

ENTEROTOXEMIA, EM BOVINO DE 10 MESES DE IDADE, PRODUZIDA PELO  
*Clostridium perfringens* TIPO A\*.

Enterotoxemia, in 10 Months Old Bovine by *Clostridium perfringens*  
Type A.

Danilo Saraiva\*\*

#### RESUMO

Bovino de 10 meses de idade, em teste de ganho de peso, morreu após ter apresentado agitação, tremores e dificuldade ambulatória.

O curso da doença foi de quatro horas e meia.

Na necrópsia, realizada logo após a morte, foi encontrada, como lesão principal, forte congestão do intestino delgado.

Exames bacterioscópicos de esfregaços feitos com raspados da mucosa intestinal alterada, corados pelos métodos de Gram e de Burri, revelaram presença maciça de bacilos Gram positivos, com as extremidades levemente arredondadas, isolados ou em diplobacilos, capsulados, que as culturas indicaram ser o *Clostridium perfringens*.

O sobrenadante do conteúdo intestinal centrifugado, na dose de 0,4 ml via i.v. matou camundongos inoculados, com hemoglobinúria, em uma hora, demonstrando conter toxina preformada que foi neutralizada pelo soro antiperfringens tipo A.

Do fígado, foi isolado, em cultura pura, germe anaeróbio com as mesmas características morfológicas, bioquímicas e culturais do encontrado no intestino. Pela toxinotipia foi identificado como *Clos*tridium perfringens tipo A.

Com base nos dados clínicos, nos de necrópsia, nos resultados dos exames bacteriológicos e, especialmente pela toxinotipia, concluiu-se que a causa mortis foi enterotoxemia por *Clostridium per*fringens tipo A. Outros 2 bovinos, com a mesma idade, morreram na propriedade com a mesma sintomatologia e lesões.

#### SUMMARY

Calf, ten months old, in weight gain trial, showed symptoms of disease at 3.30 hours A.M., became progressively worse and died 4.30 hours later with nervous symptoms.

The autopsy showed that the abomaso mucosa and the small intes

\* Este trabalho foi relatado durante o XV Congresso Brasileiro de Veterinária, Rio de Janeiro, Outubro de 1976.

\*\* Professor Titular do Departamento de Clínicas Veterinárias - UFSM.

tine were redish.

In an investigation of the problem, equal volumes of saline were added to the intestinal contents and then centrifuged. Mice inoculated I.V. with 0.4 ml of the supernatant fluid died within 60 minutes indicating presence of toxins. Mice inoculated with toxins neutralized by type A antiperfringens serum survived for 3 days.

Smears made with scraps from the intestinal mucosa, stained by Gram's and Burri's methods showed absolute predominance of Gram positive capsulated bacilli morphologically similar to *Clostridium perfringens*.

Germes similar to those found in the intestine have been cultivated from the liver in pure culture form.

Identification and serum neutralization tests were found to be *Clostridium perfringens* type A the germ isolated from the dead animal.

#### INTRODUÇÃO

Os progressos da Zootecnia, propiciando o aperfeiçoamento das raças, de forma a obter animais cada vez mais precoces e produtivos exigindo, em troca, alimentação intensiva, têm trazido, por outro lado, novos problemas patológicos como consequência dessas práticas.

As enterotoxemias estão entre os problemas que vêm surgindo. A partir de 1950, têm-se tornado cada vez mais freqüentes em bovinos. Os tipos de *Clostridium perfringens* mais encontrados são os tipos B, C e D, embora o tipo A também tenha sido assinalado, segundo KATITCH (2, 3), GRINER (1), LÜCHTER & COLAK (4), MORAILLON & YALCIN (5).

PRÉVOST, TURPIN & KAISER (7) foram dos primeiros pesquisadores a chamar a atenção sobre a crescente freqüência das enterotoxemias por *Clostridium perfringens* tipo A nas diversas espécies domésticas. MORAILLON & YALCIN (5) mostraram que, em bovinos, predomina na França o tipo A, conforme resultados de seus exames no Laboratório de Rambouillet.

No Brasil há poucos dados. No Rio Grande do Sul, o tipo D foi encontrado apenas em ovinos, por WILLIAMS (9). Não foram encontradas referências sobre a presença de enterotoxemias, por quaisquer dos tipos de *Clostridium perfringens*, em bovinos.

Este relato tem por finalidade registrar a ocorrência de enterotoxemia em bovino jovem, em teste de ganho de peso. Destina-se também a chamar a atenção dos clínicos sobre o assunto pois o problema poderá tornar-se mais freqüente em futuro próximo.

---

**MATERIAL E MÉTODOS**

*História do caso* - O material do presente trabalho é proveniente de um bovino, de 10 meses de idade, macho, que fazia parte de um grupo de 60, submetidos a teste de ganho de peso, alojados em 4 divisões.

Às 3,30 horas da manhã de 06.06.76, o animal foi visto afastar-se dos outros, agitado, mostrando sintomas de doença que se agravou rapidamente. Às 8 horas, o veterinário chamado observou abatimento, temperatura de 39,89 C, dificuldade ambulatoria, e mioclonias generalizadas. Durante o exame clínico, o animal caiu ao solo morrendo em seguida em meio a convulsões, com expulsão de fezes, líquidas alaranjadas.

A necropsia foi feita imediatamente pelo veterinário que observou, como principais lesões, uma intensa congestão do abomaso e dos rins. O intestino delgado estava avermelhado em toda sua extensão. O fígado estava aumentado e friável. Havia líquido, levemente corado, na cavidade abdominal.

Para exame bacteriológico, foram coletados e enviados a este laboratório, parte do fígado e aproximadamente 60 cm de intestino delgado, com seu conteúdo hemorrágico.

O veterinário informou que outros dois bovinos, do mesmo lote e alojados na mesma divisão, já tinham morrido com os mesmos sintomas e lesões, alguns dias antes. Em um deles, o curso da doença fora de 12 horas.

*Exames realizados* - Para pesquisa de toxina preformada, o conteúdo intestinal foi diluído em igual volume de salina e a seguir centrifugado a 5.000 r.p.m. durante 15 minutos. O sobrenadante foi coletado e dividido em duas partes. Uma delas foi adicionada de soro antiperfringens tipo A. Ambas partes foram mantidas durante 30 minutos à temperatura do laboratório e, a seguir, foram inoculadas em camundongos adultos na dose de 0,4 ml via i.v. e observados durante 3 dias.

Do fígado, foram feitas culturas em ágar sangue e em meio de Robertson (meio de carne cozida). O germe, isolado em cultura pura a partir de placa de ágar sangue em anaerobiose, foi semeado em meio de Robertson com amido para obtenção de toxina para toxinotipia. Também foram semeados outros meios para identificação: leite tornasolado, meio de tioglicolato com lactose, salicina e sacarose. Foram ainda pesquisadas a hidrólise da gelatina, produção de H<sub>2</sub>S, de indol e redução de nitratos. A toxinotipia foi executada conforme as instruções dos fabricantes dos soros antiperfringens específicos

utilizados nesta prova\* e conforme as indicações: SMI TH & HOLDEMAN (8), utilizando camundongos. Pesquisas de hemolisina e de lecitinase bem como as provas de inibição das mesmas com soros antiperfringens foram feitas conforme as indicações de PRÉVOST (6).

Colorações foram efetuadas tanto pelo método de Gram como pelo de Burri, do conteúdo intestinal e das culturas obtidas.

## RESULTADOS

Na necrópsia, a lesão que mais chamava a atenção era no intestino delgado que se apresentava externamente avermelhado. Seu conteúdo tinha o aspecto de geléia de framboeza, sanguinolento, de consistência viscosa e com numerosas bolhas de gás disseminadas em toda a massa.

O fígado, de cor tendendo para o marrom amarelado, estava muito congesto.

Os rins estavam avermelhados, com manchas na superfície, e ligeiramente friáveis.

A bexiga continha urina clara e mostrava equimoses.

Os demais órgãos estavam macroscopicamente normais.

A cultura inicial, a partir do fígado, em meio de Robertson, produziu crescimento luxuriante, com muito gás e turvação do meio, de um germe Gram positivo, imóvel, reto, com extremos levemente arredondados. A carne permaneceu rosada. Em placa de ágar sangue, em anaerobiose, o germe mostrou-se em cultura pura, formando colônias regulares, convexas, brilhantes, acinzentadas a ligeiramente esverdeadas, com 2 a 3 mms de diâmetro, produzindo hemólise com duplo halo. Fermentou a glicose, sacarose, lactose mas não a salicina. Ligeiramente quefez a gelatina, reduziu os nitratos, acidificou e coagulou rapidamente, com moderada quantidade de gás, o leite tornasolado. As provas de lecitinase e de hemólise foram positivas. Ambas foram inibidas pelo soro antiperfringens tipo A.

Esfregaços feitos com raspados da mucosa intestinal, corados pelo método de Gram e de Burri, mostraram absoluta predominância de bacilo Gram positivo, capsulado, com as mesmas características morfológicas do isolado do fígado.

No centrifugado do conteúdo intestinal foi encontrada abundante toxina preformada. Na dose de 0,4 ml via i.v. matou camundongos, com hemoglobinúria, em menos de 6 horas. Essa toxina foi perfeitamente neutralizada pelo soro antiperfringens tipo A.

Na toxintopia, realizada com a toxina obtida pela cultura do germe em meio de Robertson com amido, foi observada total proteção

\* Preparados por Wellcome Research Laboratories, Beckenham, Inglaterra.

dos camundongos inoculados com a toxina neutralizada pelo soro anti tiperfringens tipo A. A tripsinização da toxina destruiu sua atividade letal, havendo sobrevivência dos camundongos inoculados.

A Tabela 1 representa a prova de toxinotipia realizada.

Tabela 1. Toxinotipia.

CAMUNDONGOS (Nº)	TOXINA		CALDO SIMPLES (ml)	SORO ANTI PEFRIN GES. TIPO A (ml)	RESULTADO
	Não tripsini- zada (ml)	Tripsiniza- da (ml)			
2	0,6	-	0,3	-	Morreram en- tre 40 e 50 minutos
2	0,6	-	0,2	0,1	Sobreviveram
2	-	0,6	0,3	-	Sobreviveram

Dose: 0,4 ml via I.V. em cada camundongo de 20 g de peso. Observação durante 3 dias.

## DISCUSSÃO

As culturas realizadas levaram ao isolamento de um germe que os exames bacterioscópicos assim como as provas bioquímicas e de patogenicidade indicaram ser o *Clostridium perfringens*. No sobrenadante do centrifugado de conteúdo intestinal havia grande quantidade de toxina preformada. Isso caracteriza a enterotoxemia. Além disso, nos raspados da mucosa entérica, foram evidenciados numerosos bacilos Gram positivos, capsulados, com morfologia semelhante à do germe isolado do fígado, indicando grande multiplicação bacteriana no intestino.

A toxinotipia, realizada tanto a partir dessa toxina preformada como da produzida em meio de Robertson, evidenciou tratar-se de toxinas semelhantes, pois ambas foram totalmente neutralizadas pelo soro antiperfringens tipo A. Este soro é específico: só neutraliza as toxinas produzidas pelo *Clostridium perfringens* tipo A.

Os sintomas e lesões observadas estão de acordo com o que sobre o assunto escreveram LÜCHTER & COLAK (4), KATITCH (3) e PRÉVOST et alii (7). O curso rápido da doença é uma das características das enterotoxemias.

Os sintomas apresentados pelo animal e as lesões macroscópicas combinam com os resultados das pesquisas bacteriológicas, razão pe-

la qual se poderá afirmar que o bovino, objeto deste trabalho, morreu por enterotoxemia por *Clostridium perfringens* tipo A.

#### CONCLUSÕES

1. A causa mortis do bovino, objeto deste trabalho, foi enterotoxemia por *Clostridium perfringens* tipo A.
2. Este é o primeiro caso diagnosticado laboratorialmente nesta região.

#### LITERATURA CITADA

1. GRINER, L. A. - Some Factors Influencing the Incidence of Enterotoxaemia in Domestic Animals. *Bull. Off. Int. Epiz.*, 59(9-10):1443-1451, 1963.
2. KATITCH, R. V. - Aspects actuels de l'Epizootologie des Maladies du Mouton Causées par les Anaérobies. *Bull. Off. Int. Epiz.*, 65(9-10):1683-1710, 1966.
3. KATITCH, R. V. - Les Maladies des Animaux Domestiques Causées par les Microbes Anaérobies. Paris, Vigot Frères, 1965, 216 p.
4. LÜCHTER, F. J. & COLAK, M. - Enterotoxemia em bovinos. *Gaceta Veterinária*, 109:195-202, 1957.
5. MORAILLON, P. & YALCIN, N. - Formes Nouvelles de Gastro Entérotaxemias et Rôle Étiologique des Aliments du Bétail. *Rec. Med. Vét.*, 142(10):935-947, 1966.
6. PRÉVOST, A. R. - Technique pour le Diagnostic des Bactéries Anaérobies. Saint Mandé, La Tourelle, 1964, 119 p.
7. PRÉVOST, A. R.; TURPIN, A. & KAISER, P. - Les Bactéries Anaérobies. Paris, Dunod, 1967, 2.188 p.
8. SMITH, L. DS. & HOLDEMAN, L. V. - *The Pathogenic Anaerobic Bacteria*. Springfield, Charles C Thomas, 1968, 423 p.
9. WILLIAMS, B. M. - Enterotoxemias em ovinos no Rio Grande do Sul. *Arq. Inst. Pesq. Vet. Desdênio Finamor*, 3:30-44, 1966.