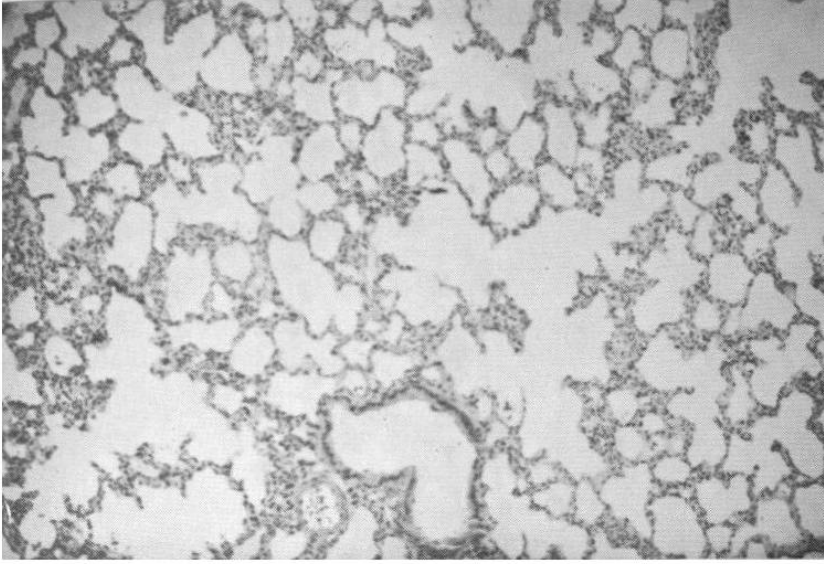


## Resultados

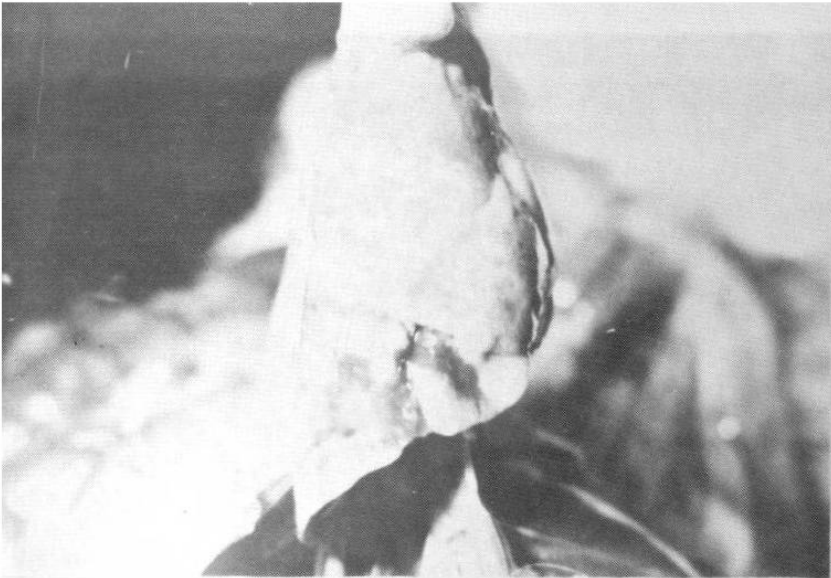
Serología. Los títulos más altos de anticuerpos contra el LPS de *P. haemolytica*, se obtuvieron de las muestras colectadas antes del desafío en el grupo 4. La mayoría de los animales respondieron con títulos elevados, los valores más comunes fueron 1:1280 y 1:2560; sólo dos animales presentaron títulos de 1:320. En los animales del grupo 2 el título mayor fue de 1:5 en dos animales.

En el grupo inmunizado con albúmina también se reconocieron franjas de precipitación bien definidas en todos los animales, justo al momento de su desafío.

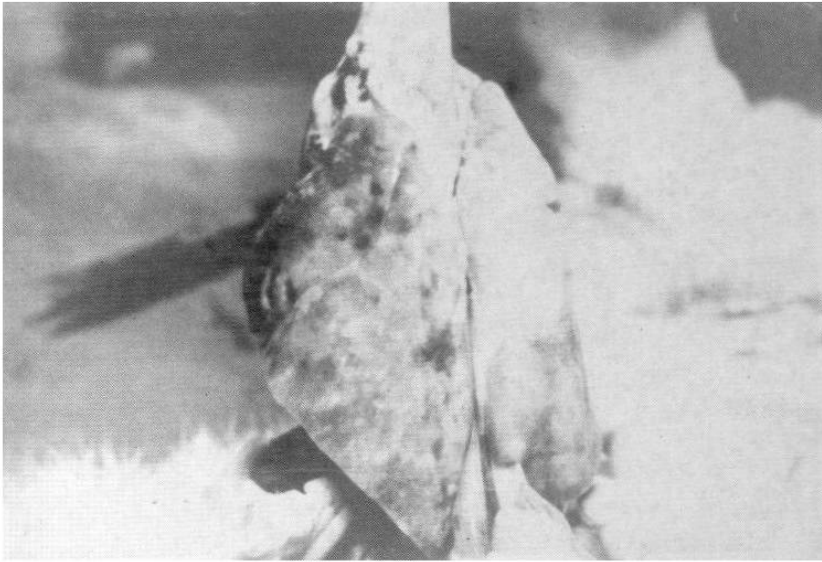
Patología. Los conejos del grupo 1 no presentaron lesiones en sus pulmones, ni macroscópica ni microscópicamente. En el grupo 2 se apreciaron macroscópicamente pequeñas áreas de consolidación rojo-grisáceas con hemorragias; lesiones similares se observaron en los animales del grupo 4, pero en éstos las hemorragias fueron más notorias. En el grupo 3 se apreció congestión en la mayoría de los casos y sólo en algunos la consolidación se limitó al hilio de los pulmones. Microscópicamente las lesiones en el grupo 2 correspondieron a congestión e infiltración intersticial de PMN; sin embargo, en las zonas de mayor daño se observaron áreas de necrosis, hemorragias, intensa exudación de PMN y exudado serofibrinoso



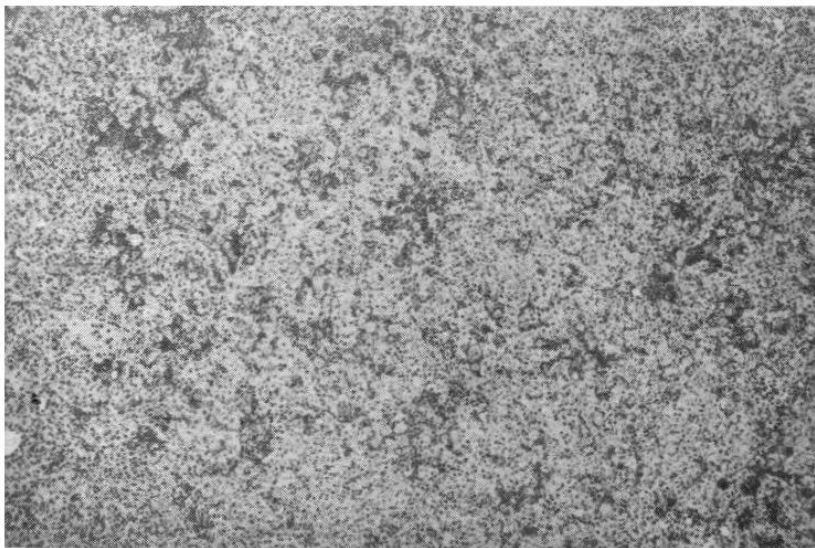
**Figura 4.1** Se presenta una área con arquitectura alveolar normal. Conejo perteneciente al grupo 1. 100 X.



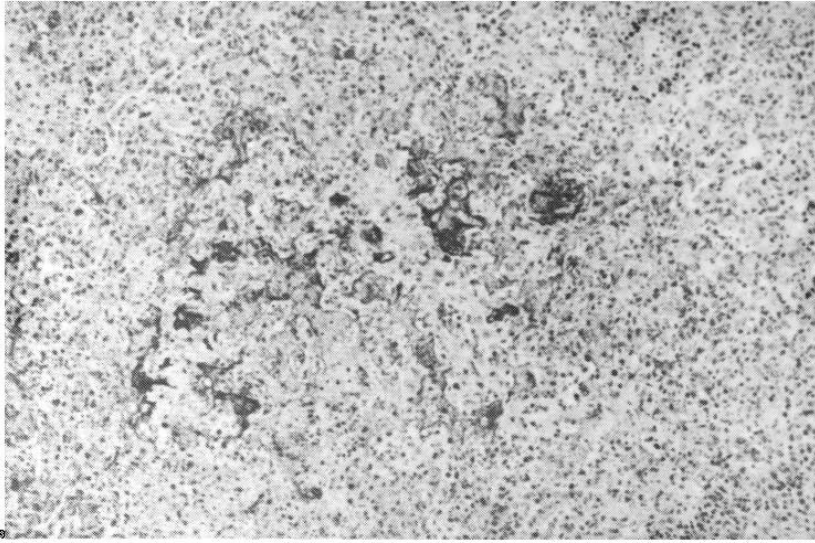
**Figura 4.2** Se muestran pulmones turgentes congestionados y con áreas de consolidación. Animal perteneciente al grupo 2.



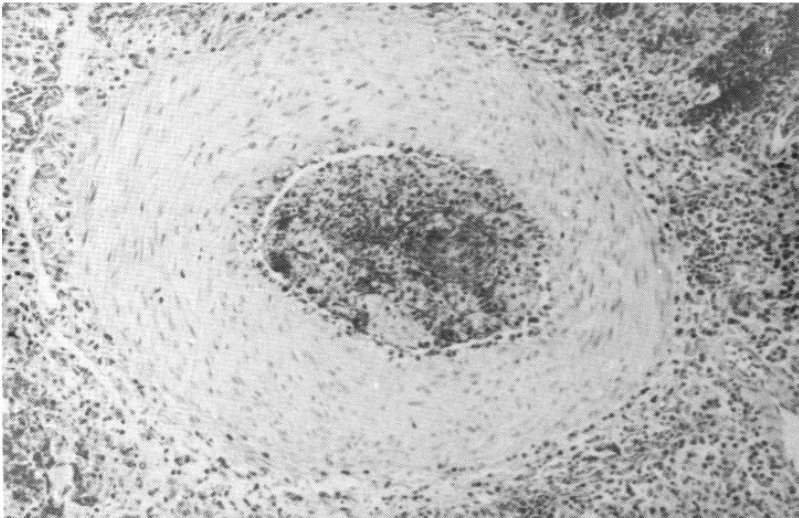
**Figura 4.3** Se presentan pulmones turgentes, congestionados y con zonas hemorrágicas. Conejo perteneciente al grupo 4.



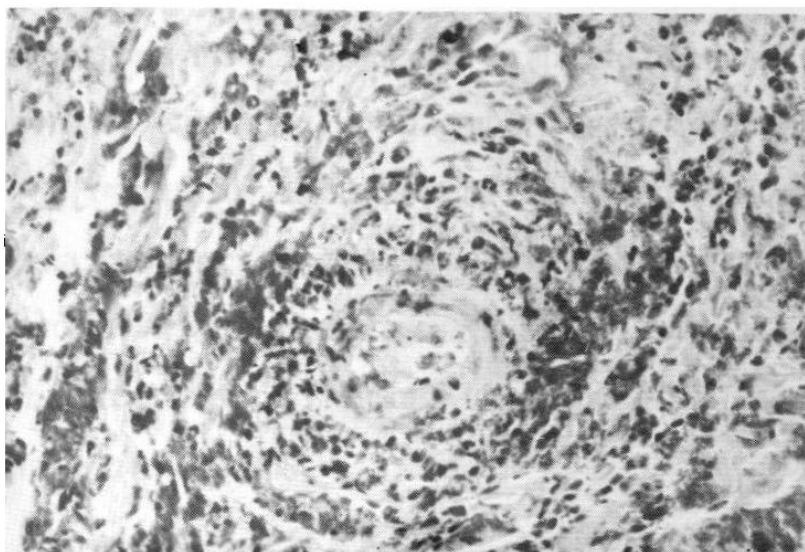
**Figura 4.4** Se observan una área de intensa consolidación con zonas de necrosis y exudado serofibrinoso. Animal perteneciente al grupo 2. 60 X.



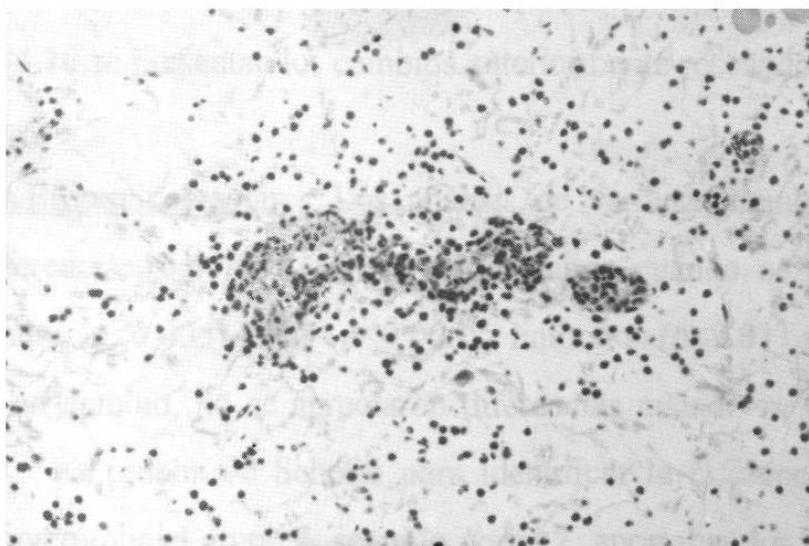
**Figura 4.5** Se presenta una área de consolidación y necrosis con positividad a la presencia de fibrina. Conejo perteneciente al grupo 4. 100 X.



**Figura 4.6** Se observa trombosis de una arteria en una área de consolidación. Animal perteneciente al grupo 4. 100 X.



**Figura 4.7** Se observa vasculitis y trombosis en dermis profunda. Conejo perteneciente al grupo 4. 160 X.



**Figura 4.8** Se observa vasculitis y trombosis en pequeños vasos sanguíneos en una área de la dermis con intenso edema. Animal perteneciente al grupo 3. 160 X.

en alveolos. En el grupo 4 las lesiones fueron similares pero la exudación serofibrinosa fue más abundante; además, se apreció trombosis y/o vasculitis en algunos vasos sanguíneos. En el grupo 3 las lesiones histológicas se caracterizaron por un abundante edema alveolar y, en algunas áreas, hemorragia. La participación exudativa de los PMN fue menor; sin embargo, se reconocieron abundantes macrófagos. En algunos casos se apreció edema e infiltración perivascular de PMN. En las figuras 4.1-4.6 se muestran los cambios anteriormente reseñados.

Las lesiones en la piel de los animales de los grupos 3 y 4 se apreciaron a simple vista, siendo las del grupo 4 las más intensas. Microscópicamente, en el grupo 4 se apreció una severa reacción caracterizada por abundante infiltración de PMN asociada a necrosis, edema y hemorragia; asimismo, se identificó vasculitis y trombosis. En el grupo 3 las lesiones fueron similares a las del grupo 4, pero se pudo apreciar que el edema fue más intenso. En las figuras 4.7-4.10 se presentan los cambios anteriormente reseñados.

Lavados Bronquioalveolares. Los análisis de varianza demostraron que existían diferencias significativas entre los grupos cuando se compararon total de células ( $p < 0.005$ ) PMN ( $p < 0.005$ ), linfocitos ( $p < 0.01$ ) y monocitos ( $p < 0.005$ ); en cambio, no se apreciaron diferencias cuando se compararon macrófagos. La prueba de Scheffé para identificar la diferencia entre las medias demostró que el grupo 4, seguido por el 2, aportaban los valores más elevados en lo correspondiente a total de células y PMN; en tanto que el grupo 3 aportaba las diferencias en monocitos y linfocitos. En la tabla 4.1 se

resumen los datos anteriores, mientras que los procedimientos estadísticos se presentan en el apéndice A.

Tabla 4.1

**COMPARACION DE LOS VALORES: TOTAL DE CELULAS, MACROFAGOS,  
PMN, LINFOCITOS Y MONOCITOS, OBTENIDOS DE LBA  
EN LOS DIFERENTES GRUPOS**

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	
Total de Células	17,600	26,150	23,000	34,800	T
	1,100.00a	1,634.37b	1,437.50ab	2,175.00c	M
	294.39	601.86	492.44	556.77	DE
Macrófagos	12,101	12,962	10,689	14,141	
	756.31a	810.12a	668.06a	883.81a	
	239.15	339.78	168.97	380.90	
PMN	4,979	12,701	11,115	20,102	
	311.18a	793.81b	694.68ab	1,256.37c	
	161.44	505.93	371.08	649.00	
Linfocitos	98	136	300	136	
	6.12a	8.50ab	18.75b	8.50ab	
	4.70	6.87	14.87	12.52	
Monocitos	432	359	901	427	
	27.00a	22.43a	56.31b	26.68a	
	16.17	19.62	15.87	22.39	

T: Total; M: Media; DE: Desviación Estándar. Los valores han sido estimados por ml. Las literales iguales entre los grupos significan ausencia de diferencia, mientras que las literales distintas corresponden a diferencia significativa, mediante la prueba de Scheffé.



## Discusión

Dada la interacción multietiológica de virus y bacterias en el desarrollo de la PN, se han desarrollado diversos biológicos para proteger al ganado contra este síndrome; entre los más comunes se incluyen vacunas de virus respiratorios, bacterinas y combinaciones de ambos (25,50,78). No obstante, habiéndose demostrado que *P. haemolytica* es la bacteria responsable de las manifestaciones clínicas de la enfermedad y de la severidad de las lesiones pulmonares, los intentos por desarrollar el biológico ideal contra *P. haemolytica* aún persisten (25,50,78).

La respuesta inmune humoral generada por la inmunización con bacterinas convencionales, ha demostrado su ineficiencia para proteger consistentemente contra la PN (25,50). Inclusive, se ha observado que el uso de bacterinas aumenta la intensidad del padecimiento respiratorio y agrava las lesiones pulmonares (50). Se ha propuesto que en este caso la respuesta inmune humoral favorece una fagocitosis desproporcionada de las bacterias, las cuales permanecen viables en el interior de las células fagocitarias y son capaces de lisarlas por la producción de su leucotoxina, generándose, entonces, un mayor daño tisular (93,94).

Recientemente se ha descrito un modelo en el conejo en el que se ha demostrado que el daño pulmonar causado por *Pasteurella multocida*, ocurre más intensamente cuando los animales han sido inmunizados con una

bacterina convencional (58). Con base en estos resultados y comparándolos con la información previamente referida (93,94), se propuso que esta reacción adversa era compatible con un fenómeno de hipersensibilidad de tipo III a manera de una RA (58).

En el presente estudio se vuelve a examinar este modelo en el conejo; sin embargo, a diferencia con el modelo anterior (58), aquí se ha empleado una bacterina contra *P. haemolytica* para inmunizar a los animales, además se constató la producción de altos títulos de anticuerpos contra el LPS de la bacteria, el cual también se usó para desafiarlos.

Los resultados obtenidos en este estudio son similares a las observaciones en becerros (21,22,31,93,94) y conejos (58), en el sentido de que la inmunización con bacterinas convencionales genera una respuesta inmune que no contribuye a disminuir el daño pulmonar, sino por el contrario, participa agravando las lesiones de la PN. Sin embargo, en este estudio, a diferencia de todos los demás, el desafío se llevó a cabo únicamente con el LPS de la bacteria, lo que confirma la importancia de este factor de virulencia en la generación del daño tisular (29,88,89,90,91), sobre todo si se toma en cuenta que *P. haemolytica* no posee capacidad de virulencia significativa para el conejo (68).

Asimismo, estos resultados también son compatibles con lo referido en otros estudios en los que se ha provocado daño pulmonar empleando complejos inmunes (28,54,84,85), o la fracción C5 del complemento activada (28,77,84), si bien, las lesiones que aquí se provocaron aparecen

más intensas. De hecho, la respuesta inflamatoria de los pulmones de los animales del grupo 3 en los que se empleó albúmina, fue menor que los grupos en los que se empleó LPS (grupos 2 y 4). Finalmente, los resultados son también compatibles con los datos que se obtuvieron en los tres experimentos anteriores; la explicación puede estar dada por la administración endotraqueal del LPS, que de por sí constituye un fuerte estímulo flogístico.

La infección natural con *P. haemolytica* produce usualmente una inmunidad de buena calidad y larga duración en comparación a la inducida por vacunas (50). Esta inmunidad presente en animales naturalmente expuestos a la bacteria les permite, inclusive, resistir un desafío experimental (21). Las diferencias entre esta inmunidad natural y la adquirida por vacunación puede deberse a las distintas rutas de exposición (intranasal en la exposición natural y parenteral en la vacunación) o a la producción de ciertos antígenos *in vivo* que no se producen durante la preparación *in vitro* de los biológicos (50).

## CAPITULO V

### DISCUSION

Con anterioridad se ha mencionado que los animales de laboratorio no son adecuados como modelos de la PN; este punto de vista se fundamenta en la falta de patogenicidad de *P. haemolytica* para estos animales (16,48,94). No obstante, debido a que los trabajos con rumiantes son costosos, los intentos para desarrollar un modelo de la enfermedad en animales de laboratorio aún persisten. Este fue el objetivo fundamental de este trabajo.

Por principio, se escogió al conejo porque es el animal de elección para inducir tanto la RS (49,75) como la RA (19,79); además, ya se tenían experiencias previas sobre la inducción de ambos fenómenos en el pulmón de este animal (57,58,59).

En segundo lugar, se trabajó con el LPS de *P. haemolytica* porque, entre sus factores de virulencia, el LPS parece ser el responsable de la mayor parte de las lesiones pulmonares (90,91). Además, sus actividades biológicas, incluyendo la RS, han sido reconocidas plenamente (41,63). La leucotoxina, el otro factor de virulencia importante de la bacteria, ejerce su patogenicidad específicamente contra leucocitos de rumiantes (68), por lo cual no cabría

esperar efecto en el pulmón del conejo; de hecho, se ha señalado una falta de actividad patológica de la leucotoxina en el pulmón de la rata (45).

En los cuatro trabajos que se incluyen en esta disertación, se ha demostrado que el conejo es un excelente modelo para el estudio de la PN; esta afirmación se basa en los resultados obtenidos. Por ejemplo, en el experimento 1 se establece la similitud de las lesiones provocadas por la inoculación ET y ET/EV (Shwartzman) con las lesiones reconocidas en casos naturales de PN en el ganado. Al respecto, la observación de una alveolitis serofibrinosa con intensa infiltración de PMN, necrosis y hemorragia, además de trombosis y daño vascular, concuerda con las descripciones que se han hecho para este padecimiento (3,4,40,60,83).

En el experimento 2 se constató lo que se había apreciado en el primer experimento: la inoculación endotraqueal contribuye más que la subsecuente inoculación endovenosa en la generación de la RS en el pulmón; es decir, la respuesta inflamatoria generada por la inoculación endotraqueal del LPS es similar en intensidad a la que se observa cuando se induce una RS (ET/EV) y superior a la que se produce por la inoculación endovenosa. Esta apreciación es compatible con lo que se ha observado en ovinos cuando se compara la intensidad de su respuesta inflamatoria pulmonar ante un desafío endotraqueal o endovenoso con LPS de *E. coli* (92). En estos animales también se demostró que la vía aerógena responde inflamatoriamente con mayor intensidad que la ruta endovenosa (92). Igualmente, en becerros, la inoculación endotraqueal de endotoxina de *P. haemolytica* causa una

exudación alveolar de PMN, mayor que cuando el LPS se administra por vía endovenosa (70).

Los resultados del experimento 3, en el que se demostró que la respuesta inflamatoria pulmonar resulta más intensa cuando los animales han recibido previamente suero hiperinmune, a manera de inmunización pasiva, también concuerda con observaciones hechas en experimentos con ovinos (71,86). Finalmente, las observaciones sobre los efectos desfavorables de la inmunización del ganado con bacterinas convencionales contra la PN (25,50), son compatibles con los resultados del experimento 4, en el que se demostró que la hiperinmunización con una bacterina convencional de *P. haemolytica*, agrava la respuesta inflamatoria del pulmón ante un desafío con el LPS de la bacteria por vía endotraqueal. Asimismo, apoyan la propuesta de que una reacción de tipo Arthus activa pueda provocar estas lesiones en el pulmón (57,58).

Las compatibilidades señaladas anteriormente, reiteran la utilidad del conejo como modelo animal para el estudio de la PN, pero además, confirman la importancia del LPS de la bacteria en la patogenia del padecimiento.

En los cuatro experimentos que aquí se realizaron, se utilizó el LPS de la bacteria; es por esto que las lesiones histológicas comparten semejanzas notables, a pesar de que los mecanismos para generar el daño sean diferentes. Por otra parte, se ha referido con anterioridad que la RA y la RS poseen similitud patológica a pesar de ser completamente diferentes en los

mecanismos que intervienen en ellas (74). Probablemente las similitudes se deban a que tanto en una como en otra, se producen citocinas, particularmente IL-1 y TNF que pueden participar como un común denominador en la generación del daño tisular (7,8,53,84,85). Otra situación que no debe ignorarse es la activación del complemento y la participación de los PMN en ambos fenómenos (49,52,53,75,79,85,86). Finalmente, se ha señalado que la respuesta inflamatoria aguda es una respuesta estereotipada, por lo que no pueden asignársele características distintivas (59), sobre todo, en el pulmón, que es un órgano que responde intensamente a los estímulos flogísticos (69).

Por último, algunas de las perspectivas inmediatas que pudieran resultar interesantes de ensayar en este modelo son: el estudio ultraestructural de las lesiones, el ensayo con anticuerpos monoclonales contra la fracción R del LPS o contra las citocinas mediadoras, la administración de polimixina B y el ensayo con el lípido X; las últimas tres con la intención de bloquear o disminuir los efectos adversos del LPS.

## CAPITULO VI

### CONCLUSIONES

Tanto la reacción de Shwartzman como la reacción de Arthus pueden inducirse en el pulmón del conejo empleando el LPS de *P. haemolytica*, y sus características patológicas reflejan en gran parte las lesiones que se presentan en casos naturales de pasteurelosis neumónica en el ganado; en ambas, el papel protagónico dominante en la respuesta flogística pulmonar, le corresponde a la administración endotraqueal del LPS.

El conejo es un modelo animal adecuado para el estudio de los mecanismos que operan en la generación del daño pulmonar, mediado por el LPS de *P. haemolytica*.



## LITERATURA CITADA

1. Adlam, C.: The structure, function and properties of cellular and extracellular components of *Pasteurella haemolytica*, In: *Pasteurella and Pasteurellosis*. Edited by: Adlam, C., Rutter, J.M: 75-92. *Academic Press*, London, 1989.
2. Al - Aubaidi, J. and Fabricant, J. : Characterization and classification of bovine *Mycoplasma*. *Cornell Vet.*, 61: 490-518 (1971).
3. Allan, E.M., Gibbs, H.A., Wiseman, A. and Selman, I.E.: Sequential lesions of experimental bovine pneumonic pasteurellosis. *Vet. Rec.*, 117: 438-442 (1985).
4. Ames, T.R., Markham, R.J.F., Opuda-Asibo, J., Leininger, J.R. and Maheswaran, S.K. : Pulmonary response to intratracheal challenge with *Pasteurella haemolytica* and *Pasteurella multocida*. *Can. J. comp. Med.*, 49: 395-400 (1985).
5. Arend, W.P.: Interleukin 1 receptor antagonist. A new member of the interleukin 1 family. *J. Clin. Invest.*, 88: 1445-1451 (1991).
6. Baggiolini, M., Walz, A and Kunkel, S.L.: Neutrophil-activating peptide-1/interleukin 8, a novel cytokine that activates neutrophils. *J. Clin. Invest.*, 84: 1045-1049 (1989).
7. Beck, G. , Habicht, G.S., Benach, J.L. and Miller, F. : Interleukin 1: a common endogenous mediator of inflammation and the local Shwartzman reaction. *J. Immunol.*, 136: 3025-3031 (1986).
8. Billiau, A. : Gamma-interferon: the match that lights the fire. *Immunology Today.*, 9: 37-40 (1988).

9. Bowersock, T.L., Shalaby, W.S.W., Levy, M., Samuels, M.L., Lallone, R., White, R., Borie, D.L., Lehmeier, J. and Park, K.: Evaluation of an orally administered vaccine using hydrogels containing bacterial exotoxins of *Pasteurella haemolytica* in cattle. *Am. J. Vet. Res.*, 55: 502-509 (1994).
10. Bradford, M.M.: A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72: 248-254 (1976).
11. Braude, A.I.: Endotoxin Immunity. In: *Advances in Internal Medicine*, Vol. 26. Edited by: Stollerman, G.H. 427-445. *Year Book Medical Publishers*, Chicago, Ill., 1980.
12. Breider, M.A., Kumar, S. and Corstvet, R.E.: Bovine pulmonary endothelial cell damage mediated by *Pasteurella haemolytica* pathogenic factors. *Infect. Immun.*, 58: 1671-1677 (1990).
13. Breider, M.A., Kumar, S. and Corstvet, R.E.: Interaction of bovine neutrophils in *Pasteurella haemolytica* mediated damage to pulmonary endothelial cells. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 27: 337-350 (1991).
14. Brogden, K.A.: Changes in pulmonary surfactant during bacterial pneumonia. *Antonie van Leeuwenhoek*, 59: 215-223 (1991).
15. Brogden, K.A. and Packer, R.A.: Comparison of *Pasteurella multocida* serotyping systems. *Am. J. Vet. Res.*, 40: 1332-1335 (1979).
16. Campbell, S.G., Mtero, S.S., Niderbuhl, C.J. and Collins, F.M.: Fate of *Pasteurella haemolytica* in conventionally raised and germfree mice. *Infect. Immun.*, 39: 202-207 (1983).
17. Car, B.D., Suyemoto, M.M., Neilsen, N.R. and Slauson, D.O.: The role of leukocytes in the pathogenesis of fibrin deposition in bovine acute lung injury. *Am. J. Pathol.*, 138: 1191-1198 (1991).

18. Clinkenbeard, K.D., Clarke, C.R., Morton, R.J., Panciera, R.J., Confer, A.W. and Mosier, D.A.: Role of *Pasteurella haemolytica* leukotoxin in virulence and immunity in shipping fever pneumonia. *The Compendium*, 14: 1249-1260 (1992).
19. Cochrane, C.G. : The Arthus and related reactions. In: *Methods in Immunology and Immunochemistry*. Vol. V. Edited by: Williams, C.A., Chase, M.W. 159-175, *Academic Press*, New York, 1976.
20. Cohn, L.A. and Adler, K.B.: Interactions between airway epithelium and mediators of inflammation. *Exp. Lung Res.*, 18: 299-322 (1992).
21. Confer, A.W., Panciera, R.J. and Fulton, R.W.: Effect of prior natural exposure to *Pasteurella haemolytica* on resistance to experimental bovine pneumonic pasteurellosis. *Am. J. Vet. Res.*, 45: 2622-2624 (1984).
22. Confer, A.W., Panciera, R.J. Fulton, R.W., Gentry, M. J., and Rummage, J.A.: Effect of vaccination with live or killed *Pasteurella haemolytica* on resistance to experimental bovine pneumonic pasteurellosis. *Am. J. Vet. Res.*, 46: 342-347 (1985).
23. Cullor, J.S.: Shock attributable to bacteremia and endotoxemia in cattle: clinical and experimental findings. *J.Am. Vet. Med. Ass.*, 200: 1894-1902 (1992).
24. Danner, R.L.: Mediators and endotoxin inhibitors. In: *Septic Shock in Humans*. Moderated by: Parrillo, J. E. *Ann. Intern. Med.*, 113: 235-237 (1990).
25. De Alwis, M.C.L. : Pasteurellosis in production animals: A review. In: *Pasteurellosis in production Animals*. Edited by: Patten, B.E., Spencer, T.L., Johnson, R.B. Hoffman, D. Lehane, L. 11-22. *The Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR)*, Proceedings No. 43, Canberra, Australia, 1993.

26. Dinarello, C.A. and Thompson, R.C.: Blocking IL-1: interleukin 1 receptor antagonist *in vivo* and *in vitro*. *Immunology Today*, 12: 404-410 (1991).
27. Dungworth, D.L.: The respiratory system. In: Pathology of Domestic Animals. 3rd. ed. Vol. 2. Edited by: Jubb. K.V.F., Kennedy, P.C., Palmer, N. 632-638. *Academic Press*, San Diego, California, 1985.
28. Emancipator, S. N. and Lamm, M.E. : Pathways of tissue injury initiated by humoral immune mechanisms. *Lab. Invest.*, 54: 475- 478 (1986).
29. Espinasse, J., Peel, J.E., Voirol, M.J., Schelcher, F. and Valarcher, J.F.: Absence of circulating TNF in experimental bovine pneumonic pasteurellosis. *Vet. Rec.*, 132: 303-304 (1993).
30. Frank, G.H.: Pasteurellosis of cattle. In: *Pasteurella* and Pasteurellosis. Edited by: Adlam. C., Rutter. J.M., 197-221. *Academic Press*, London, 1989.
31. Friend, S.C.E., Wilkie, B.N., Thomson, R.G. and Barnum, D.A. : Bovine pneumonic pasteurellosis: experimental induction in vaccinated and nonvaccinated calves. *Can. J. Comp. Med.*, 41: 77-83 (1977).
32. Galanos, C., Luderitz, O. and Westphal, O.: A new method for extraction of R-lipopolysaccharides. *Eur. J. Biochem.*, 9: 245-249 (1969).
33. Gonzalez, C. T. and Maheswaran, S.K. : The role of induced virulence factors produced by *Pasteurella haemolytica* in the pathogenesis of bovine pneumonic pasteurellosis: review and hypotheses. *Br. Vet. J.*, 149: 183-194 (1993).

34. Grau, G.E., Vesin, C., De Groote, D., Delacroix, D., Gysler, C., Piguet, P.F. and Lambert, P.H.: Prevention of human TNF-induced cutaneous Shwartzman reaction and acute mortality in mice treated with anti-human TNF monoclonal antibodies. *Clin. Exp. Immunol.*, 84: 411-414 (1991).
35. Henricson, B.E., Benjamin, W.R. and Vogel, S.N.: Differential cytokine induction by doses of lipopolysaccharide and monophosphoryl lipid A that result in equivalent early endotoxin tolerance. *Infect. Immun.*, 59: 2429-2437 (1990).
36. Henricson, B.E., Neta, R. and Vogel, S.N.: An interleukin-1 receptor antagonist blocks lipopolysaccharide-induced colony stimulating factor production and early endotoxin tolerance. *Infect. Immun.*, 59: 1188-1191 (1991).
37. Heremans, H., Van Damme, J., Dillen, C., Dijkmans, R. and Billiau, A.: Interferon  $\delta$ , a mediator of lethal lipopolysaccharide-induced Shwartzman-like shock reactions in mice. *J. Exp. Med.*, 171: 1853-1869 (1990).
38. Humason, G.L.: Animal Tissue Techniques. 4th ed. *W.H. Freeman and Company*, San Francisco, 1979.
39. Jarstrand, C., Wiernik, A., Curstedt, T., Sunsvist, K.G.: Lung surfactant inhibits the lipopolysaccharide induced release of oxygen radicals, enzymes and interleukin-1 from phagocytes. *Immunology & Infectious Disease*, 1: 179-182 (1991).
40. Jericho, K.W.F.: Histological changes in lungs of calves exposed to an aerosol of *Pasteurella haemolytica*. *J. Comp. Path.*, 101: 87-99 (1989).
41. Keiss, R.E., Will, D.H. and Collier, J. R. : Skin toxicity and hemodynamic properties of endotoxin derived from *Pasteurella haemolytica*. *Am. J. Vet. Res.*, 25: 935-942 (1964).

42. Kim, J.C.S.: Immunological injury in " shipping fever " pneumonia of cattle. *Vet. Rec.*, 100: 109-111 (1977).
43. Lopez, A., Albassam, M., Yong, S., Sharma, A., Lillie, L. E. and Prior, M.G.: Profiles of type-II pneumocytes in rats inoculated intratracheally with bacterial lipopolysaccharide. *Am. J. Vet. Res.*, 48: 1534-1539 (1987).
44. Lopez, A. and Yong, S.: Injury versus inflammatory response in the lungs of rats intratracheally inoculated with bacterial lipopolysaccharide. *Am. J. Vet. Res.*, 47: 1287-1292 (1986).
45. Lopez, A., Yong, S. and Shewen, P.: Effect of intratracheal inoculation of *Pasteurella haemolytica* cytotoxin on the integrity of rat lung. *Can. J. Vet. Res.*, 51: 533-535 (1987).
46. Lynn, W.A. and Golenbock, D.T. : Lipopolysaccharide antagonists. *Immunology Today*, 13: 271-276 (1992).
47. Mashimo, J., Mizutani, T., Mita, A. and Kasai, N.: Neutralization of Shwartzman-inducing activity by antibodies recognizing the Re core or lipid A structures of lipopolysaccharidæ from *Salmonella minnesota* R595 and *Pseudomonas vesicularis* JCM1477. *Microbiol. Immunol.*, 35: 423-434 (1991).
48. McVey, D.S. and Loan, R. W.: Antibody complement-dependent bacteriolysis in experimentally induced pasteurellosis in mice. *Am. J. Vet. Res.*, 50: 762-768 (1989).
49. Mori, W.: The Shwartzman reaction: a review including clinical manifestations and proposal for a univisceral or single organ third type. *Histopathology*, 5: 113-126 (1981).
50. Mosier, D.: Prevention and control of pasteurellosis. in: Pasteurellosis in Production Animals. Edited by: Patten, B.E., Spencer, T.L., Johnson, R.B., Hoffmann, D. and Lehane, L. 121-134. *The Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR), Proceedings No. 43, Canberra, Australia, 1993.*

51. Mosier, D.A., Simons, K.R., Chengappa, M.M. and Confer, A.W.: Antigenic composition of *Pasteurella haemolytica* serotype-1 supernatants from supplemented and nonsupplemented media. *Am. J. Vet. Res.*, 55: 348-352 (1994).
52. Movat, H.Z. and Burrowes, C.E.: The local Shwartzman reaction: endotoxin-mediated inflammatory and thrombo-hemorrhagic lesions. In: Handbook of Endotoxin. Vol. 3. Cellular Biology of Endotoxin. Edited by: Proctor, R.A. (Series editor), Berry, L.J. (Editor). Ch. 13. 260-302. *Elsevier*, Amsterdam, 1985.
53. Movat, H.Z., Burrowes, C.E., Cybulsky, M.I. and Dinarello, C.A.: Acute inflammation and a Shwartzman reaction induced by interleukin-1 and tumor necrosis factor. Synergistic action of the cytokines in the induction of inflammation and microvascular injury. *Am. J. Pathol.*, 129: 463-476 (1987).
54. Olenchock, S.A. : Animal models of hypersensitivity pneumonitis: a review. *Annals of Allergy*, 38: 119-126 (1977).
55. Olson, N.C., Salzer, W.L. and McCall, C.E.: Biochemical, physiological and clinical aspects of endotoxemia. *Molec. Aspects Med.*, 10: 511-629 (1988).
56. Phillips, M., Rimler, R.B. and Rebers, P.A.: Failure of ribosomes from nonencapsulated *Pasteurella multocida* to protect CF-1 mice. *Am. J. Vet. Res.*, 42: 1769-1774 (1981).
57. Ramírez-Romero, R., Rodríguez-Tovar, y Rivas Farías, M. : Cronología del daño tisular mediado por un fenómeno semejante a la reacción de Arthus activa en el pulmón del conejo. *Vet. Méx.*, 20: 169-178 (1989).
58. Ramírez-Romero, R., Rosales-García, F., Rodríguez-Tovar, L. E. y Rodríguez-Garza, A.P. : Daño neumónico provocado por *Pasteurella multocida* en conejos previamente sensibilizados con una bacterina homóloga y su relación con la reacción de Arthus. *Vet. Méx.*, 21: 149-157 (1990).

59. Ramírez-Romero, R., Sandoval-Tassinari, D. y Suárez-Semour, A. : Inducción de la reacción de Shwartzman en el pulmón del conejo empleando lipopolisacárido de *Pasteurella multocida*. *Vet. Méx.*, 22: 415-424 (1991).
60. Rehmtulla, A. J. and Thomson, R.G.: A review of lesions in shipping fever of cattle. *Can. Vet. J.*, 22: 1-8 (1981).
61. Reynolds. H.Y. : Integrated host defense against infections. In: *The Lung*. Vol. 2. Edited by: Crystal, R.G., West, J.B. (Editors-in-chief), Barnes, P.J. Cherniack, N.S., Weibel, E. R. (Associate editors). Ch. 7.4.1. 1899-1911. *Raven Press, New York. N.Y.* 1991.
62. Rietschel, E.T. and Brade, H. Bacterial endotoxins. *Scientific American*, 267: 26-33 (1992).
63. Rimsay, R.L., Coyle-Dennis, J.E., Lauerman, L. H. and Squire, P.G.: Purification and biological characterization of endotoxin fractions from *Pasteurella haemolytica*. *Am. J. Vet. Res.*, 42: 2134-2138 (1981).
64. Risco, C., Carrascosa, J. L. and Bosch, M.A.: Uptake and subcellular distribution of *Escherichia coli* lipopolysaccharide by isolated rat type II pneumocytes. *J. Histochem. Cytochem.*, 39 : 607-615 (1991).
65. Said, S. I.: Principles and strategies in the pharmacological modulation of lung injury. In: *The Pulmonary Circulation and Acute Lung Injury*. 2nd. ed. Edited by: Said, S.I. Ch. 19. 457-472. *Futura Publishing Company, Mount Kisco, N.Y.*, 1991.
66. Sharma, S.A., Olchowy, T.W.J., Yang, Z. and Breider, M.A.: Tumor necrosis factor and interleukin 1 enhance lipopolysaccharide-mediated bovine endothelial cell injury. *J. Leukoc. Biol.*, 51: 579-585 (1992).



67. Shiga, J. and Mori, W.: A study on pulmonary hemorrhage experimentally produced by the Shwartzman mechanism in rabbits. *Acta Pathol. Jpn.*, 35: 849-861 (1985).
68. Shewen, P.E. and Conlon, J.A.: *Pasteurella*. In: Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals, 2nd ed. Edited by: Gyles, C.L., Thoen, C.O. 216-225. *Iowa State University Press*, Ames, Iowa, 1993.
69. Slauson, D.O. : The mediation of pulmonary inflammatory injury. *Adv. Vet. Sci. comp. Med.*, 26: 99-153 (1982).
70. Slocombe, R.F., Mulks, M., Killingsworth, C.R. , Derksen, F.J. and Robinson, N.E. : Effect of *Pasteurella haemolytica*-derived endotoxin on pulmonary structure and function in calves. *Am. J. Vet. Res.*, 51: 433-438 (1990).
71. Smith, G.R. : Difficulty in protecting lambs against *Pasteurella haemolytica* biotype A with antiserum, *Vet. Rec.*, 112: 128-129 (1983).
72. Steel, R.G.D. and Torrie, J.H.: Principles and Procedures of Statistics. A Biometrical Approach. 2nd ed. *Mc Graw-Hill International Book Company*, Singapore, 1981.
73. Steinbeck, M. J. and Roth, J.A. Neutrophil activation by recombinant cytokines. *Rev. Infect. Dis.*, 11: 549-568 (1989).
74. Stetson, C.A. : Similarities in the mechanisms determining the Arthus and Shwartzman phenomena. *J. Exp. Med.*, 94: 347-357 (1951).
75. Taichman, N.S. : The local Shwartzman reaction. In: Inflammation, Immunity and Hypersensitivity. Edited by: Movat, H.Z. 480-525. *Harper & Row*, New York, N.Y. 1976.

76. Thomas, L. H., Gourlay, R.N., Wyld, S.G., Parsons, K. R. and Chanter, N.: Evidence that blood-borne infection is involved in the pathogenesis of bovine pneumonic pasteurellosis. *Vet. Pathol.*, 26: 253-259 (1989).
77. Till, G.O. and Ward, P.A.: Complement-induced lung injury, In: *The Pulmonary Circulation and Acute Lung Injury*. 2nd. ed. Edited by: Said, S.I. Ch. 16. 381-401. *Futura Publishing Company*, Mount Kisco, N. Y. 1991.
78. Trigo, F. J.: Patogénesis y aspectos inmunológicos de la pasteurellosis pulmonar bovina. *Vet. Méx.*, 22: 131-134 (1991).
79. Udaka, K. : The Arthus reaction. In: *Inflammation, Immunity and Hypersensitivity*. Edited by: Movat, H. Z. 389-423. *Harper & Row Publishers*, New York, 1971.
80. Ulich, T.R., Guo, K., Yin, S., del Castillo, J., Yi, E.S., Thompson, R.C. and Eisenberg, S.P.: Endotoxin- induced cytokine gene expression *in vivo* IV. Expression of interleukin-1 / and interleukin-1 receptor antagonist mRNA during endotoxemia and during endotoxin-initiated local acute inflammation. *Am. J. Path.*, 141 : 61- 68 (1992).
81. Ulich, T.R., Watson, L.R., Yin, S., Guo, K., Wang, P., Thang, H. and del Castillo, J.: The intratracheal administration of endotoxin and cytokines. I. Characterization of LPS-induced IL-1 and TNF mRNA expression and the LPS-, IL-1, and TNF-induced inflammatory infiltrate. *Am. J. Path.*, 138: 1485-1496 (1991).
82. Ulich, T.R., Yin, S., Guo, K., Yi, E.S., Remick, D. and del Castillo, J.: Intratracheal injection of endotoxin and cytokines. II. Interleukin-6 and transforming growth factor beta inhibit acute inflammation. *Am. J. Path.*, 138: 1097-1101 (1991).
83. Vestweber, J. G., Klemm, R.D., Leipold, H.W., Johnson, D.E. and Bailie, W.E. : Clinical and pathologic studies of experimentally induced *Pasteurella haemolytica* pneumonia in calves. *Am. J. Vet. Res.*, 51: 1792-1798 (1990).

84. Warren, J.S., Barton, P.A. and Jones, M.L. : Contrasting roles for tumor necrosis factor in the pathogenesises of IgA and IgG immune complex injury. *Am. J. Path.*, 138: 581-590 (1991).
85. Warren, J.S., Yabroff, K.R., Remick, D.G., Kunkel, S.L., Chensue, S.W., Kunkel, R.G., Johnson, K.J. and Ward, P.A. : Tumor necrosis factor participates in the pathogenesis of acute immune complex alveolitis in the rat. *J. Clin. Invest.*, 84: 1873-1882 (1989).
86. Wells, P.W., Evans, H.B., Burrells, C., Sharp, J.M., Gilmour, N.J.L., Thompson, D.A. and Rushton, B. : Inability of passively acquired antibody to protect lambs against experimental pasteurellosis. *Infect. Immun.*, 26: 25-29 (1979).
87. Wewers, M. D. and Gadek, J.E. : Proinflammatory polypeptides, In: *The Lung*. Vol. I. Edited by: Crystal, R.G., West, J.B., (Editors-in chief), Barnes, P.J. Cherniack, N.S., Weibel, E.R. (Associate editors). Ch. 2.8. 91-103. *Raven Press*, New York, N.Y., 1991.
88. Whiteley, L.O., Maheswaran, S.K.: Weiss, D.J. and Ames, T.R.: Immunohistochemical localization of *Pasteurella haemolytica* A1-derived endotoxin, leukotoxin, and capsular polysaccharide in experimental bovine *Pasteurella pneumonia*. *Vet. Pathol.*, 27: 150-161 (1990).
89. Whiteley, L.O., Maheswaran, S.K., Weiss, D.J. and Ames, T.R.: Alterations in pulmonary morphology and peripheral coagulation profiles caused by intratracheal inoculation of live and ultraviolet light-killed *Pasteurella haemolytica* A1 in calves. *Vet. Pathol.*, 28: 275-285 (1991).
90. Whiteley, L.O., Maheswaran, S.K., Weiss, D.J. and Ames, T.R.: Morphological and morphometrical analysis of the acute response of bovine alveolar wall to *Pasteurella haemolytica* A1-derived endotoxin and leucotoxin. *J. Comp. Path.*, 104: 23-32 (1991).

91. Whiteley, L.O., Maheswaran, S.K., Weiss, D.J. Ames, T.R., and Kannan, M.S.: *Pasteurella haemolytica* A1 and bovine respiratory disease: Pathogenesis. *J. Vet. Int. Med.*, 6: 11-22 (1992).
92. Wiener-Kronish, J.P., Albertine, K.H. and Matthay, M.A.: Differential responses of the endothelial and epithelial barriers of the lung in sheep to *Escherichia coli* endotoxin. *J. Clin. Invest.*, 88: 864-875 (1991).
93. Wilkie, B.N.: Respiratory tract immune response to microbial pathogens. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 181: 1074-1079 (1982).
94. Wilkie, B.N., Markham, R.J.F. and Shewen, P.E.: Response of calves to lung challenge exposure with *Pateurella haemolytica* after parenteral or pulmonary immunization. *Am. J. Vet. Res.*, 41: 1773-1778 (1980).
95. Wolff, S.M. : Monoclonal antibodies and the treatment of gram-negative bacteremia and shock. *New Engl. J. Med.*, 324: 486-487 (1991).
96. Woolcock, J.B.: The biology of *Pasteurella multocida* and *Pasteurella haemolytica*. In: *Pasteurellosis in Production Animals*. Edited by: Patten, B.E., Spencer, T.L., Johnson, R.B., Hoffmann, D., Lehane, L. 25-34. *The Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR), Proceedings No. 43, Canberra, Australia, 1993.*
97. Yoshizawa, Y., Tanoue, M., Yano, H., Sato, T., Ohtsuka, M., Hasegawa, S. and Kimula, Y. : Sequential changes in lung injury induced by preformed immune complexes. *Clin. Immunol. Immunopath.*, 61: 376-386 (1991).

**APENDICE A**  
**PROCEDIMIENTOS ESTADISTICOS**

## EXPERIMENTO 1

### Total de Células

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5
$\Sigma$	11,300	13,400	15,500	10,500	10,900
$\bar{y}$	706.25	957.14	968.75	656.25	778.57
s	288.60	224.34	532.56	189.62	361.99
$\Sigma x^2$	9'230,000	13'480,000	19'270,000	7'430,000	10'190,000
n	16	14	16	16	14

Modelo  $Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$

### ANDEVA

Fuente de Variación	gl	SC	CM	F	Ft
Tratamientos	4	1'270,596.81	317,649.20	2.68*	$\alpha 0.05$ > 2.53
Error	71	8'400,982.14	118,323.69		
Total	75	9'671,578.95			

Comparación de las Medias por el Procedimiento de Scheffé

Modelo  $Ss\bar{y}_i - \bar{y}_i = \sqrt{ft F_{\alpha}(0.05, 4/60 \text{ gl}) s^2 \bar{y}_i - \bar{y}_i}$

Grupo 3                      Grupo 4  
968.75                      -                      656.25 = 312.5 < 386.88

Grupo 4    Grupo 1    Grupo 5    Grupo 2    Grupo 3

---

No se reconocen diferencias entre las medias; la diferencia detectada en el análisis de varianza, resulta débil cuando se comparan las medias mediante el procedimiento de Scheffé.

### Macrófagos Alveolares

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5
$\Sigma$	9,305	8,362	8,208	7,019	7,727
$\bar{y}$	581.56	597.28	513	438.68	551.92
s	212.20	249.64	257.71	139.76	230.93
$\Sigma x^2$	6'086,903	5'804,670	5'206,982	3'372,181	4'958,035
n	16	14	16	16	14

Modelo  $Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$

ANDEVA

Fuente de Variación	gl	SC	CM	F	Ft $\alpha$ 0.05
Tratamientos	4	249,155.82	62,288.95	1.27	< 2.04
Error	71	3'468,225.17	48,848.24		
Total	75	3'717,380.99			

Polimorfonucleares

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5
$\Sigma$	1,779	4,957	6,665	3,013	2,701
$\bar{y}$	111.18	354.07	416.56	188.31	192.92
s	96.20	211.64	290.24	178.01	146.46
$\Sigma x^2$	336,639	2'337,473	4'039,981	1'042,725	799,957
n	16	14	16	16	14

Modelo  $Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$

ANDEVA

Fuente de Variación	gl	SC	CM	F	Ft $\alpha$ 0.005
Tratamientos	4	1'010,135.31	252,533.82	6.5**	> 4.14
Error	71	2'738,965.68	38,576.98		
Total	75	3'749,100.99			

Comparación de las Medias por el Procedimiento de Scheffé

Modelo  $Ss\bar{y}_i - \bar{y}_i = \sqrt{ft F_{\alpha} (0.05, 4/60 \text{ gl}) s^2 \bar{y}_i - \bar{y}_i}$

Grupo 3	-	Grupo 1	416.56 - 111.18 = 305.38 > 220.90
Grupo 3	-	Grupo 4	416.56 - 188.31 = 228.25 > 220.90
Grupo 3	-	Grupo 5	416.56 - 192.92 = 223.64 < 228.66
Grupo 2	-	Grupo 1	354.07 - 111.18 = 235.89 > 228.66
Grupo 2	-	Grupo 4	354.07 - 188.31 = 165.76 < 228.66

Grupo 1      Grupo 4      Grupo 5      Grupo 2      Grupo 3

---



---

El grupo 3 es realmente diferente de los grupos 4 y 1, pero no lo es de los grupos 2 y 5; a su vez el grupo 2 es semejante a los grupos 4 y 5, los cuales no son diferentes del 1.

### Linfocitos

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5
$\Sigma$	68	20	216	178	155
$\bar{y}$	4.25	1.42	13.50	11.12	11.07
s	5.73	3.63	13.21	6.33	7.64
$\Sigma x^2$	782	200	5536	2582	2475
n	16	14	16	16	14

Modelo  $Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$

### ANDEVA

Fuente de Variación	gl	SC	CM	F	Ft $\alpha$ 0.025 > 3.01
Tratamientos	4	953.83	238.45	3.64*	
Error	71	4,645.11	65.42		
Total	75	5,598.94			

### Comparación de las Medias por el Procedimiento de Scheffé

Modelo  $Ss\bar{y}_i - \bar{y}_i \cdot = \sqrt{ft F_{\alpha} (0.05, 4/60 \text{ gl}) s^2 \bar{y}_i - \bar{y}_i \cdot}$

Grupo 3	-	Grupo 2	
13.50	-	1.42	= 12.08 > 9.41
Grupo 3	-	Grupo 1	
13.50	-	4.25	= 9.25 > 9.09
Grupo 3	-	Grupo 5	
13.50	-	11.07	= 2.43 < 9.41
Grupo 4	-	Grupo 2	
11.12	-	1.42	= 9.70 > 9.41
Grupo 4	-	Grupo 1	
11.12	-	4.25	= 6.87 < 9.09

Grupo 2      Grupo 1      Grupo 5      Grupo 4      Grupo 3

---



---

El Grupo 3 es diferente de los grupos 1 y 2, pero no de los grupos 5 y 4. A su vez los grupos 4 y 5 comparten similitud con el grupo 1. Finalmente, el grupo 2 es semejante a los grupos 1 y 5.



### Monocitos

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5
$\Sigma$	210	135	528	347	410
$\bar{y}$	13.12	9.64	33	21.68	29.28
s	10.65	5.98	22.12	11.62	16.45
$\Sigma x^2$	4,458	1,767	24,766	9,553	15,528
n	16	14	16	16	14

Modelo  $Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$

#### ANDEVA

Fuente de Variación	gl	SC	CM	F	Ft
Tratamientos	4	6,055.52	1,513.88	7.13**	$\alpha 0.005 > 4.14$
Error	71	15,057.27	212.07		
Total	75	21,112.79			

Comparación de las medias por el Procedimiento de Scheffé

Modelo  $Ss\bar{y}_i.-\bar{y}_i.' = \sqrt{ft} F_{\alpha} (0.05, 4/60 \text{ gl}) s^2\bar{y}_i.-\bar{y}_i.'$

Grupo 3	-	Grupo 2	
33	-	9.64	= 23.36 > 16.95
Grupo 3	-	Grupo 1	
33	-	13.12	= 19.88 > 16.37
Grupo 3	-	Grupo 4	
33	-	21.68	= 11.32 < 16.37
Grupo 5	-	Grupo 2	
29.28	-	9.64	= 19.64 > 17.50
Grupo 5	-	Grupo 1	
29.28	-	13.12	= 16.16 < 16.95

Grupo 2      Grupo 1      Grupo 4      Grupo 5      Grupo 3  
 -----  
 -----  
 -----

El grupo 3 es diferente de los grupos 2 y 1, pero no lo es de los grupos 4 y 5; a su vez estos grupos no son diferentes del grupo 1 y el grupo 2 es similar a los grupos 1 y 4.

### Proteína

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5
$\Sigma$	4.17	6.77	6.69	4.88	3.67
$\bar{y}$	0.52	0.84	0.83	0.61	0.45
s	0.27	0.77	0.59	0.65	0.29
$\Sigma x^2$	2.70	9.94	8.05	5.93	2.28
n	8	8	8	8	8

Modelo  $Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$

ANDEVA

Fuente de Variación	gl	SC	CM	F	Ft
Tratamientos	4	1.02	0.25	0.83	$\alpha$ 0.1
Error	35	10.75	0.30		2.09
Total	39	11.77			

Deshidrogenasa Láctica

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5
$\Sigma$	0	86	221	197	128
$\bar{Y}$	0	10.75	27.62	24.62	16
s	0	20.61	42.08	38.57	21.81
$\Sigma x^2$	0	3,898	18,501	15,267	5,380
n	8	8	8	8	8

Modelo  $Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$

ANDEVA

Fuente de Variación	gl	SC	CM	F	Ft
Tratamientos	4	3,943.14	985.78	1.18	$\alpha$ 0.1
Error	35	29,117.26	831.92		2.09
Total	39	33,060.40			

## EXPERIMENTO 2

### Total de Células

	Grupo 1	Grupo 2
$\Sigma$	5,900	6,400
$\bar{Y}$	983.33	1,066.66
s	98.31	103.27
$\Sigma x^2$	5'850,000	6'880,000
n	6	6

Se procedió a mancomunar las varianzas mediante el procedimiento siguiente:

$$Sp^2 = (n1-1) S1^2 + (n2-1) S2^2 / n1 + n2 - 2$$

$$Sp^2 = 10,164.77$$

El estadístico de prueba fue:

$$t = (\bar{x}1 - \bar{x}2) - (\mu1 - \mu2) / \sqrt{Sp^2 / n1 + Sp^2 / n2}$$

$$t = - 1.43$$

La regla de decisión fue:

$$t \alpha 0.05, 6 + 6 - 2 \text{ gl} = 2.22$$

$$- 2.22 < - 1.43 < 2.22$$

Se acepta la hipótesis nula; no hay diferencia en lo concerniente a células totales entre los dos grupos.

### Macrófagos Alveolares

	Grupo 1	Grupo 2
$\Sigma$	1,609	3,344
$\bar{Y}$	268.16	557.33
s	72.15	123.74
$\Sigma x^2$	457,511	1'940,288
n	6	6

Se procedió a mancomunar las varianzas mediante el procedimiento siguiente:

$$Sp^2 = (n1-1) S1^2 + (n2-1) S2^2 / n1 + n2 - 2$$

$$Sp^2 = 10,258.60$$

El estadístico de prueba fue:

$$t = (\bar{x}_1 - \bar{x}_2) - (\mu_1 - \mu_2) / \sqrt{Sp^2 / n_1 + Sp^2 / n_2}$$

$$t = - 4.94$$

La regla de decisión fue:

$$t \alpha 0.05, 6 + 6 - 2 \text{ gl} = 2.22$$

$$- 4.94 > - 2.22$$

Se rechaza la hipótesis nula; existe diferencia significativa en lo concerniente a macrófagos alveolares entre los dos grupos. En este caso el grupo 2 es mayor que el grupo 1.

#### Polimorfonucleares

	Grupo 1	Grupo 2
$\Sigma$	4,195	2,956
$\bar{y}$	699.16	492.66
s	168.42	126.62
$\Sigma x^2$	3'074,841	1'536.488
n	6	6

Se procedió a mancomunar las varianzas mediante el procedimiento siguiente:

$$Sp^2 = (n_1 - 1) S_1^2 + (n_2 - 1) S_2^2 / n_1 + n_2 - 2$$

$$Sp^2 = 22,198.95$$

El estadístico de prueba fue:

$$t = (\bar{x}_1 - \bar{x}_2) - (\mu_1 - \mu_2) / \sqrt{Sp^2 / n_1 + Sp^2 / n_2}$$

$$t = 2.40$$

La regla de decisión fue:

$$t \alpha 0.05, 6 + 6 - 2 \text{ gl} = 2.22$$

$$2.40 > 2.22$$

Se rechaza la hipótesis nula; existe diferencia significativa en lo concerniente a polimorfonucleares entre los dos grupos. En este caso el grupo 1 es mayor que el grupo 2.

### Proteína

	Grupo 1	Grupo 2
$\Sigma$	4.60	2.19
$\bar{y}$	1.53	0.73
$s$	0.95	0.41
$\Sigma x^2$	8.85	1.94
$n$	3	3

Se procedió a mancomunar las varianzas mediante el procedimiento siguiente:

$$Sp^2 = (n_1-1) S_1^2 + (n_2-1) S_2^2 / n_1 + n_2 - 2$$

$$Sp^2 = 0.53$$

El estadístico de prueba fue:

$$t = (\bar{x}_1 - \bar{x}_2) - (\mu_1 - \mu_2) / \sqrt{Sp^2 / n_1 + Sp^2 / n_2}$$

$$t = 1.35$$

La regla de decisión fue:

$$t \alpha 0.05, 3 + 3 - 2 \text{ gl} = 2.77$$

$$- 2.77 < 1.35 < 2.77$$

Se acepta la hipótesis nula; no hay diferencia en lo concerniente a proteína entre los dos grupos.

### Deshidrogenasa Láctica

	Grupo 1	Grupo 2
$\Sigma$	104	27
$\bar{y}$	34.66	9
$s$	33.56	10.14
$\Sigma x^2$	5,858	449
$n$	3	3

Se procedió a mancomunar las varianzas mediante el procedimiento siguiente:

$$Sp^2 = (n_1-1) S_1^2 + (n_2-1) S_2^2 / n_1 + n_2 - 2$$

$$Sp^2 = 614.54$$

El estadístico de prueba fue:

$$t = (\bar{x}_1 - \bar{x}_2) - (\mu_1 - \mu_2) / \sqrt{Sp^2 / n_1 + Sp^2 / n_2}$$

$$t = 1.26$$

La regla de decisión fue:

$$t_{\alpha 0.05, 3 + 3 - 2 \text{ gl}} = 2.77$$

$$- 2.77 < 1.26 < 2.77$$

Se acepta la hipótesis nula; no hay diferencia en lo concerniente a deshidrogenasa láctica entre los grupos.

EXPERIMENTO 3

Total de Células

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 1a	Grupo 2a	Grupo 3a
$\Sigma$	9,700	5,600	7,000	15,300	7,600	7,500
$\bar{y}$	970	560	700	1,530	760	750
s	533.43	96.60	402.76	794.49	271.62	84.98
$\Sigma x^2$	11'970,000	3'220,000	6'360,000	29'090,000	6'440,000	5'690,000
n	10	10	10	10	10	10

Modelo  $Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$

ANDEVA

Fuente de Variación	gl	SC	CM	F	Ft
Tratamientos	5	5'966,833.33	1'193,366.66	6.12**	$\alpha$ 0.005 > 3.76
Error	54	10'515,000.00	194.722.22		
Total	59	16'481,833.33			

C	Contrastes					
	Grupo 1 9,700	Grupo 2 5,600	Grupo 3 7,000	Grupo 1a 15,300	Grupo 2a 7,600	Grupo 3a 7,500
1	1	1	1	-1	-1	-1
2	1	-1	0	1	-1	0
3	1	0	-1	1	0	-1
4	0	1	-1	0	1	-1
5	1	0	0	-1	0	0

C	Contrastes (continuación)					
	$\Sigma c_i y_i$	$Q = r \Sigma c_i^2$	$SS(Q) = Q / r \Sigma c_i^2$	$SS(Q) / s^2$	F	Ft
1	-8100	10(6)	1'093,500	1'093,500/CME	5.61*	1/10 gl $\alpha$ 0.05 > 4.96
2	11,800	10(4)	3'481,000	3'481,000/CME	17.87**	$\alpha$ 0.005 > 12.83
3	10,500	10(4)	2'756,250	2'756,250/CME	14.15**	$\alpha$ 0.005 > 12.83
4	-1,300	10(4)	42,250	42,250/CME	0.21	$\alpha$ 0.1 < 3.29
5	-5,600	10(2)	1'568,000	1'568,000/CME	8.05**	$\alpha$ 0.025 > 6.94

El contraste 1 para comparar el efecto de la inmunización pasiva en los tres grupos contra los otros tres que no fueron inmunizados, demostró que los primeros tuvieron valores mayores;

sin embargo, las diferencias más significativas se reconocieron en los contrastes 2 y 3 en donde se demuestra que la inoculación endotraqueal (sin importar que los animales fueran o no inmunizados) es más flogística. En cambio, en el contraste 4 no se demuestra diferencia entre la inoculación endovenosa y la endotraqueal, seguida de la endovenosa (reacción de Shwartzman). Finalmente, el contraste 5 demuestra que la inoculación endotraqueal, puede exacerbarse significativamente cuando los animales han recibido la inmunización pasiva.

### Macrófagos Alveolares

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 1a	Grupo 2a	Grupo 3a
$\Sigma$	5,136	4,072	4,730	7,054	6,538	5,936
$\bar{y}$	513.60	407.20	473.00	705.40	653.80	593.60
s	256.96	163.17	218.82	220.30	229.56	74.60
$\Sigma x^2$	3'232,112	1'897,752	2'668,246	5'412,708	4'748,838	3'573,702
n	10	10	10	10	10	10

Modelo  $Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$

### ANDEVA

Fuente de Variación	gl	SC	CM	F	Ft $\alpha 0.05$
Tratamientos	5	607,618.33	121,523.66	2.94*	> 2.37
Error	54	2'226,054.40	41,223.22		
Total	59	2'833,672.73			

C	Contrastes					
	Grupo 1 5,136	Grupo 2 4,072	Grupo 3 4,730	Grupo 1a 7,054	Grupo 2a 6,538	Grupo 3a 5,936
1	1	1	1	-1	-1	-1
2	1	-1	0	1	-1	0
3	1	0	-1	1	0	-1
4	0	1	-1	0	1	-1
5	1	0	0	-1	0	0



Contrastes (continuación)

	Q= $\sum c_i y_i$	$r \sum c_i^2$	SS(Q)= Q / r $\sum c_i^2$	SS(Q) / s <sup>2</sup>	F	Ft 1/10 gl $\alpha$ 0.01 >10.04 $\alpha$ 0.10 < 3.29 $\alpha$ 0.10 < 3.29 $\alpha$ 0.10 < 3.29 $\alpha$ 0.05 < 4.96
C						
1	-5590	10(6)	520,801.66	520,801.66/CME	12.63**	>10.04
2	1580	10(4)	62,410.00	62,410.00/CME	1.50	< 3.29
3	1524	10(4)	58,064.40	58,064.40/CME	1.40	< 3.29
4	-56	10(4)	78.40	78.40/CME	0.00	< 3.29
5	-1918	10(2)	183,936.20	183,936.20/CME	4.46	< 4.96

El contraste 1 para comparar el efecto de la inmunización pasiva en los tres grupos contra los otros tres que no fueron inmunizados, fue el único que demostró diferencias. En este caso, los animales inmunizados aportaron valores mayores que los no inmunizados.

Polimorfonucleares

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 1a	Grupo 2a	Grupo 3a
$\Sigma$	4,103	1,237	1,996	6,888	713	1,273
$\bar{y}$	410.30	123.70	199.60	688.80	71.30	127.30
s	296.17	138.80	173.49	561.92	38.78	49.72
$\Sigma x^2$						
2'472,961	326,413	669,296	7'586,310	64,377	184,303	
n	10	10	10	10	10	10

Modelo  $Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$

ANDEVA

Fuente de Variación	gl	SC	CM	F	Ft $\alpha$ 0.005 > 3.76
Tratamientos	5	2'796,611.94	559,322.38	7.34**	> 3.76
Error	54	4'111,436.39	76,137.71		
Total	59	6'908,048.33			

C	Contrastes					
	Grupo 1 4,103	Grupo 2 1,237	Grupo 3 1,996	Grupo 1a 6,888	Grupo 2a 713	Grupo 3a 1,273
1	1	1	1	-1	-1	-1
2	1	-1	0	1	-1	0
3	1	0	-1	1	0	-1
4	0	1	-1	0	1	-1
5	1	0	0	-1	0	0

Contrastes (continuación)

C	Q= $\sum c_i y_i$	$r \sum c_i^2$	SS(Q)= $Q^2 / r \sum c_i^2$	SS(Q)/s <sup>2</sup>	F	Ft 1/10 gl $\alpha$ 0.10 $\alpha$ 0.005
1	-1,538	10(6)	39,424.06	39,424.06/CME	0.51	< 3.29 $\alpha$ 0.005
2	9,041	10(4)	2'043,492.02	2'043,492.02/CME	26.83**	>12.83 $\alpha$ 0.005
3	7,722	10(4)	1'490,732.10	1'490,732.10/CME	19.57**	>12.83 $\alpha$ 0.10
4	-1319	10(4)	43,494.02	43,494.02/CME	0.57	< 3.29 $\alpha$ 0.05
5	-2,785	10(2)	387,811.25	387,811.25/CME	5.09*	> 4.96

En este caso no existe diferencia entre los grupos inmunizados y los no inmunizados (contraste 1); las diferencias se presentan cuando se compara la ruta de inoculación endotraqueal contra la endovenosa y contra la endotraqueal seguida de la endovenosa (reacción de Shwartzman) en los contrastes 2 y 3, respectivamente, sin importar si los animales fueron o no inmunizados. En cambio, no hay diferencia cuando se compara la inoculación endovenosa contra la endotraqueal seguida de la endovenosa (contraste 4). Finalmente, la inoculación endotraqueal es capaz de exacerbarse cuando previamente se inmuniza a los animales (contraste 5).

Linfocitos

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 1a	Grupo 2a	Grupo 3a
$\sum$	172	92	77	445	125	105
$\bar{Y}$	17.20	9.20	7.70	44.50	12.50	10.50
$s$	14.71	5.45	6.23	31.02	35.61	6.41
$\sum x^2$	4,906	1,114	943	28,463	1,883	1,473
$n$	10	10	10	10	10	10

Modelo  $Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$

ANDEVA

Fuente de Variación	gl	SC	CM	F	Ft
Tratamientos	5	8,644.94	1,728.98	7.83**	$\alpha$ 0.005 > 3.76
Error	54	11,916.79	220.68		
Total	59	20,561.73			

C	Contrastes					
	Grupo 1 172	Grupo 2 92	Grupo 3 77	Grupo 1a 445	Grupo 2a 125	Grupo 3a 105
1	1	1	1	-1	-1	-1
2	1	-1	0	1	-1	0
3	1	0	-1	1	0	-1
4	0	1	-1	0	1	-1
5	1	0	0	-1	0	0

C	Contrastes (continuación)					
	Q= $\sum c_i y_i$	$r \sum c_i^2$	SS(Q)= $Q^2 / r \sum c_i^2$	SS(Q)/s <sup>2</sup>	F	Ft 1/10 gl $\alpha$ 0.025 $\alpha$ 0.005
1	-334	10(6)	1,859.26	1,859.26/CME	8.42**	> 6.94
2	400	10(4)	4,000.00	4,000.00/CME	18.12**	> 12.83
3	435	10(4)	4,730.62	4,730.62/CME	21.43**	> 12.83
4	35	10(4)	30.62	30.62/CME	0.13	< 3.29
5	-273	10(2)	3,726.45	3,726.45/CME	16.88**	> 12.83

El contraste 1 para comparar el efecto de la inmunización pasiva en los tres grupos contra los otros tres que no fueron inmunizados demostró alta significancia. Lo mismo sucedió en los contrastes 2 y 3 en donde se comparó la ruta de administración endotraqueal del LPS contra la ruta endovenosa y endotraqueal seguida de la endovenosa (reacción de Shwartzman), en donde se demostró que la ruta endotraqueal es la más intensa (sin importar que los animales fueran o no inmunizados). En cambio, el contraste 4 no demostró diferencias entre la ruta endovenosa y la endotraqueal seguida de la endovenosa. Finalmente, en el contraste 5 se confirma que la ruta endotraqueal puede generar una respuesta mayor cuando los animales han sido previamente inmunizados.

Monocitos

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 1a	Grupo 2a	Grupo 3a
$\Sigma$	348	219	233	1,068	311	223
$\bar{y}$	34.80	21.90	23.30	106.80	31.10	22.30
s	17.71	8.41	14.84	86.98	26.54	12.22
$\Sigma x^2$	14,936	5,433	7,411	182,160	16,013	6,317
n	10	10	10	10	10	10

Modelo  $Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$

ANDEVA

Fuente de Variación	gl	SC	CM	F	Ft
Tratamientos	5	54,882.74	10,976.54	7.29**	$\alpha$ 0.005 > 3.76
Error	54	81,227.20	1,504.20		
Total	59	136,109.94			

	Contrastes					
	Grupo 1 348	Grupo 2 219	Grupo 3 233	Grupo 1a 1068	Grupo 2a 311	Grupo 3a 223
C						
1	1	1	1	-1	-1	-1
2	1	-1	0	1	-1	0
3	1	0	-1	1	0	-1
4	0	1	-1	0	1	-1
5	1	0	0	-1	0	0

C	Contrastes (continuación)					
	Q= $\Sigma c_i y_i$	$r \Sigma c_i^2$	SS(Q)= Q / r $\Sigma c_i^2$	SS(Q)/s <sup>2</sup>	F	Ft 1/10 gl $\alpha$ 0.025
1	-802	10(6)	10,720.06	10,720.06/CME	7.12**	> 6.94 $\alpha$ 0.005
2	886	10(4)	19,624.90	10,624.90/CME	13.04**	> 12.83 $\alpha$ 0.005
3	960	10(4)	23,040.00	23,040.00/CME	15.31**	> 12.83 $\alpha$ 0.10
4	74	10(4)	136.90	136.90/CME	0.09	< 3.29 $\alpha$ 0.005
5	-720	10(2)	25,920.00	25,920.00/CME	17.23**	> 12.83

En este caso los valores de significancia encontrados en los contrastes fueron similares a la comparación anterior.

Proteína

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 1a	Grupo 2a	Grupo 3a
$\Sigma$	3.10	3.21	2.16	9.40	5.20	1.97
$\bar{Y}$	0.62	0.64	0.43	1.88	1.04	0.39
s	0.42	0.84	0.26	0.88	0.79	0.41
$\Sigma x^2$	2.64	4.92	1.20	20.77	7.91	1.45
n	5	5	5	5	5	5

Modelo  $Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$

ANDEVA

Fuente de Variación	gl	SC	CM	F	Ft $\alpha$ 0.025
Tratamientos	5	7.87	1.57	3.73**	> 3.15
Error	24	10.12	0.42		
Total	29	17.99			

	Contrastes					
	Grupo 1 3.10	Grupo 2 3.21	Grupo 3 2.16	Grupo 1a 9.40	Grupo 2a 5.20	Grupo 3a 1.97
C						
1	1	1	1	-1	-1	-1
2	1	-1	0	1	-1	0
3	1	0	-1	1	0	-1
4	0	1	-1	0	1	-1
5	1	0	0	-1	0	0

Contrastes (continuación)

	Q= $\Sigma c_i y_i$	$r \Sigma c_i^2$	SS(Q)= $Q^2 / r \Sigma c_i^2$	SS(Q)/s <sup>2</sup>	F	Ft 1/5 gl $\alpha$ 0.05
C						
1	-8.10	5(6)	2.18	2.18/CME	5.20	< 6.61 $\alpha$ 0.10
2	4.09	5(4)	0.83	0.83/CME	1.99	< 4.06 $\alpha$ 0.05
3	8.37	5(4)	3.50	3.50/CME	8.34*	> 6.61 $\alpha$ 0.10
4	4.28	5(4)	0.91	0.91/CME	2.18	< 4.06 $\alpha$ 0.05
5	6.30	5(2)	3.96	3.96/CME	9.45*	> 6.61

En este caso, sólo los contrastes 3 y 5 demostraron significancia; en el primero se demostró una respuesta mayor de la inoculación endotraqueal en comparación de la endotraqueal seguida de la endovenosa (reacción de Shwartzman), sin importar que los animales fueran o no inmunizados y en el segundo se constató que la inoculación endotraqueal puede exacerbarse cuando los animales han sido previamente inmunizados.

### Deshidrogenasa Láctica

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 1a	Grupo 2a	Grupo 3a
$\Sigma$	48	70	115	359	89	123
$\bar{y}$	9.60	14.00	23.00	71.80	17.80	24.60
s	13.16	24.68	25.32	43.21	17.52	37.75
$\Sigma x^2$	1,154	3,418	5,211	33,247	2,813	8,729
n	5	5	5	5	5	5

Modelo  $Y = \mu + T_i + E_{ij}$

#### ANDEVA

Fuente de Variación	gl	SC	CM	F	Ft
Tratamientos	5	1,212.10	242.42	0.18	$\alpha$ 0.10
Error	24	31,008.70	1,292.02		< 4.06
Total	29	32,220.80			

EXPERIMENTO 4

Total de Células

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
$\Sigma$	17,600	26,150	23,000	34,800
$\bar{y}$	1,100.00	1,634.37	1,437.50	2,175.00
s	294.39	601.86	492.44	556.77
$\Sigma x^2$	20'660,000	48'172,500	36'700,000	80'340,000
n	16	16	16	16

Modelo  $Y = \mu + T_i + E_{ij}$

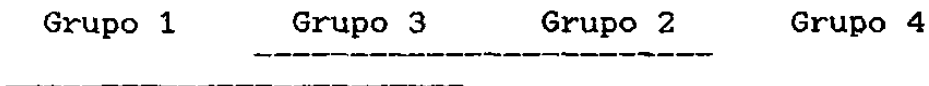
ANDEVA

Fuente de Variación	gl	SC	CM	F	Ft $\alpha 0.005$
Tratamientos	3	9'720,117.20	3'240,039.06	12.94**	> 4.73
Error	60	15'021,093.70	250,351.56		
Total	63	24'741,210.90			

Comparación de las medias Empleando el Procedimiento de Scheffé

Modelo  $Ss\bar{y}_i.-\bar{y}_i.' = \sqrt{ft F_{\alpha}(0.05, 3/60) s^2\bar{y}_i.-\bar{y}_i.'}$

Grupo 4	-	Grupo 1	
2,175.00	-	1,100.00	= 1,075.00 > 509.03
Grupo 4	-	Grupo 3	
2,175.00	-	1,437.50	= 737.50 > 509.03
Grupo 4	-	Grupo 2	
2,175.00	-	1,634.37	= 540.63 > 509.03
Grupo 2	-	Grupo 1	
1,634.37	-	1,100.00	= 534.37 > 509.03
Grupo 2	-	Grupo 3	
1,634.37	-	1,437.50	= 196.87 < 509.03
Grupo 3	-	Grupo 1	
1,437.50	-	1,100.00	= 337.50 < 509.03



El grupo 4 es realmente diferente a todos los demás. El grupo 2 y el 3 no son diferentes, mientras que el 1 y el 3 tampoco lo son.

### Macrófagos Alveolares

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
$\Sigma$	12,101	12,962	10,689	14,141
$\bar{y}$	756.31	810.12	668.06	883.81
s	239.15	339.78	168.97	380.90
$\Sigma x^2$	10'010,083	12'232,598	7'569,197	14'674,329
n	16	16	16	16

Modelo  $Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$

#### ANDEVA

Fuente de Variación	gl	SC	CM	F	Ft $\alpha$ 0.10
Tratamientos	3	346,506.05	115,502.01	1.33	< 2.18
Error	60	5'194,316.56	86,571.94		
Total	63	5'540,822.61			

### Polimorfonucleares

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
$\Sigma$	4,979	12,701	11,115	20,102
$\bar{y}$	311.18	793.81	694.68	1,256.37
s	161.44	505.93	371.08	649.00
$\Sigma x^2$	1'940,357	13'921,833	9'786,973	31'573,680
n	16	16	16	16

Modelo  $Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$

#### ANDEVA

Fuente de variación	gl	SC	CM	F	Ft $\alpha$ 0.005
Tratamientos	3	7'250,644.92	2'416,881.64	11.49**	> 4.73
Error	60	12'614,126.06	210,235.43		
Totales	63	19'864,770.98			

Comparación de las medias Empleando el Procedimiento de Scheffé

Modelo  $Ss\bar{y}_i.-\bar{y}_i.' = \sqrt{ft F\alpha (0.05, 3/60 \text{ gl}) s^2\bar{y}_i.-\bar{y}_i.'}$

Grupo 4	-	Grupo 1	
1,256.37	-	311.18	= 945.19 > 466.46
Grupo 4	-	Grupo 3	
1,256.37	-	694.68	= 561.69 > 466.46
Grupo 4	-	Grupo 2	
1,256.37	-	793.81	= 462.56 < 466.46



Grupo 2	-	Grupo 1	
793.81	-	311.18	= 482.63 > 466.46
Grupo 2	-	Grupo 3	
793.81	-	694.68	= 99.13 < 466.46
Grupo 3	-	Grupo 1	
694.68	-	311.18	= 383.50 < 466.46

Grupo 1	Grupo 3	Grupo 2	Grupo 4
-----			
-----			

El grupo 4 es diferente de los grupos 3 y 1, pero no lo es del grupo 2; a su vez el grupo 2 es diferente del grupo 1 pero no del 3; los grupos 3 y 1 no son diferentes.

Linfocitos

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
$\Sigma$	98	136	300	136
$\bar{y}$	6.12	8.50	18.75	8.50
s	4.70	6.87	14.87	12.52
$\Sigma x^2$	932	1,864	8,942	3,508
n	16	16	16	16

Modelo  $Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$

ANDEVA

Fuente de Variación	gl	SC	CM	F	Ft
					$\alpha 0.01$
Tratamientos	3	1,523.19	507.73	4.54**	> 4.13
Error	60	6,708.75	111.81		
Total	63	8,231.94			

Comparación de las Medias Empleando el Procedimiento de Scheffé

Modelo  $Ss\bar{y}_i - \bar{y}_i = \sqrt{ft F_{\alpha} (0.05, 3/60 \text{ gl}) s^2 \bar{y}_i - \bar{y}_i}$

Grupo 3	-	Grupo 1	
18.75	-	6.12	= 12.63 > 10.75
Grupo 3	-	Grupo 2	
18.75	-	8.50	= 10.25 < 10.75
Grupo 3	-	Grupo 4	
18.75	-	8.50	= 10.25 < 10.75
Grupo 4	-	Grupo 1	
8.50	-	6.12	= 2.38 < 10.75

Grupo 1                  Grupo 2                  Grupo 4                  Grupo 3

---

El grupo 3 es diferente del grupo 1, pero no lo es de los grupos 2 y 4; a su vez el grupo 1 es similar a los grupos 2 y 4.

Monocitos

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
$\Sigma$	432	359	901	427
$\bar{y}$	27.00	22.43	56.31	26.68
s	16.17	19.62	15.87	22.39
$\Sigma x^2$	15,588	13,831	54,517	18,919
n	16	16	16	16

Modelo  $Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$

ANDEVA

Fuente de Variación	gl	SC	CM	F	Ft
Tratamientos	3	11,693.42	3,897.80	11.13**	$\alpha 0.005 > 4.73$
Error	60	21,002.82	350.04		
Total	63	32,696.24			

Comparación de las Medias Empleando el Procedimiento de Scheffé

Modelo  $Ss\bar{y}_i - \bar{y}_i = \sqrt{ft F_{\alpha} (0.05, 3/60 gl) s^2 \bar{y}_i - \bar{y}_i}$

Grupo 3	-	Grupo 2	
56.31	-	22.43	= 33.88 > 19.03
Grupo 3	-	Grupo 4	
56.31	-	26.68	= 29.63 > 19.03
Grupo 3	-	Grupo 1	
56.31	-	27.00	= 29.31 > 19.03
Grupo 1	-	Grupo 2	
27.00	-	22.43	= 4.57 < 19.03

Grupo 2                  Grupo 4                  Grupo 1                  Grupo 3

---

En este caso el único grupo diferente es el 3

## **APENDICE B**

### **EL COMPLEJO RESPIRATORIO DE LOS BOVINOS**

## EL COMPLEJO RESPIRATORIO DE LOS BOVINOS

### Introducción

Las neumonías constituyen uno de los principales problemas de salud en los bovinos. Entre las pérdidas que ocasionan se incluyen la muerte de los animales enfermos, los elevados costos de los tratamientos, el bajo rendimiento de los animales con secuelas, decomisos en el rastro, y, además, el costo derivado de la aplicación de biológicos y otros fármacos para controlar estas enfermedades.

En los Estados Unidos de Norteamérica se estima que la Pasteurelisis Neumónica (PN) o más propiamente dicho, el Complejo Respiratorio Bovino (CRB), ocasiona pérdidas anuales por 800 millones de dls.; en otros países como Canadá y España, las pérdidas atribuidas al CRB se incluyen también entre las más relevantes. En México, a pesar de que no existen aún evaluaciones al respecto, las pérdidas se estiman igualmente considerables.

El presente escrito tiene como objetivo la presentación de los puntos más relevantes de la patogenia, diagnóstico y control del CRB.

## Antecedentes

El CRB es un padecimiento neumónico en el que intervienen varios agentes infecciosos (multi-etiológico), favorecido por diversos factores (multifactorial) que provocan estrés en el animal. Es pertinente mencionar que los términos Fiebre de Embarque y Pasteurelisis Neumónica ya no son tan apropiados, puesto que el transporte no constituye el único factor predisponente ni las bacterias del género *Pasteurella* son los únicos microorganismos involucrados. Por otra parte, el concepto Síndrome Respiratorio Bovino resulta adecuado para referirse al conjunto de manifestaciones clínicas derivadas del CRB. En cambio, se excluyen del CRB a todos aquellos padecimientos confinados al tracto respiratorio superior, tales como el Granuloma Nasal y la Laringotraqueitis Necrótica del Ternero. Asimismo, otros padecimientos neumónicos del ganado que ocurren esporádicamente, como la Neumonía Embólica por Trombosis de la Vena Cava, las Neumonías Granulomatosas por *Mycobacterium sp.* o por *Coccidioides immitis* y la Neumonía Verminosa por *Dictyocaulus sp.*, no se consideran dentro del CRB. De igual manera, tampoco se incluyen aquí a los numerosos padecimientos neumónicos agrupados dentro de las Neumonías Intersticiales Atípicas. Por lo tanto, a pesar de que el concepto CRB es amplio, éste se limita a los padecimientos neumónicos exudativos de índole bacteriano, luego que se han alterado los mecanismos de defensa del pulmón, por condiciones estresantes y/o infecciones virales.

## El Concepto Multifactorial

Con relación al concepto multifactorial del CRB, se ha mencionado que los factores propios de la alta tecnificación en la producción intensiva de bovinos de carne, constituyen de por sí condiciones favorables para la presentación del CRB. En efecto, el transporte prolongado, el hacinamiento, la mezcla en el corral de animales de diferentes edades y, en general, cualquier otra condición que impida drásticamente el patrón de comportamiento normal en los animales, propiciará las condiciones de estrés; inclusive, procedimientos de manejo convencionales en el corral de engorda, como la castración y el descornado, han demostrado ser suficientemente estresantes. El estado de estrés implica la instauración de una reacción neuroendócrina que conlleva la liberación de esteroides de la corteza adrenal. Cuando el estímulo que provoca esta reacción se prolonga, la liberación de esteroides endógenos, principalmente cortisol, disminuirá la capacidad del animal para establecer una respuesta inmune adecuada. Si a estas condiciones estresantes se le añade una higiene deficiente y una elevada humedad relativa (>80%), existe una mayor posibilidad de que se presenten enfermedades respiratorias, debido al alto grado de contaminación y a la mayor supervivencia de los microorganismos en el medio.

Otra situación de gran relevancia es la nutrición de los animales. Recientemente, se ha demostrado que las deficiencias de vitaminas y minerales traza, influyen desfavorablemente en la capacidad de respuesta

immune; si bien, no se ha determinado con exactitud la manera en que esto ocurre. Por último, cuando los animales ingieren alimentos contaminados con micotoxinas, particularmente aflatoxinas y toxina T<sub>2</sub>, puede deprimirse también su capacidad inmunitaria; de esta forma, estas micotoxicosis no acontecerían de manera clínica evidente, sino favoreciendo la presentación de otros padecimientos relacionados con la inmunodepresión (micotoxicosis secundaria), entre los que se incluiría a las neumonías.

### El Concepto Multietiológico

Como ya se ha mencionado, para la presentación del CRB se amerita de factores predisponentes y de una interacción de los agentes infecciosos. Estos agentes infecciosos pueden ser diferenciados en primarios y secundarios; es decir, en aquellos que intervienen originalmente y en los que ocurren luego como oportunistas, después de que se ha desarrollado la infección inicial. Las investigaciones al respecto, han demostrado que los virus pueden ser considerados como agentes primarios, mientras que las bacterias como secundarios. En el cuadro 1 se presenta una relación de los agentes infecciosos considerados de mayor relevancia en el CRB.

Cuadro 1

---

 PRINCIPALES AGENTES INFECCIOSOS ASOCIADOS CON EL CRB
 

---

Virus	Bacterias
Rinotraqueítis Infecciosa Bovina (IBR)*	<i>Pasteurella haemolytica</i> (A1)*
Parainfluenza 3 (PI3)*	<i>Pasteurella multocida</i> A*
Diarrea Viral Bovina (BVD)*	<i>Haemophilus somnus</i> *
Virus Respiratorio Sincitial Bovino (BRSV) ^	
Adenovirus Bovino ^	

---

\* Aislados en México.

^ Demostrada su presencia mediante estudios serológicos.

Otros virus tales como Rhinovirus, Enterovirus y Reovirus, se estiman de menor importancia en el CRB; por otra parte, aunque el virus de la Fiebre Catarral Maligna también afecta el tracto respiratorio de los bovinos, provoca una patología tan particular y severa, que su inclusión en el CRB, quizá no se justifique.

En lo que concierne a las bacterias que participan en el CRB, es menester señalar que otras, como *Corynebacterium pyogenes*, *Streptococcus sp.*, pueden también intervenir, pero su participación es eventual. Otra situación



deriva de las infecciones por *Mycoplasma* (*M. bovis*, *M. dispar*) y *Chlamydia psittaci*, puesto que las neumonías que provocan son de tipo proliferativo (linfoproliferativo) y no exudativo (exudativo intersticial y bronconeumonía), como ocurre en las lesiones neumónicas que caracterizan al CRB, a menos que luego se compliquen estos procesos neumónicos iniciales con las bacterias de mayor importancia en el Complejo. El término Neumonía Euzoótica se emplea para referirse a estas neumonías, las cuales ocurren mayormente en becerros mantenidos en hacinamiento en lugares encerrados y con mala ventilación.

### Interacción Virus-Bacteria

Las bacterias involucradas en el CRB, pueden ser recuperadas de la mucosa nasal y faríngea de bovinos sanos; sin embargo, estas mismas bacterias pueden colonizar el tracto respiratorio inferior, particularmente bronquiolos y alvéolos, bajo ciertas condiciones que disminuyen la capacidad de defensa. Estas condiciones adversas pueden ser algún factor estresante, una ligera infección respiratoria viral o ambos.

En los bovinos normales, lo mismo que en otros animales domésticos y de laboratorio, la remoción bacteriana pulmonar es prácticamente total a las 8 horas posteriores a un desafío masivo por aerosol. Por ejemplo, becerros desafiados con aerosol de *P. haemolytica*, eliminan el 75% de las bacterias a las 2 horas, el 90% a las 4 y 92% a las 8 horas. No obstante, cuando previo al desafío bacteriano se infecta a los animales con algún virus (4 o 6 días antes con los virus IBR o Pi3, respectivamente), los mecanismos de

depuración pulmonar son incapaces de eliminar las bacterias, generándose entonces una neumonía. Los mecanismos mediante los cuales se desarrolla este sinergismo virus-bacteria, no se han dilucidado totalmente; sin embargo, se asume que el mayor efecto detrimental sobre los mecanismos de defensa en el pulmón, ocurre sobre el macrófago alveolar. Al respecto, se ha demostrado un fenómeno de hipersensibilidad, denominado citotoxicidad, sobre los macrófagos que expresan antígenos virales sobre su superficie. En este caso, resulta paradójico que al momento en que la respuesta inmune humoral comienza a presentarse significativamente (6 a 8 días posteriores al inicio de la infección viral), los anticuerpos dirigidos contra los virus, destruyen a los macrófagos que se han convertido en el blanco de la respuesta inmune, al exponer en su superficie los antígenos virales.

Además de lo anterior, los virus pueden ocasionar otras alteraciones en los mecanismos de defensa del pulmón, tales como la destrucción de la carpeta mucociliar, la producción de edema, daño sobre neumocitos I y II, esto último con la consecuente alteración del surfactante e, inclusive, la generación de eventos inflamatorios, dependientes de un fenómeno hipersensible en el que participan IgE, células cebadas y sustancias vasoactivas liberadas por éstas; es decir, el virus, en este caso el BRSV, actúa como alérgeno. En el cuadro 2 se presenta un resumen de los efectos más significativos de la infección viral sobre los mecanismos de defensa en el pulmón.

## Cuadro 2

---

### EFFECTOS DE LA INFECCION VIRAL SOBRE LOS MECANISMOS DE DEFENSA EN EL PULMON

---

Aumento en la susceptibilidad a la adhesión y colonización bacteriana.  
 Disminución de la eliminación bacteriana por la carpeta mucociliar.  
 Disminución de los niveles del surfactante.  
 Disminución de la actividad fagocítica de los macrófagos por alteraciones en:  
 Quimiotaxis, Adhesión de partículas, Ingestión, Fusión fagosoma-lisosoma,  
 Acción lítica y degradación intracelular y Niveles de enzimas lisosomales.

---

#### Factores de virulencia de la bacteria

En lo que concierne a las bacterias, se ha demostrado que éstas son las verdaderas responsables de la severidad del cuadro neumónico en el CRB; de hecho, una infección respiratoria viral sin complicaciones, transcurre por lo general inaparente o discreta. Las bacterias más importantes son las del género *Pasteurella*, aunque recientemente también ha tomado relevancia *Haemophilus somnus*, microorganismo causante de la Meningoencefalitis Tromboembólica. Otras bacterias que pueden intervenir eventualmente en el CRB, se estiman de menor relevancia.

*Pasteurella haemolytica* se considera de mayor importancia que *P. multocida* en el CRB. En el primer caso se trata del tipo A1, mientras que para *P. multocida* se hace referencia al tipo A. Vale mencionar aquí que los tipos B y E de *P. multocida*, causante de la Septicemia hemorrágica, no han sido demostrados en los bovinos en América, por lo tanto, esta enfermedad debe ser considerada exótica.

Con relación a *P. haemolytica*, se ha propuesto que previo a la colonización bacteriana del tracto respiratorio inferior, se requiere de una abrupta conversión en el tracto respiratorio superior, de la forma comensal de la bacteria (serotipo 2 u otros, albergadas naturalmente en fosas nasales y tonsilas) a la forma patógena (serotipo 1). Esta conversión se presentaría durante condiciones de estrés y/o infecciones virales en el animal, porque *P. haemolytica* A1, a diferencia de los serotipos comensales, expresaría en su superficie factores que le permitirían la adhesión y colonización en el tracto respiratorio superior después que ha sido alterado, para luego, a partir de este foco primario de infección, diseminarse hacia el pulmón. Vale señalar también que la expresión de estos factores de adhesión y colonización de *P. haemolytica* A1, podría estar asociada a la regulación conjunta de otros factores de virulencia de la bacteria.

Los factores de virulencia de *P. haemolytica* considerados de mayor importancia son su leucotoxina y el lipopolisacárido. La leucotoxina (LT) es un exotoxina citotóxica para los leucocitos de los rumiantes y también para los macrófagos alveolares. Este efecto selectivo de la citotoxina, quizá explique la virulencia de *P. haemolytica* para los rumiantes y su ausencia de

patogenicidad para el cerdo y otros animales domésticos. La LT de *P. haemolytica*, pertenece a un grupo de toxinas bacterianas denominadas: "citolisinas formadoras de poros", por sus típicos efectos sobre las membranas celulares.

Por otra parte, se ha demostrado que los lipopolisacáridos bacterianos (LPS), componentes primordiales de la pared de las bacterias Gram negativas, pueden ejercer un efecto inflamatorio considerable cuando se instilan en el pulmón. Este efecto inflamatorio también ocurre cuando se emplean los LPS de *P. haemolytica* y *P. multocida*, que además alteran las propiedades del surfactante alveolar, favoreciendo el desarrollo de la lesión neumónica. Más recientemente, ha sido demostrado que a partir de la inoculación por vía aérea de *P. haemolytica*, su LPS puede atravesar la barrera epitelial e interactuar con las células endoteliales y los macrófagos intravasculares del pulmón, generando una significativa respuesta inflamatoria en la que se comprometen otros mecanismos de homeostasis que también intervienen en la respuesta inflamatoria, tales como los de la coagulación y fibrinólisis, lo mismo que el sistema del complemento. Inclusive, se ha demostrado que *P. haemolytica* puede inducir la producción del Factor de Necrosis Tumoral (TNF) cuando se incuba con macrófagos alveolares. Como se sabe, el TNF es una citocina que tiene múltiples propiedades entre las que destaca su enorme capacidad flogística.

La importancia de los polimorfonucleares neutrófilos (PMN) en el desarrollo del daño pulmonar es tan relevante que cuando se priva experimentalmente a los bovinos de estas células, la lesión que corresponde

a un desafío masivo con *P. haemolytica* se ve notablemente disminuida. De lo anterior, se desprende la apreciación de que el macrófago alveolar, participa mayormente en la depuración bacteriana e interactúa con las células responsables de la respuesta inmune, en tanto que el PMN es un importante ejecutor de la respuesta inflamatoria, luego de que resulta activado por diversos mediadores; sin embargo, cuando esta respuesta ocurre de manera exacerbada, el daño tisular en el pulmón sobrepasa los beneficios originales de la inflamación.

## Lesiones

La lesión más representativa del CRB es la neumonía; esta neumonía resulta ser la mayoría de los casos, de tipo agudo, intersticial y exudativa, conforme al criterio histopatológico actual para la clasificación de las neumonías. Eventualmente, la neumonía es de tipo bronconeumonía aguda o una mezcla con la anterior. Se ha estimado que cuando interviene en la lesión neumónica *P. haemolytica*, se presenta el primer tipo de neumonía, mientras que el segundo ocurre cuando interviene *P. multocida* o *H. somnus*. En algunas ocasiones los microorganismos pueden encontrarse asociados. Por otra parte, se ha referido que la participación de *Mycoplasma bovis*, *M. dispar* y *Chlamydia psittaci*, pueden dar lugar a una neumonía de tipo agudo linfoproliferativa, la cual eventualmente evolucionará hacia neumonía exudativa, mayormente bronconeumonía, cuando también intervienen *Pasteurella sp.* o *H. somnus*.

Particularizando sobre la neumonía aguda intersticial y exudativa, considerada la más representativa del CRB, cabe mencionar que también se hace referencia a ella como neumonía fibrinosa, en la clasificación anatomopatológica. Lo anterior se debe a que su respuesta inflamatoria exudativa es predominantemente de tipo fibrinoso. Este exudado cubre la pleura de las regiones craneoventrales del pulmón; además, también existe una patente consolidación en estas zonas. La lesión es por lo general asimétrica y se presenta un daño más considerable en el pulmón derecho. Comúnmente se involucran los lóbulos apicales y cardíacos de ambos pulmones y el lóbulo accesorio y la parte adyacente del diafragmático del pulmón derecho. Eventualmente, cuando la lesión ha evolucionado por algún tiempo, se aprecian patentes adherencias de fibrina entre la pleura parietal y la visceral. Las secuelas más comunes son secuestros abscedados de las zonas más dañadas.

Microscópicamente se observa una severa pleuritis fibrinosa o fibrinopurulenta. Los vasos linfáticos de los septos interlobulillares muestran notorios trombos de fibrina. Los bronquios y bronquiolos mayores lucen necrosis y descamación del epitelio y, eventualmente, un exudado fibrinopurulento. Los alvéolos aparecen engrosados en sus septos y hemorrágicos; asimismo, se aprecia una severa infiltración por PMN, tanto en septos como participando en la exudación alveolar. En zonas de severo daño la consolidación y necrosis no permiten distinguir la arquitectura alveolar. Estas zonas de intenso daños se encuentran parcialmente demarcadas por células necróticas arremolinadas. En estas zonas puede también apreciarse vasculitis y trombosis de algunas pequeñas venas. En

otras áreas, con menos daño, se pueden reconocer edema, fibrina, macrófagos activos y PMN en la luz de los alvéolos; además, pueden identificarse colonias bacterianas.

Cuando la participación bacteriana corresponde a *P. multocida* o a *H. somnus*, las características de la lesión neumónica cambian considerablemente, al grado de manifestarse como bronconeumonía franca; es decir, la exudación bronquial y bronquiolar es más copiosa y el exudado es mayormente mucopurulento. La bronquiectasia es la secuela más importante en esta neumonía.

Como se ha visto, las bacterias son en sí las responsables mayores de la morfología del daño pulmonar; sin embargo, eventualmente pueden identificarse algunas evidencias indicativas de la participación viral en la lesión. Estas evidencias corresponden a la formación de cuerpos de inclusión que se presentan en el citoplasma de las células del epitelio bronquial y bronquiolar, así como en macrófagos, lo que resulta compatible con infecciones por Paramyxoviridae, sean debidas a PI3 (Paramyxovirus) o BRSV (Pneumovirus). Además, en estos casos también se aprecia a nivel alveolar la coalescencia de células del epitelio o de macrófagos, a las que se les denomina sincitios. Por otra parte, pueden observarse cuerpos de inclusión intranucleares en células del epitelio de bronquios, tráquea y mucosa nasal, en casos de IBR.

Otras de las lesiones que pueden reconocerse en el CRB, además de la neumonía, son traqueítis y rinitis fibrinonecrótica que por lo general



corresponden a IBR. Por otra parte, cuando las lesiones respiratorias se acompañan de estomatitis ulcerativa y de otras lesiones semejantes en el tracto digestivo, pudiera tratarse de BVD, debiendo ser considerada también Fiebre Catarral Maligna.

## Signos Clínicos

Las manifestaciones clínicas del CRB no ocurren sino hasta 6 o 10 días posteriores al arribo de un lote nuevo o la presentación de la condición estresante. Por lo general, la morbilidad oscila entre 5 y 40 %, mientras que la mortalidad fluctúa entre 5 y 30 %; aunque en algunos brotes puede elevarse considerablemente.

Los animales muestran al principio lasitud y anorexia, se apartan del resto de los animales y se mantienen con la cabeza baja, las orejas caídas y los ojos entreabiertos. También puede apreciarse que los animales muestran cierta apatía cuando se les observa dentro del corral e incluso no miran de frente al observador, quizá por la molestia que les causa el mover el cuello. Algunos animales pueden presentar salivación, debido también a la molestia que les causa el deglutir. Por lo general, el morro está congestionado, reseco y costroso; asimismo, hay fiebre, conjuntivitis y lagrimeo. La frecuencia respiratoria está aumentada, aunque por lo general aún sin disnea. A continuación, puede presentarse descarga nasal, si bien esto no es constante, resulta indicativo de la severidad del compromiso en tracto respiratorio superior. Tampoco la tos es un signo prominente y cuando se presenta es suave, húmeda y en accesos. Conforme la lesión neumónica

progresar en gravedad, la disnea se hace patente, el animal respira por la boca teniendo la cabeza extendida y abduciendo los miembros anteriores. Eventualmente se presenta diarrea. En la auscultación pueden reconocerse ruidos bronquiales y roces pleurales en la región craneoventral, sobre todo del pulmón derecho; no obstante, cuando la lesión de consolidación es total, los sonidos respiratorios pueden estar ausentes. Los animales afectados severamente, mueren por lo general entre los primeros 25 días de arribo al engordadero, luego de un curso de 3 a 8 días. Usualmente el problema en el lote transcurre de 3 a 4 semanas.

### Diagnóstico

El diagnóstico clínico no resulta por lo general difícil cuando se reconocen varios animales representativos del problema; sin embargo, el diagnóstico integral resulta todo lo contrario, lo cual va en relación de la etiología múltiple del CRB.

En efecto, aunque con base en las lesiones pulmonares en los animales muertos, puede suponerse cual es la bacteria involucrada con el problema, resulta generalmente difícil establecer la identidad del agente etiológico primario que, como ya sabemos, es un virus. Para este propósito la observación histopatológica es muy necesaria, aunque no siempre pueden encontrarse evidencias que sugieran a un agente viral en particular; no obstante, la patología resulta imprescindible como parte del diagnóstico y nunca debe omitirse. En lo que concierne a los estudios virológico de aislamiento, éstos son sin duda los que determinarían al agente etiológico

primario; desafortunadamente su realización no se encuentra al alcance de la mayoría de los laboratorios en México y sus procedimientos son costosos y tardados. En este sentido, las técnicas de inmunofluorescencia para demostrar al antígeno viral en el tejido, quizá sean las más rápidas y eficientes, pero tampoco son rutinarias y sólo se realizan en laboratorios especializados del país. Los análisis bacteriológicos, en cambio, son más accesibles y confirmarían la presencia de la bacteria involucrada, además de indicar, eventualmente, la terapia antimicrobiana más adecuada con base en estudios de sensibilidad a los antibióticos. Por último, el conocimiento de la diseminación de una o varias infecciones virales en un lote de animales, ayudaría a establecer las medidas para su control, pero desafortunadamente, las técnicas serológicas mediante las cuales se consigue lo anterior, tampoco se llevan a cabo en todos los laboratorios del país. En resumen, el diagnóstico integral en los casos de CRB, no se consigue con facilidad mediante los medios de que se dispone actualmente en México; sin embargo, los estudios de patología ofrecen una valiosa ayuda.

#### Casos Locales

En el laboratorio de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Autónoma de Nuevo León, se han diagnosticado 28 casos de neumonías representativas del CRB; estos casos corresponden a brotes de la enfermedad registrados entre 1986 y 1994. Todos, con excepción de uno, ocurrieron en corrales de engorda. En varios de estos casos existen evidencias histopatológicas de infección viral por Paramyxoviridae. Algunos estudios serológicos que se han llevado a cabo en el Veterinary Diagnostic

Laboratory del College of Veterinary Medicine en College Station, Texas A&M University, han demostrado que los animales son reactivos a IBR, PI3, BRSV, *P. haemolytica* y *H. somnus*. El único caso que no ha ocurrido en corral de engorda, se presentó en becerros alojados en jaulas dentro de un cobertizo, en condiciones desfavorables, tal y como se ha referido para los brotes de Neumonía Enzoótica.

### Tratamiento

Se ha demostrado que cuando se logran identificar las primeras manifestaciones del CRB en los animales enfermos, la mayoría de los tratamientos antimicrobianos, insaturados durante este período, son eficaces, sobre todo, si se continúan por lo menos 48 horas después de que los signos clínicos hayan desaparecido. Es decir, la mortalidad en el CRB puede ser minimizada cuando se administra a tiempo de terapia antimicrobiana, mientras que los tratamientos aplicados luego de 48 horas de iniciado el padecimiento, por lo general, resultan infructuosos, inclusive en algunos casos sólo se prolonga el curso de la enfermedad; asimismo, cuando los tratamientos se suspenden tempranamente, pueden favorecerse las recaídas y la presentación de secuelas graves.

Entre los antimicrobianos más recomendables para el tratamiento del CRB, se encuentran: penicilina-estreptomicina, ampicilina, amoxicilina, tetraciclina y sulfonamidas; cuando la severidad del caso lo amerite pueden también emplearse neomicina y spectinomina. Cabe mencionar que deben ser consideradas pruebas de sensibilidad bacteriológica a los antibióticos, en

la instauración de la terapia antimicrobiana. Por otra parte, no se cuenta con datos suficientes que apoyen en empleo de los corticosteroides como auxiliares en el tratamiento de las neumonías en el CRB; en cambio, los antiinflamatorios no esteroideos (flunixinina, meglumina) han demostrado beneficios.

En el caso de la administración de antimicrobianos a niveles profilácticos, con la intención de disminuir la gravedad de un brote de CRB o de impedir las manifestaciones en el caso de los animales en período de incubación, las opiniones son bastante contradictorias e inclusive desfavorables. Por ejemplo, en un experimento en el que se provocaron lesiones neumónicas típicas del CRB, mediante la aplicación del virus de IBR seguido 4 días después por *P. haemolytica*, ambos en aerosol, se administró una dosis de oxitetraciclina de larga acción 24 horas antes del desafío bacteriano, demostrándose que en los animales, así tratados, la ocurrencia de la lesión neumónica se retardaba, pero acontecía tan severa como en los animales que no habían recibido el tratamiento con el antibiótico; mientras que la aplicación del mismo antibiótico en presentación convencional en dosis terapéuticas, era efectiva cuando se administraba, tanto al mismo día del desafío con la bacteria, como 24 horas antes o después del mismo.

Cuando debido al número de animales afectados en un corral (25% o más), se justifique el tratamiento masivo, se puede emplear sulfametazina, sulfamerazina o sulfatiazol en el agua de bebida; de igual forma, la clortetraciclina puede administrarse en el alimento. No obstante, estas ventajosas alternativas no reemplazan a la terapia individual de los animales

clínicamente enfermos, debido a que éstos no consumen suficientes cantidades de agua y/o alimento.

### Prevención

Los procedimientos para prevenir el CRB mediante biológicos, son sin duda el área de mayor interés y debate actualmente. Por principio, existe la opinión, bastante justificada, de que las bacterinas contra *Pasteurella* para prevenir el CRB, no cumplen con este propósito y, que inclusive paradójicamente, los animales inmunizados muestran una susceptibilidad mayor a padecer las lesiones neumónicas. Se ha propuesto, en este sentido, que los animales al recibir una inmunización parenteral con estos biológicos, desarrollan una buena respuesta inmune humoral sistémica, la cual al actuar a nivel alveolar, favorece una fagocitosis desproporcionada de *Pasteurella* por los macrófagos, debido al efecto opsonizante de estos anticuerpos (IgG) sobre las bacterias; luego, las grandes cantidades de microorganismos fagocitados no pueden ser digeridas por los macrófagos, favoreciéndose la multiplicación bacteriana y la muerte celular por las toxinas que se producen. Asimismo, es probable que también se favorezca la respuesta *inflamatoria* por mecanismos de hipersensibilidad en donde participan complejos inmunes. Por otra parte, existe también la opinión de que las bacterinas contra *Pasteurella*, pueden ser mejoradas mediante ciertos adyuvantes y el empleo de la proporción adecuada de bacterias en la dosis. Además, se ha señalado que la aplicación de estos inmunógenos por vía respiratoria, confiere una respuesta inmune más adecuada, porque esta es la ruta natural por donde se adquiere la infección. No obstante, quizá la solución dependa

más directamente de la producción de un biológico que induzca a la formación de anticuerpos protectores y que también neutralicen la leucotoxina de *P. haemolytica*; al parecer, esto podrá conseguirse en un futuro cercano con el empleo de biológicos preparados con bacterias vivas o modificadas químicamente, o también, con el empleo de vacunas recombinantes.

Por otro lado, existe el criterio de que vacunado contra los agentes infecciosos primarios, en este caso los virus, se puede prevenir la infección bacteriana; este criterio se fundamenta en el hecho de que los virus IBR, PI3, BRSV, BVD e inclusive Adenovirus, han demostrado favorecer la infección bacteriana en el pulmón. En efecto, ha sido documentada la resistencia a un desafío con el virus de IBR seguido de *P. haemolytica*, administrados en aerosol, en animales previamente inmunizados con una vacuna de virus modificado contra IBR-PI3 o con virus inactivado contra IBR. En el caso del BRSV aún no existen evidencias substanciales que avalen el uso de estos biológicos en el campo, si bien la mayoría de los informes son favorables. Al parecer la única demostración confirmada de efecto adverso por el empleo de un inmunógeno viral, corresponde al virus de BVD; al respecto, se ha demostrado un efecto inmunosupresor del biológico contra BVD que contiene virus modificado, debido precisamente a que aún conserva virulencia residual, lo cual constituye un riesgo digno de tenerse en cuenta.

Resumiendo lo anterior, puede decirse que el empleo de bacterinas convencionales de *Pasteurella* para el control del CRB no es recomendable,

mientras que la vacunación contra los virus resulta, al parecer, más adecuada.

## LITERATURA SELECTA

Confer, A.W., Panciera, R.J. and Mosier, D.A.: Bovine pneumonic pasteurellosis: immunity to *Pasteurella haemolytica*. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 193: 1308-1316 (1988).

Frank, G. H. : Pasteurellosis of cattle. In: *Pasteurella and Pasteurellosis*. Edited by: Adlam, C., Rutter, J. M. 197 -221. *Academic Press*, London, 1989.

González, C. T. and Maheswaran, S.K.: The role of induced virulence factors produced by *Pasteurella haemolytica* in the pathogenesis of bovine pneumonic pasteurellosis: review and hypotheses. *Br. Vet. J.*, 149: 183-194 (1993).

Mosier, D.: Prevention and control of pasteurellosis, In: *Pasteurellosis in Production Animals*. Edited by: Patten, B.E., Spencer, T.L., Johnson, R.B. Hoffmann, D. and Lehane, L. 121-132. *The Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR)*., Proceedings No. 43, Canberra, Australia, 1993.

Ramírez-Romero, R. : El síndrome respiratorio en los bovinos. Memorias del Primer Seminario Sobre Producción de Bovinos Para Carne. *Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia y Gobierno del Estado de Nuevo León, Secretaría de Fomento Agropecuario*, Mayo, 1987, Monterrey, N.L.

Ramírez-Romero, R. : El complejo respiratorio de los bovinos, un padecimiento pulmonar. *Ganadero*, XVI, Nos. 4 y , 57-69 y 79-80 (1991).



Solana, A. (editor) : Síndrome Respiratorio Bovino. Bovis 12. *Luzán* 5, Madrid, 1986.

Trigo, F.J. : El complejo respiratorio infeccioso de bovinos y ovinos. *Ciencia Veterinaria*, 4: 1-36 (1987).

Trigo, F.J. : Patogénesis y aspectos inmunológicos de la pasteurelosis pulmonar bovina. *Vet. Méx.*, 22: 131-134 (1991).

Whiteley, L.O., Maheswaran, S.K., Weissm D.J., Ames, T.R. and Kannan, M.S. : *Pasteurella haemolytica* A1 and bovine respiratory disease: pathogenesis., *J. Vet. Int. Med.*, 6: 11-22 (1992).

Woolcock, J.B. : The biology of *Pasteurella multocida* and *Pasteurella haemolytica*, In: *Pasteurellosis in Production Animals*. Edited by: Patten, B.E., Spencer, T.L., Johnson, R.B., Hoffmann, D., Lehane, L. 24-34. The Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR), Proceedings No. 43, Canberra, Australia, 1993.

## **RESUMEN AUTOBIOGRAFICO**

Rafael Ramírez Romero

Candidato para el Grado de

Doctor en Medicina Veterinaria

**Tesis: EL CONEJO COMO MODELO PARA EL ESTUDIO DEL DAÑO PULMONAR GENERADO POR EL LIPOPOLISACARIDO DE *Pasteurella haemolytica* MEDIANTE LA REACCION DE SHWARTZMAN Y EL FENOMENO DE ARTHUS.**

Campo de Estudio: Ciencias Agropecuarias

Rama Profesional: Patología Veterinaria

Datos Personales: Nacido en Monterrey, Nuevo León, el 24 de octubre de 1954, hijo de Zenaido Ramírez Muñoz y Celia Romero Rosales.

Casado con María Dolores Hernández Rodríguez y padre de Cecilia Ramírez Hernández.

Educación: Egresado de la Universidad Autónoma de Tamaulipas, en 1976, con el título de Médico Veterinario Zootecnista.

En 1986 obtuvo el grado de Maestro en Ciencias Veterinarias con Especialidad en Patología Animal por la Universidad Autónoma de México; en 1988 se le otorgó la Medalla Gabino Barreda por haber obtenido el más alto promedio de calificación al término de sus estudios de Maestría.

Experiencia Profesional: Laboró para la Dirección General de Sanidad Animal de la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos, como Jefe del Laboratorio Regional de Diagnóstico en Tizimín, Yucatán, hasta 1981. Posteriormente, se incorporó a la Dirección de Referencia en Salud Animal de la misma Secretaría, en Santa Ana Tecamac, Edo. de México, como Jefe del Departamento de Bacteriología, hasta 1984.

Ha sido Profesor de la Asignatura de Patología Especial en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México. Posteriormente, en 1984, fue Profesor Asociado de Tiempo Completo y Coordinador del Programa de la Especialidad en Producción Animal: Bovinos, que se desarrolló en el Centro de Investigaciones Pecuarias del Estado de Sonora.

Desde 1986 es Maestro de Tiempo Completo en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Nuevo León y, a partir de diciembre de 1992, ocupa el puesto de Director de esta Dependencia por un primer período.

