

PATOLOGIA, BACTERIOLOGIA Y MICOLOGIA DE PULMONES NORMALES Y NEUMONICOS DE BOVINOS

FRANCISCO J. TRIGO¹
ROBERTO A. CERVANTES O.²
GERARDO HERNÁNDEZ L.²
LOURDES ONTIVEROS C.²

Resumen

Se determinaron las lesiones patológicas, así como los aislamientos bacteriológicos y micológicos de 140 muestras de pulmones provenientes de bovinos Holstein adultos, de los cuales 91 pertenecían a pulmones neumónicos y 49 a pulmones normales. Posteriormente se realizó el análisis estadístico correspondiente, para determinar las correlaciones existentes entre los aislamientos presentes. La mayoría de las lesiones neumónicas (51%) estuvieron representadas por lesiones características de tuberculosis, seguido de neumonías exudativas (25%) en donde *Pasteurella haemolytica* fue el aislamiento más frecuente. Otras diversas lesiones fueron encontradas en los pulmones neumónicos, aunque en menor proporción. De los 49 pulmones normales, el 71% no mostraron crecimiento microbiano alguno; mientras que en el 29% restante se detectaron diversos aislamientos bacterianos y micóticos de microorganismos comúnmente presentes en el aparato respiratorio superior de los bovinos como son *Pasteurella haemolytica*, gérmenes piógenos, hongos como *Aspergillus*, etc.

Se discute la importancia de los diversos aislamientos en la producción de neumonías para el bovino.

El estudio de problemas respiratorios en animales de México ha tenido un incremento considerable en los últimos años, sobre todo en lo referente a cerdos y ovinos (Pijoan, Ochoa y Trigo, 1975; Pijoan, 1978; Ramírez y Pijoan, 1978; Pijoan y Ochoa, 1978; Trigo y Pijoan, 1978); sin embargo, las enfermedades respiratorias en bovinos representan también un problema importante, el cual no ha sido investigado con detalle, a excepción de algunos trabajos sobre rinitis infecciosa (Correa, Brown y Bryner, 1975; Correa 1976).

Revisando la literatura al respecto, se encontró que particularmente aquellas en-

fermedades que se asocian con alta morbilidad, han sido motivo de numerosos estudios (Jarrett *et al.*, 1960; Carter, 1963; Mc Kercher, 1968; Breeze *et al.*, 1975). En México, los estudios sobre el tema se basan principalmente en observaciones macroscópicas a nivel de rastro (Islas, 1966; Franco, 1968; Hidalgo, 1969; Lloret, 1969); algunas de las cuales carecen del correspondiente estudio microbiológico; por lo cual se consideró de interés el realizar un muestreo en rastro, con pulmones normales y neumónicos de bovinos Holstein adultos, para conocer cuáles son los tipos de afecciones pulmonares predominantes en nuestro medio; ya que éstos varían de área a área en función de las condiciones climáticas, sanitarias o de explotación.

Recibido para su publicación el 20 de junio de 1979.

¹ Departamento de Fisiopatología, Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias, SARH, km. 15.5 Carretera México-Toluca, México 10, D.F.

² Departamento de Bacteriología y Micología, Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias, SARH, km. 15.5 Carretera México-Toluca, México 10, D.F.

Material y métodos

Se colectaron muestras de 91 pulmones neumónicos y de 49 pulmones no neumónicos provenientes de bovinos Holstein adultos sacrificados en el Rastro de Ferre-

CUADRO 1

Lesiones y bacterias presentes en pulmones neumónicos

Lesión	Casos		Núm. de aislamientos
Tuberculosis	47	<i>Pasteurella haemolytica</i>	7
		<i>Staphylococcus aureus</i>	3
		<i>Aspergillus</i> spp	14
		<i>Mucor</i> spp	3
Neumonías exudativas	23	<i>Pasteurella haemolytica</i>	9
		<i>Pasteurella multocida</i>	3
		<i>Corynebacterium bovis</i>	2
		<i>Staphylococcus aureus</i>	1
		<i>Alcaligenes bronchisepticus</i>	1
		<i>Klebsiella aerogenes</i>	1
		<i>Aspergillus</i> spp	7
		<i>Mucor</i> spp	3
Pleuritis fibrinosa	3	<i>Pasteurella haemolytica</i>	3
Abscesos	10	<i>Staphylococcus aureus</i>	5
		<i>Corynebacterium haemolyticum</i>	3
		<i>Corynebacterium bovis</i>	2
Infiltración eosinofílica	4	<i>Aspergillus</i> spp	2
		<i>Mucor</i> spp	1
		<i>Aspergillus fumigatus</i>	1
Neumonía micótica	1		
Neumonía polifeativa	3		

ría, en el lapso comprendido de febrero a octubre de 1978. Las porciones de tejido pulmonar fueron colocadas en frascos estériles para su posterior examen bacteriológico y micológico; así como en frascos con formol amortiguado al 10% para el examen histológico correspondiente.

Las muestras para los estudios bacteriológicos fueron sembradas en medio de cultivo en placa de agar sangre, agar Mc Conkey, medio 110 y agar chocolate, siendo incubadas a 37C; en aerobiosis los tres primeros y en 10% CO₂ el cuarto por 24 a 48 horas, dependiendo del crecimiento; después de lo cual se procedió a resembrar, para realizar más tarde las pruebas bioquímicas de acuerdo a los procedimientos descritos por Cowan (1974).

Para el examen micológico se procedió a sembrar las muestras en dos medios de cultivo en placa, como son el medio de rosa de Bengala y el medio selectivo para hongos patógenos (Micosel).* Se incubaron a 28C; y una vez obtenidas las colonias se efectuaron resiembras en medio de Sabouraud dextrosa agar, siguiendo la técnica de

microcultivo descrita por Ridell (1950). La identificación se basó en las descripciones de Rippon (1974).

Una vez fijadas las muestras en formol, fueron procesadas por el método de rutina para inclusión en parafina, preparando secciones de tejidos a un grosor de 5 micras y coloreados posteriormente con hematoxilina-eosina (H & E), ácido peryódico de Schiff (P.A.S.), por los métodos de Gridley y Gomori y con la Técnica de Ziehl-Neelsen.

Para relacionar entre sí las bacterias y hongos aislados se utilizó la prueba de Chi² (Daniel, 1977).

Resultados

De 31 de los pulmones neumónicos (34%) y de 35 de los pulmones no neumónicos (71%) no se obtuvieron crecimientos bacterianos ni micóticos. En 60 de los pulmones neumónicos (66%) se aislaron los gérmenes que se indican en el Cuadro 1, los cuales han sido organizados en función al tipo de lesión presente.

La lesión más comúnmente observada fue del tipo de la tuberculosis, la cual se

* Laboratorios (Baltimore Biological Laboratories) BBL.

diagnosticó con base en las lesiones macro y microscópicas; así como a la observación de los bacilos ácido resistentes. En dichos pulmones se aislaron varios tipos de gérmenes entre los que predominaron los hongos del género *Aspergillus*.

Entre las bacterias más frecuentemente aisladas de los casos de neumonías exudativas figuran las *Pasteurellas*, sobre todo las especies *P. haemolytica* y en menor proporción *P. multocida*; además de otros géneros como son *Corynebacterium* y *Staphylococcus*. Aquí también fueron aislados hongos del género *Aspergillus* con bastante frecuencia.

En tres ocasiones la reacción inflamatoria pulmonar estuvo representada por una pleuritis fibrinosa, situada preferentemente en los lóbulos anteriores, la cual se relacionó en todos los casos con aislamientos de *Pasteurella haemolytica*.

Los abscesos pulmonares estuvieron relacionados íntimamente en todos los casos con gérmenes piógenos como son *Staphylococcus* y *Corynebacterium*.

De interés particular fueron los cuatro casos de pulmones que presentaron una severa infiltración eosinofílica, situada principalmente en los espacios intersticiales, peribronquiolares y perivasculares. En ninguno de estos casos se detectó la presencia de parásitos; y únicamente se aislaron en dos ocasiones hongos del género *Aspergillus* spp.

De todos los pulmones a partir de los cuales se aislaron elementos micóticos, sólo en una ocasión estuvo dicho aislamiento íntimamente relacionado con la producción de una neumonía; en este caso, el hongo involucrado fue *Aspergillus fumigatus*, el cual indujo una respuesta de naturaleza granulomatosa, que es característica de este tipo de infecciones.

Las neumonías proliferativas se caracterizaron por una ligera infiltración linfocitaria peribronquiolar y perivascular aunada a una moderada epitelización alveolar, con una fibrosis del septo alveolar. En ninguno de estos casos fue posible aislar germen alguno.

Respecto a los 49 pulmones normales, 14 (29%) presentaron crecimiento microbiológico, estando representado por *Pasteur-*

ella haemolytica (3), *Alcaligenes bronchisepticus* (3), *Pasteurella neumatropica* (2), *Corynebacterium haemolyticum* (1), *Staphylococcus aureus* (1), *Aspergillus* spp; (9) y *Mucor* spp; (2). La suma de estos aislamientos es mayor a 14, debido a que algunos pulmones contenían más de una bacteria u hongo.

En el Cuadro 2 se muestran los aislamientos bacterianos y micóticos de pulmones neumónicos y normales; así como el análisis estadístico de las poblaciones microbianas permanentes en cada grupo de pulmones.

Se puede observar que en términos generales, los pulmones neumónicos tuvieron una mayor cantidad y variedad de microorganismos, lo cual, era de esperarse. La presencia de bacterias y hongos en los pulmones normales puede explicarse, ya sea como contaminación proveniente de la flora del aparato respiratorio superior, como posible contaminación del medio ambiente al momento del sacrificio, o como una invasión pulmonar en etapa inicial.

En los pulmones neumónicos, *P. haemolytica* fue la bacteria más comúnmente aislada, la cual se sabe tiene capacidad de producir lesiones pulmonares severas actuando como un germen secundario. El resto de las bacterias aisladas se encuentran con frecuencia en pulmones de bovinos con lesiones neumónicas, actuando también como agentes invasores secundarios.

El frecuente aislamiento de *Aspergillus* y en menor proporción de *Mucor* en pulmones neumónicos y normales parece, en base a la ausencia de lesiones específicas, haberse debido en muchos de los casos a posible contaminación ya fuere del aparato respiratorio superior o del medio ambiente.

Discusión

El hecho de que en un total de 91 pulmones neumónicos se hayan encontrado 47 con lesiones características de tuberculosis (52%), es ciertamente un claro indicio de lo difundido que aún se encuentra esta enfermedad en el ganado lechero de nuestro país. En estudios anteriores efectuados también con bovinos de leche en el Rastro de

CUADRO 2

Aislamientos bacterianos y micóticos de pulmones neumónicos y normales

	P. mult.	F. haem.	P. neumot.	Alcalig. b.	Kleb. aerog.	Staph aureus	C. bovis.	C. haem.	Asperg.	Mucor.	Total	
Neumónicos	3(4.2)	19(26.8)	0	1(1.4)	1(1.4)	9(12.7)	4(5.6)	3(4.2)	24(33.8)	7(9.9)	71	(100%)
Normales	0	3(14.3)	2(9.5)	3(14.3)	0	1(4.8)	0	1(4.8)	9(42.8)	2(9.5)	21	(100%)
Chi ²	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.	*	*	n.s.	*	n.s.	*	

El número dentro del paréntesis representa el porcentaje de aislamientos del total.

n.s. Diferencia no significativa $P > 0.5$.

* Diferencia significativa $P < 0.5$.

Ferrería, se describen incidencias de 51.8% y del 37%, respectivamente, aunque la cifra incluye la presencia de lesiones tuberculosas en cualquier órgano (Islas, 1966; Franco, 1968) y no estrictamente en pulmones. En el estudio de Islas (1966), de 529 bovinos positivos a tuberculosis al examen posmortem, 23 (4.3%) mostraron afección pulmonar; mientras que Franco (1968) encontró 5 (13.5%) animales con tuberculosis pulmonar entre 37 positivos. En otras palabras, sólo un pequeño porcentaje de los animales tuberculosos parecen tener lesiones en el parénquima pulmonar al momento en que los bovinos llegan al rastro, posiblemente debido a que la infección ya se ha difundido a otros órganos; por lo cual el dato obtenido en el presente estudio podría ser una subestimación de la incidencia real de tuberculosis en este tipo de animales.

Después de la tuberculosis, las neumonías exudativas representaron el mayor grupo de lesiones pulmonares, en donde *Pasteurella haemolytica* fue el germen que con mayor frecuencia se aisló, seguido por *Pasteurella multocida*. Desgraciadamente no existe información en nuestro país que describa las etiologías de las neumonías exudativas, para poder comparar y contrastar nuestros hallazgos; sin embargo, en un estudio realizado por Pijoan, Ochoa y Trigo (1975), en pulmones neumónicos de cerdo procedentes del Rastro de Ferrería, se determinó que *P. multocida* era la bacteria más comúnmente involucrada y asociada con las lesiones de mayor severidad.

En una revisión sobre la etiología del complejo respiratorio de los bovinos (Lillie, 1974), se sitúa a *P. haemolytica* y no a *P. multocida* como la bacteria que parece tener una mayor importancia en la producción de neumonías en bovinos; aunque se estima que sería de utilidad el realizar un mayor número de aislamientos bacterianos procedentes de neumonías exudativas de bovinos en nuestro país, para poder indicar con mayor seguridad esta ocurrencia.

Por otro lado, en un estudio efectuado en Canadá por Schicler, Ward y Moffatt (1978), se observó que *P. haemolytica* tiende a relacionarse en bovinos más bien

con una pleuroneumonía fibrinosa, mientras que *P. multocida* tiene una mayor preferencia por producir bronconeumonía fibrinosa, lo cual parece concordar en parte con nuestro estudio en donde los casos de pleuritis fibrinosa se relacionaron con aislamientos de *P. haemolytica*.

La interrelación de los hongos con la formación de neumonías micóticas en los animales domésticos aún permanece envuelta por múltiples incógnitas, sobre todo en lo referente a la patogenia; y no deja de ser sorprendente que no obstante la gran cantidad de aislamientos micóticos registrados en este trabajo, sólo en una instancia se haya relacionado dicho aislamiento con lesiones típicas de neumonía micótica (Griffin, 1969; Molello and Busey, 1963). También queda por esclarecer la posible relación de los hongos sobre todo del género *Aspergillus* como agentes invasores secundarios de lesiones tuberculosas crónicas, lo cual se ha observado en ciertas ocasiones en medicina humana (Carrada, 1978).*

Los cuatro casos que presentaron una severa infiltración eosinofílica, y en donde dos de ellos arrojaron crecimiento de *Aspergillus* spp., podrían explicarse con bases en reacciones de hipersensibilidad pulmonar hacia las esporas de estos hongos, lo cual se conoce en la literatura como alveolitis extrínseca alérgica o "farmers lung" (Pirie et al., 1971; Wiseman et al., 1973); desafortunadamente el hecho de trabajar con material de rastro impidió contar con sueros provenientes de los animales en cuestión, para poder detectar la presencia de anticuerpos precipitantes a dichos hongos; probando así por lo menos que los animales habían sufrido en alguna ocasión una infección por los elementos micóticos mencionados.

Los pulmones que presentaron lesiones histológicas predominantemente proliferativas y sin ningún crecimiento microbiano, se caracterizaron sobre todo por mostrar cambios de epitelización alveolar; siendo ésta una alteración que se menciona con regularidad en la patología de condiciones como enfisema pulmonar agudo o "fog fe-

* Comunicación personal (IMSS).

ver" (Breeze *et al.*, 1976); sin embargo, las lesiones no concuerdan ni en extensión ni severidad, por lo que poco se puede decir sobre la etiología de estos casos.

Respecto al aislamiento de microorganismos a partir de pulmones macro y microscópicamente normales, se sabe que animales aparentemente sanos (no enfermos clínicamente) contienen *P. haemolytica* y *P. multocida* como parte de su flora nasal normal (Magwood, Barnum y Thomson, 1969) también *Staphylococcus* spp., *E. coli*, *Pseudomonas* spp. (Chakrabarti *et al.*, 1978); así como *Bacillus* spp. y *Streptomyces* spp. (Collier y Rossow, 1964); por lo que existe la posibilidad de que debido al "stress" que padecen los animales al ser llevados al rastro y con la sangre que en ocasiones aspiran al momento del sacrificio, estos microorganismos proliferen o bien sean arrastrados al parénquima pulmonar.

Como conclusión de este trabajo se desprende la necesidad de realizar estudios más profundos sobre la etiología de las neumonías exudativas, y sobre todo de efectuar serotipificaciones en las cepas de *Pasteurella* que sean aisladas, para así poder estar en la posibilidad de contar en el futuro con bacterias provenientes de cepas aisladas localmente en pulmones de bovinos. También se visualiza la necesidad de investigar con

mayor detalle el papel que juegan los hongos como invasores de lesiones bacterianas pulmonares.

Summary

Bacteria and fungi were isolated from normal and pneumonic lungs coming from adult Holstein cows slaughtered at México City abattoir. These isolations were related and organized according to the histologic changes. Most of the pneumonic lesions (51%) were represented by tuberculosis-like lesions, followed by exudative pneumonias (25%) where *Pasteurella haemolytica* was the commonest isolate. Some other lesions were appreciated such as: mycotic pneumonia, abscesses and proliferative changes. From the 29% of the normal lungs some bacteria and fungi were isolated, including *P. haemolytica* and *Alcaligenes bronchisepticus*. Finally, it is discussed the importance of these conditions for the bovine.

Agradecemos al M.V.Z. Eduardo Rodríguez la ayuda técnica prestada y al M.V.Z. Francisco Suárez por haber dado toda clase de facilidades para la realización del trabajo bacteriológico.

Literatura citada

- BREEZE, R., H. PIRIE, C. DAWSON, I. SELMAN and A. WISEMAN, 1975, The pathology of respiratory diseases of adult cattle in Britain, *Folia Vet. Latina*, 5:95-128.
- BREEZE, R., H. PIRIE, I. SELMAN and A. WISEMAN, 1976, Fog fever (acute pulmonary emphysema) in cattle in Britain, *Vet. Bull.*, 46: 243-251.
- CARTER, G.R., 1963, A discussion of recent developments relating to *Pasteurella haemolytica* with special reference to strains pathogenic for cattle, *Can. Vet. J.*, 4:170-174.
- CHAKRABARTI, A., P.K. DASH, B.C. KAR and S.K. MISRA, 1978, Microbial flora of the upper respiratory tract in bovines and their *in vitro* sensitivity test with certain antiseptics and antibiotics, *Indian Vet. J.*, 55:435-438.
- COLLIER, J.R., and C.F. ROSSOW, 1964, Microflora of apparently healthy lung tissue of cattle, *Am. J. Vet. Res.*, 25:391-393.
- CORREA, P., L.N. BROWN y J.H. BRYNER, 1975, Presencia de anticuerpos contra rinotraqueítis infecciosa, diarrea viral bovina, parainfluenza 3, brucelosis, leptospirosis, vibriosis y *Haemophilus somnus* en sueros de bovinos con problemas patológicos reproductores y respiratorios, *Téc. Pec. Méx.*, 29:26-33.
- CORREA, P., 1976, Rinotraqueítis infecciosa bovina, en *Ciencia Veterinaria*, vol. 1, editado por R. Moreno, *Universidad Nacional Autónoma de México*, México, D.F.
- COWAN, S.T., 1974, Cowan and Steele's Manual for the identification of medical bacteria, 2nd ed., *Cambridge University Press*, London.
- DANIEL, W., 1977, Biestadística, base para el análisis de las ciencias de la salud, *Ed. Limusa*, México, D.F.
- FRANCO, R., 1968, Estudio de las alteraciones encontradas en órganos y tejidos procedentes de bovinos lecheros, confundidos frecuentemente como de origen tuberculoso, Tesis de Licenciatura, *Fac. de Med. Vet. y Zoot.*, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.
- GRIFFIN, R.M., 1969, Pulmonary Aspergillosis in a calf, *Vet. Rec.*, 84:109-111.
- HIDALGO, J., 1969, Lesiones anatomopatológicas

- encontradas en la inspección sanitaria realizada en el Rastro Municipal de Ciudad Hidalgo, Michoacán, en el año de 1966. Tesis de Licenciatura, *Fac. de Med. Vet. y Zoot.* Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.
- ISLAS, B., 1966, Contribución al estudio de la tuberculosis en bovinos de establo sacrificados en el Rastro de Ferrería. Tesis de Licenciatura. *Fac. de Med. Vet. y Zoot.* Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.
- JARRETT, W.F.H., F.W. JENNINGS, W.I. MC. INTYRE, W. MULLIGAN, N.C. SHARP and G.M. URQUHART, 1960, Symposium on Husk I. The disease process. *Vet. Rec.*, 72:1066-1068.
- LILLIE, L.E., 1974, The bovine respiratory disease complex, *Can. Vet. J.*, 15:233-242.
- LLORET, A., 1969, Incidencia de las lesiones que causan deceso en la inspección sanitaria de bovinos en el Rastro de Ferrería, Tesis de Licenciatura. *Fac. de Med. Vet. y Zoot.* Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.
- MC. KERCHER, D.G., 1968, Bovine respiratory infections *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 152:729-740.
- MACWOOD, S.F., D.A. BARNUM and R.G. THOMSON, 1969, Nasal bacteria flora of healthy and pneumonia prone herds, *Can. J. Comp. Med.*, 33:237-243.
- MOLELLO, J.A. and W. BUSEY, 1963, Pulmonary Aspergillosis in a cow. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 142:632-633.
- PIJOAN, C., G. OCHOA y F. TRIGO, 1975, Aislamiento e identificación de bacterias de pulmones neumónicos de cerdo. *Téc. Pec. Méx.*, 29: 46-49.
- PIJOAN, C., 1978, Infecciones mixtas del aparato respiratorio, en *Ciencia Veterinaria II*. Editado por Ricardo Moreno Chan. *Universidad Nacional Autónoma de México*, México, D.F.
- PIJOAN, C. y G. OCHOA, 1978, Neumonía causada por *Haemophilus parahaemolyticus*. Memorias del Primer Curso Latinoamericano de Enfermedades Respiratorias de los Cerdos. *Escuela Nacional de Estudios Profesionales Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México*, México, D.F.
- PIRIE, H., C. DAWSON, R. BREEZE, A. WISEMAN and J. HAMILTON, 1971, A bovine disease similar to Farmer's Lung: Extrinsic-Allergic alveolitis, *Vet. Rec.*, 88:346-351.
- RAMÍREZ, R. y C. PIJOAN, 1978, Estudio sobre la incidencia de neumonías en ovinos y caprinos sacrificados en cinco rastros, *Resúmenes de Reunión Anual Investigación en Medicina Veterinaria*, México, D.F.
- RIDELL, R.W., 1950, Permanent stained mycological preparations obtained by slide culture, *Mycologia*, 42:265-268.
- RIPPON, J.W., 1974, *Medical Mycology, The Pathogenic Fungi and the Pathogenic Actinomycetes*, W.B. Saunders Co., Philadelphia.
- SCHIEFER, B., G.E. WARD and R.E. MOFFATT, 1978, Correlation of microbiological and histological findings in bovine fibrinous pneumonia, *Vet. Path.*, 15:313-321.
- TRIGO, F. y C. PIJOAN, 1978, Neumonías causadas por *Pasteurella*. Memorias del Primer Curso Latinoamericano de Enfermedades Respiratorias de los Cerdos. *Escuela Nacional de Estudios Profesionales Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México*, México, D.F.
- WISEMAN, A., I. SELMAN, C. DAWSON, R. BREEZE and H. PIRIE, 1973, Bovine Farmer's Lung: A clinical syndrome in a herd of cattle, *Vet. Rec.*, 93:410-417.