

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**PARTICIPACIÓN DE *Histophilus somni* COMO AGENTE ETIOLÓGICO DE VACAS
SUCIAS EN TRES ESTABLOS LECHEROS DE LA COMARCA LAGUNERA**

TESIS

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER
EL TÍTULO DE**

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA

GREGORIO TIBURCIO PANTALEÓN

ASESOR

M.C.V. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ

TORREÓN, COAH., MÉXICO

OCTUBRE DE 2008.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA

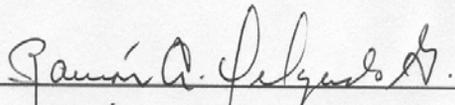
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

PARTICIPACIÓN DE *Histophilus somni* COMO AGENTE ETIOLÓGICO DE VACAS
SUCIAS EN TRES ESTABLOS LECHEROS DE LA COMARCA LAGUNERA

TESIS

APROBADA POR EL COMITÉ DE TESIS

PRESIDENTE DEL JURADO


M.C.V. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

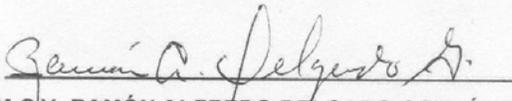

M.C. JOSÉ LUIS FRANCISCO SANDOVAL ELIAS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA

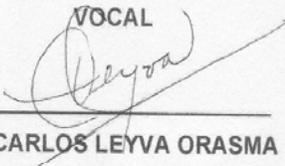
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

PARTICIPACIÓN DE *Histophilus somni* COMO AGENTE ETIOLÓGICO DE
VACAS SUCIAS EN TRES ESTABLOS LECHEROS DE LA COMARCA
LAGUNERA

PRESIDENTE


M.C.V. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ

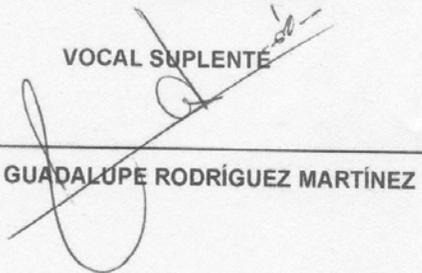
VOCAL


DR: CARLOS LEYVA ORASMA

VOCAL


M.C. JUAN LUIS MORALES CRUZ

VOCAL SUPLENTE


MVZ: J. GUADALUPE RODRÍGUEZ MARTÍNEZ

Agradecimiento

A MI DIOS.

Por una vida, y de buena salud, por la fuerzas y de ser optimista y de saber salir siempre adelante con la mentalidad que me dio, gracias dios.

A mis padres

Por haberme apoyado económicamente cuando lo necesitaba, por darme el ánimo y de brindarme sus buenos consejos y del más lindo es que los admiró mucho, ustedes si son padres que siempre han sabido responder por sus hijos. MUCHAS GRACIAS QUE DIOS LO BENDIGA.

A mi alma mater.

Por haberme dado la oportunidad de realizar mi carrera formándome como profesionalista, Médico que es lo que siempre soñaba ser.

A mis asesores:

Dr. Carlos Leyva Orasma, M.C. Juan Luis Morales Cruz, M.V.Z. José Guadalupe Rodríguez Martínez y en especial al, M.C.V. Ramón Alfredo Delgado González, por su apoyo y orientación. Y al Dr. Francisco Aguilar Romero por su apoyo en el laboratorio en el INIFAP.

Al director de la UAAAN, por haberme apoyado económicamente, para llevar a cabo este trabajo.

Dedicatoria

A MI DIOS

A MIS PADRES.

Santa cruz Tiburcio Pastor, Margarita Pantaleón Bautista.

A MIS HERMANOS.

De la familia Tiburcio Pantaleón

Eugenia, Francisca, Filiberto, Lucina, Basilisa, Saturnino, Rodolfo, Jazmín.

Gracias por confiar en mi sabían que no le fallara.

INDICE

	Página
Agradecimientos	i
Dedicatoria	ii
Resumen	iv
I.-Introducción	1
II.-Justificación	2
III.-Hipótesis	2
IV.-Objetivos	2
4.1 General	2
4.2 Especiales	2
V.-Revisión de Literatura	3
5.1 Taxonomía	3
5.2 Epidemiología	5
5.3 Patogenia	6
5.4 Mecanismo de defensa	8
5.5 Factor de virulencia	9
5.6 Signos y lesiones	11
5.7 Concepto de vacas sucias	12
5.7.1 Agentes frecuentemente aislado en caso de endometritis	12
5.8 Métodos de diagnóstico	13
5.8.1 Medio de requerimiento para el aislamiento e identificación	13
5.9 Control y tratamiento	14
5.10 Sensibilidad a Antimicrobiano	16
VI.-Materiales y Métodos	17
6.1 Descripción del área de estudio	17
6.2 Descripción de los animales	17
6.3 Toma de muestras	17
6.4 Estudio bacteriológico	17
6.5 Identificación de la cepa	18
VIII.-Resultado y discusión	18
VIII.-Conclusión	22
IX.-Literatura citada	23

Resumen

Se tomaron muestras con hisopos, de exudado vaginal, de 30 vacas con secreciones mucopurulentas, del 1 a 25 de Junio del 2008, las muestras obtenidas fueron trasladadas al centro de Investigaciones Forestal Agrícola y Pecuaria (INIFAP) de la ciudad de México y fueron cultivados en Agar Columbia para determinar la presencia de *Histophilus somni* como un posible agente causal involucrado en problemas de vacas sucias en tres establos lecheros de la Comarca Lagunera. Se efectuó el diagnóstico morfológico al microscopio, los resultados obtenidos indicaron que el 100% de las muestras carecieron de la presencia de la cepa de *Histophilus somni*, al comparar con la cepas de referencias. Por lo que *Histophilus somni* no participa en infecciones del tracto genital de las vacas lecheras en los establos analizados.

Palabras clave: Bovinos vacas lecheras, *Histophilus somni*.

Departamento de ciencia animal., UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

I. Introducción

Las patologías del aparato reproductor son de significancia económica en las enfermedades de vacas lecheras, uno de los agentes involucrados es *Histophilus somni* el cual se le considera como habitante natural de las mucosas del ganado bovino clínicamente sano (García- Delgado *et al.*, 1977; Humprey *et al.*, 1983). El incremento de la frecuencia de infección por este agente en situaciones de hacinamiento, embarque o el estrés es común (Kitching y Bishop, 1994). Puede causar lesiones inflamatorias en la mucosa genital de las vacas y los toros, o solamente colonizan la mucosa genital sin causar infecciones (Radostits *et al.*, 2001). El útero bovino es expuesto en riesgo de infección por diversos agentes durante el apareamiento y el parto (Schurig *et al.*, 1978; Schurig *et al.*, 1975). Este microorganismo se asocia a problemas de neumonía que reviste la salud del ganado en la industrial en América, con pérdida anual en excesos de \$ 500 millones. En los Estados Unidos se logro aislar *H. somni* en pulmones de los animales que padecían problemas respiratorio y estos permitió a concluir el papel de *H. somni* como agente etiológico de este problemas en animales que con frecuencia se pasaba desapercibido y para prevenir este obstáculos demostraron que el uso de bacterina con inmunoglobulina G1 (IgG1) y IgG2 contra la proteína de la membrana externa (OMP) de 40-kDa, pasivamente protege a los becerros contra neumonía producido por este agente (Gogolewski *et al.*, 1988). Existe vacuna comercial (pfizer) para la inmunización de los animales contra este agente, pero no protege por completo aunque sí reduce el índice de manifestaciones clínica (Ward *et al.*, 2005).

En la Comarca Lagunera, las enfermedades reproductivas del ganado son una de las principales causas de desecho de los animales sin embargo, no hay reportes de *Histophilus somni*, como causante de problemas reproductivos en vacas lecheras, pero esto no significa que no existe el problema en la región. Hay una amplia variedad de estudios que pueden realizarse para lograr el grado de prevalencia o incidencia de *Histophilus somni* en esta zona, con respecto a la presente investigación se pretende diagnosticar el aislamiento de *histophilus somni* mediante hisopos de exudados vaginal en vacas sucias de establos lecheros.

II. Justificación

Por los antecedentes antes descritos, y debido a la falta de estudios similares que indiquen la existencia de *Histophilus somni* en la Comarca Lagunera, este primer trabajo pretende simentar una investigación que permita esclarecer la participación de los diversos agentes involucrados en los problemas reproductivos de vacas sucias de la Comarca Lagunera.

III. Hipótesis

La presencia de *Histophilus somni* en secreciones vaginales de vacas sucias es elevada en vacas de la Comarca Lagunera.

IV. Objetivos

4.1 General:

Valorar la participación de *H. somni* en secreciones anormales del aparato genital de las vacas lecheras en establos de la Comarca Lagunera.

4.2 Especiales:

Determinar la presencia de *Histophilus somni* en las secreciones de vacas sucias usando el diagnóstico bacteriológico

Determinar la cantidad de vacas sucias con presencia de *Histophilus somni* en secreciones vaginales

V. Revisión de Literatura

5.1 Taxonomía

El *Histophilus somni* (*H. somni*) anteriormente conocido como *Haemophilus somnus* ha sido descrito como un bacilo gram-negativo, oxidasa positivo, pleomórfico, que requiere de una atmósfera parcial de 10% de CO₂ y no necesita factores de crecimiento normalmente es indol positivo y produce pigmento amarillento (García- Delgado *et al.*, 1977; Humprey *et al.*, 1983). Pertenece al miembro de la familia *Pasteurellaceae*, puede ser un comensal de la superficie mucosa del tracto respiratorio o un patógeno oportunista de bovinos (Andrews *et al.*, 1985; Gogolewski *et al.*, 1987; Jackson, 1987; Groom *et al.*, 1988,) que no es capaz de prolongar su supervivencia fuera del organismo del huésped (Dewey *et al.*, 1984). Este microorganismos fue reportado por primera vez en 1956 en Australia, identificado como *Histophilus ovis* (Roberts, 1956). Dos años después se reportó que un organismo similar, fue aislado de borregas con septicemia en Estados Unidos identificado como *Haemophilus agni* (Kennedy *et al.*, 1958). En 1960, un organismo con características similares fue aislado de casos de meningoencefalitis tromboembólica en bovinos (TEME) (Kennedy *et al.*, 1960). A este organismo después se le dio el nombre de *Haemophilus somnus* (Baillie *et al.*, 1969).

El criterio para reclasificarlo está basado en varios aspectos tales como el no requerir de los factores X ni V para su crecimiento, existe similitud con otras especies como *Histophilus ovis* y *Haemophilus agni*, por lo que con estudios filogenéticos, de hibridización DNA-DNA, de secuenciación del gen *rpoB* y el desarrollo de una prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) especie-específica, se demostró que *Haemophilus somnus*, *Haemophilus agni* e *Histophilus ovis* representan la misma especie; por lo que se propuso reclasificar a este microorganismo y nombrarlo *Histophilus somni* (Angen *et al.*, 1998; Angen *et al.*, 2003).

Es una bacteria patógena que coloniza en el sistema de la mucosa nasal y está considerada como integrante de la flora genital normal del ganado, la cual generalmente se muestra asintomática. Es un patógeno que puede desencadenar diferentes tipos de

manifestaciones (Humphrey *et al.*, 1982; Harris y Janzen, 1989; Eagleasome *et al.*, 1992; Angen *et al.*, 2003), que involucran una gran variedad de sistemas, por esta razón se le denomina síndrome de *Hemophilosis* bovina (Correa *et al.*, 1975; Miller *et al.*, 1983).

Esta bacteria está asociada con un complejo de enfermedades de los bovinos como la meningoencefalitis tromboembólica (Stephens *et al.*, 1981), bronconeumonía (Andrews *et al.*, 1985), infertilidad (Kwiecien *et al.*, 1992), endometritis (Miller *et al.*, 1983; Stephens *et al.*, 1986), aborto (Chladek., 1975; Widders *et al.*, 1981; Van Dreumel *et al.*, 1986), nacimiento de becerros débiles (Waldhalm *et al.*, 1974), reabsorciones embrionarias (Kaneene *et al.*, 1986), cervicitis y vaginitis (Miller *et al.*, 1983), orquiepididimitis en caso de ovinos (Metz *et al.*, 1984). También esta asociada a casos de miocarditis (Schuh *et al.*, 1991; Mosan y Fitzgerald, 1995), otitis (Harris y Janzen, 1989), conjuntivitis (Lamont y Hunt., 1982), mastitis (Hazlett *et al.*, 1983) y poliartritis (Harris *et al.*, 1989). En ovinos se ha encontrado en casos de epididimitis, mastitis, septicemias, aborto, sinovitis y meningoencefalitis (Webb, 1983; Philbey *et al.*, 1991; Kearney y Orr, 1993; McDowell *et al.*, 1994; Cassidy *et al.*, 1997).

A esta bacteria también se le identifica con el síndrome del becerro débil, vulvovaginitis granular aguda, cervicitis y fiebre de embarque (Waldhalm y Meinershagen, 1974; Van Dreumel *et al.*, 1975; Humphrey *et al.*, 1982; Patterson *et al.*, 1984).

El papel de este microorganismo como un patógeno del aparato reproductor resulta controversial, debido a que en diversos estudios de campo y experimentales se ha observado que causa inflamación en el aparato genital de las vacas, aunque también puede colonizar la mucosa genital sin causar daño (Humphrey *et al.*, 1982; Harris y Janzen, 1989).

En la actualidad el tracto reproductivo debería ser considerado el reservorio más común de *Histophilus somni*, ya que puede eliminar el organismo en la orina o en descargas que contaminan el ambiente; los machos podrían ser infectados por inhalación de partículas en aerosol que contiene la bacteria. La presencia de *Histophilus somni* como

habitante normal de la vagina de los bovinos no ha recibido la atención debida, porque normalmente se le considera como un germen saprofita, y porque raramente se le ha aislado del útero u otras estructuras del tracto genital. Sin embargo, en investigaciones recientes se ha demostrado que esta bacteria afecta útero, placenta, feto y ovarios; su presencia en el prepucio y semen de los toros es importante (Miller *et al.*, 1983; Humphrey *et al.*, 1983; Harris y Janzen, 1989).

5.2 Epidemiología

El *Histophilus somni* es un patógeno de rumiantes que es de importancia económica para el ganado de la industria lechera y de carne (Kennedy *et al.*, 1960; Corstvet *et al.*, 1973; Crandell *et al.*, 1977; Stephens *et al.*, 1981; Radostitis *et al.*, 2001). La enfermedad respiratoria (Andrews *et al.*, 1985), falla reproductiva (Chladek, 1975) y meningoencefalitis tromboembólica, son las enfermedades predominante asociada con infección de *H. somni* (Brown *et al.*, 1970).

Geográficamente, la infección por *H. somni* en ganado ha sido reportada en Norte América, América Sur (Brown *et al.*, 1970), Europa, Australia (Von Corbos y Nicolt, 1975; Molenda y Krozyczak, 1980), Rusia, Japón, Nueva Zelanda, Sur África (Kitching y Bishop, 1994). La prevalencia de la infección en bovinos es mucho mayor que la presentación de manifestaciones clínicas. Más del 50% de los machos sanos y el 8 a 10% de las hembras sanas alojan el agente en el aparato reproductor. En los individuos que han padecido y sobrevivido la enfermedad el índice de seropositividad varía entre el 50 y 100%. Se cree que el índice de seropositivos es mayor en ganado cárnico que en ganado lechero, y suele ser mayor en hatos de más de 100 vacas que en los hatos más pequeños (Radostits *et al.*, 2001).

El *Histophilus somni* puede causar enfermedad inflamatoria en el tracto reproductivo de la vaca (Klavano, 1980) o persiste en el tracto genital por un tiempo considerable como comensal (Corbeil, 1986; Stephens *et al.*, 1986).

En México, las primeras evidencias de la presencia de esta bacteria se registran en un estudio serológico en bovinos con problemas reproductivos y respiratorios, encontrándose un 25% de positivos a la prueba de fijación de complemento (Correa *et al.*, 1975), posteriormente se publicó el aislamiento de *Histophilus somni* a partir de pulmones de becerros con lesiones neumónicas (Aguilar *et al.*, 1986). El primer informe en México de la presencia de *H. somni* en casos clínicos de enfermedades del tracto reproductor de vacas lecheras fue hecho por Aguilar Romero y colaboradores en 2005 (Aguilar *et al.*, 2005).

5.3 Patogenia

Aunque el medio de transmisión para *Histophilus somni* es todavía desconocido, se presume que la vía de infección generalmente es respiratoria a través de aerosoles, o ingestión de fluidos corporales (Humphrey y Stephens, 1983), los problemas reproductivos pueden ser transmitidos a través de la orina, semen, moco prepucial y secreciones cervico-vaginales contaminadas (Humphrey *et al.*, 1982; Harris y Janzen, 1989). Los mecanismos a través de los cuales *Histophilus somni* se difunde no están del todo aclarados, aunque se sospecha que muy probablemente la vía más común sea a través de aerosoles de animal a animal, debido a la alta frecuencia de infecciones respiratorias.

La tasa de infección en bovinos sanos es alta, lo que evidencia dos posibilidades:

- 1) la existencia de cepas no patogénicas de *Histophilus somni*, incapaces de producir enfermedad; ó
- 2) la existencia de factores predisponentes para que cepas potencialmente patogénicas que colonizan los distintos órganos en forma inaparente puedan producir enfermedad, ya sea en su forma nerviosa, respiratoria o reproductiva (Piscitelli *et al.*, 2000).

El *Histophilus somni* es considerado un habitante natural en las mucosas de la cavidad nasal, vaginal o prepucial en ganado clínicamente sano (Humphrey *et al.*, 1982; Humphrey y Stephens, 1983; Little, 1986). Aunque en el tracto genital se encuentra en muy baja frecuencia (10-27%), sin embargo, la prevalencia puede variar dependiendo del área geográfica estudiada (Miller *et al.*, 1983; Corbeil *et al.*, 1986; Stephens *et al.*, 1986; Radostits *et al.*, 2001). Este puede contaminar semen y puede ser transmitido de forma limitada por medio del semen si no existe un control adecuado, este puede ser un mecanismo de extensión (Janzen., 1981., Humphrey *et al.*, 1982). Debido a que esta bacteria se encuentra en el tracto urinario y prepucio de toros, se supone que el organismo es transmitido a las vacas durante el apareamiento. El organismo muda en el útero-vagina y por la descarga uterina, puede infectar a otros animales susceptibles, expuestos a la contaminación (Richey, 2002).

Experimentalmente este puede ser expuesto a quedarse viable a 23.5°C en moco nasal por arriba de 5 días (Dewey y Little, 1984). A esta misma temperatura la bacteria puede sobrevivir más de 70 días si se mezcla con sangre y moco nasal (Harris y Janzen, 1989), y si se encuentra en líquido cefalorraquídeo, sangre, plasma, moco vaginal y leche, o se congela a -70°C sobrevive más de 70 días (Radostits, 2001). Sin embargo, no sobrevive en el medio ambiente por más de 2 hrs, en orina, aunque la vía de transmisión de aerosol o aspirado puede ser importante (Dewey y Little, 1984).

El *Histophilus somni*, es aislado frecuentemente de ganado con neumonía, septicemia y meningoencefalitis tromboembólica (Beeman, 1985; Harris y Janzen., 1989), puede ser aislado del tracto urogenital en un 90% en machos y un 28% en hembras que no presentan alteraciones patológicas, comportándose como un organismo comensal, así como del prepucio de toros, vejiga, y de glándulas sexuales accesorias y ámpula (Humphrey *et al.*, 1982; Miller *et al.*, 1983; Corbeil, 1985; Corbeil *et al.*, 1986; Kwiecien *et al.*, 1992; Campero *et al.*, 1993; Cardoso *et al.*, 2004; Scarcelli *et al.*, 2004) y de fetos bovinos abortado (Van Dreumel y Kierstead, 1975). Así como también de la mucosa nasal y oral de ganado normal (Corstvet *et al.*, 1973; Crandell *et al.*, 1977). Esta prevalencia y

este número son incrementados en animales que son estresados o que tiene una infección subyacente (Crandell *et al.*, 1977).

Se considera el incremento de la frecuencia de infección por *H. somnus* en situaciones de hacinamiento, tales como la transportación o las operaciones en engorda. La infección debido a *Histophilus somni* también ocurren en vacas lecheras y ganado de pastoreo, pero la enfermedad es usualmente asociada con el embarque (Kitching y Bishop, 1994). Otros factores que pueden permitir que *Histophilus somni* infecte al ganado es el estrés y una infección previa, como con Rinotraqueítis Infecciosa Bovina (IBRV) (Humphrey y Stephens, 1983).

5.4 Mecanismo de defensa

La habilidad de sobrevivir y multiplicarse dentro de las células del sistema fagocítico mononuclear es una estrategia que ha sido utilizada por un número importante de patógenos de humanos y animales domésticos incluyendo especies de *Mycobacteria* (Lurie *et al.*, 1942), *Brucella*, (Spith y Fidgeorge, 1964), *Salmonella*, (Fumess, 1958) *Yersinia* y *Listeria* (Cavanaugh y Randall, 1959).

El útero bovino está expuesto a grandes riesgos de infección durante el estro y el parto. La manera específica por la que el hospedero controla la infección por *Histophilus somni* no es clara. Aunque los anticuerpos específicos del tracto reproductivo son parcialmente protectores en casos experimentales en bovinos, el organismo puede persistir a pesar de la presencia de anticuerpos circulantes (Schurig *et al.*, 1975; Schurig *et al.*, 1978; Hoblet *et al.*, 1985; Gogolewski *et al.*, 1987).

Estudios *in Vitro* han establecido que los neutrófilos bovinos ingieren pero no matan a *Histophilus somni*, y que este puede replicarse dentro de los monocitos. Estudios adicionales demuestran que los macrófagos alveolares bovinos y monocitos en sangre ingieren pero no opsonizan a *H. somni*. Estas conclusiones sugieren que la bacteria

puede persistir y proliferar dentro de estas células y contribuir a la patogénesis de hemophilosis (Lederer *et al.*, 1986).

El tiempo de inmunoglobulina M (IgM) y la IgA son detectado en secreciones uterina de bovino, sus papel en defensa uterina es aparentemente limitado (Corbeil *et al.*, 1981). La IgG1 e IgG2 están presentes en secreciones uterinas, sin embargo, la IgG1 es más predominante. Las dos subclases de la IgG contribuyen para la defensa uterina como opsonina para fagocito- dependiente para eliminar la infección (Corbeil *et al.*, 1974). Los Polimorfo nucleares (PMNs) son los predominantes tipos de células en secreciones uterinas después de estimulación de antígeno (Roberts., 1986), alcanzando el pico de concentración 6 horas después de inoculación uterina en estro (Butt *et al.*, 1991). La predominancia de PMNs sugiere un importante papel para IgG2 en defensa uterina bovina (Schurig *et al.*, 1975).

5.5 Factor de virulencia

El mecanismo de virulencia de *H. somni* no puede ser bien definidos, debido a que no produce capsula ni la liberación de potentes toxinas extracelulares (Stephens *et al.*, 1981). El factor potencial de virulencia conocida para estas bacterias incluyen la presencia de inmunoglobulina-obligatorio, proteínas en la superficie celular, con capacidad a sobrevivir o resistir a la fagocitosis (Corbeil *et al.*, 1986; Yamall *et al.*, 1998). La cápsula, pili, y la potencia de su exotoxina no es bien identificado en *Histophilus somni*, sin embargo, una débil hemólisis ocurre después de 48 hrs de incubación en agar sangre (Corbeil *et al.*, 1986; Corbeil *et al.*, 1990). Se han identificado receptores FC en la superficie de la bacteria que la protege de la actividad antibacteriana, además posee varios factores de virulencia que le permiten causar la enfermedad:

Cápsula: constituida por mucopolisacáridos que resisten el reconocimiento y destrucción por parte de los neutrófilos y macrófagos alveolares del tracto respiratorio y otras mucosas.

Proteínas de la membrana externa: tiene entre 10 y 15 moléculas de adhesión diferentes las cuales se sospecha están involucradas a la adherencia de la bacteria a las células endoteliales. Ya que se encuentran adheridas las bacterias formarán núcleos de crecimiento que causarán la necrosis del endotelio y la subsecuente exposición del colágeno, el cual al entrar en contacto con el plasma activa la acción de las plaquetas y de la cascada intrínseca de coagulación, esto conllevará a la formación de trombos pulmonares.

Endotoxinas: es un lipopolisacárido de la pared de la bacteria, un nanogramo de esta sustancia es suficiente para desencadenar la cascada de coagulación extrínseca, además puede causar una endotoxemia que provoque choque, exacerbación de la inflamación y coagulopatía (Quimn *et al.*, 2000). El lipopolisacárido, contribuye mucho a la formación de vasculitis y otras lesiones asociada con infección de *H. somni* (Corbeil *et al.*, 1986; Gogolewski *et al.*, 1987; Inzana, 1988).

Cuando más cepas de *H. somni* entran a la corriente sanguínea, estas son capaces de evadir la muerte mediada por el complemento, mientras muchas cepas comensales no pueden (Corbeil *et al.*, 1995). La fijación de inmunoglobulina por receptores FC ha sido demostrada en *H. somni* (Wideders *et al.*, 1988; Yarnall *et al.*, 1988; Widders *et al.*, 1989; Corbeil *et al.*, 1997; Weiser *et al.*, 1998). *Histophilus somni* puede adherirse a una variedad de tipos de células, incluyendo células endoteliales bovinas, células bovinas y células epiteliales de la vagina (Thompso y Little, 1981; Corbeil *et al.*, 1995). La auto aglutinación fue observada en la mayoría de las cepas adheridas de *Histophilus somni* y esto puede ser ligado al mecanismo molecular de adhesión a las células del huésped. Los aislamientos prepuciales, que normalmente habitan el tracto genitourinario, frecuentemente autoaglutinan en cultivos de caldo. Después de que *Histophilus somni* se escapa de las defensas innatas del hospedero, probablemente utilice otros factores de virulencia para evitar la inmunidad específica.

La citotoxicidad o interferencia con la función de las células del hospedero es otro factor de virulencia de *H. somni* propuesto para evitar la muerte por las células fagocíticas (Corbeil *et al.*, 1995). Existen estudios que han mostrado que la función de los

macrófagos y neutrófilos bovinos puede ser afectada por *H. Somni* y puede apoyar la replicación de *H. somni* fagocitado (Hubbard *et al.*, 1986; Lederer *et al.*, 1987 Gomis *et al.*, 1997). El mecanismo también puede permitir que *H. somni* evite la inmunidad humoral, mientras la bacteria fagocitada permanece intracelular. Recientes investigaciones han revelado que los lipooligosacáridos (LOS) de *H. somni* además de presentar actividad en placa por medio de LOS de *H. somni* pueden inducir apoptosis en células endoteliales *in Vitro* (Sylte *et al.*, 2001; Sylte *et al.*, 2003 Kuckleburg *et al.*, 2005).

5.6 Signos y lesiones

La bacteria puede causar lesiones inflamatorias en el tracto genital de las vacas, o solamente colonizar la mucosa genital sana sin causar daños. Se ha asociado vaginitis, cervicitis y endometritis con una infección por *Histophilus somni* (Radostits *et al.*, 2001). Algunos consideran que la infección genital puede resultar, infertilidad, intervalos abiertos prolongando, y repiten celo, pero esto requiere más investigación para confirmar esta teoría. Muchas hembras portadoras de *H. somni* contienen el organismo en la vagina y pueden o no tener vaginitis y cervicitis. Cuando es presente vaginitis y/o cervicitis, puede haber descargas purulentas vaginales asociadas con infertilidad y repetición de celo (Harris y Janzen, 1989). La habilidad del *Histophilus somni* para sobrevivir sistemáticamente y causar lesiones en el sistema nervioso central (Humphrey *et al.*, 1982) y juntos sugiere que hematógenos diseminado puede ser la responsable causa esporádica de aborto por *Histophilus somni* en el campo (Ward *et al.*, 1983; Slee y Stephens, 1985).

A pesar de la presencia de neutrófilos, *Histophilus somni* continua dentro de la lesión, sugestionando que los neutrófilos son ineficaz en participar en la infección inicial. Estudios *in vitro* observaron que los neutrófilos bovino ingieren a *H. somni*, pero no las mata (Czuprynski *et al.*, 1985), se sugiere que la habilidad de resistir a la destrucción por los neutrófilos, le permite que la enfermedad se establezca y progrese. Esta puede demostrar que el organismo puede inhibir fagocitosis e ionización de partícula estimulada por neutrófilos bovinos (Hubbard *et al.*, 1986).

Las lesiones patológicas que ocurren a la infección por *Histophilus somni*, son caracterizados por vasculitis con trombo difuso que contiene fibrina, células inflamadas (especialmente neutrófilos), y grande números de bacterias (Kennedy *et al.*, 1960; Stephens *et al.*, 1981). En la hembra, el *Histophilus somni* puede causar vaginitis, endometritis (Patterson *et al.*, 1984; Stephens *et al.*, 1986), infertilidad, y abortos. El aborto puede ser confirmado y producido a cualquier etapa de gestación (Chladek., 1975; Van Drumel y Kierstead, 1975; Von Luginbuhl y Kupfer, 1980; Widders *et al.*, 1985; Corbeil *et al* 1986).

Los trastornos reproductivos en las hembras presentan descarga vulvares, metritis, vulvovaginitis granular, hiperemia de mucosa vulvar, infertilidad por muerte embrionaria precoz, nacimiento de becerros débiles, aborto por muerte fetal y placentitis alrededor de 6 a 9 meses de gestación, pudiendo ocurrir retención de placenta; en el macho puede presentarse balanopostitis y semen mucopurulentas, orquiepididimitis (Campero *et al.*, 1993; Scarcelli *et al.*, 2000). Los becerros infectados pueden nacer débiles y morir en corto tiempo después de nacimiento (Waldham *et al.*, 1974; Cain, 1985).

5.7 Concepto de vacas sucias

Se le denomina “vaca sucia” en el vocabulario coloquial de campo, a aquellas vacas en las que se observan secreciones anormales que salen por la vulva, cuyo origen más común, son los diferentes grados de inflamaciones del útero, fundamentalmente del endometrio materno, cuyas secreciones pueden ser catarrales, mucopurulentas o francamente purulentas.

5.7.1 Agentes frecuentemente aislado en caso de endometritis

Entre los cuales se encuentran: *Arinobacterium pyogenes* (Carson *et al.*, 1988; Repiso y Rubino, 2001), *Streptococcus sp.*, *E. coli var. Hemolítica*, *Pseudomonas*

aeruginosa, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus viridans*, *Streptococcus agalatae*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalatae* (González et al., 1978). La *Campylobacteriosis* Genital Bovina (Repiso y Rubino, 2001). Y más recientemente *Histophilus somni* (Harris y Janzen, 1989).

5.8 Métodos de Diagnóstico

Histophilus somni no sobrevive por un período prolongado en medios de transporte usados comúnmente, así los hisopos para cultivo de bacteria deben ser frescos, húmedos y rápidamente transportados al laboratorio bajo refrigeración (Harris y Janzen, 1989).

5.8.1 Medio de requerimiento para el aislamiento e identificación

El requerimiento de crecimiento incluye medio enriquecido, tal como infusión agar cerebro corazón suplementado con 5-10% de sangre de bovino o borrego bajo 5-20% dióxido de carbón a 37°C (Merino y Biberstein, 1982; Humphrey y Stephens., 1983; Kilian y Biberstein, 1984; Kitching y Bishop, 1994). *H. somni* no requiere factores X (hemina) o V (dinucleótido de adenina nicotinamida) para el crecimiento, pero requiere sangre, que, junto con su composición de ADN, conduce a su inclusión en el género *Haemophilus* (Bailie, 1969; Corbeil, 1995). La colonia de crecimiento de *Histophilus somni* sobre agar sangre llega un tamaño de 1-2 mm en 2-3 días y son húmedo, redondo y convexo con una consistencia butirosa y un pequeño color amarillo gris, mejor observado cuando la colonia son levantado sobre un lazo bacterial. Ahí no o es débil alrededor de colonias activamente hemolítica. Estas bacterias no pueden ser presentadas a ser encapsulado (Stephens et al., 1981; Whyte et al., 1993; Poyart et al., 2001). No presenta alcohol ácido, no es motil ni presenta filis o flagelo, y no produce esporas (Stephens et al., 1981). El diagnóstico es también un problema en la infección de *Histophilus somni*. Se usa el diagnóstico por cultivo, pero el organismo es fastidioso y es a menudo encubierto por la flora normal. Además, el aislamiento de *Histophilus somni* después del tratamiento del hospedero con antibiótico a menudo no es posible, y la presencia de *Histophilus somni*

en estado portador en la mucosa complica el diagnóstico bacteriológico. El diagnóstico serológico de la enfermedad de *Histophilus somni* se hace por una prueba de microaglutinación en algunos laboratorios. Aunque esta prueba es muy sensible, mucho ganado sin la enfermedad de *Histophilus somni* dan títulos positivos (Corbeil *et al.*, 1986). El diagnóstico de la enfermedad de *Histophilus somni* es hecho comúnmente por aislamiento del organismo (Krogh *et al.*, 1983) o por serología (Keister 1981). El diagnóstico por cultivo bacteriológico puede ser negativo porque con frecuencia no es posible el aislamiento de *Histophilus somni* de ganado tratado con antibióticos (Humphrey *et al.*, 1982). Además, la presencia de *Histophilus somni* no es necesariamente indicativo de enfermedad, porque los portadores son asintomático (Humphrey *et al.*, 1982; Ward *et al.*, 1983).

5.9 Control y Tratamiento

El control de la infección por *Histophilus somni* es posible, si se diagnostica en las etapas tempranas de la enfermedad, con el uso de antibióticos apropiados (oxitetraciclina, penicilina, eritromicina o sulfonamidas) (Harris y Janzen, 1989).

Se considera que las enfermedades en el tracto respiratorio y reproductivo responden al tratamiento. La respuesta de la septicemia al tratamiento es altamente variable dependiendo de la duración de la enfermedad y el sitio de localización. En el caso de meningoencefalitis trombótica (TME), el tratamiento antimicrobiano puede ser efectivo si se comenzó antes de que ocurra algún signo con participación del cerebro (Kennedy *et al.*, 1960; Weide y Hibbs, 1964). Una vez que los signos se desarrollan, el tratamiento es raramente satisfactorio y el animal usualmente muere o permanece recostado (Little y Sorensen, 1964; Weide y Hibbs; 1964; Panciera *et al.*, 1968). El ganado con conjuntivitis y otitis responde muy bien al tratamiento (Nation *et al.*, 1981; Lamont y Hunt, 1982).

El organismo de *Histophilus somni* es susceptible a varios diferentes agentes antimicrobianos; primeramente la nueva generación antibióticos semejantes como enrofloxacina (Baytril), Ceftiofur hidroclicorido (Micotil) y florfenicol (Nuflor) son efectivo.

El *Histophilus somni* habitualmente es sensible a la oxitetraciclina y penicilina, siendo también sensible a otros antibióticos de uso veterinario. Es resistente a la lincomicina, neomicina y sulfamidas. En caso de meningoencefalitis tromboembólica, una vez que los animales expresan síntomas nerviosos, es difícil que la terapéutica antibiótica haga efecto y los animales generalmente mueren. Por otra parte, la administración de oxitetraciclina en el agua o alimento puede prevenir nuevos casos. La enfermedad respiratoria es tratable con los mismo antibióticos que la TEME. La efectividad de los mismos depende de que se presenten o no infecciones mixtas y estará condicionada en estos casos a la naturaleza del/los agente(s) infecciosos contaminantes y a su sensibilidad antibiótica.

Es muy importante en casos de infecciones a *Histophilus somni* la estrategia a adoptar en el uso de los antimicrobianos, sobre todo en los casos en que los animales entran a la engorda. En una prueba se verificó que animales medicados sistemáticamente (metafilácticamente) con 10 mg/kg de tilmicosin presentaron tasas de morbilidad del 30% y de mortalidad del 1.1 % por causa de Complejo Respiratorio Bovino (CRB) durante los primeros 28 días de estadía en la engorda, que se considera el periodo más crítico, mientras que en animales que no fueron medicados y que luego presentaron síntomas de CRB la morbilidad resultó ser del 55% con una mortalidad del 3.3%. En Canadá el 70% de los animales que entran en la engorda son medicados con 10 mg/kg de oxitetraciclina LA si presentan menos de 39.5° C y con 10 mg/kg de tilmicosin si presentan temperaturas superiores a la mencionada (E. Janzen, 1998). De todas maneras, ante un brote de enfermedad respiratoria, todos los animales que conviven en el mismo grupo, ya sea sintomáticos o no, deberían ser medicados con el fin de cortar la transmisión de los agentes (Piscitelli *et al.*, 2000). El tratamiento de las vacas con endometritis debería basarse en infusiones intrauterinas con cefapirina; la presentación es en jeringa con 500 mg de cefapirina benzoato en 19,6 g de crema y una pipeta de infusión. En un estudio en el que se usaron 316 vacas con endometritis clínica, el tratamiento con cefapirina entre los 27 y 33 días postparto resultó en un 63 % de incremento de la probabilidad de quedar preñadas, comparado con vacas contemporáneas no tratadas (LeBlanc *et al.*, 2002), o inyección intramuscular de prostaglandina F (PGF) con días 20 y 33 de lactancia tuvieron

un 70 % de mejoras en la probabilidad de quedar preñadas comparado con sus contemporáneas no tratadas, y la respuesta es más probable que sea benéfica cuando los animales son tratados luego de los 30 días en lactancia (Kasimanickam *et al.*, 2005).

5.10 Sensibilidad Antimicrobianos

Porcentaje de resistencia, sensibilidad media y sensibilidad alta de *Histophilus somni* a diversos antibióticos.

Antibióticos	Resistentes	S. Media	S. Alta
Cefotaxima	0	27.3	27.7
Mezlocilina	0	27.3	72.7
Cefalexina	0	72.7	27.3
Amoxicilina	0	45.5	54.5
Eritromicina	9.1	54.5	36.4
Gentamicina	27.3	45.5	27.3
Tetraciclina	27.3	63.6	9.1
Florfenicol	27.3	63.6	9.1
Tilmicoci	36.3	45.4	18.1
Sulfametoxazol-trimetoprim	54.5	18.2	27.3
Cloxacilina	63.6	18.2	18.2
Oxitetraciclina	63.6	36.4	0
Ampicilina	81.8	18.1	0
Penicilina	81.8	18.1	0
Estreptomina	100	0	0
Kanamicina	100	0	0
Lincomicina	100	0	0

(Pijoan y Aguilar, 2000).

VI.- Materiales y Métodos

5.1. Descripción del área de estudio.

Se realizó el muestreo, del 1 al 25 de junio del 2008, en tres establos ubicados en diferentes direcciones de la Comarca Lagunera, donde se colectaron muestras de exudado vaginal de 30 vacas sucias del tracto reproductor.

6.2 Descripción de los animales.

Las vacas que fueron muestreadas se detectaron mediante observación de las secreciones vaginales y diagnosticadas mediante palpación, fueron incluidas en el estudio aquellas consideradas como vacas sucias.

6.3 Toma de muestras

Al momento de la toma de la muestra, se lavó la vulva con agua corriente, se usaron guantes de látex, abriendo los labios vulvares con la ayuda de los dedos pulgar y el índice, introduciendo con la otra mano el hisopo lo más profundo posible, y se depositó en el medio de transporte de Stuart, se conservó en una hielera con refrigerantes hasta la Unidad de Diagnostico Veterinaria de la UAAAN-UL, donde fueron refrigeradas. Posteriormente las muestras fueron transportadas al INIFAP Km 15.5 Carretera México-Toluca, Col. Palo Alto C.P. 05110, México D.F. Para llevar a cabo el Aislamiento.

6.4 Estudio bacteriológico

Preparación del agar. Se pesaron 240g de Agar Columbia, estos fueron disueltos en un matraz que contenía 1 LT de agua estéril, posteriormente fue montado en un mechero con calor, al ver que la solución cambiaba de color amarillo pálido a amarillo más fuerte y con espuma, fue removida frecuentemente hasta que se disolviera por completo, se tapó con un moño de gasa y se cubrió la boquilla del matraz con papel aluminio, esta

fue sometida en un autoclave en 15 min., a 15 libras en 121°C, y en reposo de 15 minutos. Se suplementó con 25 ml de sangre desfibrinada de caballo y estos fueron vaciados en placas estériles dejándolo reposar en 2 hrs con fin de que se endureciera un poco, posteriormente, algunas placas fueron pasada en la flama del mechero para eliminar las espumas que se formaban al ser vaciada la preparación en ella. Se almacenó en una estufa a 37°C, en 24 hrs. Para poder realizar lo siguiente:

Con los hisopos que contenían las muestras se impregnaron a la placa preparada., estos fueron incubado en estufas a 37°C, con 10% CO₂ durante 24 a 48 horas.

6.5 Identificación de la cepa

Se identificaron de acuerdo a la característica de la colonia y su morfología como su forma circular, convexa, brillante, tamaño aproximado de 1 a 2 mm, pigmento ligeramente amarillento y consistencia similar a la mantequilla. A cada aislamiento se le realizaron pruebas de afinidad tintorial, morfología microscópica (Aguilar *et al.*, 2005).

VII. Resultados y Discusión

Del total de las muestras estudiadas, el 100% resulto negativa a el aislamiento de *Histophilus somni*. Para esto se observaron aquellas muestras sospechosas (8) de acuerdo a sus características morfológicas coloniales, al comparar con la cepa de referencia, se observo que ninguna cepa concordó con las características de la cepa de referencia.

Lo que difiere de lo encontrado por Izana y Corbeil., (1987); García-Delgado *et al.* (1997); y Aguilar Romero *et al.*; (2005) es que al usar placas de agar chocolate (ACH), preparados con infusión de agar cerebro corazón suplementada con 10 % de sangre desfibrinada de bovino y 0.5% de extracto de levadura, e incubando a 37 °C durante 24 a 48 h con atmósfera de 10% de CO₂, se obtuvieron resultados positivos.

Aguilar Romero *et al.*, (2005) estudiaron 112 muestras y obtuvieron un total de 10 (8.9 %) aislamientos de *Histophilus somni* en cultivo puro, que fueron recuperadas del grupo de 67 vacas con problemas de tracto reproductor, y que para este grupo representan el 14.9 %.

Una cifra similar es informada por Corbeil *et al.*, (1986) en estudios de campo realizados en Estados Unidos, donde se aisló en 15% de las muestras de vagina, mientras que en un estudio realizado por Nowackj *et al.*, (1998) en un hato lechero de Polonia con antecedentes de casos de abortos y vaginitis, encontró un 15.6% de aislamientos a partir de vagina y cérvix.

Miller *et al.*, (1983); Stephens *et al.*, (1986) encontraron una cifra mayor que las anteriores en estudios realizados en Australia, en donde obtuvieron aislamientos del 28.6% de las vacas muestreadas durante un brote de enfermedad genital inflamatoria asociada a *H. somni*, y que fue relacionada con la monta natural de toros infectados. En este mismo país, esta bacteria ha sido aislada frecuentemente en casos de vaginitis purulenta, cervicitis y endometritis de ganado lechero y se ha identificado como el patógeno responsable de enfermedades reproductivas que afectan la fertilidad.

Stephens *et al.*, (1986) reporta que la descarga vaginal purulenta es debida más a la vaginitis y cervicitis, que a la endometritis, y está significativamente asociada con la monta natural de toros portadores de *H. somni* en cavidad prepucial, o el uso del mismo catéter en más de una vaca al realizar prácticas de inseminación artificial.

En un estudio realizado por Ward *et al.*, (1995) se hizo una comparación del aislado de *Histophilus somni* en 18 aislamientos, 12 de Ovinos y 6 de bovinos, 17 identificado previamente como *Histophilus somni* y 1 ligado a *Histophilus somni*. En el caso de los bovinos 1 fue de aborto, 1 de neumonía, 1 de miocarditis, 1 de meningoencefalitis y 2 de las muestras prepuciales de los toros asintomáticos. En el aislado de las ovejas se incluyeron 3 de casos de septicemia, 3 de orquitis y/o epididimitis

y 5 de muestras prepuciales, y un aislado adicional de nódulo linfático de una oveja que murió sin la asociación del organismo. Todos los aislados previamente se preservaron en un 40% de fosfato saturado (pH 7.2) más 60% solución del glicerol a -70°C. Los organismos se propagaron del reservado conservado en el agar de sangre Columbia, con 5% de sangre del ovino (CBA) o infusión cerebro corazón (BHI) agar (Difco) con 5% de sangres bovinas.

Todos los aislados crecieron bien en agar con cualquier sangre de ovino o de bovino. Solamente en los casos de aborto, TME, y miocarditis, respectivamente, producen hemólisis sobre agar BHI con sangre de bovino. Ninguno de los aislados produjo hemólisis en agar BHI con sangre de ovino.

En diversos estudios se ha demostrado que *H. somni* crece fácilmente en diferentes medios como en infusión cerebro corazón (BHI), agar suplementado con 10% de sangre de bovino y 0.5 % de extracto de levadura (García-Delgado *et al.*, 1977), en agar BIH con 10% de suero de bovino y 0.5% de extracto de levadura (Gossling, 1966), en cistina agar cerebro con 10% de sangre de bovino y 0.5 % de extracto de levadura (Shigidi y Hoerlein, 1970). Y también Panciera *et al.*, (1968) y García-Delgado *et al.*, (1977), demostraron que el organismo se desarrolla bien en el saco de yema embrionado del huevo de gallina.

De acuerdo a la identificación de esta bacteria en los estudios realizados en nuestro país, como causante de problemas reproductivo en vacas solo se ha hecho la de primer informe en México por Aguilar Romero *et al.*, (2005).

Existe un reporte realizado por Pijoan *et al.*, (1999) en la Región de Tijuana, Baja California, México donde tomaron muestras de pulmones de 100 becerras con antecedentes de haber padecido neumonía. Las muestras pulmonares, se preservaron entre 4° y 6°C durante un máximo de 6 horas, hasta su análisis. Las muestras pulmonares fueron sembradas por duplicado en agar sangre y agar chocolate, y se sometió a la incubación a 37°C por 24 h en aerobiosis o microbioaerobiosis, respectivamente. Las

bacterias aisladas fueron identificadas de acuerdo a los métodos bioquímicos rutinarios, utilizando cepas de referencia como control. Se aisló *Pasteurella multocida* en 34 animales, *P. haemolytica* en 31 casos y *Histophilus somni* en 11 ocasiones.

Humphrey *et al.*, (1982) reporta que en términos generales, la tasa de aislamientos de esta bacteria a partir de aparato reproductor en vacas es menor que la encontrada en bovinos machos, cuyas cifras reportadas han sido hasta del 77 %.

Miller *et al.*, (1983); Corbeil *et al.*, (1986); Kwiecien *et al.*, (1991); Kwiecien *et al.*, (1992) reportan que el papel de *Histophilus somni* (*Haemophilus somnus*) como patógeno del aparato reproductor de los bovinos es controversial, debido a que el microorganismo ha sido aislado tanto de vacas con padecimientos del aparato genital, como de la mucosa vaginal de bovinos clínicamente sanos. Sin embargo *H. somni* es frecuentemente aislado, en cultivo puro o mezclado, de vacas con enfermedades del tracto genital, y que indican una asociación con lesiones inflamatorias de éste.

El hecho de que no se obtuvo ningún aislamiento positivo esperado en este trabajo realizado con las muestras de vacas sucias, probablemente pudo haber interferido diversos factores como la contaminación por la presencia de *E. Coli* y *Proteus* spp. que inhiben el crecimiento de la bacteria de interés; también es importante tomar en cuenta si los animales muestreados fueron sometidos a alguna quimioterapia. Otro aspecto importante puede ser la utilización del medio de transporte donde se incluyen los hisopos para conservar la viabilidad de la bacteria hasta el momento del cultivo, y finalmente es de tomarse en cuenta el medio de cultivo a utilizarse para el aislamiento primario, que debe ser específico y selectivo para *Histophilus somni* (Izana *et al.*, 1987), el medio de cultivo recomendado en la bibliografía menciona que debe ser enriquecido con el agar chocolate u agar infusión cerebro-corazón.

VIII. Conclusión

En la totalidad de las muestras trabajadas no se encontró la participación de *Histophilus somni* en infecciones del tracto genital de las vacas muestreadas al menos en los tres establos de la Comarca Lagunera.

IX. Literatura citada

- Aguilar, F. R.; Trigo, T. F.J.; Herrera, L. E.; Ávila G. J.; Suárez G. F. (2005). *Histophilus somni* (*Haemophilus somnus*) isolated from dairy cattle with reproductive disorders. First report in Mexico. *Reproductor, Téc Pecuaria Méx* 2005; 43 (2):185-195.
- Aguilar, R. F; Trigo, T. E; Jaramillo, M. L.; Sánchez-Mejorada P. H. (1986). Aislamiento de *Haemophilus somnus* a partir de pulmones neumónicos de bovinos. *Tec. Pecuaria, Méx.* (52):67-73.
- Angen, O.; Ahrens P.; Tegtmeier C. (1998). Development of a PCR test for identification of *Haemophilus somnus* in pure and mixed cultures. *Vet Microbiol.* (63):39-48.
- Angen, O; Ahrens P.; Kuhnert. P.; Christensen H.; Mutters R. (2003). Proposal of *Histophilus somni* gen. nov., sp. nov. for the three species incertae sedis '*Haemophilus somnus*', '*Haemophilus agni*' and '*Histophilus ovis*'. *Int J Syst Evol Microbiol.* (53):1449-1456.
- Andrews, J. J.; Anderson, T. D.; Slife, L. N.; and Stevenson G. W. (1985). Microscopic lesions associated with the isolation of *Haemophilus somnus* from pneumonic bovine lungs. *Vet. Pathol.* 22:131–136.
- Anonymous. (1978). The bovine *Haemophilus somnus* complex: a clinical review. *Vet Med Small Anim Clin* **73**:1311-1316.
- Baillie, W. E. (1969). Characterization of *Haemophilus somnus* (new species), a microorganism isolated from infectious thromboembolic meningoencephalomyelitis of cattle. *Diss Abst*; 30B: 2482.
- Beeman K. B. (1985). *Haemophilus somnus* of cattle: an overview. *Compend Cont Educ Pract Vet* 7:S259–S263.
- Cain D. V. (1985). Perinatal calf mortality in the Kansas Flint Hills. MSc Thesis, Kansas State University, Manhattan, Kansas.
- Campero, C. M.; Moreira, A. R.; Daguerre S.; Bartolome, J.; Odriozola E. (1993). Bovine abortion associated with *Haemophilus somnus*. *Veterinaria Argentina.* 10: 404-409.
- Cano, C. P. Profesor FMVZ. UNAM. Diagnostico y tratamiento de los principales problemas reproductivos en los bovinos. <http://www.fmvz.unam.mx/bovinotecnia/BtRgCliG007.pdf> (on line) 28/09/2008.
- Carson, R. L.; Wolfe, D. F.; Klesius, P. H.; Kempainen, J. R., Scanlan, C. M. (1988). The Effects of Ovarian Hormones and ACTH on Uterine Defense to *Corynebacterium pyogenes* in Cows. *Theriogenology.* 30: 91-97.

Cassidy, J. P.; McDowell, S. W.; Reilly, G. A.; Mc Conell, W. J.; Forster, F. Lawler D. (1997). Thrombotic meningoencephalitis associated with *Histophilus ovis* infection in lambs in Europe. *Vet Rec.*; 140(8):193-195.

Corbeil, L. B., Widders P. R., Gogolewski R., Arthur I., Inzana, T. I.; Ward ACS. (1986). *Haemophilus somnus*: Bovine reproductive and respiratory disease. Wash St Univ Agr Res Center, Pullman, Washington. Sci paper 7233.

Corbeil, L. B.; Widders, P. R.; Gogolewski R., Arthur, J., Inzana, T. J.; and Ward A. C. S. (1986). *Haemophilus somnus*: bovine reproductive and respiratory disease. *Can. Vet. J.* 27:90-94.

Corbeil, L. B. (1990). Molecular aspects of some virulence factors of *Haemophilus somnus*. *Can. J. Vet. Res.* 54:557-562.

Corbeil, L. B.; Schurig, G. D.; Duncan, J. R.; Wilkie, B. N.; and Winter, A. J. (1981). Immunity in the female reproductive tract based on the response to *Campylobacter fetus*, p. 729-743. In J. E. Butler (ed.) *The ruminant immune system*. Plenum Publishing Corporation, New York.

Corbeil, L. B.; Duncan, J. R.; Schurig, G. D.; Hall, C. E.; and Winter A. J. (1974). Bovine venereal vibriosis: variations in immunoglobulin class of antibodies in genital secretions and serum. *Infect. Immun.* 10:1084-1090.

Corbeil, L. B.; Schurig, G. D.; Duncan, J. R.; Corbeil R. R.; and Winter A. J. (1974). Immunoglobulin classes and biological functions of *Campylobacter* (Vibrio) fetus antibodies in serum and cervicovaginal mucus. *Infect. Immun.* 10:422-429.

Corbeil, L. B.; Widders, P. R.; Gogolewski, R.; Arthur, J., Inzana T. J.; Wards A. C. S. (1986). *Haemophilus somnus*: Bovine reproductive and respiratory disease. *Can Vet J*; 27:90-93.

Corbeil, L. B., Gogolewski, R. P., Stephens, L.R., and Inzana, T.J. (1995). *Haemophilus somnus*: Antigen Analysis and Immune Responses, p. 63-73. In W. Donachie, F. A. Lainson, and J. C. Hodgson (ed.), *Haemophilus, Actinobacillus, and Pasteurella*. Plenum Press, New York; London.

Correa, G. P., Brown, D. L. N., Bryner, J. H. (1975). Presencia de anticuerpos contra RIB, DVB, PI3, Brucelosis, Leptospirosis, Vibriosis y *Haemophilus somnus* en sueros de bovinos con problemas patológicos reproductores y respiratorios. *Téc Pecuaria Méx.* (29):26-33.

Corstvet, R. E.; Panciera, R. J.; Rinker, H. B.; Starks, B. L.; and Howard C. (1973). Survey of tracheas of feedlot cattle for *Haemophilus somnus* and other selected bacteria. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 163:870-873.

- Crandell, R. A.; Smith, A. R.; and Kissel M. (1977). Colonization and transmission of *Haemophilus somnus* in cattle. *Am. J. Vet. Res.* 38:1749-1751.
- Czuprynski, C. J.; and Hamilton H. L. (1985). Bovine neutrophils ingest but do not kill *Haemophilus somnus* in vitro. *Infect. Immun.* 50:431-436.
- Corbeil L. B., Bastida-Corcuera F. D., and Beveridge T. J. (1997). *Haemophilus somnus* immunoglobulin binding proteins and surface fibrils. *Infect Immun* 65:4250-4257.
- Corbeil, L. B., Gogolewski, R. P., Stephens, L. R., and Inzana T. J. (1995). *Haemophilus somnus*: Antigen Analysis and Immune Responses, p. 63-73. *In* W. Donachie, F. A. Lainson, and J. C. Hodgson (ed.), *Haemophilus, Actinobacillus, and Pasteurella*. Plenum Press, New York; London.
- Cavanaugh, D. C.; and Randall, R. (1959). The role of multiplication of *Pasteurella pestis* in mononuclear phagocytes in the pathogenesis of flea-born plague. *J. Immunol.* 83:348-363.
- Chladek, D. W. (1975). Bovine abortion associated with *Haemophilus somnus*. *Am J Vet Res*; 36: 1041.
- Dewey, K. J., Little P. B. (1984). Environmental survival of *Haemophilus somnus* and influence of secretions and excretions. *Can J Comp Med*; 48: 23-26.
- Eagleasome, M. D., Garcia M. M., Stewart R. B. (1992). Microbial agents associated with bovine genital tract infection and semen: Part II: *Haemophilus somnus*, *Mycoplasma* spp and *Ureaplasma* spp, *Chlamidia*; Pathogens and semen contaminants; treatment of bull semen with antimicrobial agents. *Veterinary Bulletin.* 62: 887-910.
- Furness, G. (1958). Interaction between *Salmonella typhimurium* and phagocytic cells in tissue culture. *J. Infect. Dis.* 103: 273-277.
- Garcia-Delgado, G. A.; Little P.B.; Barnum D. A. (1977). A comparison of various *Haemophilus somnus* strains. *Can J Comp Med*; (41):380-388.
- Gogolewski, R. P., Kania, S. A., Inzana T. J., Widders, P. R., Liggitt, H. D., and Corbeil L. B. (1987). Protective ability and specificity of convalescent serum from *Haemophilus somnus* pneumonia. *Infect. Immun.* 55:1403–1411.
- Gogolewski, R. P.; Leathers, C. W.; Liggitt, H. D.; and Corbeil, L. B. (1987). Experimental *Haemophilus somnus* pneumonia in calves and immunoperoxidase localization of bacteria. *Vet. Pathol.* 24:250–256.
- Gomis, S. M., Godson D. L., Beskorwayne, T., Wobeser G. A., and Potter, A. A. (1997). Modulation of phagocytic function of bovine mononuclear phagocytes by *Haemophilus somnus*. *Microb Pathog* 22:13-21.

González, J. A., Alba, L.O., Fernández, A. (1978). Hallazgos bacteriológicos en secreciones cervicovaginales de vacas infecundas en la provincia de Las Villas. Diagnóstico de Laboratorio desde 1972 hasta 1974. Rev Centro: Serie Ciencia Anim (Cuba) III: 57-64.

Gosling, J. (1966). The bacteria isolated de lesions of embolic meningoencephalitis of cattle. Illinois vet. 9. Nc. 3 pp.14-18.

Groom, S.; Little, P.; and Rosendal, S. (1988). Virulence differences among three strains of *Haemophilus somnus* following intratracheal challenge of calves. Can. J. Vet. Res. 52:349–354.

Harris, F. W.; Janzen H. E. D. (1989). The *Hemophilus somnus* disease complex (Hemophilosis): A review. *Canadian Veterinary Journal*. 30: 816-822.

Hazlett, M. J.; Little P. B.; Barnum, D. A. (1983). Experimental production of mastitis with *Haemophilus somnus* in the lactating bovine mammary gland. Can Vet J; (24):135-136.

Higgins, R.; Martin, J. R., Larouche Y Goyette G. (1987). Mastitis caused by *Haemophilus somnus* in a dairy cow. Can Vet J; (28):117- 119.

Hoblet K. H., Haibel G. K., Kowalski J. J., and Rojko, J. L. (1989). Culture-positive persistence and serum agglutinating antibody response after intrauterine inoculation of *Haemophilus somnus* in virgin heifers. Am. J. Vet. Res. 50:1008-1014.

Hubbard, R. D.; Kaeberle, M. L.; Roth, J. A.; and Chiang Y. W. (1986). *Haemophilus somnus*-induced interference with bovine neutrophil functions. Vet Microbiol 12:77-85.

Humphrey, J.D.; Little, P.B.; Barnum, D.A.; Doig, P.A.; Stephens, L.R., Thorsen J. (1982). Occurrence of *Haemophilus somnus* in bovine semen and in the prepuce of bulls and steers. Can J Comp Med; 46: 215-217.

Humphrey, J. D. and Stephens L. R. (1983). *Haemophilus somnus*: a review. Vet. Bull. 53:987-1004.

Humphrey, J. D.; Little, P. B.; Stephens, L. R.; Barnum, D. A.; Doig, P. A. and Thorsen J. (1982). Prevalence and distribution of *Haemophilus somnus* in the male reproductive tract. Am. J. Vet. Res. 43:791-794.

Humphrey, J. D.; Little, P. B.; Stephens, L. R., Barnum, D. A.; Doig, P.A., Thorsen J. (1982). Prevalence and distribution of *Haemophilus somnus* in the male bovine reproductive tract. Am. J Vet Res; (43):792–795.

Humphrey, J. D.; Little, P. B.; Stephens, L. R.; Barnum, D. A.; Doig, P. A. & Thorsen J. (1982). Prevalence and distribution of *Haemophilus somnus* in the male bovine reproductive tract. *American Journal of Veterinary Research*. 43: 791-795.

- Inzana, T. J.; Corbeil, L. B. (1987). Development of a defined medium for *Haemophilus somnus* isolated from cattle. *Am. J Vet Res*; (48):366–369.
- Inzana, T. J.; Iritani, B.; Gogolewski, R. P.; Kania, S. A.; and Corbeil, L. B.; (1988). Purification and characterization of lipooligosaccharides from four strains of "*Haemophilus somnus*". *Infect. Immun.* 56:2830-2837.
- Jackson, J. A.; Andrews, J. J. and Hargis, J. W. (1987). Experimental *Haemophilus somnus* pneumonia in calves. *Vet. Pathol.* 24:129–134.
- Janzen, E. D.; Cates, W. F.; Barth, A., et al. (1981). Prevalence of *Haemophilus somnus* in the semen of bulls in Saskatchewan. *Can Vet J*; 22: 361-362.
- Kaneene, J. B.; Coe, P. H.; Gibson, C. D.; Yamini B.; Marinez, R.O.; Morrow D.A. (1986). The role of *Haemophilus somnus* in early embryonic death. I. The effect of the organism on embryos by day 8 postbreeding. *Theriogenology*; 26(2):189-197.
- Kaneene, J. B.; Coe, P. H.; Gibson, C. D.; Yamini, B.; Morrow, DA.; Marinez R.O. (1987). The role of *Haemophilus somnus* in early embryonic death. III. The effect of the organism on embryos by day 21 postbreeding. *Theriogenology*; 27:737-749.
- Kearney, K. P., Orr, M. B. (1993). An outbreak of *Haemophilus agni*-*Histophilus ovis* septicaemia in lambs. *N Z Vet J*; (41):149-150.
- Kasimanickam, R.; Duffield, T. E.; Foster, R. A.; Gartley, C.J.; Leslie, K. E.; Walton, J. S.; Johnson, W.H. (2005). The effect of a single administration of cephapirin or cloprostenol on the reproductive performance of dairy cows with subclinical endometritis. *Theriogenology* 63: 818-830.
- Keister, D. M. (1981). *Haemophilus somnus* infections in cattle. *Comp. Cont. Educ.* 3:S260-S264.
- Keister, D. M. (1981). *Haemophilus somnus* infections in Cattle. *The Compendium on Continuing Education* 3:S260-S267.
- Kennedy, P. C.; Biberstein, E. L.; Howarth, J. A.; Frazier, L. M.; Dungworth, D. L.(1960). Infectious meningoencephalitis in cattle by a *Haemophilus*-like organism. *Am J Vet Res*; 21: 403-409.
- Kennedy, P.C.; Frazier, L. M.; Theilen, G. H.; Biberstein E. L. (1958). A septicemic disease of lambs caused by *Haemophilus agni*. *Am J Vet Res*; 19: 645-654.
- Kilian, M. and Biberstein, E. L. (1984). Genus II. *Haemophilus*, p. 558-569. *In* N. R. Krieg and J. G. Holt (ed.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, vol. 1. Williams & Wilkins, Baltimore.

- Kim, J. J.; Phillips, N. J.; Gibson, B. W.; Griffiss, J. M., and Yamasaki R. (1994). Meningococcal group A lipooligosaccharides (LOS): preliminary structural studies and characterization of serotype-associated and conserved LOS epitopes. *Infect Immun* 62:1566-1575.
- Kitching, J. P.; and Bishop, G. C. (1994). The *Haemophilus somnus* disease complex in cattle, p. 1135-1142. *In* J. A. W. Coetzer, G. R. Thomson, R. C. Tustin, and N. P. Kriek (ed.), *Infectious Diseases of Livestock: with special reference to Southern Africa*, vol. 2. Oxford University Press, Cape Town; Oxford; New York.
- Krogh, H. V.; Pedersen, K. B., and Blom, E. (1983). *Haemophilus somnus* in semen from Danish bulls. *Vet. Rec.* 112:460.
- Kuckleburg, C. J.; Sylte, M. J.; Inzana, T. J.; Corbeil, L. B.; Darien B. J., and Czuprynski, C. J. (2005). Bovine platelets activated by *Haemophilus somnus* and its LOS induce apoptosis in bovine endothelial cells. *Microb Pathog* 38:23-32.
- Kwiecien, J. M., Little, P. B. (1991). *Haemophilus somnus* and reproductive disease in the cow: A review. *Can J Vet Res*; (32):595–601.
- Kwiecien, J. M., y Little, P. B. (1992). Isolation of pathogenic strains of *Haemophilus somnus* from the female bovine reproductive tract. *Can J Vet Res* 56:127–134.
- Lamont, H. H.; y Hunt, B. W. (1982). *Haemophilus somnus* and conjunctivitis. *Vet Rec*; 111: 21.
- LeBlanc, S. J.; Duffield, T.E.; Leslie, K. E.; Bateman, K. G., Keefe, G. P, Walton, J. S., Johnson, WH. 2002. The effect of treatment of clinical endometritis on reproductive performance in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85: 2237-2249.
- Lederer, J. A.; Brown, J. F. and Czuprynski C. J. (1987). "*Haemophilus somnus*," a facultative intracellular pathogen of bovine mononuclear phagocytes. *Infect Immun* 55:381-387.
- Lederer J. A., Brown J. F., Czuprynski C. J. (1986). *Haemophilus somnus*: A facultative pathogen of bovine mononuclear phagocytes. 67th Annu Meet Res Workers Anim Dis.
- Little P. B. y Sorensen D. K. (1969). Bovine polioencephalomalacia, infectious meningoencephalitis and acute lead poisoning in feedlot cattle. *J Am Vet Med Assoc*; 155: 1892-1903.
- Little P. B. (1986). *Haemophilus somnus* complex: Pathogenesis of the septicemic thrombotic meningoencephalitis. *Can Vet J*; 27: 94-96.
- Lurie M. B. (1942). The fate of tubercle bacilli ingested by phagocytes from normal and immunized animals. *J. Exp. Med.* 75:247-267.

- Mackaness, G. B. (1964). The immunological basis of acquired cellular resistance. *J. Exp. Med.* 120:105-120.
- Merino, M. y Biberstein E. L. (1982). Growth requirements of *Haemophilus somnus*. *J Clin Microbiol* 16:798-802.
- McDowell S. W. J., Cassidy J. P., McConnell W. (1994). A case of ovine abortion associated with *Histophilus ovis* infection. *Vet Rec.* (134):504.
- Metz A. L.; Haggard D. L.; Hakomaki M. R. (1984). Chronic suppurative orchiepididymitis associated with *Haemophilus somnus* in a calf. *J Am Vet Med Assoc*; (184):1507-1508.
- Miller, R. B., Barnum, D. A. (1983). Effects of *Haemophilus somnus* on the pregnant bovine reproductive tract and conceptus following cervical infusion. *Vet Pathol*; 20:584-589.
- Miller, R. B.; Barnum, D. A.; McEntee, K. E. (1983). *Haemophilus somnus* in the reproductive tracts of slaughtered cows: location and frequency of isolations and lesions. *Vet Pathol*; (20):515- 521.
- Miller, R. B.; Lein D. H.; Hall, C. E.; Shin S. (1983). *Haemophilus somnus* infection of the reproductive tract of cattle: a review. *J Am Vet Med Assoc*; 182:1390-1392.
- Moisan, P. G., Fitzgerald, S. D. (1995). *Haemophilus somnus* myocarditis in feedlot cattle. *Agri-Practice*; 16(4):21-24.
- Nation, P. N., Frelier P. F., Gifford G. A., Carnat, B. D. (1983). Otitis in feedlot cattle. *Can Vet J*; 24: 238.
- Nowacki, W.; Molenda, J., Faniak, T.; Chelmonska, A.; Nikolajczuk, M. (1988). Izolacja *Haemophilus somnus* z dróg rodnych krów. *Medycyna Weterynaryjna*; 44: 36-39.
- Nowackj, W.; Molenda, J; Stefaniak, T.; Chelmonska, A.; Nikolajczuk, M. (1998). Izolacja *Haemophilus somnus* dróg rodnych krów. *Med Weter*; 44:36-39.
- Pancieria, R. J.; Dahlgren, R. R.; Rinker H. B. (1968). Observations on septicemia of cattle caused by a *Haemophilus*-like organism. *Pathol Vet*; 5: 212-226.
- Patterson, R. M.; Hill, J. F.; Shiel, M. J.; Humphrey, J. D.; (1984). Isolation of *Haemophilus somnus* from vaginitis and cervicitis in dairy cattle. *Austr Vet J*; 61:301-302.
- Patterson, R. M., Mitchell, G. M.; Humphrey, J. D.; Stephens L. R. (1986). Experimental induction of vaginitis in heifers by infection with *Haemophilus somnus*. *Aust Vet J*; 20:163-165.

Philbey, A. W.; Glastonbury, J. R.; Rothwell, J. T.; Links, I. J.; Searson J. E. (1991). Meningoencephalitis and other conditions associated with *Histophilus ovis* infection in sheep. *Aust Vet J*; 68(12): 387-390.

Pijoan, A. P.; Aguilar, R. F. y Morales A. J. F. (1999). Caracterización de los procesos neumónicos en becerros lecheros de la Región de Tijuana, Baja California, México. *Vet. Méx.*, 30(2).

Pijoan, A. P.; Aguilar R. F. y Morales A. J. F. (2000). Resistencia y sensibilidad a antimicrobianos en cepas de *Pasteurella haemolytica*, *P. multocida* y *Haemophilus somnus*, aisladas en becerras lecheras en establos de Tijuana.

Piscitelli, H. G.; Zielinski, G. C.; Cipolla A. (2000). Muerte súbita de bovinos en feed-lot. Jornada sobre enfermedades emergentes del bovino, F.A.V., UNRC, Río Cuarto.

Quimn, P. j.; Markey, B. K.; Carter, M. E.; Donnelly, W. J. and Leonard, F. C. (2000) *Veterinary microbiology and microbial disease.*, Ira Editor, Edit. Blackwel Science.

Radostits, O. M.; Gay, C. C. (2001). *Tratado de las Enfermedades de Ganado Bovino, Ovino, Porcino, Caprino y Equino.* Novena Edición, Mc GrawHill.

Richey, E.J. (2002). *Haemophilus somnus* Disease in Cattle. Institute of Food and Agricultural Sciences.

Repiso, V. M. y .Rubino. (2001). Campylobacteriosis genital bovina INIA - DILAVE. Uruguay. (on line). www.produccion-animal.com.ar

Roberts, D. S. (1956). A new pathogen from a ewe with mastitis. *Aust Vet J*; 32:330-332.

Roberts, S. J. (1986). *Veterinary obstetrics and genital diseases (theriogenology)*, p. 126-138.

Scarcelli, E.; Genovez, M. E.; Cardoso, M. V.; Almeida Prado, W. D. N.; Faccioli M. R.; & Teixeira, S. R. (2000). Presence of *Haemophilus somnus* in breeding bulls from Minas gerais, São Paulo and Rio Grande do Sul, Brazil. In: *Proceedings do 23° Congresso Mundial de Buiatria* (Punta del Este, Uruguay). CD-ROM, 1 computer disc 5 1/4in, 7941-7945.

Schuh J. C. L., Harland R. J. and Janzen E. D. (1991). *Haemophilus somnus* infection in the bovine heart-chronic sequelae, abstr. M5. Abstr. 42nd Annu. Meet. Am. Coll. Vet. Pathol. 20:194.

Schurig, G. G.; Duncan, J. R. and A. J. Winter. (1978). Elimination of genital vibriosis in female cattle by systemic immunization with killed cells or cell-free extracts of *Campylobacter fetus*. *J. Infect. Dis.* 138:463-472.

Schurig, G. G. D.; Hall, C. E.; Corbeil L. B., Duncan J. R., and A. J. Winter. (1975). Bovine venereal vibriosis: cure of genital infection in females by systemic immunization. *Infect. Immun.* 11:245-251.

Shigidi, M. A. y Hoerlin A. B. (1870). Characterization of the *Haemophilus*-like organism of infectious thromboembolic meningoencephalitis of cattle. *Am. J. vet. Res.* 31, 1917-1022.

Slee, K. J. and Stephens, L. R. (1985). Selective medium for isolation of *Haemophilus somnus* from cattle and sheep. *Vet. Rec.* 116:215-217.

Spith, H. and Fitzgeorge, R. B. (1964). The chemical basis of the virulence of *Brucella abortus*. V. The basis of intracellular survival and growth in phagocytes. *Br. J. Exp. Pathol.* 45: 174-186.

Stephens, L. R.; Little, P. B.; Wilkie, B. N. and Barnum, D. A. (1981). Infectious thromboembolic meningoencephalitis in cattle: a review. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 178:378-384.

Stephens, L. R.; Slee, P.; Poullton, P., Lancombe, M.; Kosior E. (1986). Investigation of purulent vaginal discharge in cows with particular reference to *Haemophilus somnus*. *Aust Vet J;* (63):182–185.

Stephens, L. R.; Little, P. B.; Wilkie, B. N. and Barnum D. A. (1981). Infectious thromboembolic meningoencephalitis in cattle: a review. *J Am Vet Med Assoc* 178:378-384.

Stephens, L. R. and Little, P. B. (1981). Ultrastructure of *Haemophilus somnus*, causative agent of bovine infectious thromboembolic meningoencephalitis. *Am. J Vet Res* 42:1638-1640.

Steven, J.; Roberts Ithaca, N.Y.; Butt, B. M.; Senger, P. L. and Widders P. R. (1991). Neutrophil migration into the bovine uterine lumen following intrauterine inoculation with killed *Haemophilus somnus*. *J. Reprod. Fertil.* 93:341-345.

Sugimoto, C.; Mitani, K.; Nakazawa, M., Sekizaki, T.; Terakado, N.; Isayama, Y. (1983). In vitro susceptibility of *Haemophilus somnus* to 33 antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother;* 23: 163-165.

Sylte, M. J.; Corbeil, L. B.; Inzana, T. J. and Czuprynski, C. J. (2001). *Haemophilus somnus* induces apoptosis in bovine endothelial cells in vitro. *Infect Immun* 69:1650-1660.

Sylte, M. J.; Leite, F. P.; Kuckleburg, C. J.; Inzana, T. J. and Czuprynski, C. J. (2003). Caspase activation during *Haemophilus somnus* lipooligosaccharidemediated apoptosis of bovine endothelial cells. *Microb Pathog* 35:285-291.

Thompson, K. G. and Little, P. B. (1981). Effect of *Haemophilus somnus* on bovine endothelial cells in organ culture. *Am. J. Vet. Res.,* 42:748-754.

- Van Dreumel A. A., Kierstead M. A. (1975). Abortion associated with *Haemophilus somnus* in a bovine fetus. *Can Vet J*; 16:367-370.
- Von Luginbuhl, A.; Kupfer, U. (1980). Bakteriologische befunde im geschlechtsapparat von kuhen im puerperium. *Mitteilung II. Schweiz Arch Tierheilkd*; 122: 695-705.
- Waldham, D. G.; Hall, R. F.; Meinershagen, W. A.; Card, C. S.; Frank, F. W. (1974). *Haemophilus somnus* infection in the cow as a possible contributing factor to weak calf syndrome: Isolation and animal inoculation studies. *Am J Vet Res*; 35: 1401-1403.
- Ward, C. S. A.; Corbeil, L. B.; Mickelsen, W. D. and Sweet, V. F. (1983). A selective medium for gram negative pathogens of bovine respiratory and reproductive tracts. *Proc. Am. Assn. Vet. Lab. Diag.* 26:103-112.
- Ward, C. S. A.; Jaworski, D. M.; Eddow, M. J. and Corbeil B. L. (1995). A Comparative Study of Bovine and Ovine *Haemophilus somnus* Isolates. *Can J Vet Res*; 59: 173-178.
- Webb, R. F. (1983). Clinical findings and pathological changes in *Histophilus ovis* infections of sheep. *Res Vet Sci*; 35 (1): 30-34.
- Weide, K. D.; Hibbs, C. M.; Anthony, H. D. (1964). Diagnosis of bovine encephalitides. 68th Annu Meet US Livestock Sanit Assoc.
- Weisser, W.; Albert, K. (1987). *Haemophilus somnus* und *Corynebacterium pyogenes* Vorkommen im Vaginalsecret fruchtbarkeitsgestorter Rinder in Nordwurttemberg. *Tierarztl Umsch*; 42: 596-600.
- Widders, P. R.; Paisley, L. G.; Gogolewski, R. P.; Corbeil, L. B. (1985). Bovine abortion on challenge with *Haemophilus somnus*. 66th Annu Meet Conf Res Workers Anim Dis: 11.
- Widders, P. R., Paisley, L. G.; Gogolewski, R. P.; Evermann, J. F.; Smith, J. W.; Corbeil L. B. (1986). Experimental abortion and the systemic immune response to "*Haemophilus somnus*" in cattle. *Infect Immun*; (54):555–560.
- Widders, P. R.; Dorrance, M. L. A.; Yarnall and Corbeil L. B. (1989). Immunoglobulin-binding activity among pathogenic and carrier isolates of *Haemophilus somnus*. *Infect Immun* 57:639-642.
- Widders, P.R.; Smith, J. W.; Yarnall, M.; McGuire, T. C. and Corbeil L. B. (1988). Non immune immunoglobulin binding by "*Haemophilus somnus*". *J Med Microbiol* 26:307-311.
- Widders, P. R.; Dowling, S. C.; Gogolewski, R. P.; Smith, J. W.; Corbeil L. B. (1989). Isotypic antibody responses in cattle infected with *Haemophilus somnus*. *Res Vet Sci*; 46: 212-217.

Yarnall, M.; Gogolewski, R. P. and Corbeil, L. B. (1988). Characterization of two *Haemophilus somnus* Fc receptors. J. Gen. Microbiol. 134:1993-1999.

Yarnall, M.; Widders, P. R.; and Corbeil, L. B. (1988). Isolation and characterization of Fc receptors from *Haemophilus somnus*. Scand J Immunol 28:129-137.