

DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA DE PATRONES NEUMÓNICOS DEL
COMPLEJO RESPIRATORIO EN BOVINOS QUE LLEGAN A LA CENTRAL DE
SACRIFICIO DE RISARALDA



ELIZABETH PORTILLA ESPAÑA
ADRIANA LORENA SANDOVAL BASTIDAS

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
PROGRAMA DE MEDICINA VETERINARIA
SAN JUAN DE PASTO
2016

DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA DE PATRONES NEUMÓNICOS DEL
COMPLEJO RESPIRATORIO EN BOVINOS QUE LLEGAN A LA CENTRAL DE
SACRIFICIO DE RISARALDA

ELIZABETH PORTILLA ESPAÑA
ADRIANA LORENA SANDOVAL BASTIDAS

**Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de
médico veterinario**

Director:
DARÍO ANTONIO VALLEJO TIMARAN
MV Esp.

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
PROGRAMA DE MEDICINA VETERINARIA
SAN JUAN DE PASTO
2016

“Las ideas y conclusiones aportadas en la tesis de grado, son responsabilidad exclusiva de los autores”.

Artículo primero del acuerdo N° 324 de Octubre 11 de 1966, emanado del Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

NOTA DE ACEPTACIÓN:

Director de trabajo de grado
DARÍO ANTONIO VALLEJO TIMARAN

Jurado Delegado
EDWARD JOHNNY ZAMBRANO

Jurado Evaluador
CARLOS ALBERTO CHAVES VELÁSQUEZ

San Juan de pasto, abril 2016

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos a:

Darío Antonio Vallejo Timarán, MV Esp. Reproducción bovina

Carlos Alberto Chaves Velásquez, MV Esp. Patología veterinaria

Central de Sacrificio de Risaralda, Guayabito

Edward Johnny Zambrano. MV

Bolívar Lagos Figueroa, MV

Mauricio Chávez Pastas, Estudiante medicina veterinaria

Mauricio Quintero Parra, Estudiante medicina veterinaria

Patricia Morillo, MV

Grupo de investigación en medicina interna y farmacología veterinaria (MIFARVET)

DEDICATORIA

Dedico y agradezco infinitamente a Dios por iluminarme y guiarme en cada momento de esta etapa.

Dedico este trabajo a mis padres Luis Ignacio y Elsa ya que fueron un pilar fundamental brindándome su apoyo incondicional.

De igual manera a mi sobrino Gabriel que fue mi inspiración para continuar mi camino universitario.

A mi novio Andrés Cerón quien a pesar de las adversidades estuvo siempre conmigo apoyándome y fue quien me enseñó que todo es posible.

ELIZABETH PORTILLA ESPAÑA

DEDICATORIA

Este trabajo va dedicado a las dos personas más importantes en mi vida, ISABELLA y ANTONELLA, que solo con mirar sus rostros todas las mañanas me dieron la fuerza para seguir adelante en mi carrera.

A mis padres LILIA Y JORGE quienes a pesar de todas las adversidades y con mucho esfuerzo lograron ayudarme a culminar este sueño que se hizo realidad.

A mis hermanas NATHALIA Y TANIA que con su ejemplo me enseñaron que si se puede soñar en grande.

A mis amigas PATRICIA Y DIANA que siempre estuvieron a mi lado apoyándome en todo el trascurso de mi carrera.

ADRIANA LORENA SANDOVAL BASTIDAS

RESUMEN

Objetivo: Describir las características microscópicas de los patrones neumónicos del complejo respiratorio en bovinos que llegan a la central de sacrificio de Risaralda.

Métodos: se realizó un estudio transversal, tipo descriptivo. El estudio se realizó en el municipio de Santa Rosa de Cabal, departamento de Risaralda. En total se tomaron muestras de 300 pulmones de 150 Bovinos, donde se muestrearon pulmón derecho e izquierdo. Las muestras se obtuvieron en la central de sacrificio de Risaralda (excluyendo los pulmones decomisados por bronco aspiración pos-mortem, con el fin de evitar artefactos en la lectura). Se tomaron 3 muestras de la porción proximal, media y distal del pulmón, nódulo linfático y tráquea, las cuales se procesaron mediante la técnica de inclusión en parafina y coloración de hematoxilina y eosina de rutina. Se realizó una descripción histopatológica de los patrones neumónicos según el patrón de distribución y el grado de severidad y se clasificaron las lesiones de acuerdo al tipo de alteración.

Resultados: la neumonía intersticial fue el hallazgo más común en tanto en pulmón derecho como en izquierdo con un 92% y 87.3% respectivamente, seguido de la neumonía bronco intersticial con un 4.7% en pulmón derecho y 4% en pulmón izquierdo. El 1.3% de las muestras fueron aparentemente normales. El grado de severidad de las lesiones fue variable. Para el pulmón derecho fue un 18% leve, 46,7% moderada y 34% severa; en pulmón izquierdo fue leve un 13,3%, 38,7% moderada y severa con un 46.7%, demostrando que el pulmón izquierdo se encuentra más afectado. Lo anterior indica que el 98.7% de los bovinos que ingresan a la planta tenían algún tipo de alteración a nivel del sistema respiratorio previo al momento del sacrificio.

El patrón de distribución y el infiltrado inflamatorio fue predominantemente mononuclear en el espacio intersticial con un 97.3% en pulmón derecho y 96.7% en pulmón izquierdo. Las alteraciones crónicas fueron predominantes en un 88% en pulmón derecho y 90% en pulmón izquierdo. Se encontró hiperplasia del epitelio de vías respiratorias (HEVR) moderada en la vía aérea con un 46.7% en pulmón derecho y un 54% en pulmón izquierdo, de estas se presentaron sincitios en pulmón derecho e izquierdo con un 34.7% y 30.7% respectivamente y aplanamiento del epitelio de las vías respiratorias en pulmón derecho con un 68.7% y en pulmón izquierdo con un 74.7%.

En el estudio se encontró un caso de metástasis de neoplasia de línea linfóide por lo tanto, se requirió el uso de técnicas complementarias para el diagnóstico, en este caso se recurre a la técnica de inmunohistoquímica (IHQ), que además de utilizarse en tejidos fijados en formol o bloques de parafina, es altamente sensible y específica, para ello se utilizó marcadores específicos para determinar el tipo de linfoma como CD45 CD3 y CD79a encontrándose positividad en el marcador

CD3 que es un marcador de línea T. con este resultado se concluyó que el diagnóstico para este caso es un linfoma de células T .

Conclusiones: los resultados indican que los bovinos objeto de estudio son animales con enfermedades de curso largo con impacto negativo en su potencial productivo en el cual factores como el manejo sanitario inadecuado, fallas en el diagnóstico y abordaje clínico pueden explicar este comportamiento. Además se encontró que al momento de diagnosticar la enfermedad no hay diferencia significativa entre pulmón izquierdo y derecho, pero si se encontró diferencia significativa en la severidad de la enfermedad entre pulmón izquierdo y derecho, con esto se recomienda en estudios posteriores muestrear ambos pulmones.

A partir de este estudio se puede concluir que los resultados obtenidos son muy similares en ganado de leche y ganado de carne.

Palabras clave: Neumonía, Bovinos, Histopatología, Biología molecular.

ABSTRACT

Objective: Describe the microscopic characteristics of pneumonic respiratory complex patterns in cattle arriving at the central sacrifice of Risaralda.

Methods: a transversal descriptive study was made. The study was realized in the municipality of Santa Rosa de Cabal, Risaralda department. Altogether 300 samples of 150 Cattle lungs where right and left lung were sampled were taken. The samples were collected in the central sacrificial Risaralda (excluding the lungs seized by aspiration into the lungs post-mortem, in order to avoid artifacts in reading). 3 samples of the proximal, medial and distal lung, lymph node and trachea, which were processed by paraffin embedding technique and hematoxylin and eosin routine taken. Histopathological description of pneumonic patterns was performed according to the distribution pattern and degree of severity and injury according to the type of disturbance is classified.

Results: interstitial pneumonia was the most common in both right lung and left with 92% and 87.3% respectively, followed by interstitial pneumonia bronco with 4.7% in the right lung and 4% in left lung finding. 1.3% of the samples were apparently normal. The severity of the lesions was variable. For the right lung was 18% mild, 46.7% moderate and 34% severe; left lung was mild in 13.3%, 38.7% moderate and severe with 46.7%, showing that the left lung is more affected. This indicates that 98.7% of cattle entering the plant had some type of alteration to the respiratory system prior to slaughter.

The distribution pattern and was predominantly mononuclear inflammatory infiltrate in the interstitial space with 97.3% in the right lung and 96.7% in the left lung. Chronic alterations were predominant in 88% in the right lung and 90% in the left lung. epithelial hyperplasia moderate airway (HEVR) in the airway with 46.7% in the right lung and 54% in the left lung, these syncytia were presented in right and left lung with 34.7% and 30.7% respectively was found and flattening of the epithelium of the airways in the right lung with 68.7% and left lung with 74.7%.

Conclusions: The results indicate that cattle are being studied animals with diseases long course, with a negative impact on its productive potential in which factors such as inadequate health management, fault diagnosis and clinical approach can explain this behavior. Clinically diagnosing respiratory conditions recommended by direct and indirect methods (serology, PCR).

In the study a case of metastatic neoplasia line lymphoid therefore the use of complementary techniques for diagnosis in this case to immunohistochemistry (IHC) is used, also used in fixed tissues was required he found formalin or paraffin blocks, is highly sensitive and specific for this specific markers was used to determine the type of lymphoma as CD45 CD3 and CD79a finding positivity in the

CD3 marker that is a marker line T. with this result it was concluded that diagnosis in this case is a T cell lymphoma.

Key words: Pneumony, bovine, histopathology, molecular biology.

CONTENIDO

RESUMEN.....	7
ABSTRACT.....	9
INTRODUCCIÓN.....	17
1. DEFINICIÓN Y DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA.....	19
2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	21
3. OBJETIVOS.....	22
3.1 OBJETIVO GENERAL.....	22
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	22
4. MARCO TEÓRICO.....	23
4.1 PERDIDAS ECONOMICAS EN EL SISTEMA DE PRODUCCION BOVINA POR ENFERMEDADES DEL COMPLEJO RESPIRATORIO BOVINO.....	23
4.2 COMPLEJO RESPIRATORIO BOVINO.....	24
4.2 AFECCIONES RESPIRATORIAS BOVINAS.....	26
4.3 RESPUESTA INMUNE DEL HUÉSPED.....	30
4.4 FISIOPATOLOGÍA DEL COMPLEJO RESPIRATORIO BOVINO.....	32
4.5 VIRUS RESPIRATORIO SINCITAL BOVINO (BRSV).....	33
4.6 VIRUS PARA-INFLUENZA TIPO 3 (PI3).....	36
4.7 FACTORES PREDISPONENTES.....	37
4.8 DIAGNÓSTICO DE LAS ENFERMEDADES DEL CRB.....	39
5. DISEÑO METODOLÓGICO.....	46
5.1 TIPO DE ESTUDIO.....	46
5.2 LUGAR DE REALIZACIÓN.....	46
5.3 SELECCIÓN Y CÁLCULO DE LA MUESTRA.....	46
5.4 TÉCNICA DE MUESTREO.....	46

5.5	TOMA Y PROCESAMIENTO DE MUESTRAS	47
5.6	VARIABLES DE ESTUDIO	48
5.7	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	48
5.8	IMPLICACIONES ÉTICAS	48
6.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	49
6.1	DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA DE LOS HALLAZGOS	49
6.3	CRONICIDAD DE LAS LESIONES	60
6.4	VÍA DE ENTRADA – AFECCIONES LOCALES Y SISTÉMICAS	62
6.5	OTRAS LESIONES ENCONTRADAS	69
6.7	CONCORDANCIA EN EL DIAGNOSTICO DE SEVERIDAD DE LAS LESIONES.....	72
6.9.	DESCRIPCIÓN DE HALLAZGOS MICROSCÓPICOS MEDIANTE EL USO DE TÉCNICAS DE TINCIÓN ESPECIAL Y DIAGNÓSTICO MOLECULAR.....	75
7.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	80
7.2.	RECOMENDACIONES	81
	BIBLIOGRAFÍA.....	82

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Tipo de infiltrado inflamatorio en pulmón derecho e izquierdo	53
Tabla 2. Características celulares del infiltrado inflamatorio	53
Tabla 3. Presencia de sincitios y aplanamiento del epitelio de vías respiratorias ..	54
Tabla 4. Hipertrofia de la cama media de arteria pulmonar – Hipertensión	57
Tabla 5. Moco y detritos celulares – Hiperplasia del BALT	58
Tabla 6. Severidad de las lesiones encontradas en el estudio.	59
Tabla 7. Cronicidad de las lesiones	60
Tabla 8. Tejido conectivo.	61
Tabla 9. Posible vía de entrada en pulmón derecho e izquierdo	62
Tabla 10. Pigmentos derivados de la hemoglobina	62
Tabla 11. Falla cardíaca izquierda.	63
Tabla 12. Secuestro leucocitario pulmón izquierdo y derecho	64
Tabla 13. Bronquiolitis obliterante en pulmón derecho e izquierdo.	65
Tabla 14. Antracosis pulmón izquierdo y derecho	67
Tabla 15. Fetalización, membranas hialinas.	67
Tabla 16. Necrosis de coagulación	68
Tabla 17. Hiperplasia del epitelio de vías respiratorias.	69
Tabla 18. Diferencia de proporciones. Concordancia en el diagnóstico.	72
Tabla 19. Concordancia en la severidad.....	73
Tabla 20. Tabla de frecuencias – Distribución geográfica	74

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Criterios de evaluación microscópicos	47
Cuadro 2. Tinciones especiales a utilizar en el presente estudio.....	48

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Alteraciones en vías respiratorias bajas – pulmón derecho.....	49
Figura 2. Alteraciones en vías respiratorias bajas – pulmón izquierdo	50
Figura 3. Neumonía intersticial.	51
Figura 4. Neumonía bronco-intersticial.	51
Figura 5. Bronconeumonía intersticial supurativa	52
Figura 6. Presencia de sincitios	55
Figura 7. Aplanamiento del epitelio de vías respiratorias.....	55
Figura 8. Severa hipertensión pulmonar	57
Figura 9. Hiperplasia del BALT.	59
Figura 10. Severa neumonía intersticial.....	60
Figura 11. Severa neumonía intersticial linfocítica con fibrosis pulmonar	61
Figura 12. Pigmentos derivados de la hemoglobina.	63
Figura 13. Secuestro leucocitario.....	64
Figura 14. Bronquitis obliterante	65
Figura 15. Antracosis	66
Figura 16. Fetalización y membranas hialinas	67
Figura 17. Hiperplasia del epitelio de vías respiratorias.....	68
Figura 18. Metaplasia de cartilago en pleura con formación de osteoide	69
Figura 19. Metástasis de neoplasia de línea linoide.....	70
Figura 20. Leve bronconeumonía Intersticial y Verminosa	71
Figura 21. Concordancia del diagnóstico	72
Figura 22. Grado de severidad de las lesiones.....	73
Figura 23. Distribución geográfica de las lesiones.....	74
Figura 24. Marcador CD45.....	75
Figura 25. Marcador CD79a.....	76
Figura 26. Marcador CD3	77
Figura 27. Severa bronconeumonía fibrinonecrotica.	78
Figura 28. Coloración de Ziel Nielsen	78
Figura 29. Fibrosis pulmonar – Tricromica de Masson	79

GLOSARIO

ANATOMÍA PATOLÓGICA: rama de la medicina que se ocupa del estudio, por medio de técnicas morfológicas, de las causas, desarrollo y consecuencias de las enfermedades¹.

BOVINO: subfamilia de mamíferos placentarios que pertenecen a la familia *bovidae*. En particular, el género *Bos* (Vacas) presenta importancia económica para el ser humano².

COMPLEJO RESPIRATORIO: infección respiratoria, provocada por la combinación de diferentes agentes infecciosos, compromiso de las defensas del anfitrión y factores pre disponentes³.

INMUNOHISTOQUÍMICA: procedimiento histopatológico que se basa en la utilización de anticuerpos que se unen específicamente a una sustancia que se quiere identificar (Anticuerpo primario)⁴.

NEUMONÍA: inflamación de pulmón, caracterizada por la exudación de células y líquido en los acinos respiratorios⁵.

VIRUS PARA-INFLUENZA: es un virus ARN con envoltura de la familia paramyxoviridae y relacionado con enfermedades del aparato respiratorio⁶.

VIRUS RESPIRATORIO SINCICIAL: es un virus ARN con envoltura, clasificado dentro de los neumovirus no aglutinantes de la familia Paramixoviridae. Se caracteriza por su efecto citopático capaz de formar células sincitiales⁷.

¹ CASWELL, Jeff. Respiratory system. En: Jubb, Kennedy, and Palmer's pathology of domestic animals. 5 ed. Davis, Elsevier Health, 2007. p. 526-750.

² DON, Wilson. Mammal species of the world. 3 ed. Baltimore, JHU press, 2005. p. 795.

³ Ibíd., p. 597.

⁴ Ibíd., p. 615.

⁵ WILKINS, Pamela and WOOLUMS, Amelia. Disease of respiratory system. En: Large animal internal medicine. 5 ed. Davis, Elsevier Health, 2014. p. 576-726.

⁶ FULTON, Robert. Lung pathology and infectious agents in fatal feedlot pneumonias and relationship with mortality, disease onset, and treatments. En: Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. Abril, 2009. vol.21, no. 4, p. 465-480.

⁷ Ibíd., p. 466.

INTRODUCCIÓN

“A pesar de la disponibilidad y el uso de muchas vacunas con patógenos respiratorios bovinos y nuevos fármacos antimicrobianos, así como una mayor comprensión de la patogénesis de la enfermedad respiratoria bovina (BRD), esta enfermedad sigue siendo una causa importante de morbilidad, mortalidad y pérdidas económicas en los sistemas de producción bovina”⁸.

“Cuando el ganado es sometido a estrés, envío e interacción con animales de otras fuentes, la transmisión de diversos agentes infecciosos y la proliferación endógena pero potencialmente patógena de los microbios se producen a menudo, lo que produce daños en el tracto respiratorio superior y/o inferior con enfermedades respiratorias bajas”⁹.

Para Wilkins¹⁰, la enfermedad del complejo respiratorio bovino, clínicamente consiste en una infección respiratoria, provocada por la combinación de diferentes agentes infecciosos, compromiso de las defensas del anfitrión y condiciones medioambientales (factores de riesgo) que afecta animales jóvenes y adultos de hatos de carne y leche que puede presentarse en forma de epidemias con elevada morbilidad y mortalidad significativa. “No se le ha atribuido una causa específica, ya que existen diversos factores y patógenos que pueden estar implicados en la presentación de este síndrome”¹¹.

Para Wilkins¹², la enfermedad del complejo respiratorio bovino, clínicamente consiste en una infección respiratoria, provocada por la combinación de diferentes agentes infecciosos, compromiso de las defensas del anfitrión y condiciones medioambientales (factores de riesgo) que afecta animales jóvenes y adultos de hatos de carne y leche que puede presentarse en forma de epidemias con elevada morbilidad y mortalidad significativa. “No se le ha atribuido una causa específica, ya que existen diversos factores y patógenos que pueden estar implicados en la presentación de este síndrome”.

⁸ PANCIERA, Roger. *et al.* Pathogenesis and pathology of bovine pneumonia. En: North America Veterinary Clinics. Food Animal Practice. Agosto, 2010.vol.26, no. 2, p. 192-214.

⁹ *Ibíd.*, p. 597.

¹⁰ WILKINS. *Op. Cit.*, p. 620.

¹¹ TAYLOR, Jared. The epidemiology of bovine respiratory disease: What is the evidence for predisposing factors? En: Canadian Veterinary Journal. Abril, 2010.vol.51, no. 10, p. 1095-1102.

¹² *Ibíd.*, p. 604.

“Los microorganismos responsables del complejo respiratorio bovino son virus, bacterias y su interacción entre los mismos”¹³. La histología permite identificar posibles agentes del Complejo Respiratorio Bovino. La histopatología en conjunto con pruebas moleculares como inmunohistoquímica, PCR y Elisa permite llegar a un diagnóstico más específico de la enfermedad respiratoria en bovinos.

La importancia de realizar este estudio se basó en la poca información referente a la caracterización histopatológica de las diferentes lesiones relacionadas con el complejo respiratorio bovino en ganado de carne, ya que ha habido estudios similares en ganado de leche. Lo anterior permitirá un mejor abordaje en el estudio de las enfermedades respiratorias en Bovinos.

Este estudio se basa en la comparación de estudios realizados en el departamento de Nariño en ganado de leche, lo que nos permitirá correlacionar los aspectos histopatológicos encontrados en ganado de carne.

El estudio será la base para la realización de investigaciones posteriores que puedan establecer el impacto económico que tiene la enfermedad en los animales que ingresan a la central de sacrificio de Risaralda así como también implementar medidas de prevención y control específicas en campo con el fin de disminuir las pérdidas económicas.

El objetivo del presente proyecto fue describir microscópicamente los patrones neumónicos del complejo respiratorio de los bovinos que llegan a la central de sacrificio de Risaralda.

¹³ *Ibíd.*, p. 604.

1. DEFINICIÓN Y DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA

“Las enfermedades respiratorias, entéricas y reproductivas constituyen las principales patologías que generan pérdidas económicas en el sector ganadero”¹⁴ Lo anterior debido a que para Leblanc¹⁵, en la enfermedad respiratoria aumentan considerablemente los costos generados por tratamientos, gastos de reposición, servicios veterinarios y costos indirectos, por disminución de la producción.

“La frecuencia y severidad de las infecciones respiratorias se ha incrementado globalmente y las enfermedades del Complejo Respiratorio Bovino (CRB) son uno de los principales problemas de salud con mayores pérdidas económicas en explotaciones de lechería especializada y ganadería de engorda”¹⁶. “El CRB es uno de los mayores problemas del ganado y continúa provocando serias pérdidas económicas a los productores. Las pérdidas económicas están representadas en mortalidad, costos por terapia, profilaxis y bajo desempeño productivo”¹⁷.

“Diferentes agentes infecciosos pueden causar signos clínicos respiratorios similares y están involucrados en el desarrollo de enfermedades del complejo respiratorio bovino”¹⁸. Actualmente los estudios se centran en determinar la presencia de los agentes infecciosos de forma indirecta por métodos serológicos; los cuales miden anticuerpos frente a antígenos comunes, sin enfocarse en las alteraciones tisulares.

No existen estudios previos en las zonas de donde provienen los animales que llegan a la central de sacrificio de Risaralda que realicen una correlación entre las alteraciones microscópicas, la severidad del daño tisular causado por el agente en la población de estudio y la presencia de la enfermedad. Establecer la presencia de la enfermedad permitirá tomar medidas de control específico en los sistemas de producción bovina, encaminados hacia mejorar la productividad del sector.

¹⁴ BEDNAREK, Dariusz; DUDEK, Katarzyna y SZYMA SKA, Monika. Bovine Respiratory Syndrome. Etiopathogenesis, diagnosis and control. En: Journal of National Veterinary Research Institute. Enero, 2012.vol.32, p. 363–378.

¹⁵ LEBLANC, Sthephen. Major Advances in Disease Prevention in Dairy Cattle. En: Journal of Dairy Science. Abril, 2006. vol.89, no. 4, p. 1267–1279.

¹⁶ GULLIKSEN, Stine. *et al.* Respiratory infections in Norwegian dairy calves. En: Journal of Dairy Science. Octubre, 2009. vol.92, no.10, p. 5139–5146.

¹⁷ MONTGOMERY, Donald. Bovine Respiratory Disease and Diagnostic Veterinary Medicine. Managing respiratory diseases in the herd. En: Journal of dairy science. Octubre, 2009. vol. 28, p. 1025-1060.

¹⁸ FULTON. Op. cit., p. 477.

El presente estudio busca consolidar el diagnóstico histopatológico como herramienta para el control sanitario enfocado hacia la implementación de biología molecular y marcadores inmunohistoquímicos para el diagnóstico de enfermedades de alto impacto económico y caracterizar histopatológicamente los cuadros neumónicos específicos en los bovinos que llegan a la central de sacrificio de Risaralda. Lo anterior con el propósito de establecer una aproximación diagnóstica más precisa de enfermedades respiratorias y por ende instaurar un enfoque terapéutico apropiado.

Con base en lo anterior el estudio pretendió describir mediante histopatología los patrones neumónicos del complejo respiratorio y determinar las lesiones y características relevantes de las enfermedades respiratorias en bovinos que llegan a la central de sacrificio de Risaralda.

2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

En el departamento de Risaralda, no se conoce los patrones neumónicos relacionados con el complejo respiratorio bovino (CRB), por lo tanto se desconoce las causas primarias de la enfermedad respiratoria y sus características (vía de entrada, tipo de lesión, agentes etiológicos involucrados, severidad y cronicidad). Adicionalmente, no se ha determinado aún si agentes virales tales como el virus de la parainfluenza PI3 y el virus respiratorio sincitial bovino están presentes dentro de la población objeto de estudio.

El conocimiento de los factores predisponentes de la enfermedad, los agentes etiológicos involucrados y su comportamiento fisiopatológico, permitirán tener un mayor conocimiento de la enfermedad y un adecuado abordaje epidemiológico de la misma en el municipio. Con base en lo anterior se plantea la siguiente pregunta de investigación.

¿Cuáles son las características histopatológicas de los patrones neumónicos del complejo respiratorio en bovinos que llegan a la central de sacrificio de Risaralda?

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Describir las características microscópicas de los patrones neumónicos del complejo respiratorio en bovinos que llegan a la central de sacrificio de Risaralda.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Describir microscópicamente los hallazgos según vía de entrada, distribución, cronicidad, severidad y tipo de alteración.
- Precisar los hallazgos mediante técnicas de tinción especial e Inmunohistoquímica de los casos que lo requieran.
- Realizar la descripción de los hallazgos según la localización geográfica y distribución en pulmón izquierdo y derecho.

4. MARCO TEÓRICO

4.1 PERDIDAS ECONOMICAS EN EL SISTEMA DE PRODUCCION BOVINA POR ENFERMEDADES DEL COMPLEJO RESPIRATORIO BOVINO

“Es necesario hacer notar que aunque la mortalidad por neumonía es el concepto que más impresiona al productor, las pérdidas económicas en los animales afectados crónicamente son mucho más importantes, debido a gastos adicionales de tratamientos, pérdida de peso, conversión alimenticia ineficiente, labor extra, decomisos en rastro y menor producción de carne”¹⁹.

En un estudio realizado por Fulton et al. (2002)²⁰ dice que los costos de tratamiento para enfermedad respiratoria fueron significativamente mayores para las novillas crónicas en comparación con los que recibieron dos o menos tratamientos. “Sin embargo, las infecciones pulmonares pueden ocurrir sin signos clínicos en algunos animales, y esto puede causar una reducción en su ganancia de peso”²¹.

“Las infecciones pulmonares sin signos clínicos manifiestos sólo se pueden determinar por la presencia de las lesiones pulmonares post-beneficio. Algunos sistemas de gestión y de vacunación reducirán la ocurrencia de enfermedades respiratorias”²².

Los costos directos atribuibles a enfermedades respiratorias incluyen la disminución de calidad de la canal, las pérdidas por muerte, los costos de tratamiento y de mano de obra y los costos de prevención. La pérdida media de valor de los casos por enfermedad respiratoria crónica con los controles fue \$ 162.78 por cabeza en 2013.

El costo medio del tratamiento de la enfermedad respiratoria crónica, solo por tratamiento de un antibiótico inyectable fue de \$ 41.32 por cabeza.

Cuando los costos de tratamiento se combinaron con las pérdidas debido a la calidad de la canal, el costo directo total estimado de cada caso con enfermedad respiratoria crónica en el corral de engorde fue de \$ 204,10.

El promedio de la compra de alimento para los casos que murieron fue distribuido a través de todos los casos. Esto agregó un adicional de \$ 49.87

¹⁹ TRIGO, F. El Complejo Respiratorio Infeccioso de los Bovinos y Ovinos. Departamento de Patología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México

²⁰ FULTON. Op. cit.

²¹ FABER, R.; HARTWIG, N.; BUSBY, D.; BREDHAL, R. The Cost and predictive Factors of Bovine Respiratory Disease in Standardized Steer Tests. Iowa State University. Iowa. 1999.

²² Ibid.

para el costo total de perdidas por enfermedad respiratoria cronica, con lo que el costo total fue de \$ 253.97.

Una estimación conservadora del costo de enfermedad respiratoria cronica en el hato (basado en un único tratamiento, y la pérdida de valor de la canal) se determinó que era \$ 253.97 por animal o \$ 1.034 millones de dólares en pérdidas totales para la industria de engorde.

Con las actuales estimaciones de la tasa de ganancia genética que podría lograrse a través de la selección de el ganado (menos susceptibles a la enfermedad respiratoria), la industria de engorde podría obtener ganancias de entre \$ 13.030.022 a \$ 21.509.877 al año sobre la base de 2013²³.

4.2 COMPLEJO RESPIRATORIO BOVINO

“El complejo respiratorio bovino (CRB) es una causa importante de morbilidad, mortalidad y pérdidas económicas en sistemas de explotación ganadera, al que no se le ha atribuido una causa específica, ya que existen diversos factores y patógenos que pueden estar implicados en la presentación de este síndrome”²⁴.

Debido a la naturaleza multifactorial de la enfermedad y para simplificar el diagnóstico diferencial de la gran cantidad de agentes etiológicos de las enfermedades respiratorias en el bovino. Wilkins, sugirió un sistema de calificación basado en la fisiopatología y en los signos clínicos en el cual propuso tres grupos²⁵.

Enfermedades caracterizadas desde el punto de vista fisiopatológico por invasión de organismos patógenos que entran en el pulmón a través del árbol bronquial. Presentan clínicamente depresión, fiebre y otros signos de sepsis como mucosas hiperémicas y una distribución anterior-ventral de los ruidos pulmonares. Este tipo de infección representa la evolución final del complejo respiratorio bovino. Las causas víricas de la enfermedad y las complicaciones bacterianas secundarias se colocan en esta categoría²⁶.

Infecciones caracterizadas desde el punto de vista fisiopatológico por una reacción intersticial debida a infecciones virales o a la inhalación de tóxicos o alérgenos. En este caso no hay depresión ni signos de sepsis. Los ruidos pulmonares están difusos y tienen respuesta escasa al tratamiento antibiótico.

²³ NEIBERGS, H.L.; WOJTOWITCZ, A.J.; SEABURY C.M.; NEIBERGS, J.S.; TAYLOR, J.F.; WOMACK, J.E. Economic Benefits of using genetic selection to reduce the prevalence of bovine respiratory disease complex in beef feedlot cattle

²⁴ TAYLOR. Op. cit., p. 1100.

²⁵ WILKINS. Op. Cit., p. 601.

²⁶ *Ibíd.*, p. 601.

Este tipo de afecciones están poco relacionadas con los patógenos asociados a las enfermedades del complejo respiratorio bovino. Infecciones metastásicas por embolización séptica pulmonar desde otros focos del cuerpo generalmente abscesos hepáticos o trombos de la cava. Es muy similar a la signología de las infecciones bronco-neumónicas inicialmente mencionadas pero con desarrollo eventual de hemoptisis y ruidos pulmonares anormales generalizados²⁷.

“Basados en la anterior clasificación, es común cuando nos encontramos con indicios de enfermedades del complejo respiratorio que uno de los primeros diagnósticos presuntivos de la enfermedad sea una infección viral. Los virus respiratorios que se transmiten efectivamente por aerosol y contacto directo entre animales, usualmente actúan en combinación con otros agentes infecciosos, en particular bacterias”²⁸.

Según Fultón²⁹ los virus son un componente importante de la CRB pero no necesariamente se presentan en todos los casos de enfermedades respiratorias. En el desarrollo de la enfermedad respiratoria el Virus Respiratorio Sincitial Bovino (BRSV), el virus Parainfluenza (PI3), Coronavirus Bovino (BCoV), Diarrea Viral Bovina (DVB), Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR), han sido encontrados como los más importantes virus asociados a la enfermedad. Estos virus causan una infección inicial y permiten que bacterias oportunistas produzcan neumonías severas y muerte.

“Los mayores agentes patógenos bacterianos involucrados en la enfermedad como *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Arcanobacterium pyogenes*, e *Histophilus somni*, pueden todos estar presentes como microorganismos comensales, pero con la presencia de uno o varios de estos agentes en el curso de la enfermedad se empeora el pronóstico clínico”³⁰. Fulton³¹ reporta que *Mycoplasma sp.* Ha sido reportado por tener una mayor importancia como causa primaria de neumonía pero también ha sido aislada de pulmones neumónicos en asociación con otros patógenos.

²⁷ WILKINS. Op. Cit., p. 601.

²⁸ MAILLARD, Renaud; ASSIÉ, Sébastien and DOUART, Alain. Respiratory disease in adult cattle. En: Journal of Dairy Science. Abril, 2014.vol. 97, no. 11, p. 1125–1292.

²⁹ FULTON. Op. cit., p. 467.

³⁰ GULLIKSEN. Op. cit., p. 5140.

³¹ FULTON. Op. cit., p. 467.

“Agentes etiológicos parasitarios tales como *Dictyocaulus viviparus*, son algunos de los patógenos de mayor incidencia en bovinos, provocan principalmente una enfermedad respiratoria endémica”³². Al respecto Wilkins³³ la reporta como una enfermedad de curso agudo, subagudo o crónico, producida por la acumulación de nematodos localizados en bronquios y bronquiolos, que afecta primariamente a los animales jóvenes, caracterizada clínicamente por tos, disnea, taquipnea, anorexia y pérdida de peso.

Los patrones de lesiones anatómicas del pulmón varían según la naturaleza de los agentes causales, su distribución, y su persistencia. Las enfermedades pulmonares se pueden clasificar de varias maneras. El patrón morfológico se clasifica según el sitio inicial implicado y el patrón de propagación de la lesión en bronconeumonía, neumonía intersticial, bronquitis o bronquiolitis, neumonía broncointersticial y neumonía embólica. El patrón histológico la clasifica como de tipo fibrinosa, supurativa, granulomatosa, necrotizante, proliferativa. La etiología puede clasificarlas en virales, bacterianas, parasitarias, tóxicas, alérgicas con una duración del cuadro subagudo, agudo o crónico³⁴.

4.2 AFECCIONES RESPIRATORIAS BOVINAS

Según Wilkins³⁵. Los agentes causales más importantes son *Manheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni*, *Corynebacterium pyogenes*, generalmente infecciones virales están asociadas a estas bacterias. El aislamiento de los patógenos involucrados y la realización de antibiogramas proveerán información útil para evitar pérdidas por mortalidad y morbilidad.

Para el caso específico de *Manheimia haemolytica*, las lesiones histopatológicas características son áreas focales de necrosis coagulativa, Algunos representan infartos intralobulillares por trombosis de vasos sanguíneos, se evidencia reclutamiento masivo de neutrófilos, pero las toxinas bacterianas o las secreciones de los leucocitos también podrían causar lesión pulmonar directa. Por lo general causa bronconeumonía fibrinopurulenta; en el pulmón tiene una distribución craneoventral de color rojo oscuro, purpura o gris marrón³⁶.

³² GULLIKSEN. Op. cit., p. 5139.

³³ WILKINS. Op. Cit., p. 601.

³⁴ WILKINS. Op. Cit., p. 603.

³⁵ *Ibíd.*, p. 555.

³⁶ *Ibíd.*, p. 620.

Caswell³⁷, reporta que las zonas inflamadas del pulmón están cubiertas con fibrina. Las lesiones histológicas por *Histophilus somni* incluyen bronconeumonía craneoventral, lobular o bronconeumonía fibrinosa, focos de necrosis coagulativa, y pleuritis fibrinosa variable. Las lesiones son más graves en los lóbulos pulmonares craneales y medios, pero también pueden afectar los pulmones caudales. Histológicamente, las células inflamatorias que predominan son neutrófilos que infiltran los alvéolos y las vías respiratorias.

“Las lesiones pulmonares por *P. multocida* son en muchos aspectos, similares a las infecciones por *M. haemolytica* y *H. somni*, pero carecen de focos de necrosis coagulativa y produce una bronconeumonía purulenta”³⁸.

Según Caswell³⁹, las lesiones macroscópicas tienen una distribución craneoventral (a veces de afección lobular) de consistencia firme, de color rojo oscura a púrpura; exudado purulento en las vías respiratorias. Además de la evidencia microscópica de abscesos.

“Las neumonías por *Mycoplasma*, se producen por especies comunes de *Mycoplasma* tales como: *Mycoplasma bovis*, *M. dispar*, *Ureaplasma sp.*”⁴⁰. “El diagnóstico se basa en la historia clínica y cultivos para aislamiento, las lesiones características son localizadas en áreas cráneo-ventrales de color rojo oscuro, firme y consolidación lobular, con acúmulos linfocíticos bronco-intersticiales”⁴¹.

Las neumonías virales, según lo establecido por Caswell⁴², conducen a traqueítis causada por IBR (Herpesvirus Bovino Tipo 1) puede observarse en bovinos jóvenes (menores a 1 año). El diagnóstico se basa en lesiones necrótico-hemorrágica típicas que suelen limitarse a la cavidad nasal, la laringe y la tráquea, en contraste, con los casos de neumonía bacteriana con secreción, el material se acumula en la mucosa traqueal o nasal, la eliminación suave del exudado revela una superficie de la mucosa intacta brillante. Se confirma por inmunofluorescencia o aislamiento viral.

“Las lesiones pulmonares de la neumonía viral primaria son poco comunes. Asimismo, algunas cepas del virus de la diarrea viral bovina (DVB) muestran un

³⁷ CASWELL. Op. cit., p.623.

³⁸ CASWELL. Op. cit., p.623.

³⁹ Ibíd., p. 624.

⁴⁰ MCCONNEL. Op. cit., p. 1430.

⁴¹ WILKINS. Op. Cit., p. 624.

⁴² CASWELL.Op. cit., p. 623.

marcado tropismo por el aparato respiratorio pudiendo causar neumonías severas complicadas con bacterias. Las lesiones descritas son leves, que consta de lesiones peribronquiales, perivasculares o agregados intersticiales de linfocitos y macrófagos, o exudado supurativa leve en los bronquiolos”⁴³.

Para Bagins⁴⁴, también debe recordarse que la infección sistémica por DVB, induce inmunosupresión temporaria que suele favorecer infecciones secundarias, particularmente respiratorias. Con respecto al virus Parainfluenza 3 (PI3), Wilkins⁴⁵, reporta una amplia distribución en la zona, con infecciones subclínicas, o cuadros respiratorios leves en vías aéreas superiores, aunque ocasionalmente suele estar asociado a neumonías y para el virus Respiratorio Sincitial Bovino (VRSB), es un importante patógeno respiratorio que causa neumonía con lesiones diseminadas en todos los lóbulos pulmonares con áreas de bronconeumonía clásica. Histológicamente la lesión consiste en una neumonía bronco-intersticial proliferativa o bronquiolitis proliferativa con presencia de células gigantes sincitiales.

“Las neumonías por aspiración se refieren a neumonías causadas por la aspiración de algún material proveniente del exterior, a menudo en forma líquida, llegando a los pulmones a través de las vías aéreas”⁴⁶.

Las neumonías intersticiales tóxicas, que son causadas por la inhalación de pequeñas partículas. Se observan bajo diferentes situaciones de manejo. El diagnóstico se basa en la historia del caso, lesiones macroscópicas caracterizadas por pulmones que permanecen inflados, hiperemia y pequeñas cantidades de exudado, con presencia de cuerpo extraño, edema y enfisema pulmonar. Histológicamente, hay bronquiolitis aguda con diversos grados de alveolitis aguda. Gotas de lípidos y a veces material vegetal. La aspiración de contenido ruminal puede producir un cuadro similar, y no es a menudo hemorrágica. Cuando la distribución de material extraño está más localizado, se produce granulomas de cuerpo extraño, bronconeumonía, neumonía lobar, o gangrena de los pulmones⁴⁷.

⁴³ *Ibíd.*, p. 623.

⁴⁴ BAGNIS, Guillermo, et al. Estudio histopatológico, etiológico e inmunohistoquímico de lesiones compatibles con neumonías intersticiales en el ganado bovino. En: Revista Mexicana de medicina veterinaria. Septiembre, 2006. vol. 7, no. 9, p. 1-7.

⁴⁵ WILKINS. *Op. Cit.*, p. 623.

⁴⁶ CASWELL. *Op. cit.*, p. 564.

⁴⁷ *Ibíd.*, p. 564.

Respecto a la neumonía parasitaria. Gulliksen⁴⁸, afirma que las lesiones pulmonares en las neumonías parasitarias varían desde neumonías intersticiales provocadas por migraciones larvarias hasta bronquitis crónicas causadas por localización intrabronquial de parásitos adultos e incluso neumonías granulomatosas debidas a muerte de larvas o huevos.

“En la neumonía parasitaria se produce un síndrome eosinofílico caracterizado por eosinofilia periférica, infiltrado linfocitario en el intersticio pulmonar y los espacios bronco-alveolares además de atelectasia y enfisema debido a la obstrucción pulmonar. La gravedad de las lesiones está relacionada con la carga parasitaria, el tamaño de los parásitos, exposición previa al parásito o presencia de hipersensibilidad”⁴⁹.

Para Bagins⁵⁰, *Dictyocaulus viviparus* es el parásito más frecuentemente relacionado con neumonías en bovinos. Todos los demás parásitos pueden considerarse parásitos ectópicos: *Fasciola hepática* y *Fasciola gigantica* son trematodos que accidentalmente presentan migraciones erráticas y un pequeño número de parásitos puede alcanzar el pulmón produciendo extensas cavidades y abscesos. *Echinococcus granulosus* es un cestodo típico de los canidos que origina quistes hidatídicos y ocasionalmente los bovinos pueden actuar como hospedadores intermediarios produciendo quistes sin significancia clínica pero que provoca decomiso de los órganos afectados produciendo pérdidas económicas.

“*Dictyocaulus viviparus* es el responsable de un proceso denominado bronquitis verminosa que afecta a bovinos de todas las edades que pastan en campos contaminados. La gravedad y duración de los signos clínicos depende principalmente de la cantidad de larvas ingeridas, la edad del animal y las condiciones climáticas”⁵¹.

Las lesiones en parénquima pulmonar se pueden dividir en dos fases según el tiempo transcurrido desde la infestación. En el periodo que se extiende desde la infección del animal hasta que las larvas alcanzan el pulmón y se hacen adultas se observan focos de neumonía intersticial aguda que se caracteriza histológicamente; se observa que la luz alveolar y bronquial está ocupada por larvas y células inflamatorias agudas asociadas a zonas enfisematosas. Posteriormente cuando los parásitos adultos se localizan en los grandes bronquios se observa típicamente una bronquitis con la presencia de parásitos adultos en las vías aéreas, rodeados de exudado blanquecino, enfisema

⁴⁸ GULLIKSEN.Op. cit., p. 5144.

⁴⁹ WILKINS. Op. Cit., p. 613.

⁵⁰ BAGNIS.Op. cit., p. 6.

⁵¹ WILKINS. Op. Cit., p. 620.

intersticial y subpleural en lóbulos craneales y zonas neumónicas en lóbulos caudales con zonas atelectásicas debido a bronquiolitis; histológicamente se observa una hiperplasia de células caliciformes, infiltrado de linfocitos, macrófagos, células plasmáticas y eosinófilos en la lámina propia de bronquiolos, bronquios y alveolos; se observa también fibrosis peribronquial, hiperplasia y metaplasia epitelial y bronquitis obliterante⁵².

4.3 RESPUESTA INMUNE DEL HUÉSPED.

Ackerman⁵³, afirma que el intercambio gaseoso es la principal función del tracto respiratorio. Para que esto ocurra, el aire tiene que pasar en las cantidades suficientes a través de las vías aéreas al alveolo donde el oxígeno y el dióxido de carbono se intercambian. Durante este proceso, el tracto respiratorio se expone a partículas, vapores y patógenos microbiales y sus productos. El tracto respiratorio tiene diferentes respuestas inmunes a estas agresiones, sin embargo el fluido del aire es particularmente sensible a reducciones en diámetro de las vías aéreas, debilidad de paredes alveolares o acumulación de fluidos y células inflamatorias o inmunes. El tracto respiratorio necesita por lo tanto, una respuesta inmune que no afecte el fluido del aire en el intercambio gaseoso.

Anatómicamente, el tracto respiratorio tiene ciertas características físicas que lo protegen de toxinas, vapores, partículas y agentes microbianos. La eliminación mucociliar de partículas incluye secuestro de sustancias en el líquido de superficie respiratoria (ASL) y salida de ASL por movimiento ciliar. El líquido contiene glicoproteínas, proteoglicanos y células producidas por las glándulas submucosas. El funcionamiento mucociliar puede verse comprometido por disfunción o muerte de células epiteliales ciliadas a causa de virus y bacterias. La exposición a contaminantes o tóxicos y la deshidratación pueden deteriorar los movimientos y reducir la frecuencia del batido ciliar, comprometiendo el movimiento ciliar y el flujo de moco con las partículas atrapadas⁵⁴.

“La viabilidad de macrófagos y sus funciones antimicrobianas son inhibidas por una variedad de infecciones virales, las defensas pulmonares se ven comprometidas en neutropenia, que resultan después de infecciones por DVB, sin embargo, aunque el reclutamiento de neutrófilos mediado por muchos tejidos,

⁵² FULTON. Op. cit., p. 473.

⁵³ ACKERMAN, Mark. Innate immunity of bovine respiratory disease. En: North America veterinary clinics. Food animal practice. Julio 2010, vol. 26 no. 2, p 215-228.

⁵⁴ GODSON, Dale. *et al.* Serum haptoglobin as an indicator of the acute phase response in bovine respiratory disease. En: Veterinary immunology and immunopathology. Junio, 1996, vol. 51 no. 3.p. 279.

incluyendo los bronquios y los bronquiolos, puede afectar su función en el pulmón, no afecta significativamente la infiltración celular alveolar”⁵⁵.

“Estos hallazgos indican que los factores predisponentes para la neumonía bovina son la infección viral y estrés asociado a elevaciones en las concentraciones de cortisol, esto puede suprimir la capacidad de las células epiteliales de vías respiratorias para secretar proteínas antimicrobianas”⁵⁶.

Otras causas en la reducción de la actividad de los antimicrobianos Péptido/proteína en las vías respiratorias se debe a una disminución de la expresión de las proteínas antimicrobianas. Algunas bacterias Gram negativas afectan la regulación positiva de estas proteínas, inducida por la expresión de lipopolisacaridos (LPS) en las células epiteliales traqueales de los bovinos. El deterioro de estas proteínas puede deberse también a que el líquido de superficie de la vía aérea de pacientes con fibrosis quística pulmonar, redujo la actividad de los antimicrobianos⁵⁷.

“Los patógenos son capaces de eludir las defensas pulmonares antes de la colonización del pulmón y provocar reacciones inflamatorias que conducen a la enfermedad a través de la evasión de la respuesta inmune del huésped y la inactivación de los péptidos antimicrobianos”⁵⁸.

Una de tales estrategias es el desarrollo de una superficie en la célula bacteriana que es resistente a los efectos de permeabilización de membrana de proteínas antimicrobianas, mecanismos que incluyen la modificación de la carga de la superficie de la pared celular o membrana externa (incorporación de residuos cargados positivamente en la estructura de superficie bacteriana tales como D-alanina o L-Lisina) y la síntesis de una cápsula de polisacárido de espesor. Los patógenos bacterianos son capaces de responder activamente a la presencia de péptidos antimicrobianos o el daño que inducen. Una estrategia alternativa para las bacterias es sintetizar proteasas que degradan proteínas antimicrobianas o alteran su función⁵⁹.

El espectro de las defensas pulmonares es impresionante, y por lo general exitoso en el mantenimiento de la esterilidad de las vías respiratorias y los alvéolos. La inmunidad pulmonar debe considerarse como un sistema de interacción entre el

⁵⁵ GODSON. Op. cit., p. 418.

⁵⁶ ACKERMAN. Op. cit., p. 217.

⁵⁷ GODSON. Op. cit., p. 458.

⁵⁸ ACKERMAN. Op. cit., p. 218.

⁵⁹ GODSON. Op. cit., p. 445.

sistema de defensa y el agente etiológico. En el medio ambiente, el anfitrión, y múltiples patógenos interactúan en el desarrollo de bronconeumonía. Existen determinados factores predisponentes para la presentación de la enfermedad. El aclaramiento mucociliar puede verse afectado por acción citolítica viral (BSRB, HVB-1, PI3) o la exposición al frío⁶⁰.

“La expresión proteica antimicrobiana puede ser reducida por infección con el virus de la DVB o inducida por estrés. La función de los macrófagos alveolares puede verse comprometida por la infección con virus citolíticos o con virus de la BVD, y quizás por stress”⁶¹.

Para Jaramillo⁶², la neutropenia puede ser el resultado de la presencia de uno o más de estos factores predisponentes, el pulmón no es susceptible a la infección con la mayoría de las bacterias que son aspirados desde el tracto respiratorio superior. Sin embargo, estos factores predisponentes permiten abrir una ventana de oportunidad para que bacterias tales como *Mannheimia haemolytica* pueda evadir las defensas del pulmón, aumentar la secreción de leucotoxina para derogar los macrófagos y defensas de neutrófilos, bloquear la activación del complemento, fagocitosis y degradación de IgG del anfitrión.

4.4 FISIOPATOLOGÍA DEL COMPLEJO RESPIRATORIO BOVINO

“El complejo de enfermedad respiratoria bovina, clínicamente consiste en una infección respiratoria, provocada por la combinación de diferentes agentes infecciosos, compromiso de las defensas del anfitrión y condiciones medioambientales (factores de riesgo) que afecta animales tanto jóvenes como adultos de hatos de carne y lechero que puede presentarse en forma de epidemias con elevada morbilidad y mortalidad significativa”⁶³.

Las bacterias relacionadas con mayor frecuencia con las lesiones neumónicas forman parte de la flora residente normal de la nasofaringe de las vacas, por esta razón juega un papel importante en la fisiopatología de la enfermedad, la inmunosupresión provocada por una infección viral previa o la exposición a factores de riesgo ambientales. Con base en lo anterior, las formas de afección se caracterizan por un daño directo al sistema de defensa del pulmón, infección bacteriana con inflamación y destrucción de paredes alveolares. Debido a que la

⁶⁰ WILKINS. Op. Cit., p. 598.

⁶¹ WILKINS. Op. Cit., p. 620.

⁶² JARAMILLO, Carlos; TRIGO, Fernando y SUAREZ, Fernando. Mannehimiosis Bovina, etiología, prevención y control. Artículo de revisión En: Revista de Veterinaria México. Febrero, 2006. vol. 40, no. 3, p. 1–46.

⁶³ WILKINS. Op. Cit., p. 603.

exposición a factores de riesgo y la respuesta del huésped a la infección, los signos clínicos de enfermedad respiratoria en vacas adultas varían de medios a severos y el número de animales afectados no está correlacionado con la severidad de la enfermedad⁶⁴.

4.5 VIRUS RESPIRATORIO SINCICIAL BOVINO (BRSV)

“Es un virus ARN con envoltura, clasificado dentro de los neumovirus no aglutinantes de la familia Paramixoviridae. Se caracteriza por su efecto citopático capaz de formar células sincitiales”⁶⁵.

Los signos clínicos pueden variar desde inaparentes hasta graves y se limitan al aparato respiratorio, se caracterizan por presentar disminución en la producción de leche, pirexia, depresión, anorexia, taquipnea, tos, exudado nasal. La enfermedad progresa con rapidez y los signos clínicos pueden pasar desapercibidos. Hay un aumento de los ruidos bronquiales y bronco-vesiculares, se pueden auscultar estertores y sibilancias en los campos pulmonares medios o dorso caudales si existe enfisema o neumotórax. En casos graves se observa disnea y la presencia de enfisema subcutáneo y edema intermandibular. La duración de la enfermedad varía de 1 a 2 semanas⁶⁶.

Los medios de transmisión son el contacto directo con animales infectados y los aerosoles. El periodo de incubación varía entre 3 a 5 días. La infección por VRSB puede causar bronquitis, bronquiolitis, alveolitis y neumonía intersticial. El virus se encuentra en las células del epitelio nasal, traqueal y bronquiolar aproximadamente 2 días después de la infección. La patogénesis se caracteriza por que el virus causa fusión de células epiteliales, lo que conduce a formación de sincitios o células multinucleadas que experimentan apoptosis después de la infección con el virus. Generalmente produce infección de macrófagos alveolares, disminuyendo funciones como la expresión del receptor FC, fagocitosis, y producción de factores quimio-tácticos de neutrófilos. La gravedad de la enfermedad producida por el virus, guarda relación con la inmunidad del anfitrión⁶⁷.

⁶⁴ Ibid., p. 605.

⁶⁵ FULTON. Op. cit., p. 470.

⁶⁶ BROADGEN, Kim; GUTHMILLER, Janet. Respiratory viruses and bacteria in cattle. Polymicrobial diseases. 2 ed. Washington D.C. ASM Press. 2002. p. 1-13.

⁶⁷ FULTON. Op. cit., p. 474.

Para Broadgen⁶⁸, los rumiantes son susceptibles a las reinfecciones por VRSB y pueden desarrollar enfermedad grave después de la infección, esto se debe a que la infección natural no confiere inmunidad natural para toda la vida, aunque la inmunidad adquirida por el anfitrión puede proteger a los rumiantes frente a la enfermedad grave. Se ha determinado que las vacas con enfermedad grave después de haber presentado infección natural con el VRSB tienen una proporción más altas de células mastoides desgranuladas en sus pulmones que las vacas con afección menos grave, lo que indica que los mediadores de las células mastoides contribuyen a los cambios fisiológicos y patológicos observados en casos graves.

Broadgen⁶⁹, también ha demostrado que la exposición al hongo *Sacchapolyspora rectivirgula* cuyas esporas inducen hipersensibilidad pulmonar en bovinos, intensifico la producción de IgG específica para el VRSB es esta especie, lo cual indica que los alérgenos medioambientales también pueden afectar la respuesta inmunitaria frente a la afección contra VRSB. De igual manera Fulton⁷⁰, demostró que bovinos infectados por VRSB antes de la infección por *Histophilus somni* desarrollaron niveles más altos de IgE sérica específica contra *H. somni*, en comparación con bovinos infectados solamente con *H. somni*. Lo anterior indica que el virus es capaz de desarrollar inmunopatogenia, las infecciones por VRSB, la exposición a alérgenos ambientales y la infección bacteriana secundaria pueden inducir una mayor liberación de células mastoides y de Ig provocando reacciones de hipersensibilidad inmediata con edema pulmonar, bronco-constricción y otros signos asociados.

“La inmunopatogenia característica en la infección, explica que en muchos casos se presente una enfermedad intensificada en bovinos que han recibido previamente una vacuna contra el VRSB y que la coinfección con otros patógenos como *M. haemolytica* o el virus de la diarrea vírica bovina (DVB) aumenta considerablemente la gravedad de la enfermedad si existió previamente una infección con el VRSB”⁷¹.

Macroscópicamente, la infección por VRSB produce neumonía intersticial aguda, más evidente en la porción dorso caudal del pulmón. Los lóbulos pulmonares pueden presentar una coloración rojo oscura o moteada con zonas enfisematosas. Los pulmones tienen una textura gomosa generalizada, se presenta una hipertrofia y edema de los nódulos bronquiales y mediastínicos. Las lesiones histológicas dependen de la infección, los animales infectados presentan

⁶⁸ BROADGEN.Op. cit., p. 13.

⁶⁹ Ibíd., p. 10.

⁷⁰ FULTON. Op. cit., p. 470.

⁷¹ BROADGEN. Op. cit., p. 10.

bronquitis, bronquiolitis y alveolitis con infiltración inicial de neutrófilos y posteriormente infiltración mononuclear. Se observa también la presencia de células sincitiales epiteliales bronquiales características de la enfermedad en las vías aéreas, los alveolos y alveolitis exudativa o proliferativa. Sincitios alveolares puede parecerse mucho a los macrófagos multinucleados en los casos de neumonía fibrinosa; pero la presencia de sincitios bronquiolares es un indicador más fiable de la infección viral. Los cuerpos de inclusión eosinofílicos intracitoplasmáticos están ocasionalmente presentes en las células sincitiales y son poco comunes en el epitelio bronquiolar y alveolar. En casos graves se puede encontrar hiperplasia epitelial alveolar, formación de membrana hialina, e infiltrado intersticial de células inflamatorias, hemorragia y edema, se puede evidenciar bronquitis y bronquiolitis obliterante crónica⁷².

“La infección es diagnosticada mediante identificación del virus en las secreciones nasales, los aspirados traqueales o lavado pulmonar colectado ante-mortem o pos-mortem. Debido a que el virus no sobrevive bien al transporte, es difícil de aislar y se prefiere utilizar los métodos de identificación que no requiere virus vivos”⁷³.

“El virus se transmite por aerosoles y a través del contacto directo con animales infectados, se localiza en las células epiteliales de nariz, tráquea y bronquios. En el epitelio bronquial, provoca lesión en células ciliadas, hiperplasia epitelial como respuesta a células lesionadas y muertas con acumulación de neutrófilos en la luz, lo anterior provoca una obliteración de la luz de bronquiolos debido a una acumulación de exudado inflamatorio”⁷⁴.

Entre los 4 a 8 días pos infección, los cambios inflamatorios son de mayor magnitud y las células infectadas empiezan a liberar partículas virales con su posterior infección de las paredes alveolares. Infecta los neumocitos tipo I en los que induce muerte celular y en los neumocitos tipo II provoca cambios degenerativos y necrosis que provocan hiperplasia, fusión y formación de sincitios. En forma similar a las lesiones del epitelio bronquial, se observa la multiplicación del virus en los neumocitos tipo II de los 4 días en adelante. El virus contenido en los exudados inflamatorios es eliminado al exterior mediante la tos y la secreción nasal, provocando infecciones a otros animales⁷⁵.

⁷² CASWELL. Op. cit., p. 591.

⁷³ FULTON. Op. cit., p. 474.

⁷⁴ FULTON. Op. cit., p. 470.

⁷⁵ JAUREGUI Pablo. Biología del Virus Respiratorio Sincitial Bovino Clasificación, distribución, patogenia, vacunas y diagnóstico. En: Revista de ciencia y tecnología aplicada México. Marzo, 2006. vol. 73, no.3, p. 1-46.

4.6 VIRUS PARA-INFLUENZA TIPO 3 (PI3)

Es un virus ARN con envoltura de la familia paramyxoviridae y relacionado con enfermedades del aparato respiratorio. Las infecciones no complicadas causadas por (PI3) originan un cuadro respiratorio entre subclínico y leve. Los signos clínicos incluyen fiebre, tos, secreción nasal, ocular y aumento de la frecuencia respiratoria. El papel más importante del PI3 es predisponer el aparato respiratorio a la infección subsiguiente por otros virus y bacterias. La gravedad de los signos aumenta con el desarrollo de neumonía bacteriana secundaria. Los signos de la infección por PI3 pueden ser atribuibles tanto al aparato respiratorio tanto superior como inferior⁷⁶.

El virus se encuentra en las vías nasales, la tráquea y las células epiteliales bronquiales y alveolares provocando daño del aparato mucociliar pulmonar y disminución de la actividad de macrófagos alveolares, infecta también los neumonocitos tipo II y linfocitos. El virus reduce las defensas pulmonares por varios mecanismos: la lesión al epitelio ciliado causando deterioro funcional y estructural de la depuración mucociliar, reducen la capacidad de fagocitosis en los macrófagos alveolares de los terneros infectados y la destrucción oxidativa de las bacterias, además con los macrófagos alveolares infectados inducen la supresión de la respuesta mediada por linfocitos⁷⁷.

Para Broadgen⁷⁸, las lesiones macroscópicas de una infección por PI3 generalmente son leves, conduce congestión de la mucosa respiratoria, tumefacción de los nódulos linfáticos relacionados con el aparato respiratorio y consolidación lobulillar, contiene un patrón pulmonar cráneoventral. La evaluación histológica indica bronquitis leve, bronquiolitis y alveolitis con lesiones proliferativas y degenerativas en las células epiteliales. Se pueden observar sincitios y cuerpos de inclusión intranucleares e intracitoplasmáticos eosinofílicos.

“El PI3 puede ser aislado de hisopados nasales de animales infectados. A diferencia del VRSB que forma parte de la familia paramixoviridae, el PI3 no es difícil de aislar. Puede ser diagnosticado también mediante serología o inhibición de la hemoaglutinación”⁷⁹.

⁷⁶ WILKINS. Op. Cit., p. 611.

⁷⁷ CASWELL. Op. cit., p.599.

⁷⁸ BROADGEN. Op. cit., p.12.

⁷⁹ FULTON. Op. cit., p. 427.

4.7 FACTORES PREDISPONETES

Diversos factores externos, provocan estrés con aumento de los corticosteroides endógenos o alteraciones en el balance electrolítico del bovino (deshidratación y acidosis del animal) que conllevan a infecciones virales, acumulación o inoculación de bacterias en el tracto respiratorio y trastornos en la capacidad de la eliminación pulmonar de bacterias con los consecuente signos clínicos de infección respiratoria principalmente bronconeumonía o pleuroneumonía. Lo anterior constituye un mecanismo crítico en la fisiopatología de las enfermedades del complejo respiratorio⁸⁰.

“Adicionalmente la alta producción lechera es uno de los factores con mayor relación con la enfermedad respiratoria. Se sabe que la supervivencia de los bovinos, está influenciada por factores de manejo y factores genéticos, las vacas genéticamente superiores en producción de leche tienden a tener mayores problemas de fertilidad y baja tasa de supervivencia a enfermedades que las predisponen aún más a los riesgos”⁸¹.

Debido a la creciente necesidad global de aumentar la rentabilidad de las empresas destinadas a la selección pecuaria mediante el aumento de la productividad de cada animal. Actualmente se seleccionan los animales con base en su mérito genético, para implementar en ellas biotecnologías reproductivas tales como la congelación de semen, inseminación artificial a tiempo fijo y la transferencia de embriones que permiten multiplicar de manera rápida el número de animales de altas producciones lecheras⁸².

“El proceso de selección genética busca incrementar los niveles productivos de diferentes especies, sin embargo actualmente se ha observado a parte del favorable incremento productivo un mayor riesgo de presentar alteraciones fisiológicas e inmunológicas en estos animales. Diferentes estudios se han realizado para correlacionar el efecto de la selección por alta producción con problemas metabólicos, reproductivos y de salud”⁸³.

La explicación biológica de este fenómeno se debe a que la alta producción puede alterar el balance homeostático de los animales resultando en la ocurrencia de patologías. Esto hace que el metabolismo de estas vacas este alterado,

⁸⁰ WILKINS. Op. Cit., p. 690.

⁸¹ MCCONNEL. Op. cit., p.1423.

⁸² RAUWA, Will. Undesirable side effects of selection for high production efficiency in farm animals: a review. En: Journal livestock production science. Enero 1998. vol.56, no. 1, p. 1–15.

⁸³ *Ibíd.*, p. 28.

principalmente el metabolismo energético y el metabolismo de las proteínas debido a la necesidad del animal de suplir las altas demandas nutricionales para su alta producción. El resultado será una vaca con elevados requerimientos y bajos aportes nutricionales. Lo anterior provoca una mayor susceptibilidad a factores de riesgo para la presentación de enfermedades, siendo este el factor predisponente de mayor impacto en la epidemiología de las enfermedades del complejo respiratorio bovino⁸⁴.

Ian, Dohoo⁸⁵, afirma que los efectos del nivel de producción lechera en la ocurrencia de enfermedades dentro del mismo periodo de lactancia o en lactancias posteriores en vacas de la raza Holstein-Friesian son elevados. El mismo autor, realizó un estudio en Ontario, en 2.875 vacas de diferentes hatos. Encontró que en vacas de alta producción, la incidencia de enfermedades es mayor y existe un elevado riesgo de padecer la misma enfermedad en la siguiente lactancia.

“La respuesta sistémica a los estadios tempranos de enfermedades causadas por agentes infecciosos incluye una variedad de cambios fisiológicos conocidos como respuesta a fase aguda. Esta respuesta se basa en reacciones localizadas en el sitio de infección al tiempo que inicia la respuesta sistémica. Este es el primer mecanismo de defensa alterado por el elevado metabolismo de la vaca lechera y está altamente correlacionado con la presentación de enfermedades”⁸⁶.

“A medida que avance la selección genética con base en la producción las consecuencias para el comportamiento, fisiología y sistema inmune del animal serán negativos. Una alternativa es basar los criterios de selección genética no solamente en la producción pueden ser un factor determinante en la prevención de enfermedades relacionadas con la alta producción lechera”⁸⁷.

Ingvartsen⁸⁸, reporta la relación entre lactación y estado de salud. Encontró que las tasas de incidencia de la lactación en la producción de enfermedades tienen

⁸⁴ WELLMAN, Neells. Meta-analysis of treatment of cattle with bovine respiratory disease with tulathromycin. En: Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics. Abril, 2007.vol.30, no. 3, p. 200–235.

⁸⁵ IAN, Dohoo. Disease, production and culling in Holstein-Friesian cows III. Disease and production as determinants of disease. En: Journal of Preventive Veterinary Medicine. Abril 1994.vol. 2, no. 5, p. 610–674.

⁸⁶ GODSON. Op. cit., p. 279.

⁸⁷ WELLMAN. Op. cit., p. 230.

⁸⁸ INGVARTSEN, Karl. On the relationship between lactational performance and health. En: Livestock production science. Agosto, 2003. vol. 83, no. 2, p. 290-301.

una importancia económica en la industria lechera. Sin embargo, sería inadecuado hablar de una relación estricta entre alta producción y riesgo de enfermedad sin tener en cuenta predisponentes que exacerbaban esta relación tales como la nutrición, un sistema inmune deficiente y exagerada movilización de grasas, como factores comunes en el desarrollo temprano de enfermedades, principalmente en vacas de alta producción. Se sugiere por tanto que utilizando indicadores de balance metabólico se puede proveer un nuevo soporte de diagnóstico y decisión de enfermedades para incrementar la salud animal a través de la implementación de estrategias nutricionales.

4.8 DIAGNÓSTICO DE LAS ENFERMEDADES DEL CRB

“La base del diagnóstico y terapéutica de las enfermedades del CRB se basa en un adecuado examen clínico, determinando estado general del animal, signos clínicos, diagnósticos presuntivos y pronóstico. Posteriormente se determina el método de diagnóstico definitivo apropiado para cada caso”⁸⁹.

La aproximación diagnóstica a enfermedades respiratorias en bovinos, se basa en obtener información general sobre el manejo, alimentación, historia de vacunaciones, número total de animales en el establecimiento, número de afectados, casos crónicos, tratamientos, edad al comienzo de los síntomas, duración de la enfermedad, transportes o movimientos de hacienda, introducción de animales, etc. El medio ambiente (cambios bruscos de condiciones climáticas, factores estresantes, etc.) es a menudo un factor de fundamental importancia en la aparición de afecciones respiratorias, por lo tanto siempre se debería tener en cuenta en la anamnesis del caso. La información necesaria relacionada al caso deberá incluir edad, síntomas, duración, tratamiento, total de animales enfermos y número de animales crónicamente⁹⁰.

Dentro de los métodos diagnósticos, la histopatología requiere un mínimo de tres secciones de pulmón: 1) zona más afectada, 2) zona marginal y 3) área normal, tráquea, linfonódulos bronquial y mediastínico. También es importante remitir otros órganos que se observen afectados en la necropsia. Estas muestras (tamaño máximo, 2 x 3 cm) se deben remitir en formol buferado al 10%⁹¹.

La bacteriología requiere hisopados nasofaríngeos de animales afectados introducidos profundamente en la cavidad nasal y llegar a faringe. El medio de

⁸⁹ BLOOD, Douglas; HENDERSON James y RADOSTITS Otto. Veterinary Medicine. A Textbook of the Diseases of Cattle, Sheep, Pigs and Horses. 5 ed. London. Bailliere Tindall, 2011. p. 487-496.

⁹⁰ BLOOD. Op. cit., p. 700.

⁹¹ RAUWA. Op. cit., p. 464.

transporte para aislamiento bacteriano es el de Amies y para aislamiento viral el de Hanks. En caso de efectuarse la necropsia, se requieren dos zonas de pulmón para cultivo, una craneoventral (más crónica) y otra marginal (más aguda). Extraer trozos grandes, 5 x 5 cm, colocarlos en recipientes plásticos estériles, identificarlos adecuadamente (nombre del establecimiento, nombre del veterinario, fecha) y remitirlos refrigerados⁹².

Para virología también pueden obtenerse muestras de hisopados nasofaríngeos de animales afectados y muestras de pulmón, tráquea y linfonódulo bronquial durante la necropsia. Estas deberán colocarse en una bolsa de polietileno, identificarse (nombre del establecimiento, nombre del veterinario, fecha) y remitir preferentemente refrigerado para aislamiento de virus. Los cortes en micrótopo por congelación pueden ser útiles para el diagnóstico de virus por inmunofluorescencia, aunque algunos conjugados tienen el inconveniente de dar resultados falsos positivos⁹³.

En caso de presentarse un brote de enfermedad respiratoria es recomendable identificar animales enfermos y sanos, obtener muestras de sangre y repetir el muestreo de los mismos animales aproximadamente a las 3 semanas. El análisis de la cinética de anticuerpos (seroconversión) en esos animales permitirá identificar la circulación de virus en el ganado. En este caso, debido al tiempo necesario para la obtención las muestras, hace que el diagnóstico sea retrospectivo y no precoz. Rutinariamente, se puede determinar seroconversión para los virus IBR, DVB, PI3 y VRSB. Los sueros sanguíneos. Se toman sueros en la fase aguda y fase convaleciente de la enfermedad (intervalo de 2-3 semanas), de 5-10 terneros⁹⁴.

“Cuando se realiza el muestreo de animales sacrificados, se deben tomar muestras de nódulo linfático bronquial y mediastínico, nódulo completo o un fragmento en una bolsa plástica refrigerado de pulmón, una buena porción de la zona que presente la lesión y de la zona vecina de apariencia sana”⁹⁵. “Estas se colocan en una bolsa plástica y se refrigera. Se deben enviar, además, cuatro o más pedazos delgados de pulmón (1-2 cm) del límite de la zona con lesión y sin lesión, fijados en formalina”⁹⁶.

⁹² BROADGEN. Op. cit., p.12.

⁹³ RAUWA. Op. cit., p.690.

⁹⁴ FULTON. Op. cit., p. 464.

⁹⁵ BROADGEN. Op. cit., p. 6.

⁹⁶ FULTON. Op. cit., p. 464.

Para tomar muestras de tráquea, Mogollón⁹⁷, recomienda tomar una porción de tráquea o laringe en una bolsa plástica y se refrigera. Si se observan lesiones, se pueden también fijar pequeños pedazos en formalina. Si se requiere, en forma opcional se puede tomar un hisopo nasal que alcance la parte profunda de la cavidad nasal. Estos hisopos se pueden usar para aislamiento bacteriano o viral. No congelar estas muestras.

“Las muestras de tejidos que se van a enviar frescos se refrigeran previo al envío. No se deben congelar. Si se sospecha de una enfermedad viral, la muestra se toma al momento de la aparición de los primeros signos respiratorios”⁹⁸. “Los hisopos siempre deben permanecer refrigerados antes y durante el transporte”⁹⁹. “Los agentes infecciosos que fácilmente se pueden identificar en la rutina del diagnóstico son bacterias (*Arcanobacterium pyogenes*, *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*) y virus (IBR, DVB, PI3, VRSB)”¹⁰⁰.

4.9 LINFOMAS

“Los linfomas son una forma de presentación del trastorno linfoproliferativo en los que el tumor linfoide se origina más frecuentemente en órganos hematopoyéticos sólidos, tales como los ganglios linfáticos, el bazo y tejido linfoide asociado a mucosa (MALT), y menos frecuentemente en órganos no linfoides”¹⁰¹. “En el ganado los linfomas se dividen en dos grupos principales: esporádico y enzoótica. Los linfomas son causados por el virus de la leucosis bovina enzoótica”¹⁰², “un retrovirus de la familia Retroviridae, subfamilia Orthoretrovirinae”¹⁰³. “Los linfomas esporádicos son todos los casos de linfoma de ganado que no están asociados con la infección por BLV. Estos linfomas son raros y casi no se produce más de un

⁹⁷ MOGOLLÓN, José, *et al.* Instrucciones generales para el usuario de los servicios oficiales de diagnóstico veterinario en Colombia. En: Instituto Colombiano Agropecuario - ICA. Bogotá D. C., 2003, p. 1-23

⁹⁸ *Ibíd.*, p. 24.

⁹⁹ FULTON. *Op. cit.*, p. 474.

¹⁰⁰ BROADGEN. *Op. cit.*, p. 6.

¹⁰¹ FIGHERA, R. A.; GRAÇA, D. L. Sistema Hematopoiético. In: SANTOS, R. L.; ALESSI, A. C. (Org.). Patología veterinaria. Roca, São Paulo, 2010. Cap. 6

¹⁰² VALLI, V. E.O. et al. Histological classification of hematopietic tumors of domestic animals. 2th ed. WHO/AFIP, Washington, 2002.

¹⁰³ RAVAZZOLO, A. P.; COSTA, U.M. Retroviridae. In: FLORES, E. F. (Org.) Virologia veterinaria. 2º ed. Editor da UFSM, Santa Maria, 2012.

caso en el mismo rebaño”¹⁰⁴. “En la necropsia, hay linfadenopatía simétrica de los ganglios linfáticos superficiales y profundas y la infiltración de células cancerosas en el hígado, el bazo y la médula ósea, con menor frecuencia otros órganos también pueden verse afectadas”¹⁰⁵. “El ganado desarrollan una forma de linfoma multicéntrico, y otros órganos pueden ser afectados tales como el corazón, la médula espinal, pulmón y abomaso (Barros, 2007). Las lesiones aparecen y luego se retiran durante meses, y durante algún tiempo la piel puede permanecer libre de lesiones”¹⁰⁶. Los aspectos histológicos e inmuno-histoquímicos permiten clasificar los linfomas en bovinos con base al sistema REAL (Revised European-American Classification of Lymphoid Neoplasms).

4.9.1 Inmunohistoquímica.

“La inmunohistoquímica es comúnmente utilizada en linfomas bovinos para confirmar el origen de las células neoplásicas (JACOBS et al., 2002). Los linfomas enzoóticos (asociado a infección por virus de leucosis bovina) se originan predominantemente los linfocitos B maduros, mientras que en los linfomas esporádicos (de forma que no está asociado con la infección por BLV) se originan tanto los linfocitos B y los linfocitos T”¹⁰⁷. “El uso de anticuerpos para inmunomarcación de los linfocitos B y T ha sido estandarizado durante muchos años y muchos son los que se han utilizado para la inmunotinción de los linfocitos tumorales en el ganado”¹⁰⁸. “Se ha utilizado en linfocitos B CD79 y anti-humano monoclonal anticuerpo primario producido en ratones, mientras que en linfocitos T se utiliza el CD3 anticuerpo policlonal anti-humano producido en conejos”¹⁰⁹.

¹⁰⁴ BARROS, C. S. L. Leucose bovina. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; LEMOS, R. A. A.; BORGES, J. R. J. (Org.). Doenças de Ruminantes e Equídeos. 3ª ed. Vol. 1. Palloti, Santa Maria, 2007. p. 451-457.

¹⁰⁵ FIGUERA. Op. Cit. Cap 6.

¹⁰⁶ JACOBS, R. M. et al. Tumors of the Hemolymphatic System. In: MEUTEN, D. J. (Org.). Tumors in domestic animals. 4th ed. Iowa State Press, Ames, 2002. Cap. 3, p. 119-198.

¹⁰⁷ ISHIGURO, N. et al. Differentiation analysis of bovine T-lymphosarcoma. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, Amsterdam, v. 41, n. 1-2, p. 1-17, May. 1994.

¹⁰⁸ SHINO, S. et al. Pathological and immunohistochemical studies of follicular lymphoma in two calves. *Journal of Comparative Pathology*, London, v. 103, n. 3, p. 265-275, Oct. 1990.

¹⁰⁹ HARBO, S. J. et al. Characterization of lymphocyte populations by flow cytometry in a calf with sporadic juvenile lymphoma. *Veterinary Clinical Pathology*, v. 33, n. 3, p. 63-67, Sep. 2004.

- Linfocitos B: CD21 (en células maduras), CD79a, BLA36 (CD20), anti-IgM, anti-IgD, anti-IgG, anti-IgA, anticuerpos anti-cadenas kappa y lambda¹¹⁰.
- Linfocitos T: CD3, CD4, CD8¹¹¹.

Monoclonal de ratón anti-humano CD45, leucocito antígeno común, clones 2B11 + PD7 / 26.

Anticuerpo Monoclonal Utilizado en ratón.

CD45 es una glicoproteína transmembranal expresado en la mayoría de las células nucleadas de origen hematopoyético, es codificada por un único gen mapeado en cromosoma 1, tiene varias isoformas sobre la base de corte y empalme diferencial de los exones 4, 5 y 6. Todas las isoformas CD45 comparten el mismo segmento intracelular, que se ha demostrado que tiene actividad de la fosfatasa de la tirosina. Varios leucocitos expresan isoformas características de CD45, así que las células T expresan isoformas CD45 correspondientes a su desarrollo y activación, las células B expresan predominantemente la isoforma ABC, y los monocitos y células dendríticas expresan predominantemente las isoformas B y 0. Este anticuerpo marca CD45 en tanto células normales como células neoplásicas, y es útil para la identificación de células tumorales de origen linfoide. La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia deben ser complementadas con estudios morfológicos mediante controles adecuados y debe ser evaluado dentro del contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas de diagnóstico por un patólogo cualificado. Las células son marcadas por los anticuerpos presentando una coloración marrón de la membrana aunque también puede ocurrir una coloración citoplasmática. En cuanto a la especificidad de este anticuerpo indica un 100% de los linfomas de células B de grado bajo, un 92% de linfoma de alto grado de los linfocitos B y un 93% de los linfomas de células T se marcaron positivamente por el anticuerpo¹¹².

Monoclonal de ratón anti-humano CD79 está codificada por el gen mb-1 (Anteriormente llamada Ig)

CD79 es un heterodímero unido por disulfuro de transmembrana con una masa molecular de 82-95 kDa que pertenece a la superfamilia de las inmunoglobulinas. Comprende las dos glicoproteínas, CD79 , con una masa molecular de 40 a 45 kDa, y CD79 , con una masa molecular de 37 kDa está asociado no

¹¹⁰ . Harris NL, Jaffe ES, Stein H et al. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. Blood 84: 1361-1392, 1994.

¹¹¹ Ibid

¹¹² Monoclonal Mouse Anti-Human CD45, Leucocyte Common Antigen Clones 2B11 + PD7/26 Ready-to-Use (Dako Autostainer/Autostainer Plus)

covalentemente con la superficie de Ig, formando el complejo receptor de células B, que se requiere para el reconocimiento del antígeno. El anticuerpo reconoce un epítipo extracelular expresada en la molécula de CD79 resultando de ayuda en la clasificación de las neoplasias de células B de todas las etapas de maduración.

CD79 es necesario para la transmisión de señales en el citoplasma después de la unión a antígeno a la superficie de Ig. La porción citoplásmica de CD79 y CD79 contiene varias quinasas. Señales de fosforilación a través de estas quinasas resultan en la activación de células B, diferenciación y, en algunos casos, la apoptosis. CD79 se expresa más fuertemente por las células B en la zona del manto folicular que por las células del centro germinal B, lo que sugiere que la activación de las células B maduras regula a la baja la expresión de CD79. Las células son marcadas por la presentación de anticuerpos en la superficie o por tinción de la membrana citoplasmática. En un estudio realizado con 149 casos de linfoblastos T linfoma / leucemia, los 149 casos de neoplasias de células resultó marcador positivo de los linfocitos T; sin embargo la interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos mediante controles adecuados y debe ser evaluado dentro del contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas de diagnóstico por un patólogo calificado¹¹³.

Policlonal de conejo anti-humana CD3: Es un péptido sintético de la parte intracelular de la cadena de CD3 humano acoplada a la tiroglobulina bovina y se utiliza para la inmunización. Es un marcador muy adecuado para la identificación de células T reactivas en el tejido con infiltrados linfoides, y para la clasificación de las neoplasias de células T. El anticuerpo muestra una intensidad más fuerte correspondiente anticuerpos monoclonales para CD3, consiste en al menos cuatro componentes diferentes (, , , zeta) de 20 a 28 kDa. En la superficie celular de linfocitos, CD3 es asociado no covalentemente con el receptor de células T (TCR).

CD3 se expresa por las células T en el timo, médula ósea, tejido linfoide periférico y sangre. La mayoría de las neoplasias de células T expresan el antígeno CD3 y se ha considerado un marcador esencial para la evaluación inicial de los trastornos linfoproliferativos crónicos. Las células son marcadas por la presentación de anticuerpos en la superficie y/o por tinción de la membrana citoplasmática. El anticuerpo marca las células T en diversos tejidos. En estudios realizados en humanos de 149 casos, 131 fueron positivos; en el segundo estudio 14 de 50 de las células fueron positivas; y en el tercer estudio en 4 casos, menos del 50% de las células fueron positivas¹¹⁴.

¹¹³ Monoclonal Mouse Anti-Human CD79a, Leucocyte Common Antigen Clones 2B11 + PD7/26 Ready-to-Use (Dako Autostainer/Autostainer Plus)

¹¹⁴ <http://www.dako.com/dist/download.pdf?objectid=115285002>

Monoclonal de ratón anti-CD3 humano, está destinado para su uso en inmunocitoquímica. El anticuerpo marca CD3 y es una herramienta útil para la identificación de las células T y las neoplasias relacionadas. La interpretación debe hacerse dentro del contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas de diagnóstico por un patólogo cualificado. El complejo CD3 se compone de seis polipéptidos por lo general con cuatro diferentes cadenas transmembrana CD3 (gamma, delta epsilon y zeta). Tres dímeros diferentes, y constituyen el complejo CD3. En timocitos corticales, el antígeno es predominantemente y está presente como un constituyente intracitoplasmático. En la fase de timocitos medular se encuentra en la superficie de células T, estando en estrecha asociación con el receptor de células T (TCR). Considerando que el TCR forma la parte de unión al ligando del TCR / CD3 complejo, la función de la molécula CD3 es el de señalización, haciendo CD3 un marcador altamente específico para células T. La molécula de CD3 está presente en la gran mayoría de las neoplasias de células T, aunque se encuentran tumores ocasionales en la que el antígeno se pierde como parte del proceso neoplásico. CD3 + está presente incluso cuando el antígeno de superficie está ausente. La especificidad del antígeno CD3 y su aparición en todas las etapas de desarrollo de las células T hace que sea un marcador ideal tanto para la detección de células T normales y las neoplasias de células T (linfomas y leucemias), y hace que sea un marcador útil inmunohistoquímico de las células T en secciones de tejido¹¹⁵.

En un estudio realizado en humanos, de 52 casos, 41 fueron marcados por el anticuerpo para linfomas de células. En otro estudio de los linfomas no Hodgkin, el anticuerpo marcó 10/10 precursor T lymphoblastic linfomas / leucemias, en linfomas anaplasicos de células grandes 6/14 fueron positivos. Las células son marcadas por la presentación de anticuerpos en la superficie y/o por tinción de la membrana citoplasmática¹¹⁶.

¹¹⁵

https://www.abdserotec.com/minireview-cd3-antibody.html?utm_source=shared&utm_medium=referral&utm_campaign=page-copy-copied-and-pasted

¹¹⁶ <http://www.dako.com/dist/download.pdf?objectid=102361003>

5. DISEÑO METODOLÓGICO

5.1 TIPO DE ESTUDIO

Se realizó un estudio transversal de tipo descriptivo.

5.2 LUGAR DE REALIZACIÓN

El estudio se ejecutó en la central de sacrificio de Risaralda y en las instalaciones de la Clínica Veterinaria “Carlos Martínez Hoyos” de la Universidad de Nariño en la ciudad de Pasto.

5.3 SELECCIÓN Y CÁLCULO DE LA MUESTRA

Con base en el promedio de sacrificio de bovinos (N =425) en la central de sacrificio de Risaralda durante el último año y una proporción de neumonías en bovinos en el departamento de Nariño de 67.8% con base en lo reportado por Vallejo¹¹⁷. Se estimó el tamaño de la muestra según la fórmula¹¹⁸.

$$n = \frac{N \times Z^2 \times p \times q}{d^2 \times (N - 1) + Z^2 \times p \times q}$$

N = 425

Z = 1,96 para un nivel de confianza del 95% (= 0,05)

P= Proporción de la población = Proporción del 67.8%

Q=1-p

E= 0,05 para una precisión del 5%

n = 150

En total se tomaron muestras de 150 pulmones Bovinos

5.4 TÉCNICA DE MUESTREO

Se realizó el muestreo de pulmones (derecho e izquierdo) en la planta central de sacrificio de Risaralda (excluyendo los pulmones decomisados por bronco aspiración pos-mortem con el fin de evitar artefactos en la lectura).

¹¹⁷ VALLEJO, D; VELÁSQUEZ, C; MORILLO, P; ASTAIZA, J; MELO C. Caracterización histopatológica de patrones neumónicos del complejo respiratorio bovino y su relación con los aspectos clínicos de la enfermedad en el Municipio de Pasto. Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia. Febrero, 2016. vol. 11, no. 1, p. 190–212.

¹¹⁸ FERNÁNDEZ, S. Elementos básico en el diseño de un estudio. Revista unidad de epidemiología clínica y bioestadística CHJ. Enero, 2006. vol. 3, p. 83-85

Debido a que la procedencia de los animales y el orden de llegada de estos a la planta de sacrificio es variable, el muestreo se considera aleatorio y por lo tanto se muestrearon los pulmones de los bovinos hasta completar el tamaño de la muestra.

5.5 TOMA Y PROCESAMIENTO DE MUESTRAS

5.5.1 Registro de información. Se tuvo en cuenta la trazabilidad durante todo el proceso de muestreo registrando de manera secuencial y sistemática, la procedencia, registro en físico, de cada animal incluido en el estudio.

5.5.2 Toma de muestras. En la planta de beneficio de Risaralda, se tomaron tres muestras de cada pulmón correspondientes a la porción proximal, media y distal; además se muestreó nódulo linfático y tráquea. Las muestras se fijaron en formol bufferado al 10% durante 48 horas en recipientes de plástico con tapa hermética y posteriormente fueron transportadas en bolsas ziploc (con formol al 10%) al laboratorio de patología veterinaria de la Universidad de Nariño en el municipio de Pasto.

5.5.3 Corte y procesamiento de las muestras. Una vez en el laboratorio, las muestras fueron cortadas y los tejidos procesados mediante la técnica de inclusión en parafina y coloración de hematoxilina y eosina, en el laboratorio de Patología de la Fundación Hospital San Pedro del Municipio de Pasto.

5.5.4 Evaluación histopatológica. La lectura de las placas se realizó en el área de cátedra y servicio de Patología Veterinaria de la Universidad de Nariño. Se realizó la descripción histopatológica de los patrones neumónicos según el patrón de distribución, grado de severidad y se clasificaron las lesiones de acuerdo al tipo de alteración descritos en el cuadro 1¹¹⁹. Posteriormente, para precisar los hallazgos histopatológicos, se usaron tinciones especiales relacionadas en el cuadro 2.

Cuadro 1. Criterios de evaluación microscópicos

Criterio de evaluación	Clasificación
Severidad	Leve – Moderado – Severo
Patrón de distribución	Focal – Multifocal – Difuso – Intersticial – Embolico – Cráneo-ventral
Tipo de infiltrado celular	Mononuclear – Mixto – Supurativo
Cronicidad	Agudo – Crónico
Presencia de tejido no funcional	Fibrosis – Tejido conectivo

¹¹⁹ CASWELL. Op. cit., p.700.

Cuadro 2. Tinciones especiales a utilizar en el presente estudio

Tinción	Características
Tricrómica de Masson	<i>Azul oscuro:</i> núcleo <i>Rojo:</i> músculo, queratina, citoplasma <i>Azul claro:</i> mucínogeno, colágena
Tinción de Gram ¹²⁰	<i>Azul o morado:</i> capa gruesa de péptidoglucanos; bacterias Gram positivas <i>Rojo o rosa:</i> capa delgada de péptidoglucanos; bacterias Gram negativas
Inmunohistoquímica	<i>Marcadores:</i> CD79a, DC45, CD3
Ziehl-Neelsen	Identificación de bacterias ácido-alcohol resistentes (<i>M. tuberculosis</i>)

5.6 VARIABLES DE ESTUDIO

Cambios histopatológicos en pulmones bovinos, patrón de distribución y severidad de las lesiones, tipo de alteración. Hallazgos sugestivos de infección viral.

5.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para la caracterización histopatológica de patrones neumónicos del complejo respiratorio bovino se empleó estadística descriptiva mediante tablas de frecuencia, determinando la participación porcentual de los diferentes variables en la población objeto de estudio, estableciendo la de mayor presentación.

Para la comparación de proporciones en los diagnósticos y la severidad de los casos se utilizó la prueba de comparación de Pearson.

Para el análisis estadístico se empleó el paquete estadístico SPSS 20.0 bajo licencia shareware.

5.8 IMPLICACIONES ÉTICAS

La recolección de las muestras se realizó en animales post-mortem, por lo cual no se atentó contra el bienestar de los mismos y no requiere del aval del comité de ética.

¹²⁰ ROSS, M. H.; PAWLINA, W. Técnica histológica y microscopía. En: Histología. Texto y Atlas color con Biología Celular y Molecular. 6 ed. Buenos Aires. Editorial Médica Panamericana, 2012. p. 3

¹⁰¹ QUINN, PJ; MARKEY BK; LEONARD FC; FITZPATRICK ES; FANNING S; HARTIGAN PJ. Laboratory diagnosis of bacterial disease. En: Veterinary microbiology and microbial disease. 2nd Ed. Wiley Blackwell. Iowa. EUA: 2011. p. 144

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

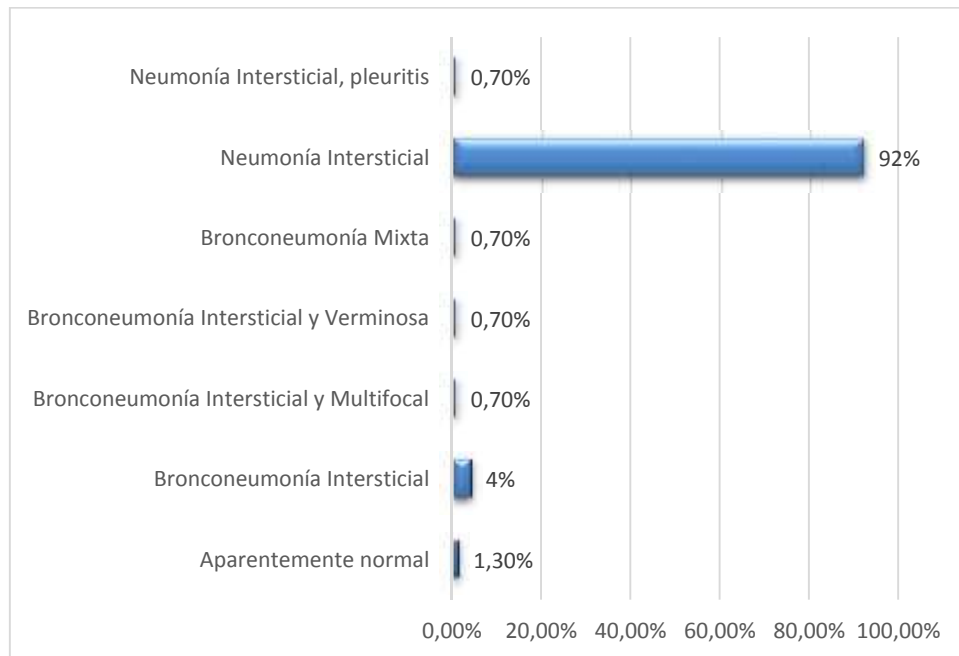
Se realizó el muestreo de 150 bovinos de los segmentos proximal, medio, distal del pulmón derecho y pulmón izquierdo, incluyendo nódulo linfático y porción distal de la tráquea.

6.1 DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA DE LOS HALLAZGOS

6.1.1 Tipo de alteración. Se realizó una descripción general de los hallazgos histopatológicos encontrados tanto en pulmón derecho como izquierdo (Figura 1 y 2). El hallazgo más común fue la neumonía intersticial (figura 3) con un 92% (pulmón derecho) y 87.3% (pulmón izquierdo), seguido de neumonía bronco-intersticial (figura 4) con un 4% (pulmón derecho) y 4.7% (pulmón izquierdo).

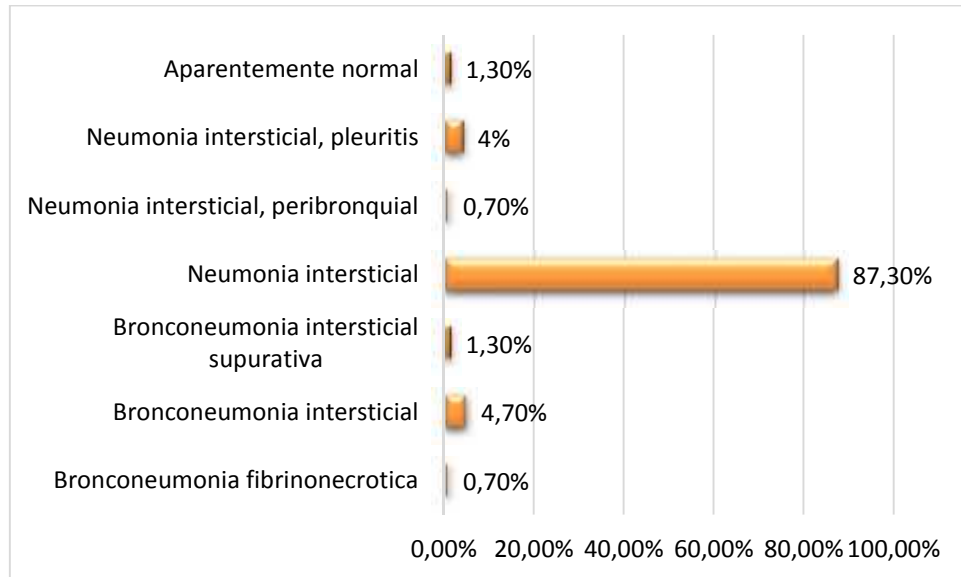
La neumonía intersticial con pleuritis fue otro hallazgo en el estudio (0.7% en pulmón derecho y 4% en pulmón izquierdo). “En infecciones primarias por el virus parainfluenza 3 (PI3), es común que la complicación bacteriana secundaria con pleuritis fibrinosa”¹²¹.

Figura 1. Alteraciones en vías respiratorias bajas – pulmón derecho



¹²¹ RIVADENEIRA LOJA. Complejo Respiratorio Bovino. Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias, Escuela de Medicina Veterinaria y zootecnia

Figura 2. Alteraciones en vías respiratorias bajas – pulmón izquierdo



Cabe resaltar que los hallazgos concuerdan con otros estudios realizados en Colombia, en donde las neumonías intersticiales y bronco-intersticiales fueron los hallazgos más comunes. Sin embargo, la proporción de vacas con neumonía intersticial en el estudio, fue mayor que lo reportado por otros autores en Colombia. Vallejo¹²², en bovinos lecheros en el municipio de Pasto reporta que la neumonía intersticial se diagnosticó en el 41.1%. Otro estudio realizado en vacas lecheras en el municipio de Ipiales encontró que la incidencia de neumonía intersticial fue del 57,3%¹²³.

Por su parte la proporción de vacas con neumonía bronco-intersticial en el estudio fue menor a la reportada en Colombia con un 11,6% en el municipio de Pasto¹²⁴ y un 34,8% en el municipio de Ipiales¹²⁵ y mayor a la reportada por Fulton¹²⁶ en Oklahoma (USA) quien encontró una incidencia del 1,4%.

¹²² VALLEJO. Op. Cit. p. 115.

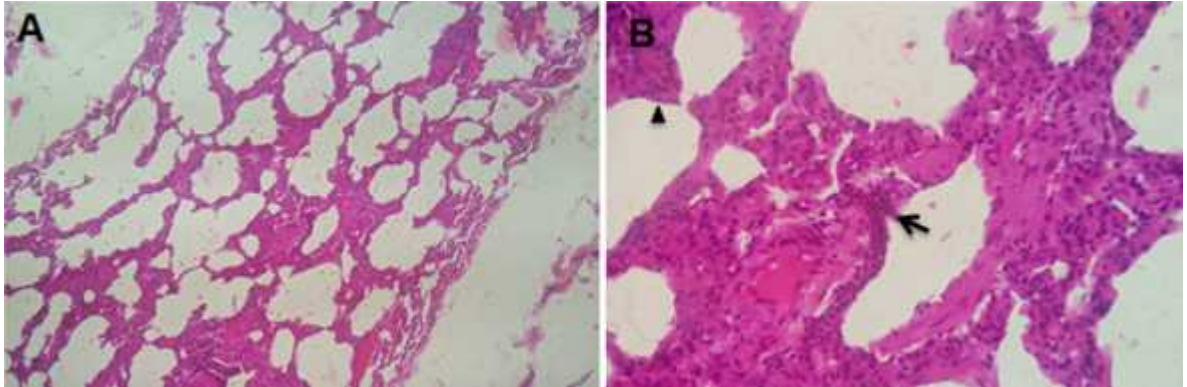
¹²³ CHAVES, Mauricio, QUINTERO, Mauricio. Descripción microscópica de patrones neumónicos del complejo respiratorio y su relación con los aspectos clínicos de la enfermedad en bovinos lecheros en la planta de beneficio del municipio de Ipiales, Nariño.

¹²⁴ VALLEJO. Op. Cit. p. 115.

¹²⁵ CHAVES. Op. Cit. p.

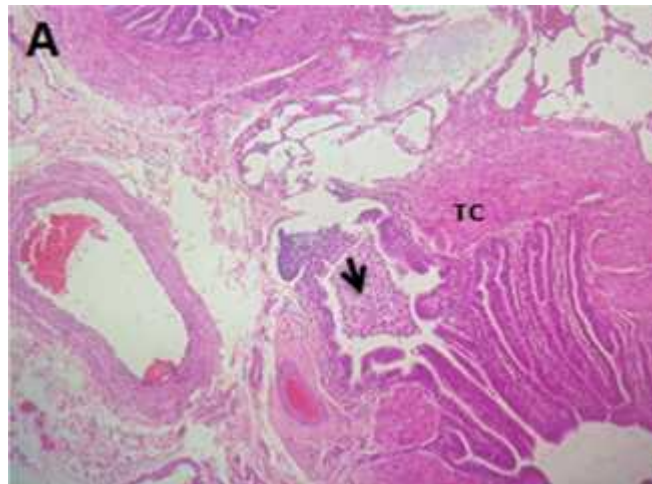
¹²⁶ FULTON RW, BLOOD KS, PANCIERA RJ, et al. Lung pathology and infectious agents in fatal feedlot pneumonias and relationship with mortality, disease onset, and treatments. J Vet Diagn Invest 2009;21:464.

Figura 3. Neumonía intersticial.



Pulmón bovino. Moderada neumonía intersticial linfocítica crónica H&E. (A)10x – Se observa el parénquima pulmonar. (B)40X Nótese leve hiperplasia de epitelio (flecha) y el aplanamiento del bronquiolo respiratorio (cabeza de flecha).

Figura 4. Neumonía bronco-intersticial



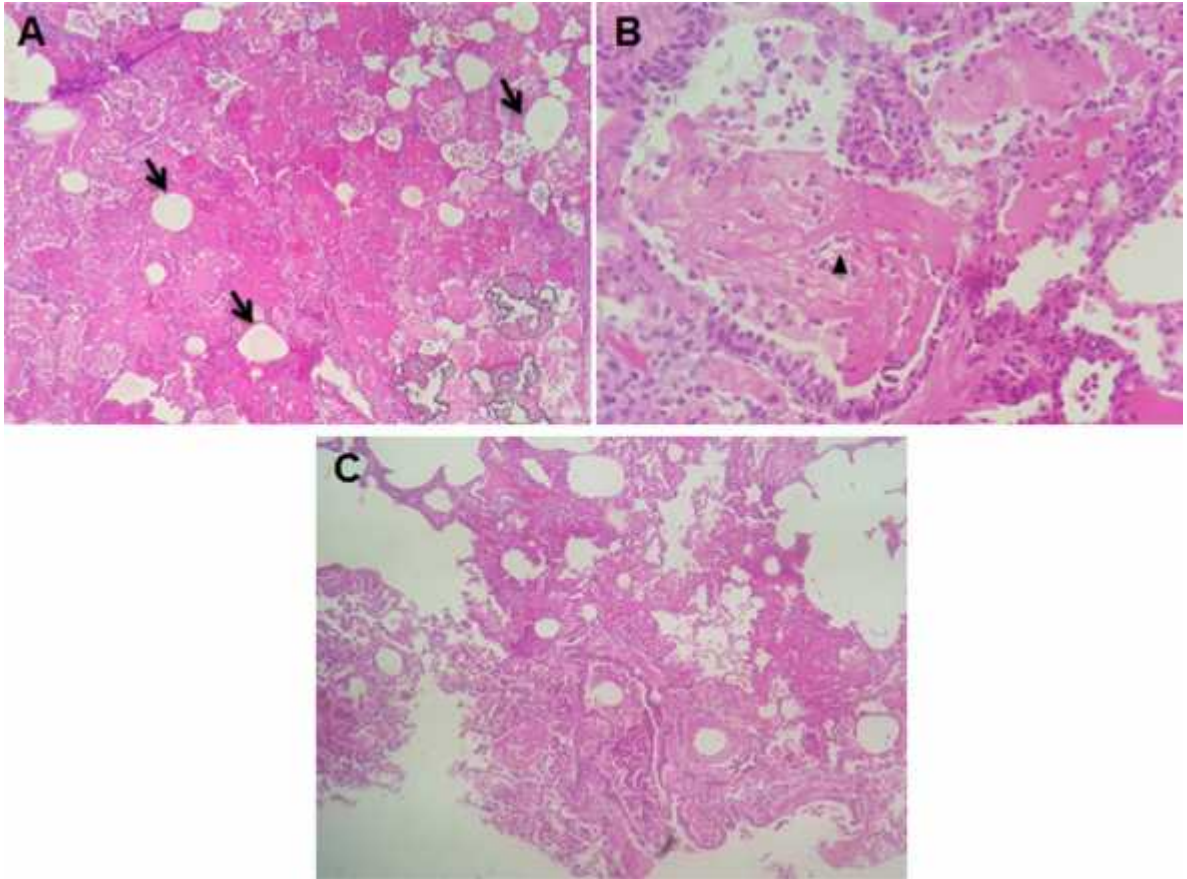
Pulmón bovino H&E. Moderada bronconeumonía intersticial –.10X Obsérvese moderado infiltrado inflamatorio mononuclear broncointersticial (flechas) y tejido conectivo (TC).

En el 1.3% de las muestras se encontró Bronconeumonía intersticial supurativa (Figura 5), sugestivo de una infección de tipo bacteriano (primaria o secundaria). Según Jaramillo¹²⁷, bacterias, como *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida* y *Trueperella pyogenes*, son habitantes normales de las criptas de las tonsilas de los bovinos sanos, que actúan también como agentes oportunistas del tracto respiratorio debido a que usualmente colonizan la parte alta de este, bajo ciertas condiciones de inmunosupresión del huésped; afectando sus mecanismos

¹²⁷ JARAMILLO, C; TRIGO, F; SUAREZ, F. Mannheimiosis bovina. Etiología, prevención y control: Revisión. Veterinaria México. 2009; Vol 40 (3). p. 101 - 126

de defensa, lo cual permite que estas bacterias se establezcan y multipliquen rápidamente penetrando los pulmones durante la inhalación e inicien una infección activa del epitelio alveolar.

Figura 5. Bronconeumonía intersticial supurativa



Pulmón bovino H&E. – figura (A)10X Severa bronconeumonía intersticial supurativa mixta con presencia de linfocitos, macrófagos y neutrófilos, observese el Edema pulmonar (flechas). Figura (B) 40X presencia de Microtrombos (cabeza de flecha). En la figura (C) 10X se observa presencia de infiltrado inflamatorio mixto en lumen de vías respiratorias (bronquiolo) y espacio intersticial.

Únicamente el 1.3% de las muestras se consideraron aparentemente normales lo que nos indica que el ganado que ingresa a la planta de sacrificio, en un porcentaje muy alto, son animales que presentan problemas respiratorios a pesar de ser animales destinados para consumo humano; por ende no se da cumplimiento con lo estipulado en el Decreto 1500 de 2007, en el artículo 31, numeral 2, el cual reglamenta que los animales que ingresan a la planta de beneficio deben estar vivos y sanos.

Según Smith¹²⁸, es común que las neumonías de tipo intersticial se asocien a infecciones virales o procesos de tipo irritativo. Con base en lo anterior la descripción de los hallazgos histopatológicos encontrados en este estudio permite sugerir la posible participación de agentes irritativos e infecciosos virales en las lesiones encontradas en el tejido respiratorio.

6.1.2 Tipo de infiltrado inflamatorio. Con respecto al infiltrado inflamatorio (tabla 1 y 2), este fue de tipo mononuclear en la mayoría de los casos. En general, las características del infiltrado entre pulmón izquierdo y derecho fueron similares (mononucleares de distribución intersticial en un 96.7 y 97.3% respectivamente).

Tabla 1. Tipo de infiltrado inflamatorio en pulmón derecho e izquierdo

Variable	Desenlace	Frecuencia		Frecuencia	
		Derecho	%	Izquierdo	%
Infiltrado	Mixta	2	1.3	2	1.3
	Mononuclear	146	97.3	145	96.7
	No	2	1.3	2	1.3
Distribución	Bronco-intersticial	7	4.7	1	.7
	Intersticial	140	93.3	4	2.7
	Intersticial - Pleural	1	.7	136	90.7
	No	1	.7	1	.7
	No aplica	1	.7	4	2.7

El infiltrado que se presentó (tabla 2), en su mayoría fue de linfocitos y macrófagos (91,3%). El infiltrado mononuclear indica procesos crónicos con la participación de la respuesta celular y humoral; los patrones supurativos indican procesos agudos bacterianos. Las neumonías mixtas indican procesos inflamatorios crónicos-activos.

Tabla 2. Características celulares del infiltrado inflamatorio.

Pulmón	Variable	Desenlace	Frecuencia	%
Izquierdo	Infiltrado	Linfocítica	137	91.3
		Linfocitos, eosinófilos, células de Mast.	1	0.7
		Linfocitos, macrófagos, PMN	3	2.0
		Linfocitos, macrófagos, plasmáticas	1	0.7
		Linfocitos, macrófagos	3	2
		Linfocitos, macrófagos, PMN	1	0.7
		Linfocitos, macrófagos, plasmáticas	2	1.4

¹²⁸ SMITH. Bradford P. Large Animal Internal Medicine. Fifth Edition. 2015; p. 1477

	No	2	1.3	
	Linfocítica	137	91.3	
	Linfocitos, macrófagos	4	2.7	
	Linfocitos, macrófagos, neutrófilos	1	0.7	
	Linfocitos, macrófagos, plasmáticos	2	1.4	
Derecho	Infiltrado	Linfocitos, plasm, macrófagos, neutrófilos	1	0.7
		Linfocitos, macrófagos	1	0.7
		Linfoplasmodocitaria	1	0.7
		Macrófagos, neutrófilos Plasmáticas	1	0.7
		No aplica	2	1.4

6.1.3 Sincitios y cambios degenerativos en el epitelio de vías respiratorias. En las muestras analizadas se presentaron sincitios (figura 6, tabla 3) en un 30,7% en pulmón izquierdo y 34,7% en pulmón derecho y en un 74,7% y 68.7% respectivamente hay aplanamiento del epitelio de las vías respiratorias (tabla 3). “Los sincitios son el resultado de muerte celular asociada a replicación viral y son hallazgos comunes en infecciones por BRSV, que son generalmente más grandes que los observados en la infección por virus PI3”¹²⁹.

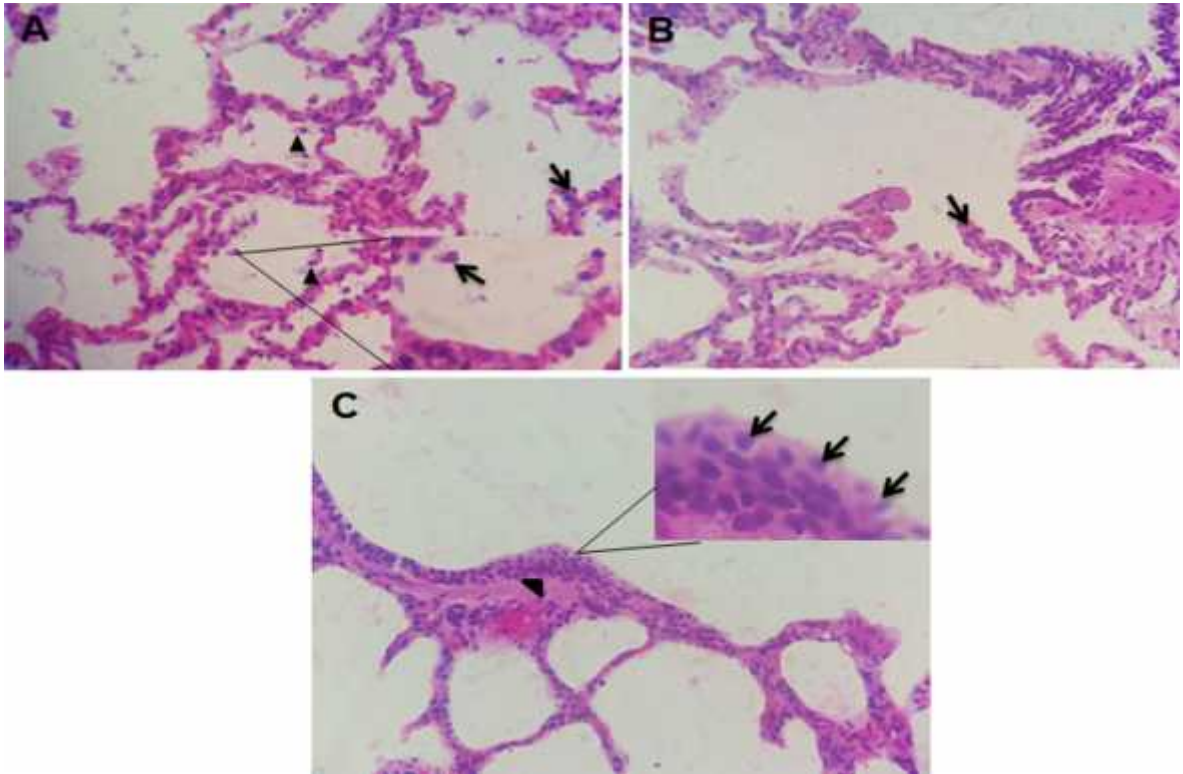
El aplanamiento presentado en este estudio (figura 7) indica metaplasia del epitelio, donde el epitelio cambia su forma a un epitelio plano y este pierde su función, debido a que agentes virales como BSRV centran su replicación en estas zonas del pulmón, ocasionando estas lesiones características en etapas agudas de la enfermedad.

Tabla 3. Presencia de sincitios y aplanamiento del epitelio de vías respiratorias

Pulmón	VARIABLES	Desenlace	Frecuencia	%
Izquierdo	Sincitios	No	104	69.3
		Si	46	30.7
	Aplanamiento	No	38	25.3
		Si	112	74.7
Derecho	Sincitios	No	98	65.3
		Si	52	34.7
	Aplanamiento	No	47	31.3
		Si	103	68.7

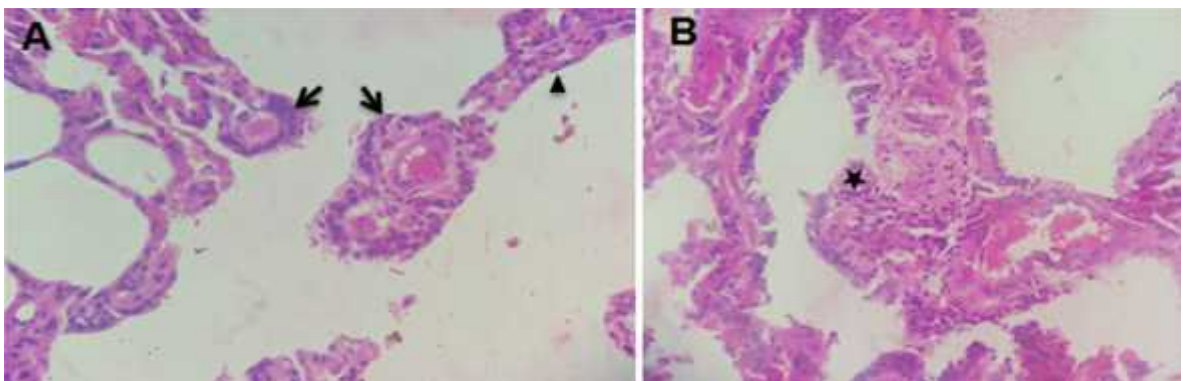
¹²⁹ VALARCHER, Jean-Francois. TAYLOR, Geraldine. Bovine respiratory syncytial virus infection. En: Veterinary Research. Vol.; 38. No 2(Mar.- Abr. 2007); p. 153 – 180.

Figura 6. Presencia de sincitios



Pulmón bovino H&E. – (A)(B)40X. notese la formación de sincitios a través de fusión de las células encontrándose como células multinucleadas asociadas al epitelio (flecha), se observa ademas macrofago alveolar (cabeza de flecha). Figura (C) 40X se presenta vacuolizacion del epitelio de vias respiratorias (flecha) con moderada hiperplasia de epitelio bronquial (cabeza de flecha).

Figura 7. Aplanamiento del epitelio de vías respiratorias.



Pulmón bovino. Leve neumonía intersticial linfocítica H&E. – figura (A)40X se observa sincitios (flecha) y Aplanamiento del epitelio (cabeza de flecha). En la figura (B)40X se puede observar cambios degenerativos del epitelio de vias respiratorias (estrella).

Los hallazgos relacionados a la presencia de sincitios, vacuolización del epitelio de vías respiratorias, hiperplasia del epitelio de vías respiratorias permiten sugerir la posible participación de virus como VRSB, PI3, coronavirus bovino; por ende se sugiere realizar INHQ utilizando anticuerpos monoclonales dirigidos contra estos agentes para poder confirmar o descartar la presencia de estos agentes. Además es de gran importancia la inmunohistoquímica ya que nos permite determinar el sitio de replicación viral, la ruta de entrada y correlacionar con precisión las lesiones ocasionada por los agentes. Estos hallazgos indican la entrada de un agente por vía aérea con la posible participación relacionada a agentes virales (Virus Respiratorio Sincitial, PI 3, Herpes virus bovino, entre otros). Clínicamente se recomienda el diagnóstico de afecciones respiratorias mediante métodos directos e indirectos (Serología, PCR).

6.1.4 Hipertensión pulmonar. En la tabla 4 se relacionan los hallazgos asociados a hipertensión pulmonar (Figura 8). La moderada hipertrofia de la capa media fue el hallazgo más representativo (22% en pulmón izquierdo y 20 % en pulmón derecho). Por su parte, la distribución de la hipertensión pulmonar fue en proporción similar entre pulmón izquierdo y derecho (37,3% y 38,7% respectivamente).

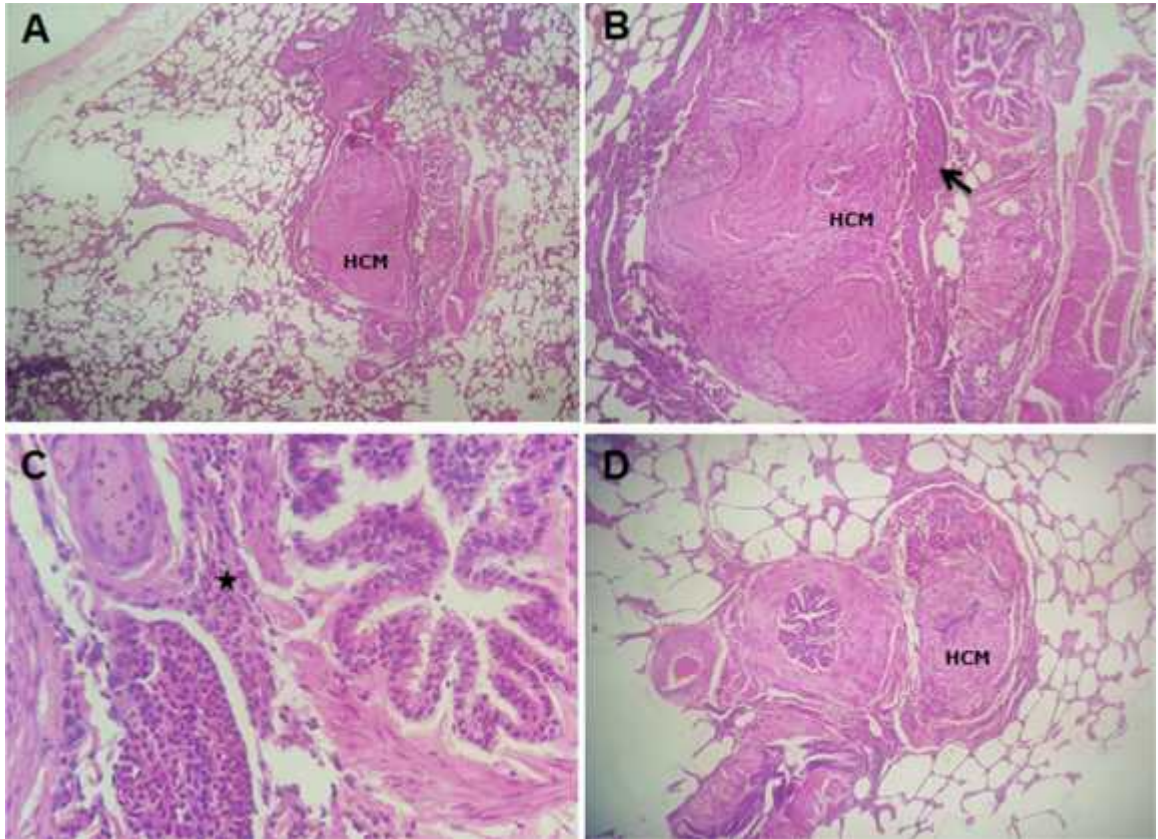
Según Perry, et al.¹³⁰ En las especies animales son múltiples los desórdenes que llevan a una Hipertensión arterial pulmonar, como una vasoconstricción pulmonar, hipertensión atrial izquierda prolongada, enfermedad obstructiva vascular pulmonar (HAP obliterativa) e hipertensión pulmonar primaria idiopática. Pringle y col.¹³¹ Reportan que el ganado que pasta a gran altitud puede desarrollar hipertensión arterial primaria. Para Caswell¹³² se puede presentar una hipertensión pulmonar por acúmulos de tejido fibroso que se presentan posterior a una infección lo que conlleva a una hipertrofia de la capa media de las arterias pulmonares resultando en una hipertensión pulmonar secundaria; además se ha involucrado un factor genético en la Hipertensión arterial pulmonar en el bovino. Por ende son múltiples los factores que conllevan a una hipertensión pulmonar siendo de gran importancia y caso de estudio en bovinos.

¹³⁰ PERRY L, Dillon A and Bowers T. Pulmonary hypertension. Cont. Educ. 1991; 226 Vol 13 (2): 226-233.

¹³¹ DALMAU Ernesto, ARCILA, Víctor. Revisión hipertensión pulmonar. Revista Spei Domus. Número 5. Marzo de 2007

¹³² CASWELL, Jeff. WILLIAMS, Kurt. Respiratory System. En: Jubb, Kennedy and Palmer's Pathology of Domestic Animals. 5 Ed. Saunders Elsevier. 2007. p. 524-650

Figura 8. Severa hipertensión pulmonar



Pulmón bovino H&E. – En la figura (A) 4X;(D)10X Se observa una severa Hipertrofia de la capa media arterial (HCM) la cual se puede apreciar mejor en la figura B 10X donde además se observa infiltrado inflamatorio (flecha) , en la figura (C) 40X se observa un severo Infiltrado inflamatorio mononuclear peribronquial (estrella).

Tabla 4. Hipertrofia de la cama media de arteria pulmonar – Hipertensión

Variables	Desenlace	Frecuencia Izquierdo	%	Frecuencia Derecho	%
HCM*	Leve	21	14.0	25	16.7
	Moderada	33	22	30	20.0
	No	91	60.7	92	61.3
	Severa	5	3.3	3	2.0
Hipertensión	No	92	61.3	94	62.7
	Si	58	38.7	56	37.3

* HCM = Hipertrofia de la capa media.

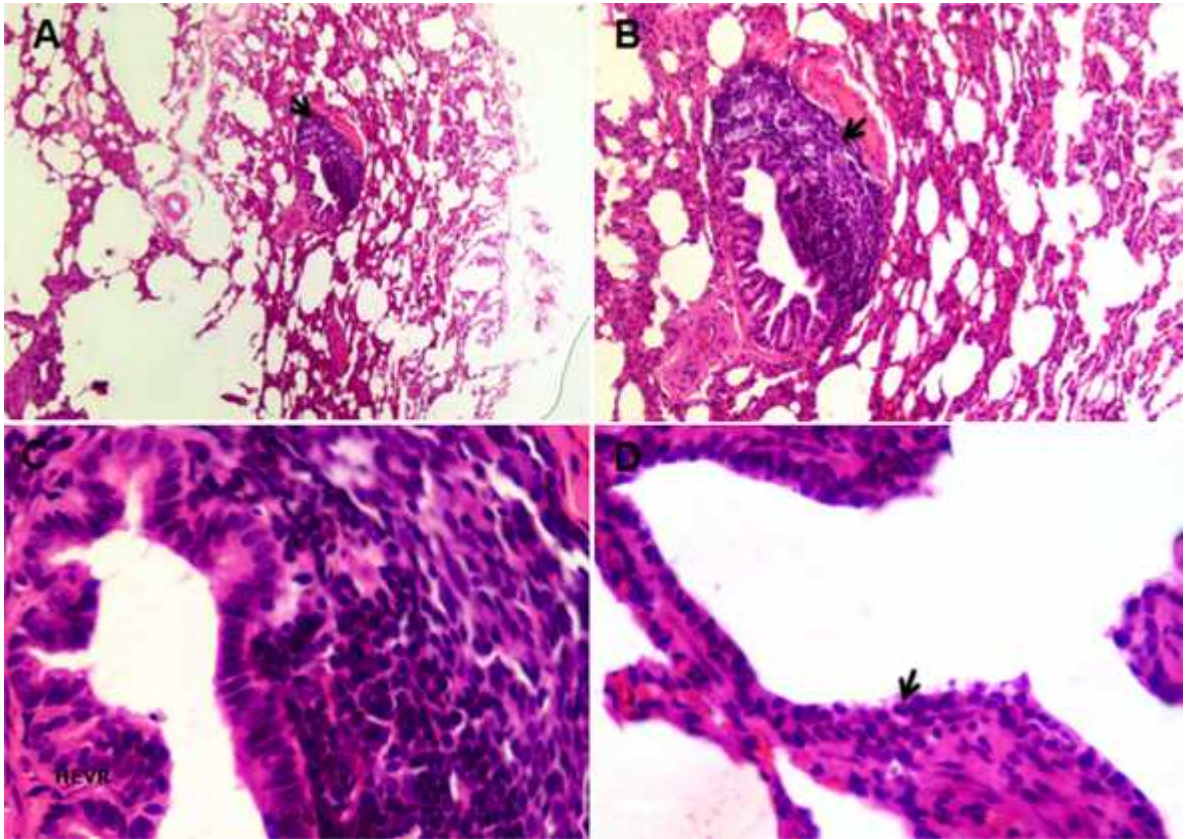
6.1.5 Presencia de moco y detritos celulares – Hiperplasia del BALT. Los agentes virales del Complejo Respiratorio Bovino están relacionados con el daño celular producido por su replicación a nivel local causando lisis celular y liberación de detritos celulares que actúan como sistema mediador de la inflamación (tabla 5).

Los estímulos inmunológicos persistentes pueden conllevar a una hiperplasia del tejido linfoide asociado a bronquios. Los resultados obtenidos en este estudio es para pulmón derecho son hiperplasia leve con un 9,3%, seguido de hiperplasia moderada con un 7,3%. En pulmón izquierdo se encontró hiperplasia leve con un 11,3% e hiperplasia moderada con un 9,3%. (Tabla 5, figura 9).

Tabla 5. Moco y detritos celulares – Hiperplasia del BALT

Variable	Desenlace	Frecuencia Derecho	%	Frecuencia Izquierdo	%
Moco	No	91	60.7	91	60.7
	Si	59	39.3	59	39.3
Detritos	No	88	58.7	84	56.0
	Si	62	41.3	66	44.0
Hiperplasia del BALT	Leve	14	9.3	17	11.3
	Moderada	11	7.3	14	9.3
	Severa	3	2.0	2	1.3
	No	122	81.3	117	78

Figura 9. Hiperplasia del BALT



Pulmón bovino H&E. – figura (A)4X (B)10X observe una leve hiperplasia de tejido linfoide asociado a bronquio (flechas), figura (C)40X (D)40X notese una leve hiperplasia de epitelio de vías respiratorias (HEVR), cambios asociados a muerte celular con cambios degenerativos del epitelio (flecha).

6.2 SEVERIDAD DE LOS HALLAZGOS

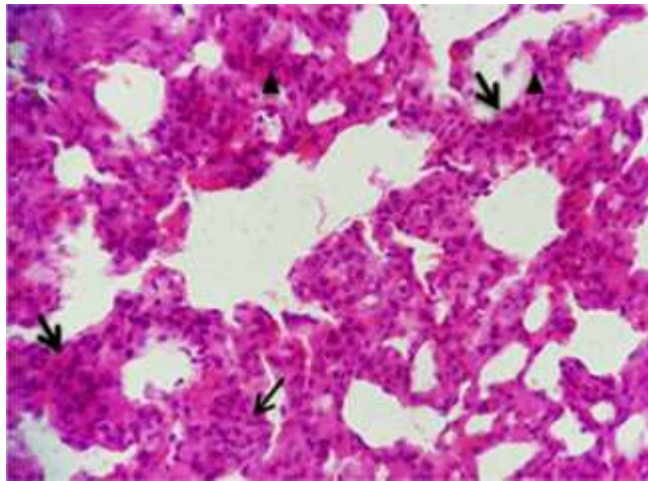
El grado de severidad de las lesiones (tabla 6, figura 10) en pulmón izquierdo vario de severo (46,7%) a moderado (38,7%); por otro lado, en pulmón derecho las lesiones variaron de moderado (46,7%) a severo (34%).

Tabla 6. Severidad de las lesiones encontradas en el estudio.

Variable	Desenlace	Frecuencia Derecho	%	Frecuencia Izquierdo	%
Severidad	Leve	27	18.0	20	13.3
	Moderada	70	46.7	58	38.7
	No	2	1.3	2	1.3
	Severa	51	34.0	70	46.7

Este hallazgo es el más importante debido a que no hay estudios realizados en ambos pulmones, esto nos permite determinar que hay mayor extensión de daño tisular en pulmón izquierdo que está directamente relacionado con pérdida de la función del tejido.

Figura 10. Severa neumonía intersticial



Pulmón bovino H&E. – 40X notese la Severa neumonia intersticial mononuclear linfocitica cronica con severa hiperplasia de epitelio de vias respiratorias (flechas) y cambios asociados a muerte celular(cabeza de flecha).

6.3 CRONICIDAD DE LAS LESIONES

Las alteraciones crónicas (tabla 7), fueron predominantes en un 90% para el pulmón izquierdo y un 88% para el pulmón derecho, seguido de las subagudas con un 6,7% y un 10%.

Tabla 7. Cronicidad de las lesiones

Pulmón	Variables	Desenlace	Frecuencia	Porcentaje %
Izquierdo	Cronicidad	Aguda	2	1.3
		Crónica	135	90
		Crónica-Activa	1	.7
		No	2	1.3
		Subaguda	10	6.7
Derecho	Cronicidad	Crónica	132	88.0
		Crónica-Activa	1	.7
		No	2	1.3
		Sub agudo	15	10.0

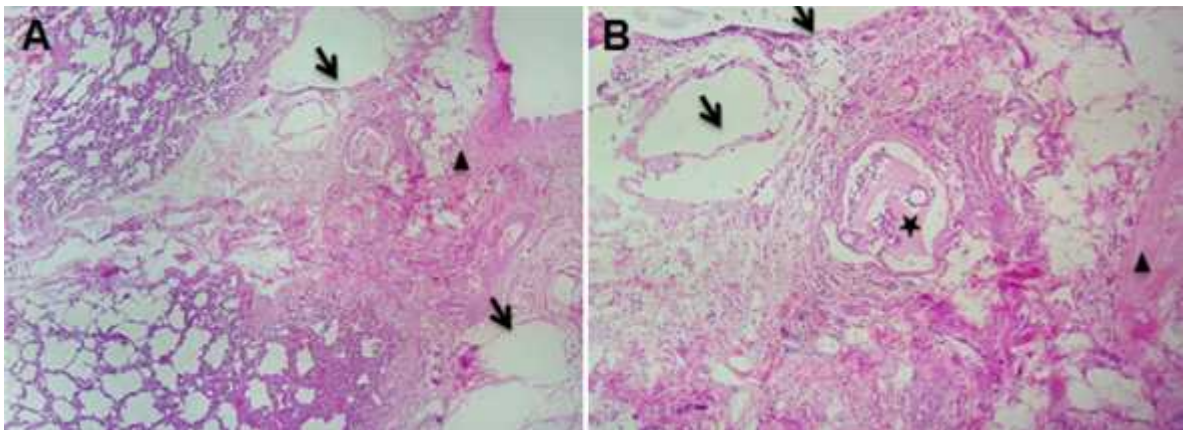
6.3.1 Tejido conectivo y fibrosis pulmonar. La formación de tejido conectivo (tabla 8) se presentó en un 68% para el pulmón izquierdo y un 62,7% para el pulmón derecho. De igual manera se presentó fibrosis pulmonar (tabla 8) en un 13.3 % en pulmón izquierdo y un 10% en pulmón derecho. Esta fibrosis fue focalizada, a diferencia de lo reportado en bovinos lecheros en el departamento de Nariño por Vallejo¹³³ y Chaves¹³⁴, donde la fibrosis fue de mayor extensión y severidad.

Tabla 8. Tejido conectivo

Variable	Pulmón	Desenlace	Frecuencia	%
Tejido conectivo	Izquierdo	No	48	32.0
		Si	102	68.0
	Derecho	No	56	37.3
		Si	94	62.7
Fibrosis pulmonar	Izquierdo	No	130	86.7
		Si	20	13.3
	Derecho	No	135	90.0
		Si	15	10.0

La presencia de tejido conectivo y fibrosis (figura 11) indican una enfermedad de curso largo, si bien no hay compromiso de áreas extensas en vías respiratorias por la presencia de fibrosis focal, si hay daño del epitelio, con zonas no funcionales.

Figura 11. Severa neumonía intersticial linfocítica con fibrosis pulmonar



Pulmón bovino H&E. – figura(A) 4X (B)10X observese la fibrosis focal (cabeza de flecha),enfisema antemortem (flechas) y el secuestro leucocitario(estrella).

¹⁵ VALLEJO. Op. Cit.

¹⁶ CHAVES. Op.cit

6.4 VÍA DE ENTRADA – AFECCIONES LOCALES Y SISTÉMICAS

En cuanto a la vía de entrada (tabla 9) de los agentes causantes de enfermedad se obtuvo como resultado que la vía aerógena – sistémica es la más común en ambos pulmones siendo 80,7% en pulmón izquierdo y 84% en pulmón derecho. Odeón¹³⁵ afirma que eventos asociados a estrés tales como hacinamiento, cambios de alimentación, destete, entre otros, sería una de las principales causas de la afección del sistema de defensa inmunitario del animal, lo que provoca que se presente este tipo de enfermedades.

Tabla 9. Posible vía de entrada en pulmón derecho e izquierdo

Variables	Desenlace	Frecuencia	%
Izquierdo	Aerógena	24	16.0
	Aerógena-sistémica	121	80.7
	NA	2	1.3
	Sistémica	3	2.0
Derecho		1	.7
	Aerógena	20	13.3
	Aerógena-sistémica	126	84.0
	NA / ND	2	1.3
	Sistémica	1	.7

6.4.1 Falla cardiaca. Cuando se presenta falla cardiaca izquierda hay un flujo retrogrado donde se presenta extravasación de eritrocitos al espacio alveolar y lisis por parte de los macrófagos alveolares (células de falla cardiaca) con acumulación de pigmentos derivados de la hemoglobina (tabla 10, figura 12) libres en el espacio alveolar.

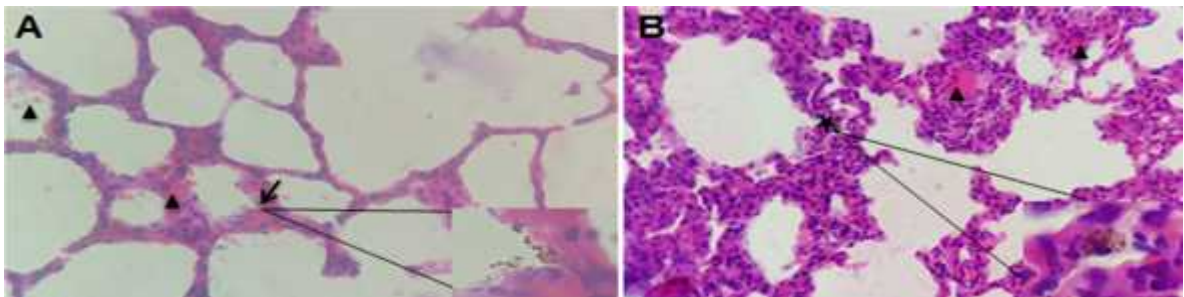
Tabla 10. Pigmentos derivados de la hemoglobina

Variable	Desenlace	Frecuencia	%
Derecho	No	139	92.7
	Si	11	7.3
Izquierdo	No	133	88.7
	Si	17	11.3

¹¹⁶ ODEON, Anselmo. Enfermedad respiratoria bovina ¿Qué es posible hacer? 2012

En la lectura microscópica de las muestras se encontró en ambos pulmones pigmentos derivados de la hemoglobina en pulmón derecho con 7,3% y en pulmón izquierdo con 11,3% (tabla 10), lo que sugiere procesos de insuficiencia cardiaca izquierda, pero a diferencia de lo encontrado por Chaves¹³⁶, en este estudio si se encontraron células de falla cardiaca en pulmón derecho un 3.3% y en pulmón izquierdo un 1,3% (tabla 11). Se recomienda tomar muestras de musculo cardiaco para establecer un mejor diagnóstico.

Figura 12. Pigmentos derivados de la hemoglobina



Pulmón bovino. Moderada neumonia intersticial H&E. – (A)(B) 40X Nótese la presencia de pigmentos derivados de la hemoglobina (cabeza de flecha), se evidencia antracosis (flecha) y en la figura (B) se observa citoplasma de un macrófago con presencia de pigmentos derivados del carbono evidenciándose también la antracosis (estrella).

Tabla 11. Falla cardiaca izquierda

Variable	Desenlace	Frecuencia Derecho	%	Frecuencia Izquierdo	%
Falla cardiaca	No	145	96.7	No	147
	Si	5	3.3	Si	2
Células falla cardiaca	No	No	145	148	98.7
	Si	Si	5	2	1.3
ICC* Izquierda	No	No	146	147	98.0
	Si	Si	4	3	2.0

* ICC = Insuficiencia cardiaca congestiva

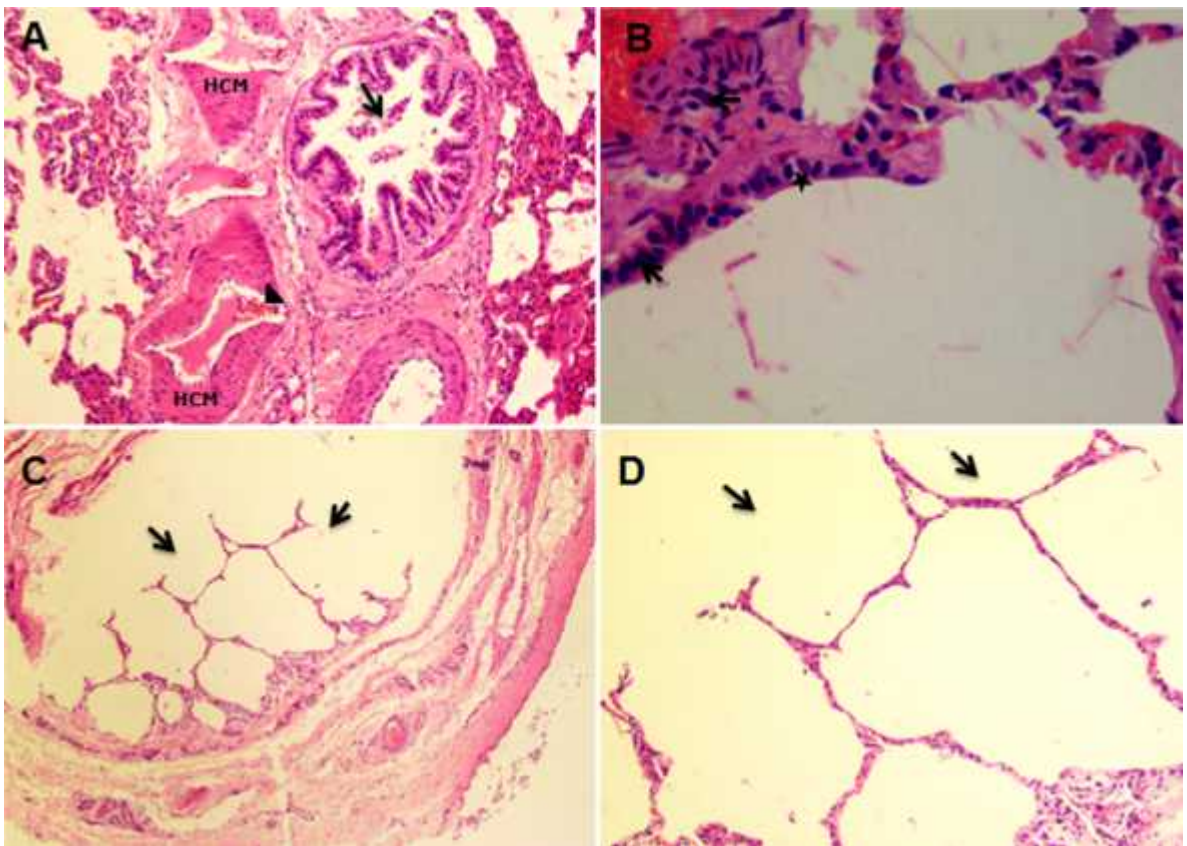
6.4.2 Procesos sistémicos – Secuestro leucocitario. Los resultados obtenidos para secuestro leucocitario (tabla 12, figura 13) indican que para pulmón izquierdo fue del 38% y para pulmón derecho fue de 27,3%. Este hallazgo muestra que se desarrollaron procesos sistémicos distantes a pulmón que involucran una respuesta inmune en el lugar donde se presenta el secuestro leucocitario.

¹¹⁵ CHAVES Y QUINTERO. Op.Cit. pag.86

Tabla 12. Secuestro leucocitario pulmón izquierdo y derecho

Variables	Desenlace	Frecuencia	Porcentaje
Izquierdo	No	93	62.0
	Si	57	38.0
Derecho	No	109	72.7
	Si	41	27.3

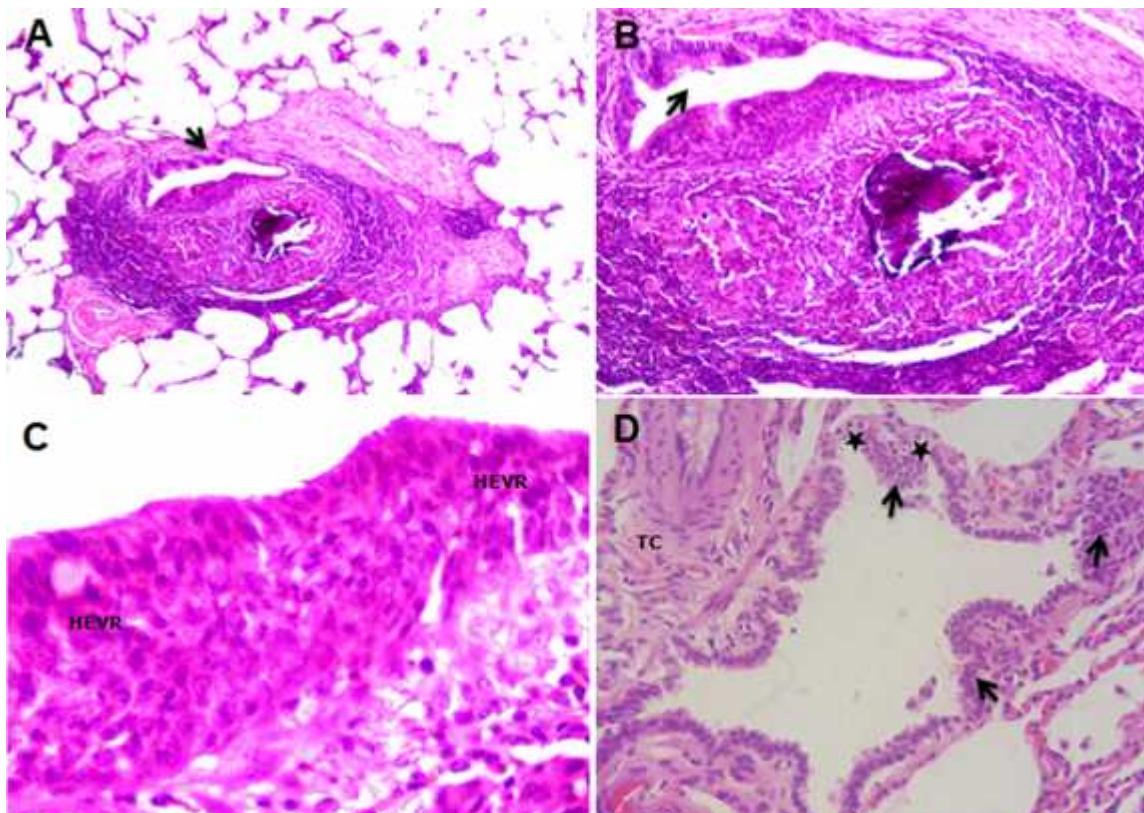
Figura 13. Secuestro leucocitario



Pulmón bovino H&E. – figura (A) 4X observese detritos (flecha),secuestro leucocitario(cabeza de flecha) ,moderada hipertrofia de la capa media arterial (HCM), figura (B) 40X notese los cambios degenerativos, muerte celular(flecha) y vacuolizacion (estrella), figura (C)4X (D)10X observese el enfisema pulmonar(flechas).

6.4.3 Bronquitis obliterante. Para Caswell¹³⁷ el daño tisular causado por una infección conlleva a acúmulos de tejido fibroso que ocluyen parcialmente la luz bronquiolar (figura 14). En la tabla 13 se muestra la distribución de bronquiolitis obliterante en pulmón derecho (1,3%) e izquierdo (4%).

Figura 14. Bronquiolitis obliterante



Pulmón bovino. Moderada neumonía intersticial linfocítica subaguda H&E. – figuras (A)4X (B)10X observese la bronquiolitis obliterante (flechas). Figura (C)40X se puede observar una leve hiperplasia de epitelio de vías respiratorias (cabeza de flecha). (D) 40X focos con hiperplasia de epitelio bronquiolar (flecha) se evidencia tejido conectivo (TC) y vacuolización (estrella).

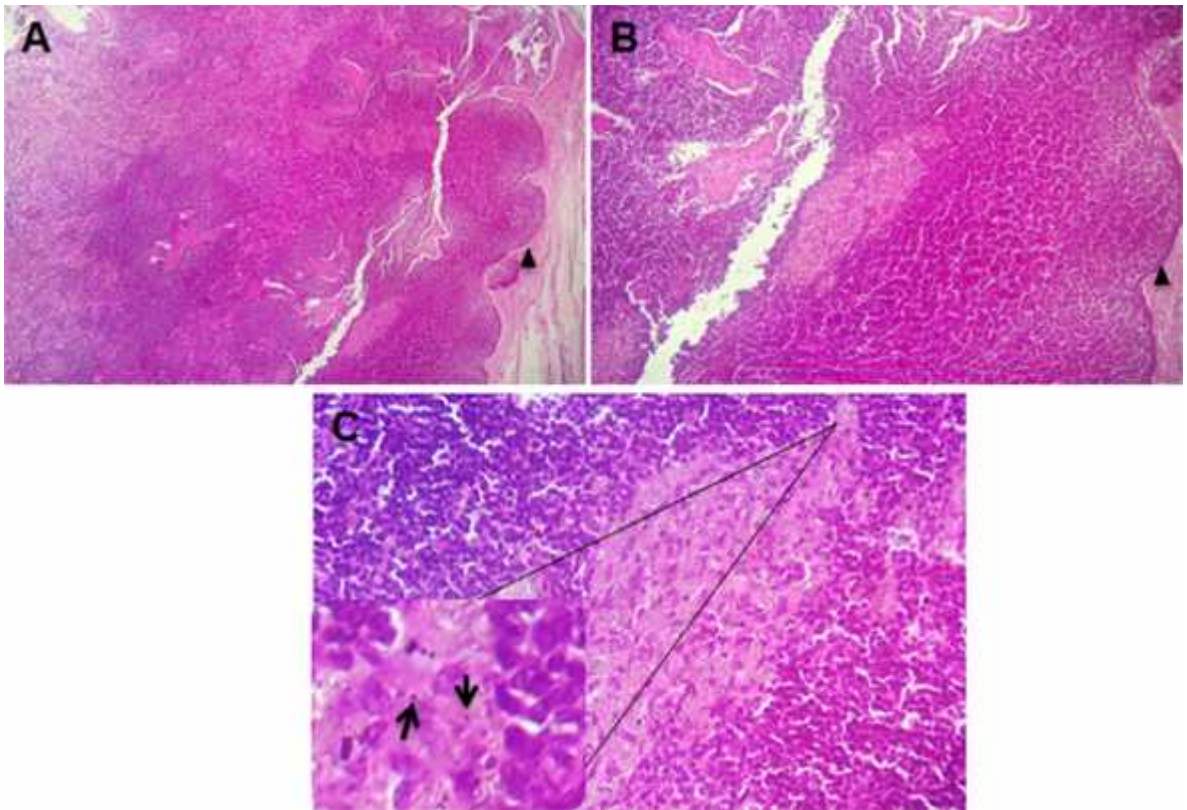
Tabla 13. Bronquiolitis obliterante en pulmón derecho e izquierdo

Variable	Desenlace	Frecuencia	%
Derecho	No	148	98.7
	Si	2	1.3
Izquierdo	No	144	96.0
	Si	6	4.0

¹¹⁹ CASWELL Op.cit

6.4.4 Antracosis. “En la antracosis (tabla 14, figura 15) se encuentran partículas de carbón como pigmento negro en tejidos, siendo los más comunes pulmón y linfonodos. Este pigmento es fagocitado por medio de macrófagos alveolares y neumocitos tipo I los cuales drenaran a través de vasos linfáticos hasta los linfonodos regionales donde se almacenaran, el depósito en los linfonodos forma bajo la pleura una red conocida como antracosis reticular y donde permanecerá este mineral”¹³⁸. Pocos han sido los estudios realizados al respecto en ganado bovino, pero se sugiere que la predisposición del ganado a polución es el factor desencadenante primario de depósitos minerales en vías pulmonares. Los resultados encontrados en este estudio para antracosis fueron de 3,3% (pulmón izquierdo) y 0,75 (pulmón derecho).

Figura 15. Antracosis



Pulmón bovino. Nódulo linfático reactivo H&E. – (A)4X, (B)10X. Se evidencia reacción del seno subcapsular. (C) 40X se observa Antracosis con presencia de cristales (pigmentos de carbón) (flechas).

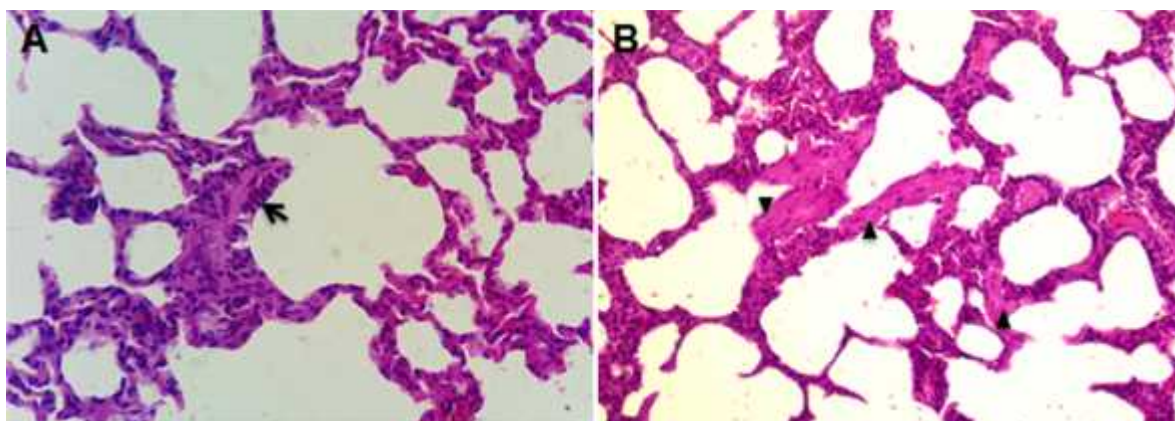
²⁰ Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de estudios superiores – Cuautitlán. Sección de ciencias de la salud animal. Guía de calcificación y pigmentos. Pág. 2

Tabla 14. Antracosis pulmón izquierdo y derecho

Variables	Desenlace	Frecuencia	%
Izquierdo	No	145	96.7
	Si	5	3.3
Derecho	No	149	99.3
	Si	1	.7

6.4.6 Fetalización y membranas hialinas. La fetalización y membranas hialinas (figura 16) se presentan en procesos agudos (tabla 15).

Figura 16. Fetalizacion y membranas hialinas



Pulmón bovino. Severa neumonía intersticial linfocítica H&E. – Figura (A) 40X notese la fetalizacion de neumocitos tipo 1 (flecha). (B)10X membranas hialinas (flechas)

Tabla 15. Fetalización, membranas hialinas pulmón izquierdo y pulmón derecho

Variable	Desenlace	Frecuencia	%
Derecho	Fetalización	6	4.0
	Fetalización y Membranas H.	2	1.3
	Membranas hialinas	7	4.7
	No	135	90.0
Izquierdo	Fetalización	5	3.3
	Membranas hialinas	6	4.0
	No	139	92.7

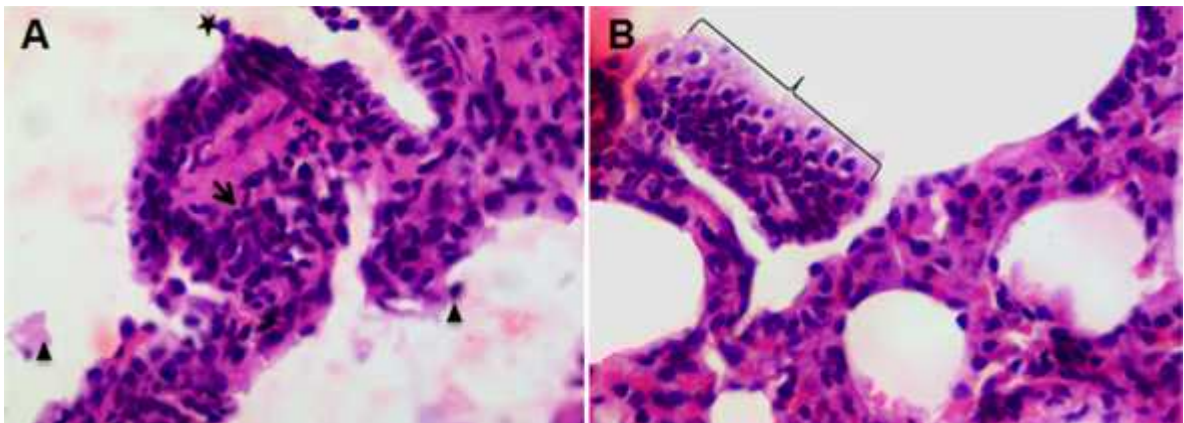
6.4.7 Necrosis de coagulación. Este es un hallazgo sugestivo de la presencia de *Mannheimia haemolytica* como posible agente primario de las afecciones. En pulmón derecho hubo un hallazgo del 0,7% al igual que en pulmón izquierdo¹³⁹.

Tabla 16. Necrosis de coagulación

Variables	Desenlace	Frecuencia	%
Derecho	No	149	99.3
	Si	1	.7
Izquierdo	No	149	99.3
	Si	1	.7

6.4.8. Hiperplasia del epitelio de vías respiratorias HEVR. Esto nos indica la entrada de un agente por vía aérea con la posible participación concomitante de agentes virales en las lesiones de los cuales no podemos descartar el VRSB, Parainfluenza 3 y HPVB-1 (tabla 17).

Figura 17. Hiperplasia del epitelio de vías respiratorias



Pulmón bovino H&E. – (A)(B)40X Notese una severa hiperplasia del epitelio respiratorio(flecha y corchete), cambios asociados a muerte celular (cabeza de flecha) y detritus (estrella).

La hiperplasia del epitelio de vías respiratorias (HEVR) que se encontró con mayor frecuencia fue moderada con un 54% para pulmón izquierdo y un 46.7% para el pulmón derecho seguido de una leve HEVR en los dos pulmones.

²¹ RIVADENEIRA LOJA. Op. Cit.

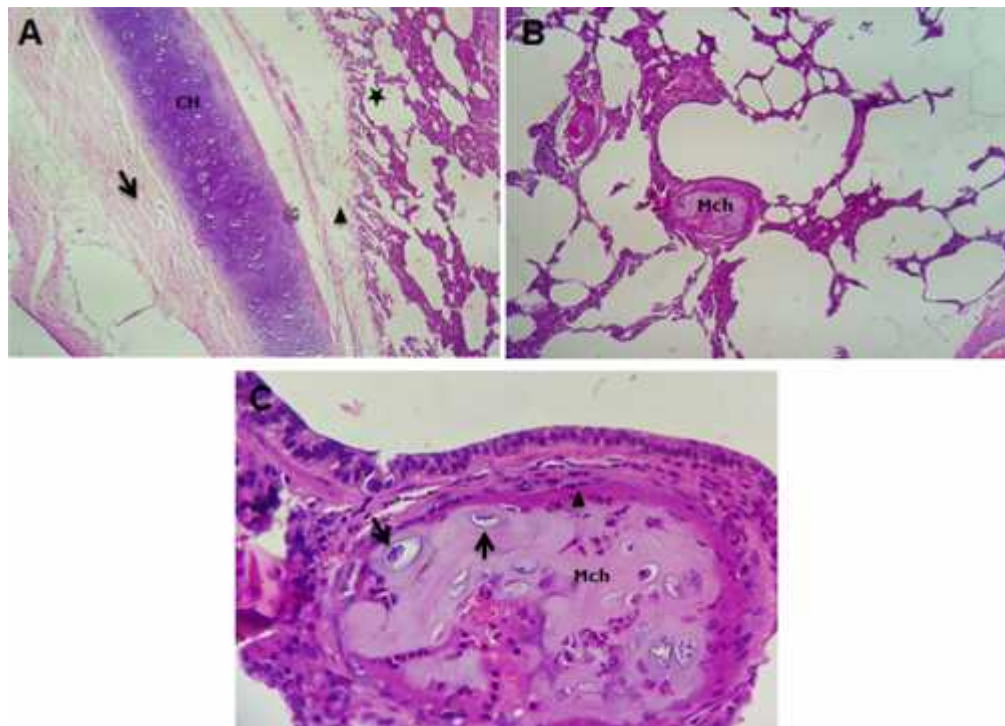
Tabla 17. Hiperplasia del epitelio de vías respiratorias

Pulmón	Variables	Desenlace	Frecuencia	%
Izquierdo	HEVR	Leve	42	28.0
		Moderada	81	54.0
		No	13	8.7
		Severa	14	9.3
Derecho	HEVR	Leve	50	33.3
		Moderada	70	46.7
		No	17	11.3
		Severa	13	8.7

6.5 OTRAS LESIONES ENCONTRADAS

6.5.1 Metaplasia de cartílago en pleura.

Figura 18. Metaplasia de cartilago en pleura con formacion de osteoide

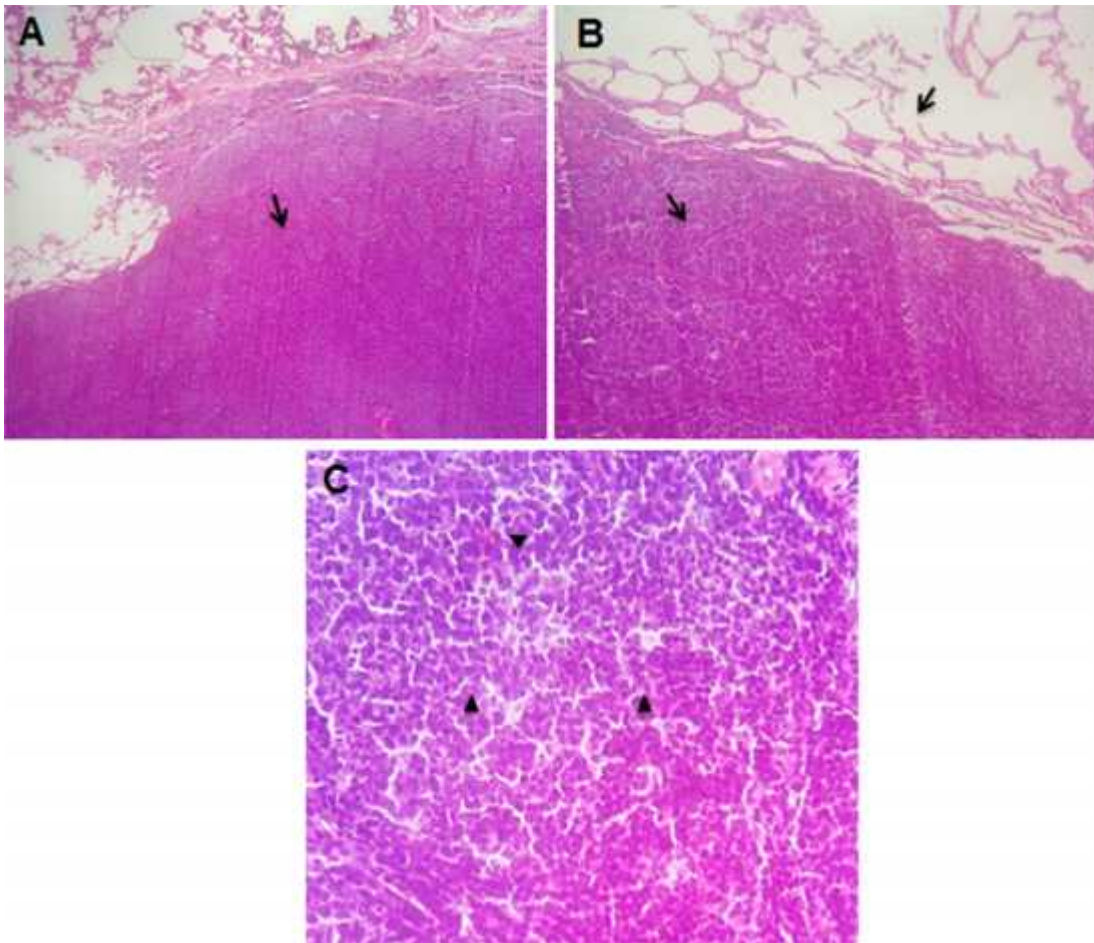


Pulmón bovino H&E. – figura (A) 10X observe pleura parietal (flecha), pleura visceral (cabeza de flecha), cartilago hialino (CH) y parenquima pulmonar (estrella). en la figura (B)10X C) 40X notese metaplasia del cartilago hialino (Mch) con formacion de osteoide, condrocitos (flechas) y condroblastos(cabeza de flecha).

En la figura 18, se puede observar la metaplasia de tejido conectivo a cartílago y osteoide correspondiente a un osteoma de carácter benigno¹⁴⁰; el reporte de estos hallazgos en bovinos es escaso. Esta metaplasia se puede originar a partir de un área lesionada en la mucosa y muchas veces este tipo de lesiones se consideran metástasis. Sin embargo la lámina permite evidenciar el cambio de tejido conectivo a tejido cartilaginoso y la posterior formación de osteoide.

6.5.2 Metastasis de neoplasia de linea linfoide

Figura 19. Metástasis de neoplasia de linea linfoide

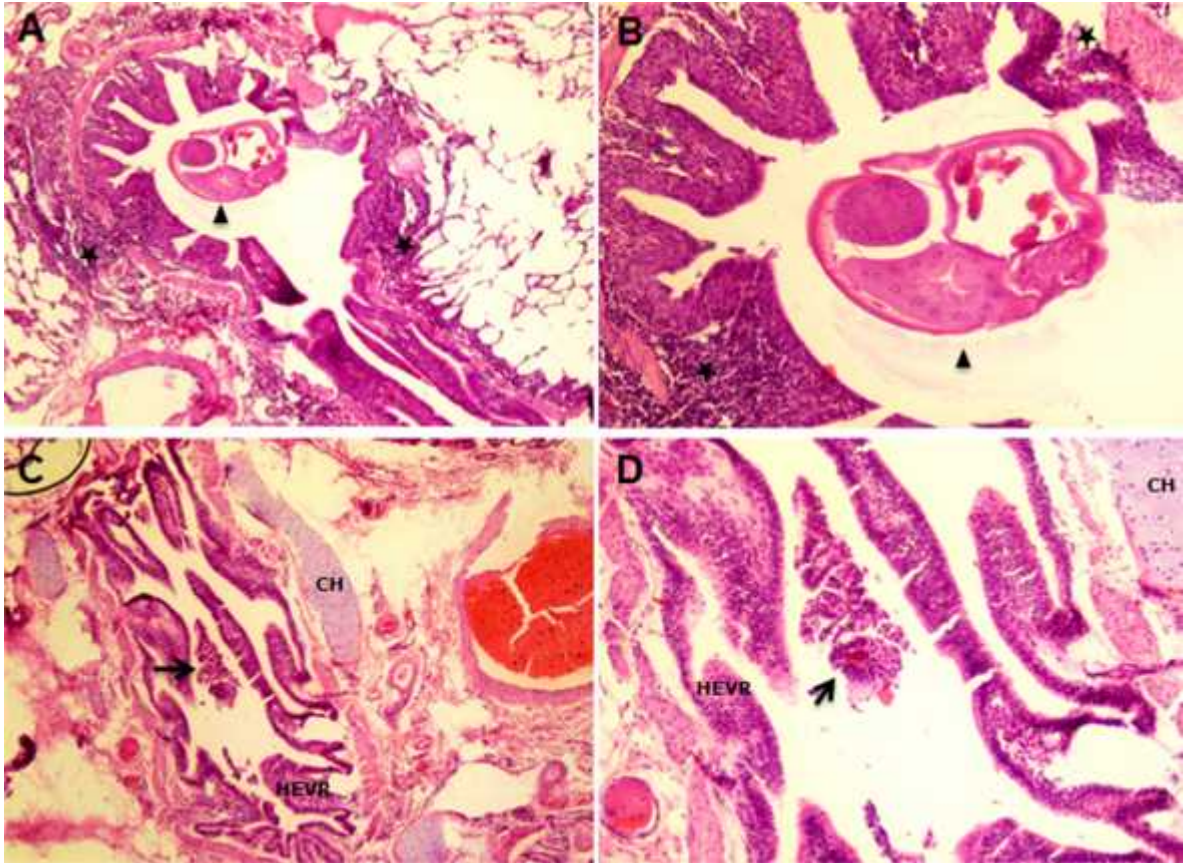


Pulmón bovino H&E. – figura (A)4X Nótese la proliferación celular de tipo neoplásico lo cual es indicativo de Metástasis de neoplasia de origen linfoide (flecha). 10X (B).parénquima pulmonar (flecha) 10X (C) células neoplásicas (cabeza de flechas).

²² RODRIGUEZ J, THOMAS N, DUBIELZIG R.. Osteosarcoma of the maxila whit Concurrent Osteoma in a Southern Sea Otter. Elsevier 2012. Vol. 147 pag. 391-396

6.5.3 Leve bronconeumonía intersticial y verminosa

Figura 20. Leve bronconeumonía Intersticial y Verminosa



Pulmón bovino H&E. – (A)4X (B)10X Notese la presencia de estructura parasitaria compatible con un nematodo (cabeza de flecha) , se observa una bronquitis con infiltrado inflamatorio debido a la reaccion de hipersensibilidad que causan estos dichos parasitos, causando un proceso irritativo.(estrellas) hiperplasia epitelial de los bronquios (estrella). Se aprecia peribronquiolitis con zonas de atelectasia. En la figuras (C)4X (D)10X se observa infiltrado inflamatorio dentro del lumen bronquial (flechas),focos de hiperplasia de hepitelio de vias respiratorias (HEVR).

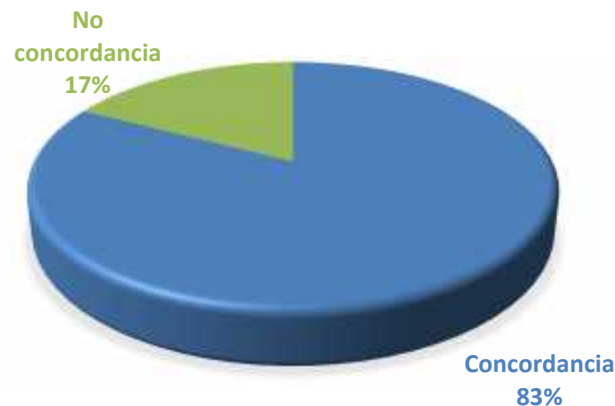
6.6 CONCORDANCIA EN EL DIAGNÓSTICO

En cuanto a los diagnósticos presentados tanto en pulmón derecho como izquierdo (figura 21) hubo concordancia en un 82,667% de los casos siendo diferente el diagnóstico en solo un 17,33% de los casos. Con una hipótesis nula (H_0) de que las muestras no son independientes entre sí y con un valor de p de 0,0001; podemos afirmar que no hay diferencia significativa en los diagnósticos entre pulmón izquierdo y pulmón derecho (tabla 18).

Tabla 18. Diferencia de proporciones. Concordancia en el diagnóstico entre pulmón izquierdo y derecho

	Concordancia	No Concordancia	Estadístico Z	Valor de p
Número de casos	124	26		
Tamaño muestra	150	150	11,2006	0,0001
Proporción	82.667	17.333		

Figura 21. Concordancia del diagnóstico entre pulmón izquierdo y pulmón derecho



6.7 CONCORDANCIA EN EL DIAGNOSTICO DE SEVERIDAD DE LAS LESIONES

6.7.1. Concordancia en el diagnóstico. Se pudo establecer que el diagnóstico de severidad de las lesiones fue diferente. El grado de severidad de las lesiones (figura 22) fue el mismo en el 43% de los casos. Las lesiones fueron más severas en pulmón izquierdo que en derecho (34% y 23% respectivamente).

Con respecto a la concordancia en el diagnóstico de la severidad, no hubo concordancia en el 56,66% de los casos (tabla 17). La prueba de diferencia de proporciones, con un valor de $p = 0,128$ acepta la hipótesis alterna (las muestras son independientes). Existe diferencia significativa en la concordancia del diagnóstico de severidad de las lesiones entre pulmón izquierdo y derecho, siendo mayor el daño tisular en pulmón izquierdo en comparación al pulmón derecho.

Figura 22. Grado de severidad de las lesiones entre pulmón izquierdo y pulmón derecho

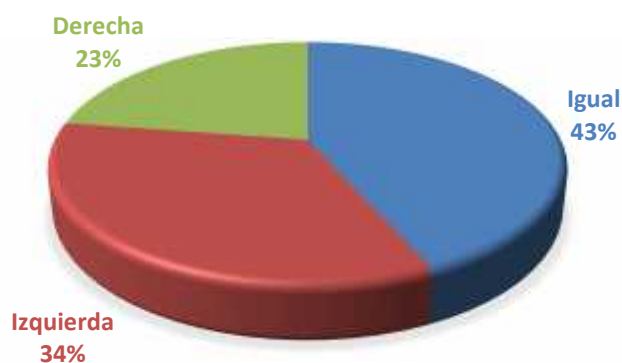


Tabla 19. Concordancia en la severidad

	Concordancia	No Concordancia	Estadístico Z	Valor de p
Número de casos	65	85		
Tamaño muestra	150	150	2,196	0,1281
Proporción	43.333	56.667		

Esto nos permite determinar que el grado de severidad de las lesiones tiene suma importancia debido a que animales que tengan una leve severidad en un pulmón pueden presentar una mayor daño tisular en el otro, por lo tanto, a pesar de no diferir en el diagnóstico general y teniendo en cuenta el grado de severidad, se recomienda la toma de muestras y evaluación tanto del pulmón derecho como izquierdo.

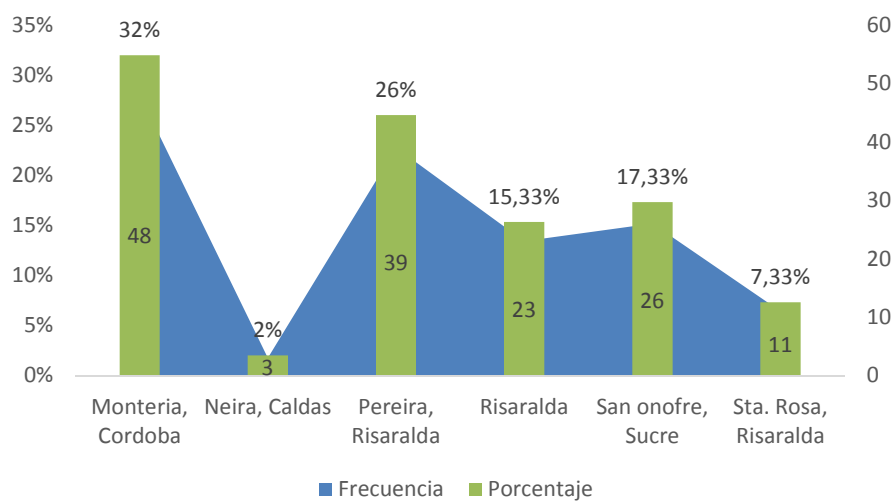
6.8 DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE LAS LESIONES

En la tabla 20 se observa la distribución geográfica de los hallazgos (figura 23). En general, la distribución de los animales fue proporcional en las zonas evaluadas, con un promedio de 25 animales por zona, con excepción de Neira, Caldas, de donde se reporta la procedencia de únicamente 3 animales (figura 23).

Tabla 20. Tabla de frecuencias – Distribución geográfica

Localización	Diagnóstico	Frecuencia	%
Montería, Córdoba	Neumonía Intersticial	41	27.33
	Neumonía/bronco-neumonía Intersticial	3	2.00
	Bronconeumonía intersticial	1	0.67
	Bronconeumonía fibrinonecrotica	1	0.67
	Bronconeumonía intersticial verminosa	1	0.67
	Pleuroneumonía intersticial	1	0.67
Neira, Caldas	Neumonía Intersticial	2	1.33
	Neumonía/bronconeumonía Intersticial	1	0.67
Pereira, Risaralda	Neumonía Intersticial	33	22.00
	Neumonía/bronconeumonía Intersticial	3	2.00
	Aparentemente sano	2	1.33
	Pleuroneumonía intersticial	1	0.67
Risaralda	Neumonía Intersticial	15	10.00
	Neumonía/bronconeumonía Intersticial	4	2.67
	Pleuroneumonía intersticial	4	2.67
San onofre, Sucre	Neumonía Intersticial	23	15.33
	Neumonía/bronconeumonía Intersticial	2	1.33
	Bronconeumonía intersticial	1	0.67
Sta. Rosa, Risaralda	Neumonía Intersticial	11	7.33
		150	100

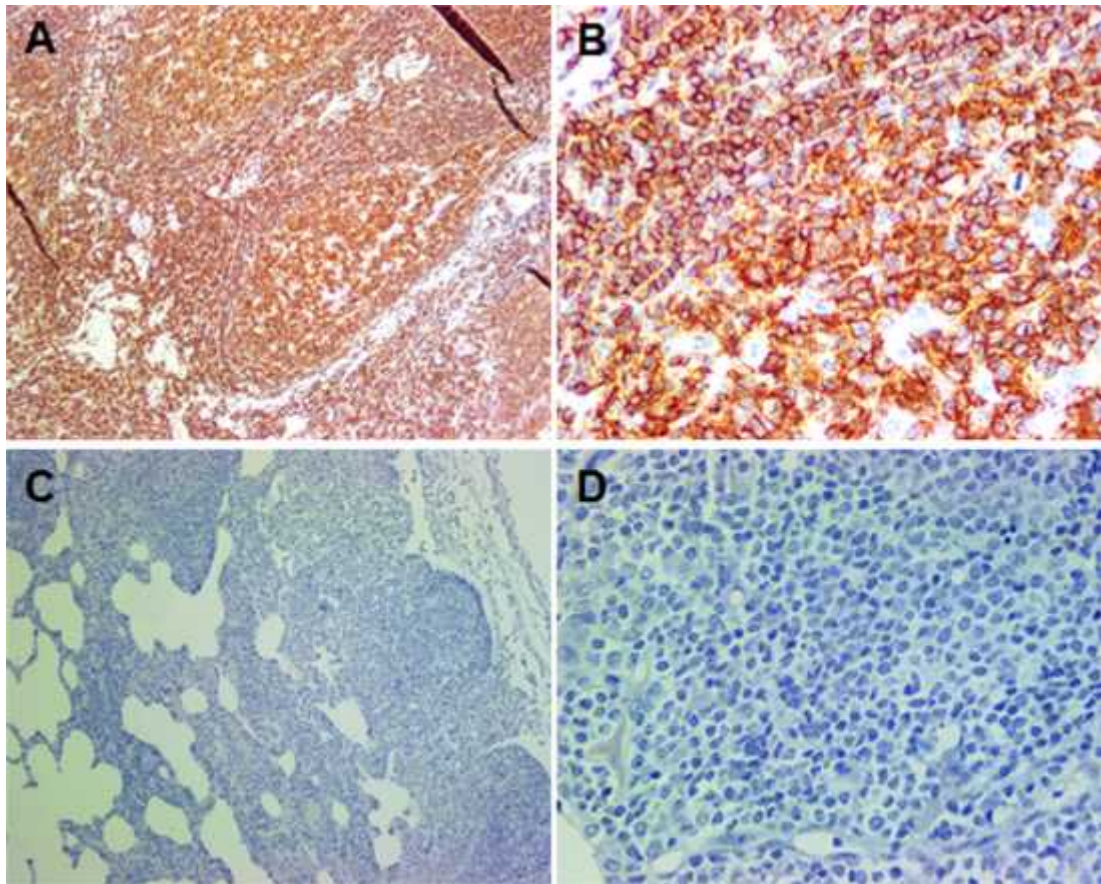
Figura 23. Distribución geográfica de las lesiones



6.9. DESCRIPCIÓN DE HALLAZGOS MICROSCÓPICOS MEDIANTE EL USO DE TÉCNICAS DE TINCIÓN ESPECIAL Y DIAGNÓSTICO MOLECULAR

6.9.1. Metástasis pulmonar asociada a linfoma de células T. Las neoplasias de origen linfoide en bovinos casi no son descritas, exceptuando linfomas asociados a agentes infecciosos en regiones endémicas, como el virus de la leucosis bovina. El impacto económico de la enfermedad se atribuye a los decomisos por tumores, ineficiencia reproductiva y baja producción lechera (Chaves y Quintero).

Figura 24. Marcador CD45

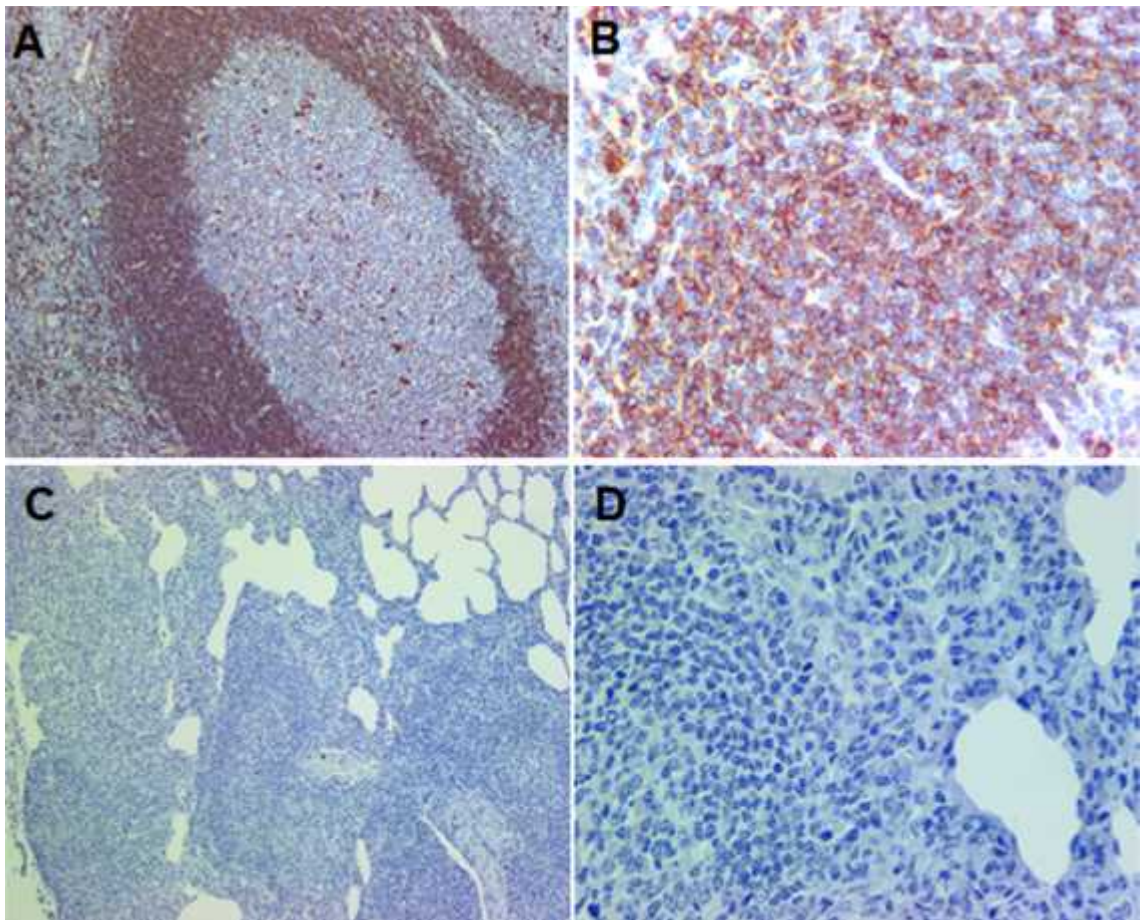


INHQ CD45 Dako®. Microfotografía (A)10X (B)40X. Caso control positivo; se observa la inmunomarcación intracitoplasmática que identifica que es un foco de células mononucleares (linfocitos). Pulmón bovino H&E. – (A)10X (B)40X; no evidencia inmunomarcación.

En este estudio se presentó el caso de un bovino proveniente de Montería con neumonía intersticial y la presencia de un foco de metástasis pulmonar de una neoplasia de origen linfoide. Para confirmar dicho diagnóstico, se realizó inmunohistoquímica con los marcadores CD45 Dako®, CD79a Dako® y CD3 Dako®.

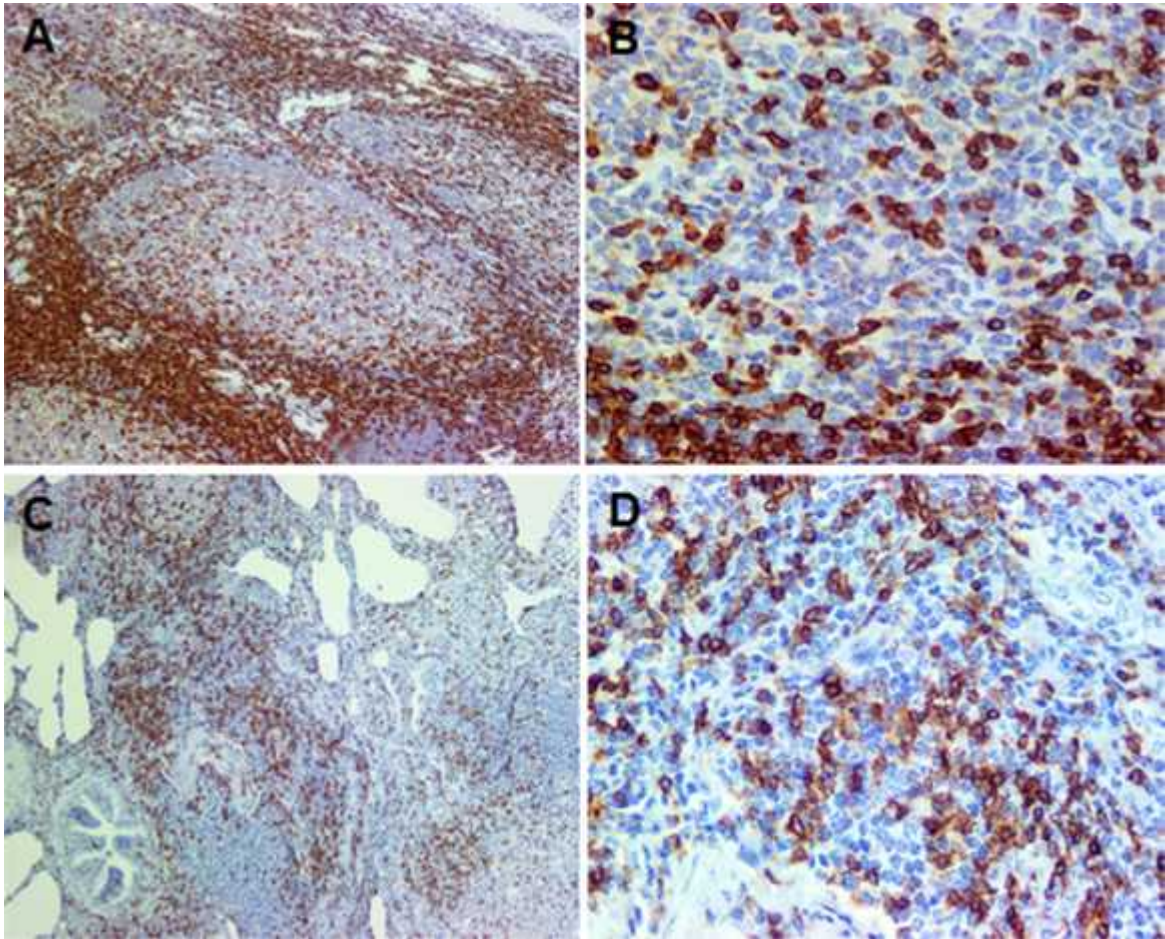
Las neoplasias son enfermedades linfocitarias que se caracterizan por la presentación tumoral donde hay proliferación neoplásica linfocítica difusa en ganglios linfáticos los cuales provocan metástasis en órganos y tejidos distantes. Para determinar la línea linfoide involucrada en el proceso neoplásico se recurre al diagnóstico con marcadores inmunohistoquímicos monoclonales dirigidos contra anticuerpos humanos CD45 Dako®, CD79a Dako® y CD3 Dako® en el bloque de parafina de los tejidos obtenidos. En la evaluación de inmunohistoquímica la inmunotinción para CD45 Dako®, que es un marcador que se expresa en líneas celulares linfoides sean B o T se evidenció negatividad, pero el marcador para CD3 Dako® (marcador que expresa líneas celulares linfoides T) fue positiva, por lo tanto estos hallazgos encontrados en inmunohistoquímica permiten proponer un linfoma de células T.

Figura 25. Marcador CD79a



INHQ CD79a Dako®. Microfotografía (A)10X (B)40X. Caso control positivo; se observa nódulo linfático con inmunomarcación intracitoplasmática de células mononucleares (linfocitos). Pulmón bovino H&E. – (A)10X (B)40X. No evidencia inmunomarcación.

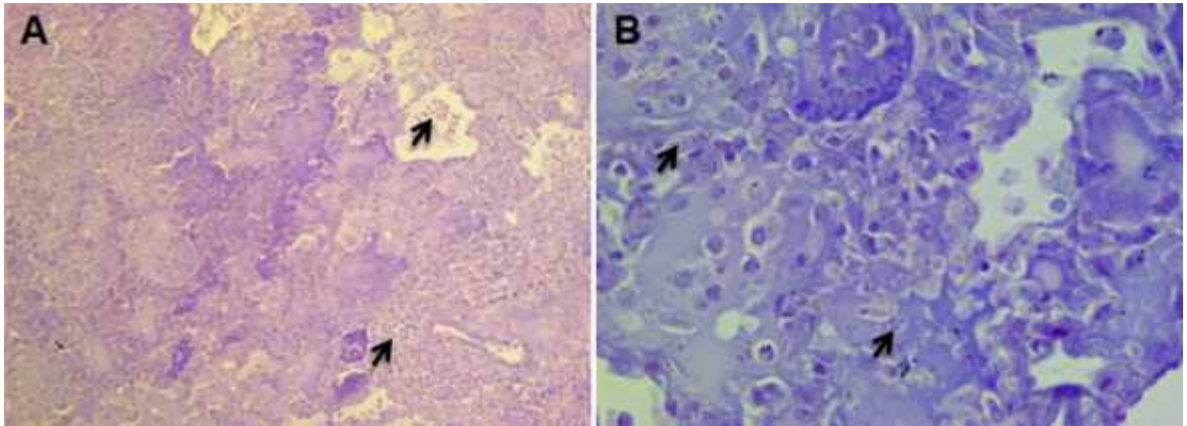
Figura 26. Marcador CD3



INHQ CD3 Dako®. Microfotografía (A)10X (B)40X. Caso control positivo; se observa nódulo linfático con inmunomarcación intracitoplasmática de células mononucleares (linfocitos). Pulmón bovino H&E. – (A)10X (B)40X. Muestra inmunomarcación intranuclear (linfocitos), con lo que se confirma que el origen de la neoplasia es de células T.

6.9.2 Hallazgos asociados a tinción de gram. El diagnóstico morfológico microscópico corresponde a una severa bronconeumonía fibrinonecrótica de un bovino proveniente de Montería, donde las lesiones y celularidad encontradas coinciden con una enfermedad de tipo bacteriana, por lo cual se realizó tinción de gram para diferenciar el tipo de bacterias presentes en el pulmón. El resultado de la tinción especial mostró la presencia de bacterias Gram negativas (-). Estas lesiones junto con los hallazgos en la tinción de Gram son características de infecciones por *Mannheimia haemolytica* por lo cual se podría determinar el diagnóstico en este caso (Figura 27).

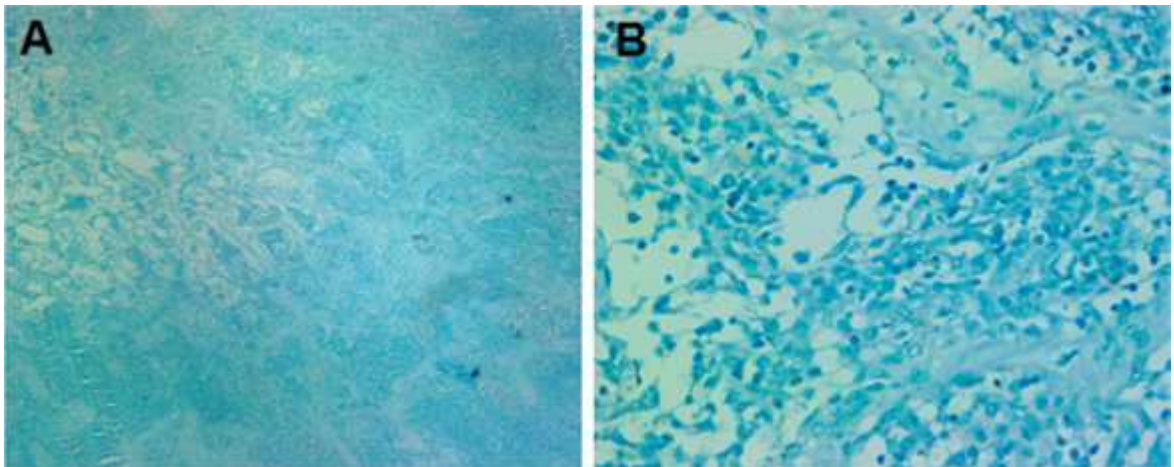
Figura 27. Severa bronconeumonía fibrinonecrótica



Pulmón bovino H&E. – Notese el infiltrado inflamatorio mixto compuesto principalmente por linfocitos, macrófagos y neutrófilos. En la figura (B) 40X se puede observar múltiples y extensas áreas de necrosis de coagulación con presencia de estructuras con morfología de cocobacilos compatibles con colonias bacterianas (flecha) las cuales se tiñen de color rosa pálido lo que nos determina que son bacterias gram (-).

6.9.3 Coloración de Ziel Nielsen – Fibrosis pulmonar

Figura 28. Coloración de Ziehl Nielsen

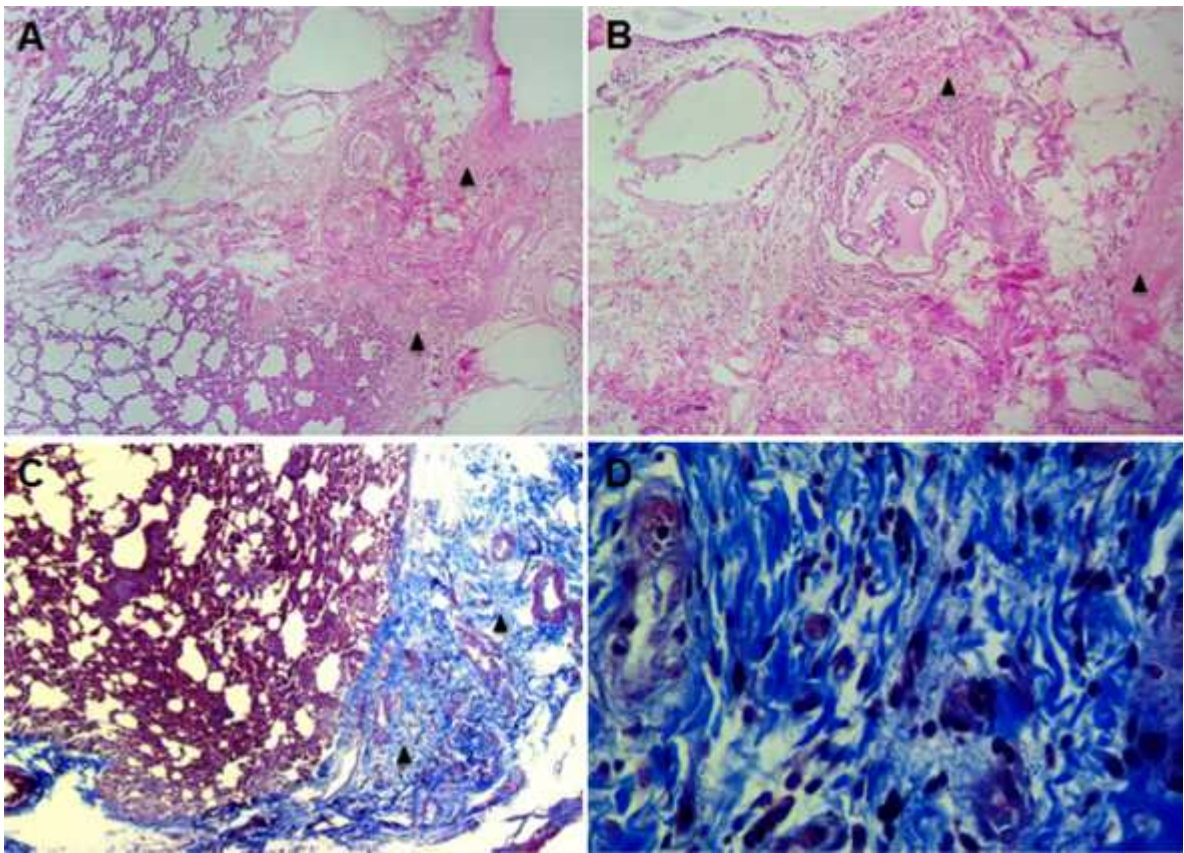


Pulmón bovino. Coloración de Ziehl Nielsen – (A) 4X (B) 40X. Moderada neumonía intersticial granulomatosa; no se observan bacilos ácido alcohol resistentes (*Mycobacterium sp.*), por lo tanto es negativa para tuberculosis bovina.

Las etiologías más comunes para que un bovino presente neumonía granulomatosa son: *Mycobacterium spp.*, micosis sistémicas, parásitos o partículas extrañas. En este estudio se realizó tinción especial de Ziehl Nielsen a un bovino proveniente de Pereira con diagnóstico de neumonía granulomatosa.

Esta tinción permite evidenciar la presencia de bacterias ácido alcohol resistentes tales como *Mycobacterium spp.*, agente etiológico de la tuberculosis. En este caso el resultado de la tinción fue negativo, permitiendo descartar la presencia de la enfermedad. A partir de esto se recomienda realizar tinción especial con ácido peryódico de Schiff (PASS) que se utiliza para valorar la degeneración fibrinoide y facilita la visualización de agentes infecciosos que incluyen hongos, parásitos y bacterias.

Figura 29. Fibrosis pulmonar – Tricrómica de Masson



Pulmón bovino. Fibrosis pulmonar H&E. – (A)4X (B)10X (C)4X(D)40X Nótese la Severa y extensa formación de tejido conectivo (cabeza de flecha). En la figura (C)4X (D)40X TRICRÓMICA DE MASSON; se observa los fibroblastos teñidos de color azul. En la tinción diferencial se puede observar claramente la coloración de las fibras de colágeno lo cual es sugestivo de fibrosis pulmonar.

La tinción especial tricrómica de Masson permite visualizar claramente las fibras de colágeno que se forman en la fibrosis pulmonar. En este estudio se encontró fibrosis focal que indica que la enfermedad es de curso largo, si bien no hay compromiso de áreas extensas en vías respiratorias, si hay daño del epitelio, con zonas no funcionales.

7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

7.1. CONCLUSIONES

- En cuanto a las características microscópicas de los patrones neumónicos se encuentra en un mayor porcentaje para pulmón derecho una moderada Neumonía intersticial linfocítica crónica con un 39,3%, seguido de una severa neumonía intersticial linfocítica crónica con un 30%; a diferencia del Pulmón izquierdo donde el mayor porcentaje fue una severa neumonía intersticial linfocítica crónica con un 40% y posterior a esta una Leve neumonía intersticial linfocítica crónica con un 10,6%.
- El grado de severidad de las lesiones entre los dos pulmones no presento concordancia siendo en un mayor porcentaje severa en pulmón Izquierdo y moderada en pulmón derecho, esto nos indica que es de suma importancia el muestreo de los dos pulmones debido a que animales que tengan una leve severidad en un pulmón pueden presentar una mayor daño tisular en el otro.
- En los hallazgos según vía de entrada de los agentes causantes de enfermedad se obtuvo como resultado que la vía aerógena – sistémica es la más común en ambos pulmones siendo 80,7% en pulmón izquierdo y 84% en pulmón derecho.
- Las alteraciones crónicas fueron predominantes en un 90% para el pulmón izquierdo y un 88% para el pulmón derecho, lo que nos indica que hubo concordancia en cuanto a la cronicidad entre los dos pulmones. Estas lesiones son indicativas de procesos de curso largo de la enfermedad.
- Para el caso de bronconeumonía intersticial supurativa se realizó tinción de gram para determinar los agentes sugestivos a una etiología bacteriana concomitante, el cual nos reveló bacterias gram (-) lo que nos indica que puede ser *Mannheimia Hemolítica* o *Pasteurella multocida*. La *Mannheimia haemolytica* es la bacteria más patógena y más comúnmente asociada con el complejo de las enfermedades respiratorias de los bovinos, particularmente con la mannheimiosis bovina siendo un habitante normal de las criptas de las tonsilas del bovino sano donde además es un importante agente oportunista del tracto respiratorio debido a que usualmente coloniza la parte alta de las vías respiratoria, bajo ciertas condiciones de inmunosupresión del huésped, afecta sus mecanismos de defensa, lo cual permite que la bacteria se establezca y se multiplique rápidamente, penetre a los pulmones durante la inhalación e inicie una infección activa del epitelio alveolar.

- En cuanto a la evaluación con inmunohistoquímica, la inmunotinción para CD45 Dako®, (marcador que se expresa en líneas celulares linfoides sean B o T) se evidenció negatividad, pero el marcador para CD3 Dako® (marcador que expresa líneas celulares linfoides T) fue positiva, por lo tanto estos hallazgos encontrados en inmunohistoquímica permiten proponer un linfoma de células T.
- Según la localización y distribución geográfica de los animales, la distribución fue proporcional en las zonas evaluadas, con un promedio de 25 animales por zona, con excepción de Neira, Caldas, de donde se reporta la procedencia de únicamente 3 animales y en cuanto a la localización por diagnósticos el mayor porcentaje fue neumonía intersticial.
- Si bien los animales de carne son destinados para consumo humano no se encuentran completamente sanos debido a que fueron múltiples las lesiones encontradas y muchas de estas relacionadas a agentes virales por lo tanto no se estaría cumpliendo con lo establecido en la norma.

7.2. RECOMENDACIONES

- Si bien en este estudio se muestrearon tanto pulmón derecho como izquierdo, se recomienda la identificación de cada lóbulo a muestrear con el fin de dar una clasificación e identificación más exacta de las lesiones debido a la variación en cuanto al grado de severidad entre los diferentes lóbulos apical, medio y caudal.
- Además se recomienda tomar muestras de musculo cardiaco ya que en el estudio se encontró células de falla cardiaca e ICC izquierda, lo que nos muestra que probablemente puedan estar involucradas con procesos pulmonares; esto con el fin de precisar los hallazgos histopatológicos.
- También se recomienda tomar tejidos de diferentes órganos que permitan evaluar si hay procesos distantes a sistema respiratorio que puedan estar involucrados y de esta manera precisar un diagnóstico.
- Se recomienda realizar un diagnóstico integral y diferencial utilizando técnicas moleculares como Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) que da una mayor precisión en la identificación de los agentes presentes.
- Se recomienda hacer microscopia de luz polarizada que nos permita determinar si la presencia de cristales son pigmentos de carbón tratándose en este caso de una antracosis pulmonar, siendo indicativo de agentes injuriantes que ingresan y se depositan en el parénquima del tejido pulmonar debido a una posible predisposición a ambientes contaminados con polvo o ceniza.

BIBLIOGRAFÍA

ACKERMAN, Mark. Innate immunity of bovine respiratory disease. En: North America veterinary clinics. Food animal practice. Julio 2010, vol. 26 no. 2, p 215-228.

BAGNIS, Guillermo, et al. Estudio histopatológico, etiológico e inmunohistoquímico de lesiones compatibles con neumonías intersticiales en el ganado bovino. En: Revista de medicina veterinaria. Septiembre, 2006. vol. 7, no. 9, p. 1-7.

BEDNAREK, Dariusz; DUDEK, Katarzyna y SZYMA SKA, Monika. Bovine Respiratory Syndrome. Etiopathogenesis, diagnosis and control. En: Journal of National Veterinary Research Institute. Enero, 2012. vol. 32, p. 363–378.

BETANCOURT, César; RODAS, Juan; GONZÁLEZ, Marco. Seroepidemiología del virus Sincitial Respiratorio Bovino en el municipio de Montería, Colombia. En: Revista MVZ Córdoba. Abril, 2011, vol. 16 no. 32, p. 2772- 2773.

_____ Seroepidemiología de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en el municipio de Montería, Colombia. En: Revista MVZ Córdoba. Julio – Diciembre, 2006, vol. 11 no. 2, p. 830- 836.

BLOOD, Douglas; HENDERSON James y RADOSTITS Otto. Veterinary Medicine. A Textbook of the Diseases of Cattle, Sheep, Pigs and Horses. 5 ed. London: Bailliere Tindall, 1979. p. 487-496.

BROADGEN, Kim y GUTHMILLER Janet. Respiratory Viruses and Bacteria in Cattle. En: Polymicrobial Diseases. Washington D.C.: ASM Press, 2002, p 1-13. Disponible en: www.NCBI.nlm.nih.gov/NBK2480/?report=printable

CASWELL, Jeff and WILLIAMS, Kurt. Respiratory system. En: Jubb, Kennedy, and Palmer's pathology of domestic animals. 5 ed. Davis, Elsevier, 2007. p. 526-750.

FERNÁNDEZ, S. Elementos básicos en el diseño de un estudio. Unidad de Epidemiología Clínica y Bioestadística. Complejo Hospitalario Juan Canalejo. Coruña (España) Cad Aten Primaria 2006; Vol. 3, p 83-85.

FULTON, Robert, *et al.* Lung pathology and infectious agents in fatal feedlot pneumonias and relationship with mortality, disease onset, and treatments. En: Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. Abril, 2009. vol. 21, no. 4, p. 465-480.

GODSON, Dale. *et al.* Serum haptoglobin as an indicator of the acute phase response in bovine respiratory disease. En: Veterinary immunology and immunopathology. Junio, 1996, vol. 51 no. 3. p. 279.

GORDON, Bale and HADDAWILF, Mary. If Lung Defenses are this Sophisticated, Why is Bronchopneumonia so Pervasive? En: North America veterinary clinics. Food animal practice. Julio, 2010. vol. 26, no. 2, p. 410–468.

IAN, Dohoo and WAYNE, Martin. Disease, production and culling in Holstein-Friesian cows III. Disease and production as determinants of disease. Journal of Preventive Veterinary Medicine. Julio, 1994, vol. 2 no. 5, p. 674.

INGVARTSEN, K.; DEWHURSTB, R. and FRIGGENSA, N. On the relationship between lactational performance and health. En: Livestock production science. Octubre, 2003, vol. 83 no. 2, p. 301.

JARAMILLO, C. TRIGO, F. SUAREZ, F. 2009. Manheimiosis Bovina. Etiología, prevención y control. Artículos de revisión. Rev. Vet. Méx. vol. 40 no. 3.

JAUREGUI Pablo. Biología del Virus Respiratorio Sincitial Bovino Clasificación, distribución, patogenia, vacunas y diagnóstico. En: Ciencia y tecnología aplicada S.A. CP vol. 73 no. 30.

GULLIKSEN, Stine. *et al.* Respiratory infections in Norwegian dairy calves. En: Journal of Dairy Science. Octubre, 2009. vol.92, no.10, p. 5139–5146.

LEBLANC, Sthephen. Health in the Transition Period and Reproductive Performance. En: Journal of dairy science. Abril, 2003. vol. 93, no. 2, p. 99-175.

_____. Major Advances in Disease Prevention in Dairy Cattle. En: Journal of Dairy Science. Abril, 2006, vol. 89 no. 4, p. 1267–1279.

MAILLARD, Renaud; ASSIÉ, Sébastien y DOUART, Alain. Respiratory disease in adult cattle. En: XXIV World Buiatrics Congress. Nice, France. 2006.

MCCONNEL, C. S. *et al.* Evaluation of Factors Associated with Increased Dairy Cow Mortality on United States Dairy Operations. En: Journal of Dairy Science. Abril, 2008, vol. 91 no. 4, p 1423–1432.

MOGOLLÓN, José, *et al.* Instrucciones generales para el usuario de los servicios oficiales de diagnóstico veterinario en Colombia. Instituto Colombiano Agropecuario - ICA. Bogotá D. C., 2003, p. 23.

MONTGOMERY, Donald. Bovine Respiratory Disease and Diagnostic Veterinary Medicine. Managing respiratory diseases in the herd. En: Journal of dairy science. Octubre, 2009. vol. 28, p. 1025-1060.

PANCIERA, Roger. *et al.* Pathogenesis and pathology of bovine pneumonia. En: North America Veterinary Clinics. Food Animal Practice. Agosto, 2010. vol.26, no. 2, p. 192-214.

RAUWA, W.M Undesirable side effects of selection for high production efficiency in farm animals: a review. En: Livestock Production Science. Octubre, 1998, vol. 56 no. 1, p 15.

TAYLOR, Jared. The epidemiology of bovine respiratory disease: What is the evidence for predisposing factors? En: Canadian Veterinary Journal. Abril, 2010.vol.51, no. 10, p. 1095-1102.

WELLMAN, N. and O'CONNOR, A. Meta-analysis of treatment of cattle with bovine respiratory disease with tulathromycin. En: Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics. Junio, 2007, vol. 30 no. 3, p 235.

WILKINS, Pamela and WOOLUMS, Amelia. Disease of respiratory system. En: Large animal internal medicine. 5 ed. Davis, Elsevier Health, 2014. p. 576-726.