

ISOLAMENTO DE *Bacillus anthracis* DE EQUINO NO RIO GRANDE DO SUL

ISOLATION OF *Bacillus anthracis* OF AN EQUINE IN RIO GRANDE DO SUL

AISLAMIENTO DE *Bacillus anthracis* EQUINO EN EL RIO GRANDE DO SUL

KREWER, C.C.^{1*}; KOLLING, L.²; WITT, N. B. M.³; KURTZ, M. F.⁴; VARGAS, A. C.⁵

RESUMO

O Carbúnculo Hemático é uma doença infecciosa altamente fatal que acomete várias espécies animais, especialmente herbívoros e humanos. O agente etiológico é o *Bacillus anthracis*, bactéria gram positiva, aeróbica e formadora de esporos, os quais infectam os animais principalmente por ingestão a partir de pastagens de solos contaminados. Esta enfermidade tem sido descrita mundialmente, sendo que no Brasil é considerada esporádica. No Rio Grande do Sul, embora tenha sido relatada em ovinos, caprinos e suínos, a doença não é comumente descrita em eqüinos. Foi enviado ao Laboratório de Bacteriologia da Universidade Federal de Santa Maria, RS, fragmento de orelha de um eqüino oriundo do município de Santana do Livramento, RS, com suspeita de Carbúnculo Hemático. No exame microbiológico foi isolado e identificado *Bacillus anthracis*. Não foi possível estabelecer a origem da infecção, porém o fato de que os animais não eram vacinados pode ter favorecido a ocorrência do caso. Após a instituição da vacinação na propriedade, não ocorreram novos casos da doença. Devido à escassez de relatos de Carbúnculo Hemático em eqüinos no estado e ao potencial zoonótico do agente, ressalta-se a importância do diagnóstico laboratorial para confirmação do diagnóstico, bem como a notificação às autoridades sanitárias visando à prevenção da disseminação da doença. Alerta-se ainda para que medidas de controle e profilaxia da enfermidade sejam aplicadas, a fim de reduzir os prejuízos econômicos associados à morte de animais de alto valor comercial e os riscos de infecção para humanos.

PALAVRAS-CHAVE: Carbúnculo Hemático, doença infecciosa, eqüinos.

ABSTRACT

Anthrax is a fatal infectious disease that affects many animal species, mainly herbivorous and human. The etiologic agent is *Bacillus anthracis*, gram positive bacterium, aerobic and spore former, which infect animals most of the time by ingestion of pastures from contaminated grounds. This illness has been described worldwide,

1 - Acadêmica, Curso de Medicina Veterinária, UFSM. Prédio 44, sala 5137, CCR, UFSM, 97105-900, Santa Maria, RS. E-mail: carikrewer@hotmail.com

2 - Médica Veterinária, Mestranda no Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária. (PPGMV), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Prédio 44, sala 5137, CCR, UFSM, 97105-900, Santa Maria, RS.

3 - Médica Veterinária, Autônoma, Av. Evandro Behr, 1722/203, 97110-620, Santa Maria, RS.

4 - Médico Veterinário, Doutor, Professor Adjunto, Departamento de Morfologia, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Prédio 19, UFSM, 97105-900, Santa Maria, RS.

5 - Médica Veterinária, Doutora, Professor Adjunto, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva (DMVP), Centro de Ciências Rurais (CCR), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Prédio 44, sala 5137, CCR, UFSM, 97105-900, Santa Maria, RS.

being that in Brazil it is considered sporadic. In Rio Grande do Sul, though it has been reported in ovine, caprine and swine, the disease usually does not take place in equine. Fragments from an equine ear has been sent from a city called Santana do Livramento, to the Laboratory of Bacteriology of the Federal University of Santa Maria, Rio Grande do Sul, with suspicion of anthrax. Using smear in blade and bacteriologic culture, the identification of the agent was confirmed. It was not possible to establish the origin of the infection, however, the fact of the animals were not vaccinated could favored the incident. After the institution of the vaccination in the property, cases of this disease did not occurred. Due to the shortage of reports about anthrax in equine in the state and to the zoonotic potential of *B. anthracis*, the importance of the laboratorial diagnosis is emphasized for confirmation of the agent and prevention the dissemination of the disease. Alert still to that measures of control and preventive medicine of the illness be applied, in order to reduce the economical damages associated with the death of animals of high commercial value and to the risks of human infections.

KEY-WORDS: Anthrax, infectious disease, equine.

INTRODUÇÃO

O Carbúnculo Hemático é uma doença infecciosa altamente fatal que acomete várias espécies animais, principalmente herbívoros e humanos (PARKINSON et al., 2003). A enfermidade, uma das mais antigas zoonoses conhecidas, é causada pelo *Bacillus anthracis*, bactéria gram positiva, aeróbica e formadora de esporos, os quais em condições favoráveis de temperatura e umidade podem resistir no ambiente durante décadas antes de infectar o hospedeiro (SCHILD et al., 2006).

O *B. anthracis* é um microrganismo que se encontra em baixas concentrações no ambiente. Entretanto, sabe-se que solos alcalinos, ricos em nitrogênio, calcário e matéria orgânica e com temperaturas maiores que 15°C favorecem a germinação e proliferação de esporos, aumentando a exposição de hospedeiros suscetíveis a doses infectantes. Além disso, outros fatores ambientais como períodos quentes e secos seguidos de altas taxas de precipitações pluviométricas predispõem a ocorrência de surtos da doença, visto que os esporos permanecem viáveis na água e também podem ser disseminados pelo vento (USDA, 2008).

A infecção dos animais pelo *B. anthracis* geralmente ocorre pelo contato com os esporos da bactéria no ambiente, especialmente pela ingestão destes a partir de pastagens de solos contaminados. Além disso, a contaminação também pode desenvolver-se pelo consumo de águas estagnadas ou por carcaças contendo a forma infectante do microrganismo (HIMSWORTH & ARGUE, 2008). A transmissão de um animal a outro pode ocorrer por vetores como mosquitos e tabanídeos. Sabe-se ainda que animais carnívoros atuam como reservatórios, podendo excretar os esporos nas fezes e urina (USDA, 2008).

As formas de apresentação clínica da enfermidade variam de acordo com a rota de infecção, fatores do hospedeiro e virulência da cepa do microrganismo envolvida. Em animais, a doença comumente se apresenta na forma hiperaguda, caracterizada por septicemia e morte súbita com extravasamento de sangue pelos orifícios naturais da carcaça, entretanto a ocorrência de Carbúnculo Hemático agudo também pode ser

observada. Em humanos, a forma cutânea ocorre em 95% dos casos, enquanto que a forma inalatória, menos freqüente, geralmente é fatal (WHO, 2008).

Casos de Carbúnculo Hemático têm sido descritos mundialmente, sendo que no Brasil a doença é considerada esporádica e acomete principalmente bovinos. A enfermidade foi relatada em três regiões distintas, a primeira no sul do país na fronteira com o Uruguai, a segunda no Vale do Paraíba, Rio de Janeiro e Minas Gerais, em que, nos anos 1941 e 1943, ocorreram casos em eqüinos e a terceira na região Nordeste, sendo que em 1942 também houve suspeita de infecção por *B. anthracis* em humanos (LANGENEGGER, 1994). No Rio Grande do Sul, embora tenha sido relatada em ovinos, caprinos e suínos, a doença não é comumente descrita em eqüinos (SCHILD et al., 2006). Nessa região estão localizados diversos criatórios eqüinos e animais de alto valor econômico, de forma que este trabalho tem por objetivo relatar a ocorrência de um caso de Carbúnculo Hemático em eqüino, oriundo do município de Santana do Livramento, Rio Grande do Sul, Brasil, no ano de 2007.

CASUÍSTICA

Em maio de 2007, foi relatada a ocorrência de morte em uma fêmea eqüina pertencente a uma propriedade rural localizada na região sudoeste do Rio Grande do Sul, fronteira com o Uruguai, caracterizada por sistema de produção extensivo, em que eram criados aproximadamente 100 eqüinos, além de bovinos e ovinos.

Devido à suspeita de Carbúnculo Hemático, não foi realizada a necropsia do animal, sendo então enviado ao Laboratório de Bacteriologia (LABAC) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), um fragmento de orelha para realização do diagnóstico.

A amostra foi recebida 24 horas após a morte do animal, quando foi realizado esfregaço em lâmina corada pelas técnicas de Gram e Loeffler (azul de metileno policrômico). Posteriormente, o material foi cultivado em meios de ágar sangue ovino a 5% e ágar Mac Conkey. As placas foram incubadas a 37°C por 48 horas em aero e anaerobiose, sendo a identificação bacteriana realizada mediante características morfo-tintoriais. O isolado foi submetido ao teste de susceptibilidade à penicilina (QUINN et al., 1994). Foi reportada ainda, morte em cinco bovinos e outros oito eqüinos oriundos da mesma propriedade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O esfregaço em lâmina foi observado em microscopia óptica e revelou morfologia bacilar gram positiva e, na coloração de Loeffler, a presença de cápsula evidenciada pela reação de M'Fadyean (coloração rósea ao redor das células bacterianas), sugerindo a presença do *B. anthracis* (WHO, 2008). Segundo Berg et al. (2006), o diagnóstico definitivo de Carbúnculo Hemático pode ser feito pela visualização da cápsula característica do microrganismo em material coletado até seis horas após a morte do animal, dispensando a realização de cultura bacteriológica.

Como resultado da cultura bacteriológica, após 48 horas de incubação, evidenciaram-se no ágar sangue, colônias de formato irregular, coloração cinza, não

hemolíticas, de aspecto seco e com 4-5 mm de diâmetro, semelhantes aos achados de Schild et al. (2006). Não foi observado crescimento bacteriano em ágar Mac Conkey. Ainda, o isolado demonstrou-se sensível à penicilina. Sabe-se que a sensibilidade a este antimicrobiano é um dos testes utilizados para diferenciar as espécies de *Bacillus* (QUINN et al., 1994). Associando-se os dados clínicos, epidemiológicos e bacteriológicos, pôde-se confirmar a identificação do *B. anthracis*.

O caso de Carbúnculo Hemático ocorreu durante o mês de maio, período que predispõe o aparecimento da doença por ser acompanhado de chuvas fortes geralmente após verão seco. Schild et al. (2006) relataram três surtos em bovinos nessa mesma região e época do ano.

A ocorrência da enfermidade em eqüinos não é freqüentemente relatada. Porém, de janeiro de 2003 até novembro de 2005, no Uruguai, foram descritos 18 surtos da enfermidade em bovinos e um na espécie eqüina, sendo que neste, 18 animais foram acometidos e três eqüinos morreram. Além disso, em surtos ocorridos no Rio Grande do Sul de 1978 a 2006, somente um proprietário relatou casos em eqüinos (SCHILD et al., 2006).

Nos eqüinos, a principal forma de apresentação clínica da doença é a aguda, em que podem ser observados sinais de hipertermia, cólica intensa, anorexia, diarréia sanguinolenta e edemas localizados na parte ventral do abdômen e tórax, nos membros e região perineal. A morte ocorre dois a três dias após o início dos sinais clínicos. A forma hiperaguda também pode ocorrer, porém com menor freqüência nessa espécie (WHO, 2008). Não se pode afirmar se o animal apresentou manifestações clínicas ou morte súbita, visto que a inspeção dos animais não era realizada diariamente e não se procedeu a necropsia.

Neste relato, a forma de infecção pelo *B. anthracis* pode ter sido desencadeada por diversos fatores. Sabe-se que o sistema de produção adotado era extensivo, o que facilita o acesso dos animais a áreas com pastagens e aguadas. Em condições de altas taxas de precipitações pluviométricas, situação ocorrida durante o caso, os esporos hidrofóbicos resistem à dissolução e podem ser transportados juntamente com matéria orgânica, depositando-se em águas estagnadas. Verões secos causam um aumento na concentração de esporos no solo pela evaporação da água, podendo levar à contaminação das pastagens (USDA, 2008).

Não se pode precisar a origem da infecção, porém o fato de que os animais não eram vacinados pode ter favorecido a ocorrência da doença. A falta de vacinação pode ser responsável pelo surgimento de casos devido à elevada resistência dos esporos no ambiente. Segundo Turner et al. (1999), a taxa de mortalidade diminui consideravelmente oito dias após a vacinação.

Estudos demonstram que mesmo o tratamento não sendo eficiente em casos avançados, este reduz significativamente a quantidade do microrganismo que subseqüentemente poderá infectar outras espécies suscetíveis. Além disso, a realização de necropsia não é recomendada, visto que os esporos são formados em presença de altas concentrações de oxigênio com conseqüente risco de infecção para humanos e animais, além da contaminação do ambiente durante anos. Assim, recomenda-se a incineração de carcaças imediatamente após a colheita de material para diagnóstico (WHO, 2008).

Após a instituição da vacinação na propriedade, não ocorreram novos casos da doença. Segundo Schild et al. (2006), a região de ocorrência do surto pode ser considerada endêmica para bovinos, enfatizando desta forma que a prática de vacinação anual em todos os animais suscetíveis é importante para a profilaxia de Carbúnculo Hemático.

CONCLUSÃO

Devido à escassez de relatos de Carbúnculo Hemático em eqüinos no estado do Rio Grande do Sul e ao potencial zoonótico do *B. anthracis*, ressalta-se a importância do diagnóstico laboratorial para confirmação do agente bem como a notificação às autoridades sanitárias visando à prevenção da disseminação da doença.

Alerta-se ainda para que medidas de controle e profilaxia da enfermidade sejam aplicadas, a fim de reduzir os prejuízos econômicos associados à morte de animais de alto valor comercial e os riscos de infecção em humanos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERG, T. et al. Comparison of PCR, culture and microscopy of blood smears for the diagnosis of anthrax in sheep and cattle. **Letters in Applied Microbiology**, v. 43, p. 186-186, 2006.

HIMSWORTH, C. G. & ARGUE, C. K. Anthrax in Saskatchewan 2006: An outbreak overview. **Canadian Veterinary Journal**, v. 49, n. 3, p. 235-237, 2008.

LANGENEGGER, J. Ocorrência do Carbúnculo Hemático em animais no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 14, n. 4, p. 135-136, 1994.

PARKINSON, R. et al. Investigation of an anthrax outbreak in Alberta in 1999 using a geographic information system. **Canadian Veterinary Journal**, v. 44, p. 315-318, 2003.

QUINN, P.J. et al. **Clinical veterinary Medicine**, London: Mosby-Year ed., 648p, 1994.

SCHILD, A. L. et al. Anthrax in cattle in southern Brazil: 1978-2006. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 26, n. 4, p. 243-248, 2006.

TURNER, A. J. et al. Experiences with vaccination and epidemiological investigations on an anthrax outbreak in Australia in 1997. **Journal Applied Microbiology**, v. 87, p. 294-297, 1999.

United States Department of Agriculture (USDA). **Epizootiology and Ecology of Anthrax**. Capturado em 31 julho 2008. Online. Disponível na Internet: www.aphis.usda.gov

World Health Organization (WHO). **Guidelines for the Surveillance and Control of Anthrax in Humans and Animals**. Capturado em 25 julho 2008. Online. Disponível na Internet: www.who.int