester med kommersielt tilgjengelige antisera som inkluderer omnivalente og gruppespesifikke antisera i tillegg til antisera mot spesifikke Vi-, O- og H-antigen. Ved bruk av serologiske undersøkelser kan man allerede ved dag 2 i diagnostikken få sterk mistanke om tilstedeværelse av *Salmonella* i prøven. Påvisning av *Salmonella* bekreftes på grunnlag av positive agglutinasjonstester av kolonier tatt fra blodskål på dag 4 samt de biokjemiske undersøkelsene som avleses på dag 5 i diagnostikken.

Serotyper av *Salmonella* identifiseres på bakgrunn flagellarproteiner (H-antigener) og lipopolysakkaridkjeder (O-antigener). Mange serotyper uttrykker to forskjellige H-antigener,

fase 1 og fase 2, som reguleres slik at kun ett av antigenene uttrykkes til enhver tid og disse serotypene betegnes som difasiske. Hvis serotypen kun uttrykker én type H-antigen betegnes den som monofasisk (19).

Biokjemiske reaksjoner	Auto-agglutinerings	Serologiske reaksjoner	Tolkning
Typisk	Nei	O- og H-antigen positive (og Vi positiv hvis testet)	<i>Salmonella</i> sp.
Typisk	Nei	O- og H-antigen negative	Mulig <i>Salmonella</i> sp.
Typisk	Ja	Ikke testet pga auto-agglutinerings	
Ikke typisk	-	-	Avkreftet <i>Salmonella</i> mistanke

Tabell 1: Tolkning av serologiske testresultater

Medium	Funksjon
Bufret peptonvann (BPW)	Oppformerer bakterier
MKTTn	Oppformerer selektivt <i>Salmonella</i>
MSRV	Påviser typisk eller mistenkt vekst av bevegelige <i>Salmonella</i>
XLD	Påviser typisk eller mistenkt vekst av <i>Salmonella</i>
Blod	Til renkultur og videre arbeid (biokjemi og serologi) med typiske eller mistenkte <i>Salmonellakolonier</i>
TSI	Biokjemisk test for å påvise typiske <i>Salmonella</i> eenskaper
UREA	Biokjemisk test for å påvise typiske <i>Salmonella</i> eenskaper

Tabell 2: Oversikt over medier som brukes for å påvise *Salmonella*

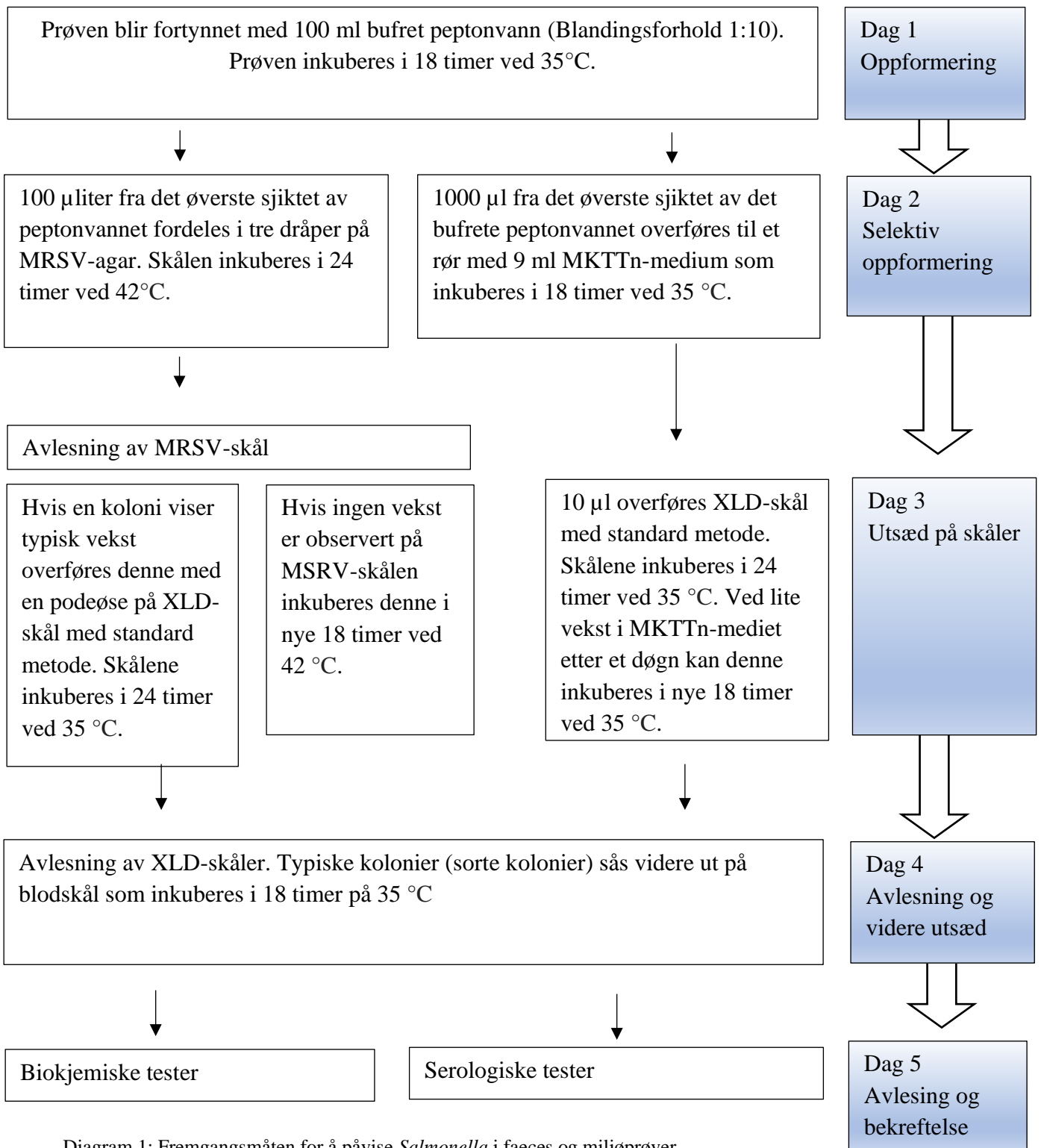


Diagram 1: Fremgangsmåten for å påvise *Salmonella* i faeces og miljøprøver



## Antibiotikasensitivitetstesting

Sensitivitetstesting av *Salmonella* mot ulike antibiotika kan benyttes for å gi en indikasjon om ulike sykdomstilfeller og utbrudd av bakterien kan være forårsaket av samme klon og dermed ha et felles opphav. Antibiotikasensitiviteten til bakterien er ikke nødvendigvis relevant i behandlingen av pasienter smittet av *Salmonella*, da infeksjonen vanligvis ikke behandles med antibiotika. For å undersøke bakteriens sensitivitet mot ulike antibiotika blir Kirby-Bauer diskdiffusjonsmetode benyttet. Med denne metoden blir tabletter med ulike typer antibiotika i definerte konsentrasjoner plassert på en Mueller Hinton agarskål der bakterien på forhånd er sådd ut i en konsentrasjon som gir semikonfluerende vekst. Agarskålen inkuberes ved 37 °C i 18 timer før diameteren av hemningssonen rundt tablettene blir målt. Størrelsen på hemningssonen er et uttrykk for bakteriens følsomhet overfor medikamentet i tablett og klassifiserer bakterien som enten sensitiv, intermediær eller resistent (S-I-R-systemet). Grenseverdier for disse følsomhetskategoriene er definert av ulike internasjonale referansegrupper blant annet The European Committee of Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST).

## Resultater

*Salmonella*-bakterien som ble påvist på Hesteklinikken var en monofasisk variant av serotypen *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serotype Typhimurium. Den ble påvist ved bruk av protokollen beskrevet over. Bakterien viste typisk vekst på MRSV-skål og sorte kolonier på XLD-skål. Ved undersøkelse med biokjemiske tester viste bakterien typiske reaksjoner: IMViC -+++, den var ureasenegativ og TSI-testen viste H<sub>2</sub>S -produksjon. Den isolerte *Salmonella*-bakterien viste positiv agglutinasjonstest for O-antigenene 4, 5 og 12 som er typisk for *Salmonella* Typhimurium. På serologiske tester for H-antigen uttrykte bakterien fase 1i, og hadde ikke fase 2 og var derfor monofasisk. Videre er bakterien som har blitt

påvist resistent mot flere typer antibiotika som vist i tabellen under. Resistensmønsteret har vært det samme ved hver påvisning gjennom hele utbruddet.

Type antibiotika	
Penicillin	Resistent
Trimetoprim Sulfadiazin	Resistent
Tetracyclin	Resistent
Fucidin	Resistent
Cephaleksin	Sensitiv
Ampicillin	Resistent
Amoxicillin/Clavelan	Resistent
Enrofloxacin	Sensitiv
Gentamycin	Resistent
Neomycin	Sensitiv
Trimetoprim	Resistent

Tabell 3: Oversikt over resistensmønsteret til *Salmonella*-varianten påvist under utbruddet

## Første episode av utbruddet

I juni 2018 ble det påvist *Salmonella* Typhimurium i et ledd fra et obdusert føll.

Hesteklinikken varslet Mattilsynet om funnet den 5. juni og stoppet all trafikk på klinikken.

På grunnlag av dette funnet fattet Mattilsynet et vedtak om båndlegging av Hesteklinikken

den 6. juni. Dette innebar at all transport av hest inn og ut av klinikken måtte stanses,

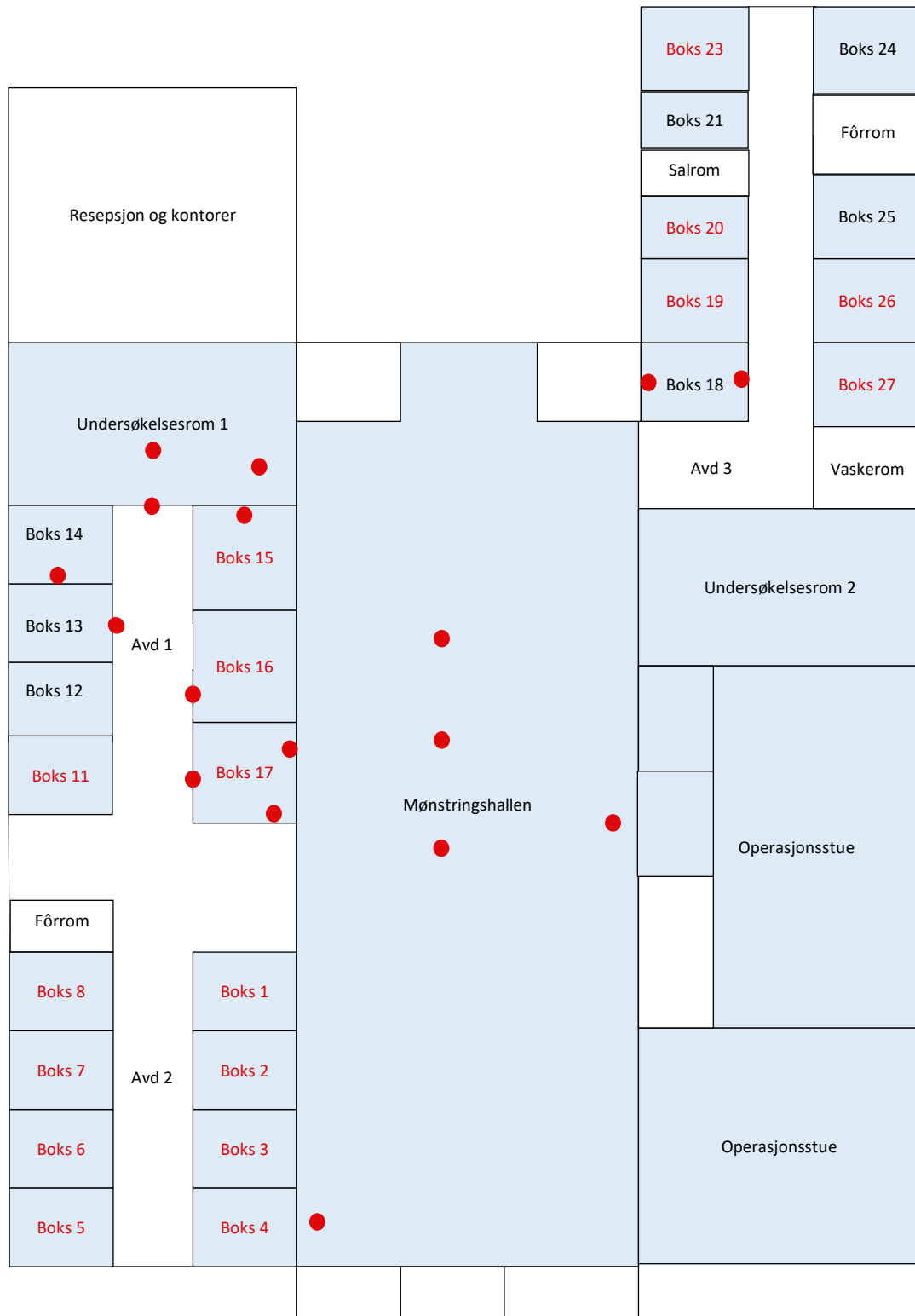
persontrafikk måtte begrenses, innganger til klinikken måtte merkes med Mattilsynets

varselskilt om smittsom sykdom og avføring og strø måtte samles opp og destrueres.



Bilde 3: Utsiden av Hesteklinikken merket med Mattilsynets varselkilt

For å få oversikt over situasjonen ble det tatt faecesprøver av alle de 24 oppstallede hestene den 5. juni. Prøvesvarene viste at 22 av de 24 (91,6%) oppstallede hestene var positive. For å videre kartlegge omfanget av smitten ble det også analysert flere prøver fra det avlivede føllet som først fikk påvist smitte i leddet (hest 1.1) og en annen, nylig avlivet hest (hest 1.2). Begge de to avlivede hestene viste seg å være positive for *Salmonella*. Av de 26 hestene, inkludert de to nylig avlivede, som var involvert i første episode av utbruddet var 24 av 26 smittet (92,3 %). Den 5. juni ble det tatt 16 miljøprøver av Hesteklinikken og 100% av disse kom tilbake med positivt prøvesvar for *Salmonella*. Den 7. juni ble det tatt 10 miljøprøver hvorav 70 % var positive.



Figur 2: Oversikt over Hesteklinikken som viser hvor de smittede hestene sto (rødt) og områder med positive miljøprøver. I undersøkelsesrom 1 er positive prøver tatt fra tvangsboks og sluk. I boks 17 er prøver tatt fra vegg, dør og krybbe. Prøver fra boks 14, 15, 16, og 18 er tatt fra vegg eller dør. Prøver fra stallavdeling 1 og mønstringshallen er tatt fra gulv.

I løpet av perioden 22. mai til 14. juni, ble det registrert at 12 av 24 (50%) smittede hester hadde feber (rektal morgentemperatur på over 38,1°C). For opptil fem smittede pasienter er det grunn til å mistenke at *Salmonella* var årsak til feberen, men feber kan også vært forårsaket av andre årsaker som f. eks. pågående leddinfeksjon, pleuritt eller en sepsistilstand. Tre smittede hester (12,5%) utviklet signifikant leukopeni (leukocytter < 4 x 10<sup>9</sup>/L, referanseverdier: 5-12 x 10<sup>9</sup>/L). Det ble også registrert totalt fire smittede hester med diaré (16,7%). Tre av de fire hestene med diaré var føll, så kun én voksen av alle de smittede hestene hadde diaré. Denne voksne hesten samt et føll hadde rektal temperatur på 40°C, leukopeni, vandig diaré og unormal slimhinne med toksisk rand. De to individene måtte til slutt avlives på grunn av dyrevelferdsmessige hensyn knyttet til kritisk dårlig allmenntilstand og dårlig respons på behandling. Disse hestene var de eneste i denne episoden som ble avlivet på grunn av komplikasjoner som kan relateres til *Salmonella*-infeksjon.

Hester som utviklet symptomer som kunne skyldes *Salmonella*-infeksjon var kritisk syke føll, hester med gastrointestinale problemer og hester som hadde gjennomgått kirurgi i narkose.

Hester som ikke utviklet noen symptomer på *Salmonella*-infeksjon selv om de var infisert, var klinisk friske hopper med syke føll ved foten, hest med sinusitt, infeksjon i ledd, hovsabscess, seneskade eller kronisk spiserørsforstoppelse. Det var også noen hester som ble operert uten å utvikle symptomer på *Salmonella*-infeksjon.

	Alder	Rase	Årsak til hospitalisering	Kirurgi	+ prøve 05.06	+ prøve 07.06	Varighet av hospitalisering før første + prøve (dager)	Feber (°C)	Diaré	Leukopeni (< 4 WBC x 10 <sup>9</sup> /L)
Hest 1.1	3 uker	Kaldblods	Septisk artritt	+	+*		9	40	+	+(2,4)
Hest 1.2	13 år	Ponni	Forstoppelse i jejunum	+	+*		12	40	+	+(3,8)
Hest 1.3	11 år	Varmblods	Forstoppelse	-	+	+	6	40	-	+(3,1)
Hest 1.4	12 år	Varmblods	Moren til et sykt føll (1.5)	-	+	+	1	-	-	
Hest 1.5	0 uker	Varmblods	Uroperitoneum	+	+	+	4	39	+	-
Hest 1.6	6 år	Varmblodst	Moren til et sykt føll (1.7)	-	+	-	1	-	-	
Hest 1.7	6 uker	Varmblods	Fraktur tibia	+	+	+	14	39,4	-	
Hest 1.8		Varmblods	Moren til et sykt føll (1.9)	-	+	+	14	-	-	
Hest 1.9	4 mnd	Varmblods	Sårskade med fremmedlegeme og septisk artritt	+	+	+	14	38,8	-	
Hest 1.10		Varmblodst	Moren til et sykt føll (1.11)	-	-	+	5	-	-	
Hest 1.11	0 uker	Varmblods	Sepsis	-	-	+	5	38,9	+	-
Hest 1.12	12 år	Varmblods	Moren til et sykt føll (1.13)	-	-	+	5	-	-	
Hest 1.13	0 uker	Varmblods	Sepsis med ledd infeksjon og meningitt	+	-	+	5	38,8	-	-
Hest 1.14		Varmblods	Moren til et sykt føll (1.15)	-	-	-	4	-	-	
Hest 1.15	0 uker	Varmblods	Senekontraktur og sepsis	-	-	+	4	39,7	-	-
Hest 1.16	3 år	Varmblods	Spiserørs-	+	+	+	52	-	-	

			forstoppelse, kronisk							
Hest 1.17	8 år	Kaldblods	Pleuritt og perikarditt	-	+	+	5	40	-	-
Hest 1.18	9 år	Varmblods	Immunkeratitt på øye	+	+	+	3	40	-	-
Hest 1.19	6 år	Varmblods	Sårskade	+	+	+	3	-	-	
Hest 1.20	16 år	Varmblods	Sårskade	+	-	+	10	-	-	
Hest 1.21	5 år	Varmblodst	Hovabscess med ostitt og sekvester	-	+	+	21	-	-	
Hest 1.22	7 år	Varmblods	Septisk artritt	+	+		14	-	-	
Hest 1.23	7 år	Ponni	Fremmedlegeme inn til dype bøyesene	-	+	+	13	-	-	
Hest 1.24	1 år	Varmblods	Sårskade med nesten totalruptur av overfladiske bøyesene	+	+	+	6	38,5	-	
Hest 1.25	5 år	Varmblods	Sinusitt	+	+	-	24	-	-	
Hest 1.26	9 år	Varmblods	Kronisk sinusitt	-	-		2	-	-	-

Tabell 4: Oversikt over hospitaliserte hester på Hesteklinikken da den første positive prøven ble tatt  
 \* = Ble avlivet på grunn av komplikasjoner til *Salmonella*-infeksjon og fikk påvist *Salmonella* etter avlivning.  
 Varmblods inkluderer ulike ridehester, fullblods og varmblodstravere. Kaldblods inkluderer tunge raser og travere. Ponni inkluderer ulike raser med ponnimål.

Et tre uker gammelt kaldblodsføll (hest 1.1) ble den første hesten i utbruddet som fikk påvist *Salmonella*. Den ble hospitalisert på Hesteklinikken i slutten av mai på grunn av infeksjon i skulderleddet. Føllet kom inn med mild diaré, feber på 39,2°C og blodprøvene viste tydelig leukopeni ( $2,4 \times 10^9/L$ ) og markert nøytropeni ( $0,5 \times 10^9/L$ ). Under hospitaliseringen ble skulderleddet skylt to ganger og føllet viste bedring. Dyrkning fra leddet viste koagulasenegative staphylokokker. Syv dager etter ankomst ble tilstanden til føllet verre. Temperaturen økte til 40°C, diaréen ble vandig og føllet ble dehydrert. Føllet var nedstemt og man kunne se en toksisk rand på tannkjøttet over fortennene. På dette tidspunktet viste blodprøvene leukocytose ( $14,3 \times 10^9/L$ ). Dagen etter ble føllet avlivet på grunn av dyrevelferdsmessige hensyn, dårlig allmenntilstand og dårlig prognose. Føllet ble obdusert og det ble tatt prøver fra leddet og tarmene. Dyrkning fra leddprøven påviste *Salmonella*, men det forelå noe usikkerhet rundt realiteten av dette prøvesvaret ettersom tidligere prøve kun hadde vist stafylokokker. Da det senere ble påvist *Salmonella* i prøven fra tarmene, mistenkte man at prøven fra skulderleddet muligens kunne ha blitt kontaminert med tarminnhold under obduksjonen.

Hest 1.2 var en 13 år gammel ponni som kom inn på klinikken med kolikk i slutten av mai. Ponnien ble laparotomert samme dag og det ble mistenkt fremmedlegeme i jejunum. Under operasjonen klarte man å melke fremmedlegemet ned gjennom tarmen uten at det ble nødvendig å åpne selve tarmen. Ponnien var stabil i fire dager og deretter ble formen gradvis dårligere. Blodprøvene viste leukopeni ( $3,8 \times 10^9/L$ ) og lymfopeni ( $0,6 \times 10^9/L$ ) som senere utviklet seg til leukocytose ( $14,7 \times 10^9/L$ ) med nøytrofili ( $12,8 \times 10^9/L$ ). Samtidig hadde hesten markert feber (mellom 39 og 40 °C), nedsatt allmenntilstand, hjertefrekvens på 60 per minutt og profus diaré som etterhvert ble vandig og illeluktende. Det ble også observert mørke, hyperemiske slimhinner med toksisk rand og treg kapillærfyllingstid. Ponnien ble avlivet 11 dager etter operasjonen på grunn av dyrevelferdshensyn knyttet til alvorlige



symptomer og dårlig respons på behandling. Tarminnholdet ble analysert og *Salmonella* ble påvist.

Hest 1.3, en 11 år gammel varmblodshest, kom inn med kolikksymptomer i slutten av mai.

Hesten ble diagnostisert med forstoppelse og denne løste seg med en parafinbehandling.

Hesten var i god form i fire dager, inntil den fikk høy feber som varte i tre dager. Hesten var nedstemt og blodprøvene viste leukopeni ( $3,1 \times 10^9/L$ ) med lymfopeni ( $0,2 \times 10^9/L$ ). Hesten hadde ikke diaré og ble bedre etter noen dager for så å bli helt frisk. Faecesprøver tatt ut den 5. og 7. juni var positive for *Salmonella*.

Hest 1.5 var et to dager gammelt hoppeføll med uroperitoneum som ble operert pga. mistanke om blæreruptur. Under operasjonen ble det funnet en revne i serosa på distale urachus og det ble utført cystoplasti av blæren. Det ble også funnet mye mekonium i kolon og et område av tynntarmen var gassfylt og hadde betent, tynnvegget serosa. De fire første dagene etter operasjonen hadde føllet god allmenntilstand og var afebril. Deretter ble føllet noe mer nedstemt med undulerende feber og litt løsere avføring. To uker etter operasjonen fikk føllet feber opp mot  $39^{\circ}C$  og diaré. Dagen etter ble det påvist leukocytose ( $17,2 \times 10^9/L$ ) med nøytrofili ( $15,6 \times 10^9/L$ ) og lymfopeni ( $1,0 \times 10^9/L$ ). Samtidig utviklet det seg uroperitoneum og peritonitt som ble diagnostisert ved hjelp av bukpunktat, blodprøve (inklusive hyperkalemi) og ultralyd. Føllet ble avlivet på grunn av dårlig prognose med tanke på primærsykdommen (uroperitoneum). Obduksjonen bekreftet mistanken om en septisk peritonitt og påviste også en håndballstor perirenal abscess. Dyrkning fra denne abscessen kom tilbake positivt for *Salmonella*. I tarmen ble det funnet rikelig forekomst av *Escherichia coli* og sparsom forekomst av *Salmonella*.

Hest 1.14 var en varmblodshoppe som kom inn sammen med sitt syke føll (hest 1.15) i starten av juni. Denne hesten fikk aldri påvist *Salmonella*. Hoppa kom inn på klinikken etter en hard fødsel forårsaket av feilstilling hos føllet. Ved ankomst var hun allmennpåkjent og hadde

skader i kjønnsveiene. Under hele oppholdet var hun afebril og hadde fast avføring og ingen andre tegn til *Salmonella*-infeksjon. Til tross for at hun var oppstallet åtte dager sammen med føllet sitt som var positivt for *Salmonella* og at hun var fire måneder på det eksterne isolatet med åtte andre hester hvorav noen var positive, ble det aldri påvist en eneste positiv avføringsprøve. Det eneste som skiller henne fra de andre hestene var at hun ble føret med eget grovfôr. Den andre hesten som var negativ (hest 1.26) sto på klinikken da de første positive prøvene ble tatt, men ble avlivet nesten umiddelbart etter at den kom inn.

Hest 1.9 var et varmbloidsføll som ble hospitalisert ved fire måneders alder på grunn av en sårskade med fremmedlegeme og påfølgende leddinfeksjon i et kodeledd. Ved ankomst hadde føllet feber og var halt, men var ellers i god allmenntilstand. Føllet ble operert den siste uka i mai og hadde god allmenntilstand etter dette og ingen diaré. Avføringsprøve fra 5. juni 2018 var positiv for *Salmonella*. I juli ble føllet flyttet til den eksterne isolatstallen sammen med moren sin (hest 1.8) og syv hester til. Dette føllet var den hesten som skilte ut *Salmonella* lengst, frem til avlivning, totalt 7,5 måneder. Av de 17 prøvene som ble tatt var to stykker negative: Prøver fra 1. oktober og 10. desember. I midten av januar ble det bestemt i samråd med eier at føllet skulle avlives.

Hest 1.24 er en varmbloidsåring som kom til Hesteklinikken for en sårskade som involverte større deler av den overfladiske bøyesenen. Ved ankomst til klinikken var hesten 4 av 5 grader halt, sårskaden var kontaminert og hesten hadde temperatur 38,7°C. I starten av juni ble hesten operert og i de påfølgende dagene var hesten afebril og hadde ikke diaré. Ti dager etter operasjonen hadde hesten noe økt temperatur (38,5°C), men dette kunne relateres til smerte i forbindelse med sårskaden. Temperaturen gikk ned igjen etter et par dager og hesten hadde ikke feber de påfølgende månedene. Den 9. juli ble hesten flyttet til det eksterne isolatet og ble stående der til januar 2019. Denne hesten skilte ut *Salmonella* sporadisk. I perioden august til januar var kun 2 av 15 avføringsprøver positive for *Salmonella*, disse ble

tatt 20. august og 8. november (se diagram under). Denne hesten var oppstallet nærmest boksen til hest 1.8 og 1.9, hvorav føll 1.9 skilte ut *Salmonella* i nesten hele perioden som den sto i det eksterne isolatet (se over). På grunn av den alvorlige skaden sto hesten inne hele døgnet i denne perioden. Hesten forble negativ etter 8. november og kunne flyttes hjem.



Diagram 2: Figur som viser i hvilke perioder hestene i episode 1 skilte ut *Salmonella*. Grønn farge indikerer at man har tre negative avføringsprøver avslutningsvis og dermed kan bekrefte at hesten ble smittefri. Stolpene starter med en positiv prøve og avsluttes ved dato for første negative prøve. Svart farge indikerer at hesten ble avlivet mens den var positiv. Gul farge indikerer at hesten ble sendt til hjemmeisolasjon og at man derfor mangler informasjon om videre prøver. Stolpen avsluttes på datoen da hesten dro hjem til isolasjon.

## **Tiltak på Hesteklinikken**

Etter den første positive prøven ble det satt på plass ulike tiltak for å begrense spredning av smitten på Hesteklinikken. Alle ansatte på klinikken fikk et skriftlig informasjonsdokument om utbruddet og invitasjon til et informasjonsmøte den 7. juni. Under møtet ble det presentert retningslinjer for smittehåndtering med stor vekt på hygiene og det ble satt av tid til spørsmål og diskusjon for å informere om situasjonen. Et møte med eierne av de hospitaliserte hestene og et møte med Mattilsynet, Veterinærinstituttet og Folkehelse ble også gjennomført den 11. juni for å oppdatere om utbruddet. Samtidig ble det satt i gang hygieniske tiltak. Klinikken ble delt i to soner, en ren og en uren sone. Den rene sonen besto av kontorer, spiserommet, toaletter og garderoben, mens den urene sonen besto av stallen med bokser, undersøkelsesrom og mønstringshallen, det vil si områder hvor det fantes hester. Det ble laget et tydelig skille mellom de to sonene hvor sko og klær skulle skiftes. I den rene sonen var det pålagt å bruke en frakk over arbeidstøyet og å skifte sko til grønne, rene operasjonssko eller bruk av sko-overtrekk. I den urene sonen ble det brukt vernesko i alle stallområdene eller sko-overtrekk over rene sko hvis man bare skulle passere igjennom i ytterkant. I tillegg hadde hver enkelt hesteboks egne sko-overtrekk som hang utenfor og som kun ble brukt i denne boksen. For den ene hesten som var negativ ble det også brukt en egen frakk inne i boksen. Arbeidstøyet skulle skiftes hver dag og om det ikke var tilgjengelig rent tøy ble det brukt engangs operasjonstøy. All trafikk gjennom stallen ble begrenset så langt det var mulig, for eksempel ble trafikken av mennesker gjennom stallen dirigert over loftet for å nå kontorer eller via utearealet for å nå spiserommet, resepsjonen eller kontorer. Alle disse tiltakene ble satt på plass raskt og de ble en del av rutine allerede den 11. juni. Blodgassmaskinen som var på Hesteklinikken, men som også brukes av Smådyrklinikken, ble flyttet til radiologiavdelingen for å unngå passasje av smådyrklinskansatte gjennom den urene sonen. Etter hvert ble alle hester flyttet til stallavdelinger 1 og 2, slik at den tredje stallavdelingen kunne tømmes og

rengjøres. Hver 14. dag ble miljøet på Hesteklinikken og hestene testet for å følge med på utviklingen av utbruddet.



Bilde 4: Bilde som viser overgangen fra uren til ren sone på Hesteklinikken

For å finne ut av omfanget av smitte utenfor Hesteklinikken, ble det tatt miljøprøver av Produksjonsdyrklubben og Smådyrklubben samt faecesprøver fra hospitaliserte produksjonsdyr. Alle prøvene var negative. Det ble også tatt prøver av miljøet og hestene i kontaktbesetninger, det vil si staller med hester som hadde vært innom Hesteklinikken i løpet av mai 2018, men som hadde kommet hjem igjen før båndleggingen av Hesteklinikken. Noen prøver fra disse hestene var positive og det ble fattet vedtak om båndlegging av disse stallene. Denne delen av utbruddet utdypes ikke i denne oppgaven.

### **Planlegging av tiltak før sanering**

Den 14. juni ble alle involverte innkalt til et møte om videre plan for å bekjempe smitten. Mattilsynet, Veterinærinstituttet, dekan ved Veterinærfakultetet og Siv Hanche-Olsen møttes for å drøfte løsninger for å eliminere smitten fra Hesteklinikken og hestene. Først og fremst ble det bestemt at det var nødvendig å plassere hestene et annet sted enn stallen på klinikken for å kunne starte saneringen av Hesteklinikken. På dette tidspunktet sto det 15 hester igjen på klinikken etter at ni var avlivet av ulike grunner. Totalt ble seks hester sendt til godkjent hjemmekarantene. Ni hester kunne ikke sendes til hjemmeisolasjon og ble i stedet sendt til et eksternt isolat som ble satt opp i en uisolert låve. Denne låven fantes på en tomt langt unna bolighus og staller. Mattilsynet var positiv til denne løsningen. I den samme perioden ble det laget en saneringsplan for klinikken. Da planen ble godkjent satte de ansatte på Hesteklinikken i gang med saneringen.



Bilde 5: Bilde av eksternt isolat

### **Flytting av hester til eksternt isolat**

Den 6. juli ble de ni hestene flyttet til det eksterne isolatet. Tre var positive og seks var negative før flytting. Hest 1.8, hest 1.9 og hest 1.20 ble plassert i en egen avdeling siden de var positive. Målet med inndelingen var om mulig å unngå spredning av smitten fra de positive til de negative hestene. Alle hestene fikk sin egen luftegård, der de negative hestene gikk ut på kortsiden av bygningen og de positive på langsiden via ulike utganger. Ettersom infiserte hester kan være intermittente utskillere, krevde Mattilsynet tre negative feacesprøver med 14 dagers mellomrom før båndlegging kunne oppheves. Det ble også tatt miljøprøver av isolatet for å ha en oversikt over hvor smitten forelå. I oktober ble hest 1.8 og føllet hennes flyttet til utedrift som var ca. 50 m fra luftegårdene til de andre hestene. Siden føllet fortsatt var positivt og Mattilsynet ikke godkjente at utedriften var en separat enhet, ble det bestemt at hestene som var negative skulle få et eget isolat 1 km fra det opprinnelige isolatet. Fire hester ble flyttet til det nye isolatet og etter tre runder med negative prøver fikk de den 22. november lov til å reise hjem. De resterende negative hestene ble etter hvert sluset hjem via det andre isolatet. I dette isolatet ble det aldri påvist *Salmonella* på miljø- eller faecesprøvene. Miljøprøvene fra det første isolatet viste at bakterien var tilstede i ulike bokser, men ble etter hvert fraværende. Til slutt ble det bestemt i samråd med eier at føllet som var en persisterende smitteutskiller i 7,5 måneder skulle avlives.

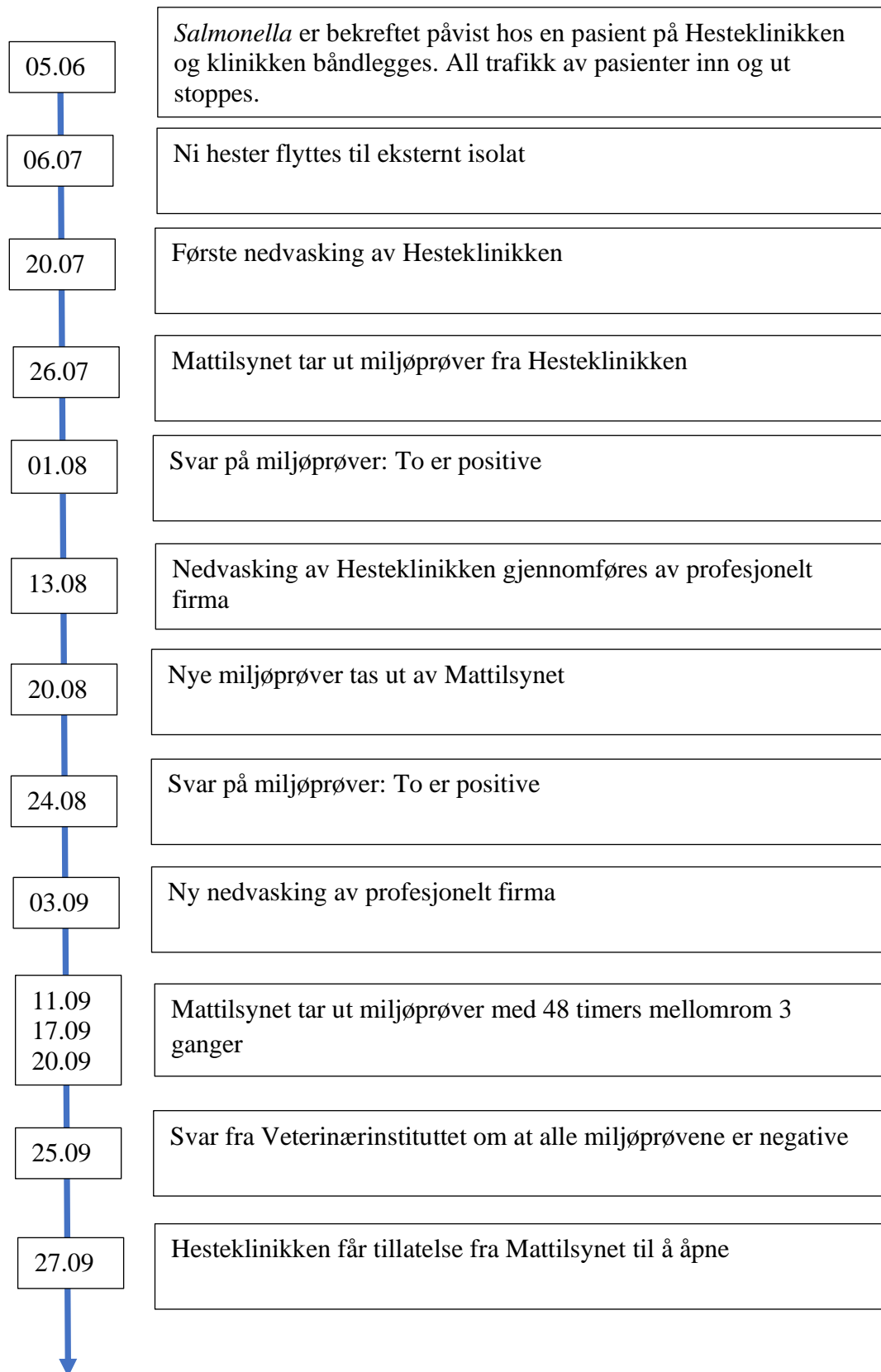
### **Sanering av Hesteklinikken**

Parallelt med karantenen i det eksterne isolatet foregikk det en grundig sanering av miljøet på Hesteklinikken i Oslo. Tre grundige nedvaskinger av stallen med omfattende desinfeksjon måtte til for å oppnå tre runder med negative miljøprøver av hele klinikken. Den første nedvaskingen og desinfeksjonen ble gjennomført av ansatte på Hesteklinikken og foregikk over ca. 15 dager. Det ble brukt såpe og vann og deretter Virkon S for å desinfisere.

Bygningene er gamle med mange sprekker og slitte overflater, derfor ble vaskingen av stallen krevende og vanskelig. I tillegg til manuell desinfeksjon var det nødvendig med gassing av hele lokalet med desinfeksjonsmidler (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Til tross for grundig desinfeksjon, viste miljøprøvene at *Salmonella* fortsatt var tilstede i stallen, 2 av 32 prøver var positive (6,3%). Den ene positive prøven var tatt fra en boks og den andre fra en vekt plassert i mønstringshallen. En ny runde med nedvasking ble satt i gang, men denne gangen ble et profesjonelt renholdselskap tilkalt for å eliminere smitten. Ved prøvetaking kom det likevel frem at 2 av 28 prøver var positive (7,1%). Denne gangen var det en annen boks som viste seg å ha smitten og fôrrommet mellom stallavdeling 1 og 2. Det ble til slutt den tredje runden med profesjonell rengjøring og desinfeksjon som resulterte i tre negative runder med miljøprøver av hele stallen. Som følge av resultatet av prøvene fattet Mattilsynet vedtak om oppheving av båndleggingen den 27. august og Hesteklinikken kunne starte aktivitet etter tre måneder med strenge restriksjoner.



### Tidslinje for første episode med *Salmonella*-smitte på Hesteklinikken 2018



## Andre episode av utbruddet

Den andre episoden hvor bakterien ble påvist på nytt startet med en *Salmonella*-mistanke på en hest (hest 2.3, se tabell under) med feber etter en kolikkoperasjon. Mistanken oppsto kun to uker etter at klinikken hadde åpnet. Avføringsprøven fra denne hesten påviste *Salmonella* den 18. oktober 2018. Etter serotyping, biokjemiske tester og resistenstesting ble det fastslått at denne *Salmonella*-varianten var den samme som ble påvist under den første episoden av utbruddet.

Mattilsynet ble varslet og klinikken ble stengt 16. oktober pga. mistanke om *Salmonella*.

Samtidig ble det tatt avføringsprøver av alle oppstallede hester over en periode på to dager.

Det viste seg at totalt 7 av 11 (63,6%) oppstallede hester var smittet. Det ble tatt 57

miljøprøver den 23. oktober og to av disse var positive (3,5%). Den 2. november ble det tatt

17 miljøprøver og 5 av disse var positive (29%).

I løpet av perioden 8. til 24. oktober ble det registrert at 5 av 7 (71,4%) smittede hester

utviklet feber og 3 av 7 (42,9%) hadde tydelig diaré. I motsetning til første episode, fikk flere

voksne hester diaré. Ingen av de smittede hestene fikk påvist leukopeni eller signifikant avvik

av nøytrofile granulocytter eller lymfocytter. For 2 av de 7 smittede hestene er det grunn til å

tro at diaréen og feberen skyldes *Salmonella*-infeksjon og disse to hestene ble til slutt avlivet

på grunn av dyrevelferdsmessige hensyn og dårlig prognose knyttet til infeksjonen.

Hestene som utviklet symptomer som kunne skyldes *Salmonella*-infeksjon var hester

med gastrointestinale problemer eller som hadde gjennomgått en operasjon i narkose. De

smittede hestene som ikke utviklet noen symptomer på *Salmonella*-infeksjon var hester med

sårskade eller med sinusitt.

	Alder	Rase	Årsak til hospitalisering	Kirurgi	+ prøve 15.10	+ prøve 16.10	Varighet av hospitalisering før 15.10 (dager)	Feber (°C)	Diaré	Leukopeni (< 4 WBC x 10 <sup>9</sup> /L)
Hest 2.1	1,5 år	Varmblods	Kryptorkid	+	-	+	6	39,2	+	-
Hest 2.2	8 år	Varmblods	Feilleie av tykktarm	-	+	+	5	40,7	-	-
Hest 2.3	5 år	Kaldblods	Forstoppelse colon descendens	+	+	+	8	40,1	+	-
Hest 2.4	18 år	Varmblods	Feilleie av tykktarm	+		+	3	39,9	+	-
Hest 2.5	3 år	Varmblods	Sårskade	+	-	+	7	38,5	-	
Hest 2.6	10 år	Ponni	Sårskade	+	+	-	7	-	-	
Hest 2.7	19 år	Ponni	Cyste i sinus og kronisk sinusitt	+	-	+	7	-	-	
Hest 2.8	13 år	Varmblods	Halthet i carpus	-		-	2	-	-	
Hest 2.9	8 år	Varmblodst	Osteokondrose dissecans i venstre framkode	+		-	2	-	-	
Hest 2.10	18 år	Ponni	Traumatisk leddinfeksjon	+		-	1	-	-	-
Hest 2.11	15 år	Varmblods	Lungetumor	-		-	1	-	-	

Tabell 5: Oversikt over hester på Hesteklinikken under den andre episoden av utbruddet. Varmblods inkluderer travere, ridehester og fullblods. Ponni inkluderer ulike raser med ponnimål.

Hest 2.3 var den første som viste symptomer forenlig med *Salmonella*-infeksjon under den andre episoden. Av de 11 hestene var dette den som hadde vært oppstallet på Hesteklinikken lengst, det vil si åtte dager før første positive prøve. Hesten ble hospitalisert pga. en forstoppelse i colon descendens. Da hesten kom inn vegret den seg for å spise og viste kolikksymptomer, ellers var den afebril og ikke tydelig påkjent. Over noen timer viste den økte tegn til smerter og ble derfor operert. Det kirurgiske inngrepet førte til to enterotomier for å løse forstoppelsen. De første dagene etter operasjonen ble det observert bedring av allmenntilstanden, men hesten utviklet raskt feber. På grunn av vedvarende feber og økt overvåkning som følge av utbruddet tidligere, ble det tatt ut faecesprøver for å teste for *Salmonella* (den 12. okt). Prøven bekreftet at hesten var positiv og samtidig ble tilstanden til hesten verre. Hesten var nedstemt, hadde redusert appetitt, feberen økte opp til 40,1°C og hjertefrekvensen var 66 slag per minutt. Hesten fikk deretter diaré som ble vandig og gul. Perioden med alvorlige symptomer varte i seks dager. Til slutt ble hesten avlivet grunnet dyrevelferdsmessige hensyn og dårlig prognose med hensyn til *Salmonella*-infeksjonen.

En 18 år gammel varmbloshest (hest 2.4) utviklet et lignende sykdomsbilde som hest 2.3 noen dager senere. Denne hesten ble hospitalisert på klinikken på grunn av feilleie av tykktarmen og ble operert for dette. I tiden etter operasjonen viste hesten først bedring, etterfulgt av en periode med alvorlig nedsatt allmenntilstand, feber opptil 39,9 °C, diaré, hyperemiske slimhinner med toksisk rand og en hjertefrekvens på 68 slag per minutt. Symptomene varte i fem dager og hesten viste ikke respons på behandling. Det ble derfor bestemt at hesten skulle avlives av dyrevelferdsmessige hensyn.

Hest 2.1, en ung varmbloshest som ble kryptorkidoperert, utviklet mildere symptomer enn de to overnevnte hestene. Fem dager etter operasjonen fikk åringen kolikksymptomer, feber og diaré som varte i ca. fem dager. Til slutt ble hesten helt frisk, men skilte ut bakterien over lengre tid enn de andre hestene smittet under andre episode, totalt mer enn én måned.

Av de 11 hestene oppstallet på Hesteklinikken under andre episode med påvisning av *Salmonella* ble én sendt hjem før båndlegging av klinikken, to ble avlivet på grunn av primærlidelsen (2.5 og 2.9) og to på grunn av komplikasjoner trolig relatert til infeksjon med *Salmonella* (2.3 og 2.4). Fem hester kunne sendes til hjemmeisolasjon (2.2, 2.6, 2.7, 2.8, 2.10), én ble plassert på Hesteklinikkens isolat og ble sendt hjem etter tre negative prøver (hest 2.5) og én ble sendt til det eksterne isolatet med hestene fra første episode (hest 2.1). Det ble satt i gang en grundig nedvasking og desinfeksjon av stallen som til slutt førte til tre omganger med negative miljøprøver i hele stallen. Hesteklinikken åpnet igjen i april 2019, men antallet pasienter som ble tatt inn ble gradvis opptrappet og klinikken var først i full drift i juli 2019.

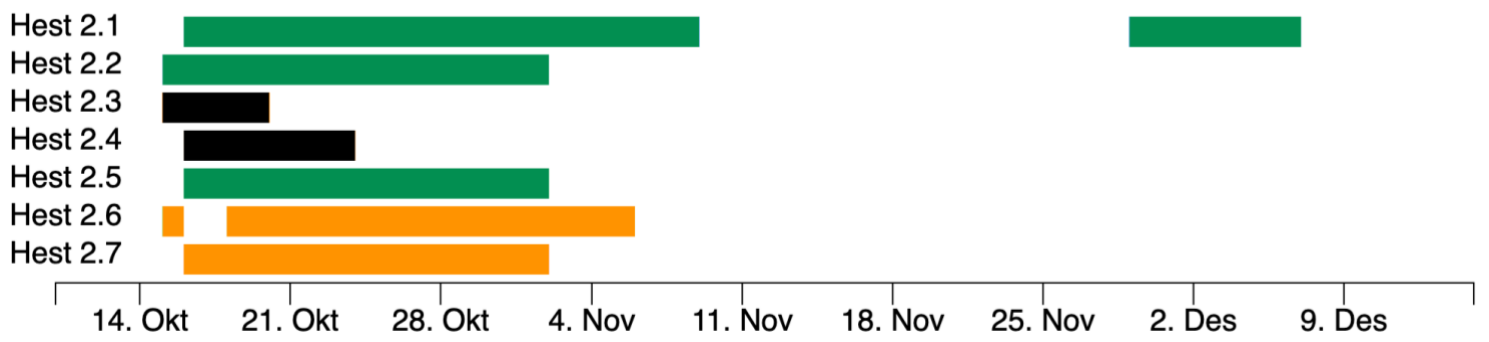
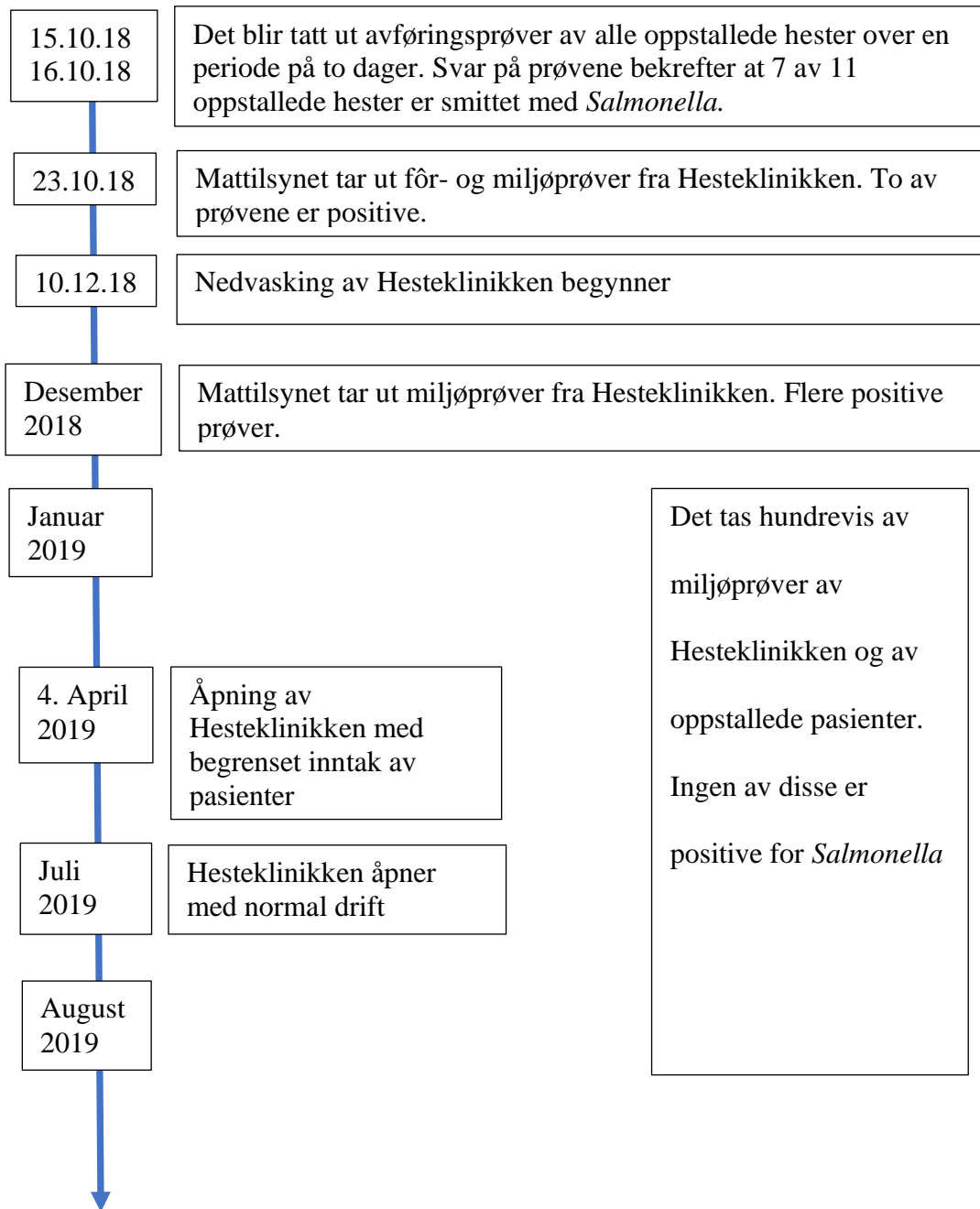


Diagram 3: Figur som viser i hvilke perioder hestene i episode 2 skilte ut *Salmonella*. Grønn farge indikerer at man har tre negative avføringsprøver avslutningsvis og dermed kan bekrefte at hesten ble smittefri. Svart farge indikerer at hesten ble avlivet mens den var positiv. Gul farge indikerer at hesten ble sendt til hjemmeisolasjon og at man derfor mangler informasjon om videre prøver. Stolpen avsluttes på datoen da hesten ble sendt hjem til isolasjon.

## Tidslinje over hendelser ved andre episode med *Salmonella* på Hesteklinikken i 2018 og 2019



## **Tredje episode av utbruddet**

I september 2019, kun to måneder etter at klinikken hadde startet opp i full drift, dukket *Salmonella* opp for tredje gang på Hesteklinikken. En hest med vedvarende feber etter en kolikkoperasjon ble testet (hest 3.1, se tabell under) og prøvesvaret kom tilbake positivt for *Salmonella* Typhimurium. Etter serotyping, biokjemiske tester og resistenstesting ble det fastslått at denne *Salmonella*-varianten var den samme som ble påvist under de to første episodene av utbruddet. Undersøkelser av de fem resterende hestene på stallen viste at ytterligere én hest var positiv for *Salmonella* (33,3%). Alle miljøprøvene var negative, inkludert prøver tatt inne i boksene til de smittede hestene.

Begge de smittede hestene i den tredje episoden hadde feber (100 %), men kun én av dem hadde diaré (50 %). Ingen hadde leukopeni på blodprøver.

	Alder	Rase	Årsak til hospitalisering	Kirurgi	+ prøve 20.09	+ prøve 23.09	Varighet av hospitalisering før 20.09 (dag)	Feber (°C)	Diaré	Leukopeni (< 4 WBC x 10 <sup>9</sup> /L)
Hest 3.1	11 år	Ponni	Forstoppelse i dorsale colon med venstre dorsal dislokasjon	+	+	+	14	40,8	-	-
Hest 3.2	3 år	Ponni	Forstoppelse i jejunum	+	+	-	25	39,1	+	
Hest 3.3	1 år	Varmblods	Osteokondrose dissecans bilateral has	+	-	-	17	-	-	
Hest 3.4	2 år	Varmblods	Osteokondrose dissecans bilateral has	+	-	-	17	-	-	
Hest 3.5	12 år	Varmblods	Urinblære calculus	+	-	-	13	-	-	-
Hest 3.6	3 år	Ponni	Kryptorkid	+	-	-	7	39,5	-	
Hest 3.7	11 år	Varmblods	Kolikk	-			2	-	-	

Tabell 6: Oversikt over hester på Hesteklinikken under den tredje episoden av utbruddet. Hest 3.7 ble sendt hjem før klinikken ble båndlagt og var negativ på alle fire avføringsprøver. Varmblods inkluderer ulike ridehestraser og fullblods. Ponni inkluderer ulike raser med ponnimål.



Hest 3.1 var en 11 år gammel ponni som kom inn til klinikken den i starten av september på grunn av forstoppelse og feilleie av colon. Hesten ble operert for dislokasjon av colon ascendens og det ble også utført enterotomi på grunn av forstoppelse i dorsale colon. De fem påfølgende dagene hadde hesten god allmenntilstand, ingen diaré og operasjonssåret så fint ut. Deretter ble hesten akutt syk med feber opp til 39,9 °C. De tre neste dagene hadde hesten vedvarende feber og ble isolert i boksen for deretter å bli flyttet til isolat i en separat bygning. Ni dager etter operasjonen fikk hesten undulerende feber med normal avføring, men noe høyere hjertefrekvens og reduserte tarmlyder. Faecesprøve ble sendt til dyrkning og PCR undersøkelse med hensyn på *Salmonella*. Den 18. september kom det positivt prøvesvar på *Salmonella* på PCR og dette ble etterhvert bekreftet på dyrkning. De påfølgende dagene var hesten stabil, men viste kolikksymptomer ved fôring. Det ble besluttet at man skulle gjennomføre en stående kolikkoperasjon. Buken ble åpnet på begge sider, men feilleiet lot seg ikke rette opp. Hesten trengte en ny operasjon og denne ble gjennomført under full anestesi. Etter operasjonen oppsto etterhvert infeksjon i sårene og prøver påviste *Salmonella* i venstre flankesår og i en abscess. Etter noen dager kom kolikksymptomene tilbake og ni dager etter den siste operasjonen ble hesten avlivet av dyrevernsmessige hensyn og dårlig prognose.

Hest 3.2 er en tre år gammel ponni som kom inn på klinikken i slutten av august med kolikksymptomer. Ved undersøkelse hadde den illeluktende reflux, hjertefrekvens på 100 slag per minutt, mørkerøde; lett blålige slimhinner og kapillærfyllingstid på tre sekunder. Den hadde også reduserte tarmlyder, hypokalsemi og var dehydrert. Hesten ble operert og man fant distenderte tynntarmslynger med forstoppelse i jejunum som ble melket til cecum. Etter operasjonen var ponnien noe nedstemt, den hadde post-operativ ileus de to første dagene og hadde perioder med litt diaré. Seks dager etter operasjonen fikk ponnien feber på 39,1°C, infeksjon i operasjonssåret og tromboflebitt i begge jugular vener. Det ble tatt faecesprøve for dyrkning med hensyn på *Salmonella* og denne var positiv. De påfølgende dagene var hesten

afebril og det ble gjort regelmessig sårdebridring. Hesten ble stående på klinikken i påvente av å få negative avføringsprøver og ble sendt hjem i desember 2018.

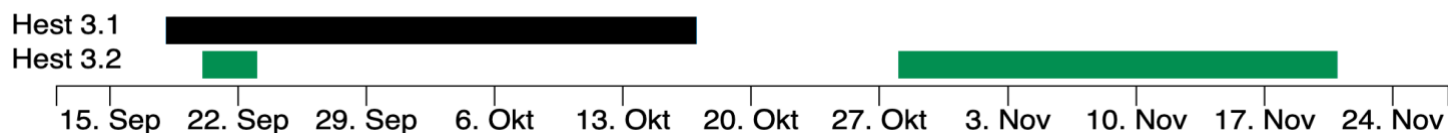
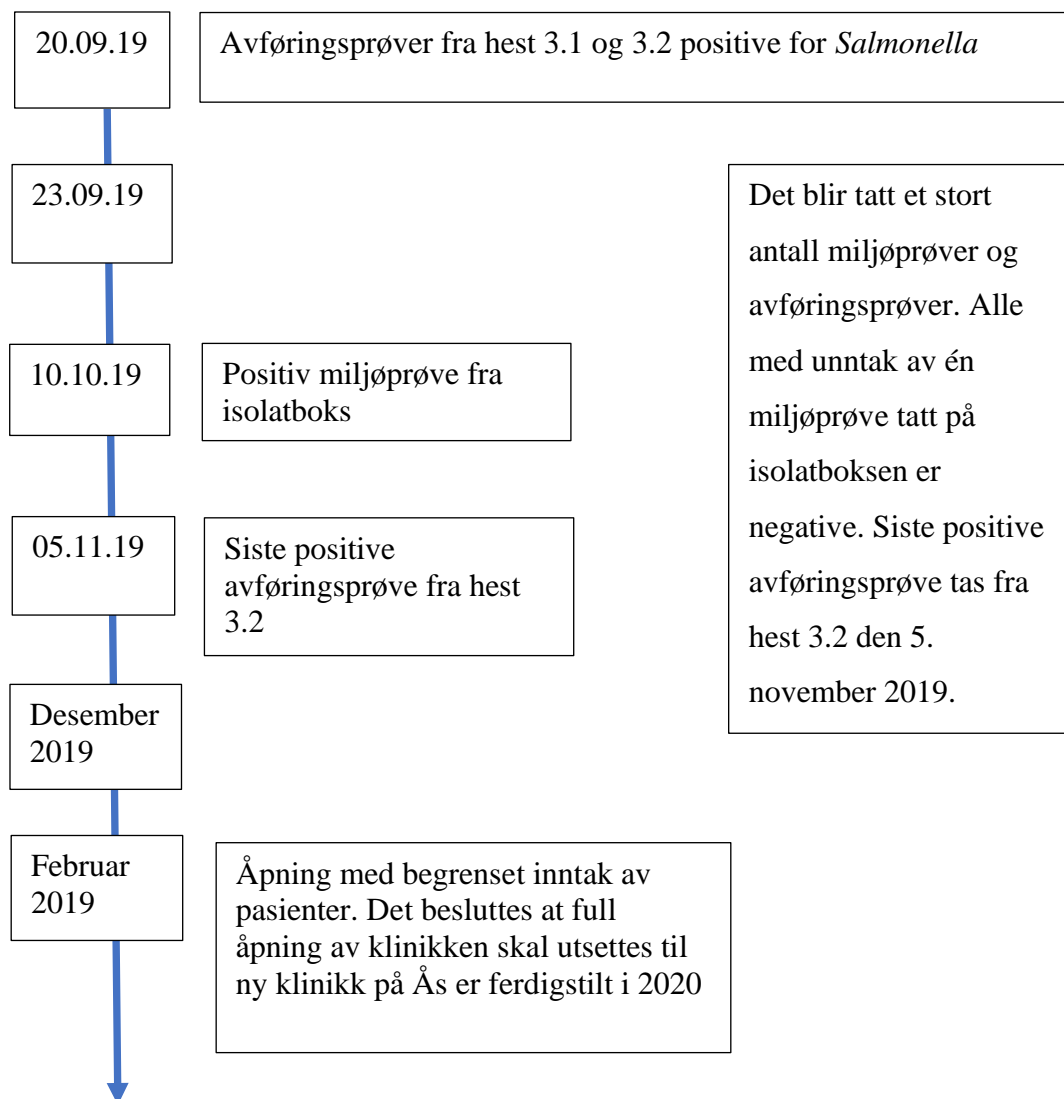


Diagram 4: Figur som viser i hvilke perioder hestene i episode 3 skilte ut *Salmonella*. Grønn farge indikerer at man har tre negative avføringsprøver avslutningsvis og dermed kan bekrefte at hesten ble smittefri. Svart farge indikerer at hesten ble avlivet mens den var positiv.

### Tidslinje over hendelser ved tredje episode med *Salmonella* på Hesteklinikken 2019



## Diskusjon

Det er ingen tvil om at utbruddet har vært svært langvarig og krevende. Fra første positive prøve i juni 2018 til siste positive prøve i november 2019 har det gått nesten ett og et halvt år. Et halvt år etter siste positive prøve holdes fortsatt deler av klinikken stengt inntil nye lokaler blir ferdig på Ås. Til tross for grundig nedvasking av hele klinikken og rundt 800 negative miljøprøver har smitten kommet tilbake i to omganger.

### Monofasisk *Salmonella* Typhimurium hos mennesker

I Norge har *Salmonella*-infeksjoner vær meldepliktige til Meldesystem for smittsomme sykdomer (MSIS) siden 1975. Siden 2005 har det vært rapportert mellom 866 og 1942 tilfeller av *Salmonella* hos mennesker i året og ca. 60 til 80% av disse har blitt ervervet utenlands (20). Monofasisk *Salmonella* Typhimurium ble første gang identifisert i Europa i Spania i 1997 og har siden den gang vært økende og er nå blant de vanligst isolerte serotypene i mange land (21). I Norge ble serotypen påvist første gang i 2007 og i 2016 ble det påvist totalt 101 tilfeller monofasisk *Salmonella* Typhimurium. Tallet gikk noe ned i 2018 hvor det ble påvist 67 tilfeller (22, 23). Ved matbårne utbrudd med monofasisk *Salmonella* Typhimurium i andre land har svinekjøtt i flere tilfeller blitt rapportert å være smitekilden og man antar at svinepopulasjonen kan være et reservoar for serotypen (21, 24). Det er få beskrivelser av monofasisk *Salmonella* Typhimurium hos hest foreløpig.

### Sanering

Den første nedvaskingen av klinikken ble gjort av skolens ansatte. Dette ble gjort manuelt og ved bruk av vann og såpe og deretter Virkon S og gassing med hydrogenperoksid. Etter denne saneringen var flere miljøprøver fortsatt positive og det ble derfor leid inn et profesjonelt

firma til å gjøre vasking og desinfeksjon. Det er kjent at *Salmonella* kan produsere biofilm som beskytter bakteriene både i verten og i miljøet (25). Biofilm kan gjøre organismer mellom 100 og 1000 ganger mer resistente mot antibiotika og desinfeksjonsmidler (26). Spesielt ved sanering av matproduksjonslokaler har biofilm vært beskrevet som et problem (27). Det er vist at *Salmonella* kan produsere biofilm på mange ulike overflater som plastikk og rustfritt stål, materialer som finnes i de fleste matproduksjonslokaler, slakterier og også i klinikker. En studie har vist at *Salmonella*-biofilm på plastikk, rustfritt stål og sement er mer resistent mot desinfeksjonsmidler enn *Salmonella* i løsning (27). Undersøkelser har vist at eksponering med 4% Virkon over seks timer er mer effektivt ved fjerning av biofilm enn andre desinfeksjonsmidler som 2,5 % glutaraldehyd og 40 % fenol, men ingen av midlene dreper 100 % av bakteriene (26). Vanligvis brukes Virkon S i 1% løsning til overflatedesinfeksjon og ifølge bruksanvisningen kan den skylles av etter 10 minutter. Til fotbad anbefales 2 % løsning. Hydrogensperoksid er et vanlig brukt desinfeksjonsmiddel som blant annet blir brukt til å desinfisere kirurgisk utstyr (28). Hydrogenperoksid har bredspektrede desinfeksjonsegenskaper og er virksomt mot bakterier, virus, sopp og bakteriesporer, men generelt er effekten større på gram positive sammenlignet med gram negative bakterier (29). Imidlertid er effekten av gassen også avhengig av temperatur, eksponeringstid, aktiv konsentrasjon og relativ fuktighet. Det er samtidig viktig å fjerne organisk materiale før man setter igang desinfiseringen for at den skal være effektiv (27). En beskrevet negativ egenskap ved hydrogenperoksidgass er dårlig penetrasjon (29). Det har også blitt spekulert i om utstrakt bruk av desinfeksjonsmidler kan indusere ulike resistensmekanismer hos bakterier. I celler i kroppen produseres også hydrogenperoksid som forsvarsmekanisme mot infeksjon. Studier har vist at når *Salmonella* Typhimurium blir eksponert for nonletale doser av hydrogenperoksid induseres produksjonen av enzymer som katalase og alkylhydroperoksidteduktase. Disse enzymene kan bryte ned hydrogenperoksid og dermed

øke bakteriens toleranse mot oksidativt stress (30, 31). I det samme studiet ble også det vist at *Salmonella*-bakterier eksponert for den adaptive dosen av hydrogenperoksid i én time overlever høyere temperaturer en bakterier som ikke har blitt eksponert for hydrogenperoksid (31). Desinfeksjonen av Hesteklinikken kan ha vært vanskelig pga. faktorer som at store deler av klinikken består av sement med sprekker og avflasket maling hvor desinfeksjonsmidlene potensielt ikke har kommet til. Samtidig er det viktig at mekanisk fjerning av organisk materiale er grundig nok og at desinfeksjonsmidlene som brukes er i høye nok konsentrasjoner og får nok virkningstid. Det skal ikke utelukkes at biofilmdannelse og andre forsvarsmekanismer har gjort at bakteriene kan ha overlevd saneringene. De siste årene har det blitt introdusert nye desinfeksjonsmidler som elektrolysert vann, antimikrobielle overflater og kjemikaler med antibiofilmegenskaper (27). Disse kan være aktuelle i fremtidige situasjoner hvor man vil forebygge og bekjempe biofilmdannelse.

## **Smittekilde**

Når det gjelder spørsmålet om smitekilden, har man ulike hypoteser som kan forklare hvordan smitten kom inn på klinikken. I mai 2018 ble det brukt grovfôr importert fra Baltikum på Hesteklinikken i tillegg til norskprodusert grovfôr. Fôret ble brukt opp før smitten ble oppdaget og man har derfor ikke prøver av dette, men det kan tenkes at grovfôret hadde smitten med seg og at fôret på en eller annen måte hadde blitt kontaminert. Alle hestene på klinikken fikk det samme grovfôret unntatt hest 1.14 som fikk en egen type grovfôr. Hypotesen om at grovfôr var kilden støttes av at 24 av 26 hester i første episode var smittet og hest 1.14 var én av de to hestene som aldri fikk påvist smitte. I tillegg var det en hest som testet positivt selv om den sto på isolat. Som nevnt kan småfugler og pinnsvin være bærere av *Salmonella*, men stammen av *Salmonella* Typhimurium som oftest påvises hos ville dyr i Norge ligner ikke *Salmonella*-typen som ble påvist i dette utbruddet. Derimot kan det

tenkes at smånagere som f. eks. mus infisert med *Salmonella* kan ha kontaminert grovfôret før det ble importert. Det har blitt tatt prøver av kraftfôr brukt på Hesteklinikken og disse var negative og derfor kan dette med stor sannsynlighet utelukkes som smittekilde. Grovfôret som ble brukt etter at smitten ble påvist har også blitt testet og disse prøvene var negative. Etter den andre episoden begynte man å ta avføringsprøver av alle hester ved innsett og hjemsendelse fra klinikken hvis de skulle være der mer enn ett døgn. Disse prøvene ble frosset og undersøkt da den tredje episoden var et faktum. Ingen av disse prøvene var positive. Hestene må altså etter stor sannsynlighet ha blitt smittet på klinikken i episode to og tre. Årsaken til de nye episodene med smitte kan ha vært at bakterien har persistert i miljøet. Til tross for nøye nedvasking og tre runder med negative miljøprøver, må smitten ha vært tilstede i store nok mengder til å infisere pasienter.

Da smitten dukket opp var det ønskelig å kartlegge om denne *Salmonella*-typen eksisterte i den norske hestepopulasjonen. Mattilsynet har tatt over 1600 prøver av hester og disse har ikke gitt noen indikasjon på at denne *Salmonella*-typen er utbredt i Norge.

Det finnes avføringsprøver tatt av pasienter ved Hesteklinikken i forbindelse med et annet forskningsprosjekt på parasittologi i perioden før første episode. Disse prøvene ble analysert for *Salmonella* i ettertid og viste at minst seks hester var positive før de ble sendt hjem fra klinikken i perioden før man oppdaget smitten første gang (Siv Hanche-Olsen, personlig meddelelse).

En annen teori for hvor smitten kommer fra, er at den kan ha blitt bragt inn via en pasient som har vært subklinisk bærer. En hest som var importert fra Belgia sto på klinikken i 14 dager.

Denne hesten var tynn og hadde matt pels, men hadde ikke diaré. Hesten ble avlivet 30. mai, altså før *Salmonella*-smitten ble oppdaget. Da smitten ble oppdaget ble det tatt prøver i stallen der hesten opprinnelig hadde stått og denne var positiv for *Salmonella*. Dette kan tyde på at hesten var positiv før den kom til klinikken, eller at smitte fra klinikken har blitt bragt med

hjem av eier. Det kan ikke utelukkes at hesten kan være opphavet til smitten, men det skal mye til for at smitte fra én symptomfri smittebærer skal kunne spres til hele klinikken og nesten alle oppstallede pasienter.

*Salmonella* er et zoonotisk agens og sjansen for smitte mellom hester og mennesker er tilstede. For at et menneske skulle være kilden til smitte i dette utbruddet ville det krevd at fekal kontaminering fra en person skulle blitt inntatt av pasientene på klinikken. Det er ikke blitt kjent at ansatte eller studenter har hatt symptomer på *Salmonella* og det har heller ikke blitt tatt prøver. At et menneske er kilde til smitten har ikke blitt direkte bekreftet eller avkreftet.

## **Smittorisiko**

Da smitten ble påvist i første episode var 91,6 % av de oppstallede hestene positive og 100 % av miljøprøvene var positive. Tallene viser tydelig at smitten hadde spredd seg over hele hesteklinikken og at nesten alle hester ble smittet. Ved episode to var 63,6 % av oppstallede hester smittet og 3,5 % av miljøprøvene positive. Det var et stort antall smittede hester til tross for nøye smitteverntiltak. Da smitten ble påvist ved episode tre var 33,3% av de oppstallede hestene positive og 0% av miljøprøvene var positive. Hvis smitten kom fra fôret kan det forklare hvorfor så mange hester ble smittet på kort tid ved første episode. Likevel er det en stor prosentandel av de oppstallede som var smittet ved andre og tredje episode. Ved andre utbrudd på hesteklinikker har det blitt rapportert infeksjonsrater på mellom 0,6 og 33% (2, 8, 13). Ved samtlige av episodene i dette utbruddet har infeksjonsraten vært høy og dette kan indikere at denne typen *Salmonella* smitter lett mellom hester. Undersøkelser viser at minst 15 hester i kontaktbesetninger ble smittet under første episode av utbruddet og minst 3 hester var positive under andre episode. Dette gir også en indikasjon om at smitten lett blir spredt f. eks. via utstyr og klær.

## Risikofaktorer for utbrudd

Det er rapportert at flere utbrudd med *Salmonella* på hesteklinikker skjer mellom juni og september (32). Dette kan ha flere årsaker, men det kan ha sammenheng med at det på denne tiden av året er mange mottakelige føll innom klinikken. Føll er som nevnt mer utsatt for smitte og sykdom med *Salmonella* (3).

Det er også beskrevet at det finnes en assosiasjon mellom lufttemperatur og økt risiko for nosokomiell *Salmonella*-smitte (16). En studie viste at den relative risikoen for at en hospitalisert hest skilte ut *Salmonella* var tre ganger høyere når gjennomsnittlig temperatur var 26,7 °C sammenlignet med når den var 15,5°C (16). En forklaring kan være at bakteriens overlevelse og replikasjon i miljøet øker i varmere temperaturer. I mai 2018 ble det satt varmere rekord for gjennomsnittstemperatur Oslo (33). Den 15. mai ble det målt 27°C og det er det varmeste som har blitt målt så tidlig i Oslo (34). Høy temperatur er altså en risikofaktor som også har vært tilstede i dette utbruddet.

En annen faktor som kan spille en rolle for smittespredning er at småfugl, rotter og mus er aktive på denne tiden av året (3). Prøver tatt av en død fugl funnet på høyloftet var negativ for *Salmonella*. Det ble ikke gjort observasjoner av smågnagere i tiden rundt første utbrudd, men det kan likevel tenkes at fugler og smågnagere har fungert som vektorer for smitte underveis i utbruddet. Etter at smitten ble oppdaget ble det satt i gang tiltak for å hindre fugl og smågnagere i å komme seg inn i klinikken. Det ble satt inn nettinger i vinduer og det ble gjort tiltak for å bekjempe smågnagere.

I perioden for første episode var det travelt på Hesteklinikken med mange intensivpasienter innlagt på klinikken. Stor trafikk av personale, studenter og eiere på klinikken kan ha bidratt til at smitten har blitt spredd på klinikken, spesielt under første episode da et svært høyt antall miljøprøver var positive. I tillegg kan høy dyretetthet og mye kryssing av personale ha medført mer stress og dermed økt utskillelse hos pasienter. Da klinikken åpnet på nytt etter



første episode var det satt i gang ekstra smitteverntiltak som f. eks. Virkon S-fotbad ved alle innganger og det var generelt økt fokus på håndvask -og desinfeksjon. I en travel klinikkhverdag kan det likevel være vanskelig å følge opp og bruke disse tiltakene under alle omstendigheter. I tillegg vil persontrafikk av personer som ikke arbeider på klinikken utgjøre en risiko for smittespredning.

## Symptomer

Det er ingen patognomoniske symptomer på *Salmonella*-infeksjon, men det er beskrevet at akutt, moderat til alvorlig diaré er av de vanligste kliniske manifestasjonene ved smitte med *Salmonella* Typhimurium (3). Fra et utbrudd med *Salmonella* Typhimurium i Michigan i 1996 ble det rapportert at 55% av de smittede hestene hadde feber og 66,7 % hadde diaré (13). I det samme utbruddet ble det rapportert en mortalitet på 44%. Ved et annet utbrudd med *Salmonella* Oranienburg som skjedde i Texas mellom 2006 og 2008 ble det rapportert at 46% hadde feber og diaré (2). Av de totalt 33 smittede hestene i dette utbruddet hadde 8 diaré (24 %), 19 hadde feber (57,6%) og 4 (12%) ble avlivet på grunn av komplikasjoner trolig relatert til *Salmonella*-infeksjon.

I utbruddet på Hesteklinikken var det kun én smittet hest som fikk påvist nøytropeni (hest 1.1), men to hester (hest 1.2 og 1.5) utviklet lymfopeni og senere nøytrofili. Hest 1.3 utviklet leukopeni med lymfopeni. Det er ikke tatt blodprøver av alle smittede hester under utbruddet, men av alle hestene som det er tatt blodprøver av fra episode to og tre er det ingen (0%) som har fått påvist nøytropeni, lymfopeni eller leukopeni. Sammenlignet med andre utbrudd har det vært en lav andel av de smittede hestene som har vist diaré. Andelen smittede som har hatt feber er relativ lik det som er observert ved utbrudd i andre land. Kombinasjonen av at serotypen i dette utbruddet ser ut til å ha lav infektiv dose, har stor evne til overlevelse i miljøet og samtidig være relativt lav-virulent kan ha bidratt til at det har vært så vanskelig å få

kontroll på smitten. Infektiv dose for salmonellose varierer mellom serotyper, men er vanligvis  $>10^5$  (20).

## **Overvåkning underveis**

Etter at smitten ble oppdaget i juni 2018 har det blitt tatt jevnlige miljøprøver og avføringsprøver av pasienter på Hesteklinikken for å overvåke smittesituasjonen. I perioden fra juni 2018 til desember 2019 har det blitt tatt over 800 miljøprøver. Svært få av miljøprøvene har vært positive etter første episode av utbruddet. Ved andre episode av utbruddet testet 7 hester positivt for *Salmonella*, mens kun to av 57 miljøprøver tatt i starten av episoden var positive. I tredje episode av utbruddet testet to hester positivt, men ingen av miljøprøvene tatt i samme periode var positive, ikke en gang miljøprøver tatt inne i boksen til de smittede hestene. Den eneste positive miljøprøven ble tatt i isolatboksen der hest 3.1 hadde stått i flere uker. Det er altså ikke miljøprøver som har gjort at smitten først ble oppdaget ved noen av episodene av utbruddet.

## **PCR for påvisning av *Salmonella***

Det finnes tester som bruker PCR (Polymerase chain reaction) for å påvise DNA fra *Salmonella*-bakterier. Denne typen tester er raskere og har høyere sensitivitet enn dyrkning, men gir ikke mulighet for nøyaktig identifisering av serotypen og bestemmelse av genetisk slektskap med andre *Salmonella*-typer. Bruk av PCR gir heller ikke mulighet for resistensbestemmelse. PCR er også sensitiv for døde bakterier og gir flere falske positive resultater enn dyrkning. Siden konsekvensene ved påvisning av *Salmonella* i Norge er store egner PCR seg derfor dårlig for rutinemessig klinisk bruk (7). Ved smittekartlegging er derfor bakteriell dyrkning den mest anvendte metoden.

## **Forflytning av hest**

I Norge har vi overvåkningsprogram for *Salmonella* i fjørfe- svin- og storfebesetninger. Det tas både prøver ute i besetninger og på slakteri. Prevalensen av *Salmonella* i undersøkte husdyrbesetninger i Norge lå på under 0,05% i alle årene det har blitt gjennomført overvåkingsprogram, det vil si at det påvises *Salmonella* kun sporadisk (9). Hest kan også defineres som et matproduserende dyr, men det føres ikke rutinemessig kontroll av *Salmonella* i norske hestebesetninger. Hest har en særegen stilling i samfunnet ved at den flyttes mye og samtidig er et matproduserende dyr. Staller får ofte besøk av et stort antall mennesker og hester bytter gjerne eier og dermed stall flere ganger gjennom livet. En stor del av hestene i Norge transporteres også fra ett sted til et annet i forbindelse med stevner, utstillinger og løp, ofte også over landegrenser. Dette legger til rette for rask spredning av eventuelle smittestoffer. Uten regelmessig overvåkning har man lite kontroll med hvor mye *Salmonella* det finnes i den norske hestebestanden. Problemet blir kanskje først oppdaget når en smittet hest kommer til en klinikk. På tidspunktet hvor smitten blir oppdaget kan den ha blitt spredt til et stort antall dyr og steder. Hvis *Salmonella*-smitte får etablere seg i den norske hestebestanden kan dette ha konsekvenser for Norges status som et *Salmonella*-fritt land.

## **Smitteutskillelse**

Selv om det er generelt akseptert at hester kan være subkliniske bærere og sporadisk skille ut smitte, er det kun en håndfull dokumenterte kasus med kroniske utskillelere (utskillelsetid > 6 måneder) av *Salmonella* (18, 35). Under dette utbruddet ble det dokumentert at en hest skilte ut *Salmonella* i 7,5 måneder. Hesten hadde ikke kliniske symptomer på *Salmonella*-infeksjon i perioden og var derfor en subklinisk bærer. Hesten var fire måneder da infeksjonen ble påvist. Ved to prøvetakinger var hesten negativ og dette kan reflektere den sporadiske utskillelsen som kan observeres ved *Salmonella*-infeksjon eller at dyrkningen ikke har fanget

opp bakterien. En annen mulighet er at hesten faktisk kan ha kvittet seg med infeksjonen, men blitt rekontaminert. For hest 1.24 kan dette være tilfelle. Hesten sto oppstallet like i nærheten av hesten som ble persistent bærer. I tillegg måtte denne hesten stå på boks hele døgnet pga. en skade. Denne hesten hadde negative avføringsprøver i to måneder før den fikk én enkelt positiv prøve og deretter to nye måneder med negative prøver etterfulgt av én positiv prøve. Andre hester som viste sporadisk utskillelse var hest 1.8 som var moren til den persistente bæreren og derfor sto oppstallet sammen med dette føllet og hest 2.1, en fullblodsåring. Hest 3.2 hadde også én måneds opphold i utskillelsen for så å få positive prøver på nytt. De resterende hestene i utbruddet kvittet seg med infeksjonen i løpet av en måned eller kortere eller ble avlivet.

## Konklusjon

Utbruddet med *Salmonella* på Hesteklinikken ved NMBU har vært langvarig og hatt store ringvirkninger for skolen, ansatte, studenter og andre i hestemiljøet. Serotypen som har blitt påvist virker å være relativt lav-virulent, men svært persistent i miljøet og denne kombinasjonen kan ha gjort det vanskelig å bli kvitt smitten. Smittekilden er ikke funnet, men grovfôr regnes som en mulighet. En av hestene under utbruddet ble kronisk utskiller av *Salmonella* og skilte ut bakterien i 7,5 måneder. Det er observert under utbruddet at ca. 24 % av de smittede hestene hadde diaré, dette er lavere enn det som er observert i andre utbrudd i utlandet. Omlag 57% av de smittede hadde feber og dette er ca. like mange som ved andre utbrudd. Utbruddet oppsto i en periode hvor det var uvanlig varmt og hvor det var mange føll innom klinikken, dette er faktorer som er beskrevet kan øke risikoen for at utbrudd med *Salmonella* kan oppstå. Totalt sett har dette utbruddet mange likhetstrekk med andre dokumenterte *Salmonella*-utbrudd, men denne serotypen ser ut til å være usedvanlig persistent i miljøet og forårsaker mildere symptomer, noe som har medvirket til at utbruddet

har vart lenge. Dette utbruddet viser at *Salmonella* fortsetter å være en stor fare for hesteklinikker og hestenæringen. Gode rutiner for smittevern, overvåkning og kjennskap til hvordan *Salmonella*-infeksjon arter seg er essensielt for alle som jobber på en hesteklinikk. Likevel ser man at selv med stor kunnskap og oppmerksomhet rundt infeksjonen, er det i mange tilfeller umulig å kontrollere alle risikofaktorene for at utbrudd skal oppstå og svært vanskelig å bli kvitt smitten hvis den først har etablert seg i miljøet.

## Takk til bidragsyttere

Takk til Siv Hanche-Olsen og Ane Mohn Bjelland for svært god veiledning og støtte underveis i oppgaveskrivingen. Siv har stått for innsamling av relevant informasjon underveis i utbruddene og takket være dette har det vært mulig å sette seg inn utbruddet til tross for at vi ikke var tilstede på klinikken da det fant sted. Ane og Leif Lotherington har bidratt med opplæring på laboratoriet og med kunnskap om metodene for påvisning av bakterien. Vi setter stor pris på all hjelpen vi har fått gjennom med arbeidet med denne oppgaven.

## Summary

*Title:* Outbreak of salmonellosis in the Equine Hospital in Norwegian University of Life Sciences

*Authors:* Maria Lien and Camille Wagner

*Supervisor:* Siv Hanche-Olsen, Department of Companion Animal Clinical Sciences  
Ane Mohn Bjelland, Department of Paraclinical Sciences

*This paper describes an outbreak of a multidrug-resistant strain of Salmonella Typhimurium that resulted in closure of the Equine Hospital in NMBU three times in 2018 and 2019. A*

*total of 33 horses that were inpatients at the hospital during the outbreak were diagnosed with Salmonella and four of these were euthanized as a result of complications likely related to the infection. Information about horses that were patients at the Equine Hospital during the outbreak is presented as a case series. Results of fecal samples and environmental samples taken during the period as a part of a surveillance program and their results are also presented. One of the patients were shedding Salmonella in feces for over seven months and is therefore a documented case of chronic Salmonella infection. The source of infection has not been determined, but the high prevalence of positive samples make forage a suspected, but unproven, source.*

## Referanser

1. Dyrehelseforskriften. Forskrift av 1. august 2002 nr 732: Forskrift om tiltak mot sjukdommer og zoonotiske agens hos dyr. Oslo 2002.
2. Cummings KJ, Rodriguez - Rivera LD, Mitchell KJ, Hoelzer K, Wiedmann M, McDonough PL, et al. *Salmonella enterica* serovar Oranienburg outbreak in a veterinary medical teaching hospital with evidence of nosocomial and on-farm transmission. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2014;14(7):496-502.
3. Timoney J. *Salmonella* Infections in Horses. In: Barrow P, Methner U, editors. *Salmonella* in Domestic Animals. 2nd ed. School of Veterinary Medicine and Science, University of Nottingham, Sutton Bonington Campus, Sutton Bonington, Loughborough, Leicestershire LE12 5RD, UK.: CAB International Publishing; 2013. p. 305-14.
4. Gal-Mor O, Boyle EC, Grassl GA. Same species, different diseases: how and why typhoidal and non-typhoidal *Salmonella enterica* serovars differ. *Frontiers in Microbiology*. 2014;5(391).
5. van Duijkeren E, Flemming C, van Oldruitenborgh-Oosterbaan MS, Kalsbeek NC, van der Giessen JWB. Diagnosing salmonellosis in horses culturing of multiple versus single faecal samples. *Veterinary Quarterly*. 1995;17(2):63-6.
6. Gopinath S, Carden S, Monack D. Shedding light on *Salmonella* carriers. *Trends in Microbiology*. 2012;20(7):320-7.
7. McKenzie III H, Mair T. Equine salmonellosis. *Infectious Diseases of the Horse Cambridgeshire (UK): The Equine Veterinary Journal Ltd*. 2009:172-86.
8. Ward MP, Brady TH, Couëtill LL, Liljebjelke K, Maurer JJ, Wu CC. Investigation and control of an outbreak of salmonellosis caused by multidrug-resistant *Salmonella* Typhimurium in a population of hospitalized horses. *Veterinary microbiology*. 2005;107(3-4):233-40.
9. Veterinærinstituttet, Mattilsynet. The surveillance programmes for *Salmonella* in live animals, eggs and meat in Norway. 2018.
10. Heir E, Lindstedt BA, Nygard I, Vardund T, Hasseltvedt V, Kapperud G. Molecular epidemiology of *Salmonella* Typhimurium isolates from human sporadic and outbreak cases. *Epidemiol Infect*. 2002;128(3):373-82.
11. Jantsch J, Chikkaballi D, Hensel M. Cellular aspects of immunity to intracellular *Salmonella enterica*. *Immunological Reviews*. 2011;240(1):185-95.
12. LaRock DL, Chaudhary A, Miller SI. Salmonellae interactions with host processes. *Nat Rev Microbiol*. 2015;13(4):191-205.
13. Schott HC, 2nd, Ewart SL, Walker RD, Dwyer RM, Dietrich S, Eberhart SW, et al. An outbreak of salmonellosis among horses at a veterinary teaching hospital. *J Am Vet Med Assoc*. 2001;218(7):1152-9.
14. Dallap Schaer BL, Aceto H, Rankin SC. Outbreak of Salmonellosis Caused by *Salmonella enterica* Serovar Newport MDR-AmpC in a Large Animal Veterinary Teaching Hospital. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2010;24(5):1138-46.
15. Tillotson K, Savage CJ, Salman MD, Gentry-Weeks CR, Rice D, Fedorka-Cray PJ, et al. Outbreak of *Salmonella* Infantis infection in a large animal veterinary teaching hospital. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1997;211(12):1554-7.
16. House J, Mainar-Jaime R, Smith B, House A, Kamiya D. Risk factors for nosocomial *Salmonella* infection among hospitalized horses. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1999;214:1511-6.

17. Walker R, Madigan JE, Hird D, Case J, Villanueva M, Bogenrief D. An outbreak of equine neonatal salmonellosis. *Journal of veterinary diagnostic investigation*. 1991;3(3):223-7.
18. Larsen J. Acute colitis in adult horses. A review with emphasis on aetiology and pathogenesis. *Veterinary Quarterly*. 1997;19(2):72-80.
19. Chiou CS, Huang JF, Tsai LH, Hsu KM, Liao CS, Chang HL. A simple and low-cost paper-bridged method for *Salmonella* phase reversal. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2006;54(4):315-7.
20. Siira L, MacDonald E, Holmbakken GM, Sundar T, Meyer-Myklestad L, Lange H, et al. Increasing incubation periods during a prolonged monophasic *Salmonella* Typhimurium outbreak with environmental contamination of a commercial kitchen at Oslo Airport, Norway, 2017. *Euro Surveill*. 2019;24(34):1900207.
21. Mandilara G, Lambiri M, Polemis M, Passiotou M, Vatopoulos A. Phenotypic and molecular characterisation of multiresistant monophasic *Salmonella* Typhimurium (1,4,[5],12:i:-) in Greece, 2006 to 2011. *Eurosurveillance*. 2013;18(22):20496.
22. Folkehelseinstituttet. Overvåkning av sykdommer som smitter fra mat, vann og dyr, inkludert vektorbårne sykdommer 2016 [Available from: <https://www.fhi.no/globalassets/dokumenterfiler/rapporter/2016/overvakning-av-infeksjonssykdommer-som-smitter-fra-mat-vann-og-dyr.-arsrapport-2016.pdf>].
23. Folkehelseinstituttet. Overvåking av infeksjonssykdommer som smitter fra mat, vann og dyr, inkludert vektorbårne sykdommer 2018 [Available from: <https://www.fhi.no/publ/2019/arsrapport-2018.-overvaking-av-infeksjonssykdommer-som-smitter-fra-mat-vann/>].
24. Bone A, Noel H, Le Hello S, Pihier N, Danan C, Raguenaud ME, et al. Nationwide outbreak of *Salmonella enterica* serotype 4,12:i:- infections in France, linked to dried pork sausage, March-May 2010. *Eurosurveillance*. 2010;15(24):19592.
25. Steenackers H, Hermans K, Vanderleyden J, De Keersmaecker SC. *Salmonella* biofilms: an overview on occurrence, structure, regulation and eradication. *Food Research International*. 2012;45(2):502-31.
26. Chatterjee S. Efficacy of Disinfectants against Biofilms Formed by Nosocomial Multidrug-Resistant Bacterial Isolates: An In-vitro Study. *International Journal of Scientific Study*. 2014;Vol 2:93-7.
27. Møretrø T, Heir E, Nesse LL, Vestby LK, Langsrud S. Control of *Salmonella* in food related environments by chemical disinfection. *Food Research International*. 2012;45(2):532-44.
28. Rutala WA, Weber DJ. Disinfection and Sterilization in Health Care Facilities: What Clinicians Need to Know. *Clinical Infectious Diseases*. 2004;39(5):702-9.
29. McDonnell G, Russell AD. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. *Clin Microbiol Rev*. 1999;12(1):147-79.
30. Hébrard M, Viala JP, Méresse S, Barras F, Aussel L. Redundant hydrogen peroxide scavengers contribute to *Salmonella* virulence and oxidative stress resistance. *Journal of bacteriology*. 2009;191(14):4605-14.
31. Christman MF, Morgan RW, Jacobson FS, Ames BN. Positive control of a regulon for defenses against oxidative stress and some heat-shock proteins in *Salmonella typhimurium*. *Cell*. 1985;41(3):753-62.
32. Carter JD, Hird DW, Farver TB, Hjerpe CA. Salmonellosis in hospitalized horses: seasonality and case fatality rates. *J Am Vet Med Assoc*. 1986;188(2):163-7.
33. Meteorologisk institutt. Rekordtabell mai. 2018.
34. Lepperød T. Sommeren 2018 var en forsmak på framtidens somre. *Nettavisen*. 23.08.2018.



35. Bryans J, Fallon E, Shepard B. Equine Salmonellosis. *Cornell Vet.* 1960(51):467-77.



Norges miljø- og  
biovitenskapelige  
universitet

Postboks 5003  
NO-1432 Ås  
67 23 00 00  
[www.nmbu.no](http://www.nmbu.no)