

Edema maligno em equino causado por *Clostridium chauvoei*

Malignant Edema Caused by *Clostridium chauvoei* in a Horse

Juliana Targino Silva Almeida e Macêdo¹, Prhiscylla Sadanã Pires², Emmanuel Emydio Gomes Pinheiro¹,
Ricardo Santana de Oliveira¹, Rodrigo Otávio Silveira Silva²,
Francisco Carlos Faria Lobato² & Pedro Miguel Ocampos Pedroso¹

ABSTRACT

Background: Malignant edema occurs when a wound is contaminated by one or a combination of the following bacteria: *Clostridium septicum*, *C. sordellii*, *C. chauvoei*, *C. novyi* type A, and *C. perfringens* type A. Although malignant edema has been recognized as a disease of economic importance in domestic ruminants, it has rarely been reported in horses in Brazil. Immunohistochemistry is a method that combines histological, immunological and biochemical techniques which, with the use of specific antibodies, detects the agent in situ. This paper reports a case of malignant edema by *Clostridium chauvoei* in a horse in Bahia, Brazil.

Case: A 4.5-year-old male horse was submitted for necropsy. The clinical history was obtained from the owner. Samples from the abdominal cavity, thoracic cavity, central nervous system and integumentary system were collected. The samples were fixed in 10% formalin, processed routinely for histology, embedded in paraffin, sectioned at five microns, and stained with hematoxylin and eosin. Additionally, histological sections were subjected to immunohistochemistry anti-*Clostridium perfringens* type A, *C. septicum*, *C. chauvoei*, *C. novyi* type A, and *C. sordellii*. Positive and negative controls were included. The animal presented difficulty in walking, swelling of the pelvic limbs two days after intramuscular anti-inflammatory treatment, and died seven hours after the onset of clinical signs. Macroscopically, large amounts of hemorrhagic edema and tissue emphysema in the subcutaneous tissue and skeletal muscles were seen. Microscopically, there was moderate bleeding, particularly in subcutaneous areas and between myofiber bundles, with few and discrete degeneration foci. Immunohistochemistry technique was positive for *Clostridium chauvoei*.

Discussion: The diagnosis of malignant edema was confirmed considering clinical and pathological alterations as well as the positive immunohistochemistry result for *Clostridium chauvoei*. Cases of malignant edema are occasionally observed in horses, and *Clostridium perfringens* and *Clostridium septicum* are the major etiological agents involved. Two cases have been reported in Brazil, both caused by *Clostridium septicum*. As in the present report, the animals developed the disease after administration of intramuscular anti-inflammatory medication. The clinical course of the disease in horses is considered severe, with the first clinical signs occurring between 24 and 48 h post infection. Clinical signs, particularly the marked difficulty in walking, edema, and crepitus of the affected areas, may be considered characteristic. The pathological findings were similar to those described by other authors, which are attributed to toxins produced by the bacteria; however, the lesions described in this study were similar to those reported in less severe infections by *Clostridium septicum*. Bacterial culture and polymerase chain reaction (PCR) are standards for the identification of *Clostridium* species; however, immunohistochemistry is considered a very sensitive and specific diagnostic technique. To control the disease, animals may be treated with high doses of penicillin or broad-spectrum antibiotics, which are efficient when used during the early stages of the disease. Prophylactic measures include good hygiene while handling syringes and surgical instruments, as well as annual vaccination of the animals.

Keywords: horse, *Clostridium chauvoei*, pathology, immunohistochemistry, Bahia.

Descritores: equino, *Clostridium chauvoei*, patologia, imuno-histoquímica, Bahia.

INTRODUÇÃO

Clostrídios histotóxicos são patógenos comuns em humanos e animais capazes de causar miossites necrosantes, como edema maligno e carbúnculo sintomático. O edema maligno ocorre por contaminação de ferimentos por bactérias, de forma isolada ou em associação pelos seguintes microrganismos: *C. septicum*, *C. sordellii*, *C. chauvoei*, *C. novyi* tipo A e *C. perfringens* tipo A [2]. Embora o edema maligno tenha reconhecida importância econômica para os ruminantes domésticos, é raramente descrito em equinos no Brasil [10]. Independentemente da espécie acometida, o diagnóstico é feito, na grande maioria dos casos, baseado em sinais clínicos e/ou lesões de necropsia, sendo raros os relatos de confirmação laboratorial e, quando realizado, o diagnóstico etiológico tem sido baseado apenas no isolamento bacteriológico. O presente trabalho descreve os achados clínico-patológicos e imuno-histoquímicos de edema maligno em um equino causado por *C. chauvoei*.

CASO

Um equino, macho, sem raça definida, de 4,5 anos de idade foi encaminhado para necropsia. O histórico clínico foi obtido com o proprietário. Durante a necropsia, fragmentos de diversos órgãos foram coletados e fixados em formol 10%, processados de forma rotineira para histologia e corados pela hematoxilina e eosina. Adicionalmente, cortes histológicos foram submetidos à imuno-histoquímica (IHQ) anti-*C. perfringens* tipo A, *C. septicum*, *C. chauvoei*, *C. novyi* tipo

A e *C. sordellii* pelo método da estreptavidina-biotina ligada à peroxidase. Foram inseridos controles positivo e negativo para realização da técnica [1].

O caso ocorreu no município de Cruz das Almas, Bahia, Brasil. A partir de informações do proprietário, o equino era usado no serviço de campo da fazenda e havia se machucado dois dias antes. Foi realizado tratamento com antiinflamatório intramuscular no membro pélvico (músculo glúteo). Dois dias após o procedimento, o animal apresentou dificuldade de locomoção e aumento de volume dos membros pélvicos que se estendia até região abdominal ventral. Segundo o proprietário, a agulha que era utilizada nos procedimentos era lavada e reutilizada para outras aplicações de medicamentos. Cerca de sete horas após o aparecimento dos sinais clínicos, o animal veio a óbito e foi imediatamente encaminhado para realização de necropsia. Na necropsia observou-se aumento de volume nos dois membros pélvicos e região abdominal ventral (Figura 1), com presença de edema e crepitação na palpação. Ao corte havia hemorragia multifocal no tecido subcutâneo em forma de petéquias e equimoses (Figura 2), na musculatura esquelética havia petéquias além de bolhas de gás com odor rançoso. Na microscopia havia áreas multifocais e moderadas de hemorragia e enfisema principalmente no subcutâneo e entre os feixes de miofibras. Focos de degeneração de miofibras foram raros e discretos. Na imuno-histoquímica houve imunomarcagem positiva apenas para *C. chauvoei* (Figura 3). Os controles utilizados foram positivos e negativos respectivamente.



Figura 1. Aumento de volume nos dois membros pélvicos e região abdominal ventral de equino com edema maligno.



Figura 2. Hemorragia multifocal no tecido subcutâneo de equino em forma de petéquias e equimoses.

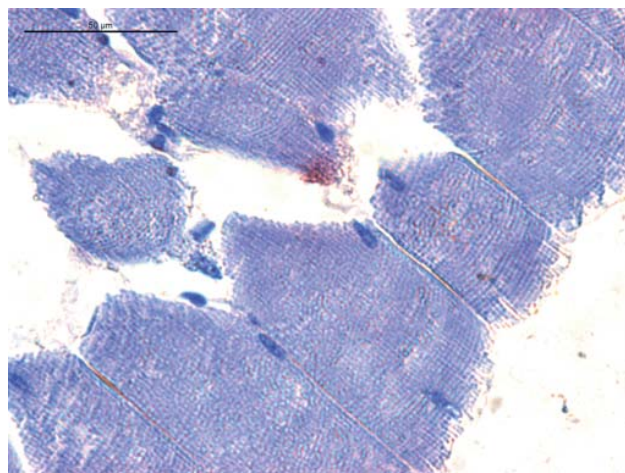


Figura 3. Imunomarcção positiva para *Clostridium chauvoei*. Imuno-histoquímica pelo método biotina-estreptavidina-peroxidase e c ontra-corada com hematoxilina [Bar: 50 µm].

DISCUSSÃO

O diagnóstico de edema maligno foi firmado a partir das alterações clínico-patológicas e pela imuno-histoquímica positiva para *C. chauvoei*. Considerados menos suscetíveis do que os ruminantes domésticos [6], casos de edema maligno são esporadicamente observados em equinos, sendo *C. perfringens* e *C. septicum* os principais agentes envolvidos [4,7]. No Brasil, existe um relato sobre dois casos de edema maligno, ambos causados por *C. septicum*, e como no presente trabalho, os animais desenvolveram a doença após aplicação de medicamento antiinflamatório intramuscular [8]. Os membros pélvicos, pescoço (músculo cervical) e peito, são locais de eleição para aplicações intramusculares em equinos e são as regiões mais frequentemente afetadas [7]. A falta de assepsia do local de aplicação de injeções e a reutilização de agulhas podem permitir a contaminação do sítio de inoculação com clostrídios histotóxicos.

A evolução clínica da doença em equinos é considerada aguda, com os primeiros sinais clínicos ocorrendo entre 24 e 48 h pós-infecção, podendo ser de até duas semanas [8]. Geralmente, não há necrose,

porém em alguns casos há intensa miosite necrótica [6,8]. Os achados patológicos encontrados foram semelhantes aos descritos por Murphy [5], sendo atribuídas às toxinas produzidas por esta bactéria [3], no entanto, as lesões descritas neste trabalho foram menos intensas daquelas relatadas na infecção por *C. septicum* [8]. A bacteriologia e a PCR são exames padrões para a identificação da espécie de *Clostridium*, no entanto a técnica de IHQ utilizada é considerada bastante sensível e específica para confirmação do diagnóstico [1]. Para o controle da doença, os animais podem ser tratados com altas doses de penicilina ou antibióticos de amplo espectro [7]. Para a profilaxia é importante a higienização das seringas e instrumentos cirúrgicos, além de vacinação anual.

Funding. O trabalho foi financiado pela Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Pró-Reitoria de Pesquisa da UFMG.

Declaration of interest. The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of the paper.

REFERENCES

- 1 Assis R.A., Lobato F.C.F., Serakides R., Santos R.L., Dias G.R.C., Nascimento R.A.P., Abreu V.L.V, Parreiras P.M. & Uzal F.A. 2005. Immunohistochemical detection of Clostridia species in paraffin-embedded tissues of experimentally inoculated guinea pig. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 25(1): 4-8.
- 2 Assis R.A., Lobato F.C.F., Nascimento R.A.P., Maboni F., Pires P.S., Silva R.O.S., Salvarini F.M. & Vargas A.P.C. 2010. Mionecroses clostridiais bovinas. *Arquivos do Instituto Biológico*. 77(2): 331-334.

- 3 Frey J., Johansson A., Bürki S., Vilei E.M. & Redhead K. 2012. Cytotoxin CctA, a major virulence factor of *Clostridium chauvoei* conferring protective immunity against myonecrosis. *Vaccine*. 30(37): 5500-5505.
- 4 Jeanes L.V., Magdesian K.G., Madigan J.E. & Meagher D. 2001. Clostridial myonecrosis in horses. *Compendium on Continuing Education for the practicing Veterinarian*. 23(6): 577-587.
- 5 Murphy D.B. 1980. *Clostridium chauvoei* as the cause of malignant edema in a horse. *Veterinary Medicine, Small Animal Clinician*. 75(7): 1152-1154.
- 6 Odendaal M.W. & Kriek N.P.J. 2004. *Clostridium septicum* infections. In: Coetzer J.A.W. & Tustin R.C. (Eds). *Infectious Diseases of Livestock*. Cape Town: Oxford University Press, pp.1869-1873.
- 7 Peek S.F. Semrad S.D. & Perkins G.A. 2003. Clostridial myonecrosis in horses (37 cases 1985-2000). *Equine Veterinary Journal*. 35(1): 86-92.
- 8 Raymundo D.L., Pavarini S.P., Bezerra Júnior P.S., Antoniassi N.A.B., Bandarra P.M., Bercht B.S., Gomes M.J.P. & Driemeier D. 2010. Mionecrose aguda por *Clostridium septicum* em equinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 30(8): 637-640.