

# Fodring med wrap og ensilage

- Forebyggelse af equin botulisme

Byline: Hanne Lindemann - Scanpix/Biofoto

[ **Jacob Greve** ]

**Dyrlæge,  
Dyrlægerne Nørhald Gjerlev**

Ensilering er en iltfri opbevaring af markafgrøder, hvorved foderet konserveres. Metoden har været kendt i mange tusind år, idet kejser Julius Cæsar ensilerede græs i gruber langs hævejene som foder til stridshestene (1). Her i landet har ensilering i mange år været anvendt i kvægholdet, men med udviklingen af mindre ensileringsenheder (wrap-baller) har konserveringsmetoden også vundet indpas i hesteholdet på grund af de fodrings- og luftvejsmæssige fordele.

Med brugen af wrap-baller følger dog risikoen for fodermiddelbårne sygdomme – herunder botulisme. Equin botulisme er ikke af nationaløkonomisk betydning i Danmark. For det enkelte hestehold, som rammes af botulisme, har sygdommen imidlertid overordentlig stor betydning på grund den reserverede til dårlige prognose for afficerede heste. Da behandlingsmulighederne i mange tilfælde er begrænsede, bør man rette indsatsen imod forebyggende foranstaltninger.

Denne artikel har til formål at rede-

gøre for, hvorledes det er muligt at forebygge eller reducere risikoen for botulisme ved udfodring af wrap og ensilage til heste.

## **Clostridium botulinum**

Botulisme forårsages af *Clostridium botulinum*, som er en obligat anaerob, gram-positiv, sporedannende stavbakterie. Bakterien producerer de mest potente biologiske toksiner, som overhovedet kendes, og på baggrund af antigene forskelle mellem toksinerne inddeles *Clostridium botulinum* i typerne A, B, C, D, E, F og G (2). Type C er i stand til at producere både C<sub>1</sub> og C<sub>2</sub> toksin, hvoraf kun type C<sub>1</sub> regnes for et neurotoksin (3,4).

Hesten er en af de mest følsomme dy-

rearter overfor botulinumtoksiner, og den kan udvikle botulisme, når den eksponeres for type A, B, C<sub>1</sub> eller D toksin (2). *Clostridium botulinum* er vidt udbredt i naturen og er påvist i både jord, plantemateriale og dyr (5,6). Nogle forfattere regner type A og B som overvejende knyttet til jord og plantemateriale, mens type C og D overvejende er forbundet med dyr (2,4,6,7). Hver type er imidlertid unik i dens geografiske distribution, og i Nordamerika, hvor forekomsten af de forskellige typer er undersøgt, er type B ansvarlig for over 85 % af alle botulismeudbrud hos heste, mens type C er lejlighedsvis forekommende, og type A og D er sjældne (7,8). Type C og D er derimod de hyppigst forekommende

Tabel 1. Botulismeundersøgelser fra hest og kvæg på Danmarks Fødevareforskning 1994-2005 (16)

	Hest	Kvæg
Antal undersøgelser totalt	39	264
Toksin ej påvist	38	214
Toksin påvist, ej typebestemt	1	13
Type A toksin påvist	0	0
Type B toksin påvist	0	0
Type C toksin påvist	0	24
Type C/D toksin påvist	0	11
Type D toksin påvist	0	2

toksiner ved botulisme hos heste i Afrika (7).

Der findes ingen samlet opgørelse over typeforekomsten i Europa, men der foreligger beskrivelser af equin botulisme forårsaget af type B toksin i Sverige (9), England (10), Island (11) og Belgien (12). Type C botulisme hos heste er velbeskrevet i Nordamerika (3,13,14) men ikke i Europa.

### Typeforekomst i Danmark

I Danmark undersøgte Müller (15) i årene 1959-60 for botulisme på indsendte dyr til Statens Veterinære Serumlaboratorium, og han konkluderede, at sygdommen »smitte svælgglammelse hos kvæg« og »ondartet rygmarvstufus hos hesten« i virkeligheden drejede sig om botulisme fremkaldt af type C toksin. Konklusionen på typeforekomst for hestens vedkommende bygger imidlertid på påvisning af type C toksin i kun 3 ud af 5 undersøgte udbrud, mens det for kvægets vedkommende bygger på påvisning af type C toksin i 10 ud af 12 udbrud.

Danmarks Fødevareforskning modtager hvert år materiale fra heste og foder til undersøgelse for botulinumtoksin. Af tabel 1 fremgår resultaterne af laboratoriets botulismeundersøgelser på henholdsvis hest og kvæg i perioden 1994-2005 (16).

Huss (5) undersøgte i 1980 forekomsten af *Clostridium botulinum* i forskellige jordtyper i Danmark. I jord, som var indvundet uopdyrket havbund, fandt han udelukkende type E, som er patogen for fisk, mens han i opdyrket jord overvejende fandt type B. Huss konkluderede, at type E i takt med dyrkningen af jorden blev erstattet med type B uden at kunne forklare årsagen til dette. Med baggrund i beskrivelserne af type B botulisme i Europa, det forholdsvis lille materiale til typebestemmelse af Müller, manglende typebestemmelse hos Danmarks Fødevareforskning og forekomsten af *Clostridium botulinum* type B i danske jordprøver kan det ikke udelukkes, at botulisme hos danske heste også kan forårsages af *Clostridium botulinum* type B.

Typeforekomsten hos danske heste har i mange år bygget på samme typeforekomst som hos kvæg. Kvæget har

stået for de fleste botulismeudbrud, og type C toksin er overvejende blevet påvist (15,16). Det er imidlertid væsentligt, at heste er langt mere følsomme for botulinumtoksiner end kvæg og i særdeleshed for type B toksiner (9,17).

### Botulisme

De fleste tilfælde af equin botulisme forekommer som følge af optagelse af præformeret toksin i foder eller drikkevand, som er kontamineret med bakterien (2). Derudover kan *Clostridium botulinum* sporer under anaerobe forhold sporulere i sår med efterfølgende toksindannelse (2), og hos føl (shaker foal syndrom) kan der ske en fremvækst af *Clostridium botulinum* type B i tarmkanalen med efterfølgende toksindannelse (2). Endelig menes *Clostridium botulinum* type C at spille en rolle i udviklingen af græssyge.

Uanset toksinkilden er de kliniske symptomer på botulisme ofte de samme (2,7). Nogle forfattere hævder, at der kan være små forskelle i symptomerne afhængig af hvilken toksintype, der er tale om (12,18).

### Patogenese

*Clostridium botulinum* eksisterer i sporeform under ugunstige forhold, men kan danne toksiner under sporuleringen og i vækstfasen (7). Toksinerne er endopeptidaser, som bindes til type-specifikke receptorer på den præsynaptiske membran i de perifere kolinerge nerveender. Bindningen er irreversibel og forhindrer ultimativt acetylkolin i at frigives, og dermed overledningen i synapsen (4,7). Motoriske nerver med høj efferent trafik udtømmes først for acetylkolin, hvilket vil sige hjernenerver og nerver til de posturale muskler (2,4).

### Symptomer

De første kliniske symptomer observeres mellem 12 timer og 10 dage efter optagelse af toksinet. Jo større toksinoptagelse, des hurtigere indtræder symptomerne (2,18). I perakutte tilfælde kan hesten findes død uden observation af forudgående symptomer. I akutte tilfælde er generaliseret muskelsvaghed og/eller dysfagi typisk de første symptomer, som ejeren oplever. I

andre tilfælde kan kolik ses som noget af det første (2,10,14,18). På grund af lammelse af hjernenerverne ses der mydriasis, nedsat pupilrefleks, ptosis, nedsat tonus i tungen, dysfagi og langsom foderoptagelse med foderspild ud af munden (2,10,14,18). Lammelse af nerver til posturale muskler medfører i starten symmetrisk muskelsvaghed med korte, slæbende skridt, men ikke decideret ataxi (2,18).

Muskelfasciculationer i tricepsmusklerne og lav hovedholdning er også beskrevet ved botulismeudbrud (3). Ultimativt er hesten ikke i stand til at stå oprejst og døden indtræder som følge af respirationssvigt (2,18).

### Diagnose

Under danske forhold skal man differentialdiagnostisk overveje nyreslag, hypokalcæmi hos lakterende hopper, luftposemykose, herpeslammelse, hammelschwanz, rabies, blyforgiftning og engbrandbægerforgiftning (7,15).

En sandsynlighedsdiagnose kan ofte stilles på baggrund af anamnesen og kliniske symptomer. En definitiv diagnose stilles ved påvisning af toksin i serum, lever eller tarmindehold fra patienten (7,16). Til dette benyttes forsøgsmus, som i positive tilfælde udvikler botulisme inden for 48 timer efter injektion af materialet (7,16). Testen er ofte falsk-negativ, idet toksinet kun er til stede i den akutte fase og kun i meget små mængder (2,18). Der eksisterer i dag ELISA-tests, der med næsten samme sensitivitet og specificitet som muse-testen, kan påvise såvel botulinumtoksin som cirkulerende antistoffer mod toksinerne, men disse er ikke tilgængelige i Danmark (7,16).

### Prognose

Equin botulisme har generelt en reserveret til slet prognose quo ad vitam. Behandlingsmulighederne er under danske forhold begrænset til symptomatisk behandling, og mortaliteten er ca. 90 % (7). Foruden at hindre yderligere optagelse af toksinholdigt foder, bør hesten have boksro for ikke at udtømme acetylkolin fra nerveenderne. Paraffinolie indgives forebyggende mod forstoppelse, og antibiotika doseres ved risiko for aspirationspneumoni. ➤

Ved dysfagi indgives væske og opløst foder via næse-svælgsonde (2,18). I Nordamerika findes kommercielt antiserum, som skal administreres tidligt i sygdomsforløbet, idet toksinerne ikke kan neutraliseres, når de først er inde i nerveenderne. Ved denne behandling reduceres mortaliteten til ca. 30 % (2,7,8,18).

### Vaccination

Der er efter forfatterens kendskab i øjeblikket ingen mulighed for vaccination af heste mod botulisme i Danmark. Et *Clostridium botulinum* type B toxoid er på markedet i Nordamerika (BotVax® B, Neogen® Corporation), som administreres tre gange med en måneds mellemrum efterfulgt af en årlig revaccination. Vaccinen finder især anvendelse i forebyggelsen af shaker foal syndrom (8). Derudover findes en vaccine til mink indeholdende *Clostridium botulinum* type C toxoid (Botumink®, United Vaccines Inc.), som har været anvendt på heste i USA (4,8), men hvor der ikke foreligger dokumentation for dosering eller effekt. Type C/D toxoid vacciner findes i Sydafrika (Botulism Vaccine – P 1046, Onderstepoort Biological Products Ltd.) og Australien (SingVac® 3 year, Fort Dodge® Australia PTY Limited; CSL Botulinum™ Vaccine, CSL Animal Health), som har dokumenteret effekt hos kvæg, mens effekten ikke er undersøgt hos heste. Endelig er det i dag muligt at få fremstillet *Clostridium botulinum* toxoid vacciner indeholdende typer efter eget ønske i Tyskland (Miprolab GmbH) (19).

### Forebyggelse

Da muligheden for vaccination ikke er til stede i Danmark, bør man for at minimere risikoen for botulisme optimere såvel fremstillingen som kontrollen af ensilagen. Som tidligere nævnt regnes *Clostridium botulinum* type B af nogle forfattere, som overvejende knyttet til jord og plantemateriale, mens type C er forbundet med dyr (2,6,7). Således mener flere forfattere, at type B botulisme overvejende forekommer, når ensilagen er jordkontamineret og ensilerings-

processen er forløbet unormalt, mens type C botulisme oftest er forbundet med fund af et kadaver i eller omkring foderet (4,7,8,14,20). Ved gennemgang af beskrivelserne af equine botulismeudbrud (3,9,10,12,14,17), hvor der er foretaget typebestemmelse, holder denne teori stik med få undtagelser (11,13). Endvidere fandt Notermans et al. (21), at *Clostridium botulinum* type A og B var i stand til at producere toksiner i dyrkningsmedier med græs som substrat, mens type C ikke formåede dette.

### Jordkontamination

For at undgå jordkontamination af græsensilagen og dermed kontamination med *Clostridium botulinum* type B anbefales en snithøjde på mindst 10 cm (22,23). Dette vil ganske vist reducere udbyttet, men tillige mindske risikoen for, at smågnavere kontaminerer slutproduktet (23). Anbefalingen på min. 10 cm er i strid sædvanlig praksis i Danmark, hvor man tilstræber en stublængde på 6-8 cm, og hvor den laveste stublængde anvendes på marker, som efterfølgende skal afgræsses (1). Jordtilblanding bør også undgås ved vending af græsset, ved samling i skår og ved presning.

### Normal ensileringsproces

Ensileringsprocessen består af fire faser, hvor mælkesyrebakterier under anaerobe forhold nedbryder kulhydrater i græsset med et pH-fald til følge (1). For at sikre en normal ensilering skal fokus være rettet på ensilagens slut-pH, græssets tørstofindhold ved ensileringen og på at sikre et iltfrit miljø i wrap-ballen.

Hvis pH i ensilagen ikke falder tilstrækkeligt hurtigt, kan der - især ved jordtilblanding - ske en fremvækst af smørsyreproducerende bakterier, som ødelægger ensilagen (1). Sideløbende vil aminosyrer blive nedbrudt til blandt andet ammoniak, som hæver pH, hvilket åbner mulighed for toksindannelse af den syre-følsomme *Clostridium botulinum* i foderet (1,10,23). I ensilage af god kvalitet nås en slut-pH på omkring 3,5 (1). Ved åbningen af en wrap-balle

kan pH relativt let måles med et pH-meter, og den bør være under 4,5, for at man kan være sikker på, at ensileringen har forløbet normalt (23,24). Ved højere pH-værdier vil *Clostridium botulinum* være i stand til at producere toksiner i ensilagen (21). På grund af nedbrydningen af aminosyrer og dannelse af smørsyre, er dårlig ensilage ofte ledsaget af en ubehagelig lugt (10).

Ensilagens pH er nært forbundet med dens tørstofindhold. Et for lavt tørstofindhold i det indpakkede græs vil medføre uensigtsmæssig saftafløb, og mælkesyrebakterierne vil ikke være sikret tilstrækkelig substrat. Resultatet er utilstrækkelig pH-fald og risiko for dannelse af botulinumtoksiner i foderet (1,21). Tørstofindholdet i frisk græs vil ofte være 16-18 %, og der anbefales en tørstofprocent på mindst 25 %, som opnås ved forvejring og skårbehandling inden presning (1,23,24). Hvis der på grund af vejrmæssige forhold ikke kan opnås en tørstofprocent på mindst 25 %, anbefales at anvende ensileringsmidler, som sænker pH i ensilagen, og som tilfører mælkesyrebakterierne substrat (1,23,24). Meget af det wrap, som udfodres til heste i dag, er kendetegnet ved at have et forholdsvist højt tørstofindhold (55-80 %) (23), og foderet har på grund af lang forvejring umiddelbart karakter af hø (wrap-hø/høsilage).

Trods anaerobe forhold i disse baller er mælkesyrebakterierne ikke i stand til at skabe et pH-fald i samme grad som i ensilage med lavere tørstofindhold (1,23,24). Notermans et al. (21) fandt i deres *in vitro* forsøg med toksindannende *Clostridium botulinum*, at ikke blot lav pH hæmmer bakteriens toksindannelse. Lav vandaktivitet ( $a_w$ ) og dermed indirekte høj tørstofprocent har samme effekt på toksindannelsen. Det vil sige, at jo højere tørstofprocent, des højere pH før end bakterien danner toksin. Det er imidlertid ikke muligt på baggrund af forsøget at give eksakte retningslinier for pH og tørstofindhold i wrap og ensilage.

Mælkesyrebakterierne spiller en afgørende rolle i ensileringsprocessen.



Udover at der skal være substrat tilstede, er betingelsen for mælkesyre-dannelse, at der er anaerobe forhold i wrap-ballen. Dette sikres ved at anvende en strækplast af god kvalitet, som anlægges efter fabrikantens forskrifter (1). Desuden bør man så vidt mulig forhindre, at platen punkteres af fugle, skadedyr og ved nedfald af grene. Eventuelle skader skal udbedres straks (1,23).

Trods det, at man holder sig til ovennævnte anbefalinger, kan man ikke sikre sig 100% mod botulisme. Da det mikrobiologiske miljø i et kadaver er forskelligt fra resten af ensilagen, er det tvivlsomt om pH og tørstofindhold i ensilagen er i stand til at hæmme toksindannelsen i de tilfælde, hvor et kadaver er tilstede (oftest type C) (11). Det er tilmed vist, at effekten af lav pH og vandaktivitet ( $a_w$ ) på toksindannelsen er mindre i et kød- end et græsmedium (21). Som de fleste hesteejere ved, skal man ved fund af et kadaver straks kassere hele ballen.

### Græsmarkskontamination

Endelig spiller gødskningen af græsmarken en rolle for kontaminationen med *Clostridium botulinum* sporer (21,22). Gødning fra fjerkræhold har vist sig at indeholde *Clostridium botulinum*, og type C botulismeudbrud er rapporteret hos kvæg, som blev bundet ud på en græsmark efter, at der var spredt gødning fra slagtefjerkræ (25). Desuden har man påvist *Clostridium botulinum* type B i gødningsprøver fra klinisk raske slagtekøer i Sverige (26). Selvom det ikke er normal praksis, at anvende disse gødningsformer på græsmarker til heste, er det væsentlig at huske, da clostridiesporer kan overleve årevis i jord (22).

### Konklusion

Equin botulisme er sjældent forekommende i Danmark, men på grund af begrænsede behandlingsmuligheder er prognosen reserveret til slet. Forebyggelse ved vaccination har længe været brugt i udlandet, men er endnu ikke mulig under danske forhold. Ved at begrænse tilblanding af jord og sikre til-

strækkelig tørstofindhold i græsset før indpakning kan man nedsætte risikoen for toksindannelse i foderet. Indpakningen af ensilagen skal sikre anaerobe forhold under hele opbevaringen, og ved åbning af ildelugtende eller kadværholdigt ensilage skal dette kasseres. Endelig bør man undgå udkørsel af husdyrgødning på græsmarker. Man kan således under fremstilling, opbevaring og udfodring af ensilage aktivt minimere risikoen for botulisme hos hest.

### Referencer

1. Bjergmark EH, Kristensen O, Mikkelsen M, Nielsen KA & Thomsen JN. Dyrkning af grovfoder. Landbrugsforlaget, Århus. 2000, 3. udg, 206 pp.
2. Reed SM, Bayly WM & Sellon DC. Equine internal medicine. Saunders, USA. 2004, 2. ed, 1659 pp.
3. Kinde H, Bettey RL, Ardans A, Galey FD, Daft BM, Walker RL, Eklund MW & Byrd JW. *Clostridium botulinum* type-C intoxication associated with consumption of processed alfalfa hay cubes in horses. Journal of the American Veterinary Medical Association. 1991, 199:6, 742-746.
4. Sprayberry KA & Carlson GP. Review of equine botulism. AAEP Proceedings. 1997, 43, 379-381.
5. Huss HH. Distribution of *Clostridium botulinum*. Applied and Environmental Microbiology. 1980, 39:4, 764-769.
6. Meyer KF. The status of botulism as a world health problem. Bulletin of the World Health Organization. 1956, 15, 281-298.
7. Whitlock RH & Buckley C. Botulism. Veterinary Clinics of North America: Equine Practice. 1997, 13:1, 107-128.
8. Semrad S & Peek S. Equine botulism. The Compendium on continuing education for the practicing veterinarian. 2002, 24:2, 169-172.
9. Franzén P & Gunnarsson A. Botulism hos häst relaterad till utfodring med rundbalensilage. Svensk Veterinär Tidning. 1992, 44:13, 555-559.
10. Ricketts SW, Greet TRC, Glyn PJ, Ginnet CDR, McAllister EP, McCaig J, Skinner PH, Webbon PM, Frape DL, Smith GR & Murray LG. Thirteen cases of botulism in horses fed big bale silage. Equine Veterinary Journal. 1984, 16:6, 515-518.
11. Gudmundsson SH. Type B botulinum intoxication in horses: case report and literature review. Equine Veterinary Education. 1997, 9:3, 156-159.
12. Haagsma J, Haesebrouck F, Devriese L & Bertels G. An outbreak of botulism

type B in horses. Veterinary Record. 1990, 127:8, 206.

13. Heath SE, Bell RJ, Chirino-Trejo M, Schuh JCL & Harland RJ. Feedtrough dirt as a source of *Clostridium botulinum* type C intoxication in a group of farm horses. Canadian Veterinary Journal. 1990, 31, 13-19.

14. Schoenbaum MA, Hall SM, Glock RD, Grant K, Jenny AL, Schiefer TJ, Scigliabaglio P & Whitlock RH. An outbreak of type C botulism in 12 horses and a mule. Journal of the American Veterinary Medical Association. 2000, 217:3, 365-368.

15. Müller J. Equine and bovine botulism in Denmark. Bulletin de l'Office international des épidémiologistes. 1963, 59:9-10, 1379-1390.

16. Angen Ø. Personlig meddelelse. Seniorforsker, cand. med. vet. Danmarks Fødevareforskning, Afdeling for Veterinær Diagnostik og Forskning, Bülowsvej 27, DK-1790 København V. 2006.

17. Divers TJ, Bartholomew RC, Messick JB, Whitlock RH & Sweeney RW. *Clostridium botulinum* type B toxicosis in a herd of cattle and a group of mules. Journal of the American Veterinary Medical Association. 1986, 188:4, 382-386.

18. Whitlock RH. Botulism, type C: experimental and field cases in horses. Equine Practice. 1996, 18:10, 11-17.

19. Böhnel H. Personlig meddelelse. Professor. Miprolab, Institut for Tropical Animal Health, Kellnerweg 6, D-37077 Göttingen. 2006.

20. Galey FD. Botulism in the horse. Veterinary Clinics of North America: Equine Practice. 2001, 17:3, 579-588.

21. Notermans S, Kozaki S & Schothorst MV. Toxin production by *Clostridium botulinum* in grass. Applied and Environmental Microbiology. 1979, 38:5, 767-771.

22. Venner M. Botulismus beim Pferd. Deutsche Tierärztliche Wochenschrift. 1999, 106:2, 73.

23. Wollanke B. Botulismus in einem Bestand mit 16 Pferden und Ponys. Der Praktische Tierarzt. 2004, 85:4, 252-261.

24. Ricketts SW & Frape DL. Big bale silage as horsefeed. The Veterinary Record. 1986, 118, 55.

25. McIlroy SG & McCracken RM. Botulism in cattle grazing pasture dressed with poultry litter. Irish Veterinary Journal. 1987, 41:3, 245-248.

26. Dahlenborg M, Borch E & Radstrom P. Prevalence of *Clostridium botulinum* types B, E and F in faecal samples from Swedish cattle. International Journal of Food Microbiology. 2003, 82:2, 105-110. ■