

Infektionen mit dem kapnophilen Bakterium *Enterococcus cecorum* bei Mastbroilern

S. Albini¹, I. Faye², C. Lobsiger², I. Stadler-Thommen², F. Renggli³, R. K. Hoop¹

¹Abteilung für Geflügel- und Kaninchenkrankheiten, Institut für Veterinär bakteriologie, Zürich, ²Micarna SA, Courtepin, ³Bell Schweiz AG, Zell

Das Gram-positive Bakterium *Enterococcus cecorum* (*E. cecorum*) (früher *Streptococcus cecorum*) wurde zunächst aus Blinddärmen von gesunden Hühnern isoliert (Devriese et al., 1983). Es gehört zur Normalflora des Geflügeldarmes. 2002 wurde erstmals bei Mastbroilern in Schottland und in den Niederlanden Femurkopfnekrosen, Osteomyelitis, Arthritis und erhöhte Abgänge infolge Septikämie durch eine Infektion mit *E. cecorum* beschrieben (Devriese et al., 2002). Seit 2006 tritt das Krankheitsbild vermehrt unter anderem in Belgien, Ungarn und den USA auf (De Herdt et al., 2008; Makrai et al., 2011; Robbins et al., 2012). Auch in der Schweiz werden Lahmheiten bedingt durch generalisierte Knocheninfekte durch *E. cecorum* zunehmend im Sektionsgut der Geflügelabteilung in Zürich festgestellt.

Die Infektion eines Bestandes mit *E. cecorum* ist insofern heimtückisch, als gutgenährte Mastpoulets scheinbar plötzlich ohne Vorzeichen lahm gehen, vermehrt liegen und ein oder beide Beine abspreizen. Zum Teil bewegen sie sich mit Hilfe der Flügel («wing-walking»), um Wasser und Futter zu erreichen (Robbins et al., 2012). Meist sind es die frohwüchsigen männlichen Tiere, die betroffen sind (De Herdt et al., 2008). Das Allgemeinbefinden ist zunächst nicht beeinträchtigt. Bei längerem Krankheitsverlauf können die Tiere festliegen und gelangen somit nicht mehr zu den Tränken. Die Morbidität beträgt bei Mastpoulets am Ende der Mastzeit 2 % bis 7 % (De Herdt et al., 2008), bei männlichen Mastelterntieren bis zu 30 % (Makrai et al., 2011). Die Abgangsrate ist selten erhöht. In den betroffenen Herden sind Lahmheiten bei den Küken häufig schon im Alter von 7–14 Tagen vorhanden. Da es zu diesem Zeitpunkt kaum eine erhöhte Mortalität gibt (Tagesmortalität < 1 %) und die Morbidität gering ist (De Herdt et al., 2008), wird es vom Mäster in geringem Masse wahrgenommen.

2011/2012 wurden aus 9 verschiedenen Betrieben Mastbroiler zwischen 15 und 22 Tage alt mit der oben beschriebenen Klinik an die Abteilung für Geflügelkrankheiten eingesandt. Verendete Broiler zeigten makroskopisch stärker ausgeprägte Läsionen als getötete Tiere, wie eine leicht- bis hochgradige Perikarditis, Hepatitis und Splenitis, was den kulturellen Nachweis des Keimes erleichtert. Am Bewegungsapparat waren Femurkopfnekrose (Abb. 1), generalisierte Osteomyelitis und gelegentlich Arthritis des Metatarsalgelenks

auffällig. Bei älteren Tieren ab 5 Wochen kommen ausserdem Spondylolisthesis-ähnliche Läsionen im Bereich der freien Brustwirbel vor («kinky back syndrome»). Man findet diese «Enterokokkenspodylitis» vor allem bei männlichen Mast- und Mastelterntieren, im Alter von 5 bis 13 Wochen (Devriese et al., 2002; Makrai et al., 2011; Borst et al., 2012; Robbins et al., 2012). Die meist schlachtreifen Broiler sitzen auf dem Boden und strecken beide Beine nach vorne (Abb. 2); ursächlich ist eine Kompression des Rückenmarks im Bereich der freien Brustwirbel dafür verantwortlich (De Herdt et al., 2008).

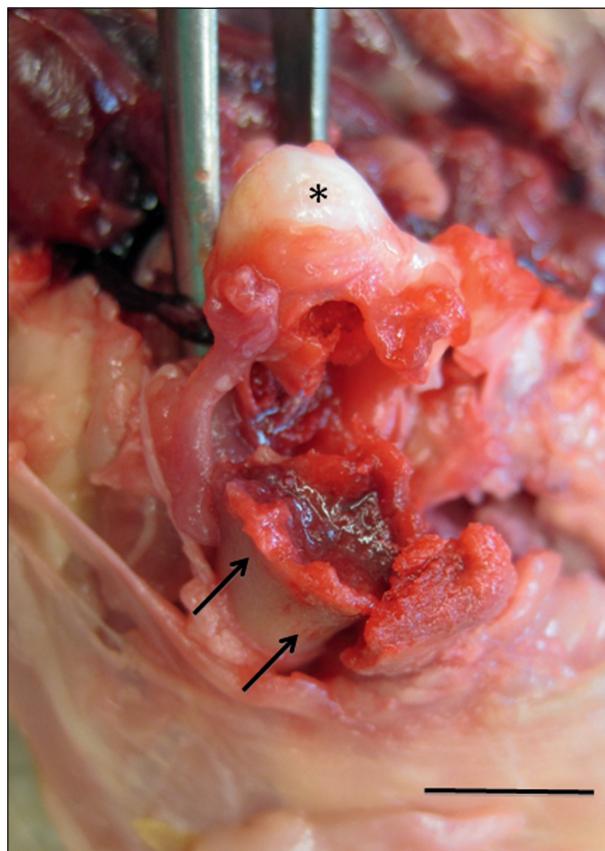


Abbildung 1: Femurkopfnekrose infolge Infektion mit *Enterococcus cecorum* bei einem Mastpoulet, 22 Tage alt. Der Femurkopf (Sternchen) löst sich bei der Sektion ohne grosse Kraftanstrengung vom nekrotischen Knochenschaft (Pfeile). Balken: 2 cm.



Abbildung 2: Mastbroiler, 36 Tage alt. Ungestörtes Allgemeinbefinden. Der Broiler sitzt infolge Spondylitis in dieser typischen Position mit beiden Beinen nach vorne gestreckt.

Bakteriologische Untersuchungen ergeben folgende Resultate (Devriese et al., 1983; Jung et al., 2012): In der Gram-Färbung von Leber, Herzbeutel und Knochenmark finden sich relativ grosse ovale Gram-positive Kokken, die oft als Einzel- oder Diplokokken vorliegen und kaum je in kurzen Ketten. Zum Teil haben die Bakterien eine kokkobazilläre Form. Auf Columbia Schafblutagar mit 7% Schafblut (Oxoid, Wesel, Deutschland) bebrütet für 24 h mit 5% CO₂ wachsen durchscheinende, α -hämolyisierende, Katalase-negative, 1–2 mm im Durchmesser grosse Kolonien. Nach 48 h Bebrütung sind sie bis 3 mm im Durchmesser. Die Gramfärbung einer Kolonie zeigt längsovale Gram-positive Kokken, die bei unvorsichtiger Färbemethode auch entfärbt sein können. Auf aerob bebrüteten Platten wächst der Keim gar nicht oder sehr schlecht mit deutlich kleineren Kolonien als bei kapnophiler Bebrütung.

E. cecorum kann mit der VITEK®2 ID GP Karte (BioMérieux, Marcy l'Etoile, Frankreich) identifiziert werden oder mit MALDI-TOF-MS (matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry), sofern der Keim in die Datenbank integriert ist (Mabritec, Riehen, Schweiz). Die Identifikation gelingt auch mit dem Rapid ID32 Strept® Streifen (BioMérieux) (Kense und Landman, 2011; Jung et al., 2012).

Pro Betrieb wurden durchschnittlich 2 Tiere eingesandt. Der kulturelle Nachweis von *E. cecorum* gelingt dabei nicht immer bei allen eingesandten Tieren, sondern vor allem bei solchen mit makroskopisch deutlichen Läsionen (Kultur von Herzblut, Perikard, Leber und Knochenmark). Bei 8 von 9 untersuchten Betrieben (Anzahl eingesandter Tiere 1–5) konnte *E. cecorum* angezüchtet werden. Bei einem Betrieb (4 eingesandte Tiere) konn-

ten in der Gramfärbung von Leber und Knochenmark Gram-positive Kokken nachgewiesen werden (Morphologie verdächtig für *E. cecorum*), jedoch konnte der Keim nicht angezüchtet werden.

Diskussion

Klinische Infektionen mit *E. cecorum* treten seit 2006 vermehrt in Europa und Nordamerika auf, weshalb man auch von einem «emerging avian pathogen» spricht. Warum das Krankheitsbild beim Geflügel erst seit kurzem auftritt ist nicht bekannt. Es wurde spekuliert, dass die Verbreitung eines Klons mit erhöhter Pathogenität verantwortlich sein könnte, wofür eine erste Studie Hinweise lieferte (Borst et al., 2012), eine weitere jedoch nicht (Wijetunge et al., 2012). Bislang konnte kein global dominanter Stamm identifiziert werden. Bei Betrieben, die zur selben Firma gehören, konnten teils identische Isolate bei den Broilern nachgewiesen werden (Wijetunge et al., 2012), was ein Hinweis für eine Streuung innerhalb desselben Unternehmens sein könnte. Der genaue Übertragungsweg und die Eintrittspforte sind aber nach wie vor unbekannt. Eine vertikale Übertragung von den Elterntieren oder innerhalb der Brüterei konnte bisher nicht bewiesen werden (Kense und Landman, 2011; Robbins et al., 2012). *E. cecorum* scheint weder in der Brüterei (Umgebungsproben, Eierschalen und Steckeier, Darm und Dottersack der Eintagsküken) noch in der Umgebung im Maststall (Tränken und Nagetiere) vorzukommen (Kense und Landman, 2011; Robbins et al., 2012).

Werden Mastbroiler mit der Vorgeschichte Lahmheit, Herumliegen oder Verdacht auf Skeletterkrankung im Diagnostiklabor untersucht, so gehört *E. cecorum* unbedingt zu den Differentialdiagnosen. Basierend auf den Erfahrungen von Kense und Landman (2011), Robbins und Mitarbeitern (2012) und unseres Labores ist es empfehlenswert, 2–3 Tiere zur Untersuchung einzusenden, da der Keim am einfachsten aus makroskopisch deutlich sichtbaren Läsionen angezüchtet werden kann. Bei verendeten Broilern ist neben den Läsionen am Skelett häufiger auch eine generalisierte Infektion vorhanden. Falls es keine Abgänge gibt und Mastpoulets zur Einsendung getötet werden müssen, empfiehlt es sich Tiere mit einer ausgeprägten Klinik wie Festliegen auszuwählen.

Für die Kultivierung aus den Läsionen muss das CO₂-abhängige Wachstum von *E. cecorum* berücksichtigt werden. Fallstricke bei der Identifikation sind die für Enterokokken eher ungewöhnlichen biochemischen Reaktionen. *E. cecorum* ist zwar Aeskulin positiv, aber negativ für Pyrrolidonyl-Arylamidase (PYR-Schnelltest, Oxoid) und D-Antigen (Pastorex™ Strept; BioRad, Hercules, CA, USA) (Devriese et al., 1983). Die Identifikation der Spezies gelingt mit kommerziellen Systemen (BioMérieux). Für die Durchführung von Anti-

biogrammen sind die Standardwerke bezüglich Technik und spezifischen breakpoints zu konsultieren (Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI), 2010; European Committee on antimicrobial susceptibility testing (EUCAST), 2013). In den VITEK®2 Antibiogrammkarten wächst der Keim mangels optimaler Atmosphäre nicht schnell genug an, sodass das System die Analyse abbricht. Die Mehrheit der bisher untersuchte *E. cecorum* Isolate waren sensibel für Penizilline und Enrofloxacin (Borst et al., 2012).

Generell muss aber von einer Antibiotikatherapie abgeraten werden. Der Erfolg ist mässig bis nicht vorhanden, selbst wenn der Erreger *in vitro* sensibel ist. Verschiedene Gründe werden dafür angeführt: eine ungenügende Antibiotikumkonzentration in den Knochen, im Knochenmark oder Perikard, eine Reinfektion im Stall oder andere prädisponierende Faktoren (De Herdt et al., 2008; Kense und Landman, 2011). In der Schweiz wurde im Feld der Einsatz von verschiedenen Antibiotika (Amoxicillin, Enrofloxacin, Sulfachlorpyradizin-Trimethoprim) ohne nennenswerten Erfolg getestet. Wirkungslos blieb auch die Ansäuerung oder Chlorierung des Trinkwassers. Die besten Resultate werden mit der Gabe von Multivitaminpräparaten (inklusive Vitamin D3) und Mineralstoffpräparaten (Phosphor, Kalzium) via Trinkwasser erreicht (persönliche Mitteilung C. Lobsiger und F. Renggli).

Ohne Massnahmen persistiert die Krankheit auch in den folgenden Mastperioden (De Herdt et al., 2008). Ein Rezidiv im folgenden Umtrieb lässt sich aber mit einer gründlichen Reinigung und Desinfektion verhindern. In betroffenen Betrieben wird in der Schweiz deshalb folgendes gemacht: eine sehr gründliche Reinigung der Halle mit einem Reinigungsmittel und danach eine verschärfte Desinfektion mit einem wirksamen Desinfektionsmittel. Eventuell können in den Folgemasten präventiv Vitamin D3-haltige Multivitaminpräparate, Phosphor und Kalzium zu verschiedenen Lebensaltern über das Trinkwasser verabreicht werden (persönliche Mitteilung C. Lobsiger und F. Renggli).

Die betroffenen Betriebe erleiden einen finanziellen Schaden durch die erhöhte Ausmerzungsrate von kranken Tieren, geringeren Gewichtszunahmen und erhöhten Konfiskationsraten im Schlachthof. Die Gründe für die vermehrte Beschlagnehmung sind dehydrierte Karkassen oder Tierkörper mit tiefer Dermatitis (syn. phlegmonöse Dermatitis, Cellulitis). Die tiefe Dermatitis ist wahrscheinlich sekundär bedingt, da Tiere mit eingeschränkter Mobilität von gesunden Broilern vermehrt bepickt werden (persönliche Mitteilung C. Lobsiger und F. Renggli). Infolge ihres durch den Enterokokkeninfekt geschwächten Immunsystems sind sie vermutlich zudem anfälliger auf andere bakterielle Infektionen.

Schlussfolgerung

Obwohl es sich stets um sporadische Fälle handelt, werden uni- oder bilaterale Lahmheiten infolge Femurkopf-

nekrosen und Osteomyelitis, selten auch Arthritis, zunehmend bei Schweizer Broilern beobachtet. Bei männlichen Masttieren und Mastelertieren ab circa 5 Wochen treten zudem Spondylolisthesis-ähnliche Läsionen auf. Die CO₂-Abhängigkeit des Erregers *Enterococcus cecorum* muss bei der Diagnostik berücksichtigt werden. Die Infektionswege sind unbekannt. Eine antimikrobielle Therapie ist praktisch ohne Wirkung, sodass darauf verzichtet werden soll.

Literatur

Borst L. B., Suyemoto M. M., Robbins K. M., Lyman R. L., Martin M. P., Barnes H. J.: Molecular epidemiology of *Enterococcus cecorum* isolates recovered from enterococcal spondylitis outbreaks in the southeastern United States. *Avian Pathol.* 2012, 41: 479–485.

Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI): M100-S20, Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, Twentieth Information Supplement, 2010. Vol. 30, no. 1, CLSI, Wayne PA, USA.

De Herdt P., Defoort P., Van Steelant J., Swam H., Tanghe L., Van Goethem S., Vanrobaeys M.: *Enterococcus cecorum* osteomyelitis and arthritis in broiler chickens. *Vlaams. Diergen. Tijds.* 2008, 78: 44–48.

Devriese L. A., Dutta G. N., Farrow J. A. E., Van de Kerckhove A., Phillips B. A.: *Streptococcus cecorum*, a new species isolated from chickens. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 1983, 33: 772–776.

Devriese L. A., Cauwerts K., Hermans K., Wood A. M.: *Enterococcus cecorum* septicemia as a cause of bone and joint lesions resulting in lameness in broiler chickens. *Vlaams. Diergen. Tijds.* 2002, 71: 219–221.

European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST): Breakpoint tables for interpretation of MICs and zones. Version 3.0. 2013. <http://www.eucast.org>.

Jung A., Ryll M., Rautenschlein S.: Bedeutung und Diagnostik ausgewählter bakterieller Erreger des Geflügels. *Tierarztl. Prax. Ausg. G.* 2012, 40: 94–100.

Kense M. J., Landman W. J. M.: *Enterococcus cecorum* infections in broiler breeders and their offspring: molecular epidemiology. *Avian Pathol.* 2011, 40: 603–612.

Makrai L., Nemes C., Simon A., Ivanics É., Dudás Z., Fodor L., Glávits R.: Association of *Enterococcus cecorum* with vertebral osteomyelitis and spondylolisthesis in broiler parent chicks. *Acta Vet. Hung.* 2011, 59: 11–21.

Robbins K. M., Suyemoto M. M., Lyman R. L., Martin M. P., Barnes H. J., Borst L. B.: An outbreak and source investigation of

298 Kurzmitteilungen/Short communications

enterococcal spondylitis in broilers caused by *Enterococcus cecorum*. Avian Dis. 2012, 56: 768–773.

Wijetunge D. S., Dunn P., Wallner-Pendelton E., Lintner V., Lu H., Kariyawasam S.: Fingerprinting of poultry isolates of *Enterococcus cecorum* using three molecular typing methods. J. Vet. Diagn. Invest. 2012, 24: 1166–1171.

Korrespondenz

Prof. Dr. R. K. Hoop
Abteilung für Geflügel- und Kaninchenkrankheiten
Institut für Veterinär-Bakteriologie
Winterthurerstrasse 270
8057 Zürich
Schweiz
Tel.: +41 (0) 44 635 86 31
Fax: +41 (0) 44 635 89 14
rhoop@vetbakt.uzh.ch

Manuskripteingang: 17. September 2013

Angenommen: 29. November 2013