



# Charakterisierung

## Schweizer *Enterococcus cecorum* Isolate

**BLV/ WPSA Tagung**

**5. März 2026**

**Dr. Nina Wolfrum**

Nationales Referenzzentrum für Geflügel- und Kaninchenkrankheiten (NRGK)

Winterthurerstrasse 270, 8057 Zürich

Tel: 044 635 86 31 / [www.ivb.uzh.ch](http://www.ivb.uzh.ch)

E-Mail: [nina.wolfrum@vetbakt.uzh.ch](mailto:nina.wolfrum@vetbakt.uzh.ch)



## Marc Stevens (ILS)

- WGS analysis

## Angelika Lehner (ILS)

- Identifizierung von *E. cecorum* Isolaten
- Klonierung von *E. cecorum* Mutanten

## Sarah Albini und NRGK Team

- *E. cecorum* Sammlung
- allgemeine Unterstützung
- Bereitstellung von Geflügel Darmproben (aus der Sektion)

## Bell Food Group (Kathrin Kühni, Rolf Schärli) Animalco

- Bereitstellung von Bruteiern

## Udo Hetzel & ZMB

- Mikroskopie

## BLV

- Finanzielle Unterstützung

## *Enterococcus cecorum*

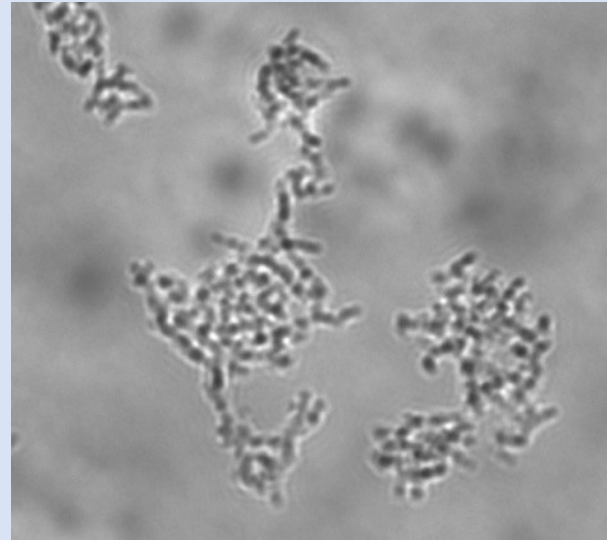
- Kokkoide (rundliche) Bakterien
- gram-positiv, fakultativ anaerob
- Isoliert aus dem Darm diverser Tiere (u.a. Hühner, Enten, Kälber, Pferde, Schweine, Katzen, Hunde)
- Bisher nur wenige Fälle in Menschen beschrieben

### **Kommensale Stämme**

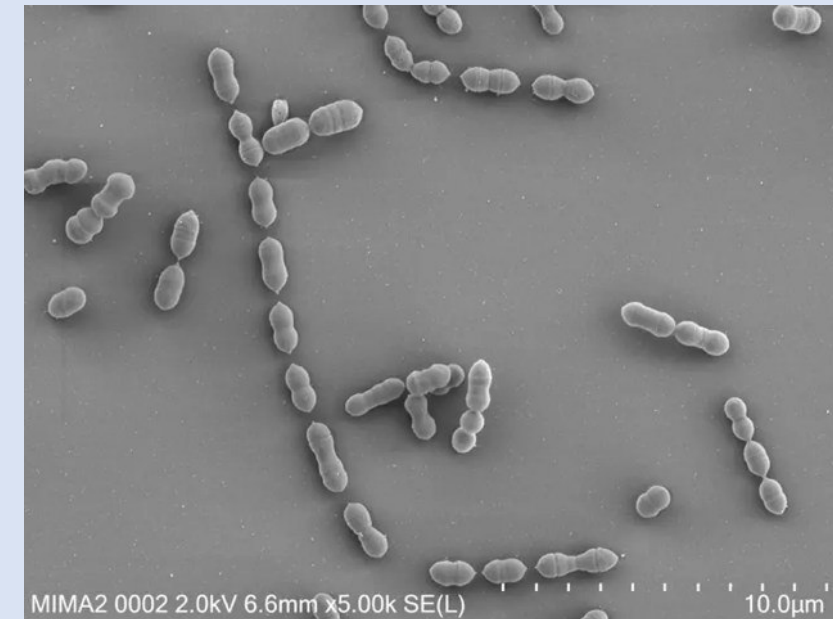
- Im Darm von Hühnern
- verursachen KEINE Erkrankungen

### **Pathogene Stämme**

- Seit etwas 20 Jahren
- können zu Erkrankungen in Masthühnern führen



Lichtmikroskopie, 40x @INRAE



Elektronenmikroskopie, @INRAE

## Krankheitsverlauf und klinisches Bild

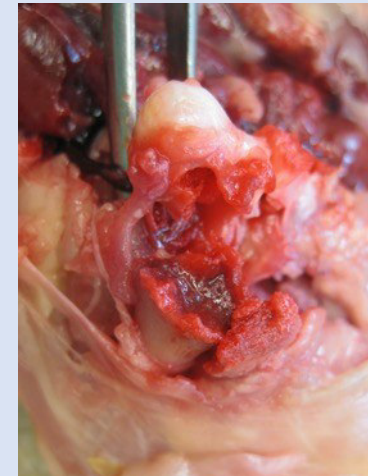
- Septische Phase
- oft ohne klinische Anzeichen (subklinisch)
- Leichter bis mässiger Anstieg der Mortalität um Woche 2–3
- Makroskopische Läsionen, einschliesslich fibrinöser Perikarditis
- Skelettinfektion (Enterokokken-Spondylitis, ES)
- Lahmheit aufgrund von Wirbelsäulenläsionen oder Osteomyelitis des proximalen Femurs oder der freien Brustwirbel
- Die Mortalität erreicht ihren Höhepunkt in Woche 5–6



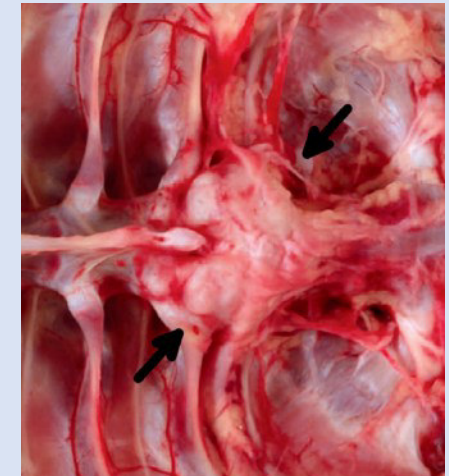
NRGK



Albini et al., 2014




Albini et al., 2014




Jung et al., 2018


## Gründe die zum Krankheitsausbruch führen

Bakterien 

- Pathogenitäts-/  
Virulenzfaktoren

Wirt 

- Schnelles Wachstum
- Darmanatomie
- Immunsystem

Umwelt 

- Futterzusammensetzung
- Haltungsbedingungen
- Tierdichte

**Die Entstehung einer *E. cecorum*-assoziierten Erkrankung ist multifaktoriell!**



## Was ist bekannt?

### Kommensale Stämme

- Besiedelung des Darms ab ca. 3. Woche
- genetisch divers

### Pathogene Stämme

- Besiedelung des Darms bereits ab ca. 1. Woche
- genetisch ähnlicher
- etwas geringere Genomgrösse
- vermehrt Resistenzen gegenüber Antibiotika
- Translokation vom Darm in den Körper vorwiegend im Caecum
- Vermutete Pathogenitätsdeterminanten: **cps-**, epa-, ebp-locus

## Wie kann *E. cecorum* untersucht werden?

### Genetisch

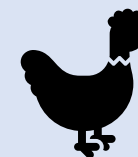
*In silico*  
Sequenzierung



### Infektionsverlauf im natürlichen Wirt

*In vivo*

- Ethische Bedenken
- Eine begrenzte Anzahl an Stämmen kann untersucht werden



Embryo-Letalitäts-Assay

- Ethische Bedenken
- Nicht absolut zuverlässig
- Eine begrenzte Anzahl an Stämmen kann untersucht werden



### Infektionsmechanismen

*Ex vivo* Zellkulturmodell

- Ethische Bedenken

*In vitro* Zellkulturmodell

- existiert (noch) nicht



### Erweiterung der *E. cecorum* Stammsammlung

- Pathogene Stämme
- Kommensale Stämme aus Mastpoulet und Legehennen

### Gesamtgenomsequenzierung der *E. cecorum*-Sammlung

- Vergleich mit anderen Stämmen
- Suche nach genetischen Unterschieden zwischen pathogenen und kommensalen Stämmen

### Herstellung von *E. cecorum* Mutanten

- GFP-exprimierendes *E. cecorum*
- Knockout-/Komplementationsmutanten

## Aktuelles *E. cecorum* Projekt am NRGK

### Mechanismus der Translokation durch das Darmepithel

- Inter- oder intrazellulär?
- Biofilmbildung?
- Epithel-Integrität?

### Angeborene Immunantwort

- Messung verschiedener Chemokine nach Infektion mit pathogenen und kommensalen *E. cecorum*-Isolaten

### Etablierung eines *ex vivo* Zellkulturmodells zur Untersuchung der Translokation durch das Darmepithel

Verwendung von embryonalem Darmgewebe verschiedener Hybriden:

- Legehennen (LSL)
- Langsam wachsende Masthähnchen (Hubbard)
- Herkömmliche Masthähnchen (Ross 308)

### Erweiterung der *E. cecorum* Stammsammlung

- Pathogene Stämme
- Kommensale Stämme aus Mastpoulet und Legehennen

### Gesamtgenomsequenzierung der *E. cecorum*-Sammlung

- Vergleich mit anderen Stämmen
- Suche nach genetischen Unterschieden zwischen pathogenen und kommensalen Stämmen

### Herstellung von *E. cecorum* Mutanten

- GFP-exprimierendes *E. cecorum*
- Knockout-/Komplementationsmutanten

## Aktuelles *E. cecorum* Projekt am NRGK

### Mechanismus der Translokation durch das Darmepithel

- Inter- oder intrazellulär?
- Biofilmbildung?
- Epithel-Integrität?

### Angeborene Immunantwort

- Messung verschiedener Chemokine nach Infektion mit pathogenen und kommensalen *E. cecorum*-Isolaten

### Etablierung eines *ex vivo* Zellkulturmodells zur Untersuchung der Translokation durch das Darmepithel

Verwendung von embryonalem Darmgewebe verschiedener Hybriden:

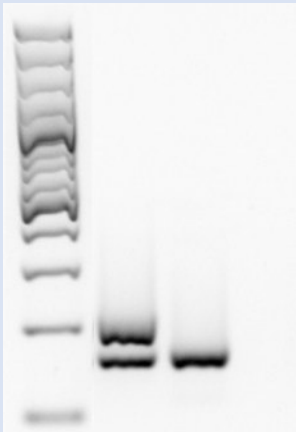
- Legehennen (LSL)
- Langsam wachsende Masthähnchen (Hubbard)
- Herkömmliche Masthähnchen (Ross 308)



# *E. cecorum* Stammsammlung

## *E. cecorum* Kultivierung

- Ausstrich auf CNA (Columbia Nalidixinsäure Agar)-Platten  
→ enthält Antibiotika (Nalidixinsäure und Colistin), die gramnegative Organismen hemmen
- Einzelkolonie-Ausstrich auf Schafblutagar
- Identifikation über **sodA/ cpsO PCR** oder MALDI-TOF



sodA: 155 bp *E. cecorum* ID  
cpsO: 195 bp patho *E. cecorum*



## Pathogene Stämme

Nr.1	Int. Nr.	Jahr	Huhn	Alter	Organ	K
01	CH-V047.05-19	2019	M	21 d	ST	FR
02	CH-V048.02-19	2019	M	30 d	Herz	BE
03	CH-V055.01-19	2019	M	13 d	Herz	FR
04	CH-V061.02-19	2019	M	16 d	KM	FR
05	CH-V077.01-19	2019	M	38 d	ST	VD
06	CH-T212.01-19	2019	M	17 d	KM	ZH
07	CH-V108.02-19	2019	M	18 d	KM	VD
08	CH-T363.06-19	2019	M	20 d	KM	BE
09	CH-V152.01-19	2019	M	19 d	KM	FR
10	CH-T521.01-19	2019	M	23 d	KM	BE
11	CH-V212.01-19	2019	M	21 d	KM	FR
12	CH-V213.01-19	2019	M	21 d	KM	FR
13	CH-V218.01-19	2019	M	14 d	KM	VD
14	CH-V219.01-19	2019	M	14 d	KM	FR
15	CH-T214.01-20	2020	M	25 d	KM	AG
16	CH-T036.01-21	2021	M	29 d	KM	SG
17	CH-T076.05-22	2022	M	20 d	KM	BE

Nr.	Int. Nr.	Jahr	Huhn	Alter	Organ	K
18	CH-T099.07-22	2022	ME	22 d	KM	VS
19	CH.T221.14-22	2022	ME	21 d	Leber	VS
20	CH-T242.01-22	2022	M	27 d	KM	LU
21	CH-T377.03-22	2022	M	18 d	KM	FR
22	CH-T148.05-23	2023	M	14 d	KM	LU
23	CH-T246.02-23	2023	M	32 d	KM	AG
24	CH-T291.03-23c	2023	M	24 d	C	AG
25	CH-T291.03-23	2023	M	24 d	IL	AG
26	CH-T072.4BM-25	2025	M	21 d	KM	ZH
27	CH-T072.4HB-25	2025	M	21 d	Herz	ZH
28	CH-T072.4L-25	2025	M	21 d	Leber	ZH
29	CH-T072.4J-25	2025	M	21 d	JE	ZH
30	CH-T072.4I-25	2025	M	21 d	IL	ZH
31	CH-T073.02BM-25	2025	M	21 d	KM	ZH
32	CH-T073.02J-25	2025	M	21 d	JE	ZH
33	CH-T073.02L-25	2025	M	21 d	Leber	ZH

L: Legehennen  
M: Mastpoulet  
ME: Mastelterntier

IL: Ileum  
JE: Jejunum  
KM: Knochenmark  
ST: Sehmentupfer

K: Kanton



## Kommensale Stämme

No.	Int. No.	Year	Chicken	Alter	Organ	K
01	CH-V020.06-19	2019	ME	35 T	KM	VS
02	CH-T522.01-22	2022	Trute	6 M	Lunge	AG
03	CH-T063.01-23	2023	M	18 T	KM	BE
04	CH-T234.01-23	2023	M	32 T	JE	JU
05	CH-T524.03-23	2023	L	52 W	C	BL
06	CH-T066.05-24	2024	M	23 T	C	LU
07	CH-T084.01-24	2024	L	42 W	C	BE
08	CH-T085.03-24	2024	L	27 W	JE	BL
09	CH-T115.02-24	2024	L	42 W	IL	BE
10	CH-T131.03-24	2024	L	68 W	JE	AI
11	CH-T143.02-24	2024	L	52 W	JE	BE
12	CH-T191.02-24	2024	L	21 W	JE	NE
13	CH-T006.03-25	2025	L	37 W	Herz	ZU

L: Legehennen  
M: Mastpoulet  
ME: Mastelertier

C: Caecum  
IL: Ileum  
JE: Jejunum  
KM: Knochenmark  
ST: Sehmentupfer

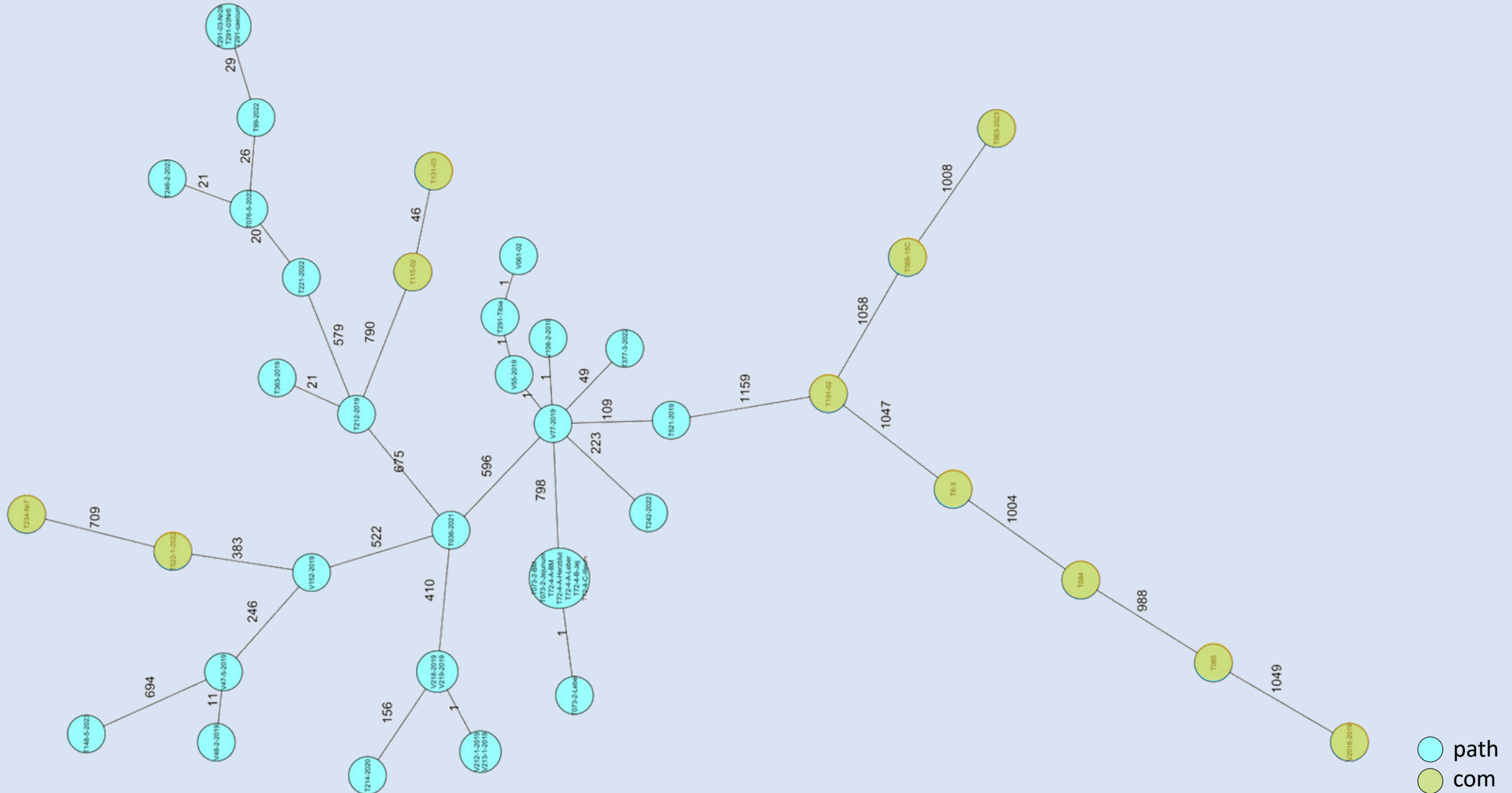
K: Kanton



# Gesamt-Genom-Sequenzierung (whole genome sequencing, WGS)

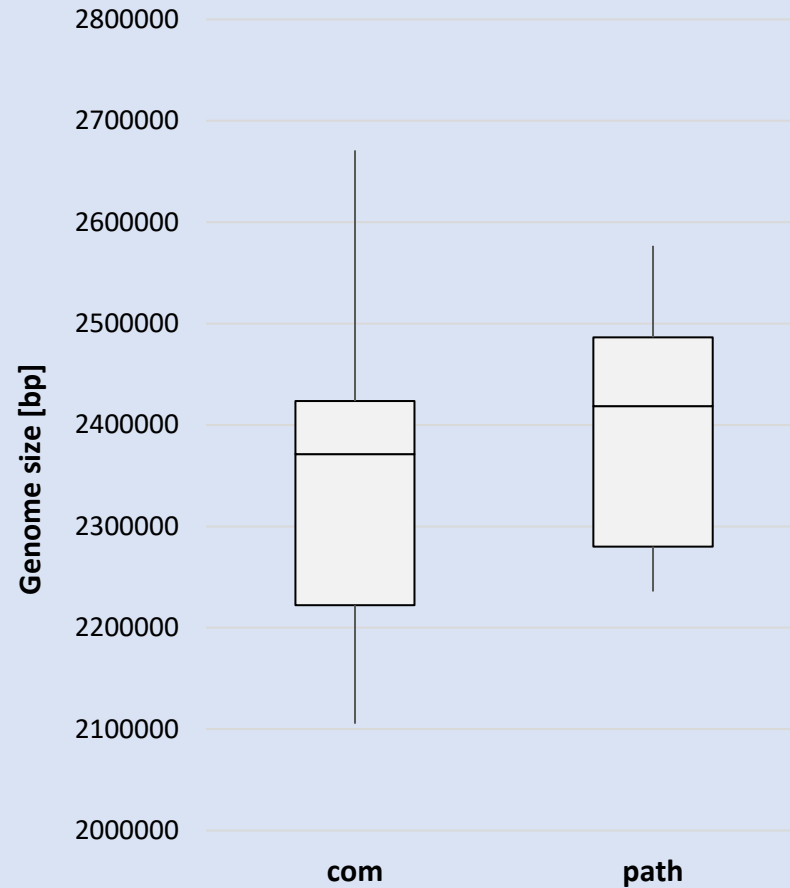


# Kerngenomanalyse





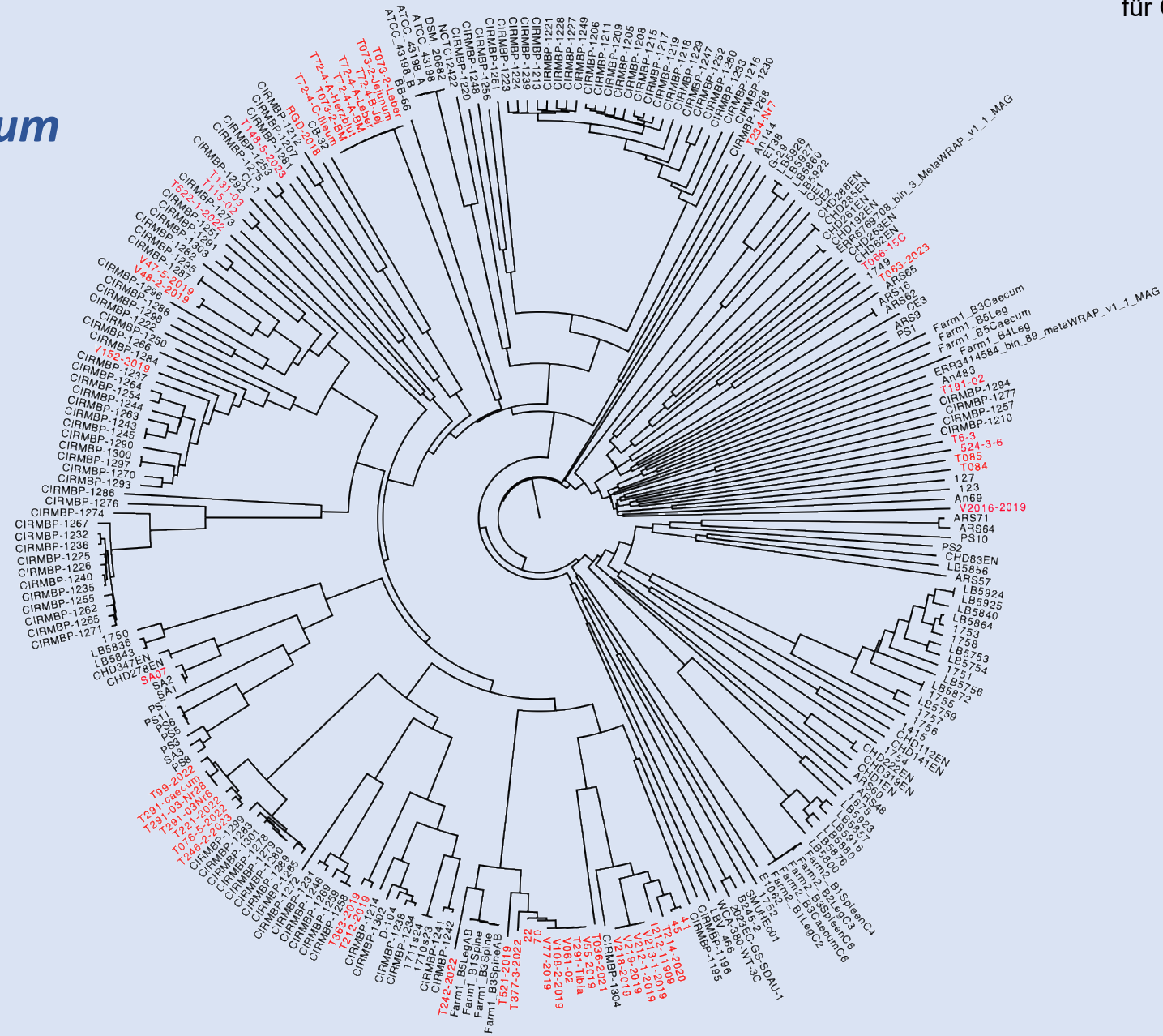
## Genomgröße



● path  
● com



# Vergleich mit *E. cecorum* Stämmen weltweit







## Virulenz-/ Pathogenitätsfaktoren

### Bestätigung von *cpsO*

- Das Muster *cpsO*+/- passt mit dem klinischen Bild und bestätigt bisherige Studien

### Epa und Ebp locus

- Auch in diesen beiden loci bestätigen unsere Analysen bisherige Hinweise

### Weiteres Gen aus dem Cps locus

- *cps4J/L* identifiziert in 33/33 pathogenen und in 0/13 kommensalen Stämmen
- beschrieben in *Streptococcus pneumoniae*, Biosynthese von Kapselpolysacchariden

## Stoffwechsel

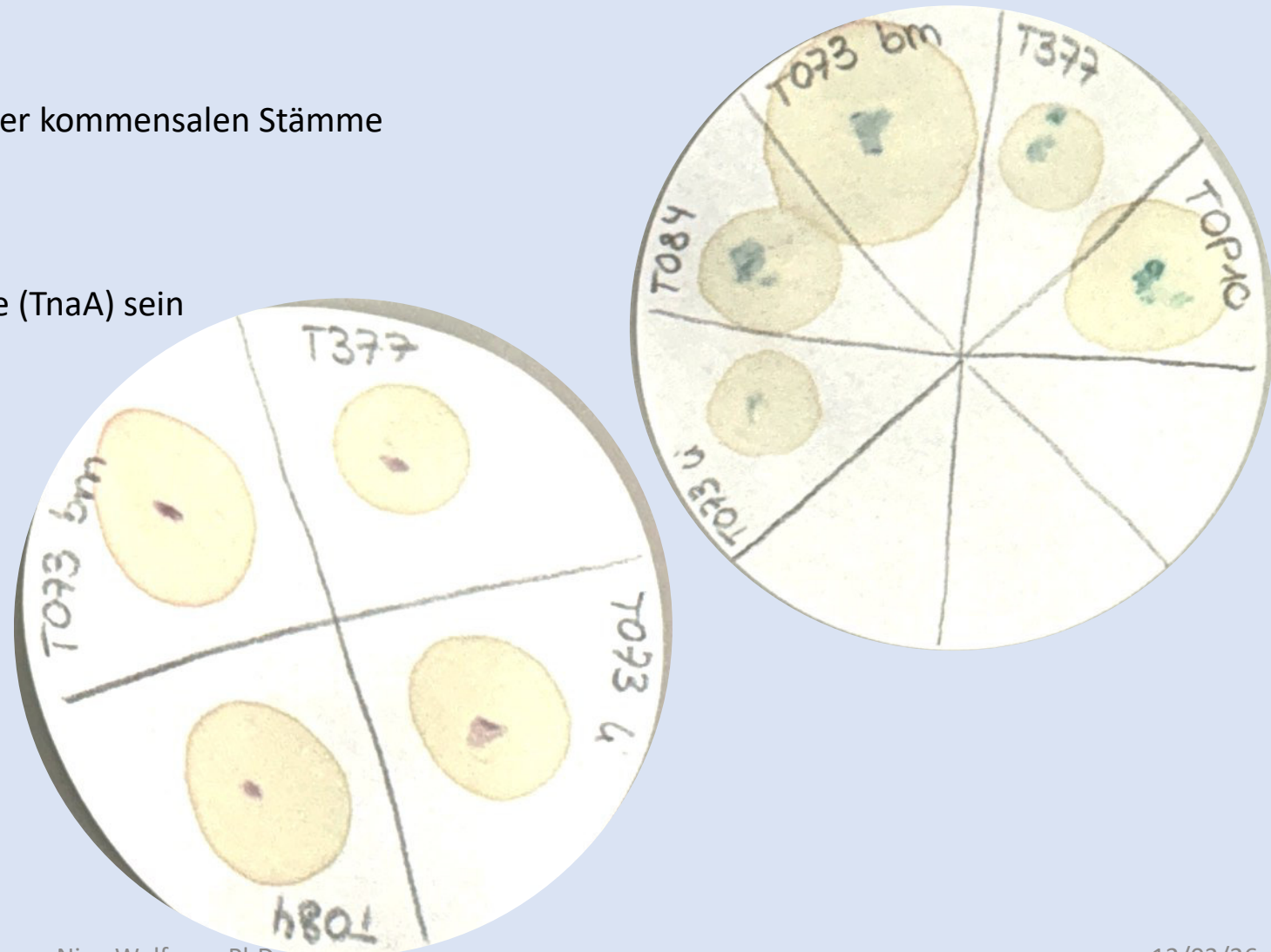
### Tryptophan Biosynthese

- 100 % der pathogenen Stämme aber lediglich 46 % der kommensalen Stämme
- Labortests ausstehend

### Tryptophan Metabolismus

- 100% aller Stämme sollten negativ für Tryptophanase (TnaA) sein
- Indol Test

→ Wenn *E. cecorum* (*TnaA*-) auf der gleichen Platte wie *E. coli* (*TnaA*+) wächst, entsteht Indol!





# Stoffwechsel

## Tryptophan Biosynthese

- 100 % der pathogenen Stämme aber lediglich 46 % der kommensalen Stämme
- Labortests ausstehend

## Tryptophan Metabolismus

- 100% aller Stämme sollten negativ für Tryptophanase (TnaA) sein
- Indol Test

→ **Wenn *E. cecorum* (*TnaA*-) auf der gleichen Platte wie *E. coli* (*TnaA*+) wächst, entsteht Indol!**

→ WARUM?

- Keine DNA kodierend für TnaA nachweisbar!

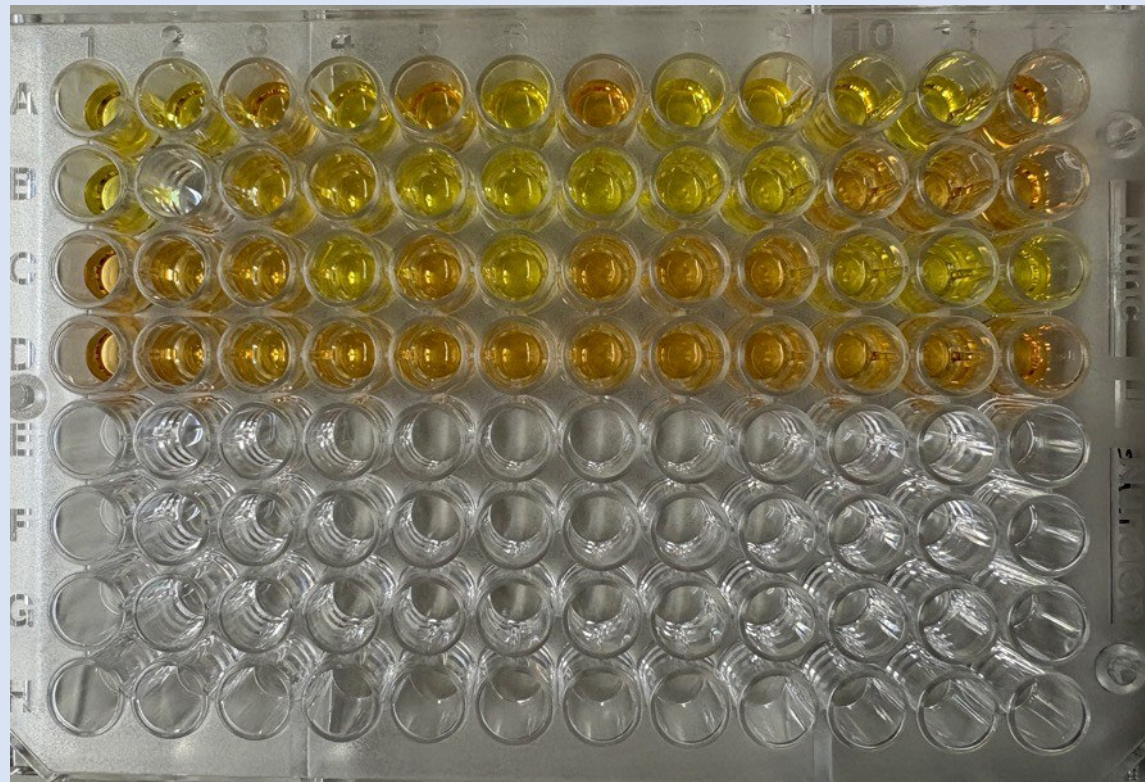
→ Gibt es einen Protein-Transfer durch den Agar?

- Laufende Experimente

# Stoffwechsel

## Lactose

- 67 % der pathogenen Stämme und 92 % der kommensalen Stämme können Laktose als Energiequelle nutzen
- bestätigt durch Tests





## Zusammenfassung

### Stammsammlung

- 33 pathogene Stämme
- 13 kommensale Stämme

### Genomsequenzierung

- Vollständige Sequenzierung von 46 *E. cecorum* Stämmen
- Kommensale und pathogene Stämme bilden Cluster
- Es scheint einige Schweizer Abstammungslinien zu geben
- Bestätigung bereits beschriebener Virulenz-/Pathogenitätsfaktoren
- Entdeckung eines noch nicht beschriebenen Gens als potentieller Pathogenitätsfaktor
- Keine klare Unterscheidung zwischen pathogenen und kommensalen Stämmen aufgrund von Unterschieden im Stoffwechsel

## Zusammenfassung

### Stammsammlung

- 33 pathogene Stämme
- 13 kommensale Stämme

*E. cecorum* ist speziell

- Bestätigung bereits beschriebener virulenzfaktoren
- Entdeckung eines noch nicht beschriebenen Gens als potentieller Virulenzfaktor
  - Keine klare Unterscheidung zwischen pathogenen und kommensalen Stämmen aufgrund von Unterschieden im Stoffwechsel



# Fragen???

