

LAS RELACIONES ENTRE PROTOSTRONGYLINAЕ Y BACTERIAS AEROBIAS EN EL PULMON OVINO

Por Jaime Rojo Vázquez

INDICE

1. INTRODUCCION.-2. REVISION BIBLIOGRAFICA.-2.1. Etiología de las nematodosis broncopulmonares ovinas, con especial referencia a España.-2.2. Flora bacteriana aerobia del tracto respiratorio de la oveja y distintos animales domésticos.-2.3. Parasitismo e infección: influencias recíprocas.-2.4. De materiales y métodos.-2.4.1. Alteraciones focales e identificación de las larvas I de los Protostrongylinae.-2.4.2. Aislamiento e identificación bacterianas.-INVESTIGACIONES PERSONALES.-3. MATERIALES Y METODOS.-3.1. Toma de muestras.-3.2. Investigación parasitaria.-3.3. Investigación bacteriana.-3.4. Pruebas de identificación bacteriana.-3.5. Análisis estadístico.-4. RESULTADOS.-4.1. Etiología parasitaria. Frecuencia de infestaciones puras y mixtas.-4.2. Etiología bacteriana. Frecuencia de aislamiento de flora bacteriana pura y mixta en la zona sana y en la zona verminosa.-5. DISCUSION.-6. CONCLUSIONES.-7. RESUMEN.-8. AGRADECIMIENTOS.-9. BIBLIOGRAFIA.-10. CUADROS.

1. INTRODUCCIÓN

Las condiciones generales de la provincia de León hacen que la misma albergue un alto censo de cabezas de ganado ovino.

Dicha realidad ha determinado la necesidad del conocimiento de los problemas que afectan a esta especie, tanto zootécnicos como patológicos. Consecuentemente, en los últimos años se han realizado numerosos estudios tendentes al esclarecimiento de los problemas que plantea la explotación del ganado lanar y, en este sentido, destacan los referentes al campo de la patología, tanto infecciosa como parasitaria, sobre el área pulmonar preferentemente. A pesar de los esfuerzos realizados, siguen existiendo importantes lagunas pendientes de resolución.

La importancia de los pulmones en el animal como órganos clave de la respiración, hace que cualquier proceso vírico, bacteriano, micótico y/o parasi-

tario establecido en ellos pueda tener una considerable repercusión desfavorable, sobre todo en los ovinos explotados de forma extensiva, predominante en nuestra provincia.

Estos procesos ocasionan anualmente unas pérdidas elevadas, según cabe deducir de los hallazgos de matadero. Sin embargo, las pérdidas indirectas son las que más nos interesa destacar, ya que estos procesos pueden cursar de una manera poco manifiesta, pero con evidente perjuicio para el animal.

Las nematodosis broncopulmonares, a las que se han dedicado varios trabajos en la provincia (MARTÍNEZ MORALES, 1967; RAMÍREZ FERNÁNDEZ, 1967; ROJO VÁZQUEZ, F. A., 1973), se conocen satisfactoriamente en sus agentes y en diversos aspectos de su epizootiología. Sin embargo, faltan trabajos relativos, bien al estudio de la flora bacteriana de los pulmones ovinos, bien a las relaciones íntimas parásito / hospedador, y a la intervención de otros factores asociados.

La parasitación por diversos *Protostrongylinae* llega a alcanzar gran importancia, debido a la presencia en los pastos de abundantes caracoles hospedadores intermediarios, que permiten completar el ciclo evolutivo, lo cual repercutirá en la aparición de gran número de pulmones con lesiones parasitarias.

La presencia de una flora bacteriana abundante, tanto en las porciones superior como inferior del tracto respiratorio, es susceptible, en determinados momentos, de producir cuadros patológicos, bien típicos o atípicos. Por otra parte, es de destacar que las bacterias pueden ejercer una acción patógena directa, que, en algunos casos, puede estar considerablemente acentuada al entrar en juego, con anterioridad o posterioridad, la fauna parasitaria presente en los pulmones. La concomitancia flora/fauna puede dar lugar a alteraciones anatómicas y funcionales en el animal afectado, aunque en los estadios iniciales no se comprueban modificaciones sustanciales, pero en fases más avanzadas, la disminución de defensas del hospedador, debida sobre todo a la acción del verme, puede influir en la posterior multiplicación bacteriana.

Ahora bien, hay situaciones contrarias a lo expuesto anteriormente, según se deduce de los trabajos de JETTMAR (1952 y 1953, cit., por PRZYJALKOWSKI, 1961), STEFANSKI (1959) y PRZYJALKOWSKI (op. cit.), quienes señalan la producción, por parte de algunos vermes adultos y fases larvarias, de sustancias antibacterianas de tipo antibiótico. Por otra parte, los vermes parecen producir un «estado de reposo» en la bacteria, capaz de modificarse y actuar en un momento dado desfavorablemente para el hospedador.

Además, se ha comprobado (STEFANSKI, 1956 y 1959, PRZYJALKOWSKI, 1958) que ciertos parásitos, entre los que hay que citar a los nematodos, pueden, experimentalmente, vehicular, o por lo menos favorecer, la implantación de bacterias en distintas zonas u órganos, por lo que cabe considerar que algunas bacterias que se encuentran en el pulmón, puedan haber sido llevadas al

mismo por los propios nematodos broncopulmonares, problema que no ha sido adecuadamente estudiado.

De ahí que nos hayamos planteado la investigación de las relaciones existentes entre los nematodos broncopulmonares más frecuentes en nuestra provincia (*Protostrongylinae*) y la flora bacteriana aerobia del pulmón, en un intento de esclarecer el papel de las asociaciones nematodos/bacterias.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Etiología de las nematodosis broncopulmonares ovinas, con especial referencia a España

Las neumonías parasitarias, más comúnmente conocidas como neumonías verminosas o bronconeumonías verminosas, están causadas por nematodos pertenecientes a la Superfamilia *Metastrongyloidea*, familia *Metastrongylidae*.

PARKER (1966) da una profusión de datos interesantísimos sobre los primeros estudios de las bronconeumonías verminosas. Este autor afirma que Lisle, en 1722, mencionó por primera vez la presencia de vermes en el árbol bronquial, lo que fue confirmado en 1755, por Nichols. A partir de entonces, como sigue señalando el mismo autor, los trabajos se suceden de una manera bastante continuada para esclarecer la etiología de lo que entonces se llamaba «ronquera del ganado ovino», si bien habría de transcurrir un período de tiempo bastante amplio, durante el cual no hubo mucho acuerdo en lo que se refiere a la participación de los vermes como causa.

Hoy día, conocemos ésta perfectamente. Siguiendo a KOTLÁN (1960), el conocimiento de los distintos géneros de los *Protostrongylinae* tuvo lugar como sigue: en 1905 Kamensky definió el género *Protostrongylus*, que después recibió el nombre de *Syntetocaulus* por Raillet y Henry, en 1910, volviendo posteriormente a la denominación inicial. Cameron, en 1927, estableció el género *Muellerius*, y Gebauer, en 1932, el género *Neostongylus*. El género *Cystocaulus* fue definido por Schulz, Orlow y Kutass en 1933.

El problema de la epizootiología y especialmente el conocimiento de la existencia de hospedadores intermediarios, fueron aspectos que se habrían de resolver posteriormente.

Por lo que se refiere a España, se han realizado bastantes estudios, sobre todo en lo referente a su distribución en ella.

Protostrongylus sp. fue hallado por GALLEGOS (1915) en Santiago de Compostela; LÓPEZ NEYRA (1947) las halló en el matadero de Málaga. Más recientemente, TARAZONA VILAS (1957-58) las halló en Huesca; POZO LORA (1960) en Córdoba; PASCUAL CANALS (1961) las observó en el ganado ovino (corderos y ovejas) de la región aragonesa; ROMERO RODRÍGUEZ (1966) en ovejas de Granada; RAMÍREZ FERNÁNDEZ (1967) las encontró en la provincia de León, y su incidencia ocupó el primer lugar de las halladas; SÁNCHEZ GONZÁLEZ (1970) las encontró en la provincia de Palencia con una incidencia del 52,5 %, ocupando el segundo lugar de los nematodos pulmonares hallados; FERNÁNDEZ DÍEZ (1971) las halló en la provincia de Valladolid; y en 1973, ALLER y ALLER las encontraron en la provincia de León con una frecuencia del 37,60%, ocupando el tercer lugar de las halladas. ROJO VÁZQUEZ, F. A. (1973) también las halló en la provincia de León, y su frecuencia alcanzó el 23,6 %, siendo ésta la penúltima del total de las halladas.

Muellerius capillaris es otra especie también encontrada en España y en nuestra provincia; TARAZONA VILAS (op. cit.) la observó en Huesca (matadero de Barbastro) en ovejas, con poca frecuencia; en Salamanca fue hallada por SIMÓN VICENTE (1958), siendo también reseñada por PASCUAL CANALS (op. cit.) en ovinos de Aragón; ROMERO RODRÍGUEZ (1968-70) la reseña, suponemos que para la provincia de Granada; RAMÍREZ FERNÁNDEZ (op. cit.) la halló en ovejas de León y provincia, ocupando un lugar poco importante entre las encontradas. En Badajoz se encontró a las ovejas fuertemente parasitadas por esta especie (CORDERO y col., 1975). SÁNCHEZ GONZÁLEZ (op. cit.) también la encontró en Palencia y provincia, mostrando una incidencia del 52,6 % entre las ovejas; RESPALDIZA CARDEÑOSA (1970) observó el parásito en corderos con una alta frecuencia. FERNÁNDEZ DÍEZ (op. cit.) lo halló en la provincia de Valladolid, observando una frecuencia media del parásito en las ovejas; MARTÍNEZ GONZÁLEZ y col. (1973) lo encontraron en Córdoba. ALLER y

ALLER (op. cit.) lo hallaron en la provincia de León con una frecuencia del 52,80 %, obteniendo el primer lugar de los investigados. También ROJO VÁZQUEZ, F. A. (op. cit.) lo halló en León y provincia, obteniendo un 62,4 % de frecuencia, lo que hace el primer lugar de los hallados.

También *Neostyngylus linearis* ha sido estudiado, tanto en España como en la provincia leonesa y las comunicaciones que poseemos nos indican que RAMÍREZ FERNÁNDEZ (op. cit.) lo halló en la provincia de León, haciendo la primera denuncia de la presencia del parásito en el país. Posteriormente ha sido hallado en ovejas de la provincia de Palencia por SÁNCHEZ GONZÁLEZ (op. cit.), alcanzando la parasitación por esta especie un 2,6 %. También ha sido hallado en Valladolid y provincia por FERNÁNDEZ DÍEZ (op. cit.), observando poca frecuencia en la aparición del mismo. ALLER y ALLER (op. cit.) lo hallaron en la provincia de León con una frecuencia del 19,20 %, ocupando el cuarto lugar. Finalmente, ROJO VÁZQUEZ, F. A. (op. cit.) observó una frecuencia en la provincia de León del 23,0 %.

Por fin, también *Cystocaulus ocreatus* ha sido estudiado con repetición por distintos autores. Señalamos aquí que LÓPEZ NEYRA (op. cit.) lo encontró en ovejas en el matadero de Málaga, observándolo también en corderos. SIMÓN VICENTE (1961) lo encontró en Salamanca y provincia y, posteriormente, SIMÓN VICENTE (1966), halló que el parasitismo por *C. ocreatus* era el más importante del contexto de las neumonías verminosas. PASCUAL CANALS (op. cit.) lo halló también en ovejas; citan esta especie en ovejas de Badajoz CORDERO y col. (op. cit.), notando que es la tercera en importancia de entre las pulmonares. En Palencia, SÁNCHEZ GONZÁLEZ (op. cit.) halló en ovejas de la provincia parasitación en el 78,9 % sobre treinta rebaños estudiados. RAMÍREZ FERNÁNDEZ (op. cit.) lo encontró en León, ocupando el segundo lugar en importancia de los hallados. RESPALDIZA CARDEÑOSA (op. cit.) encontró rebaños de corderos de 40-42 días fuertemente parasitados por *C. ocreatus*; ROMERO RODRÍGUEZ (1970) observó que el 58 % de las ovejas de Granada estaban parasitadas por esta especie, el 30 % de los corderos y el 12 % de los lechales. FERNÁNDEZ DÍEZ (op. cit.) lo halló en Valladolid, observando que las ovejas estaban bastante parasitadas por esta especie. En León, ALLER y ALLER (op. cit.) lo encontraron con una incidencia del 45,60 %, ocupando el segundo lugar de los hallados, y ROJO VÁZQUEZ, F. A. (op. cit.) también lo halló en la provincia, notando parasitación del 47,2 %.

Como grupo, las *Protostrongylosis* también han sido estudiadas. Por ejemplo, MARTÍN LOMEÑA (1946) las estudió en la provincia de Salamanca, y LIZCANO HERRERA (1949) las señala en la provincia de Granada. TARAZONA VILAS (op. cit.) señala su aparición en la provincia de Huesca, alcanzando una frecuencia del 76,67 %. En la meseta castellana, TALEGÓN HERAS, F. (1961) encuentra un 25 % de los animales parasitados por *Protostrongylinae*, y en las regiones de Extremadura y Andalucía conjuntamente, halla el 75 % de positividad a los mismos. Este mismo autor, TALEGÓN HERAS, F. (1969) comprobó que en las regiones de Galicia, Asturias y comarca de Jerez de la Frontera, el vacuno y lanar estaban parasitados por el grupo en un 70-75%. En Pontevedra señala también su presentación RODRÍGUEZ RUBIO (1971). LIZCANO (1949) da cifras del 50 % de positividad de «*strongylosis pulmonares*» en ovejas sacrificadas en el matadero de Barcelona, y MARTÍN LOMEÑA (s. a.), para las provincias de Salamanca, Zamora y Cáceres los reseña con una frecuencia del 25 %. ROMERO RODRÍGUEZ (1972), para la zona de Granada, halló un 69,5 % de infestación por *Protostrongylinae* en ovejas, y, RESPALDIZA CARDEÑOSA (1973), examinando corderos de Extremadura, Toledo, Zamora, Soria, Segovia y Madrid, encuentra parasitación por el grupo en el 20-26 % de los mismos.

En los cuadros números I, II, y III se exponen los géneros de nematodos broncopulmonares hallados en la provincia de León, tanto expresados en grupo como por especies, por RAMÍREZ FERNÁNDEZ (ibid.) ALLER y ALLER (ibid.) y ROJO VÁZQUEZ, F. A. (ibid.).

Tanto los caracteres de los individuos adultos, como los de sus fases larvarias han sido perfectamente estudiados en nuestro país y provincia. De los primeros señalamos entre otros trabajos los de RAMÍREZ FERNÁNDEZ (op. cit.), RESPALDIZA CARDEÑOSA (op. cit.), TALEGÓN HERAS, F. (op. cit.), ROJO VÁZQUEZ, F. A. (op. cit.), y ROJO VÁZQUEZ y CORDERO DEL CAMPILLO (1974). De los segundos nos ocuparemos en el apartado 2.4.1., junto con los caracteres de las lesiones que determinan en el parénquima pulmonar.

2.2. Flora bacteriana aerobia del tracto respiratorio de la oveja y de distintos animales domésticos.

En la bibliografía revisada no hemos encontrado trabajos que hagan referencia exclusivamente a la flora bacteriana hallada en pulmones sanos de oveja. Unicamente cabe citar que, según CARTER (1974), en las vías respiratorias de los distintos animales se encuentran pocas bacterias normalmente. En cambio, disponemos de datos relativos a otras especies: HARTWICH y MÜLLER (1966) recogen los hallazgos en pulmóns y mucosa nasal de cerdos clínicamente sanos, y FLOER (1972) en la bolsa gutural de caballos sanos. Estos resultados se expresan en los cuadros IV y V.

Respecto al cuadro bacteriano hallado en el pulmón neumónico, Newsom y Cross (1939, cit. por MARSH, 1969), consideran que *Pasteurella multocida* y *Pasteurella haemolytica* son los agentes primarios de la neumonía aguda en los ovinos.

STABLEFORTH y GALLOWAY (1959), exponen que *Corynebacterium pyogenes* produce abscesos frecuentemente en los ovinos, y que *Corynebacterium pseudotuberculosis* se asocia generalmente con procesos de evolución crónica.

BEHRENS (1962) incluye como causa de neumonía en las ovejas a estreptococos del grupo C, *C. pyogenes*, *Sph. necrophorus* (= *Fusobacterium necrophorum*).

El Ministerio inglés de Agricultura (1964, cit. por HORE, 1970) ha señalado como causas bacterianas de neumonía, en ovejas que murieron con síntomas de la misma, a microorganismos como *Pasteurella spp.*, *C. pyogenes*, estreptococos, estafilococos, *Escherichia coli* y *Fusiphormis necrophorus*. Señala que, de todos los agentes relacionados normalmente con el pulmón de la oveja, *P. haemolytica* es potencialmente causa de neumonía aguda, generalmente de terminación fatal.

DUALDE PÉREZ (1966) reseñó que, además de una causa vírica responsable de la Adenomatosis Pulmonar Ovina (A. P. O.), se pueden encontrar algunas bacterias formando parte del complejo etiológico que él estudió. Incluyó en el mismo a *Pasteurella spp.* y *C. pyogenes*, señalando que estos gérmenes, junto con organismos del tipo coliforme, estreptococos, etc., pueden aparecer en estados avanzados de la enfermedad, atribuyéndoles, por tanto, un papel netamente secundario.

VAN DER VEEN y ZUMPT (1967), estudiando la neumonía enzoótica de la oveja en África del Sur, señalaron como causa principal de la misma a *Pasteurella multocida* y/o *Pasteurella haemolytica*, aislando en unión de los agentes anteriores *Micrococcus spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Achromobacter spp.*, *C. pyogenes*, *Streptococcus spp.* (alfa hemolíticos), *Citrobacter freundii*, *Str. bovis*, *Staph. aureus* y *Alcaligenes faecalis*.

BIBERSTEIN y col. (1967) observan experimentalmente en ovinos, que *P. haemolytica* es capaz de producir lesiones pulmonares idénticas a las de la neumonía enzoótica, tanto inoculando el tipo A como el T. Cuando se inoculaban *P. multocida* y *Staph. aureus*, el cuadro patológico pulmonar era de mayor importancia que el determinado por *P. haemolytica*, si bien las lesiones histológicas básicas eran similares. La inoculación de *E. coli* o *Str. viridans* no producía cambio alguno.

STAMP (1968) destaca la producción de una neumonía de carácter sobreagudo en ovejas, debida a *Pasteurella haemolytica*.

MARSH (op. cit.) considera, en ovinos, que pueden detectarse *Pasteurella spp.* y *Corynebacterium pyogenes* como resultado de una invasión bacteriana secundaria en las fases avanzadas de la neumonía progresiva intersticial.

STEVENSON (1969) señala que *P. haemolytica* es causa de la neumonía enzoótica en ovinos, ya que puede aislarse ésta con frecuencia de dicho proceso, si bien reconoce que no es una entidad pura y específica. Sin embargo, experimentalmente, produce una neumonía necrotizante similar a la que ocurre en la infección natural. El mismo autor cita que, según los datos del Ministerio de Agricultura inglés (op. cit.), *Pasteurella haemolytica* es frecuentemente aislada de casos de neumonía. También *P. multocida* puede producir neumonía en corderos, sobre todo cuando se inocula con otros agentes (PPLO, PLT). Incluye en su trabajo un cuadro resumen de los hallazgos bacteriológicos en pulmones neumónicos de ovejas por distintos autores, que reproducimos en el cuadro número VI. Señala que no todas las especies que se incluyen en el mismo, salvo *Pasteurella spp.*, *Ps. pseudomallei* y *Mycobacterium spp.* son responsables primarias de las neumonías.

ALLEY y col. (1970) aislaron diversas especies de *Neisseria* de pulmones neumónicos ovinos.

HORE (op. cit.) tomando en consideración opiniones de otros autores, aduce que *P. haemoly-*

tica ha sido hallada siempre y relacionada con la neumonía exudativa de los ovinos (neumonía enzoótica), si bien se ha considerado que este proceso está ligado a condiciones ambientales.

Corynebacterium pseudotuberculosis determina una neumonía pseudotuberculosa en ovinos, como consecuencia de una alteración de los ganglios linfáticos pulmonares (HIEPE, 1972).

Diversos autores han aislado *P. haemolytica* y *P. multocida* de procesos neumónicos (enzoóticos) ovinos, habiéndose observado la gran importancia que jugaba la coexistencia de factores de «stress» tales como verminosis, condiciones climáticas adversas, etc.

Corynebacterium pyogenes ha sido aislado de neumonía caseosa o supurativa de distintos animales, entre los que se encuentra la oveja.

JUBB y KENNEDY (1973) consideran que la bronconeumonía es la forma usual de la inflamación pulmonar en la oveja, terneros y cerdos, pudiendo estar producida por muchos gérmenes patógenos, con predominio de algunos tipos bacterianos, según la especie animal afectada. En las ovejas se encuentran principalmente el género *Pasteurella*, especialmente *P. multocida*, y también *C. pyogenes*.

Los mencionados autores consideran, a su vez, que en los corderos afectados de neumonía fibrinosa, los gérmenes responsables ocasionales son los estreptococos, si bien en ovejas se puede pensar que está producida por *Pasteurella spp.*, con escaso margen de error, con intervención ocasional de *Fusiphormis necrophorus*, por aspiración a partir de exudado faríngeo.

En relación con la neumonía enzoótica de las ovejas y cabras, los mismos autores consideran que se debe a miembros del grupo PLT, aunque asociándose gran número de agentes infectantes, y entre ellos *C. pyogenes*, estreptococos, y *F. necrophorus*.

AINSWORTH y AUSTWICK (1973) señalan que se ha descrito nocardiosis pulmonar en varias especies animales, tales como el perro, vaca y cabra, producida por distintas especies del género.

CARTER (op. cit.) señala la importancia de *P. multocida*, que llega a alcanzar gran difusión en las vías respiratorias y tracto digestivo de gran número de aves y mamíferos, significando que puede actuar como invasor secundario o circunstancial cuando la resistencia del animal está disminuida por diversos factores stressantes. Igualmente, *P. haemolytica* juega un papel primario o secundario en las neumonías de los ovinos, bovinos, caprinos y cerdos.

Bordetella bronchiseptica también ha sido implicada en la etiología de las neumonías en distintas especies animales. (BERGEY, 1974).

Como complemento de la información estrictamente referida a la oveja, recogeremos también datos relativos a otras especies.

HUNTER y HARBOURNE (1964) aislaron *Neisseria catarrhalis* de pulmones bovinos afectos de neumonía.

OMAR (1966) hace una revisión sobre las bacterias, virus y otros agentes que se han aislado por diversos autores en pulmones de bovinos con neumonía, y del resultado de la misma, únicamente la referida a aislamientos bacterianos, se encuentra expuesta en el cuadro número VII.

HARTWICH y MULLER (op. cit.) estudian los pulmones y mucosa nasal de cerdos afectos de rinitis atrófica y neumonía enzoótica y aisan diversas bacterias; el resultado se halla expuesto en el cuadro número VIII.

CHEN-I-LIU y col. (1972), en cerdos afectos de neumonía, aisan *P. multocida*, *E. coli*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Klebsiella* y *Bordetella bronchiseptica*, citados en orden de su frecuencia de aparición.

2.3. PARASITISMO E INFECCIÓN: INFLUENCIAS RECÍPROCAS.

EUZEBY (1954) revisa de forma exhaustiva los aspectos de las relaciones parásito/bacteria conocidos, considerando la influencia del parasitismo sobre la infección y viceversa, tanto en la faceta favorecedora como antagonista, afirmando que los metastrongylidos preparan el terreno muy frecuentemente a la pasterelosis, siendo ésta una complicación grave de las bronquítis y bronconeumonías verminosas. La equinococosis determina un incremento de la sensibilidad del organismo al bacilo de la tuberculosis. *Fasciola hepatica* contribuye a la aparición de la hepatitis necrótica por facilitar el poder patógeno potencial de los esporos del *Cl. novyi* (= *Cl. oedematiens*) presentes en el hígado o llevados allí por las cercarias migradoras, las que, a su vez, determinan lesiones traumáticas que favorecen el proceso. Las larvas de *Necator americanus* llevan al sistema circulatorio el germen del carbunclo pinzelado sobre la piel del criceto, cuando penetra en el

organismo por vía percutánea. Igualmente, las larvas de *Ancylostoma spp.* pueden inocular el bacilo de la tuberculosis al cobayo, y las de *Bunostomum spp.* el agente de la necrobacilosis al certero.

Sin embargo, como afirma el mismo autor, basándose sobre todo en observaciones anteriores de Joyeux y Baer en 1931 con cestodos, y de otros autores, puede deducirse un efecto contrario, al comprobar que ciertos extractos obtenidos de nematodos podían, en determinados casos y frente a determinadas bacterias, inhibirlas.

También cita ejemplos de la influencia de la infección sobre el parasitismo, bien sea, tal y como se ha dicho anteriormente, favorecedora o antagonista. Por ejemplo, el cobayo es más sensible a *Trichinella spiralis* cuando está tuberculoso (Harrel y col., s. a., cit. por EUZEBY, op. cit.). Las vacunaciones con gérmenes vivos pueden afectar la resistencia de los animales y determinar recaídas parasitarias, hecho que es conocido para la piroplasmosis y también para la tripanosomosis, como observó Guyaux (s. a., cit. por EUZEBY, op. cit.) con ocasión de una vacunación antipestosa bovina con virus cabra.

No obstante, todos estos hechos están ligados a unas determinadas condiciones, tanto de los parásitos como de las bacterias, que pueden colaborar en los casos enunciados anteriormente.

STEFANSKI (1956) estudia las relaciones entre la fauna parasitaria y la flora bacteriana del tubo digestivo del hospedador, y especialmente el papel desempeñado por los helmintos en la transmisión del mal rojo del cerdo, realizando sus experiencias con ratones, en los cuales *Ascaris suum* realiza las mismas migraciones que en los cerdos; igualmente hizo estudios con *Eimeria falciformis*, también en ratones, y con *Ascaridia columbae* en palomas. Empleó también *Strongyloides papillosus* en cerditos (además de ratones). Observó que la administración simultánea «per os» de huevos embrionados de ascaris y bacilos del mal rojo no tuvo efecto sobre el incremento de su porcentaje de mortalidad, en comparación con los ratones que habían sido alimentados únicamente con pan humedecido en cultivo de *E. rusopathiae*. En efecto, en el grupo que había recibido los dos parásito y bacteria, el 20% murió de mal rojo, y en el control, animales que sólo habían recibido bacterias, la mortalidad fue del 21,1%, es decir, ligeramente superior. Con *Ascaridia columbae*, las palomas recibieron, por medio de una sonda, una dosis de 150-1.500 huevos embrionados y a los 10 días 0,5 ml del cultivo del bacilo del mal rojo, sobreviviendo todas las aves. Con *Eimeria spp.* los resultados fueron también negativos. Con *S. papillosus*, fijando sobre la piel excrementos esterilizados de carnero, mojados en cultivo del germen y un número variable de larvas comprendido entre 100 y 1.000, el 68,8 % de los animales murieron de mal rojo, mientras que los animales testigos, en los que no se habían depositado larvas, murieron solamente el 11,4 %. Este mismo tipo de experiencia fue realizado también con tres lechones, obteniendo resultados semejantes. En los tres cerditos aparecieron manchas violáceas, características de la forma cutánea del mal rojo, y en uno de ellos la temperatura alcanzó 41,2°C. En los cerdos testigo no se presentaron manifestaciones clínicas. De todo ello deduce el autor la importancia de la vía cutánea para la penetración del bacilo del mal rojo y de algunas otras bacterias. No obstante, parece que Stefanski menoscipió la presencia de *E. insidiosa* en cerdos clínicamente normales.

Gerbilski (1946, cit. por PRZYJALKOWSKI, 1958) estudiando la interacción de las invasiones por larvas de *Ascaris suum* infectadas con bacterias, concluye que la migración de dichas larvas, introducidas en el ratón junto con dosis subinfectantes de *Salmonella typhimurium* (20 millones), es responsable de la rápida penetración de las bacterias, que ocurre al tercer día post-infección, lo que explica su multiplicación y el desarrollo de la bacteriemia y, consecuentemente, la transformación de la dosis subinfectante en infectante.

PRZYJALKOWSKI (op. cit.) investigó la transmisión de *S. typhimurium* por larvas migradoras de *A. suum* y por las de *Trichinella spiralis*, a fin de comprobar la posibilidad de transmisión de las bacterias a través de la pared intestinal del ratón, tal como había indicado Gerbilski (op. cit.), aunque modificando la metodica. El autor no confirmó las conclusiones de Gerbilski, concernientes a la aparición de bacteriemia más temprana en los ratones que habían recibido larvas de *A. suum* que en los que sólo recibieron bacterias, cuando usó dosis inferior a la subinfectante; cuando administró larvas de *Trichinella spiralis* no observó tampoco la participación de las mismas en orden a favorecer la bacteriemia, ya que ésta puede aparecer sin el concurso de aquellas. Cuando administró larvas de *A. suum* a ratones sobrevivientes de una infección con dosis subletales (20 millones) de *S. typhimurium*, observó bacteriemia, ya comprobable al segundo día.

STEFANSKI (op. cit.), revisando el papel de las larvas de helmintos en la transmisión de

bacterias y virus, considera que hay que distinguir dos vías de introducción de los gérmenes por las larvas: piel y mucosa intestinal. Comparada con la mucosa, la piel es mucho menos capaz de resistir la infección por los bacilos del carbunclo vehiculados por las larvas de *Ancylostoma caninum*, la de *Necrobacillus necrophorus* por larvas de *Strongyloides papillosus*, la del carbunclo también por las larvas de *Necator americanus*, la de *Staph. aureus* y *Str. pyogenes* por larvas de *Nippostrongylus brasiliensis*, etc., aunque también hay resultados negativos. Los experimentos para dilucidar la invasión de gérmenes a través de la mucosa intestinal son muy escasos, siendo clásica la investigación de SHOPE (1940) sobre la transmisión del virus de la influenza porcina por los metastrongilidos.

Higashi (1960, cit. por STEFANSKI y PRZYJALKOWSKI, 1964), observó que los cobayos se infestaban con una intensidad cinco veces mayor, cuando se les hacía ingerir metacercarias de *Fasciola hepatica* junto con *Bacillus subtilis*.

PRZYJALKOWSKI (op. cit.) realizó un estudio para comprobar las propiedades bacteriostáticas de las larvas de *Hypoderma bovis* basándose en observaciones anteriores de Jettmar (op. cit.) sobre la inhibición del crecimiento bacteriano por larvas de *Hypoderma bovis*, líquido visceral de *Ascaris lumbricoides*, *Ascaris suum* y *Parascaris equorum*, así como extracto cuticular de algunos otros helmintos. Observó que las bacterias gram positivas eran inhibidas, mientras que las gram negativas no. En un trabajo previo, Stefanski (1959, cit. por PRZYJALKOWSKI, op. cit.) había observado que los estadios jóvenes de los nematodos carecían de propiedades bacteriostáticas, que, en cambio, aparecían en el estadio adulto. Con respecto a *H. bovis*, realizó experiencias con larvas emigrantes y las sedentarias subcutáneas utilizando para comprobar las propiedades bacteriostáticas diversos microorganismos: *Micrococcus lysodeicticus*, *Staph. albus*, *Staph. aureus*, *Staph. citreus*, *E. coli* y *S. typhimurium*. Comprobó que los efectos bacteriostáticos no eran comprobables en las larvas migradoras, pero sí aparecían cuando las larvas se hacían estacionarias bajo la piel.

PRZYJALKOWSKI (1961), revisa la flora bacteriana de los vermes parásitos en relación con la flora del hospedador. Encuentra que el pseudoceloma de los ascáridos parece ser estéril; igual ocurre con los quistes de *Echinococcus granulosus* y los cisticercos indemnes. Sobre la superficie de los ascáridos, sin embargo, así como en el de las tenias, se pueden encontrar bacterias de acción antagonista a ciertos gérmenes gram positivos que pueden encontrarse también en el intestino del hospedador. La flora bacteriana del intestino de los ascáridos y del intestino de sus hospedadores es similar.

STEFANSKI y col. (1963) comprobaron, en el ratón, la posibilidad de penetración cutánea de las larvas de *Strongyloides papillosus* y la transmisión por éstas, tanto de bacterias patógenas como apatógenas, durante un tiempo de treinta minutos. Realizando el examen del tejido subcutáneo del ratón, comprobaron la presencia de *E. coli*, *S. gallinarum*, *E. insidiosa*, *P. multocida*, *S. typhimurium*, *Br. abortus*, *Ps. aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Str. faecalis* y *Staph. aureus*, siendo de destacar que la bacteria de mayor facilidad de penetración fue *Pasteurella multocida*.

PRZYJALKOWSKI (1962) teorizó sobre el fenómeno de la transmisión de bacterias por los vermes parásitos, cifrando tres posibilidades: a) Transporte de microorganismos por parte de las larvas que penetran en el hospedador a través de la piel; b) Transporte de bacterias y virus por los vermes parásitos del tracto intestinal, reseñando que la mayor parte de los casos citados en la bibliografía pueden ser debidos a una disminución de la resistencia del organismo hospedador infestado; y c) Entrada de bacterias en el organismo como consecuencia de lesiones causadas en la mucosa del tracto digestivo por larvas y vermes adultos.

STEFANSKI y PRZYJALKOWSKI (op. cit.), basados en la dificultad de infestar experimentalmente ratones lactantes con parásitos, y la ausencia, en general, de parásitos intestinales en este tipo de animales, estudian la influencia de ciertas bacterias en el establecimiento de las triquinelas en el tubo digestivo del ratón, tomando como punto fundamental la influencia bacteriana sobre el establecimiento de los parásitos en el tubo digestivo de los animales libres de gérmenes. No disponiendo de estos animales para la experimentación, utilizaron ratones a los que dieron cultivos de *Bacillus mesentericus* y *Pseudomonas aeruginosa*, para mantener la presencia en ellos de estas bacterias. Observaron que el número de triquinelas desarrolladas en los ratones que habían recibido *Bacillus mesentericus* era menor que el de los que habían recibido *Pseudomonas aeruginosa*, en la proporción de 1/5.

Los mismos autores (1965) estudiaron el efecto de los microorganismos del tracto digestivo sobre el desarrollo de *T. spiralis* en el ratón, llegando a concluir, que la introducción de *B. mesentericus* en la flora del intestino del ratón, causa un descenso estadísticamente significativo del número de formas intestinales de *T. spiralis*. En el músculo, el efecto de las bacterias es distinto, quizás como resultado de un incremento de la fertilidad de las hembras que quedan, que prolongan su madurez sexual. Sin embargo, la flora bacteriana parece no tener efecto cuando el parásito adulto ha penetrado profundamente en la mucosa intestinal.

SÁIZ MORENO (1965) alude de forma somera a los fenómenos de sensibilización determinados, en animales infestados con helmintos, por las bacterias.

STEFANSKI y PRZYJALKOWSKI (1967) estudiando la influencia bacteriana sobre el establecimiento de los helmintos en sus hospedadores, tales como la rata blanca y pollos, observaron que *B. mesentericus*, *B. megaterium*, y *Lactobacillus spp.* (*Lactobacillus acidophilus*) ejercían una acción inhibidora sobre el desarrollo de *Ascaridia galli* y, en menor escala, de *Hymenolepis nana*, var. *fraterna*. Resultados contradictorios a estos los obtuvieron con algunas bacterias gram negativas (*E. coli*, *Grupo Providencia*, *Kl. pneumoniae*) y con *Bacillus subtilis*. *Bacillus mesentericus* tuvo un comportamiento contrario sobre *Aspicularis tetraptera* en ratón, ya que en los que habían recibido parásito y bacteria el número de parásitos desarrollados fue de 3-10 veces superior que en los testigos.

PRZYJALKOWSKI (1968), tomando como base animales libres de gérmenes, realizó experiencias «in vitro» con animales normales y animales libres de gérmenes con bacterias y helmintos intestinales, llegando a la conclusión de que la transmisión de gérmenes patógenos, sean bacterias, virus o rickettsias, por larvas migradoras de nematodos es más bien excepcional, aunque hay un claro efecto de sinergismo entre los vermes y los gérmenes presentes en el hospedador. Afirma también que algunos nematodos y cestodos adultos producen sustancias antibacterianas y que algunas especies de bacterias tienen un efecto ovostático sobre los huevos de *Ascaris suum* e inhibidores del crecimiento de las larvas de *Trichinella spiralis*. En animales normales se produce un claro efecto, bien sea inhibidor o favorecedor, de las bacterias intestinales sobre el desarrollo de algunos vermes de la rata, ratón y pollo.

PANASYUK (1970) examinó 108 larvas de *Dyctiocoetus filaria* cultivándolas a fin de obtener resultados bacteriológicos. A su vez realizó el examen del moco de los grandes bronquios en los que había sido hallado *D. filaria*. Los resultados fueron positivos encontrando entre otras especies *E. coli*, *Staph. aureus*, y *Staph. epidermidis*. En el moco nunca halló especies semejantes a las existentes en el parásito.

BORCHERT (1964) halló en los exámenes de pulmones con neumonía por *Ascaris suum* una flora microbiana más abundante que en los pulmones normales y comprobó una invasión por gérmenes patógenos (*Pasteurella multocida*), sucediendo igual con los virus.

ALLER y ALLER (1973), estudiando las relaciones de los hongos en pulmones normales y parasitados por *Protostrongylinae* en el ganado ovino de León, encontraron que en los tejidos pulmonares normales había un 53,3 % de positividad a estos agentes, y en los parasitados un 10,4 %, lo que indica un claro antagonismo entre ambos.

Hay también numerosos ejemplos sobre la transmisión de virus por diversos parásitos, artrópodos sobre todo, pero que no reseñamos con el fin de no alargar considerablemente esta revisión, ciñéndonos únicamente a la transmisión bacteriana, tema que nos concierne exclusivamente.

2.4. DE MATERIALES Y MÉTODOS.

2.4.1. Alteraciones focales e identificación de las larvas I de los *Protostrongylinae*

Como consecuencia de la implantación en los pulmones de los ovinos de las larvas de los *Protostrongylinae*, se pueden originar dos tipos de nódulos: «nódulos verminosos» y «nódulos de cría». Los nódulos verminosos, que albergan a los vermes adultos maduros, a veces inactivos sexualmente, tienen caracteres definidos según los géneros de parásitos, y localización variable en relación con los mismos factores. Son generalmente del tamaño de la cabeza de un alfiler, redondos, y de un color que varía entre el pardo y el gris para *Cystocaulus*, por ejemplo, el amarillo-gris para *Muellerius* o nacarados para *Neostrongylus*. Tienen localización subpleural en

los tercios medio y posterior del pulmón. Pueden albergar uno o más vermes adultos y su formación se explica con diversas teorías, según los autores. Según ROJO VÁZQUEZ, F. A. y CORDERO DEL CAMPILLO (1974). *Neostongylus linearis* no da lugar a la formación de nódulos verminosos netos.

Los caracteres de los nódulos verminosos de *Neostongylus linearis*, tanto macroscópica como microscópicamente, han sido perfectamente estudiados entre nosotros por CORDERO DEL CAMPILLO, ESCUDERO DÍEZ y ROJO VÁZQUEZ, F. A. (1974). También ha estudiado las alteraciones determinadas por los otros géneros PASCUAL CANALS (op. cit.).

Nos interesa destacar más los caracteres morfológicos del otro tipo de nódulos que se pueden formar, los nódulos de cría, lesiones determinadas en el parénquima pulmonar por las larvas I de los *Protostongylinae*, a los que albergan, que son también diferentes para los distintos géneros de los mismos (Kassai, cit. por KOTLAN, op. cit.).

Los focos de *Protostongylus* tienen los bordes bien delimitados, presentando generalmente una estructura lobulillar que semejan un dibujo en mosaico; su color varía del rosa claro al gris marrón; de tonos más claros que el de la superficie circundante pulmonar; no suelen presentar dureza al tacto, y la superficie del corte es generalmente bastante húmeda, aunque puede estar desecada en los focos antiguos.

Los focos de *Muellerius* presentan bordes imprecisos y color pálido, formando generalmente mosaico; son algo duros y la superficie de sección es pálida, homogénea y generalmente con poca humedad.

Los caracteres de los focos de *Neostongylus* han sido descritos recientemente, como antes señalábamos (CORDERO DEL CAMPILLO, ESCUDERO DÍEZ y ROJO VÁZQUEZ, F. A., op. cit., y ROJO VÁZQUEZ, F. A., y CORDERO DEL CAMPILLO, op. cit.) en corderos infestados experimentalmente. Estos nódulos pueden aparecer en el lóbulo caudal entre el margen dorsal y el basal, pudiendo también aparecer en la cara diafragmática. Tienen un tamaño de 1-2 cms. de diámetro, con bordes irregulares, pudiendo estar rodeados por una zona hiperhémica. Son lisos, brillantes y de superficie nacarada, y situados en el mismo plano de la pleura. Su color es gris claro y la consistencia puede ser blanda o firme, pero no dura.

Los focos de *Cystocaulus* se sitúan principalmente en las proximidades de los bordes del lóbulo diafragmático, no presentando un límite neto y claro y siendo de una coloración verdosa, amarilla o parda; presentan cierta dureza al tacto y superficie de corte jugosa.

PASCUAL CANALS (op. cit.) resume en un cuadro todos los caracteres de los nódulos que hemos citado anteriormente, salvo los de *Neostongylus*.

La observación de los vermes en las lesiones, se puede realizar mediante la incisión de bronquios y bronquiolos, observándose sobre la mucosa los filamentos de color rosa de *Protostongylus rufescens* y de *Cystocaulus ocreatus*; por raspadura del corte, dislacerando el material en un poco de agua; y por inmersión del pulmón en una cubeta con agua, previamente seccionado y practicando presiones manuales sobre el mismo a fin de liberar los parásitos situados en profundidad.

Cuando la superficie de corte del foco es suficientemente húmeda, basta ejercer cierta presión sobre el tejido pulmonar y, si aparece un verme, se raspará con un escalpelo o con una aguja de disección; a la impresión sobre porta puede adicionarse unas gotas de agua de traída o de solución salina, pudiendo examinarse con cubre o sin él. Puede emplearse también lactofenol, en lugar de solución salina, con lo que las larvas y fragmentos de vermes se fijan y transparentan (NEMESSERI y HOLLO, 1966).

Para determinar el género de las larvas I halladas en el nódulo pueden también cortarse los pulmones en fragmentos pequeños, llevando el material desmenuzado a una copa alta con agua tibia, o dejándolo en solución fisiológica de cloruro sódico; al poco tiempo las larvas I emigran del foco y pueden ser recogidas en el agua (método de BAERMANN-WETZEL).

Las características de las larvas I son distintas para cada género y se basan en los siguientes criterios (BORCHERT, op. cit.): Las larvas de *Protostongylus* tienen 320-400 micrómetros de longitud y cuerpo granuloso. A partir del ano se adelgaza la extremidad caudal y se prolonga formando una larga punta bayonetiforme, apareciendo generalmente encorvada. Las larvas de *Muellerius* tienen 300-320 micrómetros, con el extremo caudal doblado en forma de coma, prolongándose en punta ondulada en la que se halla un espolón situado en la parte proximal-dorsal, dirigido hacia atrás. Las de *Neostongylus* tienen 300-400 micrómetros y un cuerpo

semejante al de *Cystocaulus*, pero con el segmento anterior de la cola, que también posee dos estrangulaciones, más corto y cuadrático, y el distal en forma de lanceta, siendo el espolón dorsal más corto. Las larvas I de *Cystocaulus* miden 340-480 micrómetros de longitud y tienen la cola débilmente arqueada y terminada en punta, hallándose dividida por dos estrangulaciones en dos segmentos, uno proximal y otro distal: el proximal está curvado y es robusto; el distal es algo más largo que éste, más fino, y termina en punta afilada. En el fragmento proximal se encuentra poco antes de su borde anterior y en posición dorsal, un espolón corto y arqueado, y en el límite con la parte distal existen dos dienteclitos.

En España también han sido estudiados los caracteres de las larvas I de los distintos *Protostongylinae* (PASCUAL CANALS, op. cit., TALEGÓN HERAS, F., op. cit., RESPALDIZA CARDEÑOSA, op. cit.). Entre nosotros, cabe destacar el trabajo de ROJO VÁZQUEZ, F. A. (op. cit.) y el de ROJO VÁZQUEZ, F. A., y CORDERO DEL CAMPILLO (op. cit.) sobre los caracteres de las distintas fases larvarias y de los adultos de *Neostongylus linearis*.

2.4.2. Aislamiento e identificación bacterianas

Seguimos para ello y de manera siempre consultiva y sistemática la clasificación del BERGEY'S Manual of Determinative Bacteriology (7.^a y 8.^a ediciones, 1957 y 1974 respectivamente), en la que aparecen las bacterias aerobias que nos interesan, sistematizadas, y con expresión de las exigencias fundamentales de cultivo, actividades bioquímicas, etc. También hemos tomado como referencia los caracteres suministrados para todos ellos por CARTER (op. cit.). A estos hemos adicionado, cuando nos ha sido posible, la metódica de aislamiento e identificación de los distintos géneros y especies que ha sido ya tratada por otros autores. Asimismo diremos que hemos seguido los esquemas de KING (1967) y de OETJEN y HARRIS (1973) para la identificación de bacterias aerobias patógenas y apatógenas.

Para la familia PSEUDOMONADACEAE, género *Pseudomonas*, hemos considerado válidos los criterios de los autores anteriormente citados, lo mismo que para el género *Alcaligenes*, de localización sistemática incierta. A propósito del género *Bordetella*, también de localización sistemática incierta, HARRIS, ROSS y SWITZER (1969) estudiaron *Bor. bronchiseptica* aislada de la cavidad nasal de cerdos inicialmente en agar sangre de caballo al 5 % y en agar McConkey con 1 % de glucosa, previa suspensión de las muestras en tampón estéril, siendo a las 48 horas en este último las colonias grisáceas, y realizando la identificación por la comprobación de la ausencia de producción de ácido a partir de glucosa y lactosa, hidrólisis de la urea en 24 horas, utilización del citrato como única fuente de carbono, y ligera alcalinización de la leche tornasolada.

En la familia ENTEROBACTERIACEAE, el BERGEY'S Manual resume suficiente información para nuestros fines.

Respecto al género *Pasteurella*, WEISSMAN y HILKER (1968) caracterizaron *Pasteurella haemolytica* aislada del tracto respiratorio de ganado bovino con procesos patológicos, observando la morfología de las colonias y la producción de hemólisis en agar con 5 % de sangre bovina desfibrinada, o bien agar sangre base con hemina en la proporción de 20 mcg/ml; el carácter liso o rugoso de las colonias por el método del cristal violeta; la capacidad para crecer en agar McConkey (Difco); la reducción de nitratos en medio Difco, con los reactivos de Griess-Ilosway; la utilización del citrato en agar citrato de Simmons (Difco); la licuación de la gelatina por el método de Kohn modificado por Lautrop; la producción de ureasa en tubos inclinados con agar urea (Difco); la producción de citocromo-oxidasa por la prueba de Ewing modificada (emplearon el hidrocloruro de paradimetilendiamina); la producción de catalasa en agua oxigenada al 3 % a partir del cultivo inicial en agar sangre; la decarboxilación de aminoácidos por una modificación del método de Falkow, realizada por Ewing; la producción de SH₂ por cultivo en BHI (Difco) con cisteína (0,01 %), e indicador de papel de filtro impregnado en acetato de plomo, y también por una microprueba, en la cuál una suspensión bacteriana se mezcla con cisteína en tampón fosfato, y la observación del ennegrecimiento de tiras de papel impregnadas en acetato de plomo; la reducción del azul de metileno en crema de leche, y cambios en la leche tornasolada; la producción de indol, utilizando el reactivo de Erlich; la de ácido y acetoína en medio MRVP (BBL), suplementado con 0,1 % de extracto de levadura, utilizando el reactivo de Barrit para la última. Por fin, la acción sobre distintos carbohidratos al 1 %.

HARRIS, ROSS y SWITZER (op. cit.) en cerdos, reconocieron *P. multocida* en agar sangre de

caballo al 5 %, en el que las colonias ofrecieron un aspecto mucoide y tonalidad blanquecina, identificando con una prueba adicional basada en la producción de ácido sobre glucosa, no producción o producción débil de ácido sobre lactosa, y producción de indol.

SHREEVE y THOMPSON (1970) aislaron inicialmente *P. haemolytica* en agar sangre ovina al 7 % y en caldo infusión, a partir de muestras de corderos.

WEISSMAN y WEISSMAN (1970, 1972) emplearon medios químicamente definidos para el cultivo y crecimiento de *P. multocida* y *P. ureae*, comparando sobre todo sus requerimientos en tiamina con los de *Pasteurella haemolytica*.

En cuanto al género *Actinobacillus*, WINDSOR (1973) cultiva *A. equuli* aislados de lechones en agar sangre de oveja a 37°C y en agar McConkey, completando con acción sobre diversos carbohidratos y otras pruebas bioquímicas.

MAIR y col. (1974) cultivaron *A. suis* en agar sangre de caballo y oveja, en agua de peptona y agar nutritivo, incubando a 37 y 22°C, empleando también caldo, suero y agar McConkey para observar en ellos los caracteres de las colonias (viscosas y adherentes) y los tipos de hemólisis (alfa, en sangre de caballo y beta, en sangre de oveja).

En la familia NEISSERIACEAE, respecto al género *Neisseria*, HUNTER y HARBOURNE (op. cit.) aislaron *N. catarrhalis* de pulmones bovinos, en agar sangre ovina y la caracterizaron por la producción de citocromo-oxidasa, ausencia de acción sobre la mayoría de los carbohidratos de uso frecuente, así como la morfología, aspecto y pigmentación de las colonias.

WILCOX (1970) aisló diversas especies de *Neisseria* a partir de muestras de ojo bovino, destacando el aislamiento de especies hemolíticas de la misma sobre agar sangre ovina al 10 % (según él, cepas ovinas, *N. ovis*) y también una variedad hemolítica de *N. catarrhalis*, si bien señala que las cepas ovinas no son hemolíticas salvo la citada. Como característica significativa de su aislamiento destaca la digestión de la caseína así como la pigmentación de las mismas. Estudió además el crecimiento en agar McConkey y la tolerancia al ClNa al 2 y 5 %, y la acción sobre distintos carbohidratos al 1 % en medio de suero de Hiss.

Respecto al género *Branhamella*, de reciente formación, disgregado del anterior, cabe incluir en él todo lo dicho anteriormente, adicionando además la reducción de los nitratos.

Del género *Acinetobacter*, WILCOX (op. cit.) aisló diversas cepas al mismo tiempo que las Neisserias citadas, para lo cual empleó los mismos medios descritos anteriormente.

FLOER (op. cit.) aisló de la bolsa gutural normal de caballo especies de este género, empleando como medio de cultivo el agar sangre bovina al 7 %.

Numerosos trabajos se han dedicado a la familia MICROCOCCACEAE.

Para el género *Micrococcus*, BAIRD PARKER (1965 a y b) refiere una clasificación realizada por el Subcomité Internacional correspondiente, según la cual los Micrococos son capaces de producir, cuando lo hacen, ácido de glucosa, únicamente en aerobiosis (oxidadores). Partiendo de esta observación, es preciso considerar otros parámetros, tales como la pigmentación de las colonias en su caso, acción sobre lactosa, maltosa, manitol y arabinosa, producción o ausencia de acetoína, producción o no de coagulasa y fosfatasa. De esta manera divide al género en ocho subgrupos.

Hay también numerosos autores que se han ocupado del tema y entre ellos citamos a ABD-EL-MALEK y GIBSON (1948), SHAW, STITT y COWAN (1951), EVAN y col. (1955), GORRIL (1961) y COWAN y STEEL (1964).

En el género *Staphylococcus*, BAIRD PARKER (op. cit.) señala que son capaces de producir ácido a partir de glucosa en condiciones anaerobias (fermentadores). Considera también los parámetros anteriormente analizados, doblando el tubo de manitol a fin de comprobar también si lo fermentaban o no, y establece seis subgrupos entre ellos, el primero de los cuales corresponde a *Staph. aureus* y los otros cinco a *Staph. epidermidis*. Más recientemente (BAIRD PARKER, 1972), diferencia claramente las dos especies, basándose sobre todo en la capacidad para fermentar el manitol y en la producción de coagulasa. Los que dan positivas las dos pruebas son considerados como *Staph. aureus* y el resto *Staph. epidermidis*, del que distingue cuatro subgrupos, de acuerdo con la capacidad de producir o no acetoína, fosfatasa y ácido de lactosa, maltosa y manitol.

Podemos citar también a los autores incluidos en el apartado anterior.

LÓPEZ SUÁREZ (1948) señaló que una orientación sobre la patogenicidad de los estafilococos aislados de leche de vaca, se obtiene por cultivo de los mismos en agar sangre de conejo o carnero y por la prueba de la coagulasa con plasma de conejo, determinando sus propiedades en medios de leche tornasolada, gelatina, nitratos, lactosa y manita.

BARBER y KUPER (1951) estudian las reacciones de fosfatasa y coagulasa de los estafilococos (*Staph. aureus*), empleando para la primera agar con difosfato de fenolftaleína al 0.01 % y para la segunda el método de Fisk (en tubo), si bien algunas las realizaron en porta.

RICHOU (1953) determinó el poder patógeno de los estafilococos aislados analizando la producción de pigmento, reacción al cristal violeta, aglutinación del plasma y fermentación del manitol.

ORTIZ MASLOORENS (1956) considera que hay poca diferencia entre la aglutinación y la coagulación del plasma, aunque señala que la coagulación es más sensible y la recomienda.

WHITE y col. (1962) estudiaron cepas bovinas de estafilococos tras su aislamiento en agar sangre ovina comprobando su capacidad de crecimiento en caldo con 8 % de cloruro sódico.

CLOUTIER y col. (1964) utilizaron para aislar estafilococos procedentes de la ubre de vaca el medio de Chapmann, a fin de observar especialmente la coloración de las colonias, realizando además la prueba de la coagulasa por el método de Fisk.

WATSON (1965) estudiando ovejas portadoras de estafilococos, cultiva éstos en agar sangre ovina al 5 % y posteriormente los tipifica por fagos.

SUÁREZ FERNÁNDEZ (1965) emplea como medios de aislamiento para estafilococos procedentes de leche bovina sana el agar sal manitol, S-110 y S-110 yema de huevo, telurito-glicerina, de Vogel y Johnson, Baird Parker, Finegold y Sweeney, y los originales MAF y MAF-2. Para la tipificación, y entre otras pruebas, emplea la catalasa en agua oxigenada al 2 %, la fosfatasa por el método de Barber y Kuper, y la prueba de la coagulasa empleando plasma de conejo liofilizado (Difco) en placas de polivinilo alveoladas y plasma humano adicionado al medio de Esber y Faulkner.

DALEEL y col. (1967) hacen cultivos del material problema en agar sangre ovina al 10 % y en agar McConkey, determinando la identificación de *Staph. aureus* por la producción de coagulasa en porta con plasma de conejo.

SCHIMIZU y col. (1967) a fin de realizar la infección experimental en conejos, cultivan *Staph. aureus* en caldo BHI.

BROWN y col. (1967) trabajando con estafilococos aislados de mama bovina hicieron siembras en agar sangre bovina incubando a 37 y 23°C, considerando como *Staph. aureus* los que daban positiva la prueba de la coagulasa y la fermentación del manitol anaerobiamente (en jarras), y como *Staph. epidermidis* los que eran coagulasa negativos, fermentadores de la glucosa y no fermentadores del manitol. Se refieren más a la tipificación de estos últimos y realizan ésta sobre todo por las pruebas bioquímicas, serología y morfología de las colonias. Se fijan, sobre todo, en la prueba de la proteinasa, separando los negativos y positivos a esta prueba y estudiando las propiedades comparativamente en uno y otro grupo, considerando en cada uno de ellos varios subgrupos, de acuerdo con ellas. Observan la formación de pigmento en agar sangre bovina al 5 % (Beef Infusion Agar) y la producción de ácido de determinados carbohidratos al 1 %, con rojo fenol como indicador. Realizaron la prueba de la coagulasa con plasma de conejo en tubo, previa dilución del mismo en ClNa, usando 0.5 ml de la mezcla e incubando a 37°C, dejando 20 horas a temperatura de habitación, y realizando la lectura a 1, 4 y 24 horas. Para la prueba de la fosfatasa usaron una solución de difosfato de fenolftaleína al 1 % en caldo infusión de buey, y para probar la actividad añadían una gota de solución normal de NaOH a 1 ml de cultivo, considerando la reacción positiva cuando aparecía color rosa en las colonias. La producción de urea se comprobó en agar urea (Difco), y la acetoína en medio MRVP empleando el reactivo de O'Meara modificado. La reducción de nitratos la comprobaron en caldo nitrato (Difco) y la de gelatina en tubos con gelatina nutritiva (Difco), incubando cuatro semanas a 30°C seguido del examen semanal después de refrigerar los tubos a 4° durante 30 minutos. También realizaron cultivos en medio S-110 para observar la calidad y tipo de crecimiento, así como para la prueba de la gelatina, determinándola a los 10-15 minutos de la adición de una solución al 20 % de ácido sulfánilico.

HAJEK y MARSALEK (1969 a, b, 1970) estudiaron estafilococos procedentes del tracto respiratorio de diversos animales y ubre de vaca, haciendo su aislamiento en agar sangre con 7.5 % de ClNa, y realizando la prueba de la coagulasa por el método de Cadness-Greaves y col. (1943) usando plasma humano, bovino, de conejo, de pollo, de paloma y de cerdo, haciendo la lectura a 1, 3, 24, 48, 72 y 96 horas. También comprobaron la fermentación del manitol al 1 % en medio líquido con azul de bromotimol como indicador, y en medio semisólido con púrpura de bromocresol, y la pigmentación en agar peptona carne con 30 % de leche, si bien varió de unas pruebas a otras.

ALLER GANCEDO (1968) considera también la clasificación de estafilococos aislados de leche

bovina sobre todo, reafirmando la validez del esquema de Baird Parker para los de dicho origen.

HATSIG (1973) estudió *Staph. aureus* aislados de conejos inicialmente mediante siembras en agar común con 5 % de suero de caballo y también en medio S-110. La coagulasa la estudió con plasma humano y de conejo diluidos en solución salina al 1/4, leyendo a 1, 3, 8 y 24 horas (método de Chapman modificado por Tamini). La fermentación del manitol fue determinada por el procedimiento de Hugh y Leifson. La presencia de D-Nasa y de fosfatasa lo fueron en un medio combinado de Gaislerova, la producción de pigmento sobre S-110 según Chapman, la actividad sobre la leche tornasolada según Shaw, la producción de ureasa por el método de Christensen, y la de gelatina por el de Frazier (1926).

Familia STREPTOCOCCACEAE (fam. nov.). Género *Streptococcus*. HARTWICH y MULLER (op. cit.) examinaron bacteriológicamente los pulmones y mucosa nasal de cerdos sanos y de enfermos con rinitis atrófica y neumonía enzoótica, utilizando para ello, sobre todo, agar sangre. Clasificaron los estreptococos únicamente por el tipo de hemólisis producida.

HARRIS, ROSS y SWITZER (op. cit.) aislaron estreptococos en cerdos por el siguiente procedimiento: suspensión de las muestras (secreción nasal) en solución salina tampón estéril y cultivo posterior en agar sangre de caballo al 5% y en agar McConkey con 1% de glucosa. La identificación se realizó atendiendo a la morfología de las colonias, características tintoriales y propiedades bioquímicas. Refieren únicamente el tipo de hemólisis producida.

DAELEL (op. cit.), analizando tonsillas bovinas, empleó agar sangre ovina al 10 % y agar McConkey para su aislamiento. Con los estreptococos beta hemolíticos hace una diferenciación serológica y ensaya los enterococos en caldo con 6,5 % de ClNa.

De la familia BACILLACEAE, género *Bacillus*, HARTWICH y MULLER (op. cit.) aislaron algunas especies en placas a base de agar sangre y de agar lactosa y azul de bromotimol.

OVEJERO y col. (1972) estudiaron la flora del género *Bacillus* en semiconservas cárnicas, haciendo el aislamiento inicial en caldo BHI sólo y/o con 2 % de agar. Observaron los esporos con la coloración de Bartholomew y Mittwer; la movilidad en gota pendiente, tras cultivo en caldo BHI y también en gelatina. Incluyeron las características del crecimiento en agar yema de huevo. La hidrólisis de la gelatina fue observada en el medio correspondiente (Difco), y la del almidón en agar común al que añadieron 0,2 % de almidón, utilizando como reactivo una solución saturada de yodo en alcohol del 50 %. También realizaron las pruebas del rojo metilo y Voges Proskauer, crecimiento en agar leche almidón con 1 % de glucosa, reducción de nitratos en caldo nutritivo con 0,1 % de nitrato potásico y con el reactivo de Griess-Ilosway modificado. La fermentación de glucosa y manitol la realizaron en medio sólido. Completaron la identificación con la inoculación a animales experimentales (ratón) por vía intraperitoneal.

Entre los actinomycetos y organismos relacionados, en el grupo Coryneforme, destaca el género *Corynebacterium*. GALLO y col. (1966) aislaron Corynebacterias a partir de potros afectos de neumonía supurativa. La especie aislada, *Corynebacterium equi*, no presentaba tinción metacromática, ni precisaba sustancias de enriquecimiento para su crecimiento, ni tampoco digería el suero de Loeffler, apareciendo en el mismo un color rosáceo al cabo de varios días de cultivo. En patata, el crecimiento fue áspero y húmedo llegando a ser amarillo rojizo intenso. No produjo hemólisis en agar sangre de caballo, conejo y oveja. En agar común daba una coloración rosa salmón pálido o anaranjada.

NEUBAUER y SOUREK (1966) estudiaron una corynebacteria atípica, realizando el cultivo de las cepas en agar sangre ovina y las pruebas bioquímicas en caldo suero bovino al 5 %.

GOUDESWAARD y VAN KOL (1969) aislaron *Corynebacterium uteri* (nov. sp.), de un aborto de cerda, en agar sangre de caballo y lo caracterizaron por la morfología (en empalizada y con granulaciones metacromáticas) de preparaciones directas de diversos órganos fetales, por la ausencia de hemólisis, y por la licuación del suero de Loeffler.

En la familia NOCARDIACEAE (fam. nov.), GORDON y MIHM (1956) realizaron un estudio comparativo de algunas cepas de *Nocardia spp.*, valiéndose de la descomposición de la xantina, hidrólisis de la gelatina y del almidón, reducción de los nitratos, crecimiento a distintas temperaturas (60, 35 y 10°C), la utilización de diversos ácidos orgánicos como fuentes de carbono, y la acción sobre diversos carbohidratos.

GORDON y MIHM (1959) compararon *N. asteroides* y *N. brasiliensis* y utilizaron los mismos criterios expuestos hasta ahora.

PIZZOLI (1961) estudió la morfología de los cultivos de *Nocardia spp.* en medio Sabouraud

glucosido y de Krainsky, realizando la incubación del medio de Sabouraud a 37 y 30°C, así como a temperatura ambiente (10-16°C). Para la identificación definitiva, aparte del carácter semiácido resistente, utilizó compuestos nitrogenados, asimilación de azúcares, hidrólisis de la caseína, gelatina y otros.

GORDON y MIHM (1962) procedieron a la identificación de *N. caviae* mediante cultivo en agar de Bennett, agar extracto de suelo y levadura glucosa, por la ácido resistencia, morfología de las colonias, descomposición de la caseína, L-tirosina y xantina.

KURUP y col. (1965) estudiaron *N. asteroides*, *N. caviae* y *N. brasiliensis* aislados del suelo de la India, preparando una emulsión del suelo en suero fisiológico y haciendo un previo enriquecimiento en un caldo libre de carbono (McClung, 1960), seguido de cultivo en parafina, donde aparece un cultivo típico de los actinomycetos. La identificación la realizan por sus características morfológicas y fisiológicas.

GORDON (1966) aportó algunos criterios para el reconocimiento de *N. madurae* añadiendo a las pruebas realizadas anteriormente la hidrólisis de la esculetina y la resistencia a la lisozima.

GORDON y HORAN (1968), para estudiar *N. dassonvillei*, incorporan a las anteriores pruebas otras, tales como el desdoblamiento de la urea u otras bases nitrogenadas y la utilización del oxalato.

Con *N. coeliaca*, GORDON y col. (1974) incorporan el agar de McConkey, caldo dextrosa Sabouraud, y emplean también la penicilina y bacitracina como comprobantes de la sensibilidad a los mismos.

INVESTIGACIONES PERSONALES

3. MATERIALES Y METODOS

3.1. TOMA DE MUESTRAS

El material utilizado para nuestras investigaciones consistió en pulmones de ovinos, de más de un año de edad, sacrificados en el matadero municipal de León, en el período comprendido entre el 2-X-1972 y el 30-IV-1975, recogiéndose en total 516 muestras. Los animales procedían de muy diversos lugares de la provincia de León, en su mayoría, y también de las provincias de Valladolid, Palencia, Zamora, Cáceres y Salamanca. En el cuadro IX figura el número de muestras correspondiente a cada zona de procedencia. Todos los animales de los que se tomaron las muestras estuvieron sometidos a un régimen de explotación extensiva, hasta el momento de su sacrificio.

En cada una de las recogidas se tomaron muestras de aquellos pulmones que presentaban lesiones macroscópicas evidentes debidas a *Protostrongylinae*. En este sentido, se descartaron los pulmones con alteraciones que permitieran sospechar procesos independientes de la nematodosis broncopulmonar.

De cada uno de los animales se tomó solamente un pulmón, precisamente aquél que mostrara lesiones parasitarias más evidentes.

Las muestras se recogieron en bolsas de plástico con un número de identificación, procediéndose a la apertura de una ficha por cada muestra, en la que se hacían constar los datos de referencia de las mismas. Seguidamente se trasladaban al laboratorio, siempre antes de dos horas con posterioridad al sacrificio, manteniéndolas en refrigerador a 4°C hasta el momento de efectuar las siembras (en tanto se preparaba el material).

3.2. INVESTIGACION PARASITARIA

Todos los caracteres macroscópicos de las lesiones parasitarias pulmonares se anotaron tras la observación visual y palpación de las mismas. Se tuvieron en cuenta los caracteres siguientes: topografía y delimitación de la lesión, coloración, consistencia, aspectos y estructura de la superficie del corte.

Una vez efectuadas las siembras, que constituyeron siempre el primer paso a realizar, se procedió a la investigación parasitaria microscópica, encaminada a la observación de las larvas I y su identificación, basada en la apreciación de los caracteres suministrados por sus extremos caudales. A tal fin, seguimos la siguiente pauta: con ayuda de un bisturí se realizaba un raspado de la superficie de corte del nódulo de cría, depositando el material obtenido en un porta y emulsionándolo en una pequeña cantidad de agua de traída (1-2 gotas). La observación se llevó a cabo entre porta y cubre (siguiendo en términos generales la técnica descrita por NEMESSERI y HOLLO, op. cit.).

3.3. INVESTIGACIÓN BACTERIANA

Teniendo en cuenta que el medio de agar-triptosa enriquecido con sangre, permite generalmente el crecimiento de la flora bacteriana aerobia, fue elegido para las siembras preliminares. Las placas estériles se prepararon con 7 % de sangre ovina desfibrinada, en Tryptose-Blood-Agar-Base (Difco). Una muestra representativa de las placas preparadas para la siembra se sometió a prueba de esterilidad durante 48 horas a 37°C.

Para realizar la siembra, el pulmón se dividió inicialmente en dos zonas (zona «sana» y zona «verminosa») representativas, que diferenciaban las zonas libres de infestación, de aquellas que presentaban alteración del parénquima pulmonar debida a la formación de nódulos de cría. Se realizaron siembras de cada uno de los nódulos que se consideraban diferentes (cuando los había), pero tomando para ello una sola muestra siempre de la zona sana. En caso de que el examen microscópico demostrara la misma naturaleza en las lesiones, solamente se dejaba una placa de siembra. La siembra de la zona sana se realizó siempre lo más distante posible de la zona parasitaria, a fin de evitar una posible interferencia de bacterias y larvas fuera del nódulo. El total de siembras que se realizaron fue de 1.032.

Generalmente, se sembró a partir de los nódulos albergados en el lóbulo diafrámatico, ya que éste fue el que normalmente presentó mayor número de lesiones. No obstante, también se tuvieron en cuenta las lesiones con otra localización.

Primeramente eran esterilizadas con espátula las zonas de siembra y seguidamente se practicaban dos cortes perpendiculares en cada una por medio de una tijera también estéril, con objeto de dejar al descubierto el

interior de las mismas en su totalidad, permitiendo de esta manera mayor maniobrabilidad. Con ayuda de una pinza estéril, comprimíamos la zona de siembra de manera que en la superficie apareciera exudado. A continuación se recogía con el asa de platino el inóculo, que se sembraba en estriá. Teniendo en cuenta la naturaleza del parénquima pulmonar, queremos insistir en la necesidad de practicar cortes y comprimir la zona de siempre.

Una vez sembradas las placas, se incubaron a 37°C en régimen de aerobiosis, considerando que esta temperatura es la eugenésica para el normal desarrollo de las bacterias sapróticas y parásitas de los animales de sangre caliente. Las placas permanecían en incubación 8-10 días, haciendo la observación diariamente. Transcurrido dicho plazo se desecharon las placas estériles. Cada colonia morfológicamente distinta y representativa era seleccionada y se anotaban los caracteres morfológicos macroscópicos (tamaño, forma, coloración, etc.). Posteriormente, de estas colonias se sembraba en placas con agar triptosa (Difco), con el fin de obtener cultivos puros, a partir de los cuales se sembraba en un frasco con agar triptosa o BHI agar (Difco), para el mantenimiento de la cepa.

3.4. PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN BACTERIANA

Inicialmente se estudió microscópicamente cada aislado y, de acuerdo con su morfología (cocos y bacilos gram positivos o gérmenes gram negativos) se realizaron siembras. Si se trataba de cocos gram positivos, procedíamos seguidamente a realizar la prueba de la catalasa, con el objeto de diferenciar los estreptococos, estafilococos y micrococos. Para ello se usó agua oxigenada al 3 %, realizándose la prueba en tubo. En el caso de que la morfología revelase bacilos gram positivos, la atención se fijaba en la movilidad y en la formación de esporos en su caso, con el fin de separar las especies del género *Corynebacterium* de las del género *Bacillus*. La prueba de la movilidad se realizó previo cultivo en caldo común a 37°C (Difco) por el método de la gota pendiente, y la tinción de esporos se realizó por el método de Bartholomew y Mittwer así como por el de Hansen.

Con los gérmenes gram negativos sembrábamos en agar McConkey n.º 3 (Oxoid), para observar el carácter positivo o negativo, elemento de criterio inicial utilizado por KING (op. cit.), cuyas tablas clasificadorias inicialmente seguimos. El mayor valor de esta prueba radicaba, sobre todo, en la apreciación de la flora bacteriana fermentadora de la lactosa. Seguimos con la prueba de la citocromo-oxidasa, partiendo de cultivos en medio sólido. Se empleó para la misma papel reactivo Patho-Tec-CO (lab. Substancia).

Posteriormente se sembraba la cepa objeto de estudio en caldo común.

Una vez que habíamos sembrado en caldo común, a partir de él, y con objeto de encuadrar en algún género a los gérmenes aislados, se realizaron las diferentes pruebas bioquímicas que se citan:

a) Reducción de nitratos: en caldo nitrato (Difco). Cuando el crecimiento era evidente, se comprobaba la reducción mediante el empleo de los reactivos de Griess-Ilosway. La aparición de una tonalidad roja se consideró positiva.

b) Producción de indol: Se verificó en agua de peptona (Bacto Tryptone, Difco). Cuando las bacterias se habían desarrollado suficientemente, se añadía el reactivo de Kovacs, siendo considerada la prueba como positiva cuando aparecía un anillo rojo en la superficie del medio.

c) Rojo metilo: Se utilizó para ello caldo MRVP (Oxoid). Una vez que el crecimiento era ostensible, se añadían unas gotas del reactivo de rojo metilo dando lugar, en caso positivo, a una tonalidad roja, indicadora de la formación de ácido.

d) Voges Proskauer: Al igual que para la prueba anterior, se empleó caldo MRVP (Oxoid) y, cuando en el mismo había suficiente crecimiento, se añadían los reactivos de la prueba de Barrit modificada. La aparición de tonalidad cobrizo-marrón indicaba la positividad de la prueba (formación de acetil-metil-carbinol).

e) Leche tornasolada: Se usó leche con tornasol (Difco), haciéndose la observación de la misma diariamente, durante un período no inferior a los ocho días, anotando, al final del mismo, y en su caso, los cambios producidos en ella por el germen.

f) Fermentación de azúcares: Se empleó como medio base caldo rojo fenol (Phenol Red Broth Base, Difco), al que se incorporaron los carbohidratos (Difco) en la proporción final del 1 %. La solución de los carbohidratos se esterilizó a vapor fluente durante media hora, en tres días consecutivos. Para observar la producción de gas empleamos las campanas Durham. El viraje del color rojo normal a amarillo y la presencia de gas en la campana, cuando se producían, demostraban la capacidad fermentativa del germen.

g) Prueba de Oxidación-Fermentación: Se practicó con todas las cepas aisladas, utilizando el mismo medio señalado en el párrafo anterior, al que se incorporaba la glucosa para una concentración final del 1 %. A fin de comprobar cuándo este azúcar era oxidado o fermentado, se sembraban paralelamente dos tubos, a uno de los cuales se añadía parafina líquida a fin de crear condiciones de anaerobiosis (previamente se calentaba el tubo con objeto de eliminar el O₂ existente en el mismo).

h) Utilización del citrato: Se realizó sobre el medio de citrato de Koser (Difco), observando la presencia o ausencia de crecimiento en el mismo.

i) Desdoblamiento de la urea: Se empleó caldo urea (Difco), haciéndose la lectura después de las 8, 12, 24 y 48 horas de incubación. La reacción positiva se comprobaba por el cambio de color del medio (alcalinización).

Se completó el estudio con la observación de la movilidad, también empleada para los gérmenes gram negativos, cuya prueba ya hemos descrito anteriormente.

A partir del agar triptosa inicial se realizaron otro tipo de pruebas que requerían el concurso de un medio sólido como partida. De acuerdo con ello hicimos las siguientes pruebas:

j) Producción de SH₂: Se observó mediante siembras en agar-triptosa inclinado (Difco), empleando para ponerle de manifiesto tiras de papel de filtro impregnadas en acetato de plomo, previamente estériles. Cuando el papel se ennegrecía, se daba como positiva la prueba. También se realizó en agar TSI en tubo inclinado.

k) Prueba en medio de Sellers: Se utilizó el agar diferencial de Sellers (Difco), comprobando la pigmentación en el fondo, superficie y base del plano.

l) Producción de pigmento: Se comprobó sobre las siembras efectuadas en placas de agar-sangre, agar-triptosa y agar de Sellers.

Una vez completadas todas estas pruebas, si no se llegaba a establecer la especie de la que se trataba, se continuaba con las siguientes pruebas:

m) Hidrólisis del almidón: Realizada empleando agar-triptosa (Difco) en placas, sobre cuya superficie se añadía una pequeña cantidad de agar almidón (5-7 ml) al 0,1 %. Se incubaba y, con objeto de observar si el almidón había sido hidrolizado o no, se añadía al cultivo una solución saturada de yodo en alcohol de 50 % con lo cual, si la prueba era positiva, aparecía una zona clara alrededor de las colonias.

n) Patata glicerinada: Se emplearon patatas normales del comercio, lavadas, peladas y posteriormente troceadas de manera que permitieran una buena superficie de cultivo, y se mantenían de esta manera en agua glicerinada al 20 % durante 48 horas, transcurridas las cuales, cada trozo de patata era depositado en un tubo de Roux, adicionando al mismo el agua glicerinada empleada con anterioridad, llenando hasta el cuello del tubo, con el fin de que el cultivo no se secase. A continuación se esterilizó.

ñ) Suero de Loeffler: Para comprobar la acción que tenían los gérmenes sobre él, se empleó el preparado comercial de Oxoid.

o) Hidrólisis del hipurato: Se siguieron las recomendaciones de CARTER (op. cit.) y para ello añadimos 0,2 ml del reactivo a 0,8 ml del cultivo del germen en caldo.

p) Prueba de la fosfatasa: Realizada siguiendo la técnica descrita por BARBER y KUPER (op. cit.), adicionando Phenolftalein Phosphate 1 % (Oxoid) a agar-triptosa (Difco) y sometiendo las placas, después de sembradas e incubadas, a vapores de amoniaco, con lo cual, si la reacción era positiva, es decir, si las colonias eran productoras de fosfatasa, aparecía un color de rojo a rosa.

q) Prueba de la coagulasa: Esta se realizó en tubo utilizando plasma liofilizado (Bacto Coagulase Plasma, Difco), y para ello se siguieron las normas recomendadas en el Manual Difco (1973). Se leyó hasta las 72 horas de incubación.

r) Fenilalanina desaminasa: Se efectuó con papel reactivo Patho-Tec-PD

(Lab. Substancia), disponiendo una porción de cultivo en medio sólido sobre la zona reactiva o bien en medio líquido, seguido de incubación. La aparición de un color gris marrón en el primer caso y verdoso en el segundo se consideró positiva.

s) Serología: Cuando fue necesaria, se emplearon los sueros comerciales siguiendo las pautas recomendadas para cada uno.

Finalmente, y basados en la observación del comportamiento de los gérmenes frente a las pruebas señaladas, realizamos la identificación de los distintos géneros y especies considerando los caracteres de cada uno de ellos que se citan a continuación:

PSEUDOMONAS:

Oxidación de glucosa, crecimiento en agar McConkey, producción de citocromo-oxidasa, movilidad y producción de pigmento.

BORDETELLA:

Producción de hemólisis beta, de ureasa, crecimiento en agar McConkey, producción de citocromo-oxidasa, movilidad, reducción de los nitratos, utilización del citrato y alcalinización de la leche tornasolada.

ALCALIGENES:

Con las pruebas anteriores a las que se incorporó el medio de Sellers.

ESCHERICHIA:

Cultivo en agar McConkey, agar Levine, producción de indol, de ácido, no producción de acetil-metil-carbinol y no utilización del citrato (IMViC); acción sobre sacarosa, adonitol, dulcitol, inulina, sorbitol y trehalosa; aglutinación en tubo frente a los sueros anti 078, 0115 y 015 bovinos y frente a los aviares 08 y 02.

SALMONELLA:

Crecimiento en agar McConkey, agar verde brillante, movilidad, producción de SH₂, de ácido (RM), no producción de indol. Aglutinación en porta frente a antisero *Salmonella* polivalente y de grupo. Acción sobre xilosa, arabinosa, trehalosa, inositol, y maltosa.

CITROBACTER:

Pruebas bioquímicas similares a las realizadas para *Escherichia*, con especial consideración a la utilización del citrato.

ENTEROBACTER:

Cultivo en agar McConkey y agar Levine, prueba del IMViC, crecimiento en CNK y movilidad.

PROTEUS:

Crecimiento en agar McConkey, producción de ureasa y fenilalanina-desaminasa, producción de indol, de gelatinasa y de SH₂. Acción sobre glucosa, maltosa y manitol.

PASTEURELLA:

Producción de hemólisis, en su caso, crecimiento en agar McConkey, producción de citocromo-oxidasa, movilidad en su caso y producción de indol. Morfología del germe y de las colonias. Acción sobre glucosa, sacarosa, lactosa y manitol, así como producción de ureasa.

ACTINOBACILLUS:

Estudio de las mismas pruebas señaladas en el apartado anterior.

NEISSERIA:

Producción de citocromo-oxidasa, morfología del germe y crecimiento en agar McConkey, producción de hemólisis, en su caso, acción sobre glucosa, maltosa, fructosa, sacarosa, almidón. Producción de SH₂ y de pigmento.

BRANHAMELLA:

Las mismas pruebas anteriores más la reducción de nitratos.

ACINETOBACTER:

Las mismas pruebas que para *Neisseria spp.* adicionando la producción de ureasa y de SH₂.

MICROCOCCUS:

Prueba de oxidación-fermentación, y por el estudio de las pruebas mencionadas por BAIRD PARKER (op. cit.).

STAPHYLOCOCCUS:

Producción de hemólisis, gelatinasa, prueba de oxidación-fermentación, y esquema de BAIRD PARKER (op. cit.) para la diferenciación de los biotipos de

Staph. epidermidis, además de considerar la acción sobre la leche tornasolada y la reducción de nitratos.

BACILLUS:

Producción de hemólisis, movilidad, caracteres de las colonias, producción de ureasa, utilización del citrato, hidrólisis del almidón, producción de gelatinasa, reducción de los nitratos, producción de acetoína, y acción sobre glucosa, manitol y arabinosa. Acción sobre leche tornasolada y crecimiento en caldo común con 7 % de ClNa.

CORYNEBACTERIUM:

Producción de hemólisis, acción sobre la leche tornasolada, producción, en su caso, de catalasa, producción de ureasa, reducción de los nitratos, producción de gelatinasa y acción sobre glucosa, maltosa, lactosa, sacarosa, trehalosa y salicina. Acción sobre el suero de Loeffler y crecimiento en patata glicerinada.

NOCARDIA:

Observación de la ácido-resistencia, pigmentación de las colonias, producción de hemólisis, reducción de los nitratos, hidrólisis de la gelatina y del almidón, así como del hipurato sódico, producción de ureasa y acción sobre diversos carbohidratos.

3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados se valoraron estadísticamente por el método de «ji cuadrado», como normalmente se hace en los datos referidos a atributos.

4. RESULTADOS

4.1. ETIOLOGÍA PARASITARIA. FRECUENCIA DE INFESTACIONES PURAS Y MIXTAS.

Los géneros de *Protostrongylinae* hallados por nosotros han sido *Protostrongylus*, *Muellerius*, *Neostongylus* y *Cystocaulus*. En el cuadro número X se muestran el número y porcentaje de las infestaciones puras y mixtas observadas, relacionados de mayor a menor frecuencia de observación, así como el resultado del resumen acumulativo de las frecuencias de los mismos.

De los 516 pulmones parasitados que hemos recogido, 288 lo estaban por una sola especie de *Protostrongylinae*, 188 por dos, 34 por tres y 6 por cuatro, que corresponden con el 55,81 %, 36,41 %, 6,73 % y 1,16 % respectivamente.

En relación con las infestaciones simples, el género predominante fue *Cystocaulus*, con una frecuencia absoluta del 22,48 % sobre el total de los

pulmones parasitados y una relativa del 40,30 % (sobre los pulmones parasitados por un sólo género); siguen los géneros *Muellerius*, con el 18,99 % y 34,03 % respectivamente, *Neostongylus*, con el 8,33 % y 14,9 %, y *Protostrongylus* con 6,00 % y 10,7 % respectivamente.

El mayor porcentaje de los pulmones que presentaban dos géneros correspondió a *Muellerius* y *Cystocaulus*, con una frecuencia absoluta del 11,24 % y relativa del 30,85 %; *Muellerius* y *Protostrongylus* estuvieron presentes en el 7,36 % y 20,21 % respectivamente; *Muellerius* y *Neostongylus* en el 6,78 % y 18,61 %; *Cystocaulus* y *Neostongylus* en el 5,42 % y 14,89 %; *Cystocaulus* y *Protostrongylus* en el 3,48 % y 9,57 %; y *Protostrongylus* y *Neostongylus* en el 2,13 % y 5,85 % respectivamente.

De las infestaciones por tres géneros la frecuencia más importante correspondió a la asociación de *Muellerius*, *Cystocaulus* y *Neostongylus* con el 3,00 % absoluto y el 47,05 % como frecuencia relativa; *Muellerius*, *Cystocaulus* y *Protostrongylus* fue la segunda con el 2,32 % y el 35,29 % respectivamente; la tercera fue la asociación constituida por *Muellerius*, *Protostrongylus* y *Neostongylus*, con el 0,77 % y el 11,76 %; y la de *Cystocaulus*, *Protostrongylus* y *Neostongylus* fue la última con el 0,38 % y el 5,88 % respectivamente.

Se comprobó infestación por los cuatro géneros citados en el 1,16 % de ambas frecuencias.

A partir del examen de las frecuencias acumulativas observadas para los géneros citados, se puede apreciar que la mayor frecuencia se presenta para *Muellerius* y la menor para *Protostrongylus*, siendo, por tanto, intermedias, *Cystocaulus* y *Neostongylus*, citados en orden de frecuencia.

De los 516 pulmones examinados, 356 parasitaciones correspondieron al pulmón derecho, lo que supone un porcentaje del 68,99 %, y 160 al pulmón izquierdo, lo que supone un 31,01 %, predominando, en cualquier caso, la parasitación en el lóbulo fundamental o diafragmático.

4.2. ETIOLOGÍA BACTERIANA. FRECUENCIA DE AISLAMIENTO DE FLORA BACTERIANA Y ESPECIES AISLADAS EN ZONAS SANAS Y/O NEUMÓNICAS.

A partir de los 516 pulmones estudiados se consiguió el aislamiento de una o varias cepas bacterianas en 245, lo que supone un porcentaje sobre el total del 47,49 %, siendo, por tanto, negativos, 271 (52,51 %).

De los 245 pulmones positivos, se ha obtenido crecimiento, tanto en la zona sana como en la verminosa, en 100 de ellos (19,37 % del total). El resto corresponde a 145 pulmones (28,10 % del total), de los que se han obtenido bacterias a partir de una o de otra zona. En 84 pulmones de éstos (16,27 % del total), el aislamiento fue positivo a partir de la zona sana, y en 61 (11,82 %) lo fue de la zona verminosa. En conjunto, se obtuvo crecimiento a partir de la zona sana en 184 pulmones, mientras que de la zona verminosa se obtuvo en 161 pulmones.

El número total de cepas bacterianas aisladas fue de 743; 467 (62,85 %) cepas se aislaron de los pulmones que habían sido positivos, tanto en la zona sana como en la verminosa; 180 (24,22 %) se obtuvieron a partir de zonas sanas, en pulmones que resultaron negativos en las áreas verminosas (84 pulmones, 16,27 %); y 96 (12,92 %) procedían de lesiones verminosas en pulmones cuyas zonas sanas resultaron negativas (61 pulmones, 11,82 %). Estos datos se reflejan en el cuadro XI.

El cuadro XII muestra el número de infecciones, puras y mixtas, con expresión del número de cepas en cada caso. Puede verse en él que los aislamientos puros o simples fueron los más frecuentes. Respecto a los aislamientos mixtos, se observa que, en general, se produce una disminución en los porcentajes a medida que se incrementa el número de especies bacterianas aisladas.

Los 245 pulmones positivos a crecimiento bacteriano, tanto en la zona sana como en la verminosa, en total se reparten, de acuerdo con la presencia de parásitos, en infestaciones puras o mixtas, tal y como aparece reflejado en el cuadro XIII. Dentro de las infestaciones puras se observa clara diferencia entre los aislamientos positivos en *Cystocaulus* y *Muellerius* frente a las positividades de *Protostrongylus* y *Neostongylus*. De las infecciones mixtas, en las binarias hay un predominio en la asociación de *Cystocaulus* y *Muellerius*, valores mínimos para las de *Cystocaulus* y *Protostrongylus* y *Protostrongylus* y *Neostongylus*, y una situación intermedia para el resto. En las infestaciones triples, aunque la casuística es escasa, hay notables diferencias entre los dos primeros grupos (*Cystocaulus*, *Muellerius* y *Protostrongylus* y *Muellerius*, *Cystocaulus* y *Neostongylus*) y el resto. El resumen acumulativo expresa que *Cystocaulus* y *Muellerius* alcanzan una cifra superior al doble de la de *Neostongylus* y *Protostrongylus*.

Los datos correspondientes a las cepas aisladas en las 161 zonas verminosas, considerando el género de parásito identificado, bien fuera sólo o en asociación, se expresan en el cuadro XIV. El mayor número de cepas aisladas correspondió a las infestaciones por un sólo género de parásito; los valores obtenidos fueron parecidos para *Muellerius* y *Cystocaulus*, con 66 y 63 cepas, respectivamente, al mismo tiempo que fueron los más elevados. El número de cepas aisladas a partir de los nódulos de *Protostrongylus* y de *Neostongylus* fueron marcadamente inferiores.

Si se tiene en cuenta las cepas aisladas en focos con infestación mixta, puede verse que, en el caso de las asociaciones binarias, fueron las de *Muellerius* con *Cystocaulus* o *Protostrongylus* las que dieron un mayor número de aislamientos, y la de *Protostrongylus* y *Neostongylus* la que dio un menor número.

De las asociaciones de tres parásitos, la de mayor número de aislamientos correspondió a la representada por los géneros *Muellerius*, *Cystocaulus* y

Protostrongylus, con 10 cepas. La de *Neostongylus*, *Cystocaulus* y *Protostrongylus* no dió ningún aislamiento.

10 cepas fueron aisladas de la asociación constituida por los cuatro géneros.

En los cuadros XV y XVI se expresan los resultados de la positividad de las distintas zonas pulmonares con relación a la presencia de los distintos parásitos, solos o en asociación.

La relación de los distintos géneros y especies bacterianas aisladas en nuestro trabajo se detallan en el cuadro XVII, haciendo constar el número de cada una de ellas perteneciente a la zona sana y a la zona verminosa, así como el total de las mismas.

5. DISCUSION

Los géneros de Protostrongylinae hallados por nosotros en las lesiones verminosas pulmonares coinciden con los encontrados por RAMÍREZ FERNÁNDEZ (op. cit.), ALLER y ALLER (op. cit.) y ROJO VÁZQUEZ, F. A. (op. cit.) en animales procedentes de las mismas áreas geográficas aproximadamente.

En el cuadro XVIII se comparan los porcentajes de infestaciones puras y mixtas obtenidos por nosotros con los de ALLER y ALLER (ibid.) y ROJO VÁZQUEZ, F. A. (ibid.). Los porcentajes totales de las infestaciones puras y mixtas ofrecen valores muy similares. Los valores obtenidos por ALLER y ALLER, (op. cit.) son del 58,40 %, 29,60 %, 10,40 % y 1,60 % respectivamente para las infestaciones por uno, dos, tres y cuatro géneros de Protostrongylinae. Destaca el hecho de no haber encontrado asociaciones de *Protostrongylus* y *Neostongylus* ni de *Cystocaulus*, *Protostrongylus* y *Neostongylus*. Los hallados por ROJO VÁZQUEZ, F. A. (op. cit.) son del 52,3 %, 39,2 %, 7,10 % y 1,4 % respectivamente, y nosotros hemos hallado porcentajes de 55,8 %, 36,4 %, 6,47 % y 1,16 % para los mismos grupos de infestaciones.

Nosotros obtuvimos la máxima frecuencia para el género *Cystocaulus*, siguiendo en orden de importancia *Muellerius*, *Neostongylus* y *Protostrongylus*; ALLER y ALLER (ibid.) obtuvieron la máxima frecuencia para *Muellerius*, seguido de *Cystocaulus*, *Protostrongylus* y *Neostongylus*, y ROJO VÁZQUEZ, F. A. (op. cit.) obtuvo la máxima frecuencia también para *Muellerius*, seguido de *Cystocaulus*, *Protostrongylus* y *Neostongylus*. Destaca en este sentido la amplia frecuencia que alcanza *Protostrongylus* en relación con los otros datos de los autores citados. Considerando el número de animales estudiados (por ALLER y ALLER, op. cit., y por ROJO VÁZQUEZ, F. A., op. cit., y por nosotros) nos permitimos conceder mayor significación a nuestras cifras. Como quiera que intervinieron también otros factores epizootiológicos, pudiendo determinar la mayor incidencia de un determinado género, pueden considerarse nuestras cifras como más significativas.

La comparación de los porcentajes acumulativos, expresados también en el cuadro anterior, nos muestra que el orden de frecuencia es también semejante con el dado por ALLER y ALLER (op. cit.) y por ROJO VÁZQUEZ, F. A. (op. cit.), si exceptuamos la pequeña diferencia existente entre *Neostongylus* y *Protostrongylus* hallada por éste y el alto porcentaje encontrado por los primeros para *Protostrongylus*, que ya se había reflejado con ocasión de analizar las distintas asociaciones.

A la vista de este cuadro y de nuestros resultados deducimos que las asociaciones en las que entra a formar parte *Muellerius* tienen bastante importancia reflejada en su frecuencia, ya que, en conjunto, alcanza el primer lugar, hecho que no sucede al observarlo aisladamente.

FAVATI (op. cit.) encontró que el género de Protostrongylinos más frecuente era *Neostongylus* (66,48 %), seguido de *Cystocaulus*, *Muellerius* y *Protostrongylus*. Parece, pues, que en Italia el género *Neostongylus* se presenta con una frecuencia mayor del doble que en el nuestro, mientras que los de máxima frecuencia en España presentan valores algo inferiores para *Cystocaulus* y ya de menor importancia para *Muellerius*. Por otra parte, también *Protostrongylus* tiene una frecuencia inferior a la de nuestro país.

Dentro de los Protostrongylinos RAMÍREZ FERNÁNDEZ (op. cit.), dedujo la importancia de los géneros basada en los resultados obtenidos por análisis coprológicos, según los cuales el género más frecuente en nuestra provincia fue *Protostrongylus*, seguido de *Cystocaulus*, *Neostongylus* y *Muellerius*, orden que es claramente diferente al encontrado por nosotros, pero hemos de considerar que la metódica realizada por este autor fue diferente a la nuestra, ya que se basó en análisis coprológicos, y que la observación de los nódulos no se limitó únicamente al análisis de los nódulos de cría, sino que consideró además los nódulos verminosos.

Comparando los datos obtenidos con los relativos a otros países europeos, volvemos a manifestar, como ya lo había hecho ROJO VÁZQUEZ, F. A. (op. cit.), que tienen relación bastante estrecha con los datos reflejados por Kersten (1961, cit. por el autor) y Nürnberg (1961, cit. por el autor) para las regiones del centro y sur de Alemania, y de Pohl (1960, cit. por el autor) para la zona occidental de Alemania.

Por lo que respecta al pulmón que ha sido recogido más veces por haber presentado lesiones macroscópicas mejores y más abundantes, hemos de decir que en nuestro caso concuerda con lo manifestado por DÜVEL (1971) para la dictyocaulosis de la vaca, encontrando como él, mayor número de veces el pulmón derecho que el izquierdo. Aunque son parásitos de diferente localización dentro del árbol respiratorio, su llegada al pulmón se realiza por las mismas vías, al menos en las especies investigadas, es fácil pensar con él, que este hecho está en relación con el mayor volumen que alcanza el pulmón completo.

Por lo que se refiere a la topografía de las lesiones y los parásitos, podemos señalar que todos tienen una distribución que concuerda con la señalada por otros autores. *Cystocaulus* se reparte fundamentalmente por el borde basal del lóbulo diafragmático, bien por la cara costal o por la diafragmática, ocupando a veces grandes superficies y no presentando delimitación clara. *Muellerius* siempre lo hemos encontrado en la parte media de la cara costal y a lo largo del borde dorsal del lóbulo diafragmático, pero sin dar lugar a grandes lesiones. *Protostrongylus* también coincidió con la topografía y caracteres señalados anteriormente por otros autores, es decir, dando lugar a lesiones delimitadas y semejando un dibujo en mosaico en la cara costal, también en el lóbulo fundamental, con una tendencia a localizarse en zonas anteriores del mismo. Incluso encontramos algún nódulo en los lóbulos apical y cardíaco. Por lo que se refiere a *Neostongylus*, podemos decir que tiene una topografía bastante irregular, ya que puede localizarse en cualquier zona del lóbulo diafragmático, dando incluso lugar a zonas amplias y extensas. Conviene con lo referido por ROJO VÁZQUEZ, F. A. y CORDERO DEL CAMPILLO, M., (op. cit.) y CORDERO DEL CAMPILLO y col. (op. cit.).

Considerando ahora los resultados bacteriológicos, hemos de decir, en primer lugar, que en la bibliografía revisada no hemos encontrado trabajos sobre la frecuencia de aislamientos bacterianos a partir de pulmones verminosos, por lo que no pueden ser discutidos nuestros datos comparativamente. Por lo tanto, hemos de estudiar nuestros hallazgos separadamente, por lo que los de la zona sana se contrastarán con los de otros autores en pulmones normales ovinos y de otras especies animales, y los de la zona verminosa con los hallados en ovinos y otras especies animales con neumopatías de distinta naturaleza.

El porcentaje más alto de cepas bacterianas aisladas correspondió a las del género *Acinetobacter*, alcanzando la cifra de 115 cepas (15,46 %), de las cuales 64 (8,60 %), correspondieron a la zona sana y 51 a la zona verminosa (6,85 %). Entre los resultados pertenecientes a las dos zonas no se ha hallado diferencia significativa estadísticamente. Se considera su hallazgo normal, puesto que *Acinetobacter calcoaceticus* (denominación propuesta por el Manual BERGEY, 1974, para substituir a las de *Mima polimorpha* y *Herella vagincola*) está presente en el suelo y agua, y se aísلا frecuentemente de animales sanos y enfermos.

En ovinos no tenemos datos de otros autores sobre el aislamiento de esta especie. En équidos, FLOER (op. cit.) la aisló de la bolsa gutural normal de los mismos en el 10,5 % de las muestras estudiadas, representando un porcentaje del 3,68 %, inferior al 8,60 % obtenido por nosotros.

El segundo lugar en los hallazgos correspondió al género *Staphylococcus*, del que se aislaron 105 cepas (14,13 %), distribuyéndose de la siguiente manera: 33 cepas de *Staph. aureus* y 72 de *Staph. epidermidis* (biotipos 1, 2, 3 y

4). En la zona sana se aislaron 24 cepas de *Staph. aureus* (3,23 %) y en la verminosa 9 (1,21 %); respecto a *Staph. epidermidis* fueron 43 (5,78 %) y 29 (3,90 %) respectivamente para ambas zonas.

Si bien el número de cepas halladas en una y otra zona correspondientes a *Staph. epidermidis* no da lugar a valores significativos de las diferencias, sí, por el contrario, ofrecen significación los datos encontrados para *Staph. aureus*. Para esta especie, la zona sana parece ser más receptora de bacterias que la verminosa, lo que induce a pensar que los vermes pulmonares crean unas condiciones poco favorables para el desarrollo de esta bacteria, o bien que ésta sea poco resistente a un habitat desfavorable.

Aunque se ha comunicado el aislamiento de *Staph. aureus* y *Staph. epidermidis* por distintos autores, tanto en ovinos como en bovinos (Smith, Hamdy, MAFF, etc.), no tenemos datos sobre la frecuencia en los aislamientos. FLOER (op. cit.) en bolsa gutural de caballos normales aisló *Staph. aureus* y *Staph. albus* (= *Staph. epidermidis*) en el 14,4 % y 58,5 % de las muestras, siendo el número y porcentaje de las cepas aisladas para cada especie de 15 (5,03 %) y 61 (20,46 %) respectivamente. La frecuencia de aislamiento para *Staph. aureus* es similar, si bien la nuestra es algo inferior; en cambio, para *Staph. epidermidis* la frecuencia de aislamiento fue considerablemente inferior con respecto a la de este autor. Puede deberse a que sea una especie menos exigente que la anterior y a que la zona de aislamiento sea más propicia para esta especie. CHEN-I-LIU y col. (op. cit.) en pulmones neumónicos porcinos encuentran que este género ocupa el puesto tercero entre las especies bacterianas aisladas.

El tercer lugar fue compartido por *Escherichia coli* y *Streptococcus* spp. (alfa y beta hemolíticos), obteniéndose 101 cepas (13,59 %) de cada uno de ellos. De *E. coli* se han obtenido 59 cepas en la zona sana (7,49 %) y 42 en la verminosa (5,65 %). De *Streptococcus* spp. se han obtenido, respectivamente, 62 y 39 cepas (8,34 % y 5,24 %).

La diferencia observada en el número de cepas obtenido en una y otra zona para *E. coli* no ofrece significación alguna. Ello puede significar que entre esta bacteria y los Protostrongylinae no hay relación, ni favorable ni desfavorable. Sin embargo, las diferencias encontradas para *Streptococcus* spp. sí alcanzan el grado de significación para la zona sana. La explicación de este hecho puede ser similar a la dada para *Staph. aureus*.

Tanto *E. coli* como *Streptococcus* spp. han sido también hallados en ovinos y bovinos, pero carecemos de datos en ambas especies que puedan ser comparados. Sin embargo, *E. coli* ha sido citado y encontrado por FLOER (op. cit.) en la bolsa gutural normal de caballo en el 19,00 % de las muestras, habiendo aislado 20 cepas (6,71 %), siendo, por tanto, su frecuencia próxima a la nuestra. También aisló *Streptococcus* spp. en el 42,3 % de las muestras (estreptococos alfa y beta hemolíticos), ascendiendo el número de cepas a 44,

lo que supone un 14,76 %, cifra que se aproxima al doble de la obtenida por nosotros.

HARTWICH y MULLER (op. cit.) obtuvieron valores mucho más elevados para *Streptococcus* spp. que nosotros (76 cepas, 33,92 %) en pulmones y mucosa nasal de cerdos sanos, probablemente debido a las mayores posibilidades de aislamiento de éstos a partir de la mucosa nasal. No aislaron estos autores *E. coli*. A partir de cerdos afectos de neumonía enzoótica y de rinitis atrófica, dichos autores aislaron *E. coli* beta hemolítico en un 0,58 %, cifra muy inferior al 5,65 % obtenido por nosotros, no pudiendo explicarse este hecho. También aislaron a partir de estos animales *Streptococcus* spp. (alfa y beta hemolíticos), elevándose el número de cepas a 157 (30,65 %), cifra mucho más importante que la nuestra de 5,24 %, que puede tener la misma explicación señalada en un principio.

CHEN-I-LIU y col. (op. cit.) en pulmones neumónicos porcinos, aunque no señalan porcentaje, establecen un orden de frecuencia decreciente, correspondiendo el segundo lugar a *Escherichia coli* y el cuarto a *Streptococcus* spp. del total de las seis especies bacterianas aisladas.

Respecto a *E. coli* se intentó la tipificación serológica frente a diversos sueros anti correspondientes a cepas de origen bovino y aviar, no lográndose caracterizar ninguna cepa dentro de los serotipos correspondientes, lo que parece una lógica consecuencia de no haber sido aisladas estas cepas de animales con un proceso clínico colibacilar.

El siguiente lugar lo ocupan tres géneros, *Micrococcus* (53 cepas, 7,13 %), *Corynebacterium* (51 cepas, 6,8 %), y *Bacillus* (42 cepas, 5,65 %), cuyos porcentajes de aislamiento disminuyeron aproximadamente hasta la mitad de los valores obtenidos para los del tercer lugar. En la zona sana, para cada uno de los tres géneros, se obtuvieron respectivamente 31 cepas (4,17 %), 31 cepas (4,17 %) y 29 cepas (3,90 %); en la zona verminosa, los valores fueron de 22, (2,95 %), 20 (2,67 %) y 13 cepas (1,74 %) respectivamente.

Salvo el género *Bacillus*, ninguno de los otros dos ha alcanzado significación en cuanto a cepas aisladas en una y otra zona.

Si bien han sido aislados *Micrococos* de pulmones de ovejas con neumonía enzoótica, las referencias de mayor interés se basan en su aislamiento a partir de la bolsa gutural de caballos sanos y pulmones y mucosa nasal de cerdos sanos y enfermos con rinitis atrófica y neumonía enzoótica. Con respecto al caballo, FLOER (op. cit.) señaló su presencia en el 27,9 % de las muestras, comunicando el aislamiento de 29 cepas (9,37 %), porcentaje por encima del doble obtenido por nosotros. Por lo que se refiere al cerdo, HARTWICH y MULLER (op. cit.), en pulmones sanos aislaron 83 cepas (37,05 %), porcentaje nueve veces superior al nuestro. Quizá se pueda explicar esta diferencia tan grande porque incluye muestras de mucosa nasal, en la que es abundante este género. Para los cerdos enfermos obtuvieron 135 cepas (26,35 %) porcentaje que es

también unas nueve veces superior al nuestro hallado en la zona verminosa. Se estima que esta frecuencia tan alta de aislamiento de Micrococos puede ser debida a la normal presencia de los mismos en las vías respiratorias altas.

La presencia de *Corynebacterium* en distintas especies animales ha sido repetidamente señalada, tanto en pulmones sanos como patológicos (STABLEFORD y GALLOWAY, ibíd., VAN DER VEEEN y ZUMPT, ibíd., OMAR, ibíd., HIEPE, ibíd., CARTER, ibíd., JUBB y KENNEDY, ibíd., DUALDE PÉREZ, ibíd., MARSH, ibíd., y STEVENSON, ibíd.). No tenemos tampoco datos en ovinos que podamos comparar con los nuestros. En la bolsa gutural normal de caballos, FLOER (op. cit.) cita su presencia en un 7,7 % de las muestras, aislando 8 cepas (2,68 %), porcentaje inferior al que nosotros hemos hallado. Puede que este autor no haya considerado, como nosotros, *Corynebacterium pyogenes*. En pulmones y mucosa nasal de cerdos sanos, HARTWICH y MULLER (op. cit.) encontraron aproximadamente la misma cifra (0,58 %), que en ambos casos resultaron considerablemente inferiores a las obtenidas por nosotros.

El aislamiento de *Bacillus* parece ser menos corriente, ya que, de la bibliografía revisada, solamente hemos obtenido datos positivos de pulmones y mucosa nasal de cerdos sanos y enfermos, según HARTWICH y MULLER (op. cit.), quienes, al examinar estas muestras aislaron 5 cepas (2,23 %) procedentes de animales sanos, y 27 cepas (5,27 %) en las de los animales enfermos, porcentajes que, en el primero de los casos, es similar al nuestro, pero que en el segundo, es unas tres veces mayor. También STOPLER, CAMUESCU y VOICULESCU (1965) aislaron *Bacillus cereus* de un caso letal de bronconeumonía.

Por último, en el grupo restante, cuyos porcentajes tienen un valor global y parcial netamente inferior a los vistos anteriormente, destaca el correspondiente al género *Pasteurella*, del que se aislaron 14 cepas (1,88 %); 4 de ellas (0,53 %) se aislaron en la zona sana, y las 10 restantes (1,34 %), en la zona verminosa.

No puede hallarse significación entre estos valores al ser uno de ellos menor de cinco, pero es de destacar la neta diferencia existente entre la cifra hallada en la zona sana y la de la zona verminosa.

La presencia de *Pasteurellas* en las vías respiratorias de aves y mamíferos, tanto *Pasteurella multocida* como *Pasteurella haemolytica*, ha sido ampliamente reseñada por diversos autores (OMAR, op. cit., CARTER, op. cit., JUBB y KENNEDY, op. cit., STAMP, op. cit., BIBERSTEIN y col. op. cit., NEWSON y CROSS, op. cit., MARSH, op. cit., DALEEL, op. cit., STEVENSON, op. cit., etc.).

VAN DER VEEEN y ZUMPT (op. cit.) aislaron *Pasteurellas* en 17 de las 36 granjas que habían tenido bajas por neumonías, lo que representa el 27,22 % de las granjas estudiadas, lo que indica que este organismo es el principal responsable de la neumonía enzoótica.

HARTWICH y MULLER (op. cit.), en pulmones y mucosa nasal de cerdos con

rinitis atrófica y neumonía enzoótica, aislaron 5 cepas de *Pasteurella multocida* (0,97 %), valor próximo al nuestro.

CHEN-I-LIU y col. (op. cit.), en cerdos con neumonía bacteriana, de 231 casos, hallaron, entre seis especies bacterianas, que *Pasteurella multocida* era la más frecuente.

El bajo porcentaje obtenido en nuestro trabajo evidencia que los pulmones no estaban afectados de neumonía bacteriana, aunque el número de cepas aisladas fue dos veces y media superior en la zona verminosa que en la zona sana, indicando un mejor habitat para esta bacteria potencialmente patógena.

Se considera también de especial importancia la presencia de *Salmonella abortus ovis*, habiéndose aislado 7 cepas (0,93 %), todas ellas en la zona verminosa. En la bibliografía revisada se señala el aislamiento, por HARBOURNE y col. (op. cit.), cit. por OMAR, (op. cit.), de *Salmonella dublin* en pulmones neumónicos bovinos. En ovinos, es importante destacar que esta misma especie, *Salmonella abortus ovis*, ha sido aislada de pulmones neumónicos por Jack (1968, cit. por STEVENSON, op. cit.), con lo que podemos considerar nuestro aislamiento como normal. Las cepas fueron aisladas de los pulmones recogidos en el período noviembre-enero, lo que coincide en líneas generales con el momento de la paridera principal en nuestra región. Como quiera que el aborto paratípico representa un importante problema de aborto, parece lógico haber obtenido el aislamiento de esta especie bacteriana en pulmones procedentes de animales de matadero, como consecuencia de una fase bacterémica o por contaminación ambiental de los animales con los productos del aborto.

A excepción del género *Nocardia*, todos los géneros hallados por nosotros se encuentran en los trabajos revisados, aunque la mayor parte se refieren al aislamiento en otras especies animales. No obstante, VAN DER VEEEN y ZUMPT (op. cit.) por una parte, encontraron en ovejas con neumonía enzoótica ocho géneros de los hallados por nosotros, si bien el estudio es más limitado; por otra parte, STEVENSON (op. cit.) reúne a los autores y las especies bacterianas encontradas en pulmones de ovejas con neumonía y, en este caso, son también ocho los géneros que concuerdan con los obtenidos por nosotros, destacando en este sentido, como ya se ha dicho anteriormente, la presencia de *Salmonella abortus ovis*.

Aunque hemos señalado que *Nocardia* no se refiere por los autores consultados, salvo la cita de AINSWORTH y AUSTWIC (op. cit.) para algunos animales domésticos, entre los que menciona la cabra, HARTWICH y MULLER (op. cit.) encontraron en cerdos, tanto sanos clínicamente como afectos de rinitis atrófica y neumonía enzoótica, especies del género *Streptomyces*, de características muy próximas con él.

De todos los microorganismos que hemos encontrado, *Pasteurella* spp., *Corynebacterium pyogenes*, estreptococos, *Escherichia coli*, e incluso *Staph. aureus*, han sido implicados en la etiología de los distintos tipos de neumonía

en la oveja, sobre todo *Pasteurella* spp., por lo que hemos de pensar en su potencial poder patógeno para las ovejas (salvo las excepciones citadas para *E. coli*) y su consiguiente importancia. A ellos debemos añadir *Salmonella abortus ovis* por su condición de patógeno nato, ligado a procesos abortivos en ovinos.

De lo reflejado en el cuadro XVII, puede comprobarse que en un gran número de especies aisladas no se ha podido realizar análisis estadístico y hallar significación entre las cifras obtenidas para una y otra zona.

Ahora bien, podemos, a pesar de ello, considerar que las diferencias obtenidas en ambas zonas para algunas especies aparentemente hacen pensar que éstas presentan mayor facilidad para su aislamiento en una determinada zona. Tal es el caso, por ejemplo, de *Salmonella abortus ovis* y *Pasteurella* spp. para la zona verminosa y de *Nocardia* para la zona sana, a parte de las ya analizadas anteriormente.

Por lo que se refiere a la bibliografía española, no tenemos datos de que algún autor haya dedicado estudios al conocimiento de la flora bacteriana en pulmones, tanto normales como neumónicos, de las ovejas. Unicamente destacamos el estudio de ALLER y ALLER (ibid.) en pulmones ovinos parasitados, comparando también zonas sanas de los mismos, si bien estos autores lo basan en la presencia de hongos.

A la vista del análisis estadístico, comparando globalmente los resultados obtenidos en las zonas sanas y en las verminosas, cabe admitir que la presencia de vermes, contra lo que pudiera suponerse, no significa que hayan de encontrarse más bacterias aerobias concomitantes, sino todo lo contrario. Efectivamente, han sido significativamente más numerosos los aislamientos a partir de las zonas «sanas», en oposición a las invadidas por nematodos ($p < 0,001$). Apoya esta conclusión el hecho de que, tanto en unas como en otras zonas se hayan aislado las mismas especies bacterianas (cuadro XVII), variando solamente la frecuencia.

Analizando individualmente cada una de las especies parásitas, en las infestaciones por *Cystocaulus ocreatus* la comparación «zona sana/zona verminosa» proporcionó valor de «*p*» próximo a la significación ($0,1 > p > 0,05$), en tanto que para los restantes nematodos los valores fueron más bajos (*M. capillaris*, $0,8 > p > 0,7$; *N. linearis*, $0,7 > p > 0,5$; *Protostrongylus* spp., $0,9 > p > 0,8$).

Por lo que respecta a las bacterias aisladas, *Streptococcus* spp., *Staph. aureus*, y *Bacillus* spp., globalmente consideradas, resultaron significativamente inhibidas en la zona parasitada.

Las *Pasteurella* spp. halladas con más frecuencia en la zona verminosa que en la sana, aunque en proporción que no permite un cálculo estadístico fiable, se comportaron en el sentido previsto por EUZEBY (op. cit.), para quien los Metastrongyloidea, si no favorecen la pasterelosis de modo absoluto, al

menos contribuyen a desencadenarla ocasionalmente, permitiendo la multiplicación de las pasteurellas presentes en el pulmón «normal». Algo parecido cabe afirmar respecto a *Salmonella abortus-ovis* agente del que, sin embargo, ha de tenerse presente la frecuencia con que se encuentra en situación bacteriémica. Por el contrario, *Nocardia* spp. parece hallarse en menor proporción en la zona parasitada, aunque los resultados no se prestan a la comprobación estadística, dado el escaso número de aislamientos.

En líneas generales, nuestras observaciones concuerdan fielmente con las de ALLER y ALLER (ibid.) estudiando estos mismos nematodos y los hongos levaduriformes y filamentosos del pulmón ovino, comparando pulmones sanos con otros parasitados. También corroboran los trabajos de Jettmar (1952 y 1953), STEFANSKI (1959) y PRZYJALKOWSKI (1961), quienes llamaron la atención sobre la acción bacteriostática de los extractos de *Hypoderma bovis* y *Ascaris suum*. Ello demuestra que, la tesis generalmente aceptada de que los nematodos potencian el efecto patológico de protozoos, bacterias, virus, etc., no puede admitirse con carácter universal, sino que, en cada caso, ha de considerarse que todo sistema «nematodo/bacteria/hospedador» puede tener sus propias reglas.

Aunque no entra en nuestros propósitos, por el momento, la investigación de las causas de tales resultados, cabe especular sobre el papel que han de desempeñar las respuestas de los mecanismos defensivos del hospedador, de una parte, y la posible acción de metabolitos dependientes de los nematodos, por otra.

6. CONCLUSIONES

1. Del estudio de 516 pulmones ovinos, en el periodo 2-X-1972 a 30-IV-1975, puede establecerse que, en las condiciones epizootiológicas reinantes en el área leonesa en dicha época, los Protostrongylinae que afectaron al ganado ovino fueron *Muellerius capillaris*, *Cystocaulus ocreatus*, *Neostrongylus linearis* y *Protostrongylus* spp., expresados por orden de frecuencia.

2. Las infestaciones a cargo de una sola especie (51,84 %) predominan sobre las dobles (36,41 %), triples (6,73 %) y cuádruples (1,16 %).

3. Tanto en las zonas sanas como en las verminosas se hallaron las mismas bacterias pertenecientes a los géneros *Pseudomonas*, *Bordetella*, *Alcaligenes*, *Escherichia*, *Citrobacter*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Pasteurella*, *Actinobacillus*, *Neisseria*, *Branhamella*, *Acinetobacter*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Corynebacterium*, y *Nocardia*. Se exceptúan *Salmonella abortus-ovis*, y *Proteus*, aisladas exclusivamente de las áreas verminosas, y *Enterobacter cloacae* de las sanas.

4. La comparación estadística entre los datos globales obtenidos en las zonas sana y verminosa, demostró que era significativa la mayor frecuencia de aislamiento en las primeras, lo que permite afirmar que, en términos genera-

les, la presencia de Protostrongylinae no supone un factor favorecedor de la invasión por bacterias aerobias en el pulmón ovino.

5. Dado que se ha comprobado el menor grado de infección de los nódulos de cría, frente al tejido pulmonar sano circundante, cabe especular sobre la posibilidad de que en tales zonas se produzcan substancias inhibidoras del desarrollo de algunas bacterias.

6. En los nódulos de cría de *Cystocaulus ocreatus* se obtuvieron datos de inhibición de bacterias próximos a la significación estadística.

7. La frecuencia de *Streptococcus* spp., *Staphylococcus aureus*, y *Bacillus* spp. fue significativamente superior en las áreas indemnes. Las *Nocardia* spp. aunque aisladas en mayor número de zonas sanas, no alcanzaron valores estadísticos significativos.

8. *Pasteurella* spp. y *Salmonella abortus ovis*, en cambio, se aislaron con mayor constancia a partir de las áreas verminosas, aunque los valores no alcanzaron la significación estadística.

9. Comparando los resultados generales, con los relativos a cada especie bacteriana, puede arribarse a la conclusión general de que cada sistema «nematodo/bacteria/hospedador» puede tener sus propias reglas, por lo que son arriesgadas las generalizaciones.

7. RESUMEN

Con el fin de comprobar las interacciones «nematodos/bacterias aerobias» a nivel pulmonar, se han investigado 516 pulmones ovino parasitados por Protostrongylinae, intentando el aislamiento de bacterias a partir de los nódulos de cría y de las zonas sanas, respectivamente, de un mismo lóbulo parasitado.

El orden de frecuencia de los Protostrongylinos fue 51,84 % en infestaciones simples, 36,41 % en las dobles, 6,73 % en las triples y 1,16 % en las cuádruples.

El 19,37 % de los pulmones proporcionaron aislamientos bacterianos tanto en las zonas parasitadas como en las indemnes, el 16,27 % solamente en las sanas, y el 11,82 % en las parasitadas.

En total, se aislaron cepas pertenecientes a los siguientes géneros o grupos bacterianos: *Pseudomonas*, *Bordetella*, *Alcaligenes*, *Escherichia*, *Citrobacter*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Pasteurella*, *Actinobacillus*, *Neisseria*, *Branhamella*, *Acinetobacter*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Corynebacterium* y *Nocardia*.

El análisis estadístico demostró que, en general, los nódulos de cría están infectados en menor grado que las zonas pulmonares no parasitadas. En cuanto a las diversas especies bacterianas, no se halló significación estadística alguna en la mayoría de las aisladas, pero sí se comprobó en el caso de *Streptococcus* spp., *Staph. aureus* y *Bacillus* spp.

Se ha observado una frecuencia superior de aislamientos para *Pasteurella* spp. y *Salmonella abortus-ovis* en las zonas invadidas por vermes. En cambio, *Nocardia* spp. se aisló predominantemente de las zonas sanas.

RESUME

A fin de vérifier les interactions «nematodes/bactéries aérobies» à niveau pulmonaire, on a fait des recherches sur 516 poumons ovins parasités par Protostrongylinae, essayant d'isoler des bactéries à partir des nódules primaires et des zones saines, respectivement, d'un même lobule parasité.

Le coefficient de fréquence des Protostrongylinos fut de 51,84 % dans les infections simples, de 36,41 % dans les infections doubles, de 6,73 % dans les infections triples, et de 1,16 % dans les infections quadruples.

Le 19,37 % des poumons proportionnent des isolements bactériens dans les zones parasitées et dans les zones indemnes, le 16,27 % uniquement dans les zones saines, le 11,82 % dans les zones parasitées.

Au total, on a isolé des souches appartenant au genre ou groupes bactériens suivants: *Pseudomonas*, *Bordetella*, *Alcaligenes*, *Escherichia*, *Citrobacter*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Pasteurella*, *Actinobacillus*, *Neisseria*, *Branhamella*, *Acinetobacter*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Corynebacterium* et *Nocardia*.

L'analyse statistique a démontré qu'en général, les nódules primaires sont infectés dans un degré inférieur à celui des zones pulmonaires non-parasitées. Quant aux différentes espèces bactériennes, on n'a trouvé aucune signification statistique dans la plus grande partie des espèces isolées, mais cette signification fut trouvée dans le cas du *Streptococcus* spp., du *Staphylococcus aureus*, et du *Bacillus* spp.

On a observé une fréquence supérieure d'isolements dans les zones envahies par de vers. Le *Nocardia* spp fut isolé principalement des zones saines.

SUMMARY

In order to check the «nematode/aerobic bacterium» interactions at a lung level 516 ovine lungs, parasitized by Protostrongylinos, have been researched trying to isolate the bacteria from primary nodes and from healthy areas, respectively, of a same parasitized lobe.

The frequency rate of Protostrongylinos was 51.84 % in single infections, 36.41 % in double infections; 6.73 % in triple infections, and 1.16 % in quadruple infections.

The 19.37 % of lungs provided bacterial isolations both in parasitized and in uninjured areas; 16.27 % in healthy areas and 11.82 % in parasitized ones.

In total, strains belonging to the following genus or bacterial groups were isolated: *Pseudomonas*, *Bordetella*, *Alcaligenes*, *Escherichia*, *Citrobacter*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Pasteurella*, *Actinobacillus*, *Neisseria*, *Branhamella*, *Acinetobacter*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Corynebacterium*, and *Nocardia*.

The statistical analysis has demonstrated that, in general, primary nodes are infected in a lower rate than non-parasitized lung areas. Concerning the various bacterial species no statistical significance was found in most of species isolated, but it was in the case of *Streptococcus* spp., *Staphylococcus aureus*, and *Bacillus* spp.

A higher frequency of isolations has been observed for *Pasteurella* spp. and for *Salmonella abortus-ovis* in the areas invaded by intestinal worms. Instead, *Nocardia* spp was predominantly isolated from healthy areas.

8. AGRADECIMIENTOS

Queremos expresar nuestro agradecimiento, en primer lugar, al Prof. Dr. D. MIGUEL CORDERO DEL CAMPILLO, Catedrático de Parasitología, Enf. Parasitarias y Enf. Infecciosas de la Facultad de Veterinaria de León, director de esta tesis, que nos sugirió el tema, llevó a cabo la revisión final, y en todo momento nos orientó poniendo a nuestra disposición todo su caudal de conocimientos humanos, científicos y técnicos.

Al Prof. Dr. D. BENITO ALLER GANCEDO, Profesor Agregado de Enf. Infecciosas de la Facultad de Veterinaria de León, por la orientación, sugerencias y revisión de la parte bacteriológica del trabajo.

Al Dr. D. MÁXIMO FERNÁNDEZ DÍEZ, Profesor Adjunto de Enfermedades Infecciosas de la Facultad de Veterinaria de León, por la orientación en el trabajo bacteriológico y por la redacción del trabajo.

Igualmente, al Dr. D. FRANCISCO A. ROJO VÁZQUEZ, Profesor Adjunto de Parasitología y Enf. Parasitarias, por sus inestimables consejos y ayuda recibidos sobre cuestiones parasitológicas.

También al Dr. D. JOSÉ FERNÁNDEZ REVUELTA, del C.S.I.C., a quien se deben los trabajos estadísticos, y a D. JOSÉ TERESA REMÍS, Director del matadero municipal de León, y a los Veterinarios del mismo, por las facilidades otorgadas para la recogida de muestras.

Finalmente, agradecemos también a todas aquellas personas que nos han brindado su ayuda, tanto moral como física, de inestimable valor para la culminación del presente trabajo.

9. BIBLIOGRAFIA

- AINSWORTH, G. C., and AUSTWICK, P. K. (1973): *Fungal diseases of animals*. 2nd. Ed. Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal Hough. England.
- ALLER GANCEDO, B. (1968): Biochemical subtyping of bovine Staphylococci, *J. Med. Lab. Technol.*, **25**: 45-47.
- ALLER GANCEDO, B., y ALLER GANCEDO, J. M. (1973): Presencia de hongos en pulmones normales y parasitados. *An. Fac. Vet. León*, **19** (1): 55-63.
- ALLEY, M. R., MARSHALL, R. B., and PEARSON, R. (1970): The isolation of *Neisseria* spp. from neumonic sheep lungs. *N. Z. Vet. J.*, **17**: 184.
- ANÓNIMO. (1973): Manual de Bacteriología. Difco. 1973.
- ANTHONY, D., and LEWIS, E. F. (1961): *Diseases of the pig*. 5.^a Ed. Bailliere, Tindall and Cox. London.
- BAIRD PARKER, A. C. (1965a). The Classification of Staphylococci and Micrococci from world wide sources. *J. gen. Microbiol.*, **38**: 363.
- (1965b): Staphylococci and their classification. *Ann. N. Y. Acad. Scien.*, **128**: 4.
- (1972): Classification and identification of staphylococci and their resistance to physical agents. *Offprints from The Staphylococci*. John Wiley & Sons, Inc.
- BARBER, M., and KUPER, S. W. A. (1951): Identification of *Staph. pyogenes* by the phosphatase reaction. *J. Path. Bacteriol.*, **63**: 65-68.
- BEHRENS, H. (1962): *Lehrbuch der Schafkrankheiten*. Paul Parey. Berlin & Hamburgo, pp. 113 y 161.
- BERTRAND SHAW, W. (1971): *Escherichia coli* in newborn lambs. *Brit. Vet. J.*, **127**: 214.
- BORCHERT, A. (1964): *Parasitología Veterinaria*. Ed. Acribia. Zaragoza.
- BREED, R. S., MURRAY, E. G. D., and SMITH, N. R. (1957): *Bergey's Manual of determinative bacteriology*. American Society of Bacteriologists. The Williams & Wilkins Co., Baltimore. USA.
- BROWN, R. W., SANDWICK, O., SCHERER, R. K., and ROSE, D. L. (1967): Differentiation of strains of *Staph. epidermidis* isolated from bovine udders. *J. gen. Microbiol.*, **47**: 273-287.
- BURROWS, G. E. (1968): *Corynebacterium equi* infection in two foals. *J.A.V.M.A.*, **152** (8): 1.119-1.124.
- BURROWS, W. (1969): *Tratado de Microbiología*. 19.^a Ed. Ed. Interamericana. Méjico.
- CARTER, G. R. (1968): *Procedimientos de diagnóstico en Bacteriología y Micología Veterinarias*. Ed. Acribia. Zaragoza.
- ISOMN, T. T., and KESKEY, K. K. (1970): Occurrence of *Mima* and *Herella* species in clinical specimens from various animals. *J. A. V. M. A.*, **156**: 1.313-1.318.
- (1974): *Diagnostic procedures in veterinary bacteriology and mycology*. 2nd. Ed. Charles C. Thomas. Publisher. Springfield. Illinois. USA.
- CHEN-I-LIU, CHAO-FU-CHANG, and CHING-MU-CHENG (1972): A study on the porcine pneumonias in the slaughter houses. *Taiwan Jour. Med. & Ani. Husb.*, **20**: 18-36.
- CORDERO DEL CAMPILLO, M., ESCUDERO DÍEZ, A., y ROJO VÁZQUEZ, F. A. (1974): The pathology of sheep lungs in experimental infection with *Neosstrongylus lineatus* (Nematoda, Metastromyoidea). *Third Int. Congress of Paras.*, Munchen, 1974, pp. 719-720. B16 (15).
- y col. (1975): Indice catálogo de zooparásitos españoles. IV. Nematoda. En prensa.
- DALEEL, E. E. and FROST, A. J. (1967): Some observations on the bacterial flora of the bovine tonsil. *Brit. Vet. Jour.*, **123**: 232-236.
- DAM, A. (1968): Experimental studies of pathogenicity for calves of *E. coli* and on the protective specific *E. coli* antiserum. *J. A.*, 68.
- DUALDE PÉREZ, D. (1966): *Estudios sobre la Adenomatosis pulmonar ovina*. II^o de Estudios Turo-lenses. Exma. Diputación. Teruel. Tesis Doctoral.
- DUCKITT, S. M., SEAMAN, A., and WOODBINE, M. (1963): The bacteriology of *Corynebacterium bovis*. *The Vet. Bull.*, **33** (2): 67-73.
- DUNGWORTH, D. L., and CORDY, D. R. (1962): The pathogenesis of ovine pneumonia. *Jour. Comp. Path.*, **72**: 49-52.
- DUWEL, D. (1971): La Dictiocaulosis de la vaca. *Pan. Vet.*, **7** (9): 381-385.
- EUZEBY, J. (1954): Parasitisme et infection. *Cah. Med. Vet.*, mars-avril, n.^o 2, 1954.
- (1958): *Diagnostique expérimental des helminthes animaux*. Vigot Frères Ed. Paris.
- (1961): *Les maladies vermineuses des animaux domestiques*. I. *Maladies dues aux Nemathelminthes*. Vigot Frères. Ed. Paris.
- FAVATI, V. (1958): Sulla diffusione delle strongylosi degli ovini in Toscana. *Att. Soc. Ital. Sci. Vet.*, **12**: 445-447.
- FLOER, W. (1972): *Untersuchungen über die Mikroflora des Luftsackes beim Pferd*. Tesis Doctoral. Hannover.
- FOZ, A., ROY, C., y LLORENS, J. (1962): Estudio microbiológico de la orina. Aspectos bacteriológicos. Técnicas. *X jornadas de la Asociación Nnal. de Médicos especialistas en análisis clínicos*. Palma de Mallorca.
- GALLEGOS, A. (1915): Contribución al estudio de las pseudotuberculosis verminosas. Lesiones producidas por el *Strongylus rufescens* y el distoma lanceolado. *Rev. Hig. San. Vet.*, **V**: 465-485.
- GALLO, P., MORRIS, H., y VILORIA, P. (1966): *Corynebacterium equi* en potros pura sangre de carreras en Venezuela. *Rev. Med. y Paras. Maracay*, **XXI** (1-8): 5-10.
- GARCIA RODRÍGUEZ, I. (1961): Aportación al estudio de las nocardiosis del caballo. ¿Una enzootia de nocardiosis equina? *Supl. Cient. Bol. Inf. Cons. Gral. Col. Vet. España*, **8** (167): 747-757.
- GORDON, R. E., and MIHM, J. M. (1959): A comparison of *N. asteroides* and *N. brasiliensis*. *J. gen. Microbiol.*, **20**: 129-135.
- , — (1962): Identification of *N. caviae* (Erikson) nov. comb. Amer. New York Acad. of Sci., **98**: 628-636.
- (1966): Some strains in search of a genus *Corynebacterium*, *Mycobacterium*, *Nocardia* or what? *J. gen. Microbiol.*, **43**: 329-343.

- (1966): Some criteria for the recognition *N. madurae* (Vincent) Blanchard. *J. gen. Microbiol.*, **45**: 355-364.
- and HORAN, A. C., (1968): *Nocardia dassonvillei*, a macroscopic replica of *Streptomyces griseus*. *J. gen. Microbiol.*, **50**: 235-240.
- BARNETT, D. A., and HANDERHAN, J. E., and HORNAY-PANG, C., (1974): *Nocardia coeliaca*, *Nocardia autotrophica* and the Nocardin strain. *Int. J. of Syst. Bacteriol.*, **24** (1): 54-63.
- (1974): Some bits and pieces of the genus *Nocardia*. *Proc. First Int. Conf. on the Biol. of Nocardiae*. 1974. Merida. Venezuela.
- and MIHM, J. M., (1956): A comparative study of some strains received as Nocardiae. *Jour. of Bacteriol.*, **73** (1): 15-27.
- GOUDSWAARD, J., and VAN KOL, N. (1969): *Corynebacterium uteri* (nov. sp.) as the probable cause of abortion in a sow. *Neth. J. Vet. Sci.*, **2**: 14-18.
- HAGAN, W. A., and BRUNER, D. W. (1961): *The infectious diseases of domestic animals*. 4.^a Ed. Comstock Publishing Associates. Ithaca. New York.
- HAJEK, V., and MARSALEK, E. (1969a): A study of Staphylococci of bovine origin. *Staph. aureus* var. *bovis*. *Zbl. Bak. Parasitenk. Infek. u Hyg.*, **209**: 154-160.
- , — (1969b): A study of Staphylococci isolated from the upper respiratory tract of different animal species. *Zbl. Bak Parasitenk. Infek. u Hyg.*, **212**: 60-73.
- , — (1970): A study of Staphylococci isolated from upper respiratory tract of different animal species. III. Physiological properties of *Staph. aureus* strains of porcine origin. *Zbl. Bakt. I. Abt. Orig.*, **214**: 68-74.
- HARRIGAN, W. F., y MCCANCE, M. (1968): *Métodos de laboratorio en Microbiología*. Ed. Academia. León.
- HARRIS, D. L., ROSS, R. F., and SWITZER, W. P. (1969). Incidence of certain microorganisms in nasal cavities of swine in Iowa. *Amer. J. Vet. Res.*, **30** (9): 1.621-1.624.
- HARTWICH, J. y MULLER, V. (1966): Consideraciones acerca de la difusión de los micoplasmas en el cerdo. *Pan. Vet.*, **2** (11): 437-445.
- HATSIG, D. (1973): Investigations on the biochemical properties of *Staph. aureus* strains isolated from pathological changes in rabbits. *Vet. Arch.*, Zagreb, Knjigen, 43/1973. *Svezak 9-10: 257-266*.
- HENDERSON, A., and BRODIE, J. (1963): Investigations on the staphylococcal coagulase. *Brit. J. Exp. Path.*, **44**: 524-528.
- HIEPE, Th. (1972): *Schweizer Archiv für Tierheilkunde*. Tomado de *R. E. V. E.*, n.^o 264, junio, 1973.
- (1972): *Enfermedades de la oveja*. Ed. Acribia. Zaragoza. España.
- HORE, D. E. (1970): Pneumonia in sheep. *Austr. Vet. J.*, **46**: 169-172.
- HUNTER, D., and HARBOURNE, J. F. (1964): The isolation of *Neisseria catarrhalis* from pneumonic bovine lungs. *Vet. Record*, **76** (26): 738.
- JORGENSEN, J. B. (1966): To tilfaelde af *Corynebacterium equi* infektion hos kvaeg. *Nord. Vet. Med.*, **18**: 261-265.
- JUBB y KENNEDY (1973): *Patología de los animales domésticos*. Ed. Labor. II tomos. Barcelona.
- KING, E. O., (1967): *The identification of unusual pathogenic gram negative bacteria. Round table Current trends in diagnostic microbiology*. U. S. Department of Health, Education and Welfare. Atlanta. Georgia. USA.
- KOTLAN, A. (1960): *Helminthologie*. Verlag der Ungarischen Akademie der Wissenschaften. Akadémiai Kaido. Budapest.
- KURUP, P. V., RANDHAWA, H. S., and SANDHU, R. S. (1965): A survey of *N. asteroides*, *N. caviae* and *N. brasiliensis* occurring in soil in India.
- LEE, P. E., and MC KERRAS, M. I. (1958): Lungworm and M. V. E. infection. *Thirteenth Ann. Reprt*, pp. 11.
- LIZCANO HERRERA, J. (1949): Contribución al estudio de la estrongilosis pulmonar en España. *Cons. Gral. Col. Vet. España*, 14-15: 451 y 547.
- (1965): El citrato de carbamacina en las estrongilosis pulmonares caprinas. *Cons. Gral. Col. Vet. España*, **IX**: 27-34.
- LÓPEZ NEYRA, C. R. (1947): *Helmintos de los vertebrados Ibéricos*. Imprenta Urania. Granada.
- LÓPEZ SUÁREZ, A. (1948): Contribución al estudio sanitario de la flora bacteriana de la leche de vacas recogida asepticamente. Tesis Doctoral. Gráficas Yagües. Madrid.
- MARSH, H. (1969): *Enfermedades de los lanares*. Ed. Troquel. S. A. Buenos Aires.
- MARTÍN LOMEÑA, S. (1946): Contribución a un plan provincial de lucha contra algunas enfermedades parasitarias de la ganadería de Salamanca. *Cien. Vet.*, **34**: 207.
- MARTÍNEZ MORALES, E. (1964): *Zur Kenntnis der Epidemiologie der Protostrongyliden*. Inaugural-Dissertation. Giessen.
- (1967): Sobre algunos factores de la infestación ovina con Protostrongylidos. *An. Fac. Vet. León*, **13**: 109-134.
- MATILLA, V. (1944): *Manual de Microbiología Médica*. II tomos. 2.^a Ed. Ed. Científico-Médica. Madrid.
- MERCHANT, I. A. y PACKER, R. A. (1970): *Bacteriología y Virología veterinarias*. 3.^a Ed. Ed. Acribia. Zaragoza.
- NEMESSERI y HOLLO. (1966): *Diagnóstico parasitológico veterinario*. Ed. Acribia. Zaragoza.
- NEUBAUER, M., and SOUREK, J. (1966): Notes of the toxinogenicity of atypical Corynebacteria. *J. Hig. Epid.*, (Praga), **10**: 158.
- NEWSON, I. E. (1952): *Sheep Diseases*. The Williams & Wilkins Co. Baltimore. USA.
- NICOD, B., y col. (1973): Estudio comparativo de dos sistemas de saneamiento adoptados por el servicio consultivo y sanitario de cría de porcinos en Suiza. *Schw. Archiv. Für Tierheilkunde*, tomo 115, cuad. 10. (Tomado de *R. E. VE.*, **XXIV**, fasc. 276).
- OETJEN, H. M., and HARRIS, D. L. (1973): Scheme for systematic identification of aerobic pathogenic bacteria. *J. A. V. M. A.*, **163** (2): 169-175.
- OMAR, A. R. (1966): The aetiology and pathology of pneumonia in calves. *The Vet. Bull.*, **36** (5): 261-273.
- ORTIZ MASLORENS, F. (1963): Comparación de dos métodos para determinar la producción de coagulasa por los estafilococos. *Rev. Clin. Esp.*, año XXIV, tomo XCI: 281-283.
- OVEJERO DEL AGUA, S., SUÁREZ FERNÁNDEZ, G., SANTOS GUTIÉRREZ, A. y PANIAGUA ANDRÉS, C. (1972): Estudio de la microflora del género *Bacillus* (Cohn, 1872) en semiconservas cárnicas. *An. Fac. Vet. León*, **18** (1): 41-51.
- PANASYUK, D. I., VASILEV, A. P., GANYUSKIN, V. Y., y KONDRIKINSKAYA, L. V. (1970): Microflora of *Dictyocaulus filaria* in infected sheep. *Veterinarya, Mosk.*, **47** (3): 76-77.
- PARKER, W. H. (1966): History of the theories on the cause and treatment of husk (Parasitic bronchitis). *The Vet. Record*, **79** (3): 75-79.
- PASCUAL CANALS, J. (1961): *Estudios estadísticos y anatomopatológicos sobre los granulomas pulmonares de los ovinos*. Tesis Doctoral. Cyanavet, n.^o 7, 2.^a época.
- PELCZAR, M. J., y REID, R. D. (1966): *Microbiología*. 2.^a Ed. Ed. del Castillo. Madrid.
- PIZZOLI, A. (1961): Caracteres de *Nocardia asteroides* y *Nocardia brasiliensis* en cultivos y en los tejidos. *An. Fac. Med.*, Montevideo, **46** (1-2): 29-36.
- POZO LORA, R. (1960): Aportación al inventario y ecología de los helmintos españoles. (Especies encontradas en Córdoba). *Rev. Ib. Paras.*, **XX** (3): 404-410.
- PRZYJALKOWSKI, Z. (1958): Investigations on the transmission of *S. typhimurium* in animals by migrating nematode larvae. *Bull. Acad. Pol. Sci., Cl II*, **6** (9): 383-388.
- (1961): Bacterial flora of parasitic worms and its relations to the flora of host. *Wiad. Paraz.*, **VII** (2): 325-327.
- (1961): Variability in bacteriostatic properties of the larvae of *Hypoderma bovis*. *Acta Parasitol. Pol.*, **IX**, fasc. 2. 7-13.
- (1962): Papel de los parásitos en la transmisión de enfermedades. *Acta. Paras. Pol.*, **10**: 77 (Tomado de Boletín Syva, **12** (71): 108).
- (1968): Studies on the relationship between bacteria and intestinal helminths of host with taking into consideration germ free animals. I. Some aspects of the problem and results of experiments «in vitro» and with conventional animals. *Wiad. Paraz.*, **XIV** (4): 383-406.
- RAMÍREZ FERNÁNDEZ, A. P. (1967): Epizootiología de las bronconeumonías verminosas ovinas en León. *An. Fac. Vet. León*, **13**: 135-210.
- RICHOU, R. (1953): Sobre la determinación del poder patógeno de los estafilococos. *Rev. Path. gen. et comparée*, **2**: 178 (Tomado de *Arch. Vet. Pract.*, fasc. 32).
- RESPALDIZA CARDEÑOSA, E. (1973): Estudio de las nematodiasis pulmonares en el ganado lanar. *Terap. Vet.*, **IV** (17): 5-20; **IV** (18): 21-31; **IV** (19): 5-16.
- ROJO VÁZQUEZ, F. A. (1973): Bronconeumonías verminosas en León, con especial atención al ciclo biológico de *Neostrongylus linearis* (Marotel, 1913) Gebauer, 1932. *An. Fac. Vet. León*, **19** (1): 147-197.
- et CORDERO DEL CAMPILLO, M. (1974): Le cycle biologique de *Neostrongylus linearis* (Marotel, 1913) Gebauer, 1932. *An. Par. hum. et comp.*, **XLIX** (6): 685-699.
- ROMERO RODRÍGUEZ, J. (1966): Estudio histoparasitológico de las estrongilosis pulmonares ovinas. *Granja*, n.^o 135: 15-20.
- (1970): Metastrongylosis broncopulmonares en la ganadería española. *Rev. Ib. Paras.*, **30**: 361.
- ROLAND, F., et BOURDON, D. (1949): Technique d'identification rapide des enterobactéries. *An. Inst. Pasteur*, **76** (900) 346.
- SAÍZ MORENO, L. (1965): Los fenómenos de hipersensibilidad y resistencia orgánica frente a las infestaciones por helmintos. *Cons. Gral. Col. Vet. España*, **IX** (175): 125-136.

- SÁNCHEZ GONZÁLEZ, P. (1970): Epizootiología de las bronconeumonías verminosas y eficacia de su tratamiento con Tetramisol. *Vet. Extr.*, **87**: 1.
- SCHIMIZU, T., ITO, Y., and SHIBATA, S. (1967): A new type in experimental intraperitoneal infection of *Staphylococci* in mice. *Nat. Inst. of Amer. Health Omat.*, **8** (1): 8-15.
- SHREEVE, B. T., and THOMPSON, D. A. (1970): Studies on the carriage of *P. haemolytica* in lambs. *J. comp. Path.*, **80**: 107-112.
- , BIBERSTEIN, E. L., and THOMPSON, D. A. (1972): Variation in carrier rates of *P. haemolytica* in sheep. II. Diseased flocks. *J. comp. path.*, **82**: 111-116.
- SIMÓN VICENTE, F. (1961): Estudios sobre vermes parásitos pulmonares de óvidos y cáridos. *An. Inst. Inst. Vet., Madrid*, XI: 101-139.
- (1966): Las helmintosis ovinas en el pastoreo extensivo (su evolución en un período de sequía). *Rev. Ib. Paras.*, **26**: 203-222.
- SKERMANN, V. B. (1959): *A guide to the identification of the genera of Bacteria*. The Williams & Wilkins Co. Baltimore. USA.
- SOCIETY OF AMERICAN BACTERIOLOGISTS (1957): *Manual of Microbiological methods*. Mc Graw-Hill Book Co. New York.
- SOJKA, W. (1965): *Escherichia coli in domestic animals and poultry*. Commonwealth Agricultural Bureaux. Farnham Royal Bucks. England.
- STABLEFORTH, A. W., and GALLOWAY, I. A. (1959): Editors. *Infectious Diseases of Animals. Diseases due to Bacteria*. II vol. Butterworths Scientific Publications. London.
- STAMP, J. T. (1968): Pneumonia in sheep. *Vet. Rec.*, **83** (24): 607.
- STEFANSKI, W. (1956): Papel de los parásitos en la transmisión de las enfermedades infecciosas del cerdo. *Vet.*, XXI: 1.007-1.016.
- (1956): Les relations biocénétiques entre la faune parasitaire et la flore bactérienne du tract digestif. II. Le rôle des helminthes dans la transmission du rouget du porc. *Acta Parasitol. Pol.*, IV, fasc. 12: 521-554.
- , MAJDAN, S., and WERTWJK, M. (1959): Research on helminths as possible vectors of hog cholera. *Bull. Acad. Pol. Sci.*, **CLII**, VII (4): 143-146.
- (1959): Infection et helminthes. *Rec. Med. Vet.*, Tome CXXXVI. Vigot Frères. Ed. Paris.
- (1959): The transmission of bacteria and viruses by helminth larvae. *Helm. Abs.*, **28**: 94.
- , BANKOV, D., and PRZYJALKOWSKI, Z. (1963): Investigations on the transmission of pathogenic and non pathogenic germs by *Strongyloides papillosus* larvae through intact skin of mice. *Helmintol.*, **4** (1/4): 495-499.
- , et PRZYJALKOWSKI, Z. (1964): Le influence de certaines bactéries sur l'établissement de trichines dans le tube digestif de la souris. *Bull. Acad. Vet.*, n.º 3: 131-134.
- , — (1965): Effect of alimentary tract microorganisms on the development of *Trichinella spiralis* in mice. Part I. *Exp. Parasitol.*, **16**: 167-173.
- , — (1967): Nouvelles recherches sur l'influence de la flore bactérienne sur l'établissement des helminthoses dans leurs hôtes. *Acta Paras.*, XV, fasc. 38: 285-287.
- STEVENSON, R. G. (1969): Respiratory diseases of sheep. *Vet. Bull.*, Weybridge, **39**: 747-759.
- STOPLER, T., CAMUESCU, V., and VOICULESCU, M. (1965): Bronchopneumonia with fatal evolution determinated by a microorganism of the genus *Bacillus* (*Bac. cereus*). *Ruman. Med. Vet.*, **2**: 7.
- SUÁREZ FERNÁNDEZ, G. (1965): *Microflora estafilocócica de la leche natural*. Tesis Doctoral.
- TARAZONA VILAS, J. M. (1955): Estudio sobre los ciclos evolutivos y la terapéutica de las estrongilosis pulmonares ovinas. *Cons. Gral. Col. Vet. España*, **9**: 271-301 y 345-362.
- TALEGÓN HERAS, F. (1961): Carnes y vísceras parasitadas por helmintos. *Cons. Gral. Col. Vet. España*, **62**, 105-220.
- (1972): *Bronquitis verminosas*. Publicaciones científicas Ovejero. León.
- TERLECKI, S., and SOJKA, W. (1965): The pathogenicity for lambs of *Escherichia coli* of certain serotypes. *Brit. Vet. J.*, **121**: 462-470.
- VAN DER VEEN, R. R., and ZUMPT, I. F. (1967): Enzootic pneumonia of sheep in the Mafeking district. *J. S. Afr. Vet. Med. Ass.*, **38**: 415-419.
- WATSON, W. A. (1965): The carriage of pathogenic staphylococci by sheep. *Vet. Rec.*, **77**: 474-479.
- WEISSMANN, G. E., and HILKER, G. (1968): Characterization of *Pasteurella haemolytica* isolated from the respiratory tract of cattle. *Can. J. Microbiol.*, **32**: 498-504.
- , and WEISSMANN, G. (1970): Chemically defined media for *P. multocida* and *P. ureae* and a comparison of their requirements with those of *P. haemolytica*. *Can. J. Microbiol.*, **16** (8): 751-757.
- , — (1972): Requirements for growth of *P. ureae* in a chemically defined medium. *Can. J. Microbiol.*, **18** (1): 107-109.

- WILCOX, G. E. (1970): A examination of *Moraxella* and related genera commonly isolated from the bovine eye. *J. comp. Path.*, **80**: 65-74.
- ZAGALLO, A. C., and WANG, Ch. (1967): Comparative carbohydrate catabolism in *Corynebacteria*. *J. gen. Microbiol.*, **47**: 347-357.
- ZIMMERMANN, W. J., and SCHWARTZ, L. H. (1965): Transmission of hog cholera virus by *Trichinella spiralis* larvae. *Jour. Paras.*, **51**: 2 section; 2.

CUADRO I

Resultados obtenidos por Ramírez Fernández (1967) en ovejas de León, expresados en orden de frecuencia

<i>Protostrongylus</i> spp
<i>Cystocaulus ocreatus</i>
<i>Neostrongylus linearis</i>
<i>Muellerius capillaris</i>

CUADRO II

Porcentajes de infestación obtenidos por Aller y Aller (op. cit.) en ovinos de la provincia de León

Infestaciones puras:

	%
<i>Muellerius capillaris</i>	21,60
<i>Cystocaulus ocreatus</i>	18,40
<i>Protostrongylus</i> spp.	14,40
<i>Neostrongylus linearis</i>	4,00

Infestaciones dobles:

<i>M. capillaris</i> + <i>Protostrongylus</i> spp.	12,00
<i>C. ocreatus</i> + <i>N. linearis</i>	7,20
<i>M. capillaris</i> + <i>C. ocreatus</i>	7,20
<i>C. ocreatus</i> + <i>Protostrongylus</i> spp.	3,20

Infestaciones triples:

<i>M. capillaris</i> + <i>C. ocreatus</i> + <i>N. linearis</i>	4,00
<i>M. capillaris</i> + <i>C. ocreatus</i> + <i>Protostrongylus</i> spp.	4,00
<i>M. capillaris</i> + <i>N. linearis</i> + <i>Protostrongylus</i> spp.	2,40

Infestaciones cuádruples:

<i>C. ocreatus</i> + <i>M. capillaris</i> + <i>N. linearis</i> + <i>Protostrongylus</i> spp.	1,60
--	------

CUADRO III

Resultado de la investigación sobre pulmones ovinos, según Rojo Vázquez, F. A. (1973)

Infestaciones puras:		%
<i>Muellerius capillaris</i>	24,71
<i>Cystocaulus ocreatus</i>	16,10
<i>Protostrongylus</i> spp.	5,70
<i>Neostongylus linearis</i>	5,10
Infestaciones dobles:		
<i>M. capillaris + C. ocreatus</i>	16,10
<i>M. capillaris + Protostrongylus</i> spp.	8,00
<i>M. capillaris + N. linearis</i>	5,10
<i>C. ocreatus + N. linearis</i>	6,50
<i>C. ocreatus + Protostrongylus</i> spp.	0,70
<i>N. linearis + Protostrongylus</i> spp.	2,10
Infestaciones triples:		
<i>M. capillaris + C. ocreatus + N. linearis</i>	1,40
<i>M. capillaris + C. ocreatus + Protostrongylus</i> spp.	4,30
<i>M. capillaris + N. linearis + Protostrongylus</i> spp.	0,70
<i>C. ocreatus + N. linearis + Protostrongylus</i> spp.	0,70
Infestaciones cuádruples:		
<i>C. ocreatus + N. linearis + M. capillaris + Protostrongylus</i> spp.	1,40

CUADRO IV

Resultado de la investigación sobre 118 muestras de pulmones y mucosa nasal en cerdos clínicamente sanos (según Hartwich y Muller (1966))

	N.º cepas	%
Micrococos	83	37,05
Estreptococos:		
alfa hemolíticos	76	33,92
Coliformes	55	24,55
Bacilos	5	2,23
<i>Streptomyces</i> spp.	2	0,89
<i>Haemophilus suis</i>	1	0,44
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	1	0,44
<i>Corynebacterium</i> spp.	1	0,44

CUADRO V

Resultado de la investigación bacteriológica sobre 104 muestras de la bolsa gutural de caballos sanos (según Floer, 1972)

	N.º cepas	%
Estreptococos:		
beta hemolíticos	28	9,39
<i>Bor. bronchiseptica</i>	17	5,70
<i>Staph. aureus</i>	15	5,03
<i>D. pneumoniae</i>	2	0,67
<i>Ps. aeruginosa</i>	4	1,34
<i>Acinetobacter anitratum</i>	11	3,68
<i>Escherichia coli</i>	20	6,71
<i>Enterobacter</i>	29	9,73
Cocos gram negativos	29	9,73
Estreptococos alfa hemol.	16	5,37
<i>Staph. albus</i>	61	20,46
<i>Micrococcus</i>	29	9,73
<i>Corynebacterium</i> spp.	8	2,68
Grupo Mesentéricus-Subtilis	39	13,18

CUADRO VI

Especies bacterianas aisladas de pulmones neumónicos ovinos (según Stevenson, 1969)

<i>P. haemolytica</i> :	Dungal (1931); Newson y Cross (1932); Berveridge (1937); Montgomery y col. (1938); Woxholt y col. (1952); Stamp y col (1955); Hartley y Boyes (1955); Salisbury (1957); Downey (1957); Stevens (1957); Biberstein y Kennedy (1959); Hamdy y col (1959); Smith (1959, 1960a, b, 1961 a, b, 1964); Dungworth y Cordy (1962a); Gilmour y Brotherston (1963); MAFF (1964)*.
<i>P. multocida</i> :	Marsh (1953); Hamdy y col. (1959).
<i>P. tularensis</i> :	Gwatkin y col. (1942).
<i>Cory. pyogenes</i> :	Spray (1923); Jowett (1930); Marsh (1953); Downey (1957); Stevens (1957); Smith (1957); Mc Gowan y col (1957); Hamdy y col (1959); Gilmour y Brotherston (1963); MAFF (1964).
Estafilococos:	Smith (1957); Hamdy y col (1959); MAFF (1964).
Estreptococos:	Jowett (1930); Smith (1957); Hamdy y col. (1959); MAFF (1964).
<i>Str. pneumoniae</i> :	Dhanda y Sekariak (1958).
<i>Sph. Necrophorus</i>	Jowett (1930); Smith (1957); MAFF (1964)
<i>Escherichia coli</i> :	MAFF (1964).
<i>S. abortus-ovis</i> :	Jack (1968).
<i>Actin. lignieresii</i> :	Smith (1957, 1960a).
<i>Haemophylus</i> spp.:	Cheema y col. (1965).
<i>H. suis</i> :	Mitchell (1925).
<i>Ps. aeruginosa</i> :	Hamdy y col (1959).
<i>Ps. pseudomallei</i> :	Cotew y col (1952); Lewis y Olds (1952); Laws y Halls (1964).
<i>Myc. tuberculosis</i> :	Van Es (1927).
<i>Myc. avium</i> :	Harshfield y col. (1937); Creech (1940).

* Ministerio de Agricultura, Pesquerías y Alimentos. Inglaterra.

CUADRO VII

Especies bacterianas aisladas de pulmones neumónicos bovinos (según Omar, 1966)

<i>Staph. aureus:</i>	Tutt (1941).
<i>Staph. albus:</i>	Jennings y Glover (1952).
Beta estreptococos:	Thorp y Hallman (1939).
<i>D. pneumoniae:</i>	Bratanovic y col. (1964).
<i>E. coli</i> hemol.:	Harboure y col. (1965).
<i>E. coli:</i>	Harbourne y col. (1965); Jennings y Glover (1952); Thorp y Hallman (1939).
<i>P. multocida:</i> (bovisepctica)	Carpenter y Gilman (1921); Smith (1921); Lewi y Cotchin (1950); Sanders (1939); Harbourne y col. (1965); Carter y Rousell (1958).
<i>P. haemolytica:</i>	Tweed y Edington (1930); Palotay y Newhall (1958); Harbourne y col. (1965); Carpenter (1954b); Palotay y Christensen (1959); Florentey y Godville (1950); Carter y McSherry (1955).
<i>Salmonella dublin:</i>	Harbourne y col. (1965).
<i>Cory. pyogenes:</i>	Smith (1921); Blackmore (1945); Lowell y Hughes (1921); Jennings y Glover (1952); Harbourne y col. (1965); Lamont y Kerr (1939); Lewi y Cotchin (1950); Carter (1954b); Bratanovic y col. (1964).
<i>A. actinoides:</i>	Smith (1921); Blackmore (1945); Lewi y Cotchin (1950); Gunning (1946); Betts y col (1964).
<i>Haemophylus</i> spp.:	Lamont y Kerr (1939); Thorp y col (1942); Watt (1952).
<i>N. catarrhalis:</i>	Hunter y Harbourne (1964).
<i>Proteus vulgaris:</i>	Harbourne y col. (1965).
<i>Ps. aeruginosa:</i>	Carpenter y Gilman (1921).

CUADRO VIII

Resultado de la investigación sobre pulmones y mucosa nasal de cerdos afectos de rinitis atrófica y neumonía enzoótica (según Hartwich y Muller, 1966)

	N.º cepas	%
Estreptococos alfa hemolíticos	154	30,07
Coliformes	149	28,90
<i>Micrococcus</i> spp.	135	26,36
<i>Bacillus</i> spp.	27	5,27
<i>Haemophylus suis</i>	10	1,94
<i>Bor. brochiseptica</i>	6	1,16
<i>Proteus vulgaris</i>	6	1,16
Klebsiella	5	0,97
<i>Pasteurella multocida</i>	5	0,97
<i>Streptomyces</i> spp.	4	0,77
<i>E. coli</i> beta hemolítico	3	0,58
Estreptococos beta hemolíticos	3	0,58
<i>Corynebacterium</i> spp.	3	0,58
<i>Pseudomonas</i> spp.	2	0,38

CUADRO IX

Localidades de procedencia de las ovejas muestreadas

<i>Provincia de Cáceres</i> (s.d.)	9
<i>Provincia de Valladolid</i>	70
Medina del Campo	41
Ceinos de Campos	10
Medina de Rioseco	12
Villalón de Campos	7
<i>Provincia de Palencia</i>	7
Villamediana	5
Desconocidas	2
<i>Provincia de Zamora</i>	72
Benavente	53
S. Cristóbal Entreñas	11
Tábara de Campos	5
Desconocidas	3
<i>Provincia de Salamanca</i> (*)	2
<i>Tierra de Campos</i> (*)	2
<i>Provincia de León</i>	331
Cabrerros del Río	6
Fontecha	1
Grajalejo	2
León:	
Carbajal	4
Navatejera	4
Pte. Castro	8
Villaobispo	7
.....	23
Los Oteros (*)	12
Mansilla de las Mulas	6
Matadeón	9
Matallana de Valmadrigal	3
Montaña occidental	10
Páramo (*)	25
Ribera media río Orbigo	35
Ribera baja río Porma	9
Sahagún	1
Sta. M. ^a del Páramo	7
Santas Martas	11
Valencia de Don Juan	37
Villaquejida	5
Villamañán	5
Villar de Mazarife	4
Villahornate	56
Valderas	12
Sin determinar	75
.....	516

(*) Sin precisar localidad.

CUADRO X

Número y porcentaje de infestaciones puras y mixtas obtenidos como resultado de la investigación en pulmones parasitados por protostrongylinae de 516 ovejas

	Número	%
INFESTACIONES PURAS:		
<i>Cystocaulus ocreatus</i>	116	22.48
<i>Muellerius capillaris</i>	98	18.99
<i>Neostrongylus linearis</i>	43	8.33
<i>Protostrongylus</i> spp.	31	6.00
INFESTACIONES DOBLES:		
<i>M. capillaris</i> + <i>C. ocreatus</i>	58	11.24
<i>M. capillaris</i> + <i>Protostrongylus</i> spp.	38	7.36
<i>M. capillaris</i> + <i>N. linearis</i>	35	6.78
<i>C. ocreatus</i> + <i>N. linearis</i>	28	5.42
<i>C. ocreatus</i> + <i>Protostrongylus</i> spp.	18	3.48
<i>N. linearis</i> + <i>Protostrongylus</i> spp.	11	2.13
INFESTACIONES TRIPLES:		
<i>M. capillaris</i> + <i>N. linearis</i> + <i>C. ocreatus</i>	16	3.10
<i>M. capillaris</i> + <i>C. ocreatus</i> + <i>Protostrongylus</i> spp.	12	2.32
<i>M. capillaris</i> + <i>N. linearis</i> + <i>Protostrongylus</i> spp.	4	0.77
<i>C. ocreatus</i> + <i>N. linearis</i> + <i>Protostrongylus</i> spp.	2	0.38
INFESTACIONES CUADRUPLES:		
<i>C. ocreatus</i> + <i>M. capillaris</i> + <i>N. linearis</i> + <i>Protostrongylus</i> spp.	6	1.16
Frecuencia de la infestación en porcentajes acumulativos		
<i>Muellerius capillaris</i>		51.74 %
<i>Cystocaulus ocreatus</i>		49.61 %
<i>Neostrongylus linearis</i>		28.10 %
<i>Protostrongylus</i> spp.		23.64 %

CUADRO XI

Número de pulmones con infección y de cepas bacterianas, con su porcentaje, con referencia a las distintas zonas estudiadas

Zonas de siembra (*)	Pulmones		Cepas	
	N. ^o	%	N. ^o	%
zs + zv +	100	19,37	467	62,85
zs + zv -	84	16,27	180	22,24
zs - zv +	61	11,82	96	12,92
Resumen de las zonas positivas:				
ZS +	184	35,65	438	58,95
ZV +	161	31,20	305	41,05

(*) zs: zona sana + : positivo
zv: zona verminosa - : negativo

CUADRO XII

Infecciones puras y mixtas y número de cepas aisladas

N. ^o cepas/pulmón	N. ^o pulmones	%	N. ^o cepas	%
1	81	33,06	81	10,90
2	54	22,04	108	14,53
3	26	10,61	78	10,49
4	30	12,24	120	16,15
5	17	6,93	85	11,44
6	14	5,71	84	11,30
7	9	3,67	63	8,47
8	7	2,85	56	7,53
9	4	1,63	36	4,84
10	2	0,81	20	2,69
12	1	0,40	12	1,61
Total	245	99,95	743	99,95

CUADRO XIII

Distribución de los aislamientos positivos totales, según la etiología de las lesiones verminosas, sobre 245 pulmones positivos

	N. ^o pulmones
Infestaciones simples:	
<i>Cystocaulus ocreatus</i>	63
<i>Muellerius capillaris</i>	44
<i>Protostrongylus</i> spp.	18
<i>Neostrongylus linearis</i>	16
	141
Infestaciones dobles:	
<i>C. ocreatus</i> + <i>M. capillaris</i>	27
<i>M. capillaris</i> + <i>Protostrongylus</i> spp.	17
<i>C. ocreatus</i> + <i>N. linearis</i>	16
<i>M. capillaris</i> + <i>N. linearis</i>	16
<i>C. ocreatus</i> + <i>Protostrongylus</i> spp.	8
<i>N. linearis</i> + <i>Protostrongylus</i> spp.	3
	87
Infestaciones triples:	
<i>C. ocreatus</i> + <i>M. capillaris</i> + <i>Protostrongylus</i> spp.	6
<i>C. ocreatus</i> + <i>M. capillaris</i> + <i>N. linearis</i>	5
<i>M. capillaris</i> + <i>N. linearis</i> + <i>Protostrongylus</i> spp.	2
<i>N. linearis</i> + <i>C. ocreatus</i> + <i>Protostrongylus</i> spp.	0
	13
Infestaciones cuádruples:	
<i>C. ocreatus</i> + <i>N. linearis</i> + <i>M. capillaris</i> + <i>Protostrongylus</i> spp.	4
	4

CUADRO XIII (continuación)

	N. ^o	%
Resumen acumulativo:		
<i>Cystocaulus ocreatus</i>	129	52,65
<i>Muellerius capillaris</i>	121	49,38
<i>Neostongylus linearis</i>	59	24,08
<i>Protostrongylus</i> spp.	58	23,67

CUADRO XIV

Número de cepas aisladas según la etiología verminosa del nódulo, sobre 305 cepas aisladas en la zona verminosa.

	N. ^o cepas
Infestaciones puras:	
<i>M. capillaris</i>	66
<i>C. ocreatus</i>	63
<i>Protostrongylus</i> spp.	28
<i>N. linearis</i>	16
Infestaciones dobles:	
<i>C. ocreatus + M. capillaris</i>	32
<i>M. capillaris + Protostrongylus</i> spp.	22
<i>C. ocreatus + N. linearis</i>	19
<i>M. capillaris + N. linearis</i>	17
<i>C. ocreatus + Protostrongylus</i> spp.	10
<i>N. linearis + Protostrongylus</i> spp.	2
Infestaciones triples:	
<i>M. capillaris + C. ocreatus + Protostrongylus</i> spp.	10
<i>M. capillaris + N. linearis + C. ocreatus</i>	5
<i>M. capillaris + N. linearis + Protostrongylus</i> spp.	5
<i>N. linearis + C. ocreatus + Protostrongylus</i> spp.	0
Infestaciones cuádruples:	
<i>C. ocreatus + N. linearis + M. capillaris +</i> <i>Protostrongylus</i> spp.	10

CUADRO XV

Parásitos	N. ^o pulmones
<i>Cystocaulus ocreatus</i>	25
<i>Muellerius capillaris</i>	14
<i>Neostongylus linearis</i>	9
<i>Protostrongylus</i> spp.	4

CUADRO XV (continuación)

Parásitos	N. ^o pulmones
<i>C. ocreatus + M. capillaris</i>	10
<i>M. capillaris + Protostrongylus</i> spp.	5
<i>M. capillaris + N. linearis</i>	5
<i>C. ocreatus + N. linearis</i>	5
<i>C. ocreatus + Protostrongylus</i> spp.	2
<i>N. linearis + Protostrongylus</i> spp.	1
<i>M. capillaris + N. linearis + C. ocreatus</i>	2
<i>M. capillaris + C. ocreatus + Protostrongylus</i> spp.	2

CUADRO XVI

Parásitos presentes en los pulmones con aislamiento positivo en las zonas verminosas exclusivamente (61 pulmones positivos en la zona verminosa)

<i>Cystocaulus ocreatus</i>	13
<i>Muellerius capillaris</i>	13
<i>Protostrongylus</i> spp.	5
<i>Neostongylus linearis</i>	3
<i>C. ocreatus + M. capillaris</i>	6
<i>M. capillaris + Protostrongylus</i> spp.	6
<i>M. capillaris + N. linearis</i>	5
<i>C. ocreatus + N. linearis</i>	3
<i>C. ocreatus + Protostrongylus</i> spp.	3
<i>N. linearis + Protostrongylus</i> spp.	1
<i>M. capillaris + N. linearis + C. ocreatus</i>	2
<i>M. capillaris + N. linearis + Protostrongylus</i> spp.	1

CUADRO XVII

Especies bacterianas aisladas en zonas sanas y/o neumonicas (neumonia verminosa) en ovejas

	N. ^o cepas		
	z. sana	z. verm.	total
<i>Pseudomonas maltophilia</i>	2	1	3
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	2	2	4
<i>Alcaligenes faecalis</i>	3	5	8
<i>Escherichia coli</i>	59	42	101
<i>Citrobacter freundii</i>	1	2	3
<i>S. abortus-ovis</i>	0	7	7
<i>Enterobacter cloacae</i>	2	0	2
<i>Proteus inconstans</i> , B	0	1	1
Enterob. no clasif.	33	23	56

CUADRO XVII (continuación)

	N.º cepas		
	z. sana	z. verm.	total
<i>Pasteurella multocida</i>	1	4	5
<i>Pasteurella haemolytica</i>	3	6	9
<i>Actinob. lignieresi</i>	2	1	3
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	3	1	4
<i>Actinob. no clasif.</i>	1	1	2
<i>Neisseria caviae</i>	2	1	3
<i>Branhamella catarrhalis</i>	5	2	7
Próximos a <i>Neisseria</i>	14	4	18
<i>Acinetob. calcoaceticus</i>	64	51	115
<i>Micrococcus Cohn</i>	31	22	53
<i>Staph. aureus</i>	24	9	33
<i>Staph. epidermidis</i>	43	29	72
<i>Streptococcus</i> spp. (*)	62	39	101
<i>Bacillus</i> spp. (**)	29	13	42
<i>Cory. pyogenes</i>	7	6	13
<i>Corynebacterium</i> spp. (***)	24	14	48
<i>Nocardia</i> spp.	9	2	11
Sin tipificar	14	15	29

(*) Alfa, beta y especies no hemolíticas.

(**) *B. pumilus*, *B. sphaericus*, *B. megaterium*, *B. licheniformis*, *B. brevis*, *B. subtilis* y *B. cereus*.

(***) *C. bovis*, *C. pseudotuberculosis*, *C. equi*, *C. renale* y Difteroides.

CUADRO XVIII

Comparación de los porcentajes de infestación por protostrongylinae hallados por ALLER y ALLER (op. cit.) y por ROJO VÁZQUEZ, F. A. (op. cit.) en ovinos de León.

	Rojo Vázquez	Aller y Aller	Datos personales
Infestaciones puras:			
<i>Cystocaulus ocreatus</i>	16,10	18,40	22,48
<i>Muellerius capillaris</i>	24,71	21,60	18,99
<i>Neostrongylus linearis</i>	5,10	4,00	8,33
<i>Protostrongylus</i> spp.	5,70	14,40	6,00
	(52,3 %)	(58,4 %)	(55,8 %)
Infestaciones dobles:			
<i>M. capillaris + C. ocreatus</i>	16,10	7,20	11,24
<i>M. capillaris + Protostrongylus</i> spp.	8,00	12,00	7,36
<i>M. capillaris + N. linearis</i>	5,10	—	6,78
<i>C. ocreatus + N. linearis</i>	6,50	7,20	5,42
<i>C. ocreatus + Protostrongylus</i> spp.	0,70	3,20	3,48
<i>N. linearis + Protostrongylus</i> spp.	2,10	—	2,13
	(39,2 %)	(29,6 %)	(36,42 %)
Infestaciones triples:			
<i>M. capillaris + C. ocreatus + N. linearis</i>	1,40	4,00	3,00
<i>M. capillaris + C. ocreatus +</i> + <i>Protostrongylus</i> spp.	4,30	4,00	2,32
<i>M. capillaris + N. linearis</i> + <i>Protostrongylus</i> spp.	0,7	2,40	0,77
<i>C. ocreatus + N. linearis</i> + <i>Protostrongylus</i> spp.	0,7 (7,10)	— (10,4 %)	0,38 (6,47 %)

CUADRO XVIII (Cont.)

Rojo Vázquez	Aller y Aller	Datos p.
Infestaciones cuádruples:		
<i>M. capillaris + N. linearis</i>	1,4	1,60
<i>C. ocreatus + Protostrongylus</i> spp.		1,16

Resumen acumulativo

<i>M. capillaris</i>	62,4 %	52,80 %	51,74 %
<i>C. ocreatus</i>	47,2 %	45,60 %	49,61 %
<i>N. linearis</i>	23,0 %	19,40 %	28,10 %
<i>Protostrongylus</i> spp.	23,6 %	37,60 %	23,64 %