

# Beztlenowcowa enterotoksemia owiec

Zdzisław Gliński, Andrzej Żmuda

z Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Lublinie

## Pulpy kidney disease

Gliński Z., Żmuda A. Faculty of Veterinary Medicine, University of Life Sciences in Lublin

This article aims at presentation of disease in sheep that follows upset in gut microbiota, due to sudden changes to a rich diet. Enterotoxemia (pulpy kidney disease), most commonly occurs in rapidly growing or weaned lambs, when there is a rapid shift to a low fiber and high carbohydrate diet. The disease develops when *Clostridium perfringens* type D, that normally inhabits the animal intestines, begins to multiply fast and produces an epsilon toxin that results in toxemia and frequently, the sudden death. Rapid multiplication of type D and epsilon toxin production is favored by excess of dietary starch in the small intestine. *C. perfringens* type D can also cause a chronic form of the disease – focal, symmetrical encephalomalacia. Diagnosis is based on clinical signs, history of sudden death cases in herd and confirmation by necropsy, brain histopathology, bacteriological examination, RT-PCR and ELISA. Treatment, prevention and control of pulpy kidney disease depends on serotherapy with antitoxin, supportive treatment and correction of diet and vaccination. Effective vaccines are commercially available. All animals in the herd, especially the young ones, should be vaccinated to minimize the risk of enterotoxemia in sheep.

**Keywords:** *Clostridium perfringens* type D, sheep, pulpy kidney, vaccination.

Laseczki z rodzaju *Clostridium* wywołują oprócz dwóch ciężkich i powszechnie znanych chorób zwierząt i człowieka, jakimi są tężec i botulizm, kilka chorób człowieka oraz kilkanaście chorób zwierząt gospodarskich (tab. 1), wśród nich zgorzel gazową, szelestnicę, martwicze zapalenie wątroby u owiec i beztlenowcowa enterotoksemia owiec (1, 2). Toksynotwórcze zarazki z rodzaju *Clostridium* są patogenami, przy czym rodzaj produkowanych toksyn decyduje o charakterze zmian i objawów chorobowych oraz o zejściu procesu chorobowego. Klostridia występują w glebie, kale, powietrzu i wodzie, gdzie przeżywają do roku, większość wchodzi w skład mikrobiomu przewodu pokarmowego zdrowych zwierząt, niektóre występują w jelitach zdrowego człowieka (3, 4).

## Charakterystyka *Clostridium perfringens*

Przyczyną beztlenowcowej enterotoksenu owiec jest *C. perfringens* typu D. Rodzaj *Clostridium* (Clostridiaceae) tworzą 73 gatunki, z których większość to saprofity. Są to Gram-dodatnie zarodnikujące, pozbawione ruchu beztlenowce, wyjątek stanowi kilka szczepów tolerujących tlen. Sporulujące bakterie posiadają otoczkę. Komórki wegetatywne mają kształt pleomorficznych laseczek tworzących pary lub krótkie łańcuszki. Nie produkują katalazy i dysmutazy

nadtlenkowej. Na agarze z krwią w 37°C po 24 godz., tworzą kolonie otoczone podwójną strefą hemolizy (5). Do ważnych i najczęściej występujących patogennych gatunków należy *C. perfringens* występujący w 5 toksynotypach (A, B, C, D i E) w zależności od produkowanych 4 głównych toksyn:  $\alpha$  (CPA),  $\beta$  (CPB),  $\epsilon$  (ETX, epsilon),  $\iota$  (ITX, jota). Ponadto *C. perfringens* produkuje dodatkowo 15 różnych toksyn, które występują w toksynotypach w różnych kombinacjach (6). Należy do nich m. in. perfringolizyna O, która jest toksyną letalną, enterotoksyna, nekrotyczna enterotoksyna B-like (NetB), beta-2 toksyna. Toksyny są produkowane w przewodzie pokarmowym albo pod wpływem zmian diety lub pod wpływem innych czynników środowiska (7, 8). Za enterotoksemię owiec odpowiada toksyna epsilon. Jest ona produkowana w formie prototoksyny o masie 32,981 kDa, która pod wpływem proteaz ulega konwersji na około 1000 razy silniej działającą toksynę (9). LD<sub>50</sub> toksyny epsilon dla myszy wynosi 100µg. Działa ona letalnie, uszkadza śródbłonek, zwiększając przepuszczalność naczyń krwionośnych, powoduje obrzęki mózgu i płuc, zwiększa kurczliwość mięśni gładkich, przenika przez barierę krew – mózg, w mózgu jej receptorem jest sialoproteina w hipokampie, czego następstwem jest nadmierne wydzielanie glutamianu i zaburzenie czynności neuronów (10). Toksyna traci właściwości toksyczne po tygodniu w temperaturze pokojowej, po kilku miesiącach w -20°C i po kilku latach w -80°C.

## Epidemiologia

Choroba występuje na całym świecie, powodując duże straty w stadach owiec wypasanych na pastwiskach i wśród owiec rzeźnych. Nosicielstwo *C. perfringens* typ D w stadach owiec może wynosić 50%, zaś przeciwciała dla tego zarazka mogą występować nawet u 90% owiec (11). Przy zachorowalności poniżej 10% śmiertelność może wynosić nawet 100%. Najbardziej podatne na zakażenie są jagnięta w wieku 3–10 tyg., pochodzące od matek wysokomlecznych oraz jagnięta odsadzone do 10. tygodnia o bardzo dobrej kondycji i dobrze żywione. Owce rzeźne chorują z chwilą przejścia na żywienie intensywne (12).

## Patogeneza

*Clostridium perfringens* D jest normalnym składnikiem flory jelitowej owiec, w większej ilości występuje w jelicie biodrowym aniżeli w pozostałych odcinkach jelita cienkiego. Będąc drobnoustrojem sacharolitycznym, szybko namnaża się i produkuje toksynę epiteliotropową w z chwilą zadziałania czynników ryzyka, zwłaszcza z chwilą przejścia z diety nisko- na dietę

wysokoenergetyczną (13). Do najważniejszych czynników ryzyka należą:

- nadmierna konsumpcja mleka lub śruty zbożowej przez jagnięta,
- obniżona odporność naturalna przez choroby lub stres,
- konsumpcja paszy bogatej w węglowodany ubogie w błonnik,
- zmniejszenie perystaltyki przewodu pokarmowego,
- przejście sztuk rzeźnych na intensywne żywienie.

Toksyna epsilon *C. perfringens* typ D, zwiększając przepuszczalność włóścików powoduje gromadzenie się płynu w przestrzeniach międzykomórkowych, tworzenie obrzęków i zaleganie płynu przesiąkowego w worku osierdziowym, rzadziej w jamie klatki piersiowej i jamie otrzewnej, zagęszczenie krwi, obrzęk płuc, nerek i mózgu. Obrzękowi mózgu towarzyszą objawy neurologiczne. W występującej rzadko przewlekłej postaci enterotoksemii rozwija się ogniskowe symetryczne rozmiękanie mózgu. Toksyna powoduje uszkodzenie mikrokosmków jelit i rozwój krwotocznego zapalenia jelit (14).

## Objawy

U młodych zwierząt najczęściej występuje nadostra postać choroby cechująca się śmiercią w ciągu 12 godzin. Czasem śmierć jagniąt poprzedzają objawy nerwowe takie jak podniecenie lub konwulsje, utrata apetytu lub ziewanie, opistotonus. U jagniąt z objawami neurologicznymi śmierć może nastąpić w ciągu kilku minut (14). Typowa postać choroby ma ostry przebieg, śmierć poprzedza podniecenie, zaburzenie koordynacji ruchów, ruchy maneżowe, zaleganie, opieranie głowy o ścianę lub podłoże, konwulsje i pienisty wypływ z jamy ustnej. Lżejszy przebieg choroby cechuje utrata apetytu, bóle brzucha i obfita lub wodnista biegunka, czasem z domieszką krwi.

Niekiedy śmierć poprzedzają konwulsje lub krótko trwająca śpiączka.

Dorośle zwierzęta odstają od stada. Zataczają się, oddechy są nieregularne, przyspieszone i płytkie. Nieregularnie występują objawy nerwowe w postaci konwulsji, zgrzytania zębami, drżenia mięśni. Zwycie zwierzęta padają w ciągu 24 godz., po wystąpieniu pierwszych objawów choroby. Może występować glikozuria i hiperglikemia. U zwierząt, które przeżyły ostrą postać choroby, występuje ogniskowa symetryczne rozmiękanie mózgu spowodowane długotrwałym działaniem toksyny klostridialnej. Występuje ośłupienie, ataksja, zaburzenia koordynacji ruchów, osłabienie, spadek masy ciała. Toksyna epsilon stymuluje produkcję przeciwciał antytoksykacyjnych nawet u zakażonych subklinicznie zwierząt (15).

## Zmiany pośmiertne

Zwłoki po kilku godzinach cechuje zaawansowana autoliza na skutek obfitego namnożenia *C. perfringens*. Tkankę podskórną, nasierdzie, wsierdzie i nerki pokrywają wybroczyny. Worek osierdziowy wypełnia płyn zabarwiony na jasnożółto lub czerwono, czasami z domieszką skrzepów przypominających galaretę. Jelita cienkie i grube wypełnia wodnista treść barwy kremowej z domieszką krwi i strzępkami włókniaka, często z dużą ilością laseczek *Clostridium*. W śluzówce występują drobne owrzodzenia. Nerki ulegają najszybciej zmianom autolitycznym w porównaniu do innych narządów. Są zabarwione na ciemnobrązowo, kora nerek jest miękka, bryłowata. Zaawansowana autoliza lub rozlana ostra martwica dotyczy proksymalnego odcinka kanalików krętych. Ponadto w obrzękłej korze nerek występują wybroczyny. U części owiec nie występują zmiany w nerkach. W mózgu występują symetrycznie rozmieszczone ogniska rozmiękania barwy szarozółtej (16).

Tabela 1. Wybrane choroby wywołane przez laseczki *Clostridium* u zwierząt i człowieka (1, 23)

CLOSTRIDIUM	TOKSYNY	CHOROBY	
		ZWIERZĘTA	CZŁOWIEK
<i>C. perfringens</i> typ D	epsilon, alfa	beztlenowcowa enterotoksemia owiec i kóz, enterotoksemia cieląt i źrebiąt (rzadko)	
<i>C. perfringens</i> typ A	alfa, beta 2, enterotoksyna	zgorzel gazowa/ obrzęk złośliwy, martwicze zapalenie trawieńca bydła	zatrucia pokarmowe
<i>C. perfringens</i> typ B	alfa, beta, epsilon	dyzenteria jagniąt	
<i>C. perfringens</i> typ C	alfa, beta, delta, jota	zakaźne martwicze zapalenie jelit prosiąt, jagniąt, cieląt, źrebiąt, nekrotyczne zapalenie jelit ptaków	nekrotyczne zapalenie jelit
<i>C. novyi</i>	toksyna letalna	zakaźne martwicze zapalenie wątroby owiec, obrzęk złośliwy	
<i>C. sordelli</i>	toksyna letalna, toksyna krwotoczna	zatrucie, zapalenie trawieńca jagniąt, zapalenie krwotoczne jelit, owiec, źrebiąt, bydła	
<i>C. chauvoei</i>	toksyna letalna	współudział w obrzęku złośliwym, szelestnica owiec	
<i>C. septicum</i> ,	alfa	bradsot – paraszelestnica trawieńca owiec	
<i>C. tetani</i>	neurotoksyna tężcowa	tężec	tężec
<i>C. botulinum</i>	neurotoksyna botulinowa	botulizm	botulizm
<i>C. difficile</i>	alfa, beta, binary toxin	zapalenie przewodu pokarmowego koni i prosiąt	rzekomobloniaste zapalenie okrężnicy

## Rozpoznanie

Opiera się na wywiadzie, w którym ważne znaczenie ma występowanie nagłych padnięć jagniąt żywionych karmą wysokowęglowodanową, objawach klinicznych i zmianach sekcyjnych i musi zostać potwierdzone badaniem bakteriologicznym obejmującym izolację i identyfikację *C. perfringens* typ D z kału lub treści jelit chorych lub padłych zwierząt (17). Badanie biochemiczne krwi i moczu pomaga w rozpoznaniu, ponieważ hiperglikemia i glikozuria nasuwają podejrzenie enterotoksemii. W przypadku późno przeprowadzonej sekcji nie wykrywa się glikozurii, ponieważ glukoza, rozkładowi pod wpływem enzymów bakteryjnych. Materiał do badań bakteriologicznych należy pobrać jak najszybciej po padnięciu zwierzęcia, nie później niż po 12 godz. Do wykrywania *C. perfringens* wykorzystuje się test RT-PCR (18). Test ELISA i próba biologiczna na myszach służą do wykrycia toksyny epsilon w treści jelit (19, 20, 21).

## Postępowanie

Leczenie jest mało skuteczne ze względu na szybki przebieg choroby. Jedyną skuteczną strategią powszechnie zalecaną w profilaktyce enterotoksemii są szczepienia szczepionkami produkowanymi na bazie oczyszczonych toksoidów toksyn *C. perfringens* typ D. Nasilenie odporności jest ściśle skorelowane z wysokością miana przeciwciał antytoksykcyjnych. Toksoidy cechują się wysoką immunogennością dzięki czemu zapewniają pełną ochronę przed działaniem toksyn (22). U odsadzonych jagniąt można ograniczyć liczbę zachorowań, zmniejszając ilość skarmianych koncentratów paszowych, podając probiotyki i szczepiąc toksoidem, zaś u jagniąt nieposiadających odporności siarowej zaleca się podanie surowicy antytoksykcyjnej przeciwko toksynie *C. perfringens* typ D i szczepionki. W celu uzyskania wysokiego poziomu odporności wymagane jest dwukrotnie podanie szczepionki w odstępie 4–6 tygodni i dalsze coroczne doszczepianie. Jarki i maciorki szczepi się dwukrotnie toksoidem, w kolejnych latach szczepi się jeden raz na 6–4 tygodnie przed wykotem. Szczepienie matek zabezpiecza potomstwo przed zachorowaniem (6).

## Piśmiennictwo

- Cygan Z.: *Choroby beztlenowcowe zwierząt*. PPHU Pol-Druk. Kraków, 1999.
- Rypuła K., Płoneczka-Janeczko K., Kita J., Kumala A. Zakażenia drobnoustrojami *Clostridium perfringens* u zwierząt. *Zycie Wet.* 2012, **87**, 192–196.
- Daquigan N., Seekatz A.M., Greathouse K.L., Young V.B., White J.R.: High resolution profiling of the gut microbiome reveals the extent of *Clostridium difficile* burden. *Biofilms Microbiom.* 2017, **3**, 35 <https://doi.org/10.1038/s41522-017-0043-0>
- Seekatz A. M., Young, V. B.: *Clostridium difficile* and the microbiota. *J. Clin. Invest.* 2014, **124**, 4182–4189.
- Havelaar A.H., Kirk M.D., Torgerson P.R., Gibb H.J., Hald T., Lake R.J., Praet N., Bellinger D.C., de Silva N.R., Garguori N., Speybroeck N., Cawthorne A., Mathers C., Stein C., Angulo F.J., Devleeschauwer B.: World Health Organization global estimates and regional comparisons of the burden of foodborne disease in 2010. *PLoS Med.* 2012, **12**: e1001923. doi:10.1371/journal.pmed.1001923
- Uzal F.A., Vidal J.E., McClane B.A., Gurjar A.A.: *Clostridium perfringens* toxins involved in mammalian. *Open Toxin. J.* 2010, **2**, 24–42.
- Myiamoto K., Li J., McClane B.A.: Enterotoxigenic *Clostridium perfringens*: Detection and identification. *Microbes Environ.* 2012, **27**, 343–349.
- Monma C., Hatakeyama K., Obata H., Yokoyama K., Konishi N., Itoh T., Kai A.: Four foodborne disease outbreaks caused by a new type of enterotoxin producing *Clostridium perfringens*. *J. Clin. Microbiol.* 2015, **53**, 859–867.
- Hunter S.E., Clarke I.N., Kelly D.C., Titball R.W.: Cloning and nucleotide sequencing of the *Clostridium perfringens* epsilon-toxin gene and its expression in *Escherichia coli*. *Infect. Immun.* 1992, **60**, 102–110.
- Dorca-Arevalo J., Soler-Jover A., Gibert M., Popoff M.R., Martin-Satué M., Blasi J.: Binding of  $\epsilon$ -toxin from *Clostridium perfringens* in the nervous system. *Vet. Microbiol.* 2008, **131**, 14–25.
- Jansen B.C.: The duration of immunity to pulpy kidney disease of sheep. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 1967, **34**, 333–343.
- Nilo L.: *Clostridium perfringens* animal disease: A review of current knowledge. *Can. Vet. J.* 1980, **21**, 141–148.
- Bullen J.J., Batty I.L.: Enterotoxemia of sheep. *Vet. Rec.* 1990, **69**, 1268–1276.
- Jemal D., Shifa M., Kebede B.: Review on pulpy kidney disease. *J. Vet. Sci. Technol.* 7. DOI: 10.4172/2157
- Percival D.A., Shuttleworth A.D., Williamson E.D., Kelly D.C.: Anti-idiotypic antibody - induced protection against *Clostridium perfringens* type D. *Infect. Immun.* 1990, **58**, 2487–2492.
- Buxton D., Morgan K. T.: Studies of lesions produced in the brains of colostrum-deprived lambs by *Clostridium welchii* (*C. perfringens*) type D toxin. *J. Comp. Pathol.* 1976, **83**, 435–447.
- Uzal F.A.: Diagnosis of *Clostridium perfringens* intestinal infections in sheep and goats. *Anaerobe* 2008, **10**, 135–143.
- Messelhauser U., Zucker R., Elmer-Engelhard D., Busch U., Hormansdorfer S., Pudich U., Holler C.: Detection and characterization of *C. perfringens* via Real-Time-PCR. *J. Verbr. Lebensmittel.* 2007, **2**, 194–197.
- Hailegebreal G.: A review on *Clostridium perfringens* food poisoning. *Glob. Res. J. Public Hlth Epidemiol.* 2017, **4**, 104–109.
- Greco G., Madio A., Buonavoglia D., Totaro M., Corrente M., Hailegebreal G.: A review on *Clostridium perfringens* food poisoning. *Glob. Res. J. Public Hlth. Epidemiol.* 2017, **4**, 104–109.
- Martella V., Buonavoglia C.: *Clostridium perfringens* toxin types in lambs and kids affected with gastroenteric pathologies in Italy. *Vet. J.* 2005, **170**, 346–350.
- De La Rosa C., Hogue D.E., Thonney M.L.: Vaccination schedules to raise antibody concentrations against  $\epsilon$ -toxin of *Clostridium perfringens* in ewes and their triplet lambs. *J. Anim. Sci.* 1997, **75**, 2328–2334.
- Kostro K., Gliński Z. (red. nauk.): *Ochrona zdrowia i terapia chorób zakaźnych zwierząt gospodarskich. II. Choroby zakaźne owiec i kóz*. Wyd. UP w Lublinie, 2014.

Dr hab. Sebastian Gnat; e-mail: sebastian.gnat@up.lublin.pl