

# Infekcija bakterijom *Enterococcus cecorum* u peradi



## *Enterococcus cecorum* infection in poultry

Lozica\*, L., Ž. Gottstein

### Sažetak

Infekciju bakterijom *Enterococcus cecorum* obilježava simetrična paraliza uzrokovana pritiskom upaljenog šestog prsnog kralješka na kralježničnu moždinu. Najteže oboljevaju teške linije kokoši, iako je bolest opisana u svim kategorijama peradi. U akutnom stadiju zaraze mogu se uočiti blagi simptomi šepavosti, slabosti i otežanog kretanja, nakon čega dolazi do paralize i naglog porasta stope uginuća. Dijagnoza se postavlja na temelju kliničke slike, izdvajanja i identifikacije uzročnika molekularnim metodama. Terapija je učinkovita samo u početnom stadiju bolesti, dok se za paralizirane jedinke preporučuje eutanazija. S obzirom na to da komercijalno cjepivo ne postoji, zaštita jata temelji se na smanjenju stresa, sprečavanju proboja imunosupresivnih bolesti i adekvatnom čišćenju i pripremi objekta prije useljavanja pilića.

**Ključne riječi:** *Enterococcus cecorum*, spondylitis, perad, tovni pilići

48

### Abstract

*Enterococcus cecorum* infection is characterized by paralysis caused by spinal cord compression of the inflamed sixth thoracic vertebrae. Broilers and broiler breeders are usually the most severely affected, although the disease was reported in all poultry categories. In the acute phase of the infection, mild symptoms such as lameness, weakness and difficulties with walking are usually present. Afterwards, the inflammation causes paralysis and abrupt increase in mortality. Diagnosis is based on the clinical symptoms, isolation and identification of the pathogen using molecular methods. Therapy is effective only in the acute phase of the infection, while the paralyzed birds should be euthanized. As commercial vaccine does not exist, the protection of the flock is based on the reduction of stress, prevention of immunosuppressive diseases and proper cleaning and preparation of poultry houses before moving in the chicks.

**Key words:** *Enterococcus cecorum*, spondylitis, poultry, broiler

### Uvod

Bakterija *Enterococcus cecorum* (*E. cecorum*) opisana je 1983. pod nazivom *Streptococcus cecorum*, kao sastavni dio mikroflore probavnog sustava kokoši (Devriese i sur., 1983.). Ubrzo je reklasificirana u rod *Enterococcus* na temelju 16S sekvencija ribosomske RNA (Williams i sur., 1989.) te je opisana i u drugih životinjskih vrsta (Devriese i sur., 1991.a; Devriese i sur., 1991.b). Sojeve *E. cecorum* možemo podijeliti na patogene i komenzalne. Komenzalni se

sojevi u malom broju nalaze u crijevima pilića starih 3 – 4 tjedna, nakon čega njihov broj raste te postaju jedna od dominantnih vrsta iz skupine enterokoka i streptokoka u mikrofiori peradi u dobi od 12 tjedana. Suprotno tomu, patogeni sojevi prisutni su u većem broju u crijevima pilića do 7. dana, nakon čega se njihov broj smanjuje kako dolazi do širenja komenzalnih sojeva (Jung i sur., 2018.). *E. cecorum* posljednjih 15 godina sve je češće identificiran kao uzročnik infekcija koštanog sustava u teških pasmina kokoši (Borst i

Liča LOZICA, dr. med. vet., asistentica, dr. sc. Željko GOTTSTEIN, dr. med. vet., docent, Zavod za bolesti peradi s klinikom, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Heinzelova 55, 10000 Zagreb, Hrvatska. \*Dopisni autor: llozica@vef.hr

sur., 2017.; Jung i sur., 2018.). Najčešći je oblik bolesti enterokokni spondilitis (engl. *enterococcal spondylitis*, ES), poznat i pod nazivima vertebralni enterokokni osteomijelitis, vertebralni enterokokni osteoartritis ili *kinky back*. Bolest se pojavljuje u fazi rasta i vrlo je često supkliničkog tijeka (Jung i sur., 2018.). Iako je dokazana u svih kategorija komercijalne perad, najveću pojavnost ima u tovnih pilića (Dolka i sur., 2017.). Ukupne stope morbiditeta i mortaliteta dostižu 35 %, odnosno 15 % (Jung i sur., 2018.), što znatno pridonosi ekonomskim gubicima proizvodnje. Uz to, veliki gubici nastaju i zbog troškova terapije i škartiranja u klaonici (Jung i sur., 2018.).

### Patogeneza i klinička slika

Najčešća lezija u oboljele peradi jest upala šestog prsnog kralješka (T6). Budući da je to jedini slobodni kralježak u prsno-slabinskom dijelu kralježnice, smatra se da upala nastaje zbog promijenjene cirkulacije i mikrotrauma uzrokovanih mehaničkim stresom okolnih kostiju (*os notarium* i *synsacrum*) (Stalker i sur., 2010.; Jung i sur., 2018.). Rezultati istraživanja Borsta i suradnika (2017.) pokazala su da se lezije vezane uz enterokokni spondilitis pojavljuju samo kod jedinki s osteohondrozom i bakterijemijom. Smatra se da *E. cecorum* može dospjeti u krvotok kroz oštećenja mukozne barijere crijeva koja nastaju kao posljedica enteritisa, najčešće uzrokovanog kokcidiozom ili bakterijskom infekcijom (Stalker i sur., 2010), no zasad nije potvrđena korelacija između oštećenja crijevne barijere i pojavnosti spondilitisa (Jung i sur., 2018.).

Uginuće nastaje kao posljedica septikemije u ranoj fazi rasta te dehidracije i gladovanja koji su rezultat paralize u kasnoj fazi rasta (Stalker i sur., 2010.; Robbins i sur., 2012.; Jung i Rautenschlein, 2014.; Borst i sur., 2017.). Blagi simptomi šepavosti i otežanog kretanja mogu se uočiti između 7. i 14. dana starosti kod pojedinih jedinki. U sljedećih nekoliko tjedana simptomi se pojavljuju kod sve većeg broja jedinki te postaju teži. Često već od 21. dana starosti dolazi do porasta broja oboljelih i uginulih životinja. Najuočljiviji je simptom paraliza, a jedinke su u karakterističnom sjedećem položaju s nogama ispruženim kranijalno (slika 1) zbog pritiska upaljenog kralješka na kralježničnu moždinu (De Herdt i sur., 2008.; Borst, 2020.).

U akutnoj fazi infekcije, kad se obično pojavljuje septikemija, stope morbiditeta i mortaliteta promjenjive su jer je infekcija često supkliničkog tijeka. Patomorfološke promjene uginulih jedinki mogu uključivati fibrinozni perikarditis, perihepatitis i splenomegaliju, iako se uzročnik često može izolirati i iz asimptomatskih jedinki (Jung i sur., 2018.). Nakon stadija septikemije infekcija se širi na koštani sustav što dovodi do naglog porasta mortaliteta, u jatima tovnih pilića u 5.

i 6. tjednu, a u roditeljskim jatima tovnih pilića između 6. i 13. tjedna (Stalker i sur., 2010.; Makrai i sur., 2011.; Jung i sur., 2018.). Šepavost može biti posljedica spondilitisa, osteomijelitisa bedrene kosti, artritisa ili sinovitisa (Jung i Rautenschlein, 2014.; Jung i sur., 2018.). U slučaju artritisa i sinovitisa u području zgloba mogu biti prisutne fibrinozne naslage. Ipak, najčešće detektirane lezije jesu spondilitis i osteomijelitis u području T6. Oko kralješka je vidljiva zadebljala upalna masa koju čine kazeozni i nekrotični sadržaj, ostaci kosti i hrskavice, krvarenja i granulacijsko tkivo ili fibrinozna kapsula (slika 2) (Jung i sur., 2018.).

Na temelju rezultata molekularne tipizacije i usporedbe sojeva *E. cecorum* izdvojenih iz roditeljskih jata tovnih pilića, pilića u valionici i kasnije oboljelih brojlera u proizvodnji, smatra se da se infekcija širi isključivo horizontalnim prijenosom, odnosno inhalacijom i



Slika 1. Klinička slika enterokoknog spondilitisa u tovnog pilića starog 5 tjedana. Prikazan je karakteristični sjedeći položaj sa simetričnom paralizom i kranijalno ispruženim nogama. (Fotografija: Borst (2020): *Streptococcus and Enterococcus*. U: Swayne, D. E.: *Diseases of Poultry 14th edn*, John Wiley and Sons, Inc., Hoboken, NJ (1003-1010).)



Slika 2. Enterokokni spondilitis karakteriziran upalom i zadebljalom masom oko šestog prsnog kralješka. (Fotografija: Borst (2020): *Streptococcus and Enterococcus*. U: Swayne, D. E.: *Diseases of Poultry 14th edn*, John Wiley and Sons, Inc., Hoboken, NJ (1003-1010).)

feko-oralnim putem (Kense i Landman, 2011.; Jung i sur., 2018.). Zasad nije dokazana translokacija uzročnika prelaskom bakterija kroz oštećenu mukoznu barijeru crijeva te nije zabilježena nijedna koinfekcija drugim crijevnim patogenima (Jung i Rautenschlein, 2014; Borst i sur., 2017.). Budući da nakon jednog izbijanja infekcije na farmi najčešće dolazi do ponovnih izbijanja, smatra se da postoje okolišni ili biološki rezervoari uzročnika koji imaju ulogu u reinfekciji i širenju bolesti unutar jata (Borst i sur., 2017; Jung i sur., 2018.).

## Dijagnostika

Preliminarna dijagnoza postavlja se izdvajanjem uzročnika iz tkiva te identifikacijom do razine roda uobičajenim bakteriološkim pretragama. Potrebno je uzorkovati promjene na koštanom sustavu, slezenu, jetru i po potrebi druge makroskopski promijenjene organe (Borst, 2020.). Bakterijske su kolonije sivkaste boje, promjera 2 – 3 mm, te rastu na krvnom agaru ili selektivnim podlogama za enterokoke u mikroaerofilnim uvjetima, tijekom 24-satne inkubacije na 37 °C. S obzirom na to da su kolonije nespecifična izgleda i da se biokemijske karakteristike mogu razlikovati unutar vrste, identifikaciju do razine bakterijske vrste treba potvrditi dodatnim dijagnostičkim metodama kao što su MALDI-TOF (engl. *matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight*), metoda lančane reakcije polimerazom uz upotrebu početnica specifičnih za bakterijsku vrstu (engl. *polymerase chain reaction*, PCR) ili sekvenciranje produkta 16S podjedinice rRNA dobivenog lančanom reakcijom polimerazom s univerzalnim početnicama specifičnim za taj gen (Makrai i sur., 2011.; Borst, 2020.). Za detaljnu tipizaciju sojeva i detekciju genetske varijabilnosti mogu se upotrijebiti ERIC-PCR (engl. *enterobacterial repetitive intergenic consensus-polymerase chain reaction*), RAPD-PCR (engl. *rapid random amplified polymorphic DNA polymerase chain reaction*), PFGE (engl. *pulsed-field gel electrophoresis*) i sekvenciranje čitavoga genoma (engl. *whole genome sequencing*, WGS), pri čemu se PFGE smatra zlatnim standardom (Wijetunge i sur., 2012.; Dolka i sur., 2016.; Jung i sur., 2018.). PFGE analizama dokazana je klonalnost patogenih sojeva *E. cecorum* izdvojenih iz lezija oboljelih jedinki, za razliku od komenzalnih sojeva koji su pokazali veliku genetsku raznolikost (Borst i sur., 2012.; Robbins i sur., 2012.).

Kronični enterokokni spondilitis obilježava simetrična paraliza s nogama ispruženim kranijalno, za razliku od drugih bolesti mišićno-koštanog sustava kod kojih je najčešće prisutna asimetrična spastična paraliza (Borst, 2020.). Zbog toga se potvrda dijagnoze temelji na identifikaciji uzročnika i kliničkim simptomima koji odgovaraju enterokoknom spondilitisu.

## Terapija i profilaksa

Nakon pojave kliničkih simptoma spondilitisa antimikrobna je terapija neučinkovita zbog nemogućnosti prodiranja i postizanja djelotvorne koncentracije antibiotika u koštanom tkivu (Kense i Landman, 2011.; Braga i sur., 2018.). Primjena antibiotika može zaustaviti širenje bolesti u jedinki koje su u početnoj fazi infekcije, ali se za paralizirane životinje preporučuje eutanazija i neškodljivo uklanjanje (Jung i sur., 2018.; Borst i sur., 2019.). Potencijalni dodatni razlozi nedjelotvornosti antibiotske terapije su reinfekcije sojevima *E. cecorum* iz okoliša, postojanje multirezistentnih sojeva te predisponirajući čimbenici kao što su dob, spol, koinfekcije, imunosupresija, antimikrobna terapija, cijepljenje kao i netemeljito čišćenje i održavanje objekata (Kense i Landman, 2011.; Jackson i sur., 2014.). Dosad je zabilježena stečena rezistencija *E. cecorum* na eritromicin, tilozin, tetraciklin, oksitetraciklin, doksiciklin, linkomicin i enrofloksacin, što je vjerojatno rezultat učestale primjene navedenih antibiotika u peradarskoj industriji, dok je urođena rezistencija zabilježena na cefalosporine i sulfonamide (Borst i sur., 2012.; Dolka i sur., 2016.; Suyemoto i sur., 2016.; Jung i sur., 2018.). Zasad ne postoji komercijalno cjepivo protiv *E. cecorum*, ali postoji mogućnost primjene autogenog cjepiva (Jung i sur., 2018.). Istraživanje Borsta i suradnika (2019.) pokazalo je da cijepljenje roditeljskog jata tovnih pilića polivalentnim inaktiviranim cjepivom ne pruža zaštitu pilića putem maternalnih protutijela, stoga se zaštita jata trenutačno temelji na smanjenju stresa, sprečavanju proboja imunosupresivnih bolesti i adekvatnom čišćenju i pripremi objekta prije useljavanja pilića (Braga i sur., 2018.; Borst, 2020.).

## Ekonomski i javnozdravstveni značaj

Enterokokni spondilitis može uzrokovati znatne ekonomske gubitke u proizvodnji tovnih pilića. Uz povećane stope morbiditeta i mortaliteta indirektni su gubici vezani uz trošak terapije i lošiju kvalitetu mesa, što rezultira povećanim škartiranjem u klaonici čak do 9,75 % (Jung i sur., 2018.). S obzirom na to da infekcija može biti supkliničkog tijeka, s vrlo blagim simptomima, takve životinje ulaze u postupak prerade za ljudsku konzumaciju, što je i potencijalan javnozdravstveni problem (Braga i sur., 2018; Jung i sur., 2018.). Iako još nije potvrđena izravna poveznica između infekcija bakterijom *E. cecorum* u ljudi i peradi, taj uzročnik može služiti kao rezervoar gena antimikrobne rezistencije i mehanizama virulencije drugim vrstama enterokoka (Jung i sur., 2018.). Poznato je da su enterokoki treći najčešći uzročnik nozokomijalnih infekcija (Selleck i sur., 2019.), stoga

je svaka terapija antimikrobnim pripravcima u svrhu zaustavljanja širenja infekcije u jatu opasnost iz aspekta širenja antimikrobne rezistencije.

## Literatura

- BORST, L. B., M. MITSU SUYEMOTO, K. M. ROBBINS, R. L. LYMAN, M. P. MARTIN, H. J. BARNES (2012): Molecular epidemiology of *Enterococcus cecorum* isolates recovered from enterococcal spondylitis outbreaks in the southeastern United States. *Avian Pathol.* 41, 479-485.
- BORST, L. B., M. M. SUYEMOTO, A. H. SARSOUR, M. C. HARRIS, M. P. MARTIN, J. D. STRICKLAND, E. O. OVIEDO, H. J. BARNES (2017): Pathogenesis of enterococcal spondylitis caused by *Enterococcus cecorum* in broiler chickens. *Vet. Pathol.* 54, 61-73.
- BORST, L. B., M. MITSU SUYEMOTO, L. R. CHEN, H. J. BARNES (2019): Vaccination of breeder hens with a polyvalent killed vaccine for pathogenic *Enterococcus cecorum* does not protect offspring from enterococcal spondylitis. *Avian Pathol.* 48, 17-24.
- BORST, L. B. (2020): *Streptococcus* and *Enterococcus*. U: Swayne, D. E.: *Diseases of Poultry* 14th edn, John Wiley and Sons, Inc., Hoboken, NJ (1003-1010).
- BRAGA, J. F. V., N. R. S. MARTINS, R. ECCO (2018): Vertebral osteomyelitis in broilers: a review. *Braz. J. Poult. Sci.* 20, 605-616.
- DEVRIESE, L. A., G. N. DUTTA, J. A. E. FARROW, A. VAN DE KERCKHOVE, B. A. PHILLIPS (1983.): *Streptococcus cecorum*, a new species isolated from chickens. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 3, 772-776.
- DEVRIESE, L. A., J. HOMMEZ, R. WIJFELS, F. HAESEBROUCK (1991a): Composition of the enterococcal and streptococcal intestinal flora of poultry. *J. Appl. Bacteriol.* 71, 46-50.
- DEVRIESE, L. A., K. CEYSSENS, F. HAESEBROUCK (1991b): Characteristics of *Enterococcus cecorum* strains from the intestines of different animal species. *Lett. Appl. Microbiol.* 12, 137-139.
- DE HERDT, P., P. DEFOORT, J. VAN STEELANT, H. SWAM, L. TANGHE, S. VAN GOETHEM, M. VANROBAEYS (2008): *Enterococcus cecorum* osteomyelitis and arthritis in broiler chickens. *Vlaams. Diergen. Tijds.* 78, 44-48.
- DOLKA, B., D. CHROBAK-CHMIEL, L. MAKRAI, P. SZELESZCZUK (2016): Phenotypic and genotypic characterization of *Enterococcus cecorum* strains associated with infections in poultry. *BMC Vet. Res.* 12, 129-141.
- DOLKA, B., D. CHROBAK-CHMIEL, M. CZOPOWICZ, P. SZELESZCZUK (2017): Characterization of pathogenic *Enterococcus cecorum* from different poultry groups: Broiler chickens, layers, turkeys, and waterfowl. *PLoS ONE* 12, e0185199.
- JACKSON, C. R., S. KARIYAWASAM, L. B. BORST, J. G. FRYE, J. B. BARRETT, L. M. HIOTT, T. A. WOODLEY (2015): Antimicrobial resistance, virulence determinants and genetic profiles of clinical and non-clinical *Enterococcus cecorum* from poultry. *Lett. Appl. Microbiol.* 60, 111-119.
- JUNG, A., S. RAUTENSCHLEIN (2014): Comprehensive report of an *Enterococcus cecorum* infection in a broiler flock in Northern Germany. *BMC Vet. Res.* 10, 311-318.
- JUNG, A., L. R. CHEN, M. MITSU SUYEMOTO, H. J. BARNES, L. B. BORST (2018): A review of *Enterococcus cecorum* infection in poultry. *Avian Dis.* 62, 261-271.
- KENSE, M. J., W. J. M. LANDMAN (2011): *Enterococcus cecorum* infections in broiler breeders and their offspring: molecular epidemiology. *Avian Pathol.* 40, 603-612.
- MAKRAI, L., C. NEMES, A. SIMON, E. IVANICS, Z. DUDÁS, L. FODOR, R. GLÁVITS (2011): Association of *Enterococcus cecorum* with vertebral osteomyelitis and spondylolisthesis in broiler parent chicks. *Acta Vet. Hung.* 59, 11-21.
- ROBBINS, K. M., M. M. SUYEMOTO, R. L. LYMAN, M. P. MARTIN, H. J. BARNES, L. B. BORST (2012): An outbreak and source investigation of enterococcal spondylitis in broilers caused by *Enterococcus cecorum*. *Avian Dis.* 56, 768-773.
- SELLECK, E. M., D. VAN TYNE, M. S. GILMORE (2019): Pathogenicity of Enterococci. *Microbiol. Spectr.* 7, 1-38.
- STALKER, M. J., M. L. BRASH, A. WEISZ, R. M. OUCKAMA, D. SLAVIC (2010): Arthritis and osteomyelitis associated with *Enterococcus cecorum* infection in broiler and broiler breeder chickens in Ontario, Canada. *J. Vet. Diagn. Invest.* 22, 643-645.
- SUYEMOTO, M. M., H. J. BARNES, L. B. BORST (2016): Culture methods impact recovery of antibiotic-resistant Enterococci including *Enterococcus cecorum* from pre- and postharvest chicken. *Lett. Appl. Microbiol.* 64, 210-216.
- WIJETUNGE, D. S., P. DUNN, E. WALKER-PENDLETON, V. LINTNER, H. LU, S. KARIYAWASAM (2012): Fingerprinting of poultry isolates of *Enterococcus cecorum* using three molecular typing methods. *J. Vet. Diagn. Invest.* 24, 1166-1171.
- WILLIAMS, A. M., J. A. E., FARROW, M. D. COLLINS (1989): Reverse transcriptase sequencing of 16S ribosomal RNA from *Streptococcus cecorum*. *Lett. Appl. Microbiol.* 8, 185-189.