



## Primeiro relato de isolamento de *Histophilus somni* em ovino com quadro de endometrite no Brasil

*Histophilus somni* isolation on sheep with endometritis first case report on Brazil

H. Rizzo<sup>1</sup>, L. Gregory<sup>2,5</sup>, A.F. Carvalho<sup>3</sup>, E.S. Pinheiro<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, USP, São Paulo, SP, Brasil.

<sup>2</sup>Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, USP, São Paulo, SP, Brasil.

<sup>3</sup>Programa de Pós-Graduação, Instituto Biológico, São Paulo, SP, Brasil.

<sup>4</sup>Laboratório de Doenças Bacterianas da Reprodução do Instituto Biológico, São Paulo, SP, Brasil.

<sup>5</sup>Correspondência: lgregory@usp.br

### Resumo

Este trabalho tem como objetivo relatar um caso de isolamento em cultura pura de *Histophilus somni* em secreção vaginal de uma fêmea ovina da raça Texel, em propriedade localizada no estado de São Paulo, a qual apresentou histórico de endometrite e infertilidade. No exame clínico específico do aparelho genital, foi observada na vagina secreção de coloração esbranquiçada, com aspecto mucoso e odor fétido. Os exames sorológicos para *Brucella ovis*, Leptospirose e *Neospora caninum* resultaram negativos, enquanto o exame para *Toxoplasma gondii* foi positivo.

**Palavras-chave:** endometrite, *Histophilus somni*, ovino.

### Abstract

The aim of this work is make one case report on *Histophilus somni* isolation on vaginal discharge from a Texel breed sheep on a farm on São Paulo, Brazil. The animal presented endometritis and infertility, it had white, mucous and fetid vaginal discharge. Laboratorial examinations resulted in *Bucella ovis*, *Leptospirosis* and *Neospora caninum* negative serology, and the animal was serum reactive to *Toxoplasma gondii*.

**Keywords:** endometritis, *Histophilus somni*, sheep.

### Introdução

*Histophilus somni* é uma bactéria Gram-negativa, fastidiosa e de patogenia facultativa. Na literatura, foram utilizadas diferentes nomenclaturas em paralelo para a bactéria (*Histophilus ovis*, *Haemophilus agni*, *Haemophilus somnus*), pois, durante longo período, sua posição taxonômica não foi esclarecida, até que Angen et al. (2003) sugeriram o nome *Histophilus somni* ao concluírem que os nomes utilizados anteriormente estavam relacionados ao mesmo microrganismo (Walker et al., 1985).

Em 1956 ocorreu o primeiro relato de um caso de uma fêmea ovina com quadro de mastite (Roberts, 1956). Nota-se, pelos trabalhos abaixo citados, que existem opiniões controversas sobre a ocorrência da bactéria no trato reprodutivo de ovinos e sua patogenicidade. Rahaley e Edwards (1983) concluíram que *Histophilus somni* não constitui a flora vaginal normal de ovinos, visto que não obtiveram nenhum isolamento em fêmeas sadias, enquanto Erasmus (1983) isolou *Histophilus somni* no trato genital de carneiros saudáveis. Walker e LeaMaster (1985), em seu estudo, observaram que *Histophilus somni* é um organismo transitório da flora vaginal ovina, uma vez que foi isolado em 100% de fêmeas saudáveis com seis meses de vida e em 16% com idade acima de dois anos.

*Histophilus somni* foi isolado em rebanhos irlandeses com casos de vulvite, sendo que essas cepas isoladas foram utilizadas para inoculação experimental vaginal, causando quadro semelhante observado nos animais inoculados naturalmente (Ball et al., 1991). *Histophilus somni* foi associado a casos de morte neonatal e retenção de placenta na Austrália (Rahaley e White, 1977) e isolado de vagina de ovelhas com quadro de metrite (Higgins et al., 1981). Além disso, em ovinos, a doença pode causar mastite (Roberts, 1956), aborto (Hajtós, 1987), vulvite (Ball et al., 1991) e epididimite em carneiros jovens (Carvalho Júnior et al., 2010). Nos caprinos, o primeiro isolamento se deu em 2009, na Hungria, em amostras de swab vaginal de rebanhos que estavam em estação de monta e que tinham contato direto com ovinos (Jánosi et al., 2009).

Avaliando-se a presença de patógenos que causam distúrbios reprodutivos em rebanhos comerciais, foi diagnosticado um caso de endometrite em fêmea ovina infértil, com isolamento em cultura pura de *Histophilus somni* na secreção vaginal.



### Relato de isolamento de *Histophilus somni* em secreção vaginal ovina

No mês de março de 2009, um rebanho comercial da raça Texel, localizado no estado de São Paulo, foi colocado em estação de monta natural. Após o período de parição, que se concentrava no mês de agosto de 2009, os animais que não apresentaram crias foram submetidos a exame clínico geral e ginecológico.

Durante o exame ginecológico das fêmeas inférteis, em uma delas foi observada, no momento da passagem do espéculo, secreção uterina de quantidade moderada, coloração esbranquiçada, aspecto mucoso e odor fétido, sendo indicativo de endometrite. Não foi observado abortamentos durante o período de gestação do lote que estava sendo examinado. A mucosa vaginal e a da cérvix apresentavam-se normocoradas. O orifício da cérvix estava aberto. No exame clínico geral, o animal não apresentava nenhuma alteração. Foi colhida a secreção vaginal em tubo estéril, e este foi transportado refrigerado ao Laboratório de Doenças Bacterianas da Reprodução do Instituto Biológico de São Paulo. Além da secreção vaginal, foi colhido soro para a realização do diagnóstico de *Brucella ovis*, Leptospirose, *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii*, e fezes para diagnóstico bacteriológico de *Campylobacter*, sendo essas algumas das principais enfermidades reprodutivas dos ovinos.

No processamento da amostra de secreção uterina, 100 µl dela foi semeada em meio ágar BHI acrescido de 0,5% de extrato de levedura, 5% de sangue desfibrinado de carneiro, 5% de soro fetal bovino, 3 µg/mL de lincomicina e 100 µg/mL de ciclohexamida. As placas foram incubadas em estufa, sob atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub>, por 72 h, a 37°C (Scarcelli et al., 2000). Após o período de incubação, as amostras suspeitas, mostrando zona de clareamento em torno de colônias amareladas, foram identificadas por meio do método de coloração de Gram e submetidas a uma série de provas bioquímicas, segundo Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (Holt et al., 1994). Foi isolado em cultura pura *Histophilus somni* a partir da secreção vaginal da fêmea ovina.

Para confirmação do agente por meio da PCR do cultivo, as amostras foram fervidas por 10 min a 99°C, e foram empregados 5 µL em 45 µL de *mix* de amplificação e 1 mL da suspensão de bactérias em água de Milli Q (2,3 x 10<sup>9</sup> bact/mL). Os oligonucleotídeos iniciadores empregados foram: HS-453F 5' GAA GGC GAT TAG TTT AAG AG -3' e HS-860R 5' TTC GGG CAC CAA GTR TTC A -3' (Oystein et al., 1998). Foi utilizada como controle positivo a cepa padrão ATCC 43625; a identificação do agente se deu pela revelação de um fragmento amplificado de 400 pb.

Quanto aos resultados das amostras submetidas ao diagnóstico das enfermidades reprodutivas, a fêmea apresentou resultado positivo somente para *Toxoplasma gondii*, que não está associado a casos de endometrite em ovinos e sim a quadros de abortamento, malformação fetal, nascimento de animais prematuros e morte neonatal (Esteban-Redondo e Innes, 1997).

Nenhum outro agente infeccioso foi isolado a partir da amostra de secreção vaginal, e os resultados sorológicos não indicam qualquer ação das enfermidades reprodutivas pesquisadas. Pode-se concluir que *Histophilus somni* foi o agente causador da endometrite na fêmea ovina e consequente quadro de infertilidade.

A saúde do rebanho nacional é fundamental para garantir bom desempenho da cadeia produtiva e desenvolvimento da pecuária brasileira, além de importante para a preservação da saúde pública. Apesar de a produção de ovinos ter aumentado sua participação no agronegócio brasileiro, ainda são poucos os estudos realizados na área de enfermidades reprodutivas desta espécie no Brasil. Alguns trabalhos pontuais demonstram a presença de agentes etiológicos patogênicos circulando nos rebanhos e causando infertilidade, como no caso deste relato. As estratégias de conquistas de novos mercados e a mudança de atitude da população brasileira no consumo da carne impulsionam a sua produção com maior qualidade. É fundamental que medidas futuras de controle sejam pensadas para melhorar a sanidade dos rebanhos, por programas oficiais que fortaleçam a cadeia produtiva da espécie ovina.

### Agradecimentos

À FAPESP, pelo apoio financeiro ao projeto registrado como Processo n° 02385-6.

### Referências

- Angen Ø, Ahrens P, Kuhnert P, Christensen H, Mutters R. Proposal of *Histophilus somni* gen. nov., sp. nov. for the three species incertae sedis '*Haemophilus somnus*', '*Haemophilus agni*' and '*Histophilus ovis*'. Int J Syst Evol Microbiol, v.53, p.1449-1456, 2003.
- Ball HJ, Kennedy S, Ellis WA. Experimental reproduction of ovine vulvitis with bacteria of the haemophilus/histophilus group. Res Vet Sci, v.50, p.81-85, 1991.
- Carvalho Júnior CA, Xavier MN, Costa LF, Silveira SS, Sant'Anna FM, Gouveia AMG, Santos RL. Agentes infecciosos que podem promover infertilidade em machos da espécie ovina. Rev Bras Reprod Anim, v.34, p.160-167, 2010.
- Erasmus JA. The usefulness of the API 20 E classification system in the identification of *Actinobacillus actinomyces* comitans, *Actinobacillus seminis* and *Pasteurella haemolytica*. Onderstepoort J Vet Res, v.50, p.97-99, 1983.



- Esteban-Redondo I, Innes EA.** *Toxoplasma gondii* infection in sheep and cattle. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, v.20, p.191-196, 1997.
- Hajtós I.** Isolation of *Actinobacillus seminis* and *Histophilus ovis* strains from aborted ovine fetuses in Hungary. *Acta Vet Hung*, v.35, p.415-425, 1987.
- Higgins R, Godbout-Delasalle F, Messiers S, Couture Y, Lamothe P.** Isolation of *Histophilus ovis* from vaginal discharge in ewes in Canada. *Can Vet J*, v.22, p.395-396, 1981.
- Holt, JG, Krieg, NR, Sneath, PHA, Staley, JT, Willians, ST.** Bergey's manual of determinative bacteriology. 9.ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994. 789p.
- Jánosi K, Hajtó I, Makrai L, Gyuranecz M, Varga J, Fodor L.** First isolation of *Histophilus somni* from goats. *Vet Microbiol*, v.133, p.383-386, 2009.
- Oystein A, Ahrens P, Tegtmeier C.** Development of a PCR test for identification of *Haemophilus somnus* in pure and mixed cultures. *Vet Microbiol*, v.63, p.39-48, 1998.
- Rahaley RS, Edwards LD.** *Histophilus ovis*. *Can Vet J*, v.24, p.61-62, 1983.
- Roberts DS.** A new pathogen from a ewe with mastitis. *Aust Vet J*, v.32, p.330-332, 1956.
- Scarcelli E, Genovez ME, Cardoso MV, Almeida Prado WDN, Faccioli MR, Teixeira SR.** Presence of *Haemophilus somnus* in breeding bulls from Minas gerais, São Paulo and Rio Grande do Sul, Brazil. In: Congresso Mundial de Buiatria, 23, 2000, Punta del Este, Uruguay. Anais ... Punta Del Este: [s.n.], 2000. CD-ROM. p.7941-7945.
- Walker RL, Biberstein RF, Pritchett RF, Kirkhan C.** Deoxyribonucleic Acid Relatedness Among *Haemophilus agni*, *Histophilus ovis*, *Actinobacillus seminis*, and *Haemophilus influenzae*. *Int J Syst Bacteriol*, v.35, p.46-49, 1985.
- Walker RL, Leamaster BR.** Prevalence of *Histophilus ovis* and *Actinobacillus seminis* in the genital tract of sheep. *Am J Vet Res*, v.47, p.1928-1930, 1985.
-