

01672



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

División de Estudios de Posgrado

SEROTIPOS DE *Pasteurella multocida* Y *Pasteurella haemolytica* AISLADOS A PARTIR DE PULMONES CON LESIONES NEUMONICAS EN RUMIANTES DOMESTICOS.



T E S I S

Que para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS VETERINARIAS

P r e s e n t a :

Francisco Javier Blanco Viera



México, D. F.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1990



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

LISTA DE CONTENIDO

		<u>Página</u>
I	RESUMEN.....	1
II	INTRODUCCION.....	3
	1. REVISION DE LA LITERATURA.....	5
	1.1 PASTEURELLA spp.....	8
	1.2 ASPECTOS MACROSCOPICOS Y MICROSCOPICOS.....	15
III	OBJETIVOS.....	19
IV	HIPOTESIS.....	20
V	MATERIALES Y METODOS.....	21
	1. RECOLECCION DE MUESTRAS.....	21
	2. ESTUDIO ANATOMOPATOLOGICO.....	21
	3. ESTUDIO BACTERIOLOGICO.....	22
	4. ANALISIS ESTADISTICO.....	25
VI	RESULTADOS.....	26
	1. ESTUDIO ANATOMOPATOLOGICO.....	26
	2. ESTUDIO BACTERIOLOGICO.....	32
	3. INTERRELACION ENTRE LOS ESTUDIOS ANATOMOPATOLOGICO Y BACTERIOLOGICO.....	38

LISTA DE CONTENIDO

Página

VII	DISCUSION.....	41
	LITERATURA CITADA.....	64

LISTA DE CUADROS

	<u>Página</u>
Cuadro 1:	Síntesis de la totalidad de animales observados, lesiones, aislamientos y sus porcentajes..... 28
Cuadro 2:	Distribución de las lesiones neumónicas en las distintas especies..... 28
Cuadro 3:	Principales lesiones microscópicas observadas en los 73 casos de neumonías exudativas..... 31
Cuadro 4:	Principales lesiones microscópicas observadas en los 24 casos de neumonías mixtas..... 33
Cuadro 5:	Principales lesiones microscópicas observadas en los 5 casos agrupados como proliferativos..... 33
Cuadro 6:	Frecuencia de serotipos de <i>Pasteurella haemolytica</i> en los ovinos, bovinos, caprinos y su expresión porcentual..... 35
Cuadro 7:	Frecuencia de tipos capsulares de <i>Pasteurella multocida</i> en las diferentes especies y su expresión porcentual..... 35
Cuadro 8:	Frecuencia de serotipos somáticos de <i>Pasteurella multocida</i> en ovinos, bovinos caprinos y su expresión porcentual..... 37
Cuadro 9:	Cantidad de cepas aisladas y sus serotipos según su procedencia..... 37
Cuadro 10:	Número de aislamientos de <i>Pasteurella haemolytica</i> y <i>Pasteurella multocida</i> de acuerdo a la clasificación microscópica en ovinos y bovinos..... 39
Cuadro 11:	Relación entre pleuritis y el tipo de aislamiento bacteriano en los ovinos y bovinos..... 39
Cuadro 12:	Frecuencia de aislamientos de <i>Pasteurella haemolytica</i> y <i>Pasteurella multocida</i> en relación con determinadas lesiones microscópicas, considerando además la especie animal (ovinos y bovinos)..... 40

LISTA DE FIGURAS

Página

Figura 1:	Area pulmonar afectada. Expresada en porcentaje del Área total del pulmón en ovinos, bovinos y caprinos.....	59
Figura 2:	Neumonía fibrino-purulenta. Alveolos conteniendo un exudado fibrinoso entremezclado con leucocitos principalmente neutrófilos. H.E. 640X.....	59
Figura 3:	Distensión de los tabiques interlobulillares con infiltración de células inflamatorias y fibrina, presencia de trombos fibrinosos en vasos linfáticos. H.E. 100X.....	60
Figura 4:	Neumonía proliferativa. Severa hiperplasia linfoide peribronquial, peribronquiolar y perivascular. H.E. 100X.....	60
Figura 5:	Córpura Amilacea. Formación esférica, acelular, con estructura de láminas concéntricas rodeada por neutrófilos. H.E. 1600X.....	61
Figura 6:	Clasificación de los procesos neumónicos en exudativos, mixtos y proliferativos, considerando el número de casos en ovinos, bovinos y caprinos.....	61
Figura 7:	Frecuencia de aislamientos de <i>Pasteurella haemolytica</i> y <i>Pasteurella multocida</i> en ovinos, bovinos y caprinos.....	62
Figura 8:	Neumonía mixta. Hiperplasia linfoide, peribronquiolar y perivascular, pérdida de la estructura alveolar con infiltración celular, hiperplasia del epitelio bronquial con exudado en la luz. H.E. 100X.....	62
Figura 9:	Neumonía fibrino-necrótica. Areas de necrosis coagulativa demarcadas por bandas de leucocitos. H.E. 100X.....	63

LISTA DE FIGURAS

Página

**Figura 10: Células fusiformes "Avenoides",
presentes en la zona de necrosis
coagulativa con un arreglo
arremolinado. H.E. 1000X..... 63**

RESUMEN

BLANCO VIERA FRANCISCO JAVIER. Serotipos de *Pasteurella multocida* y *Pasteurella haemolytica* aislados a partir de pulmones con lesiones neumónicas en rumiantes domésticos. (Bajo la dirección del Dr. Francisco J. Trigo Tavera, Dr. Francisco Suarez Gúemes y Dra. Graciela Tapia Perez).

El presente trabajo fue realizado con el objetivo de aislar y determinar los serotipos capsulares y somáticos de *Pasteurella multocida* y los serotipos de *P. haemolytica* a partir de lesiones neumónicas pertenecientes a ovinos, bovinos y caprinos, acompañado del estudio histopatológico correspondiente. Con tal propósito se tomaron muestras de 232 lesiones neumónicas, obteniéndose un total de 117 aislamientos positivos a *Pasteurella* spp. de las cuales 42 cepas se identificaron como *P. haemolytica* y 75 como *P. multocida*.

En el estudio microscópico el 72% de las lesiones neumónicas se clasificó dentro de los procesos exudativos, el 23% en los procesos mixtos y el 5% en los procesos proliferativos. Considerando la especie animal en el ovino el 54% correspondieron a procesos exudativos, el 38% a procesos mixtos y el 8% a procesos proliferativos, mientras que en los bovinos y caprinos el 100% de las lesiones fueron del tipo exudativo. Dentro de los exudativos, las neumonías purulentas representaron el 41%, neumonías fibrinopurulentas el 33% y neumonías fibrinonecróticas un 26%. Se observó

diferencia según la especie animal en la distribución de casos dentro de la categoría de neumonías exudativas.

El 100% de los aislamientos de *P. haemolytica* pertenecieron al biotipo A y los serotipos determinados por Hemoaglutinación Indirecta (HAI) según la especie animal fueron: en ovinos con 28 cepas el 39% para el A 8, el 32% el A 2, 11% A 1, 7% el A 6, 4% el A 5 y 7% no tipificables; en bovinos con 12 cepas el 58% para el A 1, 17% para el A 2 y A 6 y 8% no tipificables; en los caprinos con 2 cepas, A 5 y A 8 respectivamente. En los aislamientos de *P. multocida*, según las técnicas de Acriflavina e Hialuronidasa, el 60% pertenecieron al tipo A y el 27% al tipo D. Los serotipos somáticos por Inmunodifusión en gel representaron en los ovinos el 72% para el serotipo 3, 9% para el serotipo 15, 4% para el 7, 2% para el 4, 10, 12 y 14 y 7% de no tipificables; en los bovinos el 77% correspondieron al serotipo 3, 8% al 4, 4% a los serotipos 7 y 12 y 8% fueron no tipificables, mientras que en los caprinos con 3 cepas una perteneció a este serotipo, otra al 15 y la restante no tipificable.

Se observó una estrecha relación entre la presencia de áreas de necrosis coagulativa, células avenoides y pleuritis fibrinosa con los aislamientos de *P. haemolytica*, en cambio no se encontró una relación definida en correspondencia con los aislamientos de *P. multocida* ni con los distintos serotipos encontrados.

La distribución geográfica de los serotipos fue homogéneo entre los diferentes lugares de procedencia.

II. INTRODUCCION

La enfermedad respiratoria continúa siendo una de las principales causas de pérdidas en la industria bovina, tanto lechera como aquella destinada a la producción de carnes⁵². Las mismas se calculan no solamente como consecuencia de la muerte, sino como resultado de los tratamientos, pérdida de peso e insuficiente conversión alimenticia. En Estados Unidos se calcula un gasto de cuatrocientos millones de dólares por año para prevenir y tratar el Complejo Respiratorio Bovino^{14,99}, en el Reino Unido⁹ estos gastos oscilan en ciento veinte millones de dólares por año y Church y Radostits⁸⁷ estiman una pérdida anual evaluada en nueve millones y medio de dólares en Alberta, Canadá. Se considera que la principal causa de enfermedad y muerte entre los becerros, en el período comprendido entre el parto y los seis meses de vida, corresponde a los trastornos entéricos^{1,72,97}, ocupando el segundo lugar las afecciones del aparato respiratorio^{8,19}.

Los datos existentes sobre prevalencia son bastante variados, así Thorp y Hallman¹⁴⁰, mencionan que en Michigan (Estados Unidos) en un período de dos años, los problemas respiratorios alcanzaron el 65% de morbilidad y un 25% de mortalidad. Omar¹⁰⁸ informa una prevalencia posmortem de 9.5% y Shimizu et al.¹²⁵ señalan que de 83 becerros necropsiados 46 presentaron cuadros neumónicos. En Alemania Ploger et al.¹⁴⁶

describen que sobre un total de 501 becerros examinados posmortem el 62% presentó neumonía.

Las investigaciones realizadas en Canadá, han demostrado que la afección respiratoria puede representar el 66% de las enfermedades diagnosticadas por estudios posmortem en los engordaderos intensivos^{97,82}.

En México, Ayala¹² señala que el 24% de los animales en el periodo de lactancia presentaban neumonía, mientras que al destete la prevalencia era del 16%. Trigo¹⁴⁴ en un estudio realizado durante 5 meses a nivel del rastro con pulmones en becerros determinó una prevalencia de 8.7%.

Con respecto al ovino, la enfermedad respiratoria es también un problema importante en muchos países^{89,182,186,151}. Diversos trabajos señalan su importancia como causa de mortalidad en corderos, así como de los efectos negativos sobre la ganancia de peso y menor eficiencia en la conversión alimenticia en ovinos afectados con neumonía crónica^{15,60,78,100,148}.

Los datos sobre prevalencia de neumonías varían de acuerdo al país de procedencia, tipos de explotación, edad de los animales y época del año en que se realiza el estudio. Se estima que las tasas promedio de prevalencia en corderos fluctúan del 10 al 40%, tanto en México como en el extranjero^{15,68,93,102,109,117}, siendo los valores obtenidos en el rastro algo más bajos que los obtenidos en los Centros de Diagnóstico^{100,119}.

Eguiluz⁴⁰ determinó que la neumonía más común en ovinos fue la Neumonía Intersticial, seguida de la Bronconeumonía

con aislamiento de *Pasteurella multocida* y *Pasteurella haemolytica* como los principales agentes bacterianos patógenos.

En una encuesta realizada sobre hallazgos posmortem en una unidad de cría intensiva de ovinos, durante un periodo de dos años en Irlanda del Norte, las enfermedades respiratorias representaron entre el 24 y el 35% de las muertes de cada año⁹⁴.

Trigo y Romero¹⁴⁸ informan en un estudio realizado en un Centro de Explotación Ovina que de 191 necropsias efectuadas en un periodo de dos años, el 28% de los casos tuvieron como causa de muerte cuadros neumónicos.

1. REVISION DE LA LITERATURA

El Complejo o Síndrome Respiratorio Bovino (SRB) posee una etiología multifactorial y pluricausal.

El carácter multifactorial descansa en el equilibrio de los componentes del trinomio integrado por él o los agentes patógenos, el hospedador y el entorno o medio ambiente en que éste se desenvuelve.

La etiología pluricausal incluye la intervención de agentes patógenos primarios o secundarios, solos o asociados⁹⁷. Es así que en la patogénesis del SRB se involucran una serie compleja de eventos y factores, los cuales contribuyen a la amenuda fatal neumonía bacteriana. Entre estos factores se incluyen el estrés en sus distintas formas^{78,77,127}, agentes virales¹⁴⁹, bacterianos⁵² y sus

toxinas^{70,86}.

Entre los agentes virales implicados se mencionan: Herpes Virus Bovino (HVB) sobre todo el HVB-1 y el HVB-4, Parainfluenza 3, Virus Respiratorio Sincitial Bovino, Adenovirus 1-2-3, Virus del Complejo Enfermedad de las Mucosas Diarrea Vírica Bovina, Rinovirus, Reovirus 1-2-3 y Enterovirus^{81,90,108,187,144}.

Dentro de los agentes bacterianos se mencionan como importantes *Haemophilus somnus*, *Corynebacterium pyogenes*, *Staphylococcus aureus*; pero sin duda el de mayor relevancia es la *Pasteurella* tanto *multocida* como *haemolytica*^{10,32}.

La *Pasteurella* juega un papel protagónico en la enfermedad respiratoria aguda conocida como Fiebre de Embarque (Shipping Fever)^{18,52,57}. Aunque todavía se discute su importancia como agente primario es indudable que esta bacteria es de suma importancia en la producción de cuadros neumónicos severos^{24,42,51,76,88,128,190} y tal como señalan diferentes autores^{3,76,99,106,129} *Pasteurella haemolytica* y *Pasteurella multocida* son los microorganismos letales y finales que invariablemente producen un daño crucial del tejido pulmonar, pudiendo causar severas lesiones en el aparato respiratorio o inclusive la muerte del animal.

Las infecciones con *Pasteurella multocida* y *Pasteurella haemolytica* son agrupadas generalmente bajo el término colectivo de Pasteurellosis Neumónica⁸⁰.

Según diversos autores^{10,41,90,86}, *P. multocida* es el microorganismo más frecuentemente aislado en los cuadros neumónicos de bovinos jóvenes mientras que *Pasteurella*

haemolytica es también un aislamiento muy frecuente en los casos de Fiebre de Embarque o Pasteurellosis neumónica en bovinos en Estados Unidos^{26,34,85,129}.

La Pasteurellosis Neumónica es uno de los principales componentes en la enfermedad del aparato respiratorio del bovino^{76,110,130}, es una común y seria complicación del Complejo Respiratorio y una de las principales causas de pérdidas económicas en la industria ganadera^{24,76,00} siendo responsable de una mortalidad aproximada del 1% de todos los bovinos de Estados Unidos⁷⁸.

Entre los agentes infecciosos aislados en las enfermedades respiratorias de los ovinos se mencionan como importantes a: *Mycoplasma ovipneumoniae*, *Mycoplasma arginini*⁵, *Pasteurella haemolytica*⁰⁰, *Adenovirus*³⁸, *Parainfluenza-3*⁷¹ y *Virus Respiratorio Sincitial Ovino*^{44,142}.

Egulluz⁴⁰ en un estudio sobre 79 pulmones ovinos encontró que los principales agentes bacterianos patógenos aislados fueron *P. multocida* y *P. haemolytica*.

Así mismo Madrigal⁰³ informó que el 24% de 286 ovinos sacrificados presentaron lesiones neumónicas, aislándose como microorganismos más relevantes el *Mycoplasma spp.* y *Pasteurella haemolytica*.

Los trabajos de Malone et al.⁰⁵ señalan al *Mycoplasma ovipneumoniae* y *Pasteurella haemolytica* como los organismos aislados más frecuentemente a partir del pulmón, tráquea y moco nasal.

Almeida et al.⁷ en un estudio efectuado sobre 76 cabras de 12 meses de edad con signos de enfermedad respiratoria

indican que el principal aislamiento fue *Pasteurella haemolytica* con un valor de 35.5%, siguiendo luego *Corynebacterium pseudotuberculosis* 13.3%, *Corynebacterium pyogenes* 7.9%, *Staphylococcus sp.* 3.9% y *Streptococcus sp.* 2.6%.

Pasteurella haemolytica es el agente más frecuente en el Reino Unido pero ambas, *P. haemolytica* y *P. multocida* son causantes de neumonías en ovinos y caprinos^{60,151}.

1.1. PASTEURELLA

El género *Pasteurella* pertenece a la familia de las *Pasteurellaceae*, son organismos pleomórficos cocobacilos o bacilos de diversos tamaños, usualmente de 0.2 a 0.3 por 0.3 a 0.2 um., se agrupan en empalizadas o en cadenas cortas. Presentan una tendencia a mostrar coloración bipolar, la cual es más manifiesta con las tinciones de Leishman o Wright. Son aerobios o anaerobios facultativos, Gram negativos, pueden requerir un bajo potencial de óxido-reducción en el aislamiento primario, son inmóviles, no forman esporas, poseen cápsula y son oxidasa positivos. La mayoría fermentan los carbohidratos pero producen una pequeña cantidad de ácido, no fermentan la lactosa o lo hacen débilmente, no producen gas, no licúan la gelatina y no coagulan la leche⁸⁴.

En agar sangre, el crecimiento es aparente a las 24 y 48 horas de incubación, las colonias son de tamaño variable dependiendo de la especie, en general miden de 2 a 3 mm de diámetro, son circulares, grisáceas, no hemolíticas (excepto

Pasteurella haemolytica) y algunas cepas producen colonias mucoides²⁵.

Pasteurella multocida produce H₂S e Indol, mientras que *Pasteurella haemolytica* no produce Indol.

Pasteurella multocida presenta antígenos capsulares (Polisacáridos) y antígenos somáticos (Lipopolisacáridos) los cuales han mostrado ser estructuras antigénicas diferentes. Permitiendo con base en esto realizar diferentes clasificaciones. Así Carter^{28,27} mediante una prueba de Hemoaglutinación indirecta reconoce 4 tipos que denominó A, B, D, E con base en los antígenos capsulares. Así mismo, Carter y Subronto²⁸ determinaron la efectividad de una solución acuosa de acriflavina agregada al medio de cultivo y que permitía identificar rápidamente al tipo D que presentaba aglutinación con un precipitado floculante dentro de los 30 minutos, mientras que los tipos A, B, E no presentaban dicha reacción. Otro método fue la descapsulación por hialuronidasa para la identificación de cepas tipo A^{20,30}.

Por otro lado, Heddleston et al.⁶⁷ mediante una prueba de precipitación en agar identificaron 16 tipos diferentes con base en los antígenos somáticos. En 1981, Carter y Chengappa³¹ propusieron como programa de clasificación de la *Pasteurella multocida*, el método combinado de Carter-Heddleston, basado en los antígenos capsulares y somáticos.

Subronto et al.¹³⁵ trabajando sobre 40 cepas de *Pasteurella multocida* aisladas de problemas neumónicos de bovinos, informaron que el 90% correspondían al tipo A y el

10% restante al tipo D. Por otro lado, Yates¹⁴⁰ menciona que el tipo A está asociado con procesos neumónicos en bovinos mientras que el tipo D sólo se encuentra en afecciones esporádicas.

Atsumi et al.⁴¹ quienes trabajaron con 72 muestras colectadas de la cavidad nasal de bovinos sanos y 11 muestras provenientes de lesiones en diferentes tejidos, señalaron que el 100% de los aislamientos de cavidad nasal correspondieron al tipo A, mientras que de las 11 cepas provenientes de lesiones 9 fueron del tipo A y las dos restantes del tipo D y considerando los antígenos somáticos, según el método de Heddleston⁶⁷, 15 correspondieron a los tipos 1-3-4-11 y 27 reaccionaron con dos o más antisueros.

Wu y Qian¹⁴⁸ utilizando la prueba de agar gel difusión modificada por Heddleston, analizaron 217 aislamientos de *Pasteurella multocida* colectadas de diferentes especies de animales y observaron que los 25 aislamientos obtenidos a partir de bovinos correspondieron a los tipos 2 y 5 excepto dos.

García et al.⁵⁵ trabajando con muestras de hisopos de tonsilas de bovinos, encontraron que el 100% de las cepas de *Pasteurella multocida* aisladas correspondían al tipo A y sobre los 1000 sueros sanguíneos analizados el 40.1% pertenecieron al tipo A, el 27.21% al tipo D, el 19.7% al tipo B, y para el tipo E un 7.20%.

Jaramillo et al.⁷⁵ utilizando la prueba de descapsulación por hialuronidasa²⁰ y floculación por acriflavina²⁸ encontraron que el 100% de las cepas de

Pasteurella multocida aisladas de becerros con problemas neumónicos, correspondieron al tipo A .

Así, dentro de los cuatro tipos de *Pasteurella multocida* el A se ha relacionado con problemas neumónicos del ganado, con Cólera Aviar y en algunos casos con neumonías en cerdos^{61,65,80,90,125} y se encuentra distribuido en Europa, Estados Unidos, Canadá y México^{55,75,80}.

El tipo D se aísla principalmente de porcinos, está relacionado con la Rinitis Atrófica y neumonías en cerdos, en ocasiones se aísla en bovinos con problemas neumónicos; no se ha delimitado su distribución geográfica^{61,80,85,114,125}.

Cepas del tipo B que producen Septicemia Hemorrágica en ovinos, bovinos, caprinos, ciervos y búfalos han sido aisladas de animales en Africa, Asia^{65,80} así como en el sur de Europa y Australia^{61,63,80,91}.

El tipo E se encuentra en Africa Central, teniendo relación con la Septicemia Hemorrágica^{61,65,80,122}.

Recientemente Jones et al.⁷⁰ han aislado en bovinos con la enfermedad conocida como Cabeza de Hipopótamo una *P. multocida* que da reacción retardada para el serotipo 12 y que ha sido clasificada como perteneciente al serogrupo F 3,4.

Con respecto a la *Pasteurella haemolytica*, de acuerdo a la morfología de las colonias y a la capacidad para fermentar los carbohidratos, Arabinosa y Trehalosa se divide en los biotipos A y T respectivamente^{17,120} y con base en los antígenos de superficie se describen 15 tipos serológicos diferentes mediante la técnica de Hemoaglutinación Indirecta (HAI)^{17,52,56,112} y Aglutinación Rápida en Placa⁴⁸.

Relacionando ambos métodos de clasificación se observa que el biotipo A incluye a los serotipos 1-2-5-6-7-8-11-12-13-14, mientras el biotipo T a los serotipos 3-4-10-15.

Aproximadamente el 90% de las cepas aisladas de bovinos y ovinos pueden agruparse dentro de estos serogrupos reconocidos; las restantes cepas se reagrupan como no tipificables o negativas a la HAI^{30,40}.

Según Frank⁴⁰ y Donachie et al.³⁰ dentro de este grupo HAI negativo podrían encontrarse hasta nueve diferentes serogrupos y según Frank⁵² hay por lo menos 15 serotipos que no pueden ser tipificados usando HAI.

Mwangota et al.¹⁰⁵ describen que los 15 serotipos junto con las cepas no tipificables han sido aislados en ovinos.

Fodor et al.⁴⁵ señalan el aislamiento de 3 cepas de *Pasteurella haemolytica* biotipo A provenientes de dos ovinos y un jabalí, las cuales según la prueba de HAI no pudieron ser asignadas a ninguno de los 15 serotipos aceptados^{17,58}. Estas tres cepas fueron serológicamente uniformes entre sí, motivo por el cual los autores sugirieron que estas nuevas cepas corresponderían al biotipo A, serotipo 16 (A 16).

Las cepas del biotipo T son responsables de la forma de enfermedad descrita por primera vez por Stamp et al.¹²¹ y que es comúnmente conocida como Pasteurellosis Septicémica en corderos postdestete⁸⁰ describiéndose aislamientos positivos¹²⁴ como así también a partir de fosas nasales de borregos y cabras clínicamente sanos^{80,103}.

Yates¹⁴⁰ menciona al respecto, la poca frecuencia de aislamientos de cepas del biotipo T (3-4-10-15) de

Pasteurella haemolytica a partir del aparato respiratorio del bovino. Los serotipos 1 y 2 ambos del biotipo A son los que más frecuentemente se aíslan en bovinos⁵².

El serotipo 2 es comúnmente aislado a partir de ovinos en buen estado de salud^{17,50,60} y es un aislamiento frecuente a partir del pasaje nasal de bovinos sanos⁵². Así Gilmour⁶⁰ aisló *Pasteurella haemolytica* a partir del 95% de las muestras de tonsillas y del 64% de los hisopos nasofaríngeos.

En el trabajo de Argueta¹⁰ sobre un muestreo total de 625 ovinos sanos se aislaron a partir de cavidad nasal un 12% de *P. haemolytica* y los serotipos más comunes fueron A 11 (18.7%), A 5 (13.5%), A 7 (10.52%) y *P. haemolytica* no tipificable (14%). No se encontraron aislamientos de los serotipos 3-4-10-15 del biotipo T.

El serotipo 2 es el aislamiento más frecuente en casos de Pasteurelisis neumónica ovina¹⁸⁸, mientras que raramente se aísla de casos de Pasteurelisis neumónica bovina^{47,51}. Sin embargo, Thomson et al.¹³⁸ y Fraser et al.⁵⁸ establecieron que existe una amplia variación en la prevalencia de los serotipos aislados de pulmones de ovinos con neumonías causadas por *Pasteurella spp.*

Así Jaramillo et al.⁷⁴ analizando un total de 61 cepas de *P. haemolytica* provenientes de pulmones neumónicos de ovinos encontraron que los serotipos más frecuentes fueron el 2 con un 25%, el 1 con 15% y el 5 y el 11 con un 10% cada uno, correspondiendo el 20% a cepas no tipificables.

Colin⁸⁸ trabajando con cincuenta cepas de ovinos encontró que el 26% de las cepas correspondieron al serotipo

A 1; 14% al A 5; 8% al A 2 y A 9; 6% al A 8; 2% al A 6, A 7 y A 11 y el 30% restante a cepas no tipificables.

Sanchis *et al.*¹²⁴ en un estudio realizado sobre un total de 115 cepas de *P. haemolytica*, de las cuales 76 correspondieron a ovinos y las restantes a caprinos, observaron que el 34% de las cepas de origen ovino pertenecían al serotipo A 2, el 12% al A 6, 10% al A 1 y 8% al A 7; y en las cepas de origen caprino el 64% fueron A 2.

Con respecto al serotipo 1 es el aislamiento más frecuente en casos de Pleuroneumonía fibrinosa severa asociada con la Fiebre de Embarque en bovinos^{4,85,47,57,76,105,}

¹⁴⁷. Así, diversos estudios han sido realizados en diferentes partes del mundo en relación a la serotipificación de *P. haemolytica* aisladas de bovinos^{46,47,48,75,105,147}.

Wray y Thompson¹⁴⁷ en un estudio efectuado en Inglaterra, encontraron que los serotipos A 1 y A 2 constituyeron el 59% y 20% respectivamente de los aislamientos provenientes de casos de neumonía en becerros.

Quirie *et al.*¹¹⁸ sobre un total de 943 cepas aisladas de bovinos encontraron que los serotipos A 1 y A 2 representaron el 55.9% y el 8.5% respectivamente, correspondiendo un 24.2% a cepas no tipificables y en menores porcentajes entre 2 y 0.1% a los serotipos A 9, A 11, A 12, A 14 e inclusive a serotipos del biotipo T (3,4,10,15) con porcentajes de 1.4%.

Jaramillo *et al.*⁷⁵ sobre 50 cepas de *Pasteurella haemolytica* aisladas a partir de muestras de pulmones de becerros, encontraron que el 68% pertenecieron al serotipo

A 1, 14% al serotipo A 2 y 18% no fueron tipificables.

Así, Fodor et al.⁴⁶ sobre 49 cepas de *Pasteurella haemolytica* aisladas de 41 bovinos, 5 ovinos y 3 cabras señalaron que todas las cepas pertenecieron al biotipo A. De las de origen bovino 26 fueron A 1, 7 A 2 y 1 fue A 11, mientras que 7 fueron no tipificables. Las de ovinos fueron A 2, A 6, A 8, A 13 y 1 fue no tipificable mientras que las de cabra 2 fueron A 2 y la restante no tipificable.

1.2. ASPECTOS MACROSCOPICOS Y MICROSCOPICOS

La naturaleza de la neumonía causada por *Pasteurella* spp. depende del grado de proliferación bacteriana, de la cepa y su virulencia y del nivel de defensas del hospedador, aunque hay una tendencia a caracterizarse como neumonía lobar fibrinosa aquella producida por *P. haemolytica* y como bronconeumonía fibrinosa o fibrinopurulenta a la relacionada con *P. multocida*^{99,129}.

La neumonía relacionada con *P. haemolytica* y que algunos autores la describen como Neumonía Lobar⁸⁰ o Neumonía Fibrino-necrótica fulminante^{140,149} afecta grandes porciones de los lóbulos craneoventrales del pulmón.

La apariencia macroscópica varía de acuerdo al tiempo de evolución de la lesión, presentándose de color rojo negruzco a un color amarronado o grisáceo, de consistencia firme carnosa. En algunos casos presenta una apariencia marmolácea como consecuencia de la dilatación de los septos y puede

acompañarse de pleuritis fibrinosa^{60,64}.

Se observan dos características muy importantes que permiten su caracterización, por un lado la distensión de los septos interlobulares, que presentan edema y exudado serofibrinoso, amarillo traslúcido^{110,123} y en segundo lugar el desarrollo de áreas de necrosis, de formas irregulares y de pequeño tamaño, rodeadas de bordes turgentes^{3,54,64,80}.

Al corte, en los casos iniciales se observa un exudado sanguinolento que luego en los casos más prolongados toma un aspecto marrón grisáceo, granulado, seco y friable. Las áreas de necrosis se aprecian como cavidades con material desmenuzable.

Microscópicamente se observa un cuadro de alveolitis fibrinocelular severo^{110,111} con hiperemia de los capilares alveolares, alveolos inundados con exudado fibrinoso mezclado con eritrocitos, macrófagos, neutrófilos y abundantes colonias bacterianas; la fibrina toma un aspecto denso de color rosado. Así mismo, se observan áreas de necrosis coagulativa^{60,64,123} bordeadas por densos acúmulos de células con citoplasma débilmente eosinófilo y núcleos basófilos de forma fusiforme conocidas como células avenoides, que adquieren un ordenamiento en forma de remolino^{22,87}.

En los casos más crónicos estas zonas de células fusiformes pueden estar rodeadas de una cápsula de colágeno, neutrófilos y linfocitos⁶⁰.

Los septos interalveolares están engrosados con congestión, edema e infiltración de células mononucleares y neutrófilos^{110,111}. Las arterias y venas presentan

vasculitis, hemorragias perivasculares y trombosis, muchos capilares están comprimidos por exudado y otros ocluidos por la presencia de trombos fibrinosos^{80,110,111}.

Los tabiques interlobulares presentan infiltración de células inflamatorias, macrófagos y escasos neutrófilos, edema, presencia de un material proteináceo homogéneo y diverso grado de hemorragia. Los linfáticos están dilatados con material eosinófilo en la luz, células inflamatorias y trombos de fibrina^{20,60,110,111,123,128}.

Los bronquios y bronquiolos muestran pequeños cambios inflamatorios en la mucosa con restos celulares, neutrófilos y algo de fibrina en la luz^{110,111,123}.

La típica apariencia macroscópica de la bronconeumonía es la de áreas irregulares de consolidación en la región craneoventral; estas áreas de consistencia firme varían de rojo oscuro a gris rosado o gris pálido, dependiendo del grado de evolución y naturaleza del proceso.

La pleura en la zona afectada puede presentar moderada inflamación con aspecto áspero, enrojecida con acumulación superficial de exudado fibrinoso o fibrinopurulento amarillo grisáceo.

Al corte, el pulmón afectado es húmedo con cierta cantidad de exudado y de fluido rojo claro, se observan zonas de color rojo oscuro alternando con focos gris blanquecinos que coinciden con alveolos con abundante exudado^{80,123}. Los bronquios afectados contienen en su luz eritrocitos, moco y exudado purulento.

Microscópicamente la lesión recuerda aquella de un

proceso inflamatorio multifocal^{65,128}. La principal lesión radica a nivel de la unión bronquilo-alveolar.

Los bronquios, bronquolos y alveolos presentan grados variables de necrosis e infiltración por neutrófilos y linfocitos y en la luz se observan restos celulares, moco, fibrina y macrófagos. Los alveolos de las zonas vecinas a la región del bronquio afectado están parcialmente atelectásicos y contienen edema y exudado serofibrinoso, eritrocitos, macrófagos y neutrófilos. Los vasos sanguíneos se encuentran congestionados y puede observarse un fluido edematoso o serofibrinoso en el tejido intersticial, aunque esto no es una característica importante¹²⁸.

La bronconeumonía puede con frecuencia, convertirse en un proceso crónico como ocurre en bovinos, aunque menos frecuente en ovinos y cerdos donde se produce una lesión supurativa con fibrosis.

De lo expuesto anteriormente, se desprende la importancia que tiene la enfermedad respiratoria dentro de la producción bovina, ovina y caprina y dentro de ésta el papel relevante que juega la *Pasteurella* tanto *multocida* como *haemolytica* en la producción de cuadros neumónicos.

Así mismo, se observa que son escasos los datos existentes tanto a nivel nacional como internacional con respecto a la serotipificación de las cepas de *Pasteurella multocida* aisladas a partir de pulmones con lesiones neumónicas, a excepción de algunos trabajos donde se realizó la clasificación con base en los antígenos capsulares^{55,75}.

Con respecto a la *Pasteurella haemolytica* los

antecedentes sobre serotipificación son más abundantes, por lo tanto este trabajo podría contribuir a los ya existentes.

De esta manera, el objetivo general del presente trabajo es el estudio de las cepas de *P. multocida* y *P. haemolytica* aisladas a partir de pulmones con lesiones neumónicas en ruminantes (bovinos, ovinos y caprinos) con su clasificación de acuerdo a los tipos somáticos y capsulares acompañado del estudio histopatológico correspondiente.

III. OBJETIVOS

- Determinación de los serotipos capsulares y somáticos de *P. multocida* y *P. haemolytica* presentes en muestras de pulmones neumónicos en bovinos, ovinos y caprinos.
- Caracterización de las lesiones anatómo-histopatológicas.
- Determinar si existe relación entre la especie bacteriana aislada y sus serotipos con el tipo de lesión macro y microscópica.
- Determinar si existe relación entre los diferentes serotipos y las distintas especies animales afectadas.

IV. HIPOTESIS

De acuerdo a la revisión bibliográfica y mediante la metodología se piensa comprobar las siguientes hipótesis:

1) Las cepas de *Pasteurella* spp. aisladas a partir de lesiones neumónicas corresponderán:

Pasteurella haemolytica:

Los serotipos más frecuentes serán el A 1 y A 2 y no se encontrarán los serotipos pertenecientes al biotipo T.

Pasteurella multocida:

Considerando los tipos capsulares, la mayoría de los aislamientos corresponderán al tipo A y en una menor frecuencia para el tipo D. No se encontrarán los tipos B y E. Con respecto al tipo somático, no se cuenta con la suficiente información a nivel nacional para poder predecir los resultados. Si bien se podría considerar que serán similares a los encontrados en los Estados Unidos.

2) Con respecto a la especie bacteriana se supone una frecuencia equilibrada de aislamientos de *Pasteurella multocida* y *P. haemolytica*.

3) Considerando la especie animal afectada se presume que existirá variación en los serotipos. Así, en bovinos la mayor frecuencia de aislamientos de *P. haemolytica* será del tipo A 1, mientras que en ovinos y caprinos los serotipos serán heterogéneos. Con respecto a *P. multocida* no se cuenta con información suficiente.

V. MATERIALES Y METODOS

1. RECOLECCION DE MUESTRAS

Se efectuaron muestreos periódicos en los rastros de Ferrería de la Ciudad de México y Tlanepantla, Estado de México, con el fin de recolectar muestras de pulmones de becerros, ovinos y caprinos recién sacrificados con lesiones macroscópicas sugestivas de procesos neumónicos.

La recolección de las muestras se efectuó en el periodo comprendido entre noviembre de 1989 a junio de 1990.

2. ESTUDIO ANATOMOPATOLOGICO

- 1- Se determinó el Área de pulmón afectada mediante una estimación visual, efectuándose además una descripción de las lesiones macroscópicas observadas.
- 2- Se tomó una muestra de la zona con lesión, la cual se dividió en dos porciones. Una de ellas fue colocada en un recipiente con formalina amortiguada al 10% y la restante en un recipiente estéril y mantenida en refrigeración hasta su procesamiento.
- 3- Las muestras colocadas en formalina fueron trabajadas por la técnica de inclusión en parafina, seccionadas en laminillas de 5 a 6 um. de espesor y coloreadas por la técnica de Hematoxilina y Eosina⁹². Una vez coloreadas se cubrieron con resina, cubreobjeto y fueron observadas al

microscopio realizándose una descripción de las lesiones microscópicas. En los casos que fue necesario se realizaron tinciones especiales utilizándose Tricrómica de Masson, Acido Fosfotungstico hematoxilina de Mallory, Grocott y Ziehl Neelsen^{P2}.

3. ESTUDIO BACTERIOLOGICO

Las muestras colocadas en recipiente estéril se utilizaron para realizar cultivos bacteriológicos. Cada muestra fue retirada con pinza estéril, se procedió a esterilizar la superficie del órgano por medio de una espátula caliente al rojo vivo que se colocó sobre el tejido neumónico, para luego obtener a partir de esta área una muestra de tejido de la porción inmediata inferior a la superficie quemada y sembrarla en Caja de Petri con agar sangre.

Las mismas se incubaron por 24 hs. a 37°C y trascurrido ese tiempo se procedió a separar las colonias sugestivas de ser, por su morfología, *Pasteurella* spp. Se resembraron utilizando el mismo medio de cultivo y bajo las mismas condiciones antes mencionadas para la obtención del cultivo puro. Luego se prepararon frotis y se tñieron por medio de la tinción de Gram para su identificación morfológica y posteriormente las colonias fueron sembradas en los medios de TSI* (triple azúcar más hierro) y SIM* (para detectar producción de Sulfuro de Hidrógeno, Indol y movilidad) para realizar pruebas bioquímicas.

* Laboratorios Difco.

Una vez identificadas se separaron las cepas de *P. haemolytica* y *P. multocida*, las cuales fueron liofilizadas y así mantenidas hasta su posterior utilización.

Con las cepas de *Pasteurella multocida* se procedió a la clasificación de sus tipos capsulares por medio de las pruebas de: descapsulación por hialuronidasa para el tipo A, y para el tipo D la técnica de Acriflavina^{28,29,30}, posteriormente mediante la prueba de Precipitación en Agar^{36,37} se efectuó la clasificación de los tipos somáticos para lo cual las cepas aisladas fueron sembradas en agar Dextrosa Almidón e incubadas durante 12 hs.

Luego fueron lavadas y suspendidas en 1 ml. de solución salina al 8.5% de NaCl en solución amortiguada de fosfato ph. 7.0 y formalinizada al 0.3%. Posteriormente, en el calentamiento de la suspensión bacteriana se siguieron tres procedimientos: A. calentamiento a baño María en ebullición durante una hora, B. calentamiento a 100°C en autoclave durante una hora y C. calentamiento a 120°C durante quince minutos. Luego la suspensión fue centrifugada, utilizándose el sobrenadante como antígeno para la prueba.

Los antisueros utilizados fueron remitidos por el Centro Nacional de Enfermedades Animales de Ames, Iowa, Estados Unidos.

La prueba de precipitación fue efectuada por el método de Difusión en Gel usando Agar Noble* con 8.5% de NaCl. El antígeno se puso en la foseta central y los antisueros en las fosetas periféricas circundantes, posteriormente se

* Laboratorios Difco.

incubaron durante 24 hs. a 37°C para luego ser leídas registrándose las líneas de precipitación ^{101,114}. Se puso especial cuidado en la diferenciación entre antígenos primarios, caracterizados por fuertes líneas de precipitación y antígenos secundarios con líneas menos marcadas, de acuerdo a las recomendaciones de Carter et al.⁸¹.

Con respecto a las cepas identificadas como *Pasteurella haemolytica* se procedió a la serotipificación por el método de Hemoaglutinación Indirecta descripta por Biberstein¹⁷. Los antisueros para los 12 serotipos fueron remitidos por el Centro Nacional de Enfermedades Animales de Ames, Iowa, Estados Unidos.

Los estudios bacteriológicos se realizaron en el Departamento de Bacteriología y Fisiopatología del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias de la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos Palo Alto, Distrito Federal, mientras que el procesamiento de las muestras para estudio microscópico fue realizado en el Departamento de Patología Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México.

4. ANALISIS ESTADISTICO.

- 1- Para comparar las proporciones entre aislamientos de ambas especies bacterianas con la especie animal se utilizó una prueba de Z para diferencias de proporciones⁴⁶.

$$Z_c = \frac{\hat{P}_1 - \hat{P}_2}{\sqrt{\hat{P}(1-\hat{P}) \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)}} \quad \hat{P} = \text{proporción conjunta}$$

\hat{P}_1, \hat{P}_2 = proporciones muestrales de cada grupo a comparar.

- 2- Para determinar la relación entre la especie de *Pasteurella spp* aislada y la especie animal se recurrió a una prueba Ji cuadrado (X^2) para independencia⁴⁸.
- 3- Para determinar la relación entre la especie de *Pasteurella spp* aislada y el tipo de lesión; y entre la lesión y la especie animal se utilizó una prueba de X^2 para independencia⁴⁸.
- 4- Para establecer la relación entre ubicación de la lesión neumónica y la especie animal se recurrió a una prueba de X^2 para independencia⁴⁸.
- 5- Para determinar la asociación entre tipo de neumonía, especie de *Pasteurella spp* aislada y especie animal se utilizó una prueba de X^2 para independencia⁴⁸.

VI. RESULTADOS

En el periodo comprendido entre los meses de noviembre de 1989 a junio de 1990, se observaron un total de 13,773 pares de pulmones que correspondieron a 8,070 ovinos, 4,715 bovinos y 988 caprinos, obteniéndose un total de 234 lesiones neumónicas, determinando un índice de lesión del 1.70%. Si se considera la especie animal estos índices fueron de: 1.71% en ovinos, 1.82% en bovinos y 1.01% en caprinos.

De las 234 lesiones se obtuvieron aislamientos positivos a *Pasteurella* spp en 102 casos, determinándose un índice de aislamiento en relación a las lesiones neumónicas de 43.59%. (Cuadro 1).

1. ESTUDIO ANATOMOPATOLOGICO

En el estudio macroscópico de los pulmones que presentaron aislamiento se observó que 89 de ellos (87%) mostraron lesiones ubicadas a nivel de los lóbulos anteroventrales, 8 (8%) presentaron también localización en lóbulos diafragmáticos y en 5 (5%) la lesión estuvo ubicada solamente a nivel diafragmático.

Considerando la extensión de la lesión, expresada en porcentaje de área de pulmón afectada, se observó que el 60.78% de los casos presentaron una extensión comprendida entre 1 y 15% del área pulmonar; el detalle de distribución se registra en la Figura 1, donde además se considera la

especie animal.

Las lesiones neumónicas se presentaron en forma bilateral en 32 casos (31%) y en 70 (69%) fue unilateral, presentándose en 44 (63%) de ellos con ubicación en el lado derecho y en 26 (37%) en el lado izquierdo (Cuadro 2) observándose diferencia significativa al considerar la especie animal ($P < 0.05$). De los 102 pulmones, 30 (29%) presentaron lesiones que afectaron a la pleura en forma aguda y localizada sobre el área de lesión pulmonar, de éstos 17 correspondieron a ovinos, 11 a bovinos y 2 a caprinos. En ningún caso se observó pleuritis generalizada, en 7 casos las lesiones de pleura presentaron un carácter crónico, con adherencias y fibrosis.

Macroscópicamente la lesión correspondió en general a zonas de consolidación de coloración rojiza y consistencia firme, afectando en algunos casos grandes extensiones de los lóbulos, mostrando un aspecto homogéneo y en otros casos intercalados con áreas de tejido no afectado. En 24 casos se observó dilatación marcada de los septos interlobulillares que presentaron coloración blanco amarillenta, correspondiendo 17 a bovinos y 7 a ovinos. Al corte, las zonas de consolidación se presentaron húmedas con presencia de exudado blanco amarillento en las vías aéreas, en otros casos la superficie cortada presentó un contenido sanguinolento y en otros de apariencia seca y opaca.

En seis casos pertenecientes a pulmones de ovinos las zonas de consolidación presentaron una coloración rosado grisácea, de aspecto nodular con dilatación y engrosamiento

Cuadro 1: Síntesis de la totalidad de animales observados, lesiones, aislamientos y sus porcentajes.

Espece	No animales	Lesiones	% Lesión	No aislamientos	%
Ovinos	8070	138	1.71	63	45.6
Bovino	4715	86	1.82	35	40.7
Caprino	988	10	1.01	4	40
Total	13773	234	1.70	102	43.6

Cuadro 2: Distribución de los procesos neumónicos en las distintas especies.

Espece	Bilateral	Unilateral		Total
		Derecho	Izquierdo	
Ovino	22	22	19	63
Bovino	10	20	5	35
Caprino	-	2	2	4
Total	32	44	26	102

de las paredes bronquiales (bronquiectasia), distorsión de la superficie pulmonar y presencia en algunos de abscesos múltiples correspondiendo a estadios crónicos de neumonías previas. En el 46% (16 casos) de las lesiones neumónicas correspondientes a pulmones de bovinos se observaron en las zonas de consolidación áreas irregulares diseminadas de 0.5 a 1 cm. de diámetro de color rojo a rojo anaranjado que microscópicamente correspondieron a zonas de necrosis.

De acuerdo a las características inflamatorias observadas, los diagnósticos microscópicos se agruparon dentro de las siguientes categorías morfológicas:

A- Procesos exudativos, incluyendo en esta categoría los cambios inflamatorios de tipo exudativo ubicados a nivel de la unión bronquilo-alveolar o aquellos que involucraron áreas más amplias sin evidencias de localización multifocal; con presencia de exudado catarral, purulento, fibrino-purulento, o ambos, en las vías aéreas (Figura 2) acompañados de edema, hemorragia y en casos más severos con necrosis alveolar. Los tabiques interlobulillares se presentaron engrosados con infiltración de células inflamatorias, fibrina y trombos fibrinosos en vasos linfáticos, sanguíneos, o ambos. (Figura 3).

Esta categoría según el exudado y la lesión que predominara se subdividió en Neumonía purulenta, Neumonía fibrino-purulenta y Neumonía fibrino-necrótica.

B- Procesos proliferativos, considerando los cambios inflamatorios a nivel de bronquios y bronquiolos acompañados de hiperplasia o proliferación del tejido linfoide

peribronquial, peribronquilar y perivascular (Figura 4) incluyendo también aquellos cambios proliferativos e infiltrativos que involucraron las paredes alveolares y el intersticio de los septos alveolares con infiltración de células mononucleares, proliferación y persistencia de neumocitos del tipo II (Alveolitis Proliferativa).

C- Procesos mixtos, determinados por la combinación de características de las dos categorías antes mencionadas.

En ciertas áreas, correspondientes a seis casos, se observó al epitelio alveolar con características cuboides, asociadas a moderado grado de fibrosis perialveolares y peribronquiales, con la presencia en algunos casos de abscesos múltiples rodeados de una densa cápsula fibrosa. En la mayoría de estos casos también se detectó la presencia a nivel alveolar de estructuras acelulares, esféricas, eosinófilas o basófilas, de aspecto homogéneo algunas, otras con una estructura laminar concéntrica denominadas Córpora Amilácea (Figura 5).

El 72% (73 casos) se clasificó dentro de los procesos exudativos, el 23% (24 casos) siguiente en los procesos mixtos y el 5% (5 casos) dentro de los procesos proliferativos. El detalle y su variación en relación a la especie animal se puede observar en la Figura 6. Dentro de los procesos exudativos, el subgrupo de Neumonías purulentas representó el 41% (30 casos), Neumonías fibrino-purulentas 33% (24 casos) y por último Neumonías fibrino-necróticas con un 26% (19 casos).

En el Cuadro 3 se muestran las principales lesiones

Cuadro 3: Principales lesiones microscópicas observadas en los 73 casos de Neumonías exudativas.

Lesiones	Especie animal			Total
	Bovinos	Ovinos	Caprinos	
Edema alveolar	7	8	2	17
Hemorragia alveolar	18	8	1	27
Exudado purulento en bronquios y bronquiolos.	19	34	4	57
Exudado fibrinoso en bronquios y bronquiolos.	13	3	1	1
Exudado purulento en alveolos	19	34	4	57
Exudado fibrinoso en alveolos	24	17	1	43
Necrosis de la pared alveolar.	16	3	-	19
Tabiques interlobulillares con edema y congestión.	5	3	-	8
Tabiques interlobulillares con fibrina.	17	7	-	24
Presencia de trombos	18	8	-	26
Pleuritis	11	12	2	25
Abscesos	3	1	-	4
Células sincitiales	3	-	-	3
Córpora Amilacea	-	4	-	4
Bronquiolitis obliterante fibrosa	5	1	-	6

microscópicas dentro de la categoría de Neumonías exudativas y su variación de acuerdo a la especie animal.

Dentro de la categoría de procesos neumónicos mixtos, todos pertenecieron a pulmones de ovinos en donde la hiperplasia linfoide, que se dividió según el grado de severidad, en leve con once casos, moderado nueve y severo con cuatro casos fue el hallazgo constante y que se combinó a procesos neumónicos de tipo purulento o con neumonías de tipo intersticial, observándose por consiguiente lesiones combinadas según los procesos existentes. En el Cuadro 4 se detallan la frecuencia de aparición de las diferentes lesiones.

En el Cuadro 5 se pueden observar las diferentes lesiones presentadas en los casos agrupados como Neumonías proliferativas.

2. ESTUDIO BACTERIOLOGICO

A partir de los 102 casos con aislamiento positivo se obtuvieron un total de 117 cepas de *Pasteurella* sp, de las cuales 42 (36%) pertenecieron a *P. haemolytica* y 75 (64%) a *P. multocida*.

En quince casos hubo aislamiento de ambas especies de *Pasteurella* sp. a partir de la misma muestra pulmonar. En la Figura 7 se señala la frecuencia de aislamientos de acuerdo a la especie animal y especie bacteriana.

En los ovinos el 62% de los aislamientos correspondió a *P. multocida* y el 38% a *P. haemolytica*, en los bovinos el 68%

Cuadro 4: Principales lesiones microscópicas observadas en los 24 casos de Neumonías mixtas.

Infiltración linfoide peribronquial y perivascular	24
Infiltración de septos alveolares	4
Proliferación del epitelio alveolar	3
Exudado purulento en bronquios y alveolos	21
Hiperplasia del epitelio bronquial	15
Córpura Amilacea	4
Acúmulo de macrófagos en alveolos	8
Fibrosis perialveolar	3
Abscesos	1
Bronquiolitis obliterante linfoide	3

Cuadro 5: Principales lesiones microscópicas observadas en los 5 casos agrupados como proliferativos.

Infiltración linfoide peribronquial y peribronquiolar	5
Infiltración perivascular	4
Proliferación del epitelio alveolar	1
Infiltración de septos alveolares	3
Células sincitiales	1
Hiperplasia del epitelio bronquial	3

a *P. multocida* y el 32% para *P. haemolytica*, mientras que en los caprinos sobre 5 cepas aisladas 3 correspondieron a *P. multocida* y 2 a *P. haemolytica*. No se detectó diferencia entre el tipo de aislamiento y la especie animal, mientras que sí fue notoria la diferencia entre aislamiento de *P. multocida* con respecto a *P. haemolytica* en los ovinos y bovinos ($P < 0.01$).

De los 42 aislamientos identificados como *P. haemolytica* el 100% correspondió al biotipo A. Considerando los serotipos, el 50% (21 cepas) correspondieron a los serotipos 1 y 2; el 28% (12 cepas) al 8; 14% (6 cepas) a los serotipos 5 y 6 y 7% (3 cepas) fueron no tipificables, observándose variación de acuerdo a la especie animal, así en los ovinos el mayor porcentaje fue para el serotipo 8 y 2, en los bovinos fue para el 1 y en los caprinos con dos cepas, una perteneció al serotipo 5 y la restante al 8 (Cuadro 6).

De los setenta y cinco aislamientos de *P. multocida* el 60% (45 cepas) correspondieron al tipo capsular A, el 27% (20 cepas) al tipo D y 13% (10 cepas) fueron no tipificables, no se aislaron cepas de los tipos B y E. (Cuadro 7).

En relación a la especie animal en los ovinos el 52% (24 cepas) fueron del tipo A, 26% (12 cepas) del tipo D y 22% (10 cepas) no tipificables; en los bovinos el 77% (20 cepas) pertenecieron al tipo A y 23% (6 cepas) al tipo D, mientras que en los caprinos con un total de 3 cepas aisladas, dos correspondieron al tipo D y una al A. (Cuadro 7).

Dentro de los distintos procedimientos efectuados en la preparación del antígeno para la determinación del serotipo

Cuadro 6: Frecuencia de serotipos de *Pasteurella haemolytica* en los ovinos, bovinos, caprinos y su expresión porcentual.

Especies	Serotipos												N.T
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
Ovinos	3	9	-	-	1	2	-	11	-	-	-	-	2
%	11	32	-	-	4	7	-	39	-	-	-	-	7
Bovinos	7	2	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	1
%	58	17	-	-	-	17	-	-	-	-	-	-	8
Caprinos	-	-	-	-	1	-	-	1	-	-	-	-	-
%	-	-	-	-	50	-	-	50	-	-	-	-	-
Total	10	11	-	-	2	4	-	12	-	-	-	-	3
%	24	26	-	-	5	9	-	28	-	-	-	-	7

N. T. No tipificable

Cuadro 7: Frecuencia de tipos capsulares de *Pasteurella multocida* en las diferentes especies y su expresión porcentual.

Especie	A	%	D	%	N.T	%
Ovinos	24	52	12	26	10	22
Bovinos	20	77	6	23	-	-
Caprinos	1	33	2	66	-	-
Total	45	60	20	27	10	13

N. T. No tipificable

somático, el calentamiento a 120°C durante 15 minutos fue el que proporcionó mejores resultados.

El 72% (54 cepas) correspondieron al serotipo 3, 7% (5 cepas) al 15, 4% (3 cepas) a los serotipos 4 y 7, 3% (2 cepas) al 12, 1% (1 cepa) a los serotipos 10 y 14 y 8% (6 cepas) fueron no tipificables. En el Cuadro 8 puede observarse la frecuencia de los distintos serotipos en relación a la especie animal.

Se observaron reacciones antigénicas secundarias en el 16% (12 cepas) las cuales se distribuyeron de la siguiente manera: entre los serotipos 7 y 4 el 50%, entre el 3 y 4 el 25% y entre los serotipos 3 y 15, 3 y 12 y 7 y 12 el 8%.

Considerando la especie animal, en los ovinos el 72% de las cepas correspondieron al serotipo 3, el 9% al 15, 4% al 7, el 2% a los serotipos 4, 10, 12 y 14 y el 7% fueron no tipificables. En los bovinos el 77% correspondió al serotipo 3, el 8% al 4, el 4% a los serotipos 7 y 12 y el 8% fueron no tipificables, mientras que en los caprinos sobre un total de 3 cepas una perteneció al serotipo 3, otra al 15 y la restante fue no tipificable. (Cuadro 8).

En la mayoría de los casos pudo determinarse la procedencia de las muestras con aislamiento bacteriano, solamente en seis casos fue imposible establecerlo; así mismo debemos considerar que en dieciocho casos pertenecientes a ovinos, los mismos procedían de Estados Unidos. La frecuencia de aislamientos de ambas *Pasteurellas*, como sus serotipos de acuerdo a la procedencia pueden observarse en el Cuadro 9.

Cuadro 8: Frecuencia de serotipos somáticos de *Pasteurella multocida* en ovinos, bovinos, caprinos y su expresión porcentual.

Especie	Serotipos							
	3	4	7	10	12	14	15	N.T
Ovinos	33	1	2	1	1	1	4	3
%	72	2	4	2	2	2	9	7
Bovinos	20	2	1	-	1	-	-	2
%	77	8	4	-	4	-	-	8
Caprinos	1	-	-	-	-	-	1	1
%	33	-	-	-	-	-	33	33
Total	54	3	3	1	2	1	5	6
%	72	4	4	1	3	1	7	8

Los serotipos faltantes no se consideraron debido a la ausencia de cepas con resultados positivos.

N. T: No tipificable

Cuadro 9: Cantidad de cepas aisladas y sus serotipos según su procedencia.

Procedencia	P.m.	Serotipos	P.h.	Serotipo	Total
Edo. de México	22	3-4-7-10-12-14-N.T	11	1-2-5-6-8	33
Guanajuato	13	3-7-15-N.T	7	2-8-N.T	20
Hidalgo	11	3-15	3	2-8	14
Jalisco	5	3	4	1-N.T	9
Querétaro	10	3-4	3	1-6	13
Importación	8	3-12-15	12	1-2-6-8-NT	20
Indeterminado	6	3-10-15-N.T	2	1-2	8

N. T: No tipificable

P. m: *Pasteurella multocida*

P. h: *Pasteurella haemolytica*

3. INTERRELACION ENTRE LOS ESTUDIOS ANATOMOPATOLOGICO Y BACTERIOLOGICO.

En el Cuadro 10 se puede observar el número de aislamientos de *P. haemolytica* y *P. multocida* y su distribución de acuerdo a las distintas categorías de clasificación microscópica, considerando además la especie animal (ovino y bovino), en donde se detectó una estrecha relación entre los tipos de Neumonías exudativas y la especie animal, siendo altamente significativa ($P < 0.01$) para los aislamientos de *P. haemolytica* y significativa ($P < 0.05$) para los relacionados con *P. multocida*. Esta asociación fue más evidente en los bovinos en comparación con los ovinos.

En el Cuadro 11 se puede apreciar la asociación entre aislamientos de *P. multocida* y *P. haemolytica* en relación a la presencia de Pleuritis aguda en los ovinos y bovinos, clasificando de acuerdo a la característica principal del exudado en pleuritis fibrinosa y pleuritis con infiltración celular. El estudio estadístico no mostró asociación entre tipo de pleuritis y la especie bacteriana aislada ($\chi^2 = 1.703$) mientras que al considerarse la especie animal en relación a la pleuritis dicha asociación fue muy evidente ($P < 0.01$).

En el Cuadro 12 se puede observar la frecuencia de aislamientos de ambas pasteurellas en asociación con distintas lesiones microscópicas, considerando además la especie animal (ovinos y bovinos), donde se evidencia una estrecha relación entre lesión y aislamiento y entre lesión y especie animal ($P < 0.01$).

Cuadro 10: Número de aislamientos de *Pasteurella haemolytica* y *Pasteurella multocida* de acuerdo a la clasificación microscópica en ovinos y bovinos.

Especie	Neumonías exudativas						Neumonías mixtas		Neumonías prolif.	
	N.p.		N.f.p.		N.f.n.		P.h.	P.m.	P.h.	P.m.
	P.h.	P.m.	P.h.	P.m.	P.h.	P.m.				
Ovinos	7	13	6	10	2	1	10	18	4	4
Bovinos	1	10	2	8	9	8	-	-	-	-

N. p.: Neumonía purulenta

N. f. p.: Neumonía fibrino purulenta.

N. f. n.: Neumonía fibrino necrótica

P. m.: *Pasteurella multocida*

P. h.: *Pasteurella haemolytica*

Cuadro 11: Relación entre pleuritis y el tipo de aislamiento bacteriano en los ovinos y bovinos.

Pleuritis	Bovino		Ovino		Total
	P.h.	P.m.	P.h.	P.m.	
Exudado celular	-	1	10	9	20
Exudado fibrinoso	9*	2	2	2	15
Totales	9	3	12	11	35

* En un caso correspondiente a bovino con exudado fibrinoso hubo aislamiento de ambas especies bacterianas.

^ En cuatro casos de ovinos con exudado celular hubo aislamiento de ambas especies bacterianas.

No se consideraron los dos caprinos que tuvieron pleuritis.

P. m.: *Pasteurella multocida*.

P. h.: *Pasteurella haemolytica*.

Cuadro 12: Frecuencia de aislamientos de *Pasteurella haemolytica* y *Pasteurella multocida* en relación con determinadas lesiones microscópicas, considerando además la especie animal (ovinos y bovinos).

Lesiones	P.h.	P.m.	Ovinos	Bovinos
Exudado fibrinoso en alveolos	20	27	18	24
Hemorragias alveolares	16	17	12	18
Necrosis coagulativa	11	4	2	12
Presencia de células avenoides	11	1	2	10
Fibrino en tabiques interlobulillares	11	14	7	17
Trombos fibrinosos	16	13	8	18
Pleuritis	21	14	17	11

Asociación lesión-aislamiento (P < 0. 05).

Asociación lesión-especie animal (P < 0. 05).

P. m.: *Pasteurella multocida*.

P. h.: *Pasteurella haemolytica*.

VII. DISCUSION

Considerando los resultados obtenidos, es conveniente efectuar una especial mención a los términos utilizados, así al referirse a lo definido como índice de lesión, el cual surge de la proporción existente entre el número total de pulmones observados sobre el número de pulmones con lesión neumónica, los cuales fueron elegidos considerando en su apariencia macroscópica aquellos que tuvieran la mayor probabilidad de aislamiento de *Pasteurella haemolytica* y *P. multocida*, no considerando por tal motivo otras afecciones pulmonares, algunas indicativas de procesos crónicos y procesos abscedativos, o aquellos con excesiva contaminación. Por lo tanto es imposible considerar este valor de índice de lesión como índice de lesión neumónica comparable con los índices de prevalencia de neumonías obtenidos por otros autores^{99,148,141,149} y es por ésto que los valores encontrados en este trabajo son bastante menores a los referidos por los autores antes mencionados.

En cuanto al definido como índice de aislamiento que surge de la relación entre el número de pulmones con lesión y el número de cepas de *P. haemolytica* y/o *P. multocida* aisladas, el valor obtenido fue algo más elevado al encontrado por otros autores^{99,74,75,80} lo cual podría deberse a la mayor selección en el tipo de muestra obtenida.

Las lesiones macroscópicas coinciden con lo descrito

por varios autores^{54,64,68,80,128} para los cuadros de Bronconeumonía y Neumonía Lobar.

Así mismo, es evidente la predilección por los lóbulos anteroventrales y dentro de éstos la mayor tendencia a la presentación unilateral. Con respecto a la ubicación de la lesión en referencia a la especie animal, se observó una diferencia significativa en los bovinos donde la mayoría de los casos se presentó del lado derecho, mientras que en los ovinos no hubo una predilección tan definida por un determinado sector pulmonar.

En relación a la extensión de las lesiones se observa que las mismas fueron bastante variadas (Figura 1) pero la mayor concentración de casos, en las tres especies consideradas, se encontró dentro del rango de 5 a 15% del área pulmonar total, valor algo inferior al citado en ovinos por Gilmour *et al.*⁵⁸ y Zamri Saad *et al.*¹⁵¹ donde observaron un valor promedio de 18.9% y 32.2% respectivamente, pero en ambos casos se trataba de reproducciones experimentales, hecho que podría contribuir a que el área de lesión tuviera mayor extensión.

Las lesiones agudas de pleura que se observaron en los treinta animales no fueron severas en ningún caso y quedaron restringidas a las áreas con lesión pulmonar.

En el estudio microscópico el mayor porcentaje de casos estuvo agrupado dentro de la categoría de procesos o Neumonías de tipo exudativas, luego las mixtas y por último las proliferativas. Estos resultados eran de esperarse en parte como consecuencia del enfoque que se le dió al

muestreo, donde uno de los objetivos era el aislamiento de *Pasteurella spp* y por otro lado indica una mayor tendencia a la presentación de cuadros exudativos, coincidiendo con lo descrito por otros autores^{33,144} en donde los procesos exudativos predominaron sobre el resto.

Es de hacer notar la diferencia existente entre especie animal en relación a la clasificación de los procesos neumónicos. En los ovinos el 54% correspondió a procesos exudativos, el 38% a mixtos y el 8% restante a proliferativos, mientras que en los bovinos el 100% de los casos estuvo agrupado dentro de la categoría de procesos exudativos. Esta diferencia entre especie se podría deber en gran medida a la diferencia de edad de los animales muestreados, dado que en el caso de los ovinos la mayoría se trataba de animales adultos en donde se observaron diversos casos con lesiones que indicaban cierto grado de complejidad, e indicios de complicación por otros agentes infecciosos, tal como lo indicó la existencia de un número elevado de casos clasificados como mixtos. Mientras que en los bovinos la edad de los animales muestreados osciló entre una a cuatro semanas determinando que el 100% de los casos tuvieran características de procesos agudos de reciente aparición.

Esta distribución dentro de los distintos procesos neumónicos observados en ovinos, sería el comportamiento más habitual que se podría encontrar siempre que se obtenga el material a partir de muestras de rastro. Por lo mismo con los resultados obtenidos no es prudente concluir sobre cual sería el cuadro morfológico más frecuente de observar en la

Pasteurellosis neumónica; por lo tanto esta casuística podría variar cuando se trabaje con material proveniente de Centros de Diagnóstico o con casos de campo donde la mayoría de las muestras representarían estados agudos de la enfermedad.

Dentro de los procesos exudativos también se observaron diferencias de acuerdo a la especie. Así, en los ovinos el mayor porcentaje fue para los casos purulentos con un 50%, seguido por los fibrino-purulentos con un 41% y por último los fibrino-necróticos con un 9%. Mientras que en los bovinos el 46% de las neumonías exudativas fueron de características fibrino-necrótica y el 28% y el 26% restante correspondió a purulenta y fibrino-purulenta respectivamente.

Estos resultados coinciden con los hallazgos de Trigo¹⁴¹ en bovinos donde los procesos exudativos incluyeron el 55% de todos los casos revisados y también con lo descrito por Trigo¹⁴³ en donde la neumonía supurativa en ovinos representó el 57% seguido por las neumonías fibrinosas con un 48%. Así mismo en los ovinos hubo una gran cantidad de casos clasificados en la categoría de procesos mixtos, representando un 38% de las lesiones neumónicas.

La mayoría de estos casos reúnen las características de la Neumonía Atípica descrita por Stamp. et al.¹³¹ y que ha recibido, según los autores, diversos nombres entre ellos Neumonía Intersticial Proliferativa, Neumonía Proliferativa Exudativa y Neumonía crónica no progresiva. Gilmour et al.⁵⁸ la señalan como Neumonía Proliferativa-Exudativa en ovinos inoculados experimentalmente con una suspensión de tejido

pulmonar conteniendo *Mycoplasma ovineupmoniae* y *P. haemolytica* serotipo A 2 y que más tarde fuera señalada por Ngatia et al.¹⁰⁷ en ovinos con estados tardíos de neumonía aguda no fatales y como un cuadro de neumonía silenciosa hallado comunmente en ovinos sacrificados en rastros de Estados Unidos y que según este último autor podría o no estar asociado a *P. haemolytica* y/o *P. multocida* como así también se menciona la relación con otros agentes etiológicos, entre ellos *Chlamydiae psittaci*^{107,113}. Este cuadro neumónico también fue descrito por Malone et al.⁹⁵ como hallazgo de necropsia en un relevamiento realizado en un criadero intensivo de ovinos en Irlanda del Norte.

Los cambios histológicos observados indican una combinación de procesos exudativos y proliferativos con una pérdida de la característica alveolar como consecuencia de la proliferación de células en los septos alveolares, acúmulos e infiltración de linfocitos, neutrófilos y células plasmáticas, con evidente hiperplasia del epitelio bronquial, acompañado de hiperplasia linfoide peribronquial, peribronquiolar y perivascular (Figura 8) con estructura nodular y folicular y en los casos descritos por Gilmour et al.⁵⁸ acompañados por la presencia de cicatrices hialinas, las cuales según este último autor aparecen después de las siete semanas pos-inoculación. Estas cicatrices hialinas no fueron observadas en aquellos casos descritos por Malone et al.⁹⁵, ni tampoco en los casos mencionados en este trabajo, donde sí se observó una moderada fibrosis perialveolar localizada, acompañada en los casos de mayor cronicidad con

abundante tejido fibroso.

Al considerar lesiones por separado surgen datos que realmente merecen ser analizados, dado que muestran ciertas tendencias a manifestarse en relación con algunas de las especies de las *Pasteurellas* estudiadas.

Así, considerando la pleuritis, se observan aislamientos de ambas especies de *Pasteurella*, sin embargo los aislamientos de *P. haemolytica* fueron más numerosos (Cuadro 12) esta diferencia fue más evidente en los bovinos que en los ovinos (Cuadro 11). Tal vez, este comportamiento en los ovinos influyó en los resultados obtenidos en la prueba de Ji cuadrado, la cual no indicó asociación entre pleuritis y especie bacteriana aislada.

Al efectuar una clasificación de acuerdo a las principales características del exudado, en celular y fibrinoso, se puede observar que en los bovinos, donde hubo un predominio de exudado fibrinoso también existió una superioridad de aislamientos de *P. haemolytica* (Cuadro 11). Estos datos son coincidentes con lo observado por otros autores^{60,64}. Mientras que en los ovinos los aislamientos fueron equilibrados.

Wikse¹⁴⁶ menciona que los casos de neumonía asociados con el aislamiento de *P. haemolytica* tienen más consolidación y más pleuritis que aquellos asociados a *P. multocida*. Por otro lado Schiefer et al.¹²³ y Haritani et al.⁶⁵ informan que la pleuritis no es un cambio característico asociado con la neumonía por *P. multocida*, sin embargo en algunas inoculaciones experimentales realizadas por otros

investigadores^{65,110} ésta se produce, pero tal vez la misma podría deberse a la vía de inoculación utilizada más que a un tropismo de la bacteria por la pleura. Sin embargo, Pijoan y Fuentes¹¹⁵ trabajando con cepas de *P. multocida* aisladas de pulmones con lesiones neumónicas en cerdos, informan que existen algunas cepas con una mayor tendencia a producir pleuritis que otras.

Así mismo se detecta a la pleuritis fibrinosa como más característica de los bovinos y no tanto de los ovinos donde ambos tipos de exudados se ven en forma equilibrada (Cuadro 11). Los resultados estadísticos mostraron una robusta asociación entre el tipo de pleuritis y especie animal.

Otra lesión importante fue la presencia multifocal de áreas de necrosis coagulativa (Figura 9) y que estuvo más relacionada con los aislamientos de *Pasteurella haemolytica* que con *Pasteurella multocida* (Cuadro 12) coincidiendo con lo observado por otros autores^{9,54,64,80,129} los cuales sugieren que la presencia de necrosis coagulativa, bien demarcada por leucocitos, podría considerarse como lesión característica de la neumonía causada por *P. haemolytica*, en respuesta a la leucotoxina producida por la bacteria.

Mientras que en los casos con necrosis de pared alveolar donde se aisló *P. multocida* las mismas fueron del tipo licuefactivo con abundancia de leucocitos polimorfonucleares. Algunos investigadores sugieren que la diferencia más llamativa entre la neumonía asociada a *P. haemolytica* y aquella relacionada a *P. multocida* es la falta de áreas de necrosis y la presencia de gran número de neutrófilos en

animales con neumonías por *P. multocida*^{65,66,128}. Sin embargo, Gourlay *et al.*⁶² describen la presencia de áreas de necrosis coagulativa en bovinos inoculados experimentalmente con *P. multocida*.

En relación con las áreas de necrosis se observaron bandas celulares delimitando los bordes de la lesión, compuestas por células alargadas de aspecto fusiforme y arreglo arremolinado (Figura 10), hecho éste que se observó en un solo caso asociado con el aislamiento de *P. multocida* (Cuadro 12).

La presencia de estas células y su relación con el aislamiento de *P. haemolytica* apoyaría la hipótesis de que las mismas son leucocitos, principalmente neutrófilos en distintos grados de degeneración como consecuencia entre otras cosas de la acción ejercida por la exotoxina bacteriana (leucotoxina) sobre estas células, hecho éste que también ha sido comprobado por Slocombe *et al.*¹²⁷ y Liggett *et al.*⁸⁷ en lesiones neumónicas producidas por *Actinobacillus pleuropneumoniae* en porcinos. Según este último autor la presencia de estas células además de indicar la acción de la leucotoxina podrían responder a una deficiente o inadecuada actividad fagocítica de los macrófagos para eliminar estos neutrófilos degenerados.

Miller *et al.*¹⁰¹, también describen a estas células avenoides en fetos inoculados o infectados experimentalmente con *Haemophilus somnus*. En cuanto al origen de estas células, que fueran descritas como fibroblastos por Little y Harding⁸⁷ y luego reconocidas como macrófagos por Sanfor

y Josephson⁸⁷, los trabajos de Siocombe et al.^{127,128} llegan a la conclusión que debido a las características histoquímicas, las mismas derivarían principalmente de los neutrófilos, pero también mencionan que en menor escala podrían originarse en macrófagos alveolares degenerados o en células epiteliales alveolares. Liggett. et al.⁸⁷ señalan que estas células fusiformes mononucleares son probablemente un estado terminal de neutrófilos degenerados.

Con respecto a la presencia de fibrina en los tabiques interlobulillares y presencia de trombos fibrinosos (Figura 3) los aislamientos fueron equilibrados para ambas especies bacterianas. (Cuadro 12). Según Schiefer et al.¹²⁹ ambas características no se encontrarían, o lo harían en grado moderado, en las neumonías asociadas a *P. multocida*; siendo manifiestas en aquellas relacionadas con *P. haemolytica*. Sin embargo Haritani et al.⁶⁵ y Gourlay et al.⁶² mencionan que ambas lesiones se observan también en neumonías con aislamientos de *P. multocida*.

Si bien no es un hallazgo sobresaliente, es conveniente mencionar que en los pulmones de ovinos, con características indicativas de cronicidad se observó la existencia de cuerpos acelulares denominados Córpora Amilacea (Fig. 5) debido a su parecido con los observados en pulmones humanos y que fueran descritos en ovinos por Alley et al.⁵ y estudiados luego en mayor profundidad por Lin et al.⁸⁰ y que fueran encontrados en asociación con aquellos casos de neumonías no progresivas. Estos cuerpos no fueron observados en los pulmones de bovinos revisados en este trabajo, si bien se

debe considerar que la totalidad de los pulmones bovinos presentaron estados agudos de neumonía, sin embargo en la bibliografía consultada no hay antecedentes de su existencia en pulmones de bovinos.

Por último se debe considerar que si bien los aislamientos efectuados en cabras fueron considerados dentro de la clasificación de cuadros neumónicos, en la identificación de la especie *Pasteurella* y en su serotipificación, dado su escaso número fue imposible llegar a resultados concluyentes. Tal vez convendría realizar futuros estudios en dicha especie que involucren un mayor número de observaciones para así poder elaborar conclusiones.

En cuanto a la especie bacteriana aislada, se observó una diferencia altamente significativa entre los aislamientos de ambas especies, tanto en ovinos como en bovinos. Así, *P. multocida* fue el aislamiento más frecuente, representando un 62% y 68% respectivamente mientras que los aislamientos de *P. haemolytica* representaron un 38% y 32%.

Estos resultados no coinciden con lo observado por otros autores^{29,40,60,129,190} los cuales mencionan que *P. haemolytica* es el aislamiento más frecuente en los casos de Pasteurelosis bovina y ovina.

Los resultados obtenidos en este trabajo sobre la serotipificación de *P. haemolytica* guardan similitud con los señalados por otros autores^{2,4,18,24,46,51,74,75,147}, en donde se observó que el mayor porcentaje de cepas estuvo agrupado dentro del serotipo A 1 con un 58% y luego A 2 con un 17% para los bovinos.(Cuadro 6).

En los ovinos hubo una mayor variación de serotipos observándose el mayor porcentaje de cepas dentro del A 8 (39%), luego el A 2 con 32%, el A 1 con 11%, el A 6 7% y el A 5 con 4%.(Cuadro 6).

Se ha visto que en los ovinos el espectro de serotipos aislados es bastante amplio, así Biberstein *et al.*¹⁷ muestreando animales sanos detectaron entre 5 y 10 serotipos diferentes, resultado similar obtuvo Argueta¹⁰ en su trabajo realizado sobre corderos. Sin embargo Shreeve *et al.*¹²⁶ informaron que esta amplitud se reducía en asociación con brotes de Pasteurelosis donde algunos pocos serotipos tendían a predominar; otros autores^{59,105,118,138} informan que hay una amplia variación en la prevalencia de serotipos individuales aislados de pulmones de ovinos con Pasteurelosis neumónica. Según Jubb *et al.*⁸⁰ la Pasteurelosis neumónica en los ovinos se debería más comunmente al serotipo A 2, Jaramillo *et al.*⁷⁴ informan un predominio del serotipo A 2 con un 25% seguido del A 1 con un 15% y Sanchis *et al.*¹²¹ también encuentran un predominio del serotipo A 2 con un 34%; mientras que Colin³⁸ en su trabajo con pulmones neumónicos señala una amplia variedad de serotipos. Los resultados obtenidos en este trabajo no muestran una gran variedad de serotipos y si bien indican un alto porcentaje de cepas dentro del serotipo A 2 (32%) también señalan un elevado valor para el serotipo A 8 (39%).(Cuadro 6).

El mayor porcentaje de aislamientos de los serotipos A 1 y A 2 indicaría que éstos son los de mayor patogenicidad para las especies analizadas. Los estudios realizados por

Gilmour *et al.*⁵⁰, quienes compararon la patogenicidad de los serotipos 1, 2, 7 y 9 en ovinos, no encontraron una diferencia clara entre estos distintos serotipos, posteriormente Gentry *et al.*⁵⁶ quienes compararon las propiedades de encapsulación, producción de Leucotoxina y propiedades antigénicas de seis serotipos diferentes llegaron a la conclusión que si bien los seis presentaban el mismo potencial patógeno de acuerdo a los parámetros considerados, existían ciertas diferencias sutiles en la toxicidad contra leucocitos, en el grado de crecimiento y/o habilidad para mantener la fase logarítmica de crecimiento que podrían explicar el porqué algunas cepas fallan en producir enfermedad, por lo tanto esta diferencia en favor de los serotipos A 1 y A 2 podrían justificar la mayor frecuencia de aislamientos de estos serotipos en relación con los procesos neumónicos en bovinos y ovinos.

Con respecto al serotipo 8 en la bibliografía consultada no se encontró información que permita establecer su importancia en asociación con procesos patológicos, no obstante llama la atención en este trabajo el elevado número de presentación asociado con lesiones neumónicas en ovinos; tampoco, al considerar la distribución de los serotipos según la procedencia indicó una tendencia de localización, debido a que este serotipo se detectó tanto en animales provenientes de Guanajuato, Hidalgo, Estado de México como así también en aquellos procedentes de Estados Unidos. Tal vez convendría realizar futuros estudios tendientes a dilucidar la verdadera importancia patológica de este serotipo.

En este trabajo el número de cepas no tipificables por la prueba de Hemoaglutinación mostró un valor relativamente bajo (7%) en comparación con lo observado por otros autores. Así Aguilar et al.² encontraron un 14% de cepas no tipificables, Colin⁸⁸ un 30%, Quirie et al.¹¹⁸ 24%, Argueta¹⁰ detectó un 15%, Jaramillo⁷⁵ un 18% y Fodor et al.⁴⁶ un 18%. La poca cantidad de cepas no tipificables condice con lo comunicado por otros autores^{17,118} los cuales mencionan que las cepas aisladas de casos asociados a enfermedad respiratoria son tipificables dentro de algunos de los doce serotipos existentes; no así aquellas cepas aisladas de animales sanos o provenientes de lesiones patológicas ubicadas en otros órganos diferentes a los pulmones.

No se aislaron cepas pertenecientes al biotipo T lo cual notificaría una vez más la poca frecuencia de este biotipo en México tal como lo describieran diversos autores^{10,99,75,144}, aunque es importante señalar que no se muestrearon ovinos con lesiones sospechosas de cuadros septicémicos.

Con respecto a los tipos capsulares de *P. multocida* la totalidad de los aislamientos estuvieron agrupados dentro de los tipos A y D. No se observó la presencia de los tipos B y E confirmando los hallazgos previos de otros autores^{86,51} 75,144,120,135. Llama la atención la elevada cantidad de cepas del tipo D (27%) que contradice lo comunicado por otros autores donde la mayoría de las cepas encontradas pertenecieron al tipo capsular A^{2,75,135,144}.

Sin embargo Atsumi et al.¹¹ encontraron que dos de once cepas aisladas de problemas neumónicos en bovinos fueron del

tipo D e inclusive las mismas mostraron actividad dermonecrótica. Younam¹⁵⁰ trabajando sobre *Pasteurellas spp* aisladas de ovinos provenientes de dos regiones geográficas diferentes (Siria y Alemania del sur) encontró que el 28.8% correspondió a *P. multocida* tipo D. Sería interesante en un futuro realizar estudios en estas cepas a fin de determinar sus propiedades toxigénicas.

Con respecto al tipo somático la mayoría de las cepas 72%, pertenecieron al serotipo 3, luego el 7% al serotipo 15 y posteriormente, con porcentajes menores los serotipos 4, 7, 10 y 14 (Cuadro 8), coincidiendo con los resultados obtenidos por Carter²⁶ y Collier³⁴, quienes informaron que el serotipo 3 era el más frecuente y por Atsumi et al.¹¹ que señalaron que las cepas aisladas pertenecieron principalmente a los serotipos 1, 3, 4 y 11 y quienes además encontraron la existencia de varias cepas que reaccionaron con más de un antisuero.

Estos resultados no concuerdan con lo descrito por Wu y Qian¹⁴⁸ quienes encontraron un mayor porcentaje de los serotipos 2 y 5.

En este trabajo, al igual que lo señalado por otros autores^{11,114}, se encontró que algunas cepas (12 cepas) presentaron reacciones antigénicas secundarias siendo bastante frecuente las presentadas entre los serotipos 4 y 7.

El mayor porcentaje del serotipo 3 podría indicar que éste es el de mayor importancia patológica en los procesos respiratorios de los bovinos y ovinos, así como lo han mostrado otros serotipos tales como el 12:A y el 3:A asociado

a varios procesos patológicos en los conejos⁸⁶, el 5:A, 8:A y 9:A en el Cólera Aviar, el 3:A y en menor escala el 5:A y 12:A en neumonías porcinas⁶³.

El alto porcentaje de cepas en las cuales no se pudo determinar el tipo capsular por métodos no serológicos podría deberse a que las mismas presentaban una disociación colonial mucóide o que se trataba de cepas no capsuladas tal como fuera comunicado por otros investigadores^{21,27,67,120}.

Así mismo se menciona que en los casos crónicos como en aquellos estados de portadores, existe una mayor tendencia a presentarse aislamientos de cepas mucóides²⁹. Existen también trabajos que indican un porcentaje de cepas no tipificables por HAI tal como lo señalan Rimler¹²⁰ y Brogden²¹ donde informan un 9% y un 5% de cepas no tipificables provenientes de conejos y porcinos respectivamente y Sharma et al.¹²⁴ que comunican un 14.29% de cepas no tipificables.

El 8% de cepas que no pudieron ser tipificadas por la prueba de Inmunodifusión en gel podría estar indicando la existencia de nuevos serotipos tal como fuera comunicado por Mushin y Schoenbaum¹⁰⁴ en su trabajo sobre serotipificación de cepas aisladas de cuatro colonias de conejos en Israel, donde el 94% de las cepas fueron no tipificables. Por otro lado Chengappa et al.⁸⁶ trabajando sobre cepas de *P. multocida* aisladas en conejos encontraron que un 8% de las mismas no podían ser tipificadas.

Tal vez sería conveniente la utilización de otras técnicas serológicas como así también profundizar los estudios tendientes a la elaboración de nuevas técnicas que

permitan una mejor detección de los antígenos capsulares; al respecto los trabajos de Carter y Chengappa⁸¹ y Sharma et al.¹²⁴ reconocieron las bondades de la técnica de contra inmunoelectroforesis para la detección de cepas de *P. multocida* no tipificables por HAI.

Si bien el objetivo de este trabajo no fue realizar un relevamiento geográfico de las cepas de *Pasteurella spp* existentes en el país, el autor considera de interés mencionar la procedencia de los aislamientos, haciendo la salvedad que dicha información fue la obtenida en el rastro donde muchos de los introductores actúan como acopiadores por lo cual muchas veces el origen del animal no queda bien delimitado. Por los datos obtenidos en el trabajo no se puede apreciar una tendencia de distribución geográfica de serotipos, sino que habría una distribución bastante homogénea de los mismos dentro de los estados señalados.

Mediante la metodología implementada, se pudo responder a varios de los objetivos previamente formulados, pudiendo así mismo obtener las siguientes conclusiones.

Los cuadros exudativos representaron el 72% de los casos analizados. Dentro de éstos las Neumonías purulentas representaron el 41%, las fibrino-purulentas el 33% y el 26% restante correspondió a las Neumonías fibrino-necróticas. Sin embargo hubo diferencia de acuerdo a la especie animal, así en los ovinos la mayoría de los casos estuvo agrupado dentro de las Neumonías purulentas y fibrino-purulentas, mientras que en los bovinos se encontró dentro de las

Neumonías fibrino-necróticas.

En los ovinos hubo un 38% de casos agrupados en la categoría de procesos mixtos donde se observaron una combinación de cuadros microscópicos característicos de procesos proliferativos y exudativos.

Pasteurella multocida fue el aislamiento más frecuente a partir de lesiones pulmonares en ovinos y bovinos, representando un 62% y 68% respectivamente de los aislamientos totales, no cumpliéndose lo planteado como hipótesis donde se esperaba encontrar una frecuencia equilibrada de aislamiento de ambas especies.

Con respecto a *Pasteurella haemolytica* todas las cepas aisladas, tal como fuera planteado en la hipótesis pertenecieron al biotipo A.

El 50% de los aislamientos correspondió a los serotipos A 1 y A 2, tal como se esperaba según la hipótesis propuesta, distribuyéndose el 50% restante entre otros serotipos y cepas no tipificables. En los ovinos, el serotipo A 2 representó el 32% de los aislamientos, sin embargo se observó una amplitud en la variedad de serotipos, encontrándose aislamientos en los serotipos 1, 5, 6 y 8. En los bovinos, tal como se planteaba en la hipótesis el A 1 fue el serotipo más importante.

Por lo tanto se podría responder a uno de los objetivos propuestos indicando que existiría una variación entre los serotipos y la especie animal.

Considerando los tipos capsulares de *Pasteurella multocida*, el tipo A fue el aislamiento más frecuente tanto

en los ovinos como en los bovinos, sin embargo los valores obtenidos para el tipo D fueron más altos de los esperado, con porcentajes similares para ovinos y bovinos, 26% y 23% respectivamente. Se encontró un 13% de cepas no tipificables de las cuales el 100% correspondió a cepas aisladas de ovinos.

Tal como se planteaba en la hipótesis de trabajo no se observaron cepas de los tipos B y E.

Considerando los serotipos somáticos en los ovinos y bovinos, el serotipo 3 fue el más frecuente con un 72% y un 77% respectivamente del total de cepas aisladas. Se encontró un 8% de cepas no tipificables por Inmunodifusión y teniendo en cuenta la clasificación conjunta propuesta por Carter y Chengappa ³¹ los serotipos 3:A y 3:D fueron los más frecuentes con un 44% y un 16% respectivamente.

En ciertas lesiones se pudo observar una tendencia hacia una de las dos especies bacterianas, indicando un grado de asociación positiva. Así, la pleuritis, necrosis coagulativa y la presencia de células avienoides estuvieron relacionadas a una mayor frecuencia de aislamientos de *Pasteurella haemolytica*. No hubo diferencia de asociación entre las dos especies bacterianas con respecto a distensión e infiltración de los tabiques interlobulillares, presencia de fibrina, trombos fibrinosos, acumulación de polimorfonucleares en alveolos, exudado fibrinoso en alveolos y hemorragia alveolar.

No se pudo detectar asociación entre lesiones y serotipos de ambas especies bacterianas estudiadas.

Figura 1: Area pulmonar afectada. Expresada en porcentaje del área total del pulmón en ovinos, bovinos y caprinos

Figura 2: Neumonía fibrino-purulenta. Alveolos conteniendo un exudado fibrinoso entremezclado con leucocitos principalmente neutrófilos. H.E. 640X.

AREA PULMONAR AFECTADA EN LAS DISTINTAS ESPECIES

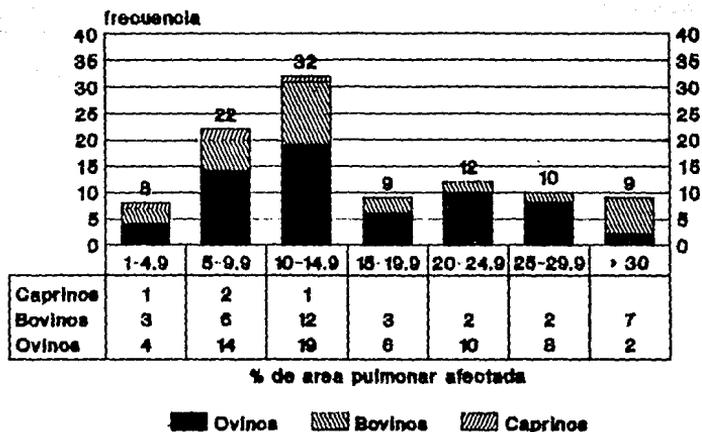


Figura 1.

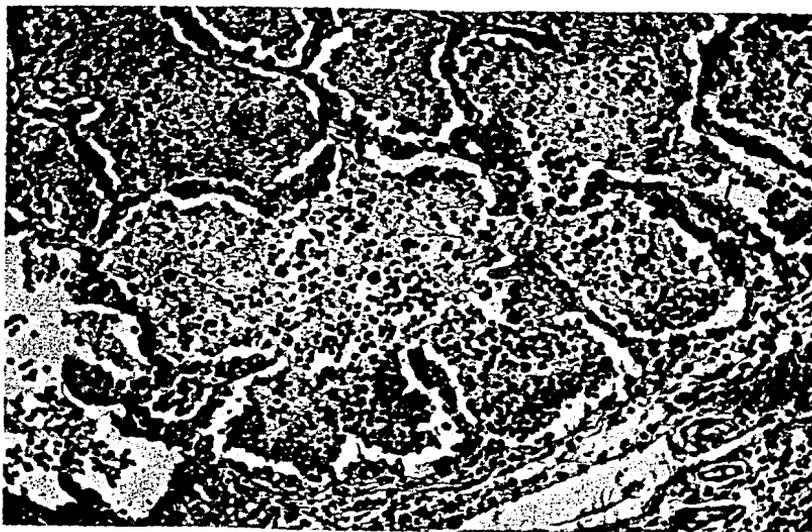


Figura 2.

Figura 3: Distensión de los tabiques interlobulillares con infiltración de células inflamatorias y fibrina, presencia de trombos fibrinosos en vasos linfáticos. H.E. 100X.

Figura 4: Neumonía proliferativa. Severa hiperplasia linfoide peribronquial, peribronquiolar y perivascular. H.E. 100X.



Figura 3.

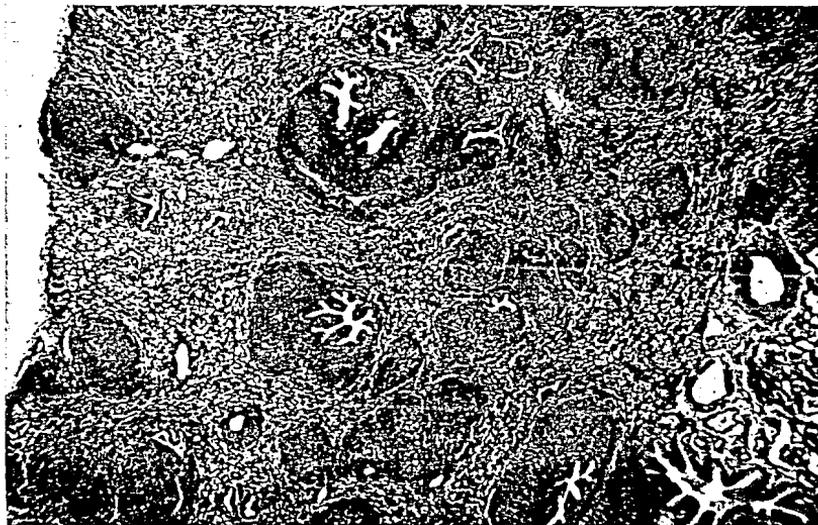


Figura 4.

Figura 5: Córpora Amilacea. Formación esférica, acelular, con estructura de láminas concéntricas rodeadas por neutrófilos. H.E. 1600X.

Figura 6: Clasificación de los procesos neumónicos en exudativos, mixtos y proliferativos, considerando el número de casos en ovinos, bovinos y caprinos.

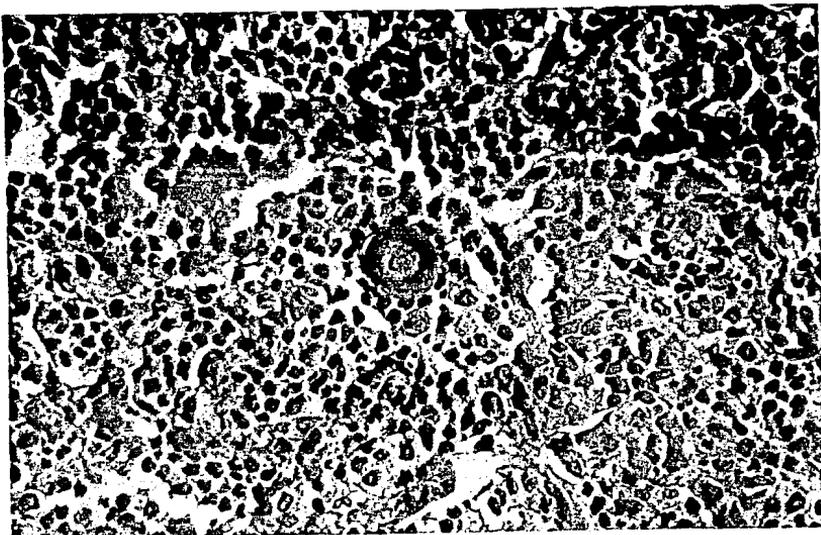


Figura 5.

CLASIFICACION DE LOS PROCESOS NEUMONICOS Considerando ovinos bovinos y caprinos

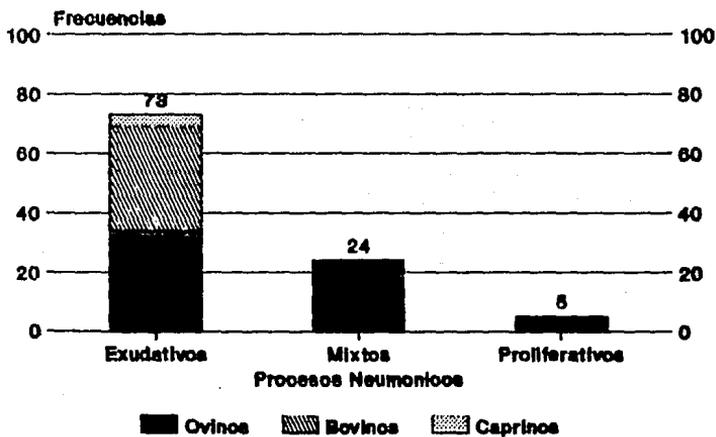


Figura 6.

Figura 7: Frecuencia de aislamientos de *Pasteurella haemolytica* y *Pasteurella multocida* en ovinos, bovinos y caprinos.

Figura 8: Neumonía mixta. Hiperplasia linfoide, perivascular y peribronquiolar, pérdida de la estructura alveolar con infiltración celular, hiperplasia del epitelio bronquial con exudado en la luz. H.E. 100X

AISLAMIENTOS POR ESPECIE

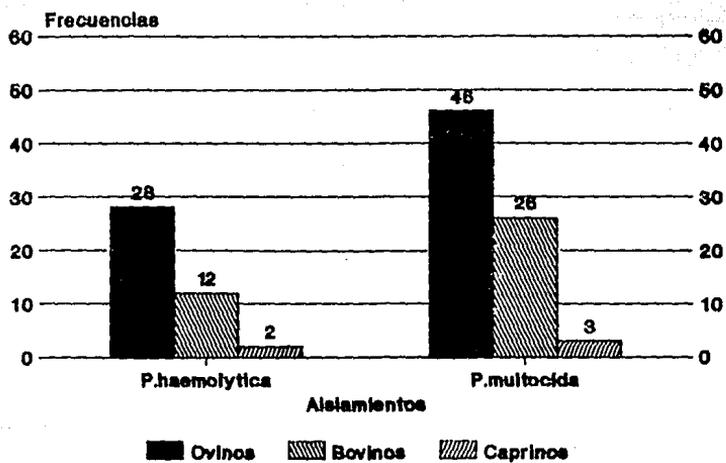


Figura 7.

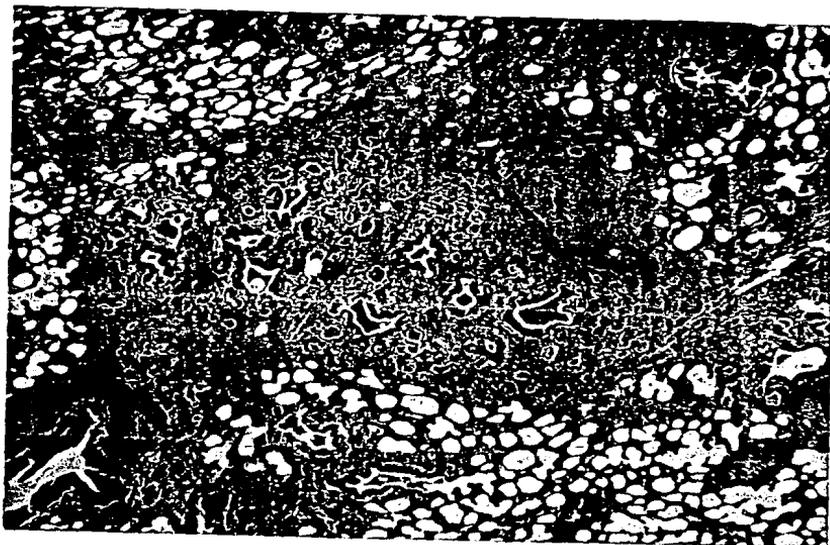


Figura 8.

Figura 9: Neumonía fibrino-necrótica. Areas de necrosis coagulativa demarcadas por bandas de leucocitos. H.E. 100X.

Figura 10: Células fusiformes "Avenoides", presentes en la zona de necrosis coagulativa con un arreglo arremolinado. H.E. 1000X.

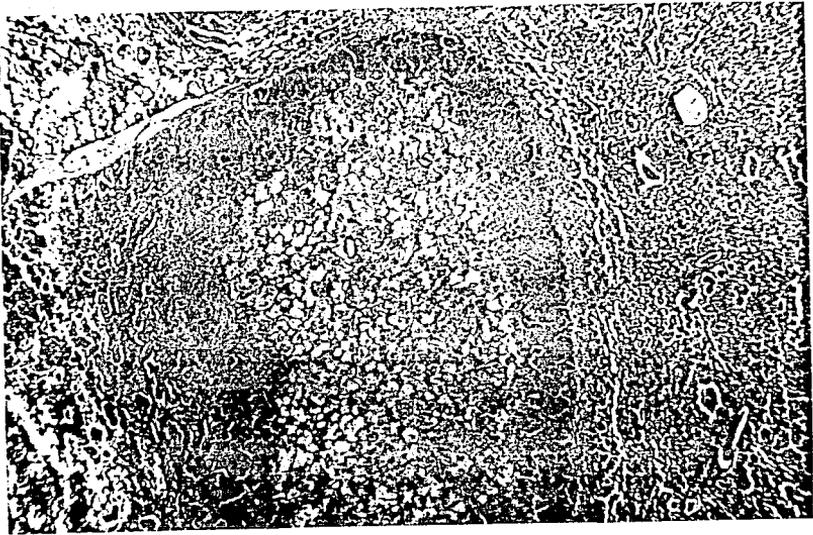


Figura 9.

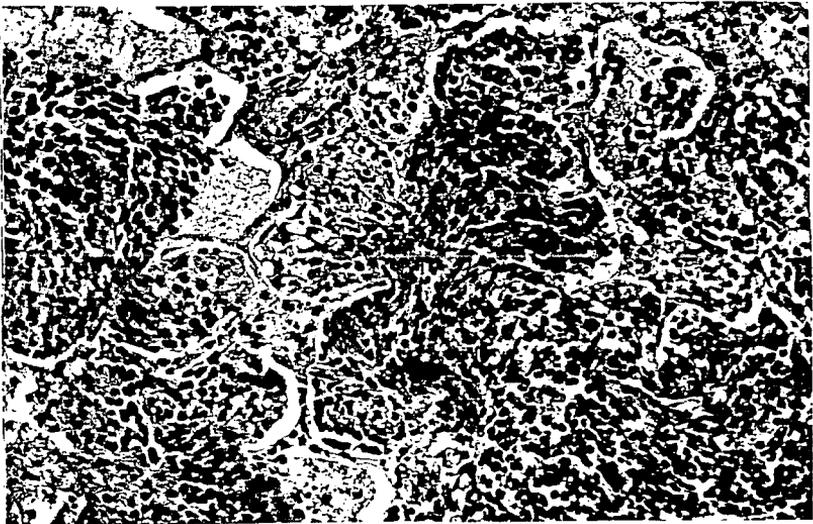


Figura 10.

LITERATURA CITADA

1. AGRÉS, S.D. LAING, C.J., SAUNDERS, J.R. and RADOSTITS, O.M.: Acute undifferentiated neonatal diarrhea in beef calves. I Occurrence and distribution of infectious agents. *Can. J. Comp. Med.*, 39: 116-132 (1975).
2. AGUILAR, F., JARAMILLO, J., TRIGO, F.J.: Serotipos de *Pasteurella haemolytica* aislados a partir de pulmones neumónicos de bovinos. Memorias de la Reunión Anual de Investigación Pecuaria. Facultad de Medicina. Universidad Nacional Autónoma de Méxco. Méxco D.F. Pág. 73 SARH-UNAM Méxco. D.F. (1985).
3. ALLAN, E.M., GIBBS, H.A. and WISEMAN, A.: Sequential lesions of experimental bovine Pneumonic Pasteurellosis. *Vet. Rec.*, 26: 438-442 (1985).
4. ALLAN, E.M., WISEMAN, A., GIBBS, H.A. and SELMAN, I.E.: *Pasteurella* especies isolated from the respiratory tract and their antimicrobial sensitivity patterns. *Vet. Rec.* 117: 629-631 (1985).
5. ALLEY, M.R., QUINLAN, J.R. and CLARKE, J.R.: The bacterial flora of the respiratory tract of normal and pneumonic sheep. *New Zealand Veterinary Journal* 23: 113-118 (1975).
6. ALLEY, M.R., CLARKE, J.R.: The experimental transmission of ovine chronic non-progressive pneumonia. *New Zealand Vet. J.*, 27: 217-220 (1979).
7. ALMEIDA, P.F., ALVES, F.S.F., SANTOS, L. and ROSA, J.S.: Survey of bacterial agents associated with respiratory disease of goats in North Eastern Brazil. *Revista de Microbiologia Brasil* 17 (3): 213-215 (1986).
8. AMSTUTZ, H.E.: Enzootic calf pneumonia (calf influenza). *Bovine Medicine and Surgery*, edited by GIBBONS, W.J. and SMITHCORS, J.F.P., 689-698. American Veterinary Publications Inc. Wheaton Illinois. (1970).
9. Annual Report of the Institute for Animal Health. Compton. Agricultural and Food Research Council. (1987).

10. ARGUETA, G.J.: Frecuencia de *Pasteurella haemolytica* en la cavidad nasal de corderos y ovinos adultos. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. (1987).
11. ATSUMI, F., OHTANI, T., ZHAO, H.K., HIRAMUNE, T., KIKUCHI, N., KOIWA, M. and TAKAHASHI, H.: Serotypes and dermonecrotic activity of *Pasteurella multocida* strains isolated from cattle in Hokkaido. *Journal of the College of Dairying Natural Science*, 11 (2): 349-354 (1986).
12. AYALA, M.A.: Incidencia y prevalencia de neumonías en becerros Holstein Friesian en etapa de lactancia y destete durante un año en un centro de recría. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Autónoma de México. México, D.F. (1977).
13. BABIUX, L.A. and AGRES, S.D.: Models for bovine respiratory disease. In. R.W. Loan ed. Bovine respiratory disease. I Symposium College Station Texas A&M University Press., 287-325 (1984).
14. BAKER, J.C., EVERMANN, J.F., FREY, M.L., HUTCHINS III, S., LEHMKUHL, H., MERCER, B., MOCK, R.E., POTGIETER, L., SHARPI, A. and TORRES, A.: A closerlook at bovine respiratory syncytial virus. *Vet. Medicine* 81: 947-956 (1986).
15. BECK, G., CORDS, G.B. and HENNAM, H.A.: Factors in disease and mortality of lambs. *Vet. Med. Small anim. clin.*, 71: 84-91 (1976).
16. BHATTACHARYA, G.K. and JOHNSON, R.A.: Statistical concepts and methods. *John Wiley & Sons Ed. London* (1977).
17. BIBERSTEIN, E.L. and THOMPSON, D.A.: Epidemiological studies on *Pasteurella haemolytica* in sheep. *J. Comp. Pathol.*, 76: 83-94 (1966).
18. BIBERSTEIN, E.L.: Biotyping and serotyping of *Pasteurella haemolytica*. In methods in Microbiology. Edited by Bergan T. and Norris J.R. 10: 253-269, *Academic Press New York* (1978).

19. BLOOD, D.C., HENDERSON, S.A. y RADOSTITS, O.M.: *Medicina Veterinaria*. 6a.ed. Nueva Editorial Interamericana, México, D.F. (1988).
20. BREIDER, M.A., WALKER, R.D., HOPKINS, F.M., SCHULTZ, T.W. and BOWERSOCK, T.L.: Pulmonary lesion induced by *Pasteurella haemolytica* in neutrophil sufficient and neutrophil deficient calves. *Can. J. Vet. Res.*, 52: 205-209 (1988).
21. BROGDEN, K.A. and PACKER, R.A.: Comparison of *Pasteurella multocida*. Serotyping systems. *Am. J. Vet. Res.*, 40:9: 1332-1335 (1979).
22. BURNES, J.M., LOPEZ MAYAGOITIA, A., MERINO MONGADA, M.: Lavados bronquio-alveolares y respuesta inflamatoria del aparato respiratorio. *Vet. Méx.*, 17: 191-198 (1986).
23. CARTER, G.R.: Studies on *Pasteurella multocida*. I A hemagglutination test for the identification of serological types. *Am. J. Vet. Res.*, 16: 481-484 (1955).
24. CARTER, G.R.: Some remarks on Shipping Fever in Canadá. *Can. J. Comp. Med.*, 20: 289-293 (1956).
25. CARTER, G.R.: Studies on *Pasteurella*. II Identification of antigenic and colonial characteristics. *Am. J. Vet. Res.*, 18: 210-213. (1957).
26. CARTER, G.R.: Pasteurellosis: *Pasteurella multocida* y *Pasteurella haemolytica*. Pag. 321-379 In. G.A. Brandy Cornelius. *Advances in Veterinary Science*. Vol. 2. Academic Press Inc. New York. (1967).
27. CARTER, G.R.: Improved hemagglutination test for the identification of serological types. *J. Appl. Microbiol.* 24: 162-163 (1972).
28. CARTER, G.R. and SUBRANTO, P.: Identification of type D strains of *Pasteurella multocida* with Acriflavine. *Am. J. Vet. Res.*, 34: 293-294 (1973).
29. CARTER, G.R. and RUNDELL, S.W.: Identification of type A strains of *Pasteurella multocida* using Staphylococcal hyaluronidase. *Vet. Rec.*, 96: 343 (1975).

30. CARTER, G.R.: Diagnostic procedures in Veterinary Bacteriology and Micology. 3a. ed. Charles C. Thomas Publisher, Springfield, Illinois. (1979).
31. CARTER, G.R. and CHENGAPPA, M.N.: Recomendations for a standard system of designating serotypes of *Pasteurella multocida*. Presented at the 24th a Meet. Am. Ass. Vet. Lab. Diag. St. Louis. Missouri. (1981).
32. CASTRO ARGANDA, J.M.: Etiología del síndrome respiratorio bovino. *Tratado de Veterinaria Práctica. Bovis. España.* (1988).
33. COLIN FLORES, R.F.: Serotipos de *Pasteurella haemolytica* aislada de pulmones neumónicos de ovinos en México. Tesis de Licenciatura. *Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Autónoma de México. México, D.F.* (1986).
34. COLLIER, J.R.: Pasteurellae in bovine respiratory disease *J. Am. Vet. Med. Assoc., 152:* 824-828 (1968).
35. COLLIER, J.R.: Significance of bacteria in bovine respiratory disease. *J. Am. Vet. Med. Assoc., 153:* 1645-1651 (1968).
36. CHENGAPPA, M.M., MEYERS, R.G. and CARTER, G.R.: Capsular and somatic types of *Pasteurella multocida* from rabbits. *Can. J. Comp. Med., 46:* 437-439 (1982).
37. CHURCH, T.L. and RADOSTITS, O.M.: A retrospective survey of disease of feedlot cattle in Alberta. *Can. Vet. J., 22:* 27-30 (1961).
38. DAVIES, D.H., HERCEG, M. and THURLEY, D.G.: Experimental infection of lambs with an adenovirus followed by *Pasteurella haemolytica*. *Veterinary Microbiology, 7:* 369-381 (1982).
39. DONACHIE, W., FRASER, J., QUIRIE, M. and GILMOUR, N.J.L.: Studies on strains of *Pasteurella haemolytica* not typable by indirect haemagglutination test. *Res. Vet. Sci., 37:* 188-193 (1984).

40. EGUILUZ, N.G.E.: Análisis bacteriológico e histopatológico de vísceras de ovino decomisadas en el rastro de Ferrería. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Autónoma de México. México, D.F. (1981).
41. EPSTEIN, B. and MIRANDA, R.: Patología respiratoria de rumiantes en Argentina. XX Congreso Mundial Ciencias Veterinarias. Salónica. Grecia. (1975).
42. ETMANDI, M.N. and BAKIER, A.M.: Pathological studies of pneumonic in goat. *Indian J. Vet. Pat. 9*: 23-28 (1985).
43. EVERITT, B.S.: The analysis of contingency tables. Chapman and Hall Ed. 3a. reimpression de 1977. London. (1980).
44. EVERMANN, J.F., LIGGITT, H.D., PARISH, S.M., WARD, S.G.S. and LEAMASTER, B.R.: Properties of respiratory syncytial virus isolated from a sheep with rhinitis. *Am. J. Vet. Res. 46*: 947-951 (1985).
45. FODOR, L., VARGA, J. and HAJTOS, I.: New serotype of *Pasteurella haemolytica* isolated in Hungary. *Vet. Rec.*, 15: 155 (1987).
46. FODOR, L., AMTSBERG, G and VARGA, J.: Serotyping *Pasteurella haemolytica* strains with indirect haemagglutination double difucion and counter inmunolectrophoresis. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift.*, 95 (1) 14-15 (1988).
47. FOX, M.L., THOMPSON, R.G. and MAGWOOD, S.E.: *Pasteurella haemolytica* of cattle; serotype, production of beta galactosidase and antibacterial sensitivity. *Can. J. Comp. Med.*, 35: 313-317 (1971).
48. FRANK, G.H. and WESSMAN, G.E.: Rapid plate aglutination procedure for serotyping *Pasteurella haemolytica*. *J. Clin. Microbiol.*, 7: 142-145 (1978).
49. FRANK, G.H.: Serological groups among untypable bovine isolates of *Pasteurella haemolytica*. *J. Clin. Microbiol.* 12: 579-582 (1980).

50. FRANK, G.H.: Serotypes of *Pasteurella haemolytica* in sheep in mid western United States. *Am. J. Vet. Res.*, **43**: 2035-2037 (1982).
51. FRANK, G.H. and SMITH, P.C.: Prevalence of *Pasteurella haemolytica* in transported calves. *Am. J. Vet. Res.*, **44**: 981-985 (1983).
52. FRANK, G.H.: The role of *Pasteurella haemolytica* in the Bovine Respiratory Disease Complex. *Veterinary Medicine*. **8r**: 838-846 (1986).
53. FRASER, J., LAIRD, S. and GILMOUR, N.J.L.: A new serotype (biotype T) of *Pasteurella haemolytica*. *Res. Vet. Sci.* **32**: 127-128 (1982).
54. FRIEND, S.G., THOMPSON, R.G. and WILKIE, B.N.: Pulmonary lesions induced by *Pasteurella haemolytica* in cattle. *Can. J. Comp. Med.*, **4r**: 219-223 (1977).
55. GARCIA H., E., TRIGO, F.J., SANCHEZ MEJORADA, H. y AGUILAR, F: Serotipos de *Pasteurella multocida* en bovinos productores de carne en México. *Vet. Méx.*, **19**: 199-203 (1988).
56. GENTRY, M.J., CONFER, A.W. and HOLLAND, S.G.: Comparison of the toxic and antigenic properties of single bovine isolated of *Pasteurella haemolytica* representing five serotypes and untypable strain. *Vet. Microbiology*, **16**: 351-367 (1988).
57. GIBBS, H.A., ALLAN, E.M., WISEMAN, A. and SELMAN, I.E.: Experimental production of bovine pneumonic pasteurellosis. *Rec. Vet. Sci.*, **37**: 154-166 (1984).
58. GILMOUR, J.S., JONES, G.E., KEIR, W.A. and RAE, A.G.: Long term. Pathological and microbiological progress in sheep of experimental disease resembling Atypical pneumonia. *J. Comp. Path.*, **92**: 229-238 (1982).
59. GILMOUR, J.S., JONES, G.E., RAE, A.G. and QUIRIE, M.: Comparison of single strains of four serotypes of *Pasteurella haemolytica* biotype A in experimental pneumonia in sheep. *Res. Vet. Sci.* **40**: 136-137 (1986).
60. GILMOUR, N.J.L.: Pasteurellosis in sheep. *The Veterinary Annual*, **20**: 234-240 (1980).

61. GILLESPIE, J.H. y TIMONEY, J.F.: Enfermedades infecciosas de los animales domésticos. 4a. ed. *La Prensa Médica Mexicana S.A.* México D.F. (1983).
62. GOURLAY, R.N., THOMAS, L.H. and WYLD, S.G.: Experimental *Pasteurella multocida* pneumonia in calves. *Research in Vet. Science* 47:2: 185-189 (1989).
63. GYLES, C.L. and THOEN, CH.O.: Pathogenesis of bacterial infections in animals. Pag. 147-153. Fifth edition. *Iowa States University Press.* E.E.U.U. (1986).
64. HARITANI, M., MAKAZAWA, M., OOHASHI, S, YAMADA, Y., HAZIROGLU, R. and NARITA, M.: Immunoperoxidase evaluation of pneumonic lesions induced by *Pasteurella haemolytica* in calves. *Am. J. Vet. Res.*, 48:9: 1358-1362 (1987).
65. HARITANI, M., NARITA, M., MURATA, H., HASHIMOTO, K. and TAKIZAWA, T.: Immunoperoxidase evaluation of pneumonic lesions induced by *Pasteurella multocida* in calves. *Am. J. Vet. Res.*, 50:12: 2162-2167 (1989).
66. HEDDLESTON, K.L., RHOEDES, K.R. and REBERS, P.A.: Experimental pasteurellosis. Comparative studies on *Pasteurella multocida* from Asia, Africa and North America *Am. J. Vet. Res.*, 28: 1003-1012 (1967).
67. HEDDLESTON, K.L., GALLAGHER, J.E. and REBERS, P.A.: Fowl cholera: gel, difusion precipitin test for serotyping *Pasteurella multocida* from avian species. *Avian. Dis.*, 16: 925-936 (1972).
68. HERNANDEZ, C.D.: Causas más frecuentes de mortalidad en corderos en el Centro Ovino del Programa de Extensión Agropecuaria (COPEA). Tesis de Licenciatura. *Fac. de Med. Vet. y Zoot.* Universidad Nacional Autónoma de Méxco. México D.F. (1984).
69. HICKS, R.B.: Cost of treating newly arrived socker calves. 11th *Ann. O-K. Cattle Conf. Proc.* Cooperative Extension Service, Oklahoma State University. (1985).
70. HIMMEL, M.A., YATES, M.D., and LAUERMAN, L.H.: Purification and partial characterization of a macrophage cytotoxin from *Pasteurella haemolytica*. *Am. J. Vet. Res.*, 43: 764-767 (1982).

71. HORE, D.E. : Isolation of ovine strains of Parainfluenza virus. Serologically related to type 3. *Veterinary Record*, 79: 466-467 (1966).
72. HOUSE, J.A.: Economic impact of Rotavirus and other neonatal disease agents of animals. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 173: 573-578 (1978).
73. IRWIN, M.R., MC CONNELL, S., COLEMAN, J.D. and WILCOX, G.E.: Bovine respiratory disease complex. A comparison of potential predisposing and etiological factors in Australia and the United States. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 175: 1095-1099 (1979).
74. JARAMILLO, L., AGUILAR, F., MERINO, M., TRIGO, F.J., MARTINEZ, H.A.: Serotipos de *Pasteurella haemolytica* involucrados en Pasteurelisis pulmonar ovina. Memorias de la Reunión Anual de Investigación Pecuaria. Facultad de Medicina. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F. Pág. 72. SARH-UNAM. México. D.F. (1985).
75. JARAMILLO MEZA, L., AGUILAR ROMERO, E. y TRIGO, F.J.: Serotipificación de *Pasteurella haemolytica* y determinación de los tipos capsulares de *Pasteurella multocida* aislada de pulmones neumónicos de becerros en México. *Vet. Méx.*, 18: 185-188 (1987).
76. JENSEN, R., PIERSON, R.E. and BRADY, P.M.: Shipping Fever pneumonia in yearling feedlot cattle. *J. Am. Vet. Assoc.*, 169: 500-506 (1976).
77. JONES, C.D.R.: Proliferation of *Pasteurella haemolytica* in the calf respiratory tract after an abrupt change in climate. *Res. Vet. Sci.*, 42: 179-186 (1987).
78. JONES, G.E., FIELD, A.C., GILMOUR, N.J.L., RAE, A.G., NETTLETOM, P.F. and LAUGHLIN, M.: Effect of experimental chronic pneumonia on body weight, feed intake and carcass composition of lambs. *Vet. Rec.*, 110: 168-173 (1982).
79. JONES, T.O., MINNS, M., RIMLER, R.B.: Isolation of *Pasteurella multocida* F 3-4 from a calf in the United Kingdom. *Vet. Rec.* 123:13: 354-356 (1988).

80. JUBB, K.V.F., KENNEDY, P.C. and PALMER, N.: Pathology of domestic animals. Third edition. Vol. 2. Pag. 487-492. *Academic Press. Inc.* London (1985).
81. KAHRIS, R.F.: Infectious bovine rhinotracheitis: A review and update. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 171: 1055-1064 (1977).
82. KEE, J., GUICHON, T. and SHAW, G.: Protecting feedlot calves from pneumonic pasteurellosis. *Vet. Med.*, 83: 1084-1087. (1988).
83. KIRTON, A.H., O'HARA, P.J., SORTRIDGE, E.H. and CORTES, D.O.: Respiratory disease in sheep. *New Zealand Vet. Journal*, 24: 59-63 (1976).
84. KRIEG, N.R. and HOLT, J.G.: BERGEY'S Manual of Sistematic Bacteriology. Vol. 1 Pag. 550-554. Ed. *Williams and Wilkins.* London (1984).
85. LEMAN, A.D., STRAW, B., GLOCK, R.D., MENGELING, W.L., PENNY, R.H.C. and SCHOLL, E.: Diseases of swine. 6th ed. *Iowa State University Press, Ames, Iowa* (1986).
86. LEON, E.A.: Casuística patológica bovina del Centro de Investigaciones en Ciencias Veterinarias del INTA. Período julio/77-diciembre/84. *Vet. Argentina III:27: 659-677* (1986).
87. LIGGETT, A.D., HARRISON, L.R. and FARRELL, R.L.: Sequential study of lesion development in experimental *Haemophilus pleuropneumoniae*. *Res. Vet. Sci.*, 42: 204-212 (1987).
88. LILLIE, L.E. : The Bovine Respiratory Disease Complex. *Can. Vet. J.*, 15: 233-242 (1974).
89. LIN, X., ALLEY, M.R., MANKTELOW, B.W. and SLACK, P.: Pulmonary Córpora Amilacea in sheep. *J. Comp. Path.roc.* 267-274 (1989).
90. LOPEZ, A., THOMPSON, R.G. and SAVAN, M.: The pulmonary clearance of *Pasteurella haemolytica* in calves infected with bovine Parainfluenza-3 virus. *Can. J. Comp. Med.*, 40: 385-391 (1976).

91. LOPEZ, A.: Septicemia hemorrágica. *Rev. Vet. Méx.*, 8: 111-116 (1977).
92. LUNA, L.G. : Manual of staining methods. *Armed Forces Institute of Pathology*. Washington. (1968).
93. MADRIGAL, V.M.: Hallazgos patológicos y bacteriológicos en pulmones de ovinos y caprinos sacrificados en el rastro de Capulhuac. Estado de México. Tesis de Licenciatura. *Esc. Med. Vet. y Zoot. Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca. Estado de México.* (1983).
94. MALONE, F.E., MC PARLAND, P.J. and O'HAGAN, J.: Causes of mortality in an intensive lambs fattening unitl *Irish Veterinary Journal*, 39: 86-90 (1985).
95. MALONE, F.E., MC CULLOUGH, S.J., MC LOUGHLIN, M.F., BALL, H.J., O'HAGAN, J. and NEILL, S.D.: Infectious agents in respiratory disease of housed fattening lambs in Northern Ireland. *Vet. Rec.*, 122: 203-207 (1988).
96. MARKHAM, R.J.F. and WILKIE, B.N.: Interaction between *Pasteurella haemolytica* and bovine alveolar macrophages: cytotoxic effects on macrophages and impaired phagocytosis. *Am. J. Vet. Res.*, 41: 18-22 (1980).
97. MARTIN, S.W., SCHWABE, C.W. and FRANTI, G.E.: Dairy calf mortality rate characteristics of calf mortality rates in Tulare country California. *Am. J. Vet. Res.*, 36: 1099-1104. (1975).
98. MARTIN, S.W., MEEK, A.H., DAVIS, D.G., THOMPSON, R.G., JOHNSON, J.A., LOPEZ, A., STEPHENS, L., GURTIS, R.A., PRESCOTT, J.F., ROSENDAL, S., SAVAN, M., ZUBAIDY, A.J., and BOLTON, M.R.: Factors associated with mortality in feedlot cattle: The Bruce Country Beef Project. *Can. J. Comp. Med.*, 44: 1-10 (1980).
99. MARTINEZ, A., AZNAR, E. y VINA, C.: *Pasteurella multocida* en tracto respiratorio de terneros. *Rev. Salud Anim.* 9: 7-12 (1987).
100. MC GOWAN, B., MOULTON, J.E. and SHULTZ, G.: Pneumonia in California lambs. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 131: 318-323 (1957).

101. MILLER, R.B., VAN CAMPS, S.D. and BARNUM, D.A.: The effects of intraamniotic inoculation of *Haemophilus somnus* on the bovine fetus and dam. *Vet. Pathol.*, 20: 574-583 (1983).
102. MONTES DE OGA, J.R., VELAZQUEZ, O.V. y MARTINEZ, R.G.: Causas de mortalidad en corderos de 0 a 90 días en el Valle de Toluca. Memorias de la Reunión Anual de Investigación Pecuaria 1985. Facultad de Medicina. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F. 1985. 108 SARH-UNAM. México D.F. (1985).
103. MOTEANE, M., BABIUX, L.A. and SCHIEFER, B.: Studies on the Occurrence and Significance of Bovine Respiratory Syncytial Virus in Saskatchewan. *Can. J. Comp. Med.*, 42: 246-248. (1978).
104. MUSHIN, R. and SCHOENBAUM, M.: A strain of *Pasteurella multocida* associated with infection in rabbit colonies. *Lab. Anim.* 14: 353-356 (1980).
105. MWANGOTA, A.U., MUHAMMED, S.I. and THOMSON, R.G.: Serological types of *Pasteurella haemolytica* in Kenya. *Cornell Vet.*, 68: 84-93 (1978).
106. NEUMAN, P.R., CORSTUET, R.E. and PANGIERA, R.J.: Distribution of *Pasteurella haemolytica* and *Pasteurella multocida* in the bovine lung following vaccination and challenge exposure as an indicator of lung resistance. *Am. J. Vet. Res.*, 43:3: 417-422 (1982).
107. NGATIA, T.A., KIMBERLING, C.V., JOHNSON, L.W., WHITEMAN, C.E., LAUERMANN, L.H.: Pneumonia in goats following administration of live and heat-killed *Pasteurella haemolytica*. *J. Comp. Path.* 96: 557-564 (1986).
108. OMAR, A.R.: The etiology and pathology of pneumonia in calves. *Vet. Bull.*, 36: 259-273 (1966).
109. PADILLA, P.J.: Causas de mortalidad en corderos en la zona del Ajusco D.F. Tesis de Licenciatura. *Fac. de Med. Vet. y Zoot.* Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F. (1979).

110. PANCIERA, R.J. and CORSTVET, R.E.: Bovine pneumonic pasteurellosis: Model for *Pasteurella haemolytica* and *Pasteurella multocida* induced Pneumonia in cattle. *Am. J. Vet. Res.*, 45:12: 2532-2537 (1984).
111. PANCIERA, R.J., CORSTVET, R.E., CONFER, A.W. and GRESHAM, C.N.: Bovine pneumonic pasteurellosis: Effect of vaccination with live *Pasteurella* species. *Am. J. Vet. Res.*, 45:12: 2538-2542 (1984).
112. PEGRAM, R.G., ROEDER, P.L. and SCOTT, J.M.: Two new serotypes of *Pasteurella haemolytica* from sheep in Ethiopia. *Trop. Anim. Health Prod.*, 11: 29-30 (1979).
113. PIJOAN, P.A.: Aislamiento de *Chlamydia* sp. de pulmones neumónicos de ovinos en Méxco. Tesis de Licenciatura. *Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. Méxco D.F.* (1977).
114. PIJOAN, C., MORRISON, R.B. and HILLEY, H.D.: Serotyping of *Pasteurella multocida* isolated from lungs collected at slaughter. *J. Clin. Microbiol.*, 17: 1074-1076 (1983).
115. PIJOAN, C. and FUENTES, M.: Severe pleuritis associated with certain strains of *Pasteurella multocida*. *J. An. Vet. Med. Ass.* 191:7: 823-826 (1987).
116. PLOGER, W., BUITKAMP, J., NEUMAN, W. and BECHMANN, G.: Untersuchungen über Ursachender Kalbesterblichkeit in einem Kreisgebiet nordwestdeutschlands. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*. 85: 421-426 (1978).
117. POUNDEN, W.D., BELL, D.S., EDGINGTON, B.H. and THOMAS, D.L.: Disease conditions observed in lambs at slaughter. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 128; 298-301 (1956).
118. QUIRIE, M., DONACHIE, W., GILMOUR, N.J.L.: Serotypes of *Pasteurella haemolytica* from cattle. *Vet. Rec.*, 119: 93-94 (1986).
119. REHMTULLA, A.J. and THOMSON, R.G.: A review of lesions in Shipping Fever of cattle. *Can. Vet. J.*, 22: 1-8 (1981).

120. RIMLER, R.B., and BROGDEN, K.A.: *Pasteurella multocida* isolated from rabbits and swine. Serologic types and toxin production. *Am. J. Vet. Res.* 47:4: 730-737 (1986).
121. SANCHIS, R., ABADIE, G. and POLVERONI, G.: Typing *Pasteurella haemolytica*. Study of 115 strains isolated from sheep and goats. *Recueil de Médecine Veterinaire*, 105:2: 129-133 (1989).
122. SAWADA, T., RIMLER, R.B. and RHOADES, K.R.: Hemorrhagic septicemia: Naturally acquired antibodies against *Pasteurella multocida* types B and E in calves in the United States. *Am. J. Vet. Res.*, 46: 1247-1250 (1985).
123. SCHIEFER, B. WARD, G.E. and MOFFAT, R.E.: Correlation of microbiological and histological findings in bovine fibrinous pneumonia. *Vet. Pathol.*, 15: 313-321 (1978).
124. SHARMA, R.K., BORO, B.R., SARMAH, K. and BORAH, L.: Serotyping of *Pasteurella multocida* associated with caprine pneumonia. *Indian J. of Anim. Health*. June 81-82 (1989).
125. SHIMIZU, T., NOSAKA, D. and MAKAMURA, M.: An enzootic calf pneumonia associated with *Mycoplasma bovirhinis*. *Jap. J. Vet. Sci.*, 35: 535-537 (1973).
126. SHREEVE, B.J., BIBERSTEIN, E.L. and THOMPSON, D.A.: Variation in carrier rates of *Pasteurella haemolytica* in sheep. II Diseased flocks. *J. Comp. Path.* 82: 111-116 (1972).
127. SLOCOMBE, R.F., DERKSEN, F.J., ROBINSON, N.E., TRAPP, A., GUPTA, A. and NEUWMAN, J.P.: Interactions of cold stress and *Pasteurella haemolytica* in the pathogenesis of Pneumonic Pasteurellosis in calves: Method of induction and hematologic and pathologic changes. *Am. J. Vet. Res.*, 45:9: 1757-1763 (1984).
128. SLOCOMBE, R.F., MALARK, J., INGERSOLL, R., DERKSEN, F.J. and ROBINSON, N.E.: Importance of neutrophils in the pathogenesis of acute Pneumonic Pasteurellosis in calves. *Am. J. Vet. Res.*, 46:11: 2253-2258 (1985).

129. SMITH, G.R.: The characteristics of two types of *Pasteurella haemolytica* associated with different pathological conditions in sheep. *J. Pathol. Bacteriol.*, 81: 431-440 (1961).
130. SMITH, R.A., GILL, D.R. and HICKS, R.B.: Improving the performance of stocker and feeder calves with a live *Pasteurella haemolytica* vaccine. *Vet. Med.*, 81: 978-981 (1986).
131. STAMP, J.T., WAT, J.A.A. and THOLINSON, J.R.: *Pasteurella haemolytica* septicaemia of lambs, *J. Comp. Pathol.*, 65: 183-196 (1955).
132. STEVENSON, R.G.: Respiratory diseases of sheep. *Vet. Bull.*, 30: 747-769 (1976).
133. ST. GEORGE, T.D.: Investigations of respiratory diseases in Australia. *Aust. Vet. J.*, 48: 318-322 (1978).
134. SUAREZ, G.F., COLLINS, M., WHITEMAN, C. and PIERSON, R.: Estudio de un brote de pasteurellosis septicémica en ovinos. Memorias de la Reunión Anual de Investigación Pecuaria 1983. Centro Médico Nacional México D.F. 398 SARH-UNAM. México D.F. (1983).
135. SUBRANTO, P., CARTER, G.R. and CONNER, G.H.: Serologic study of bovine strains of *Pasteurella multocida*. *Am. J. Vet. Res.*, 35: 11-114 (1974).
136. SULLIVAN, N.D., ST. GEORGE, T.D. and HORSFALL, N.: A proliferative interstitial pneumonia of sheep associated with *Mycoplasma* infection: I Natural history of disease in a flock. *Aust. Vet. J.*, 49-62 (1973).
137. THOMAS, L.H.: Respiratory diseases of cattle. *Current Topics in Vet. Med.*, 3: 57-65 (1978).
138. THOMSON, D.A., FRASER, J. and GILMOUR, N.J.L.: Serotypes of *Pasteurella haemolytica* ovine Pasteurellosis. *Res. Vet. Sci.*, 22: 130-131 (1977).
139. THOMSON, R.G., BENSON, M. and SAVAN, M.: Pneumonic pasteurellosis of cattle. *Microbiology and Immunology. Can. J. Comp. Med.*, 33: 194-206 (1969).

140. THORP, W.T.S. and HALLMAN, E.T.: Pathology of calf Pneumonie. *J. Am. Ver. Med. Assoc.*, 94: 365-368 (1939).
141. TRIGO, E.: Patología y bacteriología de pulmones neumónicos de becerros sacrificados en el rastro de Ferrería. Tesis de Licenciatura. *Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de Médxco.* (1980).
142. TRIGO, F.J.: The effects of bovine respiratory syncytial virus on ovine lungs. Ph.D. Thesis College of Veterinary Medicine. *Washington State University Pullman. Washington* (1983).
143. TRIGO, F.J. y ROMERO MARTINEZ, J.: La relevancia de las neumonías como causa de mortalidad en corderos. *Vet. Méx.*, 17: 116-119 (1986).
144. TRIGO, F.J.: El complejo respiratorio infeccioso de los bovinos y ovinos. *Ciencia Veterinaria*, 4: 1-36 (1987).
145. WESSMAN, G.E. and HILKER, G.: Characterization of *Pasteurella haemolytica* isolated from the respiratory tract of cattle. *Can. J. Comp. Med.*, 32: 498-504 (1968).
146. WIKSE, S.E.: Feedlot cattle pneumonias. *Vet. Clinics of North Am. Food Anim. Practice*, 1:2: 289-310 (1985).
147. WRAY, C. and THOMPSON, D.A.: Serotypes of *Pasteurella haemolytica* isolated from calves. *Br. Vet. J.*, 127: 66-67 (1971).
148. WU, F.G. and QIAN, X.Y.: The thermostable antigen serotypes of *Pasteurella multocida* found in China. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, 13: 2-4 (1987).
149. YATES, W.D.G.: A review of infectious bovine Rhinotracheitis, Shipping Fever pneumonia and viral-bacterial synergism in respiratory disease of cattle. *Can. J. Comp. Med.*, 46: 225-263-(1982).
150. YOUNAM, L.: Biochemical characterization and capsula antigen determination of ovine *Pasteurella* strains of different geographical origin (Syria / Southern Germany) and of a collection of bovine *P. multocida* isolates. Thesis, *Freie Universität Berlin. German Federal Republic.* (1988).

ESTA TENS HA RIDE
SOLA DE LA BIL...

151. ZAMBI SAAD, M., SHARIF, H. and BASRI, K.:
Microbiological and Pathological evaluation of
vaccination against naturally occurring caprine
pasteurellosis. *Vet. Rec.*, 124: 171-172 (1989).