



Frecuencia de aislamientos de *Mannheimia haemolytica* y *Pasteurella multocida* en becerras con signos clínicos de enfermedad respiratoria, en un complejo lechero del estado de Hidalgo, México

Frequency of *Mannheimia haemolytica* and *Pasteurella multocida* isolates obtained from calves with clinical signs of respiratory tract disease from a dairy complex in the state of Hidalgo, Mexico

José Luis de la Rosa Romero* Carlos Julio Jaramillo-Arango**
José Juan Martínez-Maya* Francisco Aguilar-Romero***
Rigoberto Hernández-Castro† Francisco Suárez-Güemes‡
Francisco Trigo Tavera°

Abstract

Mannheimia hemolytica (Mh) and *Pasteurella multocida* (Pm) strains obtained from bovine nasal discharge of clinically affected by respiratory tract disease calves, were isolated and characterized to estimate the isolation frequency in a dairy complex in the state of Hidalgo, Mexico, over a period of five months by means of a trans-sectional descriptive study. Strains were isolated and typified through selective media and biochemical tests. Chi-square or Fisher's statistical tests were applied, as well as odds ratio calculation and logistic regression analysis to evaluate the association of some variables on Mh and Pm isolation. Of the 239 calves younger than 1 year of age researched, in 84 (35.14%) Mh or Pm was isolated, 67 (28.03%) of them with Mh and 17 (7.11%) with Pm, in eight calves (3.10%) both microorganisms were isolated. Potential risk factors such as housing, treatment and vaccination were evaluated. The frequency of Mh isolates was higher than the Pm in calf accommodations individual housing or in group housing ($P \leq 0.05$); similarly, the frequency of Mh and Pm isolates together were higher in not vaccinated against infectious bovine rhinotracheitis (OR = 2.93, $P \leq 0.05$), bovine viral diarrhea (OR = 4.26, $P \leq 0.05$), parainfluenza 3 (OR = 2.68, $P \leq 0.05$), bovine syncytial virus (OR = 2.36, $P \leq 0.05$) and mannheimiosis (OR = 1.97, $P \leq 0.05$). Calves housed in the stables and no vaccination against bovine viral diarrhea, were the variables that remained in the logistic regression model. Mh got the highest isolation rate in calf accommodations individual housing or in group housing, as well as in outdoors housing.

Key words: *M. HAEMOLYTICA*, *P. MULTOCIDA*, NASAL DISCHARGE, CALVES, CATTLE.

Resumen

Se determinó la frecuencia de *Mannheimia haemolytica* (Mh) y *Pasteurella multocida* (Pm) obtenidas de exudado nasal de becerras afectadas por enfermedad respiratoria, en un complejo lechero del estado de Hidalgo, México, evaluadas durante 5 meses en un estudio descriptivo transversal. El aislamiento e identificación se hizo mediante procedimientos

Recibido el 9 de marzo de 2011 y aceptado el 24 de octubre de 2012

*Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, DF.

**Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Animal en Altiplano, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, DF.

***Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas y Pecuarias. CENID-Microbiología, km 15.5 carretera México-Toluca, Cuajimalpa, 05110, México, DF.

†Dirección de Investigación, Hospital General "Dr. Manuel Gea González", Secretaría de Salud, Av. Calzada de Tlalpan 4800, col. Sector XVI, 14080, México, DF.

‡Departamento de Microbiología e Inmunología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, DF.

°Departamento de Patología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, DF.

Responsable de correspondencia: Carlos Julio Jaramillo Arango, correo electrónico: cjja@servidor.unam.mx

tos selectivos y pruebas bioquímicas. Se evaluó la asociación de algunas variables con el aislamiento de Mh y Pm, mediante Ji cuadrada o Fisher, el cálculo de la razón de momios y el análisis de regresión logística. De 239 becerras menores de un año, estudiadas, en 84 (35.14%) se aisló Mh o Pm, de ellas, 67 (28.03%) con Mh y 17 (7.11%) con Pm; en 8 becerras (3.10%) se aislaron ambos microorganismos. Se evaluaron posibles factores de riesgo: alojamiento, tratamiento y vacunación. La frecuencia de aislamientos de Mh fue mayor que la de Pm en becerras alojadas en becerreras o en corrales ($P \leq 0.05$), o que estaban en becerreras a la intemperie ($P \leq 0.05$), similarmente, la frecuencia de Mh y Pm juntas, fue mayor en becerras no vacunadas contra rinotraqueitis infecciosa bovina (RM = 2.93, $P \leq 0.05$), diarrea viral bovina (RM = 4.26, $P \leq 0.05$), parainfluenza 3PI3 (RM = 2.68, $P \leq 0.05$), virus respiratorio sincitial bovino (RM = 2.36, $P \leq 0.05$) y manheimiosis (RM = 1.97, $P \leq 0.05$). Las variables que permanecieron en el modelo de regresión fueron alojar las becerras en los establos y la no vacunación contra diarrea viral bovina. Mh presentó la mayor tasa de aislamientos en becerras alojadas tanto en becerreras individuales como en corrales o a la intemperie.

Palabras clave: *M. HAEMOLYTICA*, *P. MULTOCIDA*, EXUDADO NASAL, BECERRAS, BOVINOS.

Introduction

Cattle production in Mexico is an important source of animal protein, since cow's milk constitutes 98% of the country's consumption. Additionally, milk and meat of this species represents 67% of the total agricultural products for domestic consumption.¹

Cattle production is efficiently affected by several factors, such as infectious diseases, and among them, respiratory problems represent worldwide economic losses.² Bovine respiratory disease complex is a multifactorial process, where by loss of animal internal balance, lung colonization by infectious agents such as viruses and bacteria are favoured, as well as by synergism between both, causing pneumonia, and in severe cases, animal death. The environmental factors that favour respiratory tract disease onsets are the following: sharp temperature changes, high relative humidity, overpopulation and inadequate air system facilities, as well as dietary changes, stress animal management, animals of different ages, immunologic stages and social hierarchies. The main clinical signs that sick bovines show are: breathing rate increase, cough, nasal and ocular discharge, fever and loss of appetite, among others.³⁻⁶

Pasteurella multocida and *Mannheimia haemolytica* are microorganisms frequently isolated from pneumonic processes of domestic ruminants, the most common one is the first one, which causes in both cases, bovine pasteurellosis or shipping fever that is generally a fatal respiratory tract disease, characterized by severe fibrinous pleuropneumonia, mainly affecting animals younger than one year of age recently transported, or calves one to five months of age.⁶⁻⁹

P. multocida and *M. haemolytica* are normal flora of the upper respiratory tract, which under certain immunosuppressive conditions behave as opportunists and may invade the lower respiratory tract; prolonged periods of stress are an important factor, which are associated with an increase of plasma cortisol levels, causing decreased leukocyte function.^{8,10-12}

Although bovine respiratory tract diseases are an

Introducción

La producción de bovinos en México es una importante fuente de proteína de origen animal, ya que la leche de origen bovino constituye 98% del total que se consume en el país. Además, la leche y la carne de esta especie representan 67% de la totalidad de los productos pecuarios para consumo.¹

La producción bovina se ve afectada en su eficiencia por diversos factores, entre los que se encuentran las enfermedades infecciosas, y de ellas, los problemas respiratorios son causa importante de pérdida económica en el mundo.² El complejo respiratorio bovino es de origen multifactorial, donde al perderse el equilibrio interno del animal, se favorece la colonización pulmonar por agentes infecciosos como virus y bacterias, así como por el sinergismo entre ambos, produciéndose una neumonía, y en casos muy severos, la muerte del animal. Entre los factores ambientales que favorecen la aparición de enfermedades respiratorias se encuentran: cambios bruscos de temperatura, elevada humedad relativa, hacinamiento, y ventilación inadecuada de las instalaciones, así como cambios en la alimentación, estrés por manejo zootécnico de los animales, mezcla de animales de diferentes edades, estados inmunológicos y jerarquías sociales. Los principales signos clínicos que presentan los bovinos enfermos son: aumento en la frecuencia respiratoria, tos, descarga nasal y ocular, fiebre y pérdida del apetito, entre otras.³⁻⁶

Pasteurella multocida y *Mannheimia haemolytica* son microorganismos aislados frecuentemente de los procesos neumónicos de los rumiantes domésticos, el más común es el primero, que causa en ambos casos, la pasteurellosis bovina o fiebre de embarque, la cual es una enfermedad respiratoria generalmente fatal que se caracteriza por una pleuroneumonía fibrinosa grave, y que afecta principalmente a animales menores de un año recientemente transportados, o a becerros de 1 a 5 meses de edad.⁶⁻⁹

P. multocida y *M. haemolytica* son flora normal del aparato respiratorio superior, que bajo ciertas condi-

important cause of economic losses in the country, few are the studies that show its recent situation and economic impact, as well as the frequency with which *M. haemolytica* and *P. multocida* are isolated from animals with pneumonia, mainly bovines; therefore, the aim of the study was to determine the frequency of *M. haemolytica* and *P. multocida* isolates obtained from calves younger than one year of age with clinical signs of respiratory tract disease, in a dairy complex in the state of Hidalgo, which represents an important dairy bovine production center in that region.

Spatial and temporal localization

The field phase was carried out for five months in a dairy complex in Tizayuca, Hidalgo, counting with 126 productive units (PU), of which 108 PU make use of the services of the Coordinación de Servicios Médico Veterinarios (CSMV), each PU has an average of 200 bovines. The laboratory phase was carried out at the Departamento de Microbiología e Inmunología of the Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia of the UNAM and at the CENID-Microbiología of the Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP).

Material and methods

Sample collection, handling and preservation

Sterile swabs were used to obtain nasal samples from all calves younger than one year of age, with clinical signs of respiratory tract disease ($n = 239$), present during the study; afterwards, each swab was placed in Amies Transport Medium with charcoal and was refrigerated at 4°C until processed.

Gender-related data were obtained from each animal sampling, housing type, chemotherapeutic treatment and vaccination against bovine viral diarrhea (BVD), infectious bovine rhinotracheitis (IBR), parainfluenza-3 virus (PI3), bovine respiratory syncytial virus (BRSV) and bovine mannheimiosis.

Sample analysis

Isolation and identification of *M. haemolytica* and *P. multocida* was carried out in blood agar boxes at 7%, from nasal discharge swabs, by pure culture isolation method. Blood agar was incubated for 24 hours at 37°C.

Colonies with *M. haemolytica* and *P. multocida* morphological characteristics were Gram stained; Gram-

ciones de inmunosupresión se comportan como oportunistas y pueden invadir el tracto respiratorio inferior; un factor importante son los periodos prolongados de estrés, los cuales se asocian con una elevación del cortisol en el plasma, lo que origina un decremento en la función leucocitaria.^{8,10-12}

A pesar de que las enfermedades respiratorias en bovinos son una importante causa de pérdidas económicas en el país, son pocos los estudios que indiquen su situación actual y su impacto económico, así como la frecuencia con que *M. haemolytica* y *P. multocida* se aíslan en animales con neumonías, particularmente en bovinos; por tal motivo, el objetivo del estudio fue determinar la frecuencia de aislamientos de *M. haemolytica* y *P. multocida* en becerras menores de un año con signos clínicos de enfermedad respiratoria, en un complejo lechero en el estado de Hidalgo, que representa un importante centro de producción de leche de bovino en esa región.

Ubicación espacial y temporal

La fase de campo se realizó durante 5 meses en un complejo lechero ubicado en Tizayuca, Hidalgo, el cual cuenta con 126 unidades productivas (UP), de las cuales 108 UP utilizan los servicios de la Coordinación de Servicios Médicos Veterinarios (CSMV), cada UP tiene, en promedio, 200 bovinos. La fase de laboratorio se realizó en el Departamento de Microbiología e Inmunología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM y en el CENID-Microbiología del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP).

Material y métodos

Obtención, manejo y conservación de la muestra

Mediante hisopos estériles se obtuvieron muestras de la cavidad nasal de todas la becerras menores de un año, con signos clínicos de enfermedad respiratoria ($n = 239$), presentes durante el periodo de estudio, posteriormente cada hisopo se colocó en un medio de transporte Amies adicionado con carbón activado y se refrigeró a 4°C hasta su procesamiento.

De cada animal muestreado se obtuvieron datos relacionados con sexo, tipo de alojamiento, administración de quimioterapéuticos y vacunación contra diarrea viral bovina (DVB), rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR), virus de parainfluenza 3 (PI3), virus respiratorio sincitial bovino (VRSB) y mannheimiosis bovina.

negative, rod-shaped bacteria were selected for biochemical tests (indole, oxidase, citrate and urea production), as well as use of the micromethod API 20E* for their definitive identification.^{13,14}

Statistical analysis

Frequency of *M. haemolytica* and *P. multocida* isolates was analyzed in animals, together or separately, by descriptive statistics according to housing, chemotherapeutic treatment and vaccination. With the objective to assess possible risk factors regarding isolation of said microorganisms, odds ratio was calculated and its statistical association by means of chi-square or Fisher's exact test. A multivariate analysis by logistic regression was carried out, considering only those variables that resulted significant in the univariable analysis.

Results

During the study period, 239 calves younger than one year were evaluated.

M. haemolytica or *P. multocida* was isolated in 35.14% (84/239) of the calves, *M. haemolytica* in 28% (67/239) and *P. multocida* in 7.1% (17/239), it was possible to isolate both microorganisms in 3.1% (8/239).

Of the aforementioned animals, 184 (76.98%) were in group housing and 55 (23%) in individual housing; of the latter, 5 (9%) were indoors and 50 (90.9%) outdoors (Table 1).

There was no statistical difference in the frequency of *P. multocida* and *M. haemolytica* isolates together between calves in group or individual housing ($P > 0.05$). However, the percentage of animals with *M. haemolytica* was higher than with *P. multocida* in calves in individual or group housing ($P < 0.05$) (Table 1).

Evaluating the calves in individual outdoor or indoor housing, there was only frequency difference between *M. haemolytica* isolates and *P. multocida*, in the outdoor ones ($P < 0.05$) (Table 1).

Regarding the chemotherapeutic treatment, there was no frequency difference in *M. haemolytica* or *P. multocida* isolates between calves that did receive it ($n = 105$) and the ones who did not receive it ($n = 134$); however, in animals with or without treatment, frequency of *M. haemolytica* isolates was higher ($P < 0.05$) (Table 1).

In respect of vaccination, a significant difference was found in *M. haemolytica* and *P. multocida* isolated together, in animals that had not received vaccines against IBR (54.4%), BVD (62.9%), PI3 (51.3%), BRSV (49.3%) and Mannheimiosis (42.9%), in contrast to the ones vaccinated ($P < 0.05$) (Table 2).

Análisis de las muestras

El aislamiento e identificación de *M. haemolytica* y *P. multocida* se realizó en cajas de agar sangre al 7%, a partir del hisopo con secreción nasal, por el método de aislamiento en cultivo puro. El agar sangre se incubó por 24 horas a 37°C.

A las colonias con morfología característica de *M. haemolytica* o *P. multocida* se les realizó tinción de Gram; se seleccionaron las Gram negativas de forma cocobacilar para hacerles pruebas bioquímicas (producción de indol, oxidasa, citrato y urea), así como la aplicación del micrométodo API 20E* para su identificación definitiva.^{13,14}

Análisis estadístico

En los animales se analizaron las frecuencias de aislamientos de *M. haemolytica* y *P. multocida*, juntas y de manera separada, mediante estadística descriptiva de acuerdo con alojamiento, administración de quimioterapéuticos y aplicación de vacunas. A fin de estimar posibles factores de riesgo con respecto al aislamiento de dichos microorganismos, se calcularon las razones de momios y su asociación estadística mediante la prueba de Ji cuadrada o Fisher. Se realizó un análisis multivariado mediante una regresión logística, considerando sólo aquellas variables que resultaron significativas al análisis univariado.

Resultados

Durante el periodo de estudio se evaluaron 239 beceras menores de un año.

En 35.14% de las beceras (84/239) se aisló *M. haemolytica* o *P. multocida*; en 28% de ellas (67/239), *M. haemolytica*, y en 7.1% (17/239), *P. multocida*; en 3.1% (8/239) se pudo aislar ambos microorganismos.

De los animales estudiados, 184 (76.98%) se alojaban en corrales y 55 (23%) en corraletas o becerrerías individuales; de estos últimos, 5 (9%) estaban dentro de edificios y 50 (90.9%) a la intemperie (Cuadro 1).

No se encontró diferencia estadística en la frecuencia de aislamiento de *P. multocida* y *M. haemolytica* juntas entre las beceras que se alojaban en corrales o en becerrerías ($P > 0.05$). Sin embargo, fue mayor el porcentaje de animales con *M. haemolytica* que con *P. multocida* en las que estaban en becerrerías o en corrales ($P < 0.05$) (Cuadro 1).

Al evaluar a las que estaban en becerrerías, según si éstas se encontraban a la intemperie o dentro de edificios, sólo hubo diferencia entre las frecuencias de ais-

*BioMerieux, Durham, NC Estados Unidos de América.

A logistic regression was carried out with variables, with a maximum error of 0.10 in the univariable analyses such as: rearing calves in the stable ($P = 0.023$, vaccinated animals against IBR ($P = 0.0003$), BVD ($P = 0.0002$), PI3 ($P = 0.0004$), BRSV ($P = 0.0036$) and mannheimiosis ($P = 0.036$); from them, only two remained in the model (keep the calves in the stables and no vaccination against BVD) (Table 3).

Discussion

Regarding the animals, 94.57% were 15 days to one year of age, this coincides with the described by Curtis *et al.*,¹⁵ Sivula *et al.*¹⁶ and Virtala *et al.*,¹⁷ who found that bovine respiratory diseases are generally observed in six weeks to six months old calves, since their immunologic system is developing, are weaned or confined to other areas with animals of different ages, subjecting them to stress conditions and making them more susceptible.

The percentage of *M. haemolytica* and *P. multocida* isolates in this study (35.14%) was lower to the reported by Storz *et al.*,¹⁸ who found in Texas, United States of America, *Pasteurella* spp isolates in 65.3% of recently transported calves, the same as De Rosa *et al.*,¹⁹ who found in Mississippi, United States of America, *Pasteurella* spp isolates in 95% of the animals wherefrom nasal and intratracheal exudate was obtained. Likewise, it was lower than in Pijoan *et al.*⁹ study, wherefrom 100 samples of animal lungs with history of pneumonia, found 54% of *Pasteurella* spp isolates in Tijuana, Baja California. However, the isolation rate in this study is higher than the reported by Allan *et al.*,²⁰ who found

lamiento de *M. haemolytica* con respecto a *P. multocida* en las que se encontraban a la intemperie ($P < 0.05$) (Cuadro 1).

Con respecto a la aplicación de tratamiento, no se encontró diferencia en la frecuencia de aislamientos de *M. haemolytica* o *P. multocida* entre las beceras que lo recibieron ($n = 105$) y las que no lo recibieron ($n = 134$); sin embargo, tanto en animales con tratamiento como sin tratamiento fue mayor la frecuencia de aislamientos de *M. haemolytica* ($P < 0.05$) (Cuadro 1).

En cuanto a la vacunación, se encontró una diferencia significativa en los aislamientos de *M. haemolytica* y *P. multocida* juntas en animales que no habían recibido vacunas contra IBR (54.4%), DVB (62.9%), PI3 (51.3%), VRSB (49.3%) y mannheimiosis (42.9%), en comparación con los que sí vacunaron ($P < 0.05$) (Cuadro 2).

Se realizó una regresión logística con variables cuyo error máximo fue de 0.10 en los análisis univariados como: la crianza de becerros en el propio establo ($P = 0.023$), animales vacunados contra IBR ($P = 0.0003$), DVB ($p = 0.0002$), PI3 ($p = 0.0004$), VRSB ($P = 0.0036$) y mannheimiosis ($p = 0.036$); de ellas, sólo dos permanecieron en el modelo (mantener a los becerros en los establos y la no vacunación contra DVB) (Cuadro 3).

Discusión

De los animales, 94.57% tenían de 15 días de nacidos hasta un año de vida, esto coincide con lo descrito por Curtis *et al.*,¹⁵ Sivula *et al.*¹⁶ y Virtala *et al.*,¹⁷ quienes encontraron que las enfermedades respiratorias en bo-

CUADRO 1

Frecuencia de aislamientos de *M. haemolytica* (Mh) o *P. multocida* (Pm) en beceras según tipo de alojamiento y tratamiento con quimioterapéuticos. Tizayuca, Hidalgo

Frequency of *M. haemolytica* (Mh) or *P. multocida* (Pm) isolates obtained from calves according to their type of housing and chemotherapeutic treatment. Tizayuca, Hidalgo

Condition	Mh o Pm		Mh		Pm		Total
	No.	%	No.	%	No.	%	
Calves	19 ^a	34.5	15 ^a	27.3	4 ^b	7.3	55
Stables	65 ^a	35.3	52 ^a	28.3	13 ^b	7.1	184
Outdoor calves	17 ^a	34	14 ^a	28	3 ^b	6	50
Indoor calves	2 ^a	40	1 ^a	20	1 ^a	20	5
With treatment	36 ^a	34.28	31 ^a	29.5	5 ^b	4.76	105
Without treatment	48 ^a	35.82	36 ^a	26.86	12 ^b	8.95	134

n^{a,b} Different letters in the same line indicate significant difference ($P < 0.05$).

a,b Different letters in the same column indicate significant difference ($P < 0.05$).

CUADRO 2

Factores asociados con aislamientos de *M. haemolytica* (Mh) y *P. multocida* (Pm) en becerras, según tipo de alojamiento, tratamiento con quimioterapéuticos y vacunación contra diferentes agentes. Tizayuca, Hidalgo

Factors associated with *M. haemolytica* (Mh) and *P. multocida* (Pm) isolates obtained from calves according to type of housing, chemotherapeutic treatment and vaccination against different agents. Tizayuca, Hidalgo

Associated factors	Mh o Pm		Mh		Pm	
	OR (CI 95 %)	P	OR (CI 95 %)	P	OR (CI 95 %)	P
Stables / calves	0.97	0.915	0.95	0.886	1.03	0.572
Outdoor calves / Indoor calves	0.77	0.560	1.56	0.580	0.26	0.320
Treatment YES/NO (chemotherapy)	0.93	0.805	1.14	0.649	0.51	0.210
Vaccination NO/YES (IBR)	2.93	0.0004				
Vaccination NO/YES(BVD)	4.26	0.0006				
Vaccination NO/YES (PI3)	2.68	0.0008				
Vaccination NO/YES (BSV)	2.36	0.0034				
Vaccination NO/YES (Mh A1)	1.97	0.0169				

OR = Odds ratio and confidence interval at 95%; P = significant difference ($P \leq 0.05$) by chi-square and Fisher's tests.

CUADRO 3

Regresión logística con posibles factores de riesgo para el aislamiento de *M. haemolytica* y *P. multocida* en becerras con signos clínicos de enfermedad respiratoria. Tizayuca, Hidalgo, México

Logistic regression with possible risk factors for *M. haemolytica* and *P. multocida* isolates obtained from calves with clinical signs of respiratory disease. Tizayuca, Hidalgo, Mexico

Variables	OR	CI 95 %	Coefficient	P
Vaccination				
BVD	3.09	1.08 - 8.87	1.1291	0.036
IBR	1.19	0.17 - 8.12	0.1697	0.8628
<i>M. haemolytica</i>	1.72	0.79 - 3.75	0.5437	0.1705
PI3	3134491.71	0.0 - >1.0 ¹²	14.958	0.968
BRSV	0.00	0.0 - >1.0 ¹²	-15.1977	0.9675
Replacement calves reared within the herd	3.49	1.07 - 11.35	1.2489	0.0382
Constant			-2.0933	0.0005

OR = Odds ratio; CI 95 % = Confidence interval at 95 %; P = significant difference ($P \leq 0.05$).

16% of *Pasteurella* spp obtained by nasopharyngeal exudate.

Likewise, the percentage of *P. multocida* isolates (7.9%) is lower to the found in the lungs of calves by Martinez *et al.*²¹ in the Havana, Cuba (36.2%), and by Pijoan *et al.*⁹ in Baja California, Mexico (28.3%); it is also found below the described by Allen *et al.*²² in calves that had been recently transported to Ontario,

vinos se presentan, por lo general, en becerros de 6 semanas a 6 meses de edad, ya que su sistema inmunológico se está desarrollando, son destetados o confinados a otras áreas con animales de diferentes edades, lo que los somete a una situación de estrés y los hace más susceptibles.

El porcentaje de aislamientos de *M. haemolytica* y *P. multocida* en este estudio (35.14%) fue menor a lo

Canada, where they were able to isolate 69.5% from nasal discharge and 67.8% from bronchoalveolar lavage.

However, in regard to *M. haemolytica* isolates, the percentage found in this study (28%) is higher than the reported by Allen *et al.*²² in nasal discharge (15.25%) and bronchoalveolar lavage (13.55%), and to the found by Pijoan *et al.*⁹ in lungs of calves with history of pneumonia (12%); however, it is lower to the reported by Allan *et al.*²⁰ in nasal swabs from apparently healthy and clinically sick with pneumonia bovines (77.7%), and by Frank and Smith,²³ who isolated 48% of this microorganism from bovine nasal discharge during their transportation. Barbour *et al.*²⁴ isolated 47.1% of *M. haemolytica* and they were unable to isolate *P. multocida* from calves.

The lower percentages of *M. haemolytica* and *P. multocida* found in vaccinated animals against IBR (29.78%), BVD (30.47%), PI3 (29.6%), BRSV (30.33%) and mannheimiosis (30.90%), are not exclusively attributed to the protection conferred by the vaccine used. This effect observed could have been mistaken for other variables not evaluated, as is the case of some management or preventive medicine practices, among others.

The results of this study corroborate the association of *M. haemolytica* and *P. multocida* with respiratory problems in calves.

It is necessary to continue the study on these two microorganisms that participate in cattle pneumonia, in order to completely clarify the pathogenicity mechanisms that they use and its real effect on national production.

Acknowledgements

This study was financially supported by CONACyT (Project G38590-B). Special thanks to the cattlemen of the Cuenca Lechera of Tizayuca, Hidalgo, as well as CENID-Microbiología of INIFAP and to the Departamentos de Microbiología e Inmunología, and Medicina Preventiva y Salud Pública, of the Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia of the UNAM, for their support and considerations granted for the carrying out of this work.

Referencias

1. SECRETARÍA DE AGRICULTURA, GANADERÍA, DESARROLLO RURAL, PESCA Y ALIMENTACIÓN. [Página de inicio en internet] México, D.F., Coordinación General de Ganadería; 2005 [actualizado en 2005; citado el 5 de julio de 2010]. Disponible en: <http://www.sagarpa.gob.mx/ganaderia/Publicaciones/>

registrado por Storz *et al.*,¹⁸ quienes encontraron en Texas, Estados Unidos de América, 65.3% de becerros recientemente transportados con aislamientos de *Pasteurella* spp, al igual que De Rosa *et al.*,¹⁹ quienes encontraron en Mississippi, Estados Unidos de América, aislamientos de *Pasteurella* spp. en 95% de los animales a los que se les obtuvo exudado nasal e intratraqueal. De igual manera, fue menor que en el trabajo de Pijoan *et al.*,⁹ donde a partir de 100 muestras de pulmones de animales con antecedentes de haber padecido neumonía, encontraron 54% de aislamientos de *Pasteurella* spp. en la región de Tijuana, Baja California. Sin embargo, el porcentaje de aislamiento en este estudio es mayor a lo informado por Allan *et al.*,²⁰ quienes notificaron 16% de aislamiento de *Pasteurella* sp mediante muestras de exudado nasofaríngeo.

De igual manera, el porcentaje de aislamientos de *P. multocida* (7.9%) es menor a lo encontrado en pulmones de becerras por Martínez *et al.*²¹ en la Habana, Cuba (36.2%), y por Pijoan *et al.*⁹ en Baja California, México (28.3%); igualmente se encuentra por debajo de lo descrito por Allen *et al.*²² en becerros que habían sido transportados recientemente en Ontario, Canada, y en los que lograron aislamientos de 69.5% en exudados nasales y 67.8% en lavado broncoalveolar.

No obstante, en cuanto a los aislamientos de *M. haemolytica*, el porcentaje encontrado en este estudio (28%) es mayor a lo informado por Allen *et al.*²² en exudado nasal (15.25%) y en lavado broncoalveolar (13.55%), y a lo encontrado por Pijoan *et al.*⁹ en pulmones de becerras con antecedentes de neumonía (12%); sin embargo, es menor a lo informado por Allan *et al.*²⁰ en hisopos nasales de bovinos aparentemente sanos y clínicamente enfermos de neumonía (77.7%), y por Frank y Smith,²³ quienes aislaron 48% de este microorganismo en exudado nasal de bovinos durante su movilización. Barbour *et al.*²⁴ aislaron 47.1% de *M. haemolytica* y no lograron aislar a *P. multocida* de becerras.

Los menores porcentajes de aislamiento de *M. haemolytica* y *P. multocida* encontrados en los animales vacunados contra IBR (29.78%), DVB (30.47%), PI3 (29.6%), VRSB (30.33%) y mannheimiosis (30.90%), no necesariamente se atribuyen, de manera exclusiva, a la protección conferida por las vacunas empleadas. Este efecto observado pudo estar confundido con otras variables no evaluadas, como es el caso de algunas prácticas de manejo o de medicina preventiva, entre otras.

Los resultados de este estudio corroboran la asociación de *M. haemolytica* y *P. multocida* con los problemas respiratorios en becerras.

Se debe continuar con los estudios sobre estos dos microorganismos que participan en las neumonías en bovinos, para aclarar completamente los mecanismos

Lists/Estudios%20de%20situacin%20actual%20y%20 perspectiva/Attachments/22/sitlech05.pdf

2. BOWLAND SL, SHEWEN PE. Bovine respiratory disease: commercial vaccines currently available in Canada. *Can Vet J* 2000; 41:33-48.
3. JUÁREZ F. Estudio patológico, microbiológico y epidemiológico de enfermedades respiratorias en bovinos de engorda en Sinaloa, Méx. (tesis de maestría). México DF: Universidad Nacional Autónoma de México, 2001.
4. CALLAN RJ, GARRY BF. Biosecurity and bovine respiratory disease. *Vet Clin Food Anim* 2002; 18:57-77.
5. MORALES AJ, JARAMILLO ML, OROPEZA VZ, TÓRTORA PJ, TRIGO TF, ESPINO RG. Evaluación experimental de un inmunógeno de *Pasteurella haemolytica* en corderos. *Vet Méx* 1993; 24:97-105.
6. TRIGO F. Patogénesis y aspectos inmunológicos de la pasteurelosis pulmonar bovina. *Vet Méx* 1991; 22:31-134.
7. AGUILAR RF, JARAMILLO ML, MORALES AJ, TRIGO TF, SUÁREZ GF. Evaluación de la protección contra la pasteurelosis neumónica, en corderos vacunados con diferentes antígenos de *Pasteurella haemolytica* A1. *Vet Méx* 1997; 28:221-229.
8. LO RYC. Genetic analysis of virulence factors of *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica* A1. *Vet Microbiol* 2001; 83:23-35.
9. PIJOAN AP, AGUILAR RF, MORALES AJ. Caracterización de los procesos neumónicos en becerros de la región de Tijuana, Baja California, México. *Vet Méx* 1999; 30:149-155.
10. TRIGO F. El complejo respiratorio infeccioso de los bovinos y ovinos. En: MORENO CR, editor. *Ciencia Veterinaria*. Vol 4. México DF: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 1987: 1-36.
11. JAWORSKI MD, HUNTER DL, WARD ACS. Biovariants of isolates of *Pasteurella* from domestic and wild ruminants. *Vet Diagn Invest* 1998; 10:49-55.
12. GONZÁLEZ RC. Perfil serológico contra antígenos de *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica* en corderos clínicamente enfermos de neumonía y desafiados experimentalmente (tesis de maestría). México DF: Universidad Nacional Autónoma de México, 2002.
13. QUINN PJ, CARTER ME, MARKEY BK, CARTER GR. *Clinical veterinary microbiology*. London: Wolfe Publishing, 1994:254.
14. COWAN ST, STEEL'S KJ. Manual para la identificación de bacterias de importancia médica. México DF: Continental SA, 1979.
15. CURTIS CE, ERB HN, WHITE ME. Descriptive epidemiology of calfhood morbidity and mortality in New York Holstein herds. *Prev Vet Med* 1998; 5:293-307.
16. SIVULA NJ, AMES TR, MARSH WE, WERDIN RE. Descriptive epidemiology of morbidity and mortality de patogenicidad que utilizan y su efecto real en la producción nacional.

Agradecimientos

Este estudio fue financiado por el CONACyT (Proyecto G38590-B). Se agradece a los ganaderos de la Cuenca Lechera de Tizayuca, Hidalgo, así como al CENID-Microbiología del INIFAP y a los Departamentos de Microbiología e Inmunología y Medicina Preventiva y Salud Pública, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, por el apoyo y las facilidades otorgadas para la realización de este trabajo.

in Minnesota dairy heifer calves. *Prev Vet Med* 1996; 27:155-171.

17. VIRTALA AK, MECHOR GD, GROHN YT, ERB HN, DUBOVI EJ. Epidemiologic and pathologic characteristics of respiratory tract disease in dairy heifers during the first three months of life. *J Am Vet Med Assoc* 1996; 208:2035-2042.
18. STORZ J, LIN X, PURDY CW, CHOULJENKO VN, KOUSOULAS KG, ENRIGTH FM *et al.* Coronavirus and *Pasteurella* infections in bovine shipping fever pneumonia and Evans' criteria for causation. *J Clin Microbiol* 2000; 38:3291-3298.
19. DEROSAD C, MECHOR GD, STAATS JJ, CHENGAPPA MM, SHRYOCK TR. Comparison of *Pasteurella* spp simultaneously isolates from nasal and transtracheal swabs from cattle with clinical signs of bovine respiratory disease. *J Clin Microbiol* 2000; 38:327-332.
20. ALLAN EM, WISEMAN A, GIBBS HA, SELMAN IE. *Pasteurella* species isolated from the bovine respiratory tract and their antimicrobial sensitivity patterns. *Vet Rec* 1985; 117:629-631.
21. MARTÍNEZ A, AZNAR E, VIÑA C. *Pasteurella multocida* en tracto respiratorio de terneros. *Rev Salud Anim* 1987; 9:7-12.
22. ALLEN JW, VIEL L, BATEMAN KG, ROSENDAL S, SHEWEN PE, PHYSICK-SHEARD P. The microbial flora of the respiratory tract in feedlot calves: associations between nasopharyngeal and bronchoalveolar lavage cultures. *Can J Vet Res* 1991; 55:341-346.
23. FRANK GH, SMITH PC. Prevalence of *Pasteurella haemolytica* in transported calves. *Am J Vet Res* 1983; 44:981-985.
24. BARBOUR EK, NABBUT NH, HAMADEH SK, AL-NAKHLI HM. Bacterial identity and characteristics in healthy and unhealthy respiratory tracts of sheep and calves. *Vet Res Commun* 1997; 21:421-430.