AISLAMIENTO DE *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS* TIPO A EN UN CASO DE YEYUNITIS HEMORRAGICA EN BOVINOS

Cattáneo, M.[1], Dutra, F.[2], Quinteros, C.[2], Romero, A.[2],Bermúdez, J.[1]

[1]Área de Bacteriologí a. Departamento de Ciencias Microbiológicas. Facultad de Veterinaria. UdelaR. Uruguay. catta1973uy@yahoo.es [2] DILAVE Miguel C Rubino, Laboratorio Regional Este, Avelino Miranda 2045, Treinta y Tres, Uruguay.

Resumen

Haemorrhagic Bowel Syndrome (HBS) o Yeyunitis Hemorrágica (YH) es una enfermedad de los bovinos adultos que produce una enteritis aguda necrótica y hemorrágica. Se propone al *Clostridium perfringens* tipo A como posible agente etiológico.El objetivo de este trabajo es comunicar el aislamiento de *Clostridium perfringens* tipo A en un caso de yeyunitis hemorrágica en un bovino lechero.El animal afectadopresentaba dolor abdominal, depresión y caída brusca de la producción de46 a10 litros diarios. No responde al tratamiento y muere a las 24 horas. A la necropsia el intestino delgado se presentabahemorrágico con coágulos de sangre de color casi negro y restos necróticos de mucosa en su interior. Del contenido yeyunal se aisló en cultivo puroy seconfirmó por PCR el *Clostridium perfringens* tipo A, sugiriendo una relación causal con la enfermedad.

Summary

Haemorrhagic Bowel Syndrome (HBS) or haemorrhagic jejunitis (YH) is a disease of adult cattle characterized by necrohaemorrhagic enteritis. *Clostridium perfringens* type A has been proposed as a possible etiologic agent. The aim of this study was to report the isolation of *Clostridium perfringens* type A in a case of hemorrhagic jejunitis in dairy cattle. The affected animal showed abdominal pain, depression and sudden drop in milk production from 46-10 liters. She did not respond to treatment and died within 24 hours. At necropsy the small intestine was distended with largeblood clots almost black in color, mucus and necrotic debris.*Clostridium perfringens* type A was isolated in pure culture from the intestinal content, suggesting a causal association with the disease.

Introducción

Haemorrhagic Bowel Syndrome (HBS) o Yeyunitis hemorrágica (YH) es una enfermedad esporádica de los bovinos adultos caracterizada por una enteritis aguda, necrótica y hemorrágica, con la formación de coágulos de sangre intraluminal, preferentemente en yeyuno (Dennison, 2002; 2005).Esta enfermedad fue diagnosticada en el año 1991 en Estados Unidos en bovinos lecheros y se considera emergente en muchos países. Luego otras enfermedades con hallazgos similares fueron descriptas y definidas como HBS o YH (Ceci, 2006).Se relaciona a *Clostridium perfringens* tipo A (CPA) y *Clostridium perfringens* tipo A con el gen de la toxina beta2 (â2) como posibles agentes etiológicos del HBS (Ceci, 2006). La toxina alfa, necrótica y letal, es considerada el principal factor patógeno de la infección por el CPA (Niilo, 1980; Costa, 2004). Actualmente el gen de la toxina â2 se encuentra en todos los tipos de *Clostridium perfringens* (*C. perfringens*) (A, B, C, D y E). Esta toxina tiene efectos citotoxicos y es letal para ratones (Gilbert, 1997).Hay autores que describen la asociación entre *C. perfringens* tipo A â2 positivos con enfermedades intestinales en caballos, suinos, ovinos y caprinos (Songer, 1996; Ceci, 2006). Por otro lado se considera a CPA como parte de la flora normal intestinal y por esto es cuestionable su participación como agente etiológico de las enfermedades gastrointestinales (Songer, 1996).

Objetivo

El objetivo de esta publicación es comunicar el aislamiento de *Clostridium perfringens* tipo A en un caso de yeyunitis hemorrágica en un bovino lechero.

Caso clínico y patología

Elcaso ocurrió en un predio lechero pequeño de la 12ª de Cerro Largo. Se vió afectada 1 de 7 vacas raza Holando, de 4ª lactancia, de alta producción. Las vacas pastoreaban una pradera de 2º año de trébol rojo, lotus y raigrás, y se suplementaban con 7 kg/d de una ración de altaenergía. La vaca afectada tenía una producción de 46 L/d y un comportamiento normal. Ocho días después de paridadeja de comer, presenta dolor abdominal, depresión y la producción baja bruscamente de 46 a10 litros diarios. El animal cae en decúbito esternal, muestra atonía ruminal, deshidratación, disentería, temperatura de 37 ºC y mucosas anémicas; no responde al tratamiento y muere a las 24 horas. A la necropsia se encontró hepatomegalia, riñones pálidos, sufusiones en serosas, derrames serosanguinolentos en cavidades y los intestinos congestivos y hemorrágicos. A nivel del intestino delgado, varias asas del yeyuno estaban distendidas y repletas de coágulos de sangre de color casi negro y restos necróticos de mucosa en su interior. El estudio histológico realizado en el DILAVE Laboratorio Regional Este mostró una severa enteritis necrótico-hemorrágica caracterizada por destrucción completa de la mucosa y la lámina propia, numerosas venas trombosadas en la submucosa y gran cantidad de bacilos intralesionales, lesiones todas compatibles con una enterotoxemia clostridial.

Diagnóstico bacteriológico

Muestras de contenido yeyunal fueron enviadas al Laboratorio del Departamento de Ciencias Microbiológicas de la Facultad de Veterinaria para el estudio bacteriológico. En primera instancia se realizó un frotis directo y tinción de Gram, y luego se realizaron

estudios para detectar *Escherichiacoli*, *Salmonella* spp y *C. perfringens*. Para aislamiento de *Salmonella* spp. se sembró en caldo tetrationato y se subcultivó en medio Salmonella-Shigella y para aislar *E. coli* en medio MacConkey. Para aislar *C. perfringens* se sembró en placas de agar sangre a 37 ºC en forma anaerobia y medio CookedMeat (CM). Las colonias hemolíticas crecidas en el agar sangre se sembraron en CM y a las 24 horas el crecimiento obtenido se centrifugó y se filtró por 0.2ì. Con este filtrado se inocularon ratones blancos y se realizó la técnica de seroneutralización con antitoxinas de referencia alfa, beta y épsilon de *C. perfringens* (WHO). Las colonias aisladas se estudiaron genéticamente utilizando la técnica de PCR (Polymerase Chain Reaction) para identificar los genes para las toxinas alfa, beta, â2y epsilon.

En la muestra recibida solo se aisló e identificó *C. perfringens* tipo A siendo negativo para *Salmonella* spp. y *Escherichiacoli*. En la tinción de Gram del contenido intestinal se observaron únicamente bacilos cortos Gram positivos en forma abundante. Se identificó en las placas de agar sangreanaerobiasun solo tipo de colonia con doble hemólisis.Los ratones inoculados murieron con hemorragias por orificios naturales y en cavidades serosas. La técnica de seroneutralización resultó positivo para toxina alfa y negativa para toxina beta, â2 y epsilon. Por PCR se detectó la presencia del gen de la toxina alfa, siendo negativopara beta,â2 y epsilon.

Discusión y conclusión

Los resultados epidemiológicos, clínicos, patológicos y de laboratorio son similares a los descriptos en casos de HBS lo que nos indicaría que el caso estudiado se trataría del mismo cuadro (Dennison, 2002; 2005; Ceci, 2006). Esta enfermedad ocurre en forma esporádica, es altamente letal y afecta principalmente vacas adultas de alta producción al comienzo de la lactación, como sucedió en este caso. Además se la asocia al consumo de alimentos con alto contenido de carbohidratos y proteínas y baja fibra (Ceci, 2006). Se propone al *C. perfringens* tipo A como agente etiológico y su asociación con la toxina â2 en la gravedad de las lesiones (Dennison, 2002; 2005; Ceci, 2006), pero esto se discute debido a que este agente es un comensal normal del intestino (Songer, 1996). En nuestro trabajo se aisló *C. perfringens* tipo A â2 negativo en estrecha relación con lesiones típicas de clostridiosis intestinal lo cual sugiere, pero no confirma, que la asociación no es espuria sino causal. Actualmente no se sabe si *C. perfringens* tipo A puede causar la enfermedad por si solo o si necesita de factores predisponentes (Ceci, 2006).

Agradecimientos

Al Dr. Gonzalo Macció por la remisión del caso y la información aportada.

Referencias bibliográficas

Ceci, L.; Paredies, M.; Sasanelli, D.; de Caprariis, F.; Guarda, M.T.; Carelli, G. (2006) Haemorrhagic Bowel Syndrome in Dairy Cattle: Possible Role of *Clostridium perfringens* Type A in the Disease Complex. J. Vet. Med. A. 53, 518-523.

Costa, G.M.; Assis, R.A.; Lobato, F.C.F.; Abreu, V.L.V.; Santos, J.L.; Uzal, F.A. (2004) Diarréia em leitoes lactentes por *Clostridium perfringens* tipo A em granjas tecnificadas nos estados de Minas Gerais e Sao Paulo. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. V. 56, n.3. Pág.: 401- 404.

Dennison, A.C.; Van Metre, D.C.; Callan, R.J.; Ellis, R.P. (2002) Hemorrhagicbowelsyndrome in dairycattle: 22 cases (1997-2000). JAVMA. Vol. 221, No. 5, 686-689.

Dennison, A.C.; Van Metre, D.C.; Morley, P.S.; Callan, R.J.; Ellis, R.P. (2005) Comparison of the odds of isolation, genotypes, and in vivo production of major toxins by *Clostridium perfringens* obtained from the gastrointestinal tract of dairy cows with hemorrhagic bowel syndrome or left-displaced abomasum. JAVMA. Vol. 227, No. 1, 132-138.

Niilo, L (1980) *Clostridialperfringens* in Animal Disease: a review of current knowledge. Can. Vet. J. 21: 141-148.

Songer, j.G. (1996) Clostridial enteric disease of domestic animals.Clinical Microbiology Reviews.Vol. 9, No 2, 216—234.

WHO (World Health Organization), Central Veterinary Laboratory, Weybridge.UK.