



Abanico Veterinario. Enero-Diciembre 2023; 14:1-11. <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2023.101>
Artículo Original. Recibido: 10/05/2023. Aceptado: 17/11/2023. Publicado: 30/12/2023. Clave: e2023-101.
<https://www.youtube.com/watch?v=FCJCChODYkU>

Caracterización de aislamientos de *Mannheimia haemolytica* y *Pasteurella multocida* obtenidos de cabritos con problemas respiratorios



Characterization of *Mannheimia haemolytica* and *Pasteurella multocida* isolated from kids with respiratory problems

Imelda Martínez-Razo^{1ID}, Erika Palomares-Resendiz^{2ID}, Francisco Trigo-Tavera^{1ID},
Luis Gómez-Nuñez^{2ID}, Francisco Aguilar-Romero^{2ID}, Efrén Díaz-Aparicio^{*2ID}

¹Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Coyoacán, Ciudad de México, 04510, México. ²Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, CENID Salud Animal e Inocuidad, Ciudad de México, 05110, México. *Autor responsable y de correspondencia: Díaz Aparicio Efrén CENID Salud Animal e Inocuidad, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. E-mail: imeldamr_1@hotmail.com, palomares.erika@inifap.gob.mx, crai@unam.mx, nunez.luis@inifap.gob.mx, mvzfranciscoaguilar@yahoo.com.mx, diaz.efren@inifap.gob.mx

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue caracterizar y determinar la presencia de *Mannheimia haemolytica* y *Pasteurella multocida* aisladas de cabritos con problemas respiratorios en México. Se realizaron muestreos de conveniencia en siete estados de México, obteniéndose 1,498 muestras de exudado nasal de cabritos, las muestras fueron inoculadas en placas de agar sangre, a los aislamientos se les realizaron pruebas bioquímicas para determinar género y especie, encontrando 535 aislamientos, de los cuales 491 fueron identificados como *M. haemolytica* y 44 como *P. multocida*. Se seleccionaron aleatoriamente 50 aislamientos de *M. haemolytica* para caracterizarlos con PCR tiempo real y PCR punto final, confirmándose la identificación molecular con ambas pruebas en 46 de los 50 aislamientos. A los 44 aislamientos de *P. multocida* se les determinó el tipo capsular y biotipo, encontrándose que, 36 correspondieron al tipo A y 8 al tipo D.

Palabras clave: *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, cabritos, México.

ABSTRACT

The objective of this study was to characterize and determine the presence of *Mannheimia haemolytica* and *Pasteurella multocida* isolated from kids with respiratory problems in Mexico. Convenience samplings were carried out in seven states of Mexico, obtaining 1,498 samples of nasal exudate from kids, the samples were inoculated on blood agar plates, and the isolates underwent biochemical tests to determine gender and species, finding 535 isolates, of which 491 were identified as *M. haemolytica* and 44 as *P. multocida*. Fifty isolates of *M. haemolytica* were randomly selected to be characterized with real-time PCR and endpoint PCR, confirming molecular identification in 46 of the 50 isolates. The capsular type and biotype of the *P. multocida* isolates were determined, finding that 36 isolates corresponded to type A and eight isolates to type D.

Keywords: *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, kids, Mexico.



INTRODUCCIÓN

La población caprina en México superó las 8.7 millones de cabezas y obtuvo una producción de carne en canal de más de 77 mil toneladas, y la producción de leche de más de 160 mil litros. La crianza del ganado caprino en México encuentra su rentabilidad en la producción de carne que se destina para venta y consumo, asimismo, en la producción de leche de cabra tanto para consumo humano como para elaboración de quesos y dulces ([SADER, 2023](#)).

La producción de caprinos se concentra principalmente en las zonas áridas y semiáridas que corresponden al 60% del país. El 80% de la producción caprina se da en el sistema extensivo, por sus bajos costos de producción, con el uso de amplias zonas áridas de arbustos y zacates. Las limitaciones que enfrenta son grandes rezagos tecnológicos y graves problemas sanitarios ([Cuéllar et al., 2012](#)). Según el producto final, se tienen tres modelos de producción: cabrito lechal de 8 a 10 kg, chivo cebado que tienen de 40 a 45 kg, y para la producción de leche ([Andrade-Montemayor, 2017](#)).

Aunque existe poca información en los aspectos referidos a la salud caprina, se sabe que en México las enfermedades respiratorias son importantes, pero en pocas ocasiones se realiza diagnóstico y se establecen programas de prevención ([Cuéllar et al., 2012](#)). Estos problemas se solucionan temporalmente aplicando tratamientos con antibióticos de amplio espectro; lo que posteriormente puede ocasionar resistencia bacteriana. En la presentación del Complejo Respiratorio Infecciosos de los Rumiantes (CRIR) se involucran varios factores, como son el medio ambiente, las condiciones del animal y la presencia de los agentes infecciosos como los virus y bacterias ([Laishevtsev, 2020; Rahal et al., 2014](#)).

La *Mannheimia haemolytica* y la *Pasteurella multocida* son las bacterias que participan frecuentemente en los padecimientos respiratorios y son consideradas las bacterias más importantes, que afectan a caprinos de todas las edades, con una amplia distribución, apareciendo en climas templados, subtropicales y tropicales ([Rawat et al., 2019; Amin, 2020](#)) Se ha observado que *P. multocida* y *M. haemolytica* son responsables de los brotes con presentación septicémica o neumónica, ocasionando la muerte de los cabritos lactantes expuestos a la fatiga y al enfriamiento ([Hakim et al., 2014](#)). Ambos microorganismos forman parte de la microbiota normal de las vías respiratorias y orofaringe de los rumiantes, manteniendo una relación simbiótica con su hospedero ([Hakim et al., 2014; Laishevtsev, 2020](#)).

La cápsula de *M. haemolytica* le da la propiedad de adherencia ([Laishevtsev, 2020; Wilson & Ho, 2013](#)). Además de la cápsula, existen otros factores de virulencia en *M. haemolytica*, uno de ellos es la leucotoxina que es una citolisina formadora de poros que destruye a los leucocitos de rumiantes, es una exotoxina de 104 kDa que se produce durante la fase logarítmica de crecimiento de la bacteria. La síntesis, activación y producción de la leucotoxina está regulada a través de un operón policistrónico, el cual contiene los genes *IktC*, *IktA*, *IktB* y *IktD* ([Oppermann et al., 2017; Laishevtsev, 2020](#)).



La secuenciación del gen *sodA* ha sido usada para la identificación de *Mannheimia* spp ([Aulik et al., 2010](#); [Nefedchenko et al., 2016](#)). Con respecto a *P. multocida*, ésta tiene cinco serogrupos capsulares denominados: A, B, D, E y F ([Wilson & Ho, 2013](#)); en México se han realizado pocos estudios al respecto en esta especie animal, sin embargo, se ha informado de la presencia de los serogrupos A y D ([Blanco et al., 1993](#)). El objetivo del presente estudio fue caracterizar y determinar la presencia de *M. haemolytica* y *P. multocida* aisladas de cabritos con problemas respiratorios en México.

MATERIAL Y MÉTODOS

Obtención de las muestras

Se realizó un muestreo no probabilístico de conveniencia ([Hernández, 2021](#)) durante un año, en cabritos con problemas respiratorios que presentaban secreción nasal y ocular, tos, estertores en la auscultación torácica, depresión y fiebre. Se obtuvieron 1, 498 muestras en los estados de San Luis Potosí (707), Baja California Sur (363), Coahuila (211), Puebla (148), Durango (35), Guerrero (20), Guanajuato (9) y Querétaro (5). Se colectaron exudados nasales, utilizando hisopos con medio de transporte Ames con carbón activado. Los hisopos fueron conservados en refrigeración a 4°C, hasta realizar el estudio bacteriológico en el laboratorio.

Aislamiento bacteriológico e identificación bacteriana

El estudio bacteriológico de los exudados nasales obtenidos se realizó en placas de agar sangre y agar Mc Conkey, se incubaron a 37°C durante 24 h. La identificación de género y especie de los aislamientos se realizó de acuerdo a la morfología colonial y microscópica, tinción de Gram, fermentación de azúcares, producción de H₂S, indol, ureasa y oxidasa ([Legesse et al., 2018](#))

Extracción de ADN

La extracción de ADN a partir de los aislados bacterianos se realizó mediante la técnica con tiocianato de guanidina ([Pitcher et al., 1989](#)). Se cuantificó la concentración del ADN por medio de espectrofotometría (espectrofotómetro SmartSpec-Plus BIORAD Laboratories, USA) a una absorbancia de 260/280. Para los aislamientos identificados como *Mannheimia*, se les determinó la especie utilizando PCR tiempo real, identificando al gen *sodA*, utilizando el par de iniciadores diseñados por [Guenther et al., \(2008\)](#). A las cepas identificadas como *M. haemolytica* se les determinó la presencia del gen *IktA*, mediante PCR (Tabla1).

PCR Multiplex para la detección de genes de virulencia asociados a *P. multocida*

Los aislamientos identificados mediante bacteriología como *P. multocida*, se les realizó una PCR múltiple para género utilizando la secuencia del gen *KMT1*, para el biotipo de las cepas, se identificó la presencia de los genes *hyaD-hyaC* que codifican para el tipo capsular A y el gen *dcbF* para identificar el tipo D ([Rawat et al., 2019](#)).



Determinación de los serotipos somáticos de *P. multocida*.

Se determinó el serotipo somático de *P. multocida* por precipitación en gel con antisueros específicos ([Chengappa et al., 1982](#)).

Tabla 1. Secuencias de oligonucleótidos utilizados para *P. multocida* y *M. haemolytica*

	Gen	Iniciadores	Secuencia 5' a 3'	Tamaño del amplicón (pb)	Referencia
<i>M. haemolytica</i>	sodA	SODA-FWD SADA-REV	AGCAGCGACTACTCGTGGTTTCAG AAGACTAAAATCGGATAGCCTGAAACGCCTG	143	Guenther 2008
	lktA	LKTA-FWD LKTA-REV	GGTGAAGGTTACGACCGAGTT CTTCACGGTTGCCCACTAATG	172	Este estudio
	KMT1	KMT1T7 KMT1SP6	ATCCGCTATTACCCAGTGG GCTGTAAACGAACTCGCCAC	460	Rawat et al., 2009
<i>P. multocida</i>	hyaD-hyaC	CAPA-FWD CAPA-REV	TGCCAAAATCGCAGTCAG TTGCCATCATTGTCAGTG	1044	Townsend et al., 2001
	dcbF	CAPD-FWD CAPD-REV	TTACAAAAGAAAGACTAGGAGCCC CATCTACCCACTCAACCATATCAG	657	Townsend et al., 2001

RESULTADOS

Aislamientos bacterianos a partir de hisopos nasales

De los 1,498 hisopos de exudado nasal, a los que se les realizó el estudio bacteriológico, se obtuvieron 535 aislamientos de bacterias de la familia *Pasteurellaceae*, teniendo un porcentaje de recuperación del 36%; de los cuales el 92% (491/535) fue identificado como *M. haemolytica* y 8% (44/535) como *P. multocida*. La distribución de los aislamientos obtenidos en cada uno de los estados de la República Mexicana donde se realizaron los muestreos se presentan en la Tabla 2.

Caracterización molecular de *M. haemolytica*

De los 491 aislamientos identificadas bioquímicamente como *M. haemolytica*, se seleccionaron aleatoriamente 50 para caracterizarlos con las técnicas de PCR tiempo real y PCR punto final, se clasificaron por PCR tiempo real para localizar el gen sodA, obteniéndose amplificación en 46 aislamientos, los cuales se confirmaron como *M. haemolytica*.



A los 46 aislamientos confirmados con la PCR como *M. haemolytica*, se les realizó la prueba de PCR punto final con el objetivo de amplificar un segmento de 172 pb del gen *lktA*; obteniéndose 39 aislamientos positivos a la amplificación.

Tabla 2. Aislamientos obtenidos de cabritos con problemas respiratorios en los estados de la República Mexicana donde se colectaron muestras

Estado	Número de muestras	Aislamientos positivos	Aislamientos positivos
		<i>Mannheimia haemolytica</i>	<i>Pasteurella multocida</i>
San Luis Potosí	707	231 (47.1%)	4 (9.1%)
Baja California Sur	363	113 (23%)	9 (20.4%)
Coahuila	211	86 (17.5%)	16 (36.4%)
Puebla	148	34 (6.9%)	11 (25%)
Durango	35	10 (2%)	1 (2.3%)
Guerrero	20	16 (3.3%)	1 (2.3%)
Guanajuato	9	0	2 (22%)
Querétaro	5	1 (0.2%)	0
Total	1498	491 (12.8)	44 (2.9)

Determinación del tipo capsular de *P. multocida*

Los 44 aislamientos identificados por pruebas bioquímicas como *P. multocida*, al ser probados simultáneamente para la detección del gen *kmt* para confirmar el género y los genes *hyaD-hyaC* para determinar el tipo capsular A; amplificaron un segmento de 460 pb, lo que indicó y confirmó que todos pertenecen al género *Pasteurella*. Con respecto al tipo capsular, 36 aislamientos amplificaron un segmento de 1044 pb, siendo estos así caracterizados como pertenecientes al tipo capsular A. Los ocho aislamientos restantes al probarlos para el tipo D, amplificaron una banda de 657 pb que corresponde a la presencia del gen *dcbF* que determina su pertenencia al biotipo capsular D (Figura 2).

Serotipos somáticos de *P. multocida*

Los ocho aislamientos confirmados como *P. multocida* tipo D, al realizarles la IDD, mostraron una banda de precipitación para el serotipo 3, confirmando que éstos aislamientos obtenidos de hisopos nasales de cabritos fueron pertenecientes al tipo D:3. En esta prueba se utilizaron cepas de referencia de *P. multocida* de los serotipos D:3, A:3 y A:1



DISCUSIÓN

La información relacionada con problemas respiratorios en caprinos es escasa en México e incluso en el continente americano, quizá debido a que esta especie animal no es considerada importante desde el punto de vista económico. La literatura sobre este tema usualmente es generada en países de otros continentes.

En México, se tiene el antecedente de un estudio realizado por [Blanco et al., \(1993\)](#), en el cual se determinaron los tipos capsulares y somáticos de *P. multocida* y los serotipos de *P. haemolytica* (actualmente *M. haemolytica*), aislados a partir de 148 pulmones con lesiones inflamatorias de ovinos y caprinos colectados en el rastro, obteniendo 79 aislamientos de bacterias de la familia *Pasteurellaceae*, correspondiendo 30 a *M. haemolytica* y 49 a *P. multocida*. Al realizar la tipificación, específicamente de dos aislamientos de *M. haemolytica* de caprinos, éstos correspondieron al serotipo A y de los tres de *P. multocida* correspondiendo uno al tipo A y dos al tipo D. Es importante mencionar que en dicho estudio no se utilizaron metodologías moleculares para la identificación bacteriana, ni para la determinación de tipos capsulares, empleando solamente pruebas convencionales como hemaglutinación indirecta, descapsulación por hialuronidasa y floculación por acriflavina. Una diferencia importante es la proporción de aislamientos, ya que [Blanco et al., \(1993\)](#), obtuvieron una mayor cantidad de aislamientos de *P. multocida* que de *M. haemolytica*, a diferencia de lo encontrado en el presente estudio.

La diferencia podría deberse a varios factores como son el origen geográfico y tipo de muestras, dado que [Blanco et al., \(1993\)](#) tomaron muestras de tejido pulmonar con lesiones de animales adultos provenientes de la zona centro del país, principalmente de los estados de México, Querétaro, Jalisco, Guanajuato y Aguascalientes, a diferencia del presente trabajo en el que se colectó exudado nasal de cabritos enfermos en San Luis Potosí, Baja California Sur, Coahuila y Puebla principalmente; sin embargo al realizar una revisión de lo publicado al respecto se encontraron resultados variables. Por ejemplo, en Etiopia se realizó el estudio bacteriológico a 112 pulmones de caprinos con lesiones neumónicas, de los que obtuvieron 21 aislamientos de *M. haemolytica* y seis de *P. multocida*, en el cual no utilizaron técnicas moleculares para la identificación, ni realizaron tipificación de los aislados ([Demissie et al., 2014](#)). Otro estudio similar realizado en Sudán en donde a partir de 200 pulmones de caprinos con lesiones neumónicas, obtuvieron 102 aislamientos de diferentes bacterias, predominando *M. haemolytica* con 85 aislamientos, seguido de *Corynebacterium pseudotuberculosis* con siete aislados, *Streptococcus* spp. α hemolítico con cinco y *P. multocida* con un aislamiento, por lo que concluyen que *M. haemolytica* serotipo A es el principal causante de problemas respiratorios en cabras de esta región de Sudan ([Elsheikh et al., 2012](#)). En otra investigación, efectuada en la India muestrearon caprinos afectados por problemas respiratorios, obteniendo 20 hisopos nasales, de los cuales se recuperaron 15 aislamientos de *M. haemolytica*, dos de *Staphylococcus* spp., dos de *Proteus* spp., y uno de *E. coli*, además realizaron el estudio bacteriológico de cinco lavados traqueales de caprinos, de donde se lograron cuatro aislamientos de *M. haemolytica* y uno de *E. coli*, por lo que los autores concluyen que en



ésta región de la India el principal agente etiológico participante en los brotes de enfermedad respiratoria en cabras es *M. haemolytica* ([Ponnusamy et al., 2017](#)).

Una situación diferente se presenta en los resultados encontrados en un estudio realizado en Irán, donde se muestraron ovinos y caprinos con hisopados de fosas nasales y tonsilas ([Sahragard et al., 2012](#)), encontrándose 26 aislamientos de *P. multocida* y al caracterizarlos con una PCR múltiple, encontraron que 24 de ellos fueron tipo A y dos pertenecieron al tipo D, aunque no refieren específicamente cuantos aislamientos corresponden a ovinos y cuantos a caprinos ([Tahamtan et al., 2016](#)). Es importante destacar que en este estudio realizaron pruebas para detectar algunos genes de virulencia relacionados con la producción de toxinas y proteínas de membrana externa. En otro estudio efectuado en Egipto ([Amin, 2020](#)) con 20 cabras enfermas de neumonía, al realizarles PCR de tejido pulmonar encontraron una positividad de 95% a *Pasteurella multocida* como único agente bacteriano participante en el problema respiratorio.

Con respecto a los 50 aislamientos seleccionados para su identificación definitiva con PCR, en 46 se evidenció la presencia del gen *sodA*, por lo que se confirmó su identificación definitiva como *M. haemolytica*; los 4 aislamientos restantes fueron negativos, por lo que ya no se les tomó en cuenta para el presente estudio. La identificación bacteriana inicial se realizó utilizando características fenotípicas y metabólicas que no necesariamente son altamente específicas, lo que puede conducir a recabar información que al ser comparada con información genotípica obtenida con herramientas moleculares no coincidan.

Con respecto al estudio para determinar la presencia del gen *lktA* en los 46 aislamientos de *M. haemolytica*, se encontró que 39 (84.7 %) amplificaron un segmento del gen y los 7 (15.3%) restantes no amplificaron. Al consultar la información publicada al respecto, se encontraron resultados variables, por ejemplo [Vougidou et al., \(2013\)](#) estudiaron 11 aislamientos de origen caprino y 70 de ovinos; el 100% de las cepas evidenciaron la presencia de el gen *lktA*, sin embargo en otros estudios [Fisher et al., \(1999\)](#) informaron que al estudiar 147 cepas de *Mannheimia haemolytica* y 101 de *Pasteurella trehalosi*, el gen *lktA* fue detectado en 108 (43.5%) aislamientos y 140 (56.5%) fueron negativos, los autores no especifican el porcentaje por género bacteriano. En otro estudio [Kelley et al., \(2007\)](#), analizaron 48 cepas obtenidas de borregos silvestres, encontrando que 20 (41.6%) aislamientos tenían el gen *lktA* y 28 (58%) carecían de éste.

El por qué algunos aislamientos de *M. haemolytica* poseen el gen *lktA* y otros no, es explicado por [Davies et al., \(2001\)](#) al mencionar que algunos genes implicados directamente en la patogénesis se transfieren entre especies bacterianas, por medio de bacteriófagos y los genes del operón de la leucotoxina parecen transferirse horizontalmente entre cepas de *M. haemolytica* e incluso entre *M. glucosida* y *P. trehalosi*.

De acuerdo a la bibliografía consultada, se puede observar que en general, existe poca información relacionada con estudios de los problemas respiratorios en caprinos, ya que



en la mayoría de los estudios los describen como “realizados en ovinos y caprinos” o simplemente “realizados en pequeños rumiantes” y al presentar los resultados no mencionan claramente la separación por especie animal, lo que contribuye a que exista poca información específica sobre el tema en los cabritos.

CONCLUSIÓN

Lo que se puede resaltar de los estudios realizados, sobre los problemas respiratorios en cabras, así como en rumiantes en general, es que la frecuencia de los principales agentes etiológicos como *M. haemolytica* y *P. multocida* difiere de acuerdo a la región geográfica, por lo que es necesario realizar este tipo de estudios ya que contribuyen con información que tiene aplicación práctica en el diagnóstico, los factores de virulencia y la formulación de biológicos específicos de la región. Un aspecto que no debe de omitirse en futuros estudios es el relacionado con la resistencia bacteriana a quimioterapéuticos ya que actualmente tiene un impacto importante tanto en salud animal como en salud pública.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por el proyecto: Estudio epidemiológico de enfermedades que afectan la producción caprina en México”, SAGARPA-CONACYT 48599 y la beca otorgada por el Fondo Sectorial de Investigación en Materia Agrícola, Pecuaria, Acuacultura, Agrobiotecnología y Recursos Filogenéticos-CONACYT.

LITERATURA CITADA

- AMIN A. 2020. Pathological investigation on natural infection by *Pasteurella multocida* in goats. *Journal of advanced veterinary research*. 10(2):88-95.
<https://advetresearch.com/index.php/AVR/article/view/440>
- ANDRADE-Montemayor HM. 2017. Producción de caprino en México. *Tierras Caprino*. (18):28-31. Fundación Dialnet. España. <https://www.ces.ncsu.edu/wp-content/uploads/2017/07/Produccio%CC%81n-de-Caprino-en-Me%CC%81xico.pdf?fwd=no>
- AULIK NA, Hellenbrand, KM, Klos H, Czuprynski CJ. 2010. *Mannheimia haemolytica* and its leukotoxin cause neutrophil extracellular trap formation by bovine neutrophils. *Infection and immunity*. 78(11):4454–4466. <https://doi.org/10.1128/IAI.00840-10>
- BLANCO VFJ, Trigo TFJ, Jaramillo ML, Aguilar RF, Tapia PG, Suárez GF. 1993. Serotipos de *Pasteurella multocida* y *Pasteurella haemolytic*a aislados a partir de pulmones con lesiones inflamatorias en ovinos y caprinos. *Veterinaria México*. 24(2):107-112. <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=12525>
- CHENGAPPA MM, Myers RC, Carter GR. 1982. Capsular and Somatic Types of *Pasteurella multocida* from Rabbits. *Revue canadienne de médecine comparée*. 46(4):437-439. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6816462/>



CUÉLLAR OJA, Tórtora PJ, Trejo GA, Román RP. 2012. La producción caprina mexicana. Particularidades y complejidades. Ed. Ariadna. Primera Edición. DF, México: Universidad Nacional Autónoma de México.

https://www.researchgate.net/publication/317702019_La_produccion_caprina_mexicana_Particularidades_y_complejidades

DAVIES RL, Whittam TS, Selander RK. 2001. Sequence diversity and molecular evolution of the leukotoxin (*IktA*) gene in bovine and ovine strains of *Mannheimia* (*Pasteurella*) *haemolytica*. *Journal of bacteriology*. 183(4):1394–1404. <https://doi.org/10.1128/JB.183.4.1394-1404.2001>

DEMISSIE T, Dawo F, Sisay T. 2014. Biochemical and antigenic characterization of *Mannheimia*, *pasteurella* and *Mycoplasma* species from naturally infected pneumonic sheep and goats, Bishoftu, Ethiopia. *African journal of basic & applied sciences*. 6(6):198-204. ISSN: 2079-2034.

https://www.researchgate.net/publication/272174270_Biochemical_and_Antigenic_Characterization_of_Mannheimia_pasteurella_andMycoplasma_Species_from_Naturally_Infected_Pneumonic_Sheep_and_Goats_Bishoftu_Ethiopia

ELSHEIKH HM, Hassan SO. 2012. Pneumonia in Goats in Sudan. *International journal of animal and veterinary advances*. 4(2):144-145. 2012 ISSN: 2041-2908.

<https://maxwellsci.com/print/ijava/v4-144-145.pdf>

FISHER MA, Weiser GC, Hunter DL, Ward AC. 1999. Use of a polymerase chain reaction method to detect the leukotoxin gene *IktA* in biogroup and biovariant isolates of *Pasteurella haemolytica* and *P. trehalosi*. *American journal of veterinary research*. 60(11):1402–1406. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10566816/>

GUENTHER S, Schierack P, Grobello M, Lübke-Becker, A, Lothar HW, Ewers C. 2008. Real-time PCR assay for the detection of species of the genus *Mannheimia*. *Journal of microbiological methods*. 75(1):75–80. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2008.05.008>

HAKIM AS, Bakry MA, Ata NSS, Zaki MS. 2014. Role of molecular techniques in characterization of bacteria causing pneumonia in small ruminants. *Life science journal*. 11(6):147-153.

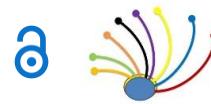
https://www.researchgate.net/publication/286834882_Role_of_molecular_techniques_in_characterization_of_bacteria_causing_pneumonia_in_small_ruminants

HERNÁNDEZ GO. 2021. Aproximación a los distintos tipos de muestreo no probabilístico que existen. *Revista cubana de medicina general integral*. 37(3):1-3. <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=110056>

KELLEY ST, Cassirer EF, Weiser GC, Safaee S. 2007. Phylogenetic diversity of *Pasteurellaceae* and horizontal gene transfer of leukotoxin in wild and domestic sheep. *Infection, genetics and evolution*. 7(1):13–23.

<https://doi.org/10.1016/j.meegid.2006.03.005>

LAISHEVTSEV AI. 2020. Mannheimiosis of cattle, sheep and goats. *IOP Conf. Ser. Earth and Environmental Sciences*. 548 072038. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/548/7/072038>



LEGESSE A, Abayneh T, Mamo G, Gelaye E, Tesfaw L, Yami M, Belay A. 2018. Molecular characterization of *Mannheimia haemolytica* isolates associated with pneumonic cases of sheep in selected areas of Central Ethiopia. *BMC microbiology*. 18: 205. <https://doi.org/10.1186/s12866-018-1338-x>

NEFEDCHENKOVA AV, Shikova AN, Glotova AG, Glotova TIV, Ternovoy A, Agafonov AP, Sergeevb AN, and Donchenko NA. 2016. Development of a method for Identification and genotyping of *Pasteurella multocida* and *Mannheimia haemolytica* bacteria using polymerase chain reaction and phylogenetic analysis of bacterial cultures isolated from cattle. *Molecular genetics, microbiology and virology*. 31(2):75–81. <https://www.researchgate.net/publication/308163117>

OPPERMANN T, Busse N, Czermak P. 2017. *Mannheimia haemolytica* growth and leukotoxin production for vaccine manufacturing — A bioprocess review. *Electronic journal of biotechnology*. 28:95-100. ISSN 0717-3458.
<https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2017.06.001>

PITCHER DG, Saunders NA, Slownen RJ. 1989. Rapid extraction of bacterial genomic DNA with guanidium thiocyanate. *Letters in applied microbiology*. 8(4):151-156. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.1989.tb00262.x>

PONNUSAMY P, Masilamoni BS, Ranjith KM, Manickam R. 2017. Isolation, identification and antibiogram of *Mannheimia hemolytica* associated with caprine pneumonia in the Cauvery Delta Region of Tamil Nadu, India. *International journal of current microbiology and applied sciences*. 6(9):3118-3122.

<https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.609.385>

RAHAL A, Ahmad AH, Prakash A, Mandil R, Kumar AT. 2014. Environmental attributes to respiratory diseases of small ruminants. *Veterinary medicine international*. 853627. <https://doi.org/10.1155/2014/853627>

RAWAT N, Gilhare VR, Kushwaha KK, Hattimare DD, Khan FF, Shende RK, Jolhe DK. 2019. Isolation and molecular characterization of *Mannheimia haemolytica* and *Pasteurella multocida* associated with pneumonia of goats in Chhattisgarh. *Veterinary world*. 12(2): 331-336. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2019.331-336>

SADER (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural). La caprinocultura en México. <https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/la-caprinocultura-en-mexico>

SAHRAGARD I, Tahamtan Y, Valadan M, Hyati M, Moazeni F, Shirazi Z. 2012. Development of rapid PCR method for simultaneous identification of species, specific capsular type, and toxigenicity of *Pasteurella* sp. isolates. *Comparative clinical pathology*. 21:333-1336. <https://doi.org/10.1007/s00580-011-1291-7>

TAHAMTAN Y, Mirghafari H. 2016. Classification, capsular PCR typing and genetic diversity of *Pasteurella multocida* isolated from sheep and goats in Iran using Bam HI, Hind III restriction endonuclease enzymes by PCR-RFLP. *Tropical biomedicine*. 33(3):535–542. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33579127/>



TOWNSEND KM, Boyce JD, Chung JY, Frost AJ, Adler B. 2001. Genetic organization of *Pasteurella multocida* cap loci and development of a multiplex capsular PCR typing system. *Journal of clinical microbiology*. 39(3):924-929.

<https://doi.org/10.1128/JCM.39.3.924-929.2001>

VOUGIDOU C, Sandalakis V, Psaroulaki A, Petridou E, Ekateriniadou L, 2013. Sequence diversity of the leukotoxin (*lktA*) gene in caprine and ovine strains of *Mannheimia haemolytica*. *The Veterinary record*. 172(16):424.

<https://doi.org/10.1136/vr.101014>

WILSON BA, Ho M. 2013. *Pasteurella multocida*: from Zoonosis to Cellular Microbiology. *Clinical microbiology reviews*. 26(3): 631–655.

<https://doi.org/10.1128/CMR.00024-13>

Errata Erratum

<https://abanicoacademico.mx/revistasabanco-version-nueva/index.php/abanico-veterinario/errata>