

MORTE SÚBITA DE CAPRINOS POR ENTEROTOXEMIA*

SUDDEN DEATH OF GOATS DUE TO ENTEROTOXAEMIA

Lucia BALDASSI¹; Ercília Maria Borgueresi CALIL¹; Manuel Alberto Silva Castro PORTUGAL¹;
Aurélia Archanja Procacci MOULIN¹; Maria Aparecida Fernandes MOURÃO²

RESUMO

Descreve-se a ocorrência de morte súbita observada em uma criação de caprinos. A maioria das mortes ocorreu sem qualquer manifestação sintomática prévia; entretanto, em alguns casos observou-se incoordenação motora, eliminação de cíbalas envoltas em fragmentos de mucosa intestinal e diarreia. Nos momentos que antecediam à morte, alguns animais emitiam fortes berros. O isolamento de um bacilo anaeróbico, Gram-positivo e bioquimicamente identificado como *Clostridium perfringens*, foi possível a partir de amostras de materiais coletadas em diferentes porções dos intestinos, retículo e também da ração. Nos filtrados obtidos dos conteúdos dos órgãos citados, evidenciou-se a presença, em alta dosagem, de uma toxina termolábil e letal para camundongos. À necrópsia, observaram-se compartimentos gástricos plenos de alimento e hemorragias na mucosa intestinal. Estas constatações, associadas aos resultados laboratoriais, possibilitaram concluir tratar-se de um quadro de enterotoxemia.

UNITERMOS: Enterotoxemia; *Clostridium perfringens*; Caprinos

INTRODUÇÃO

As enterotoxemias, na maioria das vezes, são ocorrências de características agudas, não contagiosas, observadas em diversas espécies animais, acometendo principalmente os ruminantes. São também conhecidas como doença da superalimentação e ocorrem mais freqüentemente em ovinos, caprinos e bovinos jovens, embora possam atingir adultos, desde que condições predisponentes se estabeleçam^{1,2,3,5,10,12,16}.

O agente etiológico desta doença, *Clostridium perfringens*, parece ser o de mais ampla distribuição na natureza, sendo considerado habitante normal do solo e do intestino do homem e animais^{12,13,16}.

Como é habitual a todos os *Clostridia*, este agente é ubiqüitário e tem a propriedade de poder permanecer por longo período de tempo no solo e, ao ser ingerido, se encontrar condições favoráveis, prolifera rapidamente na luz intestinal produzindo grande quantidade de suas toxinas^{2,5,10,11}.

Assim, no curso normal do repasto alimentar, o *Clostridium perfringens* é ingerido com o alimento. Entretanto, grande quantidade do agente é destruída no rúmen e no abomaso, durante a seqüência da digestão, porém, muitos sobrevivem superando as barreiras naturais e atingindo o duodeno onde a sua multiplicação se processa e a toxina é então produzida^{3,4}.

Normalmente o fenômeno da toxemia não se estabelece porque o trânsito intestinal contribui para que os níveis de toxina no intestino permaneçam bastante baixos. Porém, quando um fator qualquer determinar uma diminuição do peristaltismo, propiciará um acúmulo da toxina, possibilitando, dessa forma, o estabelecimento da doença.

As espécies do gênero *Clostridium* são capazes de produzir várias toxinas, que têm sido, desde a observação de WILSDON²¹ (1931), empregadas na sua classificação. Considera-se que possam produzir até 12 antígenos solúveis, e quatro deles, alfa, beta, épsilon e iota, denominados "maior" ou principais, definem seu tipo, além de serem responsáveis pelas alterações patológicas que ocorrem nos animais. Os demais antígenos, denominados "menor" ou secundários, não influem diretamente na determinação dos seus tipos, porém, apresentam importância nos estudos epidemiológicos^{6,17,20,21}. Até o momento, são seis os tipos descritos, A, B, C, D, E e F, sendo o tipo D aquele associado à enterotoxemia dos caprinos^{7,9,14,15,21}, o qual produz, das toxinas principais, as dos tipos alfa, que é hemolítica, dermonecrótica e letal, e épsilon, que apresenta apenas as duas últimas características^{22,23}. Esta última toxina, tem a propriedade de aumentar a permeabilidade da mucosa intestinal, permitindo que ela mesma, assim como outras toxinas,

1 - Pesquisador Científico - Instituto Biológico - São Paulo, SP

2 - Médico Veterinário - Associação Brasileira de Caprinocultura, São Paulo, SP

*Trabalho apresentado na 7ª Semana de Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP, São Paulo-SP, 1990

seja absorvida, determinando, inicialmente, diarreia mucóide e hiperestesia do sistema nervoso central que poderá, em alguns casos, ser seguida de estado de depressão^{7,9,22}.

Quantidades letais dessas toxinas são absorvidas, em especial a toxina épsilon, que é ativada pela presença de enzimas digestivas que a transformam de protoxina (inativa) em toxina, a qual passa a desenvolver todo seu potencial tóxico^{4,11,22,23}.

Experimentalmente, NILO et al.¹¹ (1963) reproduziram a doença em bovinos, criando condições adequadas ao estabelecimento do agente e desenvolvimento de suas potencialidades patogênicas, fato também confirmado por outros autores^{14,16}.

O presente registro objetiva primordialmente relatar a ocorrência de mortes súbitas em um rebanho caprino e alertar para o fato de tratar-se de enterotoxemia, cujas principais causas residiram em um manejo inadequado do plantel, notadamente no que se refere à alimentação e à excessiva permanência dos animais confinados no capril.

MATERIAL E MÉTODO

Em criação de caprinos da raça branco suíça, ocorreu, subitamente, a morte de 15 de um total de 60 animais existentes, atingindo preferencialmente as fêmeas adultas em período de franca produção láctea.

A anamnese revelou que a incidência maior de mortalidade recaía sobre as fêmeas em lactação, visto que as mesmas permaneciam por mais tempo no capril, para que recebessem, diariamente, uma suplementação alimentar mais rica em proteínas do que o restante do rebanho, visando repor as perdas habitualmente determinadas pela lactação.

Em alguns animais foi possível observar a ocorrência de diarreia. As fezes eram esverdeadas e, por vezes, com cíbalas, que se apresentavam envoltas por fragmentos da mucosa intestinal (Fig. 1).

Além da diarreia, ocorreu prostração, opistótono, movimentos incoordenados de pedalagem e, na fase final de vida, emissão de persistentes berros.

As necrópsias permitiram constatar a existência de alterações variadas como: hidropericárdio, sufusões hemorrágicas em diversos segmentos intestinais (Fig. 2), compartimentos gástricos em repleção e rins congestos e friáveis.

A existência de abundante tecido adiposo, notadamente em nível de mesentério, e envolvendo as vísceras abdominais, demonstrava tratar-se de animais em ótimo estado de nutrição.



FIGURA 1

Cíbalas envoltas por muco e fragmentos da mucosa intestinal.



FIGURA 2

Segmento de intestino exibindo áreas hemorrágicas.

PROCEDIMENTOS LABORATORIAIS

Fragments dos diversos órgãos, bem como amostras do conteúdo dos compartimentos gástricos e de porções intestinais, foram coletados e mantidos sob refrigeração para investigação bacteriológica visando caracterizar a presença de agentes do gênero *Clostridium*, bem como suas toxinas. Coletaram-se também amostras das rações oferecidas aos animais, para o mesmo tipo de análise.

Os conteúdos gástricos, intestinais e a ração foram então examinados, o que obedeceu à seguinte seqüência:

A 20 gramas de cada amostra foi adicionado tampão gelatina fosfatada (pH 7,2) até dobrar o volume inicial. As misturas foram então homogeneizadas e mantidas sob refrigeração a 4°C por 24 horas, após o que foram filtradas. Os filtrados foram centrifugados a 2.000 rpm. Aliquotas dos sedimentos obtidos foram semeadas em meio de Tarozzi, aquecido a 70°C por 10 minutos e incubado a 37°C por 48 horas em estufa bacteriológica. Dos tubos, apresentando turvação e produção de gás, foram realizados repiques para ágar sangue de carneiro, incubados pelo mesmo tempo e temperatura em jarra de McIntosh-Fildes (anaerobiose). Após 48 horas, as colônias que produziram dupla hemólise, foram repicadas para ágar gema de ovo, visando caracterizar a produção de lecitinase e lipase. As colônias produtoras de lecitinase foram então submetidas às provas bioquímicas de fermentação da lactose; produção de gelatinase; hidrólise da uréia e fermentação e acidificação de leite desnatado, efetuadas em meios pré-reduzidos⁸. As colônias que revelaram resultado destas provas compatíveis com aquelas características ao *Clostridium perfringens* foram submetidas à reação de Nagler com antígeno específico¹⁸.

Os sobrenadantes obtidos, sem tratamento e aquecidos a 100°C por 10 minutos, foram inoculados em camundongos brancos suíços pesando entre 18 e 25 gramas cada, por via intraperitoneal, visando a determinação da termolabilidade e toxicidade dessas amostras.

A inoculação obedeceu a uma seqüência de três camundongos para cada uma das diluições preparadas na base dois, incluindo-se um grupo controle (inoculado apenas com solução tampão).

RESULTADOS

Nas amostras dos conteúdos gástricos e intestinais foi possível o isolamento de um bacilo Gram-positivo nos seguintes segmentos: rúmen, retículo, duodeno, *ansa spiralis*, intestino grosso e ceco. Em duas das quatro amostras de ração foi constatada a presença do mesmo agente. As provas bacteriológicas realizadas ofereceram os seguintes resultados: crescimento em meio de Tarozzi com produção de gás; presença de dupla hemólise na cultura realizada em ágar sangue de carneiro (Fig. 3); prova de lecitinase positiva (Fig. 4); lipase negativa; gelatinase positiva; fermentação da lactose e de leite com intensa produção de gás. A prova de Nagler foi positiva.

Os resultados obtidos permitiram caracterizar o agente bacteriano como sendo *Clostridium perfringens*.

Os sobrenadantes obtidos a partir das amostras dos conteúdos gástricos e intestinais possibilitaram evidenciar a presença de uma toxina termolável e letal. Os camundongos inoculados com os filtrados aquecidos sobreviveram, e os demais iniciaram

os sinais clínicos entre 10 e 15 minutos decorridos da inoculação. As manifestações clínicas foram caracterizadas por incoordenação motora com marcha em círculo, seguida de ataxia, prostração e morte, o que ocorreu num período máximo de duas horas. Deve-se destacar que, para as diluições preparadas a partir das amostras recolhidas de porções do intestino grosso e do ceco, as mortes ocorreram até as diluições de 1:32 e 1:64, respectivamente.

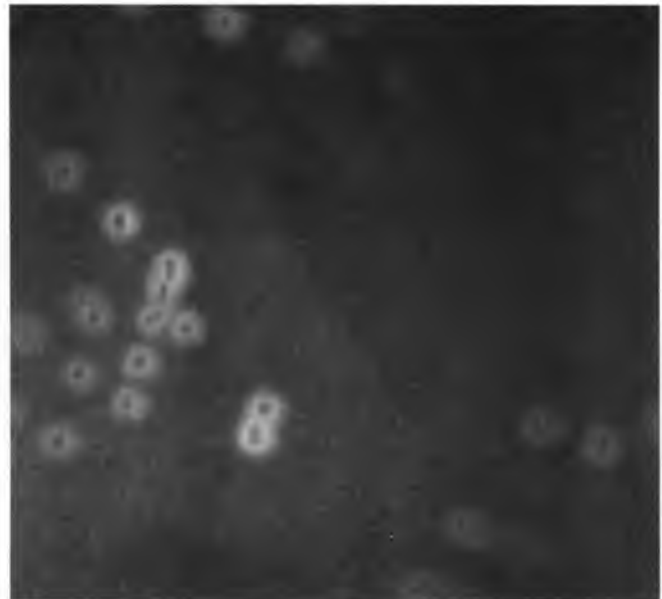


FIGURA 3

Colônia de *Clostridium perfringens* exibindo dupla hemólise.



FIGURA 4

Prova positiva para lecitinase.

Os exames parasitológicos das fezes dos caprinos envolvidos neste evento foram negativos para coccidiose e verminoses.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Na presente citação, a alteração do trânsito intestinal determinou o surgimento das condições de anaerobiose, favorecendo assim a multiplicação do *Clostridium perfringens* e o conseqüente aumento da produção de toxina que levou ao estabelecimento do quadro tóxico.

Duas medidas ressaltam como de grande importância para o controle da enterotoxemia:

- A vacinação, que deve ser realizada a partir da terceira semana de vida com uma dose de reforço após 20 a 30 dias e repetida consoante as indicações do fabricante.

- A rápida redução do volume alimentar oferecido aos animais, principalmente para aqueles criados em regime de confinamento.

Entretanto, como esta última providência traz consigo o retardo no crescimento dos jovens e uma queda no índice de produtividade dos adultos, os proprietários tendem a confiar unicamente na vacinação. Muitas vezes, porém, ela, por si só, não se mostra suficiente para controlar o problema.

Isolou-se o *Clostridium perfringens* em diferentes porções do trato digestivo, bem como caracterizou-se a presença de toxina termolábil letal para os animais de prova, em diferentes diluições, o que nos permite enquadrar este evento dentro das enterotoxemias.

Uma vez que a simples presença do *Clostridium perfringens* no intestino não é capaz de, por si só, determinar o surgimento da doença, há a necessidade de que outros fatores estejam presentes para agirem como causas predisponentes^{2,4,5,10,11,23}.

Dentre essas causas, há que se destacar as condições de criação em confinamento; os períodos de brotação luxuriante das pastagens; colheita precoce de cereais destinados à alimentação dos animais; fornecimento excessivo de grãos; bruscas mudanças do tipo de alimento; temperatura muito baixa da água de bebida, que retarda o processo digestivo; e altas infestações por parasitas intestinais¹⁹.

Após produzida, a toxina sofre absorção pela mucosa intestinal e atinge o sistema circulatório, visto que sua ação tem a propriedade de alterar a permeabilidade da membrana de diversos tipos de células, fato já demonstrado experimentalmente por vários pesquisadores^{5,9,22,23}.

O comportamento da toxina ao longo do trato intestinal é variado; assim, no ceco ela apresenta maior persistência do que no restante do intestino grosso. Este fato está relacionado com o pH local, que é mais apropriado para a conservação da característica letal da toxina^{2,4,5,23} o que explica o observado na presente ocorrência.

Pode haver confusão diagnóstica com casos de coccidiose ou de verminoses, sugerindo alguns autores que estas possam agir como causas predisponentes para o surgimento da enterotoxemia^{1,10,19}.

Uma súbita queda da produção láctea, inapetência e fluidificação repentina das fezes, notadamente em animais de bom estado nutricional, são sintomas suficientes para um diagnóstico presuntivo^{3,10,12,16}.

O quadro clínico dessa enfermidade pode variar e é determinado pela ação dos vários tipos de toxinas elaboradas pelos *Clostridia* e presentes na luz intestinal. Nos casos super-agudos ocorre morte súbita sem que qualquer sintoma possa ser notado. Nas ocorrências subagudas podem-se perceber anorexia, fenômenos disentéricos como eliminação de fragmentos da mucosa intestinal ou diarreia. Há manifestação de processo doloroso abdominal, emissão de forte berros, convulsões seguidas de paralisia e morte, como observado no caso em discussão. Nas formas crônicas, menos freqüentes, podem-se observar diarreias intermitentes, acentuado emagrecimento até um quadro de desidratação e conseqüente morte^{1,2,3,12,16}.

A morbidade dessa doença é variável, entretanto, em geral, não excede a 10% do plantel; porém, a sua letalidade, é elevada e, não raramente, atinge 100% dos animais envolvidos^{10,16}.

No presente caso, além da vacinação, recomendaram-se como medidas complementares:

1. diminuição do volume de alimento oferecido aos animais de cada vez, aumentando-se o número de vezes de fornecimento no decorrer do dia;
2. maior movimentação dos animais, reduzindo o número de horas de confinamento no capril;
3. introdução de uma vacina autóctone preparada a partir das amostras bacterianas isoladas.

As medidas lograram o controle do surto.

SUMMARY

An occurrence of sudden death in goats is presented. Most of the death were without symptoms but some animals exhibited diarrhoea, incoordination of movements and, before their death, spelted strong cries. The isolation of anaerobic Gram-positive rod, biochemically identified as *Clostridium perfringens* was possible in intestines, reticulum and food samples. Filtrates of these organs revealed a termolabile and high lethal toxin when inoculated into mice. Macroscopically it was seen hemorrhages in the intestines mucosa and stomachs filled up with food. Those aspects associated to the laboratory findings led to the diagnostic of enterotoxaemia.

UNITERMS: Enterotoxaemia; *Clostridium perfringens*; Goats

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1-BLOOD, D.C.; ANDERSON, J.A. **Medicina veterinária - doenças causadas por bactérias. II. Clostridium sp.** 4.ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1978.
- 2-BULLEN, J.J. Enterotoxaemia of sheep *Clostridium welchii* type D in alimentary tract of normal animals. **Journal of Pathology and Bacteriology**, v.64, p.201-6, 1952.
- 3-BULLEN, J.J.; BATTY, I. Enterotoxaemia in sheep. **Veterinary Record**, v.69, n.49, p.1268-73, 1957.
- 4-BULLEN, J.J.; BATTY, I. Experimental enterotoxaemia of sheep: the effect on the permeability of the intestine and the stimulation of antitoxine production in immune animals. **Journal of Pathology and Bacteriology**, v.73, p.511-8, 1957.
- 5-BULLEN, J.J.; SCARISBRICK, R. Enterotoxaemia of sheep: experimental reproduction of the disease. **Journal of Pathology and Bacteriology**, v.73, p.495-509, 1957.
- 6-DA UNIG, T.; ROSS, H.E. *Clostridium welchii*: notes on the relationship between the types of cultures and the production of toxin. **Journal of Comparative Pathology and Therapeutics**, v.51, p.235-49, 1938.
- 7-HAUSCHILD, A.H.W. *Clostridium perfringens* toxin types B,C,D and E. In: KADIS, S.; MONTIE, T.C.; AJL, S.J. **Microbial toxins. Bacterial protein toxins.** New York, Academic Press, v.2A, 1971.
- 8-HOLDEMAN, L.V.; MOORE, W.E.C. **Anaerobe laboratory manual.** 3.ed. Virginia, Virginia Polytechnic Institute and State University Blacksburg, 1975.
- 9-McDONEL, J.L. *Clostridium perfringens* toxins (type A, B, C, D, E). **Pharmacology and Therapeutics**, v.10, p.617-55, 1980.
- 10-NIILLO, L. *Clostridium perfringens* in animal disease: a review of current knowledge. **Canadian Veterinary Journal**, v.21, p.141-8, 1980.
- 11-NIILLO, L.; MOFFOTT, R.; AVERY, R. Bovine enterotoxaemia. II. Experimental reproduction of disease. **Canadian Veterinary Journal**, v.4, p.288-98, 1963.
- 12-OXER, D.T. Enterotoxaemia in goats. **Australian Veterinary Journal**, v.32, p.62-6, 1956.
- 13-SIPPEL, W.L. Diagnosis of clostridial diseases. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.161, p.1299-305, 1972.
- 14-SMITH, L.D.S.; WILLIAMS, B.L. **The pathogenic anaerobic bacteria.** Springfield, Charles C. Thomas, 1975. Chap.7, p.115-76: *Clostridium perfringens*.
- 15-STERN, M. The relationship of *Bacillus* to the *welchii* group. **Institute Animal Pathology Report University Cambridge**, v.3, p.46-51, 1932/33.
- 16-STERN, M. Clostridial infections. **British Veterinary Journal**, v.137, p.443-54, 1981.
- 17-STERN, M.; WARRACK, G.H. The types of *Clostridium perfringens*. **Journal of Pathology and Bacteriology**, v.88, p.279-83, 1964.
- 18-SUTTER, V.L.; VARGO, V.L.; FINEGOLD, S.M. **Wadsworth anaerobic bacteriology manual.** 2.ed. California, University of California, 1975. p.85
- 19-THOMAS, P.L.; DONNEY, N.E.; DREADON, R.S. Mortality in lambs due to enterotoxaemia associated with heavy infestations of *Moniezia expanza*. **New Zealand Veterinary Journal**, v.4, p.161-5, 1956.
- 20-WARRACK, G.H. Some observations on the typing of *Clostridium perfringens*. **Bulletin Office International des Epizooties**, v.59, n.9-10, p.1393-400, 1963.
- 21-WILSDON, A.J. Observations on the classification of *Basillus welchii*. **Institute Animal Pathology Report University Cambridge**, v.2, p.53-85, 1931.
- 22-WORTHINGTON, R.W.; MOLDERS, M.S.G.; VAN RENSBURG, J.J. Enzymatic activation of *Clostridium perfringens* epsilon protoxin and same biological proprieties of activated toxin. **Onderspoort Journal Veterinary of Research**, v.40, p.153-6, 1973.
- 23-YASUHIKO, H.; TAKASHI, U.; KOSAKI, S.; SAKAGUCHI, G. Effects of the Ca²⁺ and other cations on the action of *Clostridium perfringens* enterotoxin. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.889, p.65-71, 1986.

Recebido para publicação em 17/08/93
Aprovado para publicação em 12/09/94