

Enterococcus *secorum* - новая угроза промышленному птицеводству

Горфункель Е.П., биотехнолог

Тюрина Д.Г., кандидат экономических наук, главный бухгалтер

Ильина Л.А., начальник молекулярно-генетической лаборатории

Дубровин А.В., биотехнолог

Йылдырым Е.А., кандидат биологических наук, биотехнолог

Филиппова В.А., биотехнолог

ООО «БИОТРОФ» (Санкт-Петербург)

Аннотация: Рассмотрены проблемы птицеводческой отрасли, связанные с заражением птицы патогенными штаммами вида *Enterococcus secorum*. Показан ход патологического процесса при заражении этим патогеном с поражением опорно-двигательной системы птицы; наиболее подвержены инфекции птица родительского стада и цыплята-бройлеры. Среди важных особенностей данной инфекции - быстрое распространение по стаду (в т.ч. через зараженные корма) и устойчивость ко многим антибактериальным препаратам. Исследования ООО «БИОТРОФ» с помощью современного молекулярно-генетического метода NGS показали наличие *E. secorum* в кишечнике даже у здоровой птицы, начиная с 2-дневного возраста. Исследования также показали, что наиболее эффективным способом контроля этой инфекции является применение пробиотических препаратов, однако поскольку механизм их действия в данном случае связан с конкурентным вытеснением патогена, не все пробиотические штаммы дают хорошие результаты, и выбор эффективного пробиотика можно осуществить только с помощью максимально точных и информативных молекулярно-биологических методов анализа.

Ключевые слова: *Enterococcus secorum*, цыплята-бройлеры, родительское стадо, заболевания опорно-двигательной системы, пробиотики, молекулярно-биологические методы анализа.

В последние годы специалисты птицеводческих предприятий все чаще регистрируют у птиц проблемы опорно-двигательного аппарата, экономические потери от которых могут достигать весьма высоких показателей. Так, уровень выбраковки (или падежа) для бройлеров может составлять до 5-15% поголовья, а отход петухов - 30%, поскольку в результате птица

ограничена в потреблении корма и воды.

Немаловажную роль в возникновении заболеваний опорно-двигательного аппарата ученые отводят инфицированию организма птицы бактериями вида *Enterococcus secorum*. Первоначально *E. secorum* (более раннее название *Streptococcus secorum*) был описан как представитель нор-

мофлоры кишечника птицы, выявляющийся преимущественно у цыплят. Однако впоследствии это мнение было пересмотрено, поскольку было установлено, что многие штаммы *E. secorum* являются патогенными для птицы. Эти бактерии способны поражать организм птицы, вызывая различные заболевания опорно-двигательного аппарата, такие как спонди-





литы, некрозы головки бедренной кости, артриты и остеомиелиты.

Начиная с 2002 г. вспышки инфекционных заболеваний, вызванных патогенными штаммами *E. cecorum*, были неоднократно описаны на птицеводческих предприятиях разных стран, в частности у цыплят-бройлеров и петухов-производителей на территории Шотландии, Нидерландов, Бельгии, Польши, Германии, Канады и США, у мясных индеек в Канаде и уток в Германии. Чаще всего случаи возникновения заболеваний зафиксированы в бройлерных стадах после 2-3 недельного возраста, а также у родительского поголовья птицы.

В связи с этим проблемы, вызываемые *E. cecorum*, сегодня в мире признают экономически и социально значимыми.

Клиническая и патологоанатомическая картина поражений. Поражение организма птицы бактериями *E. cecorum* происходит в результате инфекционного процесса в подвижном сочленении грудного отдела (свободном грудном позвонке), что приводит к негативным последствиям и способствует нарушению сосудистого кровообращения.

При вспышках инфекционных заболеваний в хозяйствах сначала наблюдается первая волна смертности с патологоанатомической картиной септицемии. В дальней-

шем, через 10-14 дней, развивается вторая волна, связанная с возникновением хромоты, параличом конечностей и повреждением позвоночника, ведущими к обездвиживанию и потере массы тела. У больных птиц наблюдаются затруднения в перемещении, хромота, птица присаживается и принимает характерное сидячее положение с краниально вытянутыми обеими ногами. Заболеваемость по разным данным варьируется, достигая 35%, со смертностью до 15%.

При вскрытии на стадии септицемии отмечается характерная картина поражения внутренних органов: фибриновый перикардит, перигепатит, застойные легкие и спленомегалия (рис. 1). На стадии хромоты изменения наблюдаются в позвоночнике или в проксимальном отделе бедренной кости (рис. 2). На ранних стадиях хромоты возникают изменения, характерные для синовита и артрита тазобедренных (ТБС), коленного и скакательного суставов, с образованием непрозрачного желтого экссудата в суставной капсуле, с возможным отложением фибрина. На более поздних стадиях в ТБС возникает некроз головки бедренной кости.

Наиболее характерным поражением для данной бактериальной инфекции является спондилит и остеомиелит у свободного грудного позвонка и его сочленения со сложным крестцом. При

осмотре свободного грудного позвонка и тел соседних позвонков видны спайки, воспалительная ткань вызывает стеноз и дорсовентральную компрессию спинного мозга. Сжатие спинного мозга приводит к характерному для энтерококкового спондилита симметричному парезу и параличу ног.

Особенности распространения

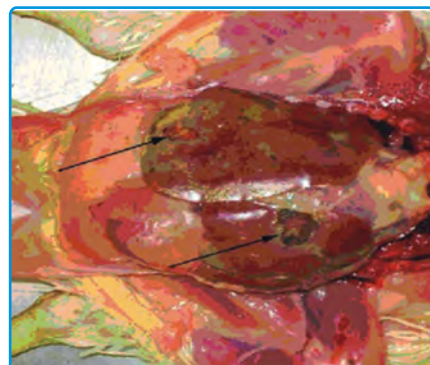


Рисунок 1. Поражения при септической стадии, перикардит и фибриновый некроз печени (стрелки) у бройлера, 24 дня. Возбудитель *E. cecorum* [1].

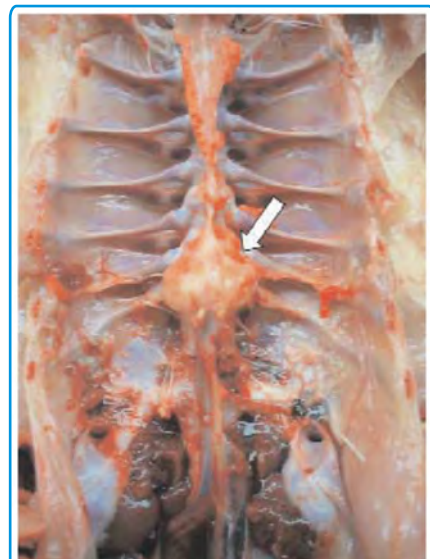


Рисунок 2. Продольный разрез позвоночного столба бройлера, с признаками параза. Пораженные остеомиелитом позвонки сдавливают спинной мозг (стрелка), вызывая клинические признаки. *E. cecorum* был выделен из очага поражения [3].

ния инфекции. Вопрос о причинах развития заболевания сегодня остается дискуссионным. К предпосылкам, способствующим развитию инфекции у птицы, относят особенности ее анатомического строения - наличие подвижного сочленения грудного отдела (свободного позвонка), где и происходит размножение патогена. Есть мнение, что значимым фактором могли стать изменения генотипа птицы в процессе селекции в сторону высокой продуктивности птицы. Организм бройлеров, которые считаются наиболее подверженными заболеванию, в силу интенсивного наращивания мышечной массы не выдерживает вытекающей из этого повышенной нагрузки на костную и суставную ткань.

Наибольшее опасение вызывает тот факт, что при инфицировании птицы патогенные штаммы *E. secorum* могут достаточно быстро передаваться внутри стада. При этом на предприятиях, где было зафиксировано заболевание, часто наблюдаются повторные вспышки заболевания. Это может быть связано с тем, что патогенные штаммы *E. secorum* обладают повышенной устойчивостью к противомикробным препаратам и имеют сразу несколько генов вирулентности.

Критичным фактором является высокая устойчивость данного патогена к широко применяемым

в птицеводстве антибиотикам. Dolka В. с соавторами [2] в своих исследованиях изучили 82 штамма *E. secorum*, выделенных от разных птиц. Повышенную резистентность наблюдали к энрофлоксацину (87%), тейкопланину (85%), доксициклину (83%), эритромицину (46%). Большинство штаммов (75 из 82) показали множественную лекарственную устойчивость. Один изолят был устойчив к ванкомицину и высокому уровню гентамицина.

На этом фоне поиск способов ограничения резервуара распространения *E. secorum* в птицеводстве вызывает повышенный интерес исследователей.

Интересно, что патогенные штаммы *E. secorum* обнаруживаются в кишечнике клинически здоровой птицы уже в 7-суточном возрасте. С возрастом количество данных микроорганизмов в кишечнике птицы постепенно увеличивается, а после 12-недельного возраста они становятся преобладающим видом энтерококковой микрофлоры. На предприятиях, где наблюдалась вспышка заболевания, *E. secorum* выделялся из селезенки, печени и других внутренних органов пораженной птицы. При этом было установлено, что изоляты *E. secorum* из зон воспаления обладают повышенной вирулентностью.

В связи с высокой частотой

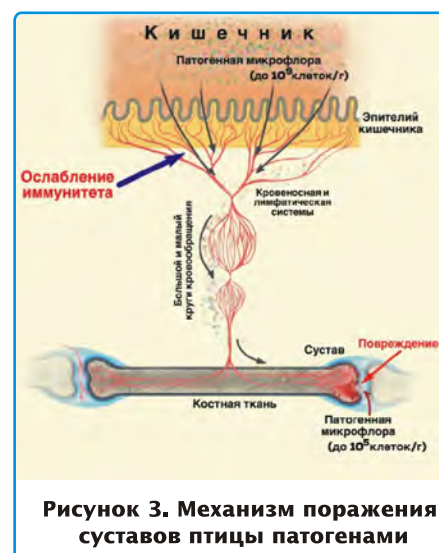


Рисунок 3. Механизм поражения суставов птицы патогенами

обнаружения *E. secorum* в кишечнике, одним из важнейших механизмов поражения организма птицы патогеном считают возможность его проникновения в кровоток при нарушении кишечного слизистого барьера, сопутствующего бактериальным энтеритам, клостридиозам, кокцидиозам и пр.

Известно, что у птиц в таких случаях наблюдается явление бактериальной транслокации (рис. 3), т.е. миграции патогенных микроорганизмов и их токсинов из просвета кишечника в лимфатическую систему, кровь, проникновение их в большой и малый круг кровообращения и последующее инфицирование различных систем и органов. Такое развитие событий, чаще всего, происходит при ослаблении иммунитета, в результате чего патогенные формы получают возможность нарушать эпителиальный барьер кишечника с помощью различных механизмов: деградации специфических





Рисунок 4. Фото молекулярно-генетической лаборатории компании «БИОТРОФ», справа - NGS-секвенатор (Illumina, США)

белков, разрушения клеточного цитоскелета и др.

Современные методы исследования. Необходимо отметить, что лабораторную идентификацию штаммов *E. secorum* провести достаточно сложно. Анализ пораженных областей классическими методами микробиологии затруднен вследствие контаминации образцов более быстро растущими по сравнению с видами бактерий, такими как *E. coli*, *Proteus sp.* Современные системы идентификации (такие как MALDI-TOF) также пока не в состоянии обеспечить идентификацию *E. secorum* до вида, поскольку используемые алгоритмы, обеспечивают идентификацию только до рода. Поэтому результат MALDI-TOF будет отражать идентифицируемый вид как *Enterococcus sp.* или *Streptococcus sp.*, или будет идентифицировать *E. secorum* как родственный энте-

рококк (например, *E. ulfureus*, *E. gallinarum* и др.).

Учитывая актуальность и неисследованность проблемы в России, специалисты компании «БИОТРОФ» впервые провели мониторинг присутствия *E. secorum* на птицеводческих предприятиях. Исследование проводилось на основе одного из наиболее современных молекулярно-генетических подходов - NGS-

секвенирования (next-generation sequencing), который позволяет выявлять 100% микроорганизмов и идентифицировать их до вида даже в микроколичествах (рис. 4).

Всего в молекулярно-генетической лаборатории компании «БИОТРОФ» в 2019 г. было проанализировано 134 образца содержимого кишечника птицы, в т.ч. от цыплят-бройлеров, кур-несушек, родительского поголовья. Полученные результаты (рис. 5) позволили выявить интересную закономерность. *E. secorum* обнаруживался у птицы уже в 2-суточном возрасте. При этом процент выявления в кишечнике *E. secorum* среди клинически здоровой птицы был существенным и составил для бройлеров 55%, несушек - 50%, родительского поголовья - 78%. Интересно отметить, что наиболее пораженным оказался кишечник у родительского поголовья. Процент встречаемости *E. secorum* у

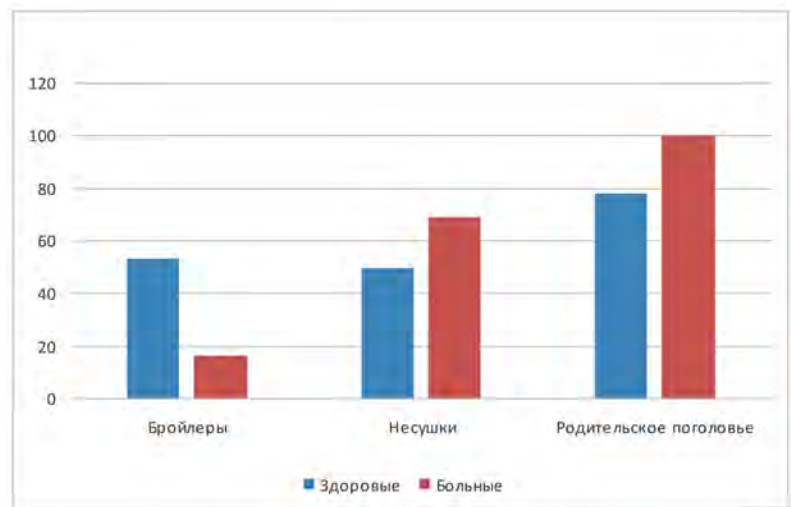


Рисунок 5. Частота встречаемости *E. secorum* в слепых отростках кишечника птицы (n=134), %

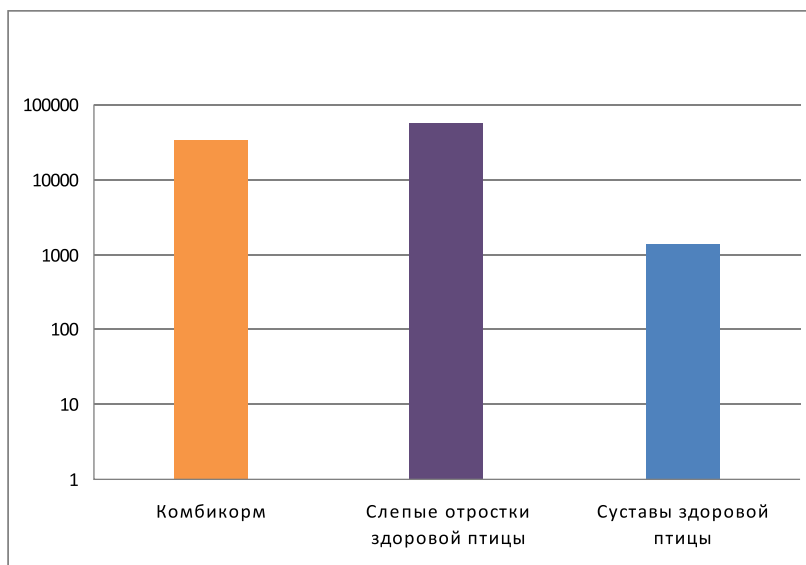


Рисунок 6. Количество *E. coli* в комбикорме, слепых отростках кишечника и суставах 27-суточных бройлеров, клеток/мл

птицы с заболеваниями различной этиологии оказался ожидаемо более высоким по сравнению с клинически здоровой птицей практически всех исследованных групп.

Для выявления причины распространения заболевания в условиях одного из предприятий был проанализирован полный технологический цикл выращивания бройлеров. Проведенные исследования продемонстрировали ряд проблем в микробиоме предприятия, главной из которых можно считать циркуляцию патогенных микроорганизмов. Присутствие *E. coli* зафиксировано в комбикорме, а также в кишечнике и суставах даже клинически здоровых птиц в высоких концентрациях (рис. 6). Таким образом, данные продемонстрировали, что в качестве источника патогенных энте-

рококков в организме птицы могла послужить микробиота комбикорма. Распространение *E. coli* в организме птицы могло быть связано с ослаблением иммунитета, при котором патогенные формы получают возможность нарушать эпителиальный барьер кишечника с помощью различных механизмов, мигрируя из просвета кишечника в лимфатическую систему, кровь, с последующим инфицированием различных систем и органов, в т.ч. и суставов.

Возможности биоконтроля.

Одним из перспективных способов снижения распространения *E. coli* в птицеводстве является нормализация микробиома пищеварительного тракта птицы при помощи пробиотиков, обладающих высокой антимикробной активностью в отношении патогенов. В связи с этим в условиях

одной из птицефабрик был проведен эксперимент на птице родительского поголовья по оценке эффективности кормовых добавок в отношении *E. coli*.

В молекулярно-генетической лаборатории ООО «БИОТРОФ» с применением современного метода NGS был проанализирован состав микрофлоры слепых отростков кишечника кур родительского стада, которым скармливали отечественный биопрепарат Профорт (производства компании «БИОТРОФ»), пробиотик зарубежного производства на основе смеси бактерий, а также кур, не получавших добавки. Зарубежный пробиотик применялся на курах одной из групп однократно, на курах из другой группы - двукратно.

Как видно из рис. 7, по данным NGS, наибольшая доля патогенной бактерии *E. coli* была обнаружена в кишечнике птиц, забитых в 106-суточном возрасте и дважды получавших зарубежный препарат, и составляла 1,62%. В составе микробиома кишечника птиц группы с введением Профорта опасных патогенов обнаружено не было.

Стоит также отметить, что суммарная доля патогенных видов в кишечнике птиц всех исследованных возрастов была наибольшей на фоне скармливания зарубежного препарата на основе смеси бактерий. Так, суммарное содер-



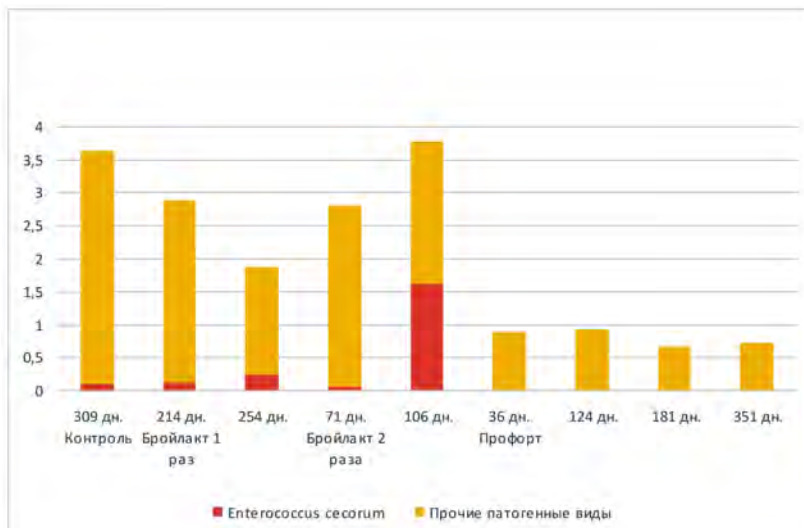


Рисунок 7. Содержание *E. cecorum* в слепых отростках кишечника птиц родительского стада на фоне применения различных кормовых добавок, %

жание патогенов в составе микрофлоры кишечника птиц, которым вводили в рацион зарубежный пробиотик, достигало 3,78%. На фоне применения Профорта содержание патогенных бактерий в кишечнике кур было менее 1%, что демонстрирует его позитивное влияние на состав кишечного микробиома.

Кроме того, на фоне применения зарубежного препарата, а также отсутствия добавок наблюдалось значительное видовое разнообразие патогенных форм, что свидетельствует о дисбиотических нарушениях в составе микрофлоры.

Обращает на себя особое вни-

мание выявление у кур на фоне применения зарубежного препарата, а также у птиц контрольной группы ряда опасных видов, способных вызывать серьезные заболевания эпизоотического характера, описание которых представлено в табл. 1.

Таким образом, как показали результаты молекулярно-биологических исследований, пробиотик Профорт позволил полностью вытеснить *E. cecorum* из микробиома, а также существенно снизить количество других нежелательных микроорганизмов в кишечнике. Соответственно, проблема распространения *E. cecorum* у

сельскохозяйственной птицы может решаться коррекцией микробиома пищеварительной системы с помощью эффективных кормовых добавок на основе штаммов пробиотических бактерий, нормализующих состав микрофлоры кишечника. Огромный выбор кормовых добавок отечественного и зарубежного производства, влияющих на микрофлору кишечника птиц, ставит перед специалистом птицефабрик проблему рационального выбора наиболее эффективных кормовых добавок. Данную проблему можно решить только с помощью максимально точных и информативных молекулярно-биологических методов анализа.

Литература

1. Arduino R.C., Murray B.E., Rakita R.M. Roles of antibodies and complement in phagocytic killing of enterococci // Infect. Immun. - 1994. - V. 62. - P. 987-993.
2. Dolka B., Chrobak-Chmiel D., Czopowicz M., Szeleszczuk P. Characterization of pathogenic *Enterococcus cecorum* from different poultry groups: Broiler chickens, layers, turkeys, and waterfowl // PloS One. - 2017. - V. 12, No 9. - P. e0185199.
3. De Herdt P., Derfoort P., Van Steelant J., Swam H., Tanghe L., Van Goethem S., Vanrobaeys M. *Enterococcus cecorum* osteomyelitis and arthritis in broiler chickens // Vlaams Diergeneeskundig

Таблица 1. Некоторые патогенные виды в составе микрофлоры кишечника кур контрольной группы и группы с применением зарубежного препарата

№	Наименование патогена	Роль
	<i>Campylobacter coli</i>	возбудитель энтерита
	<i>Helicobacter pullorum</i>	возбудитель воспалительных заболеваний желудочно-кишечного тракта
	<i>Mycoplasma edwardii</i>	возбудитель воспалительных заболеваний
	<i>Pasteurella pneumotropica</i>	возбудитель энтерита

Tijdschrift. - 2009. - V. 78. - P. 44-48.

E-mail: tiurina@biotrof.ru

Йылдырым Елена Александровна

Для контакта с авторами:

Ильина Лариса Александровна

E-mail: deniz@biotrof.ru

Горфункель Елена Павловна

E-mail: ilina@biotrof.ru

Филиппова Валентина Анатольевна

E-mail: alenkafev@mail.ru

Дубровин Андрей Валерьевич

E-mail: filippova@biotrof.ru

Тюрина Дарья Георгиевна

E-mail: dubrovin@biotrof.ru

Enterococcus cecorum: A New Hazard in Commercial Poultry Production

Corfunkel E.P., Tiurina D.G., Ilyina L.A., Dubrovin A.V., Yildyrym E.A., Filippova V.A.

BIOTROF, Ltd. (Saint-Petersburg)

Summary: The problems in the commercial poultry production related to the infection with pathogenic strains of *Enterococcus cecorum* are reviewed. The course of the pathological process with the affection of the locomotive system is described; the parental flocks of chicken and broilers are the most susceptible. The infection is characterized by prompt spreading within the flocks (e.g. via infected feeds) and resistibility to many antibacterial drugs. The studies performed by BIOTROF using modern New-Generation Sequencing (NGS) technique revealed the presence of *E. cecorum* in the intestine even in the healthy birds since 2 days of age. The most effective method for the control of *E. cecorum* in poultry is the use of probiotic microorganisms; however, since the mode of action of probiotics is related to the competitive replacement of the pathogen not all probiotic preparations presenting in the market would be effective in this case and the choice of the effective probiotic strains requires maximally accurate and conclusive molecular genetic methods of analysis of intestinal microbiota in poultry.

Key words: *Enterococcus cecorum*, broiler chicks, parental flock, diseases of locomotive system, probiotics, molecular genetic methods of analysis.

График проведения курсов повышения квалификации специалистов птицеводческих организаций в ФНЦ «ВНИТИП» РАН в 2020 г.

ТЕМА СЕМИНАРА	ДАТА ПРОВЕДЕНИЯ
Инновации в племенной работе и воспроизводстве сельскохозяйственной птицы (для руководителей птицеводческих предприятий, зоотехников-селекционеров, ветврачей, бонитеров, начальников цехов ремонтного молодняка и родительских стад, специалистов по искусственному осеменению, преподавателей и аспирантов ВУЗов)	2 - 6 марта 7 - 11 декабря
Актуальные проблемы и пути их решения в современной практике инкубации яиц сельскохозяйственной птицы (для зоотехников, ветврачей, заведующих и механиков цехов инкубации)	17 - 21 февраля 23 - 27 ноября
Инновационные ресурсосберегающие технологии производства яиц и мяса птицы (для руководителей, технологов, зоотехников, ветврачей, инженеров, начальников цехов и бригадиров птицеводческих предприятий и преподавателей ВУЗов)	16 - 20 марта 19 - 23 октября
Современные технологии в кормопроизводстве, кормлении высокопродуктивных кроссов птицы, контроль безопасности и качества комбикормов, премиксов, биологически активных добавок (для технологов птицеводств и комбикормовых предприятий, ветврачей, заведующих зоо- и ветлабораториями, зоотехников по кормам, преподавателей ВУЗов)	13 - 17 апреля 21 - 25 сентября
Комплексные решения повышения доходности птицеводческих предприятий, как вектор развития потенциала отрасли (для руководителей предприятий, руководителей финансово-экономических	14 - 18 сентября

Курсы повышения квалификации специалистов птицеводческих организаций будут проводиться совместно со специалистами Росптицесоюза.

По окончании курсов выдается удостоверение о повышении квалификации государственного образца.

Во время проведения курсов повышения квалификации продается новая научная литература по птицеводству.

Дополнительную информацию можно получить на нашем сайте: www.vnitip.ru

Телефоны для справок:
(8-496) 551-71-51;
Факс: (8-496) 551-21-38;
(8-496) 549-95-75