

Comunicação

[Communication]

Ocorrência de *Mannheimia haemolytica* e de *Pasteurella multocida* em ovinos sadios e com enfermidade respiratória

[*Mannheimia haemolytica* and *Pasteurella multocida* occurrence in healthy and affected lambs]

L. Viana¹, R.C. Gonçalves^{2*}, J.P. Oliveira Filho¹, A.C. Paes², R.M. Amorim²

¹Aluno de pós-graduação – FMVZ-UNESP – Botucatu, SP

²Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP
Distrito de Rubião Junior s/n
18610-000 – Botucatu, SP

Os ovinos são susceptíveis à infecções respiratórias, provocadas por estresse, associadas à uma grande variedade de agentes infecciosos. Dependendo do agente e das circunstâncias, podem ocorrer pneumonias virais ou bacterianas que envolvem, freqüentemente, *Mannheimia haemolytica* e/ou *Pasteurella multocida* (Martin, 1996), e ambas podem manifestar-se na forma pneumônica ou septicêmica (Davies et al., 1994). Embora *M. haemolytica* e *P. multocida* estejam associadas à pneumonia, *M. haemolytica* é a bactéria mais freqüentemente isolada (Davies et al., 1997).

No Brasil, são escassos os dados da prevalência de pneumonias em ovinos causadas por esses agentes. Na literatura consultada, encontrou-se somente relato de um surto de pneumonia causada por *P. multocida* no estado do Rio Grande do Sul (Hancock et al., 1991).

Considerando os prejuízos causados pelas doenças respiratórias em ovinos, acarretados pelas altas taxas de morbidade e mortalidade, pior conversão alimentar, retardo no crescimento e ganho de peso, condenações de carcaças e custos com medicamentos e assistência veterinária (Rusvai e Fodor, 1998), e a limitação de informações sobre a doença no Brasil, investigou-se a ocorrência de *Pasteurella multocida* e *Mannheimia haemolytica*.

Foram colhidos “swabs” nasofaríngeos e orofaríngeos em 262 ovinos, selecionados aleatoriamente em 17 fazendas de municípios da região de Botucatu-SP. O critério foi colher o material em pelo menos uma fazenda por município.

Independentemente de sexo, idade e raça, foram amostrados em cada propriedade no mínimo 10 ovinos clinicamente sadios e até cinco ovinos com afecções do aparelho respiratório. Os animais foram distribuídos em dois grupos: clinicamente sadios (sadios, n= 180) e portadores de afecções respiratórias (doentes, n= 82), diagnosticados por exame físico, segundo critérios clínicos adotados por Stöber (1993).

As amostras, colhidas por “swabs” esterilizados e acondicionadas em tubos com 5ml de meio de transporte de Stuart, processadas separadamente e semeadas diretamente em ágar sangue, ágar sangue com 6µg de vancomicina (meio seletivo para os gêneros de *Mannheimia* e *Pasteurella*) e ágar McConkey, foram incubadas, em aerobiose, a 37°C por até 48 horas, com observação de crescimento microbiano a cada 24 horas.

As colônias selecionadas, suspeitas de pertencerem aos gêneros *Mannheimia* e *Pasteurella*, com base nas características morfológicas, foram repicadas em tubos com

Recebido em 27 de agosto de 2007

Aceito em 20 de novembro de 2007

*Autor para correspondência (*corresponding author*)

E-mail: calderon@fmvz.unesp.br

Apoio: FAPESP

solução esterilizada de caldo infusão cérebro-coração (BHI) e incubadas, em aerobiose, a 37°C, por 12 horas. Foram feitos repiques das cepas suspeitas em placas de ágar sangue de ovino a 7%. As placas com os repiques foram incubadas em aerobiose, a 37°C, por 24 horas. As colônias dessas placas serviram como inóculo para a realização dos testes de citocromo-oxidase, catalase e de coloração pela técnica de Gram.

As cepas citocromo-oxidase e catalase positivas foram submetidas aos testes de fermentação dos açúcares - glicose, lactose, maltose e manitol e, no caso de *M. haemolytica*, de arabinose e trealose -, de urease, para verificar a motilidade; de produção de indol e de redução da ornitina; e para verificar a produção e tipo de hemólise.

O meio de cultura ágar McConkey foi utilizado para verificar a capacidade de resistência de *M. haemolytica* aos sais biliares e para diferenciá-la de *P. multocida*. Todas as colônias suspeitas foram semeadas em placas de ágar McConkey, incubadas a 37°C, em anaerobiose, e observadas após 48 horas. As cepas de *M. haemolytica* mostraram-se, após o

tempo de incubação, como pequenas colônias róseas, enquanto que as espécies de *P. multocida* não cresceram nesse meio de cultura.

Usou-se o teste exato de Fisher para comparar as taxas de isolamento de *M. haemolytica*, de *P. multocida* e dessas duas bactérias associadas, na nasofaringe e na orofaringe dos dois grupos de animais, utilizando-se o programa EPI-INFO.

M. haemolytica foi a bactéria mais prevalente (47,3%), seguida pela associação de *M. haemolytica* e de *P. multocida* (27,5%). *P. multocida* pura apresentou a menor taxa de isolamento (10,7%). Em 14,5% dos animais amostrados não houve crescimento desses microrganismos.

Entre os animais clinicamente sadios houve diferença nas taxas de isolamento da nasofaringe e da orofaringe (Tab. 1). Entre os ovinos do grupo doente essas diferenças não foram significativas, mas o número de animais com isolamento negativo para essas duas bactérias na nasofaringe foi maior ($P < 0,001$) que na orofaringe (Tab. 2).

Tabela 1. Taxa de isolamento de *Mannheimia haemolytica*, de *Pasteurella multocida* e dessas duas bactérias associadas, na nasofaringe e orofaringe de animais sadios, na região de Botucatu, SP

Microrganismo	Nasofaringe		Orofaringe		P
	número	%	número	%	
<i>Mannheimia haemolytica</i>	61	33,9	88	48,9	0,0038*
<i>Pasteurella multocida</i>	6	3,3	24	13,3	0,0006**
<i>Mannheimia haemolytica</i> + <i>Pasteurella multocida</i>	8	4,4	34	18,9	0,0000**
Negativo	105	58,3	34	18,9	0,0000**
Total	180	100,0	180	100,0	

Tabela 2. Taxa de isolamento (%) de *Mannheimia haemolytica*, de *Pasteurella multocida* e dessas duas bactérias associadas, na nasofaringe e orofaringe de animais portadores de afecções respiratórias, na região de Botucatu, SP

Microrganismo	Nasofaringe		Orofaringe		P
	número	%	número	%	
<i>Mannheimia haemolytica</i>	29	35,4	40	48,8	0,0819 ns
<i>Pasteurella multocida</i>	9	11,0	15	18,3	0,1850 ns
<i>Mannheimia haemolytica</i> + <i>Pasteurella multocida</i>	6	7,3	14	17,1	0,5620 ns
Negativo	38	46,3	13	15,9	0,0000**
Total	82	100,0	82	100,0	

Ocorrência de *Mannheimia haemolytica*...

Verificou-se maior taxa de isolamento de *P. multocida* na nasofaringe dos animais doentes ($P=0,0291$). Ainda, na nasofaringe, a taxa de isolamento de *M. haemolytica* e de sua associação com *P. multocida* não foi diferente entre animais sadios e doentes ($P=0,8154$ e $P=0,0706$, respectivamente). As taxas de isolamento de *M. haemolytica*, de *P. multocida* e das duas bactérias associadas na orofaringe dos ovinos sadios e doentes foram semelhantes.

Ball et al. (1993) e Sysai e Zerihun (2003) citaram dificuldades de interpretação no isolamento de *M. haemolytica* e de *P. multocida* nas amostras de “swabs” nasofaríngeos colhidos em bovinos, caprinos e ovinos, em virtude da grande quantidade de microrganismos que podem ser isolados, muitos com potencial patogênico. Tais limitações procuraram ser minimizadas no presente estudo com a utilização de meio seletivo para *M. haemolytica* e *P. multocida*, com o intuito de limitar o crescimento dos microrganismos indesejáveis, pois o objetivo deste estudo foi verificar a distribuição dos dois agentes bacterianos.

Assumiu-se, também, que cada cepa de *M. haemolytica* ou de *P. multocida*, provenientes de uma colônia, foi representativa de um animal positivo para o isolamento de um ou de outro microrganismo, de maneira similar à adotada na grande maioria dos estudos realizados para investigar a prevalência dessas duas bactérias (Ball et al., 1993; Al-Tarazi e Dagnall, 1997; Barbour et al., 1997).

Diversos autores relataram que *M. haemolytica* é a bactéria mais comumente isolada no trato respiratório de ovinos (Gilmour et al., 1991; Martín, 1996; Davies et al., 1997; Aekermann e Brogden, 2000). Na literatura brasileira consultada não foram encontradas informações sobre a incidência de *M. haemolytica* em ovinos, o que fez supor ser este estudo inédito na literatura nacional.

A maior frequência de *M. haemolytica*, de *P. multocida*, ou dos dois microrganismos juntos na orofaringe de animais sadios é semelhante aos resultados da investigação recente, realizada na Etiópia por Sisay e Zerihun (2003). Esses

autores, ao avaliarem a diversidade de espécies e sorotipos dos gêneros *Pasteurella* e *Mannheimia*, identificaram taxas de isolamento de 75,6% e 52,4% nas amostras de “swabs” da nasofaringe e da orofaringe, respectivamente. Há, contudo, relatos de isolamento de *M. haemolytica* em 100% de cavidade nasal e em 47% na orofaringe (Al-Sultan e Aitken, 1995). Nos animais sadios, o isolamento de *M. haemolytica* e *P. multocida* na orofaringe foi maior que na nasofaringe.

Narayanan et al. (2002) demonstraram que durante as doenças respiratórias ou quebra do mecanismo de defesa do hospedeiro, tanto *M. haemolytica* como *P. multocida* se multiplicam rapidamente nas criptas das tonsilas e podem disseminar-se por toda mucosa respiratória, atingindo, inclusive, o epitélio alveolar durante a inalação. Nos doentes, o número de animais com isolamento negativo para *M. haemolytica* e *P. multocida* foi maior na nasofaringe, sugerindo ser a orofaringe o melhor local para a colheita e isolamento dessas bactérias.

Em geral, na região estudada, os resultados permitem afirmar que *P. multocida* tem um papel importante na etiologia da doença respiratória. Hancock et al. (1991), ao isolarem esse microrganismo em um rebanho de ovinos no Rio Grande do Sul, alertaram para a necessidade de se investigar a participação dessa bactéria nas doenças respiratórias de ovinos no Brasil. Ao contrário, Gilmour (1978) refere-se à pasteurelose dos ovinos, como sendo causada exclusivamente por *M. haemolytica*, enquanto que *P. multocida* teria maior relevância em bovinos.

Al-Tarazi e Dagnall (1997), na Jordânia, constataram que a prevalência de *M. haemolytica* nos animais doentes era maior que nos sadios. Barbour et al. (1997) não observaram diferença significativa na prevalência de *P. multocida* entre os animais sadios e os doentes quando isolaram essas bactérias do sistema respiratório de ovinos e bovinos. Esses resultados foram, portanto, confirmados pelo presente estudo.

Palavras-chave: ovino, *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, doenças respiratórias

ABSTRACT

Frequency of *Mannheimia haemolytica* and *Pasteurella multocida* in the respiratory tract of lambs in the region of Botucatu, SP, Brazil, was studied. Nasopharyngeal and oropharyngeal swabs were obtained from 262 animals: 180 from healthy and 82 from animals with respiratory diseases. *M. haemolytica* was the most prevalent (47%), followed by the association of *M. haemolytica* and *P. multocida* (27%), and *P. multocida* (11%). Animals with respiratory disease presented higher occurrence of *P. multocida* in the nasopharynx as compared to healthy animals ($P < 0.05$). No significant difference in isolation rate of *M. haemolytica*, *P. multocida*, and association of these microorganisms in the oropharynx of healthy and affected animals was observed.

Keywords: lamb, *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, respiratory diseases

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AEKERMANN, M.R.; BROGDEN, K.A. Response of the ruminant respiratory tract to *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica*. *Microb. Infec.*, Amsterdam, v.2, p.1079-1088, 2000.
- AL-SULTAN, I.I.; AITKEN, I.D. The tonsillar carriage of *Pasteurella haemolytica* in lambs. *J. Comp. Pathol.*, v.95, p.193-201, 1985.
- AL-TARAZI, Y.H.M.; DAGNALL, G.J.R. Nasal carriage of *Pasteurella haemolytica* serotypes by sheep and goats in Jordan. *Trop. Anim. Health Prod.*, v.29, p.177-179, 1997.
- BALL, H.J.; CANNOLLY, M.; CASSIDY, J. *Pasteurella haemolytica* serotypes isolated in Northern Ireland during 1989-1991. *Br. Vet. J.*, v.149, p.561-570, 1993.
- BARBOUR, E. K.; NABBUT, N.H.; HAMADEH, S.K. et al. Bacterial identity and characteristics in healthy and unhealthy respiratory tracts of sheep and calves. *Vet. Res. Commun.*, v.21, p.421-430, 1997.
- DAVIES, R.L.; PARTON, R.; COOTE, J.G. et al. Evaluation of different methods for the detection of outer membrane proteins and lipopolysaccharide of *Pasteurella haemolytica* by immunoblotting. *J. Immunol. Methods*, v.167, p.35-45, 1994.
- DAVIES, R.L.; ARKINSAW, S.; SELANDER, R.K. Evolutionary genetics of *Pasteurella haemolytica* isolates recovered from cattle and sheep. *Inf. Immun.*, v.65, p.3585-3593, 1997.
- GILMOUR, N.J.L.; ANGUS, K.W.; GILMOUR, J.S. Pasteurellosis. In: *Diseases of sheep*. 3.ed. London: Academic, 1991. p.108-111.
- HANCOCK, R.D.; FALLAVENA, L.C.B.; RIBEIRO, L.A.O. Pneumonic pasteurellosis due to *P. multocida* in flock of lambs in Brazil. *Vet. Rec.*, v.128, p.154-155, 1991.
- MARTIN, W.B. Respiratory infections of sheep. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, v.19, p.171-179, 1996.
- NARAYANAN, S.K.; NAGARAJA, T.G.; CHENGAPPA, M.M. et al. Lenkotoxius of gram-negative bacteria. *Vet. Microbiol.*, v.84, p.337-356, 2002.
- RUSVAI, M.; FODOR, L. Occurrence of same viruses and bacteria involved in respiratory diseases of ruminants in Hungary. *Acta Vet. Hung.*, v.46, p.405-414, 1998.
- SISAY, T.; ZERIHUN, A. Diversity of *Mannheimia haemolytica* and *Pasteurella trehalosi* serotypes from apparently sheep and abattoir specimens in the highlands of wollo, North East Ethiopia. *Vet. Res. Commun.*, v.27, p.3-14, 2003.
- STÖBER, M. Aparelho respiratório. In: DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H.D.; STÖBER, M. *Exame clínico dos bovinos*. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. p.139-165.