

# Frecuencia de aislamientos de *Mannheimia haemolytica* y *Pasteurella multocida* en bovinos Holstein clínicamente enfermos de neumonía

## Frequency of isolations of *Mannheimia haemolytica* and *Pasteurella multocida* in clinically ill Holstein bovines of pneumonia

Yara Ivette Cruz-Méndez<sup>1</sup>, Ramón Alfredo Delgado-González<sup>1</sup>, Carlos Jaramillo-Arango<sup>2</sup>,  
Francisco Aguilar-Morales<sup>2,3</sup>, Francisco José Trigo-Tavera<sup>2</sup>

E-mail: raldego@yahoo.com

<sup>1</sup>Depto. de Ciencias Médico Veterinarias. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna, Periférico y Carretera a Santa Fe s/n. Torreón, Coah., México. CP 27059. <sup>2</sup>Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. <sup>3</sup>Departamento de Fisiopatología. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.

### Abstract

A study of descriptive and cross-sectional type was carried out from October, 2004 to March, 2005, in random form, by criterion, in 20 dairy cow herds in La Comarca Lagunera in North of Mexico. Samples were taken from ill animals that displayed clinical evidences of pneumonia, equivalent to 111 samples, 73 animals of 60 d old and 38 of a year of age. Nasal exudates were analyzed using sterile hyssops as means of transport *Stewart*, which were transported in refrigeration, they were sowed in agar blood and they were identified according to the morphology of the colony, with Gram and biochemical tests. The obtained results were of 44 (39.6 %) isolations; 26 (23.4 %) of *Pasteurella multocida*, 11 (9.9 %) of *Mannheimia haemolytica*, and 7 (6.3 %) isolations with both bacteria. These findings demonstrate that its more frequent the isolation of *Pasteurella multocida* than that of *Mannheimia haemolytica* in clinically pneumonia ill Holstein bovines in the Laguna Region.

**Key words:** *Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica*, isolations

### Resumen

Se realizó un estudio de tipo descriptivo y transversal, de octubre de 2004 a marzo del 2005, en forma aleatoria, por criterio, en 20 hatos de bovinos lecheros de La Comarca Lagunera, en el norte de México. Se tomaron muestras de animales enfermos que presentaron evidencias clínicas de neumonía, equivalente a 111 muestras, 73 de animales menores de 60 d de edad, y 38 mayores de un año. Se analizaron exudados nasales utilizando hisopos estériles con medio de transporte de *Stewart*, los cuales se transportaron en refrigeración, se sembraron en agar sangre y se identificaron de acuerdo a la morfología de la colonia, con tinción de Gram y pruebas bioquímicas. Los resultados obtenidos fueron: 44 aislamientos (39.6 %); 26 de *Pasteurella multocida* (23.4 %), 11 de *Mannheimia haemolytica* (9.9 %), y 7 aislamientos con ambas bacterias (6.3 %). Estos hallazgos demuestran que el aislamiento de *Pasteurella multocida* es más frecuente que el de *Mannheimia haemolytica*, en bovinos Holstein clínicamente enfermos de neumonía.

**Palabras clave:** *Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica*, aislamientos.

## Introducción

Normalmente se aíslan bacterias de la familia *Pasteurellaceae*, de diferentes tipos de animales, que en su mayoría se consideran comensales o patógenos oportunistas. Dentro de la familia *Pasteurellaceae* se han agregado nueve géneros diferentes: *Pasteurella*, *Actinobacillus*, *Haemophilus*, *Mannheimia*, *Lonepinella*, *Phocoenobacter*, *Histophilus*, *Gallibacterium* y *Volucribacter* (Kuhnert *et al.*, 2004).

El género *Pasteurella*, que fue propuesto por Trevisan en 1887, se ha sometido a una profunda revisión taxonómica durante los últimos años. En 1982 se propuso la especie de *P. tetudinis*; en 1985, *P. multocida* se dividió en tres subespecies: *P. multocida* subsp. *multocida*, *P. multocida* subsp. *Séptica*, y *P. multocida* subsp. *gallicida*. A la vez, se crearon seis nuevas especies: *P. canis*, *P. stomatis*, *P. dagmatis*, *P. anatis*, *P. Langa*, denominada a partir de 1998 *P. Langaaensis*, y *P. volantium*. En 1989 se describieron *P. caballi* y *P. granulomatis*; y en 1990, *P. bettyea*, *P. lymphangitidis*, *P. mairii* y *P. trehalosi* (Gutiérrez *et al.*, 2002).

Newsom y Cross (1932) propusieron el nombre de *Pasteurella haemolytica* para un grupo de cepas atípicas llamadas *Bacillus bovisepiticus* (Angen *et al.*, 1999). La *P. haemolytica* descrita por Smith (1959, 1961), se dividió en dos biovariedades, la A y T, de acuerdo a la capacidad de fermentar arabinosa y trealosa, respectivamente (Blackall *et al.*, 2002).

En 1999 se realizó la última modificación taxonómica cuando, en virtud de estudios de hibridación de ADN y de secuenciación del ARN ribosómico 16S, se derivó del género *Pasteurella* uno nuevo: el género *Mannheimia* (Angen *et al.*, 1999), que tiene cinco especies: *M. haemolytica*, *M. glucosida*, *M. granulomatis*, *M. ruminalis* sp. y *M. varigena* (Blackall *et al.*, 2002).

*Pasteurella* y *Mannheimia* se manifiestan de distintas maneras en el ganado lechero, dependiendo de la edad del animal, organismo (s) involucrado y estadios de la enfermedad, entre otros factores. El tracto respiratorio es el sitio más común de infección. La neumonía es la manifestación más frecuente provocada por *Pasteurella* (Chen *et al.*, 2002). La fiebre de embarque, producida por *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica*, ocurre frecuentemente en el ganado después del transporte (Storz *et al.*, 2000).

Las enfermedades respiratorias son una importante causa de pérdidas económicas; sin embargo, no existen estudios que indiquen la frecuencia de las neumonías producidas por *P. multocida* y *M. haemolytica* en La Comarca Lagunera, por lo cual el objetivo de la presente investigación fue determinar la frecuencia de aislamientos de estas bacterias en bovinos Holstein, clínicamente enfermos de neumonía.

## Metodología Experimental

Se realizó un estudio descriptivo y transversal en dos fases. La fase de campo se llevó a cabo en La Comarca Lagunera, la cual cuenta con 320 unidades productivas (UP) de ganado lechero con una población aproximada de 1800 bovinos por UP.

La toma de muestras se realizó de octubre de 2004 a marzo de 2005, en 20 UP, en forma aleatoria, por criterio; se muestreó el 100 % de los animales enfermos, y se dividieron en animales menores y mayores de un año, que presentaban evidencias clínicas de neumonía. Se obtuvieron muestras de exudado nasal mediante hisopos estériles con medio de transporte de *Stuart*, las cuales se transportaron en refrigeración hasta el lugar de trabajo.

La fase de laboratorio se efectuó en la Unidad de Diagnóstico del Departamento de Ciencias Médico Veterinarias de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna, en Saltillo, Coah., México y en el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, en Palo Alto, México, D.F.

Las muestras se sembraron en agar sangre, se identificó la morfología de las colonias y se utilizó la tinción de Gram y pruebas bioquímicas, de acuerdo a las técnicas microbiológicas de rutina. Se utilizaron las pruebas bioquímicas de oxidasa, citrato de Simons, SIM, TSI y Urea. La frecuencia de aislamientos se reportó en porcentajes.

## Resultados y Discusión

De las 20 UP estudiadas, se analizaron 111 (0.3 %) animales clínicamente enfermos de neumonías, de una población de 36 850 bovinos. De éstos, 73 (65.7 %) fueron animales menores 60 días de edad, y 38 (34.3 %) mayores de un año. Se obtuvieron 44 (39.6 %) aislamientos, de los que 26 (59.1 %) correspondieron a *Pasteurella multocida*, 11 (25 %) a *Mannheimia haemolytica*, y en 7 (15.9 %) se aislaron ambas bacterias.

De los 73 bovinos menores de 60 días, hubo 38 (52.05 %) aislamientos. De éstos, 22 (57.9 %) fueron *Pasteurella multocida*, 9 (23.7 %) *Mannheimia haemolytica* y en 7 (18.4) se encontraron ambas bacterias. De los 38 animales mayores de un año, se obtuvieron 6 (15.8 %) aislamientos. En 4 (66.7 %) casos se aisló *Pasteurella multocida* y en 2 (33.3 %) *Mannheimia haemolytica*.

En un estudio realizado por Blanco *et al.* (1993), en rastros de la Ciudad de México, y de Tlalnepantla, Edo. de Mex., en ovinos y caprinos con lesiones neumónicas pulmonares, se aisló un 32.3 % de *Pasteurella multocida* y un 18.1 % de *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica*.

Pijoan *et al.* (2000), en becerras lecheras de establos de Baja California, encontraron 34 % de *P. multocida* y 31 % de *Mannheimia haemolytica* (Pijoan *et al.*, 2000). De igual forma, Pijoan *et al.* (1999) citan a *Pasteurella multocida* como la bacteria más comúnmente aislada en ganado bovino, en un estudio realizado en Baja California, México, en el que se concluyó que por sí sola produce una

enfermedad clínica y una lesión pulmonar, aunque menos severa que *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica*.

Al parecer, de acuerdo a estos estudios, los aislamientos bacterianos a partir de pulmones neumónicos y con hisopos nasales, corresponden más a *Pasteurella multocida* que a *Mannheimia haemolytica*. Tradicionalmente se ha descrito que la neumonía afecta a becerros de 2 a 5 meses de edad (Curtis *et al.*, 1988), aunque en estudios más recientes se ha encontrado que las becerros pueden verse afectadas por procesos neumónicos desde las dos semanas de edad, aunque con mayor riesgo de enfermarse en la cuarta y quinta semana de vida (Virtala *et al.*, 1996), hasta la décima semana (Sivula *et al.*, 1996).

En el presente estudio se corroboró que las becerros lecheras corren mayor peligro de contraer neumonía antes de los primeros dos meses de edad, lo causa pérdidas económicas severas en algunos establos. Aunado a esto, también se encontró que los índices de aislamiento fueron mayores en bovinos jóvenes menores de 60 días, que en adultos.

## Conclusiones

Este estudio provee evidencias de la presencia de *Pasteurella multocida* y *Mannheimia haemolytica*, en hisopos nasales de animales con manifestaciones clínicas de neumonías. Sería recomendable realizar estudios complementarios para ampliar la gama de agentes etiológicos que causan neumonías en bovinos lecheros, ya que el complejo respiratorio bovino es de origen multifactorial.

A pesar de que no se encontraron estudios similares al presente trabajo en el país, nuestros resultados coinciden con otros investigadores, con respecto a un mayor aislamiento de *P. multocida* sobre *M. haemolytica*, esto debido, quizás, a la utilización de una bacterina en contra de las neumonías en bovinos que solo presenta *Mannheimia haemolytica*, aunque recientemente se han estado integrando nuevas bacterinas que presenten ambas bacterias.

## Literatura Citada

- Angen, O., Mutters, R., Caugant, D.A., Olsen, J.E. y Bisgaard, M. 1999. Taxonomic relationships of the (*Pasteurella*) *haemolytica* complex as evaluated by DNA-DNA hybridizations and 16S rRNA sequencing with proposal of *Mannheimia haemolytica* gen. nov., comb. nov., *Mannheimia granulomatis* comb. nov., *Mannheimia glucosida* sp. Nov., *Mannheimia ruminalis* sp. Nov. and *Mannheimia varigena* sp. Nov. *International Journal of Systematic Bacteriology* 49: 67-86.
- Blackall, P.J., Bisgaard, M. y Stephens, C.P. 2002. Phenotypic characterization of Australian sheep and cattle isolates of *Mannheimia haemolytica*, *Mannheimia granulomatis* and *Mannheimia varigena*. *Aust Vet J*, 80(1-2): 87-91.
- Blanco, V.F., Trigo, T.F., Jaramillo, M.L., Aguilar, R.F., Tapia, P.G. y Suárez, G.F. 1993. Serotipos de *Pasteurella multocida* y *Pasteurella haemolytica* aislados a partir de pulmones con lesiones inflamatorias en ovinos y caprinos. *Rev. Vet. Mex.* 24(2): 107-112.
- Chen, H.I., Hulten, K., y Clarridge, J.E. 2002. Taxonomic subgroups of *Pasteurella multocida* correlate with clinical presentation. *Journal of Clinical Microbiology* 40(9): 3438-3441.

- Curtis, C.E. Erb, H.N. y White, M.E. 1988. Descriptive epidemiology of calfhood morbidity and mortality in New York Holstein herds. *Prev. Vet. Med.* 5: 293-307.
- Gutiérrez, C.B., De La Puente, V.A. y Rodríguez, E.F. 2002. Géneros *Actinobacillus*, *Haemophilus*, *Pasteurella* y *Mannheimia*. Tomado de Manual de Vadillo S., Piriz S. y Mateos E. Manual de Microbiología Veterinaria. Editorial McGraw-Hill Interamericana. pp. 357 – 377.
- Kuhnert, P., Korczak, B., Falsen, E., y Straub, R. 2004. *Nicoletella semolina* gen. nov., sp. Nov., a new member of *Pasteurellaceae* isolated from horses with airway disease. *J. Clin. Microbiol.* 42(12): 5542 – 5548.
- Pijoan, A.P. y Aguilar, R.F. 2000. Resistencia y sensibilidad a antimicrobianos en cepas de *Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica* y *Haemophilus sommnus*. *Rev. Vet. Mex.* 31(2): 153-156.
- Pijoan, A.P., Aguilar, R.F. y Morales, A.F. 1999. Caracterización de los procesos neumónicos en becerros lecheros de la región de Tijuana, Baja California, México. *Rev. Vet. Mex.* 30(2): 149-155.
- Sivula, N.J., Ames, T.R., Marsh, W.E. y Werdin, R.E. 1996. Descriptive epidemiology of morbidity and mortality in Minnesota dairy heifer calves. *Prev Vet Med.* 27: 155-171.
- Storz, J., Lin, X., Purdy, C.W., Chouljenko, V.N., Kousoulas, K.G., Enright, F.M., Gilmore, W.C., Briggs, R.E., y Loan, R.M. 2000. Coronavirus and *Pasteurella* Infection in Bovine Shipping Fever Pneumonia and Evan`s Criteria for Causation: *J. Clin. Microbiol.* 38(9): 3291-3298.
- Virtala, A.K., Mechor, G.D., Grohn, Y.T., Erb, H.N. y Dubovi, E.J. 1966. Epidemiologic and pathologic characteristics of respiratory tract disease in dairy heifers during the first three months of life. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 208: 2035-2042.