

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**CURSO DE BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**Enterite hemorrágica fatal causada por *Clostridium perfringens* tipo A em um cão  
adulto no Brasil**

**Diego Henrique de Farias Dantas**

**Areia-PB**

**2014**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**CURSO DE BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**Enterite hemorrágica fatal causada por *Clostridium perfringens* tipo A em um cão  
adulto no Brasil**

**Diego Henrique de Farias Dantas**

**Trabalho de conclusão de curso  
apresentado como requisito parcial para  
a obtenção de título de Bacharel em  
Medicina Veterinária pela Universidade  
Federal da Paraíba, sob orientação do  
prof. Dr. Ricardo Barbosa de Lucena**

**Areia-PB**

**2014**

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CURSO DE BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

FOLHA DE APROVAÇÃO

Diego Henrique de Farias Dantas

Enterite hemorrágica fatal causada por *Clostridium perfringens* tipo A em um cão  
adulto no Brasil

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial para obtenção do  
título de Bacharel em **Medicina Veterinária**, pela Universidade Federal da Paraíba.

Aprovado em: 03/12/2014  
Nota: DEZ

**Banca Examinadora**



Prof. Dr. Ricardo Barbosa de Lucena, UFPB



Profª. Dra. Suzana Aparecida Costa de Araújo, UFPB



Mestrando Harlan Hallamys de Lima Nascimento, UFPB



Profª. Dra. Káterin Elena Bohorquez Grondona  
Coordenação de TCC

*Quero dedicar em primeiro lugar, a Deus, pela força e coragem durante toda esta longa caminhada e a minha família pela fé e confiança demonstrada, especialmente aos meus pais Fabiano e Patrícia e meus avós Antonio Dantas e Maria de Nazarene, pois sem eles esta formação e muitos dos meus sonhos não se realizariam.*

***Dedico***

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por permitir que tudo isso acontecesse e sempre ter me iluminado e guiado a cada passo dessa longa caminhada.

Aos meus pais, *Carla Patrícia e Fabiano Dantas* pelo amor, incentivo e apoio incondicional. Aos meus avôs *Maria de Nazarene e Antonio Dantas*, por sempre estarem presente em toda minha vida acadêmica e por fazerem muitos dos meus sonhos se tornarem realidade. Agradeço a minhas irmãs pela amizade e companheirismo de sempre.

A minha namorada *Vanessa Pinto*, por todos os momentos de felicidade, por ter vivenciado comigo passo a passo todos os detalhes deste trabalho, ter me ajudado, por ter me dado todo o apoio que necessitava nos momentos difíceis, todo carinho, respeito, por estar ao meu lado nos momentos de estresse, e por tornar minha vida cada dia mais feliz.

Agradeço aos meus amigos *Fernando Brito, Lucas Paes, Johann Soares, Renato Souza, Aylson Jackson, Warley Sena e Fernando Grosso*, que sempre desejaram o meu bem, e sempre dividiram momentos de boas risadas, momentos inesquecíveis que e ao longo desses meus cinco anos, posso considerar como verdadeiros amigos.

Agradeço ao meu orientador *Dr. Ricardo Barbosa de Lucena* pela paciência e pela divisão de conhecimentos que ele me proporcionou durante a produção desta monografia e pela receptividade quando o procurei para que me orientasse. A banca examinadora, pela disponibilidade de participar desde avaliação

A todos os professores do curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Paraíba, que foram importantes na minha vida acadêmica e no desenvolvimento deste trabalho. A Universidade Federal da Paraíba e todo seu corpo docente, direção e administração que oportunizaram a janela que hoje vislumbro um horizonte superior.

E a todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigado.

## RESUMO

DANTAS, D. H. F. **Enterite hemorrágica fatal causada por *Clostridium perfringens* tipo A em um cão adulto no Brasil.** 2014. f. 25. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2014.

*Clostridium perfringens* é uma bactéria anaeróbia, Gram-positiva, formadora de esporos, tolerante ao oxigênio, que habita comumente o intestino de humanos e animais, mas também ocorre no ambiente. *C. perfringens* é classificada em cinco tipos toxigênicos (A-E), de acordo com a produção de quatro toxinas principais (alpha [*plc*], beta [*cpb*], épsilon [*etx*], e iota [*iap e iab*]). O objetivo deste estudo é descrever uma infecção fatal por *Clostridium perfringens* tipo A em um cão adulto no Brasil. O animal, uma fêmea de nove anos de idade, mostrou diarreia com sangue algumas horas após a ingestão de uma "canja de galinha" e foi encontrado morto cerca de 6 horas após o início dos sinais clínicos. O exame *post-mortem* revelou serosa duodenal acentuadamente vermelha e cheia de um líquido hemorrágico. A avaliação histopatológica mostrou uma necrose intestinal extensa com grande número de fragmentos de células e células inflamatórias no lúmen intestinal e lâmina própria. O conteúdo intestinal foi positivo para *C. perfringens* tipo A e não foram detectados outros enteropatógenos. A associação entre os sinais clínicos, alterações *post-mortem* e exames laboratoriais sugerem infecção por *C. perfringens* tipo A. O presente relato é a primeira descrição da doença em um cão no Brasil e destaca a necessidade de mais estudos para elucidar os fatores predisponentes de *C. perfringens* associados à diarreia em cães.

**Palavras-chave:** diarreia com sangue; intoxicação alimentar; necrose; patologia.

## ABSTRACT

DANTAS, D. H. F. **Fatal hemorrhagic enteritis caused by *Clostridium perfringens* type A in an adult dog in Brazil.** 2014. f. 25. Work Completion of course Adviser (Undergraduate Veterinary Medicine) - Faculty of Veterinary Medicine, Federal University of Paraíba, Areia, 2014.

*Clostridium perfringens* is a Gram-positive, anaerobic, rod-shaped, spore forming, oxygen-tolerant anaerobe which is a common inhabitant of the intestine of human beings and animals, but is also found in the environment. *C. perfringens* is classified in five toxinotypes (A-E), according to the production of 4 major toxins (alpha [*plc*], beta [*cpb*], epsilon [*etx*], and iota [*iap and iab*]). The aim of this study is to describe a fatal *C. perfringens* type A infection in an adult dog in Brazil. The animal, a 9-years-old female, showed bloody diarrhea few hours after the ingestion of a “chicken soup” and was found dead approximately 6 hours of the beginning of the clinical signs. The *post mortem* examination revealed duodenal serosa markedly red and filled with a hemorrhagic fluid. The histopathological evaluation showed an extensive intestinal necrosis with large number of cell debris and inflammatory cells in the lumen and intestinal lamina propria. The intestinal content was positive for *C. perfringens* type A and no other enteropathogens were detected. The association between clinical signs, *post mortem* alterations and laboratory exams suggest *C. perfringens* type A infection. The present report is the first description of this disease in a dog in Brazil and highlight the need of more studies to elucidate the predisposing factors of *C. perfringens* associated diarrhea in dogs.

**Keywords:** bloody diarrhea; food poisoning; necrosis; pathology.

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1:** Enterite necro-hemorrágica em um cão por *Clostridium perfringens* tipo A. O intestino é distendido por fluido sanguinolento; a camada da serosa intestinal é totalmente avermelhada..... 16

**Figura 2:** Fotomicrografia do intestino delgado mostrando extensas áreas de necrose do epitélio intestinal misturado com fibrina, os detritos celulares e as células inflamatórias no interior do lúmen. HE, obj. 20x.. .....17

**Figura 3:** Fotomicrografia do intestino delgado mostrando o grande número de bacilos Gram-positivos isolados na superfície da mucosa necrótica. HE, obj. 40x.....17.

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Classificação de <i>Clostridium perfringens</i> em tipos toxigênicos. ....	12
---	----

## **LISTA DE ABREVIATÇÖES E SIGLAS**

CPAD: *Clostridium perfringens* associados à diarréia.

CPE: *Clostridium perfringens* enterotoxinas.

ELISA: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay.

HE: Hematoxilina e Eosina.

PCR: Reaçãõ em Cadeia da Polimerase.

UFPB: Universidade Federal da Paraíba.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. RELATO DE CASO .....	15
2.1. Histórico do Animal.....	15
2.2. Exames <i>post mortem</i> .....	15
2.3. Alterações patológicas observadas no animal.....	16
3. DISCUSSÃO.....	18
4. CONCLUSÃO.....	20
REFERÊNCIAS .....	21

## 1. INTRODUÇÃO

A doença de origem alimentar seja microbiana ou toxinfecções alimentares, o mais importante veículo de transmissão do agente patogênico é o alimento contaminado ingerido (PAIVA et al., 2000). A patologia com origem alimentar ocorre através de uma indevida ingestão de alimentos contaminados com microrganismos ou toxinas patogênicas. Dentre os principais causadores de doenças transmitidas por alimento estão em destaque as bactérias que são divididas em dois grupos: infecciosos (como *salmonella* e *E. coli* patogênica) e intoxicantes como as do gênero *Clostridium*, que produzem suas toxinas tanto nos alimentos quanto durante a sua passagem pelo trato intestinal (PIRES, 2011).

A primeira descrição de um *Clostridium* foi feita em 1880 por Adam Prazmowski. Hoje o gênero é composto por 225 espécies encontradas em áreas geográficas diversas, sendo sua grande maioria constituinte da microbiota intestinal de animais e seres humanos; porém uma minoria das espécies pode ocasionar enfermidades nos seres vivos (LOBATO et al., 2013).

Nos animais a grande maioria dos processos infecciosos e intoxicações são ocasionadas por bactérias do gênero *Clostridium*, conhecidas como as clostridioses. Caracterizada com altas taxas de letalidade, devido sua capacidade de esporulação mantendo-se infectantes no solo por longos períodos, tornando-se um grande risco para a população animal e humana. Porém, raramente são consideradas agentes zoonóticos (LOBATO et al., 2013).

Didaticamente apesar da grande quantidade de Clostrídios conhecida, menos de 20 são patógenos, e de acordo com sua patogenia são divididos em quatro grupos: três destes grupos se baseiam em atividade tóxica nos tecidos afetados, e o quarto grupo contém patógenos de menor importância. Os mais patogênicos são os neurotóxicos e os histotóxicos que podem subsequentemente causar toxemias, como é o caso dos *Clostridium perfringens* (QUINN ET AL., 2002).

O *Clostridium perfringens* é classificado em cinco subtipos (A-E) de acordo com a presença de um ou mais genes das principais toxinas, alfa (*plc*), beta (*cpb*), iota (*iap* e *iab*) e épsilon (*etx*) (Tabela 1). Além das principais toxinas, os *C. perfringens* podem produzir um subconjunto de, pelo menos, dez outros fatores de virulência adicionais, tais como da toxina  $\beta$ -2 (*cpb2*), que tem sido associado com diarreia em cavalos e

leitões (SONGER e UZAL, 2005; HAZLETT, 2011; SILVA et al., 2013a), enterite necrótica pela toxina like-B (*netB*), uma toxina com formação de poros que é descrito como um fator de virulência importante para a enterite necrótica em frangos de corte (KEYBURN et al., 2010) e a enterotoxina (*cpe*), que é responsável pela doença de origem alimentar em humano e tem sido também associada com diarreia em cães (MARKS et al, 2011; SILVA et al., 2013b). Os cinco tipos de *Clostrídios* podem abrigar o gene da enterotoxina, contudo a distribuição global de estirpes enterotoxigênicas é relativamente baixa (cerca de 5%), sendo a maior parte das estirpes pertencentes ao tipo A (GREENE e PRESCOTT, 1998).

**Tabela 1:** Classificação de *Clostridium perfringens* em tipos toxigênicos.

Principais Toxinas					
Tipo	$\alpha$ ( <i>plc</i> )	$\beta$ ( <i>cpb</i> )	$\iota$ ( <i>iap e iab</i> )	$\epsilon$ ( <i>etx</i> )	Enterotoxina
<b>A</b>	+	-	-		+/-
<b>B</b>	+	+	-	+	+/-
<b>C</b>	+	+	-	-	+/-
<b>D</b>	+	-	-	+	+/-
<b>E</b>	+	-	-	-	+/-

+ , Positivo; - , negativo; +/- , positivo e negativo.

Fonte: Greene, 2006.

Segundo Tortora et al., (2005) um dos agentes mais comumente envolvidos em intoxicação alimentar é a bactéria *Clostridium perfringens* que é um bacilo, Gram-positivo, anaeróbio, formador de esporos podendo ser uma das bactérias patogênicas mais comuns, encontrada comumente no solo e no trato intestinal do homem e alguns animais domésticos proliferando rapidamente quando as condições no intestino são propícias (GREENE e PRESCOTT, 1998; FERNANDEZ MIYAKAWA et al., 2000).

A forma mais comum de contaminação ocorre pelos alimentos, geralmente derivados cárneos ou de aves cozidas contendo um grande numero de células viáveis, sendo o *Clostridium perfringens* tipo A o mais comum causador de intoxicações alimentares, produzindo enterotoxinas, tornando-se a enfermidade mais grave denominada enterite necrótica (LABBE, 2001; JAY, 2005).

O tipo A é o *C. perfringens* mais comumente isolado em cães, sendo comumente encontrado em mais de 80% dos cães saudáveis ou com diarreias (MARKS, 2011). Por fazer parte da microbiota normal, o tipo A pode causar casos de diarreia em cães que variam de autolimitante, com diarreia pastosa até casos hemorrágicos agudos (WEESE, 2011; SCHLEGEL et al., 2012). Alguns estudos evidenciam que *C. perfringens* pode estar associado com sinal de leve diarreia intestinal ou doença difusa do intestino delgado e grosso (GREENE e PRESCOTT, 1998; WEESE et al., 2001). Quando se caracteriza no intestino grosso como um agente patogênico resulta em achados clínicos com aumento do patógeno no muco fecal, associado a aumento da frequência de defecação, tenesmo e hematoquezia (GREENE e PRESCOTT, 1998). No intestino delgado pode variar desde levemente sintomática e autolimitante até casos de diarreia hemorrágica aguda, potencialmente fatal, com inflamação grave da mucosa intestinal (GREENE e PRESCOTT, 1998).

Para diagnóstico de *Clostridium perfringens* associados à diarreia em cães (CPAD), ainda não existe um padrão-ouro. Baseando-se assim no diagnóstico presuntivo, que é dado pelas evidências clínicas e epidemiológicas associadas à detecção de um grande número de *C. perfringens* ou seus endósporos em esfregaços fecais (= 3 por campo no microscópio em grande aumento) (GREENE, 2006). Laboratorialmente também se diagnostica por cultura semiquantitativa anaeróbica dos alimentos ou fezes, se possível associada à genotipagem por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) para detecção do gene *cpe*, responsável pela codificação da enterotoxina. Considera-se positiva uma contagem igual ou superior a 10<sup>6</sup> unidades formadoras de colônias por grama (UFC/g) em fezes e igual ou superior a 10<sup>5</sup> UFC/g em alimentos. Há ainda kits de ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) disponíveis no mercado para detecção da enterotoxina diretamente no conteúdo fecal (PIRES et al., 2011).

Vale ressaltar que a sensibilidade dos métodos imunológicos são extremamente importantes, pois a patologia associada com CPE (*C. perfringens* enterotoxinas) depende da concentração de CPE presente no lúmen intestinal, já que até 14% dos cães saudáveis têm concentrações detectáveis de CPE (GREENE e PRESCOTT, 1998). Mas no geral, o diagnóstico é ainda baseado na quantificação e genotipagem de *C. perfringens* a partir do alimento e fezes suspeitas. Nos cães, o diagnóstico das enterites

causadas por *C. perfringens* requer, além dos sinais clínicos, achados anatomopatológicos, o isolamento e a identificação do agente (PIRES et al., 2011).

O tratamento varia, sendo comumente baseado na antibioticoterapia (parenteral ou via ração). Independente do grau da enterotoxemia, os cães devem ter um tratamento antimicrobiano adequado. Geralmente os antibióticos recomendados para tratar cães com CPDA são: ampicilina, eritromicina, metronidazol, tilosina e tetraciclina (GREENE e PRESCOTT, 1998). Nos animais, a erradicação das enterites por *C. perfringens* é praticamente impossível, devido às características ecológicas do agente e a sua forma esporulada de resistência, com isso seu controle e a profilaxia devem se basear em medidas adequadas de manejo e em vacinações sistemáticas (GREENE, 2006; PIRES et al., 2011).

Apesar da conhecida importância do CPAD em cães, a patogênese e os fatores predisponentes ainda não são bem compreendidos, o que dificulta o diagnóstico. À luz disto, o objetivo deste estudo é relatar a primeira descrição no Brasil de enterite hemorrágica fatal em um cão adulto causada por *C. perfringens* tipo A.

## 2. RELATO DE CASO

### 2.1. Histórico do Animal

Em 20 de novembro de 2013, um animal da espécie canina, fêmea, da raça Poodle, de nove anos de idade, foi apresentado a uma clínica veterinária local com história de diarreia com sangue e vômito. O proprietário relatou que os respectivos sinais clínicos começaram algumas horas após a ingestão de uma "canja de galinha". Normalmente, o cão era alimentado com uma dieta comercial regular. O cão também não tinha histórico de outras doenças nos últimos meses, estava em dia com suas vacinas e vermifugação. Na clínica veterinária o animal foi submetido à terapia com trimetoprim / sulfadiazina e fluidoterapia. Apesar do tratamento, o animal foi encontrado morto 12 horas após o início dos sinais clínicos. Após óbito o corpo foi encaminhado para o Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Brasil, para realização de exames *post-mortem* no laboratório de Histopatologia Veterinária do Hospital Veterinário da UFPB.

### 2.2. Exames *post-mortem*

Foi realizada a necropsia completa e coletados fragmentos do intestino e todos os outros órgãos, que foram fixados em formalina a 10% tamponada. Após a fixação as amostras foram processadas rotineiramente para exame histopatológico, seccionadas a 4 µm e corados com Hematoxilina e Eosina (HE).

O conteúdo intestinal foi coletado e submetido para o Laboratório de Bacterioses e Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais para realização dos seguintes exames laboratoriais: detecção de rotavírus por eletroforese em gel de poliacrilamida seguida por coloração de prata (HERRING et al., 1982); parvovirose, coronavirus e detecção de *Giardia lamblia* por imunocromatografia (Bionote, Gyeonggi-do, Coreia do Sul); isolamento quantitativo e genotipagem de *C. perfringens* e *Clostridium difficile* (SILVA et al., 2013) (SILVA et al., 2011); detecção de enterotoxinas de *C. perfringens* através de um ensaio imunoenzimático (ELISA) kit (*Clostridium perfringens* RIDASCREEN® Enterotoxin - R-Biopharm, Alemanha); detecção das toxinas A/B para *C. difficile* por ELISA (*C. difficile* Tox A / B II - techlab Inc., EUA); cultura

bacteriológica de rotina para bactérias aeróbias em MacConkey (BioBrás®, Prodimol Biotechnology) e de agár Muller-Hinton suplementado com 5% de sangue equino (Difco Laboratories, EUA); cultura de *Salmonella spp* em Hecton e XLT4 agár (BioBrás®, Prodimol Biotecnologia).

### 2.3. Alterações patológicas observadas no animal

Durante o exame *post-mortem*, o intestino delgado estava distendido por conteúdo líquido hemorrágico e gás, com a serosa marcadamente avermelhada e recoberta com material fibrinonecrótico, observou-se também que o baço estava marcadamente congesto (Figura 1).

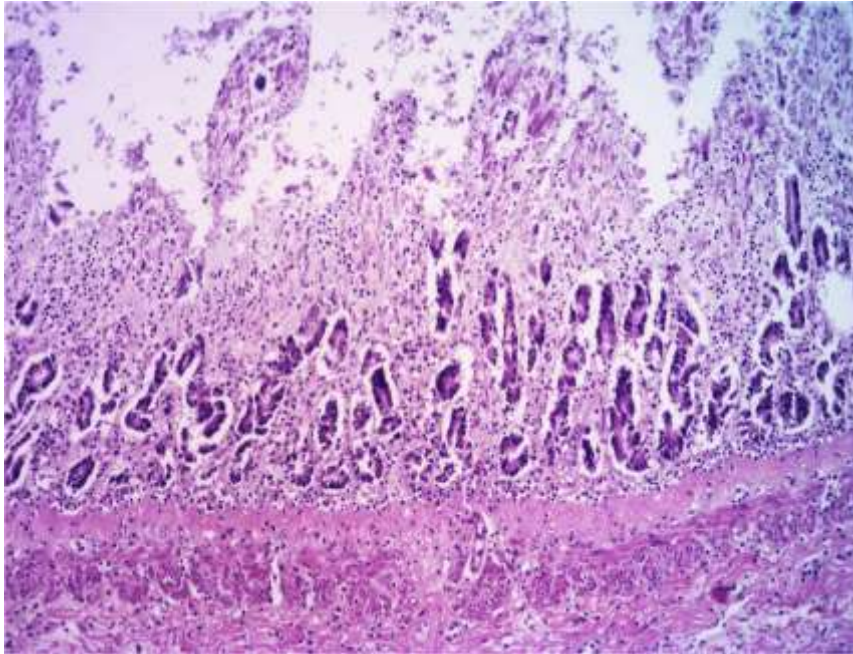


**Figura 1: Enterite necro-hemorrágica em um cão por *Clostridium perfringens* tipo A. O intestino esta distendido por fluido sanguinolento; a camada da serosa intestinal esta totalmente avermelhada.**

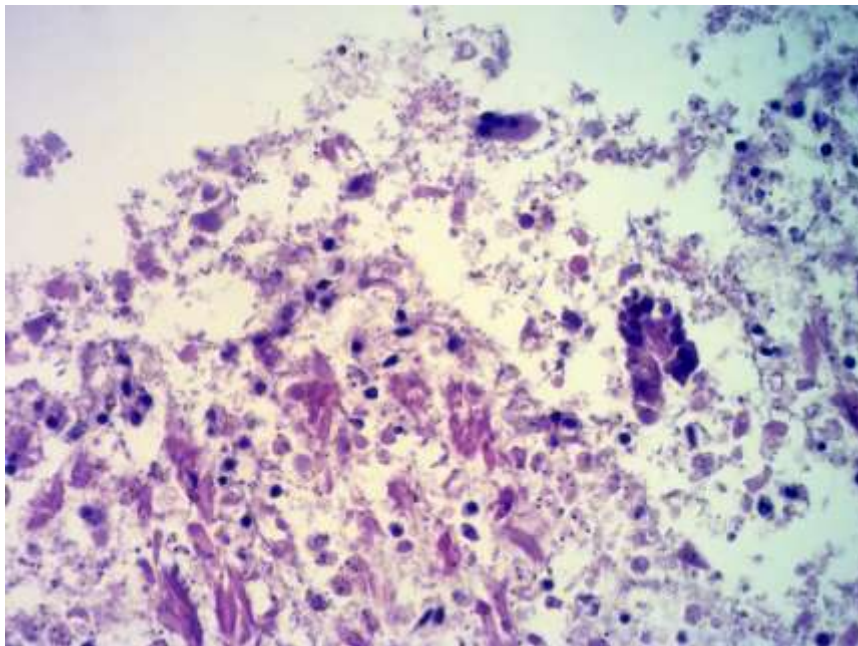
No exame histopatológico observou-se colapso com perda de vilosidades e criptas foram observados. O remanescente das vilosidades mostrou necrose de coagulação marcada com desnudação devido à perda de células epiteliais e de infiltração de neutrófilos e fibrina. Restos celulares e eritrócitos foram observados na superfície mucosa. Na lâmina própria e na submucosa estavam intensamente expandidas por edema, hemorragia e infiltrado inflamatório severo composto por plasmócitos,

linfócitos e neutrófilos (**Erro! Fonte de referência não encontrada.**). Numerosos bacilos Gram-positivos foram vistos na superfície da mucosa necrótica (FIGURA 3).

Os vasos sanguíneos da submucosa estavam marcadamente congestionados, cercados por edema e obstruídos por trombos de fibrina. Edema pulmonar foi observado nos espaços alveolares e havia também algumas áreas multifocais de hemorragia.



**Figura 2:** Fotomicrografia do intestino delgado mostrando extensas áreas de necrose do epitélio intestinal misturado com fibrina, os detritos celulares e as células inflamatórias no interior do lúmen. HE, obj. 20x.



**Figura 3:** Fotomicrografia do intestino delgado mostrando o grande número de bacilos Gram-positivos isolados na superfície da mucosa necrótica. HE, obj. 40x.

### 3. DISCUSSÃO

A infecção ou a provável intoxicação alimentar relatada, é oriunda provavelmente da ingestão do alimento (“canja de galinha”), contendo toxinas microbianas pré-formadas. Estas toxinas são produzidas durante a intensa proliferação do microrganismo patogênico no alimento, resultando na deterioração microbiana nos quais, utilizam o alimento como fonte de energia (FRANCO e LADGRAF, 2005). O animal neste caso sofreu uma provável alteração em sua microbiota intestinal que era regulamente adaptada a uma dieta regular (ração balanceada), havendo uma brusca mudança alimentar através da ingestão do alimento caseiro (“canja de galinha”), provavelmente contendo células viáveis do microrganismo patogênico. Este microrganismo aderiu à mucosa do intestino proliferando-se e colonizando-a, produzindo toxinas que alteram o funcionamento das células do tecido gastrointestinal (FRANCO e LADGRAF, 2005).

Segundo Hobbs (1979), o período de incubação da intoxicação causada pelo *Clostridium perfringens* é de 8 a 22 horas, semelhante ao caso relatado onde os sinais clínicos deram início logo após a ingestão do alimento provavelmente contaminado com um número elevado de células viáveis de *C. perfringens* (PIRES, 2011). Na literatura, incluindo o atual relato, confirmam que alimentos a base de carne bovina e frango têm sido os principais causadores de infecção por *C. perfringens* (GENIGEORGIS, 1975; SERRANO, 1976; HOBBS, 1979; FRANCO E LADGRAF, 2005).

A evolução clínica aguda experimentada neste caso, menos de 24 horas desde o início dos sinais clínicos até a morte, e também as alterações macroscópicas e histopatológicas colabora com os achados descritos para CPDA em cães (SASAKI et al., 1999; WEESE, 2011; MARKS et al., 2011; SCHLEGEL et al., 2012) que também já foram descritos em outras espécies (BUESCHEL et al., 1998; SONGER E UZAL, 2005). Mas de qualquer forma, esses achados não são patognomônicos, assim diagnóstico diferencial para alguns outros enteropatógenos é necessário para confirmar o diagnóstico da doença.

*C. perfringens* foi isolado em uma concentração de  $2 \times 10^3$  UFC / mL do conteúdo duodenal. A estirpe isolada foi genotipada como tipo A (positivo para *plc*) e negativa para o gene da enterotoxina (*cpe*), gene da toxina  $\beta$ -2 (*cpb2*) e enterite necrótica como gene da toxina like-B (*netB*). As colônias de *Escherichia coli* foram

obtidas na cultura bacteriológica de rotina de amostras de fezes, porém nenhum fator de virulência foi detectado por PCR (MACÊDO et al., 2007). O conteúdo do intestino foi também negativo para todos os outros exames, por isso, o envolvimento de *Giardia spp.*, *Clostridium difficile*, *Salmonella spp.*, rotavírus e coronavírus foram descartados neste caso. O conteúdo do intestino foi também negativo para enterotoxinas de *C. perfringens* por ELISA.

No presente relato, o conteúdo intestinal foi negativo para a enterotoxina e cepas de *C. perfringens cpe<sup>-</sup>* foram isoladas, sugerindo que a enterotoxina não estava envolvida no presente caso. Alguns estudos relataram uma associação entre a detecção de enterotoxina com cepas de *C. perfringens cpe<sup>+</sup>* e diarreia em cães (MARKS, 2011; POPOFF e BOUVET, 2013; SILVA et al., 2013), mas não há confirmação de que esta toxina poderá desempenhar um papel no desenvolvimento de CPAD em cães. Em vários relatos de casos, incluindo o atual, enterotoxinas não foram detectadas no conteúdo intestinal e cepas de apenas *C. perfringens cpe<sup>-</sup>* foram isoladas (SASAKI et al., 1999; RUDMANN et al., 2003; WEESE, 2011; MARKS et al., 2011; BUSCH et al., 2014).

Sabe-se que dietas com alto teor de proteína pode predispor o crescimento excessivo de *Clostridium perfringens* no intestino. Assim, podemos especular que o "canja de galinha" pode ter alguma influência nesse caso (NEIFFER et al., 2001) e mais recentemente, Zhang et al. (2012) relataram casos de infecção por *C. perfringens* tipo A em felinos selvagens de cativeiro associado a uma dieta baseada em carne de frango. Nesses relatos um tigre siberiano (*Panthera tigris altaica*), um leão (*Panthera leo*) e um tigre de amur (*Panthera pardus orientalis*) foram infectados e posteriormente desenvolveram depressão, anorexia e diarreia sanguinolenta, que rapidamente levou à morte. Necrose intestinal hemorrágica extensa foi visto. Ambos os autores sugerem que uma dieta rica em proteínas (com base em carne de frango) poderia ter contribuído para o desenvolvimento da doença nestes três animais (NEIFFER et al., 2001; ZHANG et al., 2012). Os autores não foram capazes de confirmar esse fator predisponente e o papel da ingestão de uma "canja de galinha" é novamente apenas especulativa. Também é importante notar que, semelhante ao presente relato, nestes três casos, apenas *C. perfringens cpe<sup>-</sup>* foi isolado.

#### 4. CONCLUSÃO

Todos os outros enteropatógenos mais comuns que podem causar diarreia sanguinolenta e enterite hemorrágica foram descartados neste caso. Além disso, a evolução clínica e as alterações *post-mortem* corroboram os achados de CPAD em cães e também em outras espécies, como equinos e leitões. Esta parece ser a primeira descrição da doença em um cão adulto no Brasil e destaca a necessidade de mais estudos para elucidar os fatores predisponentes de *C. perfringens* associados à diarreia e morte em cães.

## REFERÊNCIAS

BUESCHEL D. et al. Enterotoxigenic *Clostridium perfringens* type A necrotic enteritis in a foal. **J Am Vet Med Assoc.** 1998 Nov 1;213(9):1305-7, 1280.

BUSCH. *Clostridium perfringens* enterotoxin and *Clostridium difficile* toxin A/B in dogs with acute hemorrhagic diarrhoea syndrome.

FERNANDEZ MIYAKAWA, M. E.; IBARRA, C. A.; UZAL, F. A. In vitro effects of *Clostridium perfringens* type D epsilon toxin on water and ion transport in ovine and caprine intestine. **Anaerobe**, [Maryland Heights], 2000. v. 9. p. 144-149.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, Mariza. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2005.

GENIGEORGIS, C. Public health importance of *Clostridium perfringens*. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, California, v. 167, n. 9, p. 821-827, sep. 1975.

GREENE, C. E.; PRESCOTT, J. F. 1998. **Streptococcal and other gram-positive bacterial infections**, p. 205-213. In C. E. Greene (ed.), *Infectious diseases of the dog and cat*, 2nd ed. W. B. Saunders, Philadelphia, Pa.

GREENE, C.E. **Infectious Diseases:** of the dog and cat. 3. ed. St. Louis, Missouri: Saunders Elsevier, 2006.

GOLDSTEIN M.R. et al.. Detection and characterization of *Clostridium perfringens* in the feces of healthy and diarrheic dogs. **Can J Vet Res.** 2012 Jul;76(3):161-5. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3384277/> >. Acesso em: 07 ago. 2014.

HAZLETT M.J. et al. Beta 2 toxigenic *Clostridium perfringens* type A colitis in a three-day-old foal. **J Vet Diagn Invest.** 2011 Mar;23(2):373-6. Disponível em: < <http://vdi.sagepub.com/content/23/2/373.full.pdf+html> >. Acesso em: 07 ago. 2014. doi: 10.1177/104063871102300232

HERRING A.J. et al. Rapid diagnosis of rotavirus infection by direct detection of viral nucleic acid in silver-stained polyacrylamide gels. **Journal of Clinical Microbiology**,

v.16, p.473-477.

HOBBS, B.C. *Clostridium perfringens* gastroenteritis. In: **Foodborne infection and intoxications**. New York: Academic Press, 1979. v. 1, cap. 3, p. 131-147.

JAY, J.M. **Microbiologia de alimentos**, Porto Alegre: Artmed, 2005. pág 771.

KEYBURN A.L. et al. NetB, a Pore-Forming Toxin from Necrotic Enteritis Strains of *Clostridium perfringens*. **Toxins**, v.2, p.1913-27, 2010

LABBE, R.G. *Clostridium perfringens*. In: **Compendium of methods for the microbiological examinations of foods**. ed. 4. Washington: American Public Health Association-APHA, 2001. pág 676.

LAWRENCE, G. The pathogenesis of pig-bel in Papua New Guinea. 1979. **P N G Med J**. 2005 Mar-Jun;48(1-2):39-49.

LOBATO, F.C.F. et al. Clostrídioses dos animais de produção. **Veterinária e Zootecnia**, Minas Gerais, v. 20 (Edição Comemorativa), p. 29-48, ISSN 2178-3764, jan. 2013.

MACÊDO, N.R. et al. Detecção de cepas patogênicas pela PCR multiplex e avaliação da sensibilidade an antimicrobianos de *Escherichia coli* isoladas de leitões diarreicos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária Zootecnia**, v.59, p.1117-1123, 2007

MARKS, S.L. et al. Enteropathogenic bacteria in dogs and cats: diagnosis, epidemiology, treatment, and control. **J Vet Intern Med**. 2011 Nov-Dec;25(6):1195-208. doi: 10.1111/j.1939-1676.2011.00821.x. Epub 2011 Nov 1.

NEIFFER, D.L. *Clostridium perfringens* enterotoxigenesis in two Amur leopards (*Panthera pardus orientalis*). **J Zoo Wildl Med**. 2001 Mar;32(1):134-5.

PAIVA, C.P.; BORGES, R.G.; PANETTA, J.C. Frequência de quadros gastroentéricos em aeronautas: Pressuposta ligação com toxinfecções alimentares. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 14, n. 75, p. 13-23, fev. 2000.

PIRES, C.E.T. **Principais bactérias presentes em doenças transmitidas por alimentos (DTAs)**. 2011. 118 f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em

Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2011.

PIRES, P.S.; SILVA, R.O.S.; LOBATO, F.C.F. **Clostridiose Alimentar (*C. perfringens*)**. 2011. 7 f. Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, 2011.

POPOFF, M.R.; Bouvet, P. Genetic characteristics of toxigenic Clostridia and toxin gene evolution. **Toxicon**. 2013 May 23. pii: S0041-0101(13)00184-0. doi: 10.1016/j.toxicon.2013.05.003

QUINN, P.J. et al. Gênero *Clostridium*. In: **Microbiologia Veterinária e Doenças Infeciosas**. ed. 1. São Paulo: Artmed, 2002. Cap. 16, pag. 94-104.

RUDMANN, D.G. & VANDEREIDE S.L. Necrotizing enterotyphlocolitis in dogs treated with a potent antimuscarinic. **Veterinary Pathology**, v.40, n.6, p.710-713, 2003

SASAKI, J. et al. Hemorrhagic enteritis associated with *Clostridium perfringens* type A in a dog. **J Vet Med Sci**. 1999 Feb;61(2):175-7.

SCHLEGEL, B.J. et al. *Clostridium perfringens* type A fatal acute hemorrhagic gastroenteritis in a dog. **Can Vet J**. 2012 May;53(5):555-7.

SERRANO, A.M. **Incidência de *Clostridium perfringens* em alimentos, um surto de intoxicação e evidenciação da prova de lecitinase**. 1976. f. 112. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola, Universidade Estadual de Campinas, 1976.

SILVA, R.O.S. et al. Detection of toxins A/B and isolation of *Clostridium difficile* from piglets in Brazil. **Cienc Rural**. 2011; 41:1130-1135.

SILVA, R.O.S. et al. Detection of toxins A/B and isolation of *Clostridium difficile* and *Clostridium perfringens* from dogs in Brazil. **Braz J Microbiol** 2013b. In press.

SILVA, R.O.S. et al. Neonatal diarrhea in piglets associated with cpb-2 positive *Clostridium perfringens*. **Braz J Vet Pathol** 2013a; 6: 11–14.

SILVA, R.O.S. et al. Detection of A/B toxin and isolation of *Clostridium difficile* and *C. perfringens* from foals. **Equine Vet J** 2013c; ahead of print. doi: 10.1111/evj.12046

SONGER, J.G. & GLOCK, R.D. Enteric infection of swine with *Clostridium perfringens* types A and C. **J Swine Health Prod** 1998; 6(5):223-225.  
SONGER, J.G.; UZAL, F.A. Clostridial enteric infections in pigs. **J Vet Diagn Invest.** 2005 Nov; 17(6):528-36.

TOTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. **Microbiologia**. Ed . 2. São Paulo, Atheneu, 1998. pág. 398.

VIEIRA A.A.S. et al. Genotipagem de *Clostridium perfringens* isolados de leitões diarréicos. **Arq Instit Biolog** 2008; 75: 513-516.

WEESE, JS. Bacterial enteritis in dogs and cats: diagnosis, therapy, and zoonotic potential. **Vet Clin North Am Small Anim Pract.** 2011 Mar; 41 (2):287-309. doi: 10.1016/j.cvsm.2010.12.005.

ZHANG, Y. et al. Hemorrhagic enterocolitis and death in two felines (*Panthera tigris altaica* and *Panthera leo*) associated with *Clostridium perfringens* type A. **J Zoo Wildl Med** 2012; 43(2):394-6.