

COM-05

Espondilitis enterocócica asociada a *Enterococcus cecorum* en reproductores y aves de engorde

A. CANTURRI¹, G. DORIA-TORRA¹, I. CASANOVA¹, J. MARTÍNEZ^{1,2}, M. DOMINGO^{1,2} y N. MAJÓ^{1,2} *

¹Departament de Sanitat i Anatomia Animals, Universitat Autònoma de Barcelona, 09193 Bellaterra, Barcelona, Spain

²Centre de Recerca en Sanitat Animal (CRESA) - Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA), Campus UAB, 08193 Bellaterra, Barcelona, Spain

*email: natalia.majo@uab.cat

Las infecciones de aves de engorde por *Enterococcus cecorum* han ido en aumento en la última década asociadas a síntomas clínicos locomotores. En este trabajo se describen dos casos, uno que afectó pollos de engorde de 35 días que empezaron con sintomatología a los 10 días de vida y otro de reproductores de pollos de engorde de 11 semanas, con síntomas que empezaron a las 5 semanas de vida. En ambos casos, los animales afectados presentaron apatía y síntomas locomotores como cojera, ataxia y acabaron postrados sobre sus corvejones, con la cloaca en el suelo y las patas estiradas hacia delante, sin poder tenerse en pie ni alimentarse. Al realizar la necropsia, en todos los animales afectados de ambos casos destacó, en la cara ventral de la vértebra torácica T4, una masa focal, firme, de entre 1 y 2 cm, que al corte, presentó un área de tejido reblandecido, de color amarillento-negruzco (necrosis), que comprimía la médula espinal en esta localización. En el resto de órganos y cavidades no se observaron lesiones aparentes. Microscópicamente se observó, focalmente en el cuerpo vertebral, un área de necrosis, osteolisis e intenso infiltrado inflamatorio macrofágico y heterofílico, con fibrina. Además, había presencia de colonias bacterianas Gram positivas de morfología cocoide. La médula espinal se encontraba comprimida y presentaba un área focal extensa de malacia, con espongiosis, disrupción de los axones y formación de torpedos y cromatolisis neuronal en sustancia gris. Se diagnosticó espondilitis necrotizante crónica grave y mielomalacia focal por compresión. Se realizaron cultivos microbiológicos de columna vertebral y médula ósea y se aislaron abundantes colonias que se identificaron posteriormente mediante el sistema VITEK como *Enterococcus cecorum*, confirmando el diagnóstico de espondilitis enterocócica. El origen y la patogénesis de la enfermedad se desconocen, lo que limita la prevención de los factores que promueven la distribución sistémica de esta bacteria entérica. Se cree que los lugares de tensión esquelética son más susceptibles a la colonización bacteriana, resultando en abscesos y lesiones.

Infections of broilers and broiler breeders by *Enterococcus cecorum* have increased in the last decade associated to locomotor clinical signs. In this study we describe two cases, one affecting broilers of 35 days of age that began with clinical signs at 10 days of age, and another case corresponding to broiler breeders of 11 weeks of age, whose clinical signs began at 5 weeks of age. In both cases, the affected animals presented apathy and locomotor signs like lameness, ataxia and they sat on their hock joints and tails with their feet raised slightly off the ground,

and were unable to stand nor feed. In all of the animals from both cases, the post-mortem examination revealed, in the ventral surface of the thoracic vertebra T4, a focal, firm, 1 to 2 cm in diameter swelling, that at sagittal section showed an area of soft, black-yellowish tissue (necrosis) that compressed the adjacent spinal cord. No other macroscopic lesions were observed in the remaining organs and cavities. Microscopically, the vertebral body showed a focal area of necrosis, osteolysis and intense macrophagic and heterophilic inflammatory infiltrate, with fibrin. There were also Gram positive bacterial colonies of coccoid morphology. The spinal cord was compressed and presented a focally extensive area of malacia, with spongiosis, axon disruption and neuronal chromatolysis in the gray matter. Chronic intense necrotizing spondylitis and focal myelomalacia due to compression were diagnosed. The microbiologic cultures of the spinal column and bone marrow performed yielded an abundant growth of colonies, that further identification with the VITEK system were revealed to be *Enterococcus cecorum*, confirming the enterococcal spondylitis diagnosis. The origin and pathogenesis of the disease remains to be determined, which limits the prevention of the systemic distribution of this enteric bacterium. It may be that the skeletal tension sites are more susceptible to bacterial colonization, resulting in abscesses and lesions.

Palabras clave: *Enterococcus cecorum*; espondilitis; mielomalacia

Keywords: *Enterococcus cecorum*; spondylitis; myelomalacia

Introducción

La espondilitis enterocócica es una enfermedad emergente en pollos de engorde y reproductores en la última década, que causa sintomatología locomotora en los animales afectados (Aziz *et al.*, 2009). Los primeros casos se describieron en Estados Unidos en el 2007 y sólo se daban en manadas de reproductores broilers, de entre 6 y 10 semanas de edad y sólo en machos. Hasta dos años después no apareció un brote en una granja de pollos de engorde, entre los 30-40 días de edad, también en Estados Unidos. El primer caso en Europa tuvo lugar en Bélgica, también en 2009 y después se han ido describiendo casos esporádicos en Hungría y Holanda (Jung *et al.*, 2014). Actualmente tiene una distribución global con unas consecuencias económicas importantes. Dichas consecuencias económicas son debidas tanto a la propia mortalidad, que puede llegar hasta el 15% en los casos más graves, como a la alta morbilidad, que resulta en el sacrificio selectivo de los animales cojos y deshidratados por parte del ganadero, ya que no alcanzan a llegar a los bebederos y los comederos. También es importante destacar que en el caso de los pollos de engorde, la enfermedad clínica acontece muy avanzado el período de crecimiento, poco antes de llegar a los pesos comerciales. Asimismo, también hay que contar con los gastos de medicación, fundamentalmente antibioterapia, y al aumento de los índices de conversión.

Existen abundantes especies de *Enterococcus* que de forma natural están presentes en la flora intestinal de muchas especies de mamíferos y aves, como bacterias comensales (Stalker *et al.*, 2010). En los pollos comerciales, los más importantes son: *Enterococcus faecalis*, *E. durans* y *E. hirae*. Estos *Enterococcus*, que colonizan animales jóvenes, van siendo reemplazados por *E. cecorum*, una bacteria comensal apatógena, a medida que el animal va creciendo.

El *Enterococcus cecorum*, inicialmente denominado *Streptococcus cecorum*, fue aislado por primera vez de la flora intestinal de pollos sanos en 1983. En 1989 se re-clasificó como *Enterococcus cecorum*. Es una bacteria cocoide, anaerobia facultativa, Gram positiva, y catalasa negativa. En

estudios iniciales de principios de los 90, se inoculaba una cantidad determinada de colonias de *E. cecorum* por vía intravenosa en pollos de 12 semanas y no se observaban síntomas clínicos, lo cual demuestra que la bacteria es apatógena cuando es comensal. El hecho de aislar esta bacteria, presuntamente apatógena, en lesiones graves como la espondilitis necrotizante, ha dado lugar a varias hipótesis. Según Boelin *et al.* (2012), una nueva cepa de *E. cecorum*, más virulenta, puede haber penetrado en las poblaciones aviarias, causando un aumento tanto de la frecuencia como de la severidad de la enfermedad. Según Borst *et al.* (2012), el incremento de lesiones asociadas a *E. cecorum* se debe a la aparición de nuevos clones de la bacteria con nuevos factores de virulencia, que dan aumento de la patogenicidad y resistencia a antibióticos. Por tanto, ambos autores coinciden en que la reciente aparición global de espondilitis necrotizante en pollos de engorde y reproductores indica la conversión de cepas específicas de *Enterococcus cecorum* de comensales a patógenas.

En el presente trabajo se describen los hallazgos clínicos y las lesiones macroscópicas y microscópicas de los primeros casos de espondilitis enterocócica diagnosticados en España.

Material y métodos

Se realizó la necropsia y el estudio histopatológico completo de dos casos recibidos en el Servicio Diagnóstico de Patología Veterinaria del Departamento de Sanidad y Anatomía Animales (Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona, Catalunya, España). El primer caso, recibido en Noviembre de 2014, correspondía a un lote de 5 pollos de engorde de 35 días de vida; 4 de ellos presentaban síntomas locomotores y uno de ellos como animal control. La historia clínica señala que a los 10 días de vida presentan cojeras y se desigualan. En ese momento se medicaron con varios antibióticos y se observó leve mejoría. A los 35 días de vida presentaron un 5% de bajas totales y un 1% de los animales presentaban la misma postura. El segundo caso, recibido en Abril de 2015, correspondía a un lote de 4 pollos reproductores de 11 semanas de vida. A las 4-5 semanas de vida empezaron con los síntomas locomotores típicos, y a las 11 semanas, hasta un 15% de los animales estaban afectados. En ambos casos, los pollos estaban sentados sobre sus corvejones y la cola, y con las patas hacia delante y habitualmente levantadas del suelo, síntomas locomotores típicos de esta patología. De todos ellos se extrajo sangre y se eutanasiaron para realizar las necropsias. Para el análisis histopatológico, se recogieron muestras y se fijaron en formol al 10% tamponado. Todos los procedimientos siguieron los requerimientos del Comité de Ética de Experimentación Animal y Humana de la Universitat Autònoma de Barcelona.

Resultados y discusión

Para entender anatómicamente el problema, es importante revisar la anatomía de los huesos de la columna vertebral de las aves. En ellas, la última vértebra cervical y las tres primeras torácicas están fusionadas en un solo hueso llamado *Notarium*; en sentido caudal, le sigue la cuarta vértebra torácica o T4, que es la única vértebra móvil de las torácicas. El resto de las vértebras torácicas y todas las lumbares están fusionadas junto con las sacras en un solo hueso llamado *Sinsacrum*.

Resultados Macroscópicos

Al realizar la necropsia, una vez retiradas todas las vísceras de la cavidad celómica, en todos los animales afectados de ambos casos destacó, en la cara ventral de las vértebras T4 y extendiéndose

tanto hacia craneal como hacia caudal, una tumefacción o protrusión focal, firme, dura, de entre 1 y 2 cm, justo en el borde apical de los riñones. Al seccionar la zona, apareció un área de tejido reblandecido, de color amarillento-negruzco, interpretado como necrosis, que comprimía la médula espinal en ésta localización. En el resto de órganos y cavidades no se observaron lesiones aparentes.

Resultados microscópicos

El estudio microscópico de las lesiones localizadas en los cuerpos vertebrales de todos los animales afectados reveló la presencia de áreas de necrosis, osteolisis e intenso infiltrado inflamatorio heterofílico y macrofágico, con fibrina. La médula espinal se encontraba comprimida y presentaba un área focal extensa de malacia, con espongiosis, disrupción de los axones y formación de torpedos y cromatolisis neuronal en sustancia gris. Se diagnosticó espondilitis necrotizante crónica grave y mielomalacia focal por compresión. Además, se detectaron agregados bacterianos con distribución multifocal entre el tejido necrótico, que resultaron positivos mediante tinción de Gram. A continuación se realizó aislamiento e identificación microbiológicos de las lesiones observadas. Para el cultivo microbiológico se recogieron muestras mediante hisopo de la lesión espinal y también se mandaron tibiotarsos para realizar cultivo de médula ósea. Se aislaron abundantes colonias compatibles con *Enterococcus spp* de ambos tejidos. Posteriormente se identificaron las colonias obtenidas mediante el sistema Vitek® como *Enterococcus cecorum*.

Discusión

Los casos descritos en el presente trabajo representan las primeras descripciones de espondilitis necrotizante diagnosticadas en España, en pollos de engorde y en reproductores. La sintomatología clínica, así como las lesiones macroscópicas y microscópicas, son similares a los casos descritos en la bibliografía y en otros países, así como también el aislamiento de *E. cecorum* a partir de las lesiones espinales.

Actualmente, apenas se tiene información acerca de la vía de transmisión de la bacteria ni sobre el mecanismo patogénico de la enfermedad. Revisando la bibliografía, bastante actualizada dado el carácter emergente de la enfermedad, se han observado varias hipótesis. Por lo que respecta a la vía de transmisión, pese a la distribución global de la enfermedad, se desconoce cómo se propagan las nuevas cepas patógenas de *E. cecorum*. La transmisión vertical parece poco probable, ya que los aislados bacterianos de los animales problema son filogenéticamente distintos a los aislados parentales (Kense & Landman, 2011). El hecho de tener casos simultáneos en varias zonas del mundo hace la transmisión horizontal poco probable, aunque debido al sistema de producción de la avicultura actual, no se puede descartar. Dado este desconocimiento, se recomienda hacer hincapié en los vectores biológicos y la bioseguridad. Por lo que respecta a la ruta de infección, algunos autores opinan que la bacteria entra en la circulación sistémica vía gastro-intestinal (Jung *et al.*, 2014), mientras que otros opinan que la bacteria entra a sangre vía sistema respiratorio, ya que en otros estudios se observó un aumento de la frecuencia de enfermedad asociado a la sequedad de las camas e incremento de las partículas de polvo en el aire (Kense *et al.*, 2011, Jung *et al.*, 2013). En cualquier caso, en lo que están de acuerdo todos los autores y también se demuestra en este estudio, es que la bacteria llega a la circulación sistémica, provocando bacteremia y diseminación sistémica. No está clara la razón por la cual el cuerpo de la cuarta vértebra torácica es el sitio predilecto de la infección, aunque, debido a que es la única articulación móvil en el tórax del pollo, está sujeta permanentemente a tensiones evidentes durante el movimiento del animal. Factores como la alteración del flujo vascular o lesiones microtraumáticas pueden jugar un papel importante en el establecimiento reiterado de la lesión en esta localización.

Referencias

- AZIZ, T., BARNES, H.J. (2007).** Is spondylitis an emerging disease? *World Poultry* **23**: 14-15
- BOERLIN, P., NICHOLSON, V., BRASH, M., SLAVIC, D., FILIP, B., SANEY, B., BUTAYE, P. (2012).** Diversity of *Enterococcus cecorum* from chicken. *Veterinary Microbiology*, **157**: 401-411.
- BORST, L.B., SUYEMOTO M.M., ROBBINS, K.M., LYMAN, R.L., MARTIN, M.P., BARNES, H.J. (2012).** Molecular epidemiology of *Enterococcus cecorum* isolates from enterococcal spondylitis outbreaks in the southeastern United States. *Avian Pathology*, **41**: 479-485.
- JUNG, A., METZNER, M., KÖHLER-REPP, D., RAUTENSCHLEIN, S. (2013).** Experimental reproduction of an *Enterococcus cecorum* infection in Pekin ducks. *Avian Pathology* **42**: 552-556
- JUNG, A., RAUTENSCHLEIN, S. (2014).** Comprehensive report of an *Enterococcus cecorum* infection in a broiler flock in Northern Germany. *BMC Veterinary Research*, **10**: 311-319.
- KENSE, M.J., LANDMAN, J.M. (2011).** *Enterococcus cecorum* infections in broiler breeders and their offspring: molecular epidemiology. *Avian Pathology* **40**: 603-612
- STALKER, M.J., BRASH, M.L., WEISZ, OUCKAMA, R.M., SLAVIC, D. (2010).** Arthritis and osteomyelitis associated with *Enterococcus cecorum* infection in broiler and broiler breeder chickens in Ontario, Canada. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* **22**: 643-645.