

# Meningoencefalitis trombótica (TME) por *Histophilus somni* en ovinos en Uruguay

## Thrombotic meningoencephalitis (TME) by *Histophilus somni* in sheep in Uruguay

Romero A.<sup>1</sup>, Quinteros, C.<sup>1</sup>, Marinho, P.<sup>2</sup>, O'Tool, D.<sup>3</sup>, Dutra, F.<sup>1,4</sup>

Recibido: 25/12/2012

Aprobado: 02/05/2013

### RESUMEN

Se comunica la ocurrencia de Meningoencefalitis trombótica (TME) o tromboembólica (TEME) por *Histophilus somni* en ovinos en Uruguay. La enfermedad se diagnosticó en mayo de 2011 en un predio comercial del departamento de Cerro Largo. Durante la encarnerada, en un lote de 100 ovejas de cría, enfermaron y murieron con cuadro nervioso 1 carnero y 1 oveja. Los animales afectados presentaron fiebre, decaimiento, ceguera, convulsiones, decúbito y muerte. Macroscópicamente, el encéfalo del carnero presentaba las meninges congestivas y había numerosos focos de necrosis licuefactiva de 2-5 mm de diámetro principalmente en el tálamo y en el límite de unión sustancia gris-sustancia

### SUMMARY

The purpose of this study was to communicate the occurrence of thrombotic meningoencephalitis (TME) by *Histophilus somni* in sheep in Uruguay. During the mating season of May 2011, in a flock of 100 animals, 1 breeding ewe and 1 ram died after showing fever, weakness, ataxia, blindness, convulsions and recumbence. Macroscopically, the brain of the ram had hemorrhages in the leptomeninges and numerous foci of liquefactive necrosis (2-5 mm) at the gray-white junction of cerebral hemispheres, basal gray nuclei and thalamus. Microscopically, the foci consisted of suppurative necrosis, vascular thrombosis and numerous bacterial colonies inside the abscesses. Immunohistochemistry assays

<sup>1</sup> DILAVE Miguel C Rubino, Laboratorio Regional Este, Avelino Miranda 2045, Treinta y Tres, Uruguay.

<sup>2</sup> Ejercicio liberal, Veterinarios Asociados, General Artigas 789, Melo, Uruguay.

<sup>3</sup> Wyoming State Veterinary Laboratory, Department of Veterinary Sciences, Laramie, WY 82070, USA

<sup>4</sup> Autor de correspondencia: fdutra@mgap.gub.uy

blanca de la corteza cerebral. Microscópicamente, había necrosis supurativa, trombosis y colonias bacterianas en el interior de los focos, los cuales estaban rodeados de una reacción inflamatoria de neutrófilos y células mononucleares. Se confirmó por inmunohistoquímica la presencia de *Histophilus somni* en las lesiones cerebrales.

### PALABRAS CLAVE:

ovino, meningoencefalitis trombótica, TEME, *Histophilus somni*.

## INTRODUCCIÓN

La meningoencefalitis trombótica (TME) es una enfermedad neurológica aguda y fatal de bovinos y ovinos producida por *Histophilus somni* (*H. somni*). Es también conocida como meningoencefalitis tromboembólica o TEME, pero debido a que no se han encontrado evidencias de algún fenómeno de tipo embólico muchos autores prefieren llamarla TME (Maxie y Youssef, 2007; Stephens y col., 1981). *Histophilus somni* es un cocobacilo pleomórfico, Gram-negativo, anaerobio facultativo, de crecimiento fastidioso, previamente conocido como *Histophilus ovis*, *Haemophilus agni* o *Haemophilus somnus* (Angen y col., 2003; Sandal e Inzana, 2010). *Histophilus somni* es un habitante normal del tracto respiratorio y urogenital del bovino (Humphrey

performed on paraffin-embedded tissues were positive for *Histophilus somni* confirming the cause of the disease.

### KEYWORDS:

heep, thrombotic meningoencephalitis, TEME, *Histophilus somni*, brain abscess immunohistochemistry.

y col., 1982), ovino (Walker y Lea Master., 1986), bisonte (Dyer, 2001) y caprino (Jánosi y col., 2009). Estudios *in vitro* establecen que el *H. somni* es capaz de resistir la acción de los neutrófilos, macrófagos y monocitos, los cuales ingieren el microorganismo pero no pueden eliminarlo, motivo por el cual éste persiste y prolifera contribuyendo al desarrollo de la enfermedad (Corbeil, 2007). Debido a las características del *H. somni* que dificultan su aislamiento, como alternativa para confirmar la presencia del patógeno se utilizan las técnicas de inmunohistoquímica por su mayor sensibilidad (O'Toole y col., 2009) y la de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a partir de semen de carneros con epididimitis (Saunders y col., 2007).

El síndrome TME es relativamente común en bovinos pero muy raro en ovinos. Solo hay algunos pocos casos reportados en Australia (Philbey y col., 1991), Europa (Cassidy y col., 1997) y Canadá (Orr y col., 1992). La enfermedad es de curso agudo, motivo por el cual los

animales son encontrados muertos, aunque a veces puede observarse decúbito, opistótonos, congestión de mucosas e hipersalivación (Philbey y col., 1991; Cassidy y col.; 1997). En Estados Unidos y Canadá, TME se ve con mayor prevalencia en bovinos de feedlot, generalmente asociado con algún factor de estrés, como transporte o temperaturas extremas (Harris y Janzen, 1989; Stephens y col., 1981). En Canadá la forma de infección más frecuente en bovinos por *H. somni* es la miocarditis localizada (Maxie y Youssef, 2007; O'Toole y col., 2009). En el cono sur, el TME en bovinos se ha reportado en Argentina (Descarga y col., 2002), mientras que en Brasil fueron diagnosticados dos casos con lesiones características de TME pero sin aislamiento del agente causal (Barros y col., 2006). El *H. somni* se ha implicado en muchos otros síndromes además del TME, tales como neumonía, septicemia, metritis, aborto, otitis media, mastitis, artritis y miocarditis en bovinos, y septicemia, epididimitis/orquitis, aborto, meningitis, vulvitis, y mastitis en ovinos, entre otros (Corbeil, 2007; Miller y col., 1983; Orr y col., 1992; Stephens y col., 1981).

El objetivo del presente trabajo es comunicar por primera vez la ocurrencia de meningoencefalitis trombótica (TME) en ovinos en Uruguay.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El diagnóstico patológico se realizó en el Laboratorio Regional Este, DILAVE Miguel C Rubino, Treinta y Tres, Uruguay. Se estudió la cabeza de un carnero adulto de raza Corriedale que fue remitida congelada al laboratorio. Aunque la congelación no es recomendable porque tiende a enmascarar la posible existencia de lesiones histopatológicas, el material igualmente fue recibido y procesado porque el congelado no impide otros análisis de laboratorio ni modifica mayormente los hallazgos macroscópicos (King y col., 2005).

### Procesamiento de laboratorio

La cabeza se descongeló a baja temperatura (4 °C) durante 72 hrs. en cámara frigorífica como se recomienda para disminuir las alteraciones tisulares microscópicas provocadas por los cristales de congelación (Wobeser, 1997). El encéfalo se extrajo luego de retirar la calvaria, se fijó en formol bufferado al 10 %, se cortó transversalmente en láminas de 0.5 cm de espesor y muestras de las distintas regiones del sistema nervioso central se deshidrataron en alcohol, se incluyeron en parafina, se cortaron a 5-7 µm de espesor y se colorearon con Hematoxilina y Eosina (H&E).

## Inmunohistoquímica

Para la identificación de *H. somni* se enviaron bloques de parafina con lesiones al Dr. Donal O'Toole (Wyoming State Veterinary Laboratory Department of Veterinary Sciences, USA) para la realización de inmunohistoquímica (IHQ). Para la inmunomarcación se utilizó la técnica de avidina-biotina-peroxidasa con un anticuerpo policlonal primario de conejo que ha sido testado frente a una variedad de cepas bovinas y ovinas de *H. somni* (Gogolewski y col., 1987; Corbeil, 2007).

## RESULTADOS

### Descripción del brote

El brote ocurrió en el mes de mayo de 2011 en un predio ganadero-ovejero de la 4ª seccional policial de Cerro Largo, paraje Centurión. En un plazo de 7-10 días, al final de la encarnerada, en un lote de 100 ovejas de cría, enfermaron y murieron con cuadro nervioso 1 oveja y 1 carnero Corriedale, 8D, de pedigrí. La majada estaba en campo natural y nunca había sido suplementada con ración, granos o fardos. Al final de la encarnerada, se encontró la oveja afectada con torneo, ataxia y ceguera, muriendo al otro día con convulsiones. El carnero trabajó en forma normal durante la encarnerada, pero días después de finalizada la misma presentó decaimiento, fiebre, decúbito, opistótonos, nistagmo, parálisis facial

(ojo y labio derecho), movimientos intermitentes de pedaleo y rigidez en los miembros posteriores. No había signos de orquitis o epididimitis. Al retirar la cabeza se observó abundante cantidad de líquido cefalorraquídeo turbio.

### Patología

Macroscópicamente, el encéfalo presentaba las meninges congestivas y algo engrosadas, con focos hemorrágicos en las leptomeninges y circunvoluciones cerebrales. En la superficie de corte del encéfalo, se observaron múltiples focos de reblandecimiento y cavitación de 2-5 mm de diámetro en la corteza cerebral y el tronco encefálico (Figura 1). Los focos eran bilaterales pero de distribución asimétrica y se localizaban principalmente en la unión de la sustancia gris-sustancia blanca de la corteza cerebral (Figura 2). No se encontraron lesiones en el cerebelo.

A la histopatología, los focos consistían en abscesos caracterizados por necrosis licuefactiva, una reacción inflamatoria compuesta por neutrófilos y células mononucleares y numerosas colonias bacterianas en su interior (coco-bacilos de 1-3 micras) (Figura 3). Alrededor había trombosis en los vasos sanguíneos pequeños y medianos, vasculitis leucocitoclástica y manguitos perivasculares de 1-3 células de espesor, con colonias bacterianas perivasculares. En la médula oblonga había periventriculitis en el piso del



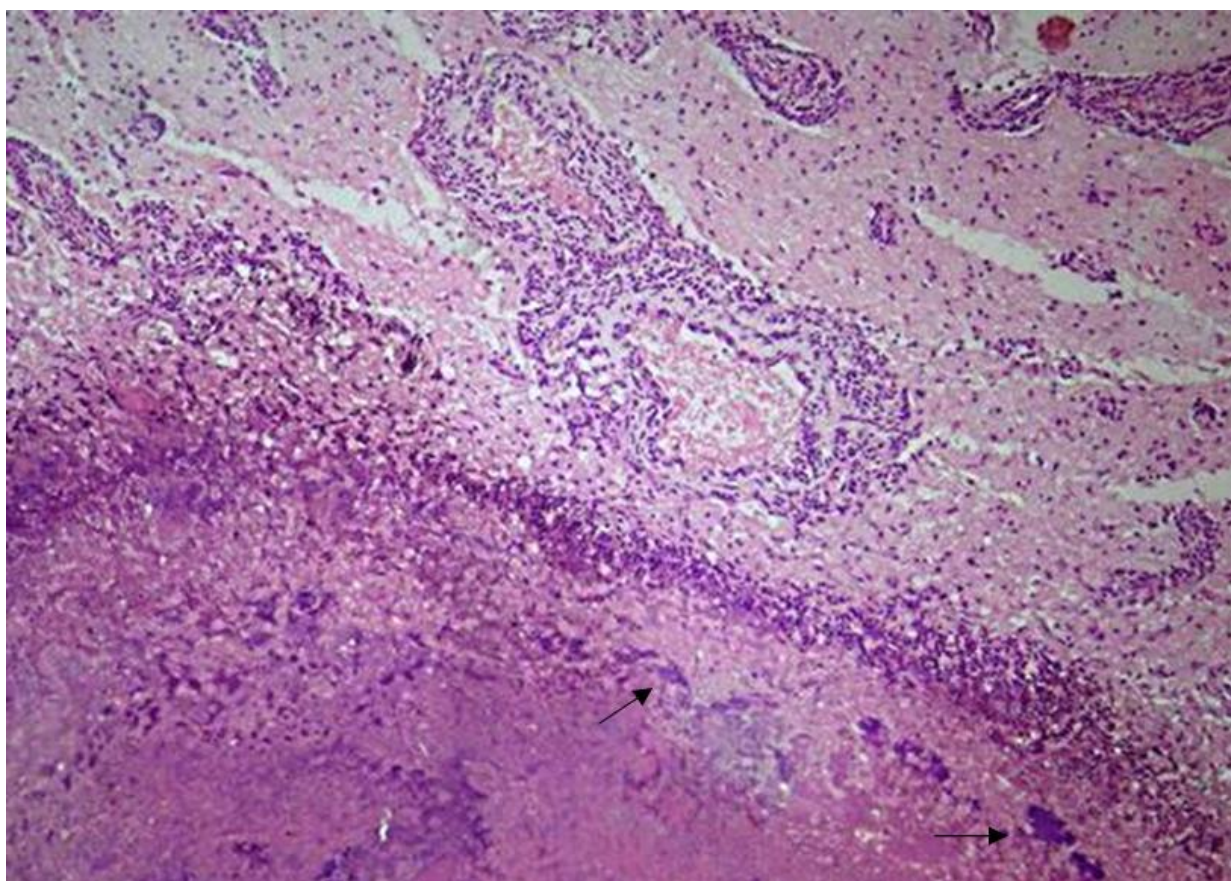


**Figura 1.** Corte transversal de encéfalo mostrando focos de necrosis licuefactiva y cavitación en el tálamo y corteza cerebral (flechas).



**Figura 2.** Focos de necrosis y abscesos localizados en la unión de la sustancia gris-sustancia blanca de la corteza cerebral a nivel del lóbulo frontal (flechas).





**Figura 3.** Tálamo. Corte histológico de absceso cerebral mostrando necrosis y supuración con colonias bacterianas cocoides en su interior (flechas) (H&E, x400). cerebral a nivel del lóbulo frontal (flechas).

4° ventrículo. Se observó leptomeningitis supurativa la región del tálamo y en los hemisferios cerebrales.

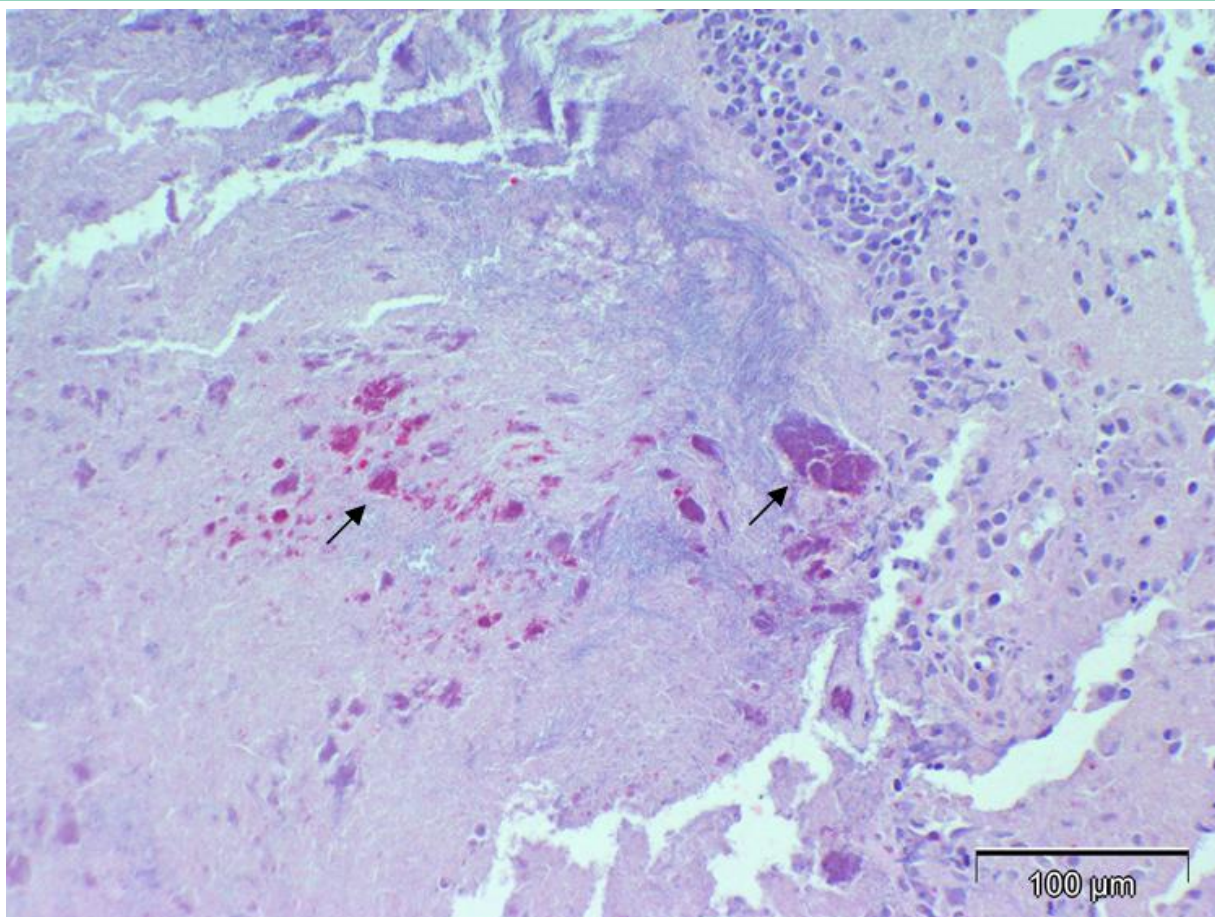
### Inmunohistoquímica

Los bloques de parafina remitidos resultaron inmunoperoxidasa positivos para *H. somni*, con marcación de las colonias bacterianas dentro de los abscesos cerebrales (Figura 4).

## DISCUSIÓN

El presente trabajo demuestra por primera vez la presencia de la Meningoencefalitis trombótica

(TME) o tromboembólica (TEME) por *H. somni* en ovinos en Uruguay. La localización de los abscesos en la unión de la sustancia gris-sustancia blanca de la corteza cerebral son característicos de embolismo o tromboembolismo cerebral (Hwang y col., 1996) y se consideran por algunos autores como distintivos del TME en rumiantes (Cassidy y col., 1997; Maxie y Youssef, 2007; Stephens y col., 1981). En el presente caso había además trombosis vascular, meningoencefalitis supurativa y abscesos pequeños con colonias bacterianas cocoides en su interior, hallazgos todos que hicieron sospechar la enfermedad. Los diagnósticos diferenciales de TME son pocos.



**Figura 4.** Inmunohistoquímica para *Histophilus somni* (mismo corte de la Figura 3). Nótese la marcación positiva en las colonias bacterianas del interior del absceso (flechas).

La listeriosis se descartó porque en esta enfermedad los abscesos son microscópicos (microabscesos) y los mismos se localizan exclusivamente en la médula oblonga, obex y puente (Maxie y Youssef, 2007). Los abscesos sépticos de origen hematógeno tienen una distribución y patología similar al TME y sólo pueden diferenciar por aislamiento bacteriano o por inmunohistoquímica (Maxie y Youssef, 2007), como se realizó en el presente caso.

En Uruguay existen reportes de otros síndromes por *H. somni* en ovinos, principalmente los casos de epididimitis y periorquitis por Bacilos Pleomórficos Gram Negativos (BPGN) en carneros vírgenes

(Bermudez y col., 1979; Castrillejo, 1987). También hay registros recientes en nuestro laboratorio de brotes de septicemia fulminante con aislamiento de *H. somni* en corderos pesados sobre praderas (Dutra y Quinteros, 2010). La infección en ovinos tiende a ser endémica en los predios ya que la bacteria se mantiene como comensal en el tracto genital de las ovejas y carneros jóvenes y se transmite por vía reproductiva o aérea durante la encarnera (Corbeil, 2007). Por este motivo, se recomienda la revisión de carneros previo a la época de servicio y eliminar aquellos con problemas de epididimitis/periorquitis que puedan diseminar el patógeno a



otros animales (Castrillejo, 1987). A pesar de que el TME es más frecuente en bovinos, especialmente en feedlots, ni éste ni otro síndrome por *H. somni* han sido reportados en esta especie en nuestro país. Esto podría explicarse porque las condiciones epidemiológicas son diferentes a las del ovino, o porque los casos ocurren esporádicamente y pasan desapercibidos, o bien porque clínicamente se la confunde con otra enfermedad. Es probable que el TME en bovinos se haga más frecuente en el futuro con la creciente de intensificación, suplementación y corrales de recría y engorde en el país.

Para control y prevención existen vacunas polivalentes que contienen esta bacteria que son utilizadas para prevenir el síndrome respiratorio en bovinos. En nuestro país actualmente la única herramienta disponible para el control del TME en ovinos es la terapia antimicrobiana. La antibioticoterapia generalmente no cambia el curso de la enfermedad en los animales que presentan síntomas nerviosos, sin embargo puede ser de utilidad para controlar el brote en el resto de la majada (Cassidy y col., 1997; Harris y Janzen, 1989).

En conclusión, el TME es una enfermedad que está presente en la población ovina de nuestro país. La enfermedad tiene características patológicas altamente específicas que permiten sospecharla con un estudio patológico macro y microscópico detallado. Se requieren estudios bacteriológicos y la puesta a punto de técnicas inmunohistoquímica

y moleculares de diagnóstico para determinar la importancia de esta infección en el país.

## AGRADECIMIENTOS

Al Bach. Guzmán Cubas por su contribución en la búsqueda bibliográfica, al Dr. Francisco Uzal por su apoyo para la realización de la inmunohistoquímica, a la Dra. Lynette Corbeil por los comentarios sobre el inmunodiagnóstico y a los funcionarios del Laboratorio Regional de Treinta y Tres por su esfuerzo y dedicación.

## REFERENCIAS

1. Angen Ø, Ahrens P, Kuhnert P, Christensen H, Mutters R. (2003). Proposal of *Histophilus somni* gen. nov., sp. nov. for the three species *incertae sedis* 'Haemophilus somnus', "Haemophilus agni" and 'Haemophilus ovis'. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 53:1449-1456.
2. Barros C, Driemeier D, Dutra I, Lemos R. (2006) Doenças do sistema nervoso de bovinos no Brasil. Montes Claros, MG, Coleção Vallée, 207 pp.
3. Bermudez J, Cuenca L, Castrillejo A, Barriola J, Laborde M. (1979). Epididimitis ovina causada por bacilos pleomórficos gramnegativos. Primeras Jornadas Veterinarias de Ovino, Tacuare-



- bó, 1979.
4. Cassidy JP, McDowell SW, Reilly GA, McConnell WJ, Forster F, Lawler D. (1997). Thrombotic meningoencephalitis associated with *Histophilus ovis* infection in lambs in Europe. *Vet Rec* 140:193-195.
  5. Castrillejo, A. (1987). Enfermedades que afectan la reproducción en el macho. En: Enfermedades de los lanares, Tomo 3 Enfermedades infecciosas y no transmisibles. Montevideo, Ed. Hemisferio Sur, pp. 35-41.
  6. Corbeil, LB. (2007). *Histophilus somni* host-parasite relationships. *Anim. Health Res. Rev.* 8:151-160.
  7. Descarga CO, Piscitelli HG, Zielinski GC, Cipolla AL. (2002). Thromboembolic meningoencephalitis due to *Haemophilus somnus* in feedlot cattle in Argentina. *Vet Rec* 150:817.
  8. Dutra F, Quinteros C. (2010). Septicemia en corderos por *Haemophilus somnus*. *Arch. Vet. Este*, Trimestre Abril - Junio 2010, p. 12. WWW URL: <http://www.mgap.gub.uy/DGSG/DI-LAVE/Dilave.htm>
  9. Dyer, N.W. (2001). *Haemophilus somnus* bronchopneumonia in American bison (*Bison bison*). *J. Vet. Diagn. Invest.* 13:419-421.
  10. Gogolewski, R.P.; Leathers, C.W.; Liggitt, H.D.; Corbeil, L.B. (1987). Experimental *Haemophilus somnus* pneumonia in calves and immunoperoxidase localization of bacteria. *Vet Pathol* 24:250-256.
  11. Harris FW, Janzen ED. (1989). The *Haemophilus somnus* disease complex (Hemophilosis): A review. *Can Vet J* 30:816-822.
  12. Hwang, T.L.; Close, T.P.; Grego, J.M.; Brannon, W.L.; Gonzales. F. (1996). Predilection of brain metastasis in gray and white matter junction and vascular border zones. *Cancer.* 77:1551-1555.
  13. Humphrey JD, Little PB, Stephens LR, Barnum DA, Doig PA, Thorsen J. (1982). Prevalence and distribution of *Haemophilus somnus* in the male bovine reproductive tract. *Am J Vet Res* 43:791-795
  14. Jánosi K, Hajtós I, Makrai L, Gyuranecz M, Varga J, Fodor L. (2009). First isolation of *Histophilus somni* from goats *Vet Microbiol.* 133:383-386.
  15. King, J.M.; Roth-Johnson, L.; Dodd, D.C.; Newson, M.E. (2005). *The Necropsy Book: A Guide for Veterinary Students, Residents, Clinicians, Pathologists, and Biological Researchers.* Charles Louis Davis, D.V.M. Foundation, Fourth Edition, Gurnee, Illinois, 60031-4757, USA. p. 97.

16. Maxie MG, Youssef S. (2007). Nervous system. En: Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of domestic animals. 5a. ed. Philadelphia, Ed. Saunders, pp. 408-411.
17. Miller RB, Barnum DA, McEntee KE. (1983). *Hemophilus somnus* in the reproductive tracts of slaughtered cows: location and frequency of isolations and lesions. Vet Pathol. 20:515-521.
18. Orr J, Chirino-Trejo M, Haines D, Schwab M, Moisan P, Ebbott D, Uhleg T. (1992). Alberta. Thrombotic encephalitis, myocarditis, and pneumonia in lambs. Can Vet J. 33:277.
19. O'Toole D, Allen T, Hunter R, Corbeil LB. (2009). Diagnostic exercise: Myocarditis due to *Histophilus somni* in feedlot and backgrounded cattle. Vet Pathol 46:1015-1017.
20. Philbey AW, Glastonbury JR, Rothwell JT, Links IJ, Searson JE. (1991). Meningoencephalitis and other conditions associated with *Histophilus ovis* infection in sheep. Aust Vet J 68:387-390
21. Sandal I, Inzana, TJ. (2010). A genomic window into the virulence of *Histophilus somni*. Trends Microbiol. 18:90-99.
22. Saunders VF, Reddacliff LA, Berg T, Hornitzky M. (2007). Multiplex PCR for the detection of *Brucella ovis*, *Actinobacillus seminis* and *Histophilus somni* in ram semen. Aust Vet J 85:72-77
23. Stephens LR, Little PB, Wilkie BN, Barnum DA. (1981). Infectious thromboembolic meningoencephalitis in cattle: a review. J Am Vet Med Assoc 178:378-384.
24. Wobeser, G.A. (1997). Necropsy and sample preservation techniques. En: Diseases of wild waterfowl (2nd ed), New York, N.Y., Plenum Press, USA. pp. 237-248.
25. Walker RL, LeaMaster BR. (1986). Prevalence of *Histophilus ovis* and *Actinobacillus seminis* in the genital tract of sheep. Am J Vet Res 47:1928-1930.