

OCORRÊNCIA DE CLOSTRÍDIOS ISOLADOS ENTRE 1988 A 2007

Franciele Maboni^{1*}
Ronnie Antunes de Assis²
Agueda Palmira Castagna de Vargas¹

RESUMO

Este estudo objetivou investigar a ocorrência de clostrídios, a partir de materiais provenientes de municípios do estado do Rio Grande do Sul, entre 1988 a 2007, encaminhados para análise microbiológica. Durante o período analisado, o gênero *Clostridium* foi isolado em 123 protocolos, destes, 61% foram caracterizados como *Clostridium perfringens*, 28,45% *Clostridium chauvoei*, 13,8% *Clostridium septicum* e 0,8% *Clostridium* sp. Toxina botulínica foi identificada em soros e conteúdo intestinal de 10 casos analisados. Os isolados foram relacionados, principalmente, a casos de enterotoxemia, gangrena gasosa, carbúnculo sintomático e botulismo. Os resultados demonstram significativo número de isolamento de clostrídios. Ressaltamos a importância do monitoramento das clostridioses em nível nacional devido principalmente, ao forte impacto econômico que estas enfermidades podem desencadear.

Palavras-chave: *Clostridium*, clostridioses, toxina botulínica, diagnóstico microbiológico.

CLOSTRÍDIOS ISOLATES DETERMINATION BETWEEN 1988 AND 2007.

ABSTRACT

The aim of this study was to determinate the occurrence of *Clostridium*. The samples were from cities of Rio Grande do Sul state, between 1988 and 2007. During the analyzed period, *Clostridium* were isolates in 123 protocols. *Clostridium perfringens* were isolates in 61% of cases, 28.45% *Clostridium chauvoei*, 13.8% *Clostridium septicum* and 0.8% *Clostridium* sp. Botulinum toxin was detected in samples from intestinal contents and serum of 10 analyzed cases. The cases with clostridiums isolates were related, mainly, enterotoxemia, gas gangrene, blackleg and botulism. Thus, this work demonstrated a significative clostridios occurrence. Is important the nationwide monitoring of clostridial, due mainly to strong economic impact that these diseases can trigger.

Key words: *Clostridium*, clostridiosis, botulinum toxin, microbiological diagnostic.

OCURRENCIA DE CLOSTRÍDIOS AISLADOS ENTRE 1988 A 2007.

RESUMEN

El objetivo de este estudio es la determinación de la ocurrencia del aislamiento de clostrídios a partir de materiales derivados de diversos municipios del estado de Rio Grande do Sul, entre 1988 a 2007. Durante el periodo analizado, el género *Clostridium* se aisló en 123 protocolos, 61% de los aislados fueron *Clostridium perfringens*, 28,45% *Clostridium chauvoei*, 13,8%

¹ Médica Veterinária. Universidade Federal de Santa Maria. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva. Laboratório de Bacteriologia. Centro de Ciências Rurais. Prédio 44, sala 5137, 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil.: franmaboni@gmail.com e agueda.vargas@gmail.com

* Fone: 51 3308 6077. Rua Prof. Cristiano Fischer, 1038, apto. 604. Bairro Petrópolis. 91410-000- Porto Alegre/RS/Brasil

² Médico Veterinário. Laboratório Nacional Agropecuário (LANAGRO-MG), Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Av. Rômulo Joviano s/n, CP 35/50, 33600-000, Pedro Leopoldo, MG, Brasil. E-mail: ronnieassis@gmail.com

Clostridium septicum y 0,8% *Clostridium* sp. La toxina botulínica fue indentificada en suero y contenido intestinal de 10 casos analizados. Los aislamientos se refieren principalmente a casos de enterotoxemia, gangrena gaseosa, botulismo y pierna negra. Los resultados demostraron la significativa ocurrencia de clostrídios. Hacemos hincapié en la importancia de la supervisión de clostrídios debido principalmente al fuerte impacto económico que estas enfermedades pueden desencadenar.

Palabras-clave: *Clostridium*, clostridioses, toxina botulínica, diagnóstico microbiológico.

O gênero *Clostridium* é composto por bacilos Gram-positivos, predominantemente móveis, anaeróbicos, formadores de esporos. Na forma esporulada estes microrganismos são extremamente resistentes a condições adversas do meio ambiente. Clostrídios são encontrados em ambientes com alta concentração de matéria orgânica, água e conteúdo intestinal de homens e animais (1, 2)

Diversas espécies de clostrídios apresentam patogenicidade para animais. *Clostridium chauvoei*, *Clostridium septicum*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium novyi*, *Clostridium sordellii*, por exemplo, estão relacionados à ocorrência de mionecroses, representadas pelo carbúnculo sintomático e gangrena gasosa. *Clostridium haemolyticum* é o agente causal da hemoglobinúria bacilar, enquanto *Clostridium botulinum* e *Clostridium tetani* são responsáveis pelo botulismo e tétano, respectivamente. O gênero *Clostridium* se caracteriza pela produção de diferentes toxinas. Cada espécie possui determinado espectro de frações toxigênicas com propriedades letais, necrosantes, hemolíticas e neurotóxicas (3).

O presente estudo investigou a ocorrência de clostrídios isolados a partir de materiais provenientes de diversos municípios do estado do Rio Grande do Sul, entre 1988 à 2007, encaminhados ao Laboratório de Bacteriologia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) para diagnóstico microbiológico. Todos os materiais, provenientes de animais com suspeita de infecção por clostrídios, foram submetidos à cultura em anaerobiose, semeados em ágar, com 5% de sangue ovino desfibrinado, e incubados a 37°C por 48 horas. Simultaneamente, o material foi cultivado em “Cooked Meat Medium” (CMM, Rockville, Maryland, EUA), nas mesmas condições supracitadas. O diagnóstico microbiológico foi fundamentado nas características fenotípicas de morfologia e caracteres bioquímicos (4). A confirmação de alguns isolados de *C. chauvoei* e *C. septicum* foi realizada no Laboratório Nacional Agropecuário de Minas Gerais (LANAGRO/MG), utilizando a técnica de imunofluorescência direta (IFD), conforme Sterne e Batty (2). Soro e conteúdo intestinal de animais com suspeita de intoxicação por *C. botulinum* foram remetidos à tipificação, pela técnica de soroneutralização em camundongos (5), na Universidade Estadual Paulista (UNESP/Araçatuba).

No período analisado, bactérias do gênero *Clostridium* foram isoladas em materiais encaminhados para análise microbiológica de 123 protocolos da rotina laboratorial, representando 3% do total de materiais protocolados no laboratório, neste período. Foram identificados 75 (61%) isolados de *C. perfringens*, 35 (28,45%) isolados de *C. chauvoei*, 17 (13,8%) isolados de *C. septicum* e um (0,8%) isolado foi caracterizado como *Clostridium* sp. Em 10 casos (8%) foi detectada a presença de toxina botulínica (Tabela 1).

C. perfringens foi a espécie isolada com maior frequência, sendo detectado em 75 materiais analisados no período (Tabela 1). Em animais, *C. perfringens* é relatado associado à morte súbita (6). Esta bactéria é constantemente recuperada do trato gastrointestinal de animais e também do meio ambiente (1). Em diversos casos investigados no presente inquérito, com isolamento de *C. perfringens*, havia a suspeita clínica de enterotoxemia. Quadros de enterites são frequentemente relacionados à intoxicação por *C. perfringens* (4), estando a patogenicidade associada à sua eficiência em produzir toxinas. Além disso, *C.*

perfringens, dentre outros clostrídios, é agente etiológico da gangrena gasosa, e a suspeita desta enfermidade esteve presente em muitos dos casos com isolamento desta bactéria.

Tabela 1. Ocorrência de clostrídios identificados em diferentes espécies animais entre 1988 a 2007 pelo Laboratório de Bacteriologia/UFSM, Rio Grande do Sul.

Espécie Animal	Idade	NI ^a	Microrganismos identificados	Total de isolamentos	Percentual (%)
Bovina	1 ano - 8 anos	19	<i>C. perfringens</i>	27	28,13
Bovina	4 meses - 2 anos	5	<i>C. chauvoei</i>	24	25,00
Bovina	7 meses - 4 anos	2	<i>C. septicum</i>	10	10,42
Bovina	4 meses - 3 anos	3	<i>C. chauvoei</i> e <i>C. perfringens</i>	8	8,33
Bovina	6 meses - 6 anos	1	<i>C. perfringens</i> e microrganismos aeróbicos	7	7,29
Bovina	3 anos	3	<i>C. septicum</i> e <i>C. perfringens</i>	4	4,17
Bovina	8 meses - 2 anos		Toxina botulínica, tipo C	6	6,25
Bovina	3 anos	0	<i>C. perfringens</i> , <i>C. chauvoei</i> e <i>C. septicum</i>	1	1,04
Bovina	8 meses	0	<i>C. septicum</i> e <i>C. chauvoei</i>	1	1,04
Bovina	10 meses	0	<i>Clostridium</i> spp.	1	1,04
Ovina	15 dias- 3 anos	6	<i>C. perfringens</i>	10	10,42
Ovina	-	2	<i>C. perfringens</i> e microrganismos aeróbicos	2	2,08
Ovina	-	1	<i>C. chauvoei</i> e microrganismos aeróbicos	1	1,04
Canina	13 anos	5	<i>C. perfringens</i>	6	6,25
Canina	2,5 anos	0	Toxina botulínica, tipo C-D	1	1,04
Canina	2,7 anos		Toxina botulínica, tipo C	1	1,04
Canina	-	1	<i>C. perfringens</i> e microrganismos aeróbicos	1	1,04
Aves	-	4	<i>C. perfringens</i>	4	4,17
Aves	-	2	Toxina botulínica, tipo C	2	2,08
Suína	3 meses	0	<i>C. perfringens</i>	2	2,08
Suína	-	2	<i>C. perfringens</i> e microrganismos aeróbicos	2	2,08
Equina	-	1	<i>C. septicum</i> e microrganismos aeróbicos	1	1,04
Bubalina	7 anos	0	<i>C. perfringens</i>	1	1,04

^aNI= Idade não informada.

Os resultados microbiológicos (Tabela 1) evidenciaram tanto a ocorrência de *C. septicum* em dez casos investigados quanto a ocorrência associada de *C. septicum* com *C. perfringens* em quatro casos, *C. septicum* com *C. chauvoei* em um dos casos e *C. septicum*, *C. perfringens* e *C. chauvoei* também em um caso investigado. Todos os isolados supracitados são provenientes de amostras de bovinos, exceto um dos casos no qual, *C. septicum* foi isolado de equino. Aliando os resultados microbiológicos e a história clínica dos casos, é possível sugerir que estes isolados estão relacionados à gangrena gasosa. A gangrena gasosa, também conhecida por edema maligno, é uma mionecrose que está associada a feridas contaminadas, principalmente aquelas decorrentes de procedimentos como: castração, descorna, cirurgias, uso de seringas contaminadas, ferimentos causados por instrumentos sépticos (3). O número significativo de isolados relacionados à gangrena gasosa, no presente levantamento, pode ser justificado pela facilidade de transmissão destes microrganismos.

O isolamento individual de *C. chauvoei* foi observado em 24 casos envolvendo a espécie bovina e um caso em ovino, tendo os bovinos até dois anos de idade. Estes dados estão de acordo com a afirmação de que este agente etiológico acomete predominantemente animais jovens, na faixa etária entre seis meses a três anos de idade (7). *C. chauvoei* é o agente etiológico do carbúnculo sintomático, também conhecido como manqueira ou *blackleg*. Este agente determina séria infecção muscular, que afeta bovinos e ovinos, podendo desencadear septicemia e morte. É considerada infecção endógena, pois os esporos de *C. chauvoei* estão latentes em vários tecidos do organismo. Em condições de baixa tensão de

oxigênio como traumas, hemorragias, necroses e degenerações, os esporos germinam, multiplicam e causam a infecção (7).

Toxina botulínica foi identificada em duas amostras de aves, duas amostras provenientes de cães e em seis bovinos mantidos em confinamento, todos com suspeita de botulismo. O botulismo se caracteriza como intoxicação com paralisia motora, ocasionada pela ação de toxinas de *C. botulinum* (5). No ambiente, a bactéria é encontrada principalmente na forma esporulada. Na presença de matéria orgânica e condições adequadas (anaerobiose) os esporos germinam e multiplicam-se, produzindo as toxinas (1, 5). Casos de intoxicação botulínica no país são relatados em aves, cães e bovinos (8, 9, 10), representando portanto, enfermidade freqüente e preocupante devido, à casuística relacionada e as consequências associadas.

Em relação às espécies animais acometidas, a bovina apresentou a maior ocorrência dentre os clostrídios, representando 72% dos casos estudados, seguida das espécies ovina, canina, aves, suína, equina e bubalina. Este alto percentual de bovinos atingidos se deve, provavelmente, ao fato destes formarem o maior grupo de animais de produção do estado do Rio Grande do Sul. Em ovinos, onde foi encontrado um índice considerável de isolados (10,6%), a espécie de clostrídios de maior evidência foi *C. perfringens*, estando relacionado principalmente, aos casos de enterotoxemia.

Os resultados encontrados demonstram a ocorrência de diferentes espécies de clostrídios em várias espécies animais no estado do Rio Grande do Sul. No entanto, ainda é necessária a determinação da real prevalência de infecções e intoxicações por clostrídios em todo o país. Ressaltamos a importância do monitoramento das ocorrências de clostridioses em nível nacional devido principalmente, ao forte impacto econômico e ao complexo de doenças e manifestações clínicas causadas pelo gênero *Clostridium*.

REFERÊNCIAS

1. Carter GR, Wise DJ. Essentials of veterinary bacteriology and mycology. Philadelphia: Lea & Febiger; 1991.
2. Sterne M, Batty I. Pathogenic Clostridia. London: Butterworths; 1975.
3. Stevens DL. Necrotizing clostridial soft tissue infections. In: Rood JI, MCclane BA, Songer JR, Titball RW. The clostridia- molecular biology and pathogenesis. London: Academic Press, 1997. p.141-52.
4. Quinn PJ, Markey BK, Carter ME, Donnell WJ. Microbiologia veterinária e doenças infecciosas. Porto Alegre: Artmed; 2005.
5. Smith LDS. Botulism the organism, its toxins, the disease. Springfield: Charles Thomas; 1977.
6. Sigurdarson S, Thorsteinsson T. Sudden death of Icelandic dairy cattle. Vet Rec. 1990; 127: 410.
7. Gregory L, DellaLibera AMM, Birgel EH, Pogliani FCD, Birgel B, Benesi FJ, et al. Carbúnculo sintomático: ocorrência, evolução clínica e acompanhamento da recuperação de bovino acometido de Manqueira. Arq Inst Biol. 2006; 73: 243-6.

8. Lobato FCF, Salvarani FM, Silva ROS, Assis RA, Lago LA, Carvalho MB, et al. Botulismo tipo C em perus em Minas Gerais, Brasil. Cienc Rural. 2009; 39: 272-4.
9. Costa M, Salvador SC, Pereira GMN. Botulismo em bovinos leiteiros no Sul de Minas Gerais, Brasil. Cienc Rural. 2008; 38: 2068-71.
10. Monego F, Maboni F, Vargas AC, Assis RA. Diagnóstico de Clostridium Botulinum tipo C em cão – relato de caso. Vet Not. 2006; 12: 79-81.

Recebido em: 15/06/2009

Aceito em: 24/05/2010