

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**  
**UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**“Prevalencia de *Histophilus somni* en pulmones neumónicos de bovinos sacrificados en el rastro municipal de Gómez Palacio, Durango”**

**POR:**

**ROSA ISELA MARTÍNEZ FLORES**

**TESIS**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER**

**EL TITULO DE:**

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**TORREÓN, COAH., MÉXICO**

**SEPTIEMBRE DE 2009**

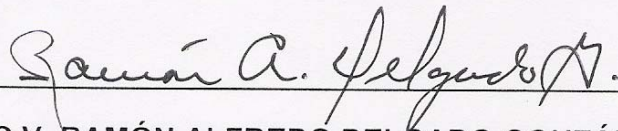
**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**  
**UNIDAD LAGUNA**  
**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**

**“Prevalencia de *Histophilus somni* en pulmones neumónicos de bovinos sacrificados en el rastro municipal de Gómez Palacio, Durango”**

**TESIS**

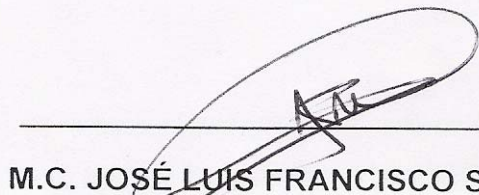
**APROBADA POR EL COMITÉ DE TESIS**

**PRESIDENTE DEL JURADO**



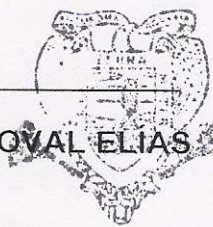
**M.C.V. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ**

**COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL  
DE CIENCIA ANIMAL**



**M.C. JOSÉ LUIS FRANCISCO SANDOVAL ELÍAS**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
"ANTONIO NARRO"  
UNIDAD LAGUNA



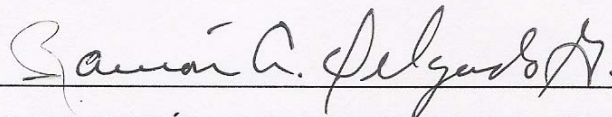
COORDINACIÓN DE LA DIVISIÓN  
REGIONAL  
CIENCIA ANIMAL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

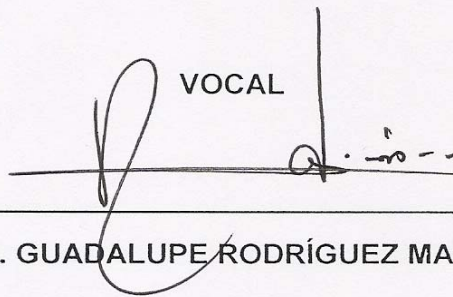
“Prevalencia de *Histophilus somni* en pulmones neumónicos de  
bovinos sacrificados en el rastro municipal de Gómez Palacio,  
Durango”

PRESIDENTE



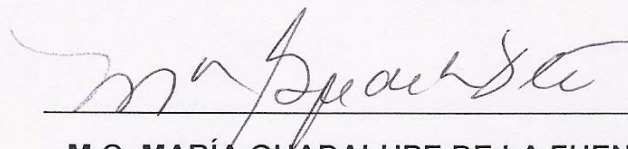
M.C.V. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ

VOCAL



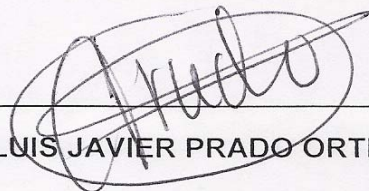
MVZ. J. GUADALUPE RODRÍGUEZ MARTÍNEZ

VOCAL



M.C. MARÍA GUADALUPE DE LA FUENTE SALCIDO

VOCAL SUPLENTE



MVZ. LUIS JAVIER PRADO ORTIZ

## **Agradecimientos**

**A dios.** Por darme el entendimiento, paciencia y sabiduría para salir adelante en todos las metas que me fijado.

**A mi mama.** Tus brazos siempre se abren cuando necesito un abrazo, tu corazón sabe comprender cuándo necesito una amiga ya que tus ojos sensibles se endurecen cuando necesito una lección. Tu fuerza y tu amor me han dirigido por la vida y me han dado las alas que necesitaba para volar.

**A mi Alma Terra Mater.** Por dejarme crecer como persona y darme la oportunidad de haberme formado como profesionista.

**A mis asesores.** Ramón delgado, J. Guadalupe, Guadalupe y L. Javier por haber depositado toda su confianza y brindarme su apoyo incondicional.

**A Oli** por sus enseñanzas y apoyo durante todo el tiempo que estuve en diagnostico.

**A todos mis maestros** por su valioso tiempo y conocimientos brindados.

## **Dedicatoria**

**A Dios.** Por siempre estar a mi lado y nunca desampararme en lo bueno y en lo malo.

**A mi mama.** Rufina, sabes mami es la mujer más bella que jamás conocí y todo lo que soy, te lo debo a ti y todos mis éxitos te los atribuyo. Gracias por ser una excelente madre y por confiar en mí.

**A mis abuelitos.** Anastasio, Modesta y Francisca, por sus enseñanzas.

**A mis hermanas.** Sandra, Paola y Arely, por estar siempre conmigo, comprenderme y por brindarme siempre su apoyo cuando más lo he necesitado, las Amo...

**A mis sobrinos.** Cesar y Diego por ser siempre mi motivación.

**A mi novio.** Ernesto, por ser una excelente persona que siempre he ha apoyado y me ha guiado por un buen camino y sobre todo por el gran cariño que me ha demostrado tenerme.

**A mis amigos.** A todos mis amigos de los diferentes deportes que estuve, y mis compañeros del "B", en especial a Ángeles, Jesús, Norma y Marce por su gran compañía que me brindaron y sobre todo por su gran amistad que llevare conmigo.

**A las chavas del internado,** en especial a Fabiola, Cristina y Ana Cristian por ser mi segunda familia.

## Resumen

Se tomaron muestras de tejido de pulmón en el rancho de Gómez Palacio, Durango, de enero a marzo del 2009, las muestras obtenidas fueron trasladadas a la Unidad de Diagnóstico del Departamento de Ciencias Médico Veterinarias de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna y fueron cultivadas en agar chocolate y agar sangre para determinar la presencia de *Histophilus somni* como un posible agente causal involucrado en problemas neumónicos de la Comarca Lagunera. Se efectuó el diagnóstico morfológico al microscópico, los resultados obtenidos indicaron que el 100% de las muestras carecieron de la presencia de la cepa de *Histophilus somni*, al compararlas con las cepas de referencia.

**Palabras claves:** problemas neumónicos, *Histophilus somni*.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

<b>Agradecimientos</b>	<b>i</b>
<b>Dedicatoria</b>	<b>ii</b>
<b>Resumen</b>	<b>iii</b>
<b>I. Introducción</b>	<b>1</b>
<b>II. Justificación</b>	<b>3</b>
<b>III. Objetivos</b>	<b>4</b>
<b>IV. Revisión de literatura</b>	<b>5</b>
<b>4.1 Historia</b>	<b>5</b>
<b>4.1.1 Requerimientos</b>	<b>5</b>
<b>4.2 Taxonomía</b>	<b>6</b>
<b>Especies de interés veterinario</b>	<b>6</b>
<b>4.2.1 Enfermedades</b>	<b>6</b>
<b>4.3 Epidemiología</b>	<b>7</b>
<b>4.4 Patogenia</b>	<b>9</b>
<b>4.5 Factor de virulencia</b>	<b>11</b>
<b>4.5.1. Capsula</b>	<b>11</b>
<b>4.5.2. Proteínas de la membrana externa</b>	<b>12</b>
<b>4.5.3. Endotoxinas</b>	<b>12</b>
<b>4.6 Signos y lesiones</b>	<b>13</b>
<b>4.7 Agente frecuente aislado en casos de neumonías</b>	<b>14</b>

<b>4.8 Métodos de diagnóstico</b>	<b>15</b>
<b>4.8.1 Medio requerido para el aislamiento e identificación</b>	<b>16</b>
<b>4.9 Control y tratamiento</b>	<b>17</b>
<b>4.9.1 Resistencia y sensibilidad de antimicrobianos</b>	<b>19</b>
<b>4.9.2 Vacunación</b>	<b>20</b>
<b>V. Materiales y métodos</b>	<b>21</b>
<b>5.1 Aislamiento de <i>Histophilus somni</i></b>	<b>21</b>
<b>5.2. Identificación de la cepa</b>	<b>22</b>
<b>VI. Resultado y discusión</b>	<b>23</b>
<b>VII. Conclusión</b>	<b>25</b>
<b>VIII. Literatura citada</b>	<b>26</b>



## I. Introducción

Existe una gran variedad de enfermedades que afectan a los bovinos; sin embargo (Corbeil 2007), de las enfermedades que padece el bovino, entre un 40% y 80% son de tipo respiratorio (Solís *et al.*, 2008). La neumonía, es una de los problemas más importantes de salud que enfrenta la industria ganadera en América, con pérdidas anuales estimadas en más de 500 millones de dólares (Gogolewski *et al.*, 1987). El *Histophilus somni* (antes *Haemophilus somnus*) es uno de los patógenos del Complejo Respiratorio Bovino (CRB) (Sandal *et al.*, 2007), lo que ocasiona pérdidas económicas a la industria ganadera reduciendo los parámetros productivos de los bovinos especializados en la producción de leche, carne y doble propósito (Lederer *et al.*, 1987). El *Histophilus somni* se encuentra presente en las mucosas de las vías respiratorias y del aparato urogenital en forma clínicamente inaparente. Estudios indican que del 60 al 77% de los toros y bueyes, y 8-10% de las vacas llevan el organismo en el tracto urogenital (Lees *et al.* 1990), pero puede variar dependiendo la zona geográfica (Kwiecien and Little 1992). Se ha informado que la prevalencia de *H. somni* en el tracto respiratorio superior van de 0% a 50% (Van Donkersgoed *et al.*, 1994a). La presentación y severidad de las lesiones neumónicas en becerras depende de una serie de interacciones complejas entre diversos agentes infecciosos y varios factores de manejo que provocan estrés, tales como: el nivel de inmunoglobulinas en calostro, el tipo de alojamientos donde se mantiene a las becerras o la presencia de gases, producto de orina o heces en dichos alojamientos (Pijoan *et al.*, 1999).

El *Histophilus somni* es un organismo distribuido en todo el mundo (Juárez *et al.*, 2003). En Estados Unidos se logró aislar *H. somni* en pulmones de animales que padecían problemas respiratorios, lo que permitió dilucidar el papel de *H. somni* como agente etiológico en animales que con frecuencia pasaban desapercibidos (Gogolewski *et al.*, 1987).

En México, existen escasos reportes de la situación de la histofilosis en cuanto a su prevalencia e incidencia, en la comarca lagunera, no existen reportes

de este problema por lo que se considero importante al ser una de las cuencas lecheras más importantes realizar este estudio.

## **II. Justificación**

De acuerdo con los antecedentes y considerando que en la Comarca Lagunera no hay estudios del papel que juega el *Histophilus somni* en los problemas respiratorios de bovinos, es importante realizar la presente investigación para determinar la importancia de este en los problemas neumónicos y ayudar con esto a realizar un diagnóstico diferencial eficiente.

### **III. Objetivos**

Realizar estudios microbiológicos de pulmones neumónicos de bovinos sacrificados en el rastro municipal de Gómez Palacio, Durango para el diagnóstico de *Histophilus somni*.

## IV. Revisión de literatura

### 4.1 Historia

En 1956, un microorganismo, *Histophilus ovis* fue aislado ganado ovino con problemas de mastitis (Ward *et al.*, 1995). En 1958, un organismo similar se aisló en corderos con septicemia en Australia y fue identificado como *Haemophilus agni* (Angen *et al.*, 2003). Dos años después, en 1960, un organismo con características similares fue aislado de casos de bovinos con meningoencefalitis trombótica (TME) (Sample and Czuprynski 1991). En 1969, el nombre *Histophilus somni* fue propuesto para esta bacteria (Angen *et al.*, 2003). El criterio para reclasificarlo está basado en varios aspectos tales como el no requerir de los factores X ni V para su crecimiento, y existir similitud con otras especies como *Histophilus ovis* y *Haemophilus agni*, por lo que con estudios filogenéticos, de hibridación, secuenciación (Angen *et al.*, 2003) y el desarrollo de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), se demostró que *Histophilus somni*, *Haemophilus agni* e *Histophilus ovis* representan la misma especie; por lo que se propuso reclasificar a este microorganismo y nombrarlo *Histophilus somni* (Aguilar *et al.*, 2005).

#### 4.1.1 Requerimientos

*Histophilus*, palabra que deriva del griego y significa “que ama la sangre” *Histophilus somni* (conocido anteriormente como *Haemophilus somnus*), es un cocobacilo gram-negativo (Kuckleburg *et al.*, 2007), oxidasa positivo, pleomórfico, requiere de una atmósfera parcial de 10 % de CO<sub>2</sub> (Aguilar *et al.*, 2005) y no necesita factores de crecimiento. Que normalmente es indol positivo y produce pigmento amarillento (Aguilar *et al.*, 2005). *Histophilus somni* es un comensal del tracto genitourinario y en ocasiones las vías respiratorias superiores, considerado como un patógeno oportunista de los bovinos (Inzana *et al.*, 2002; Siddaramppa and Inzana 2004; Challacombe *et al.*, 2007).

## 4.2 Taxonomía

El *Histophilus somni* está clasificado dentro del Phylum: Proteobacterias, Clase: Gammaproteobacterias, Orden: Pasteurellales, Familia: Pasteurellaceae, Género: Haemophilus (Sandal *et al.*, 2007; Challacombe *et al.*, 2007; Angen *et al.*, 2003).

### Especies de interés veterinario

ESPECIE	ETIOLOGÍA	ENFERMEDAD
Bovinos	<i>Histophilus somni</i>	Problemas neumónicos, TME, y del tracto genital
Cerdos	<i>Haemophilus parasuis</i>	Síndrome respiratorio “Enfermedad de Glasser”
Aves	<i>Haemophilus paragallinarum</i>	Coriza Infecciosa
Equinos	<i>Haemophilus equigenitalis</i> ( <i>Taylorella</i> )	Endometritis y Cervicitis equina.

(Challacombe *et al.*, 2007; Morí, 2009).

### 4.2.1 Enfermedades

El *Histophilus somni*, provoca diversas enfermedades en el ganado bovino, incluida la neumonía (Inzana *et al.* 1997), laringitis, traqueítis (Corbeil *et al.*, 1991), septicemia (Ward *et al.*, 1999; Corbeil *et al.*, 1991), aborto (Howard *et al.*, 2000), meningoencefalitis trombótica (TEM) (Wu *et al.*, 2000), artritis (Corbeil *et al.*, 1997), miocarditis (Kuckleburg *et al.*, 2008), pleuritis (Martin *et al.*, 1998), fiebre de

embarque (Inzana *et al.*, 2002; Kuckleburg *et al.*, 2007; Corbeil *et al.*, 1997) y muerte súbita (Sanfacon and Higgins 1983). Se han asociado en casos de mastitis (Lees *et al.* 1994), conjuntivitis (Starost 2001), otitis (Higgins *et al.*, 1987; Starost 2001), epididimitis, sinovitis (Starost 2001), vaginitis, cervicitis, endometritis (Kwiecien and Little 1991), muerte precoz de los embriones (Butt *et al.*, 1991) e infertilidad (Corbeil 2007). En el ganado ovino, es asociada a septicemia, epididimitis, aborto, meningitis, vulvitis, y mastitis (Ward, *et al.*, 1995; Ward, *et al.*, 1999). En cerdos, la enfermedad de glasser; en aves la corisa infecciosa (Quinn *et al.*, 2002).

Los bovinos albergan a esta bacteria en el tracto genital en forma clínica inaparente en una frecuencia menor (10 o 27%) (Kwiecien and Little 1992). Por lo cual no ha recibido la atención debida, porque normalmente se le considera un germen saprofito, y porque raramente se le ha aislado del útero u otras estructuras del tracto genital (Güiris *et al.*, 2001).

### **4.3 Epidemiología**

El *Histophilus somni*, ha sido reconocido como un importante agente patógeno en los ruminantes domésticos (Lees *et al.* 1990), es uno de los agentes bacterianos responsables de la enfermedad complejo respiratorio bovino (CRB), conocido comúnmente como "fiebre de embarque" (Kuckleburg *et al.*, 2008), que es responsable de 61,5% de la mortalidad del ganado de engorda en América del Norte, así como la disminución de peso (Sandal *et al.*, 2007).

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; posteriormente se publicó el aislamiento a partir de pulmones de becerros con lesiones neumónicas (Aguilar *et al.*, 2005). Correa y colaboradores en 1975, realizaron el primer estudio sobre *H. somni* en cuatro estados de la

Republica Mexicana y detectaron anticuerpos en suero de ganado con historia clínica de problemas reproductivos y respiratorios, en un estudio realizado en diferentes regiones del país, las prevalencias variaron de 2% a 9.2% (Solís *et al.*, 2008).

La enfermedad respiratoria, falla reproductiva y TME, son las enfermedades más frecuentes asociada a la infección de *H. somni* (Starost 2001; Inzana *et al.*, 1997). La enfermedad respiratoria causada por esta bacteria ocurre a menudo en el sector de terneros de carne de dos a seis meses de edad cuando la inmunidad del calostro disminuye (Van Donkersgoed *et al.*, 1994b). 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 (Güiris *et al.*, 2001).

Las pérdidas causadas por *H. somni* en neumonía se producen en todo el mundo, con informes de la enfermedad en América del Norte, Europa y Australia (Gogolewski *et al.*, 1988). En el Oeste de Canadá, *Histophilus somni* (HS) se ha convertido en una causa frecuente de miocarditis, neumonía y pleuritis en el ganado de engorda (Martin *et al.*, 1998).

La enfermedad por *Histophilus somni* depende del sistema u órgano afectado, puede ser aguda o crónica y mortal o subletal (Inzana *et al.*, 1997). Las tasas de morbilidad varían considerablemente entre los rebaños, va desde muy pocos a varios animales afectados a la vez. Sin embargo, al momento de mezclar ganado procedente de lugares distintos, tiende a precipitar la aparición de la enfermedad (Siddaramppa and Inzana 2004b).



#### 4.4 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 (Inzana *et al.*, 1997).

La tasa de infección en bovinos sanos es alta, lo que evidencia dos posibilidades: La existencia de cepas no patogénicas de *Histophilus somni*, incapaces de producir enfermedad o la existencia de factores predisponentes para que cepas potencialmente patogénicas que colonizan los distintos órganos en forma inaparente puedan producir la enfermedad, ya que sea en su forma nerviosa, respiratoria o reproductiva (Kwiecien *et al.*, 1994; Piscitelli *et al.*, 2000)

Se sabe que cepas potencialmente patogénicas del organismo son resistentes a la acción del complemento (serie de elementos sanguíneos cuya acción destruye a los microorganismos), esto es debido probablemente a un factor de virulencia y ya que *H. somni* expresa en su superficie celular ciertas proteínas (llamadas receptores Fc) capaces de fijar inmunoglobulinas y así escapar a la acción del sistema inmune. Así mismo ha sido comprobado que *H. somni* contiene un factor que impide la función microbicida de los neutrófilos. Estas células, por tanto, si bien son capaces de ingerir a los organismos, son incapaces de matarlos y no solo eso, sino que *H. somni* puede multiplicarse dentro de los neutrófilos (Kwiecien and Little 1991).

*H. somni* pueden multiplicarse dentro de las células del sistema fagocito mononuclear de bovinos bajo condiciones experimentales en las que los monocitos no se comprometan en su capacidad para matar a otras bacterias ingeridas, tales como *Escherichia coli* (Lederer *et al.*, 1987).

*H. somni* se adhiere a las células endoteliales por el alto peso molecular IgBPs, y provoca la apoptosis de esta célula. La trombosis ocurre sobre la superficie de las células endoteliales dañadas. La multiplicación intravascular trae endotoxemia (Dwight *et al.*, 2004).

Varios estudios han demostrado una marcada diferencia entre las cepas clínicas y de soporte en la capacidad para causar enfermedad neumónica experimental (Corbeil *et al.*, 1997).

*H. somni* es capaz de provocar cambios tóxicos y defoliación de células endoteliales arteriales cultivadas *in vitro*. Este hallazgo es importante debido a que una de las principales lesiones producidas por el organismo en casos de TME es la trombosis de los vasos sanguíneos cerebrales, producidos por daño al endotelio vascular (Dewey and Little 1984; Gogolewski *et al.*, 1987). La muerte súbita de los terneros o novillos de engorda por miocarditis aguda con infarto del músculo cardíaco debido a émbolos producidos por vasculitis de los vasos coronarios del músculo cardíaco son consideradas lesiones patognomónicas de muerte por *H. somni* (Ribble *et al.*, 1988).

*Histophilus somni* no es capaz de prolongar la supervivencia fuera del cuerpo. Experimentalmente se ha demostrado que siguen siendo viables a 23.5 ° C en la sangre o moco nasal por lo menos 70 días, y en el moco vaginal un máximo de cinco días. No sobrevive en el medio ambiente durante más de dos horas en la orina. *H. somni* también pueden sobrevivir durante largos períodos de tiempo en las secreciones biológicas a - 70 ° C (Harris and Janzen 1989).

La capacidad sistémica de "*H. Somni*" para sobrevivir y causar lesiones en el sistema nervioso central y las articulaciones, sugiere que la diseminación hematógena puede ser la responsable de los abortos esporádicos causados por "*H. somni*" en el campo (Widders *et al.*, 1986).

Se ha informado de que algunas cepas de *H. somni* que no incorporan ácido siálico no son capaces de producir la enfermedad. Otra modificación es la adición de fosforilcolina (ChoP) en el exterior del núcleo de lipooligosacáridos (Kuckleburg *et al.*, 2007).

## 4.5 Factor de virulencia

*H. somni* es una bacteria patógena oportunista. En ausencia de factores que favorecen la enfermedad y la inmunidad, como el estrés del transporte, la infección viral concurrente, el hacinamiento, la preñez, la lactancia y el medio ambiente, *H. somni* lleva una existencia relativamente no invasiva como comensal de las superficies de las mucosas de las vías respiratorias y reproductivas de los bovinos. Sin embargo, *H. somni* también posee una amplia gama de atributos de virulencia diseñado para protegerse contra las defensas del huésped y promover la colonización de sitios diferentes tejidos (Siddaramppa and Inzana 2004b).

*H. somni* expresa una amplia gama de factores de virulencia, incluida la variación de fase lipopoligosacaridos epítomos (Inzana *et al.*, 1997; Sandal *et al.*, 2007), modificación de lipooligosacaridos con ácido siálico y fosforilcolina (Sandal *et al.*, 2007; Kuckleburg *et al.*, 2008); expresión de alto peso molecular (Sandal *et al.*, 2007), las proteínas de unión a la inmunoglobulina (Inzana *et al.*, 1997; Sandal *et al.*, 2007; Kuckleburg *et al.*, 2008), la actividad de endotoxina (Inzana *et al.*, 1997), la supervivencia intracelular en los fagocitos y la inducción de la apoptosis (Sandal *et al.*, 2007). El factor más estudiado de *H. somni* son los lipopoligosacaridos (LOS) que se encuentra en la membrana externa (Sylte *et al.*, 2001).

La cápsulas, pili, flagelos (Inzana *et al.*, 1988; Inzana *et al.*, 1992) y la potencia de sus exotoxinas no han sido bien identificado en *H. somni*, sin embargo, produce una débil hemólisis en agar sangre después de 48 hrs de la incubación (Inzana *et al.*, 1992).

### 4.5.1. Capsula

Está constituida por mucopolisacarido que resisten el reconocimiento y destrucción por parte de los neutrófilos y macrófagos alveolares del tracto respiratorio y otras mucosas (Corbeil *et al.*, 1986; Gogolewski *et al.*, 1987).

#### **4.5.2. Proteínas de la membrana externa**

Las bacterias Gram-negativas son generalmente caracterizadas por lo menos 10-20 proteínas de la membrana externa y mayor 4-5 de proteínas de la membrana externa (Thomson *et al.*, 1990).

Tienen entre 10 y 15 moléculas de adhesión diferentes las cuales se sospecha están involucradas a la adherencia de la bacteria a las células endoteliales (Dwight *et al.*, 2004). Ya que se encuentran adheridas a las bacterias formaran núcleos de crecimiento que causaran la necrosis del endotelio y la subsecuente exposición del colágeno, el cual entrar en contacto con el plasma activa la acción de las plaquetas y de la cascada intrínseca de coagulación, esto con lleva a la formación de trombos pulmonares (Gogolewski *et al.*, 1987; Inzana *et al.*, 1988).

#### **4.5.3. Endotoxinas**

Es un lipopoligosacarido de la pared de la bacteria (Sylte *et al.*, 2001; Inzana *et al.*, 1988). Estas puede mejorar el proceso patógeno de infecciones de bacterias gram negativas mediante una interacción con diversos sistemas de defensa, lo cual puede resultar en la liberación de mediadores de la inflamación (Inzana *et al.*, 1988). Un nanogramo de esta sustancia es suficiente para desencadenar la cascada de coagulación extrínseca, además puede causar una endotoxina que provoque choque, exacerbación de la inflamación y coagulopatía (Siddaramppa and Inzana 2004a).

El lipopoligosacarido, contribuye mucho a la formación de vasculitis y otras lesiones asociadas a la infección de *H. somni* (Gogolewski *et al.*, 1987; Kuckleburg *et al.*, 2008; Sylte *et al.*, 2001).

## 4.6 Signos y lesiones

Los signos respiratorios más comunes son, descarga nasales (delgada y aguda o densa y purulenta), tos seca especialmente después del ejercicio ( la tos puede persistir a un después de que el animal se haya recuperado de la enfermedad), molestias respiratorias (dificultad para respirar o disnea) y temperatura rectal mayor a 41 ° C (Wattiaux 2005). Para facilitar la respiración y mitigar el dolor, los animales afectados adoptan posturas ortopneicas, encorvando el lomo y estirando el cuello, con la boca abierta, ptialismo y las extremidades anteriores separadas (Dieguez *et al.*, 2003).

La presentación clínica de la infección sistémica por *Histophilus somni* varia a fiebre, anorexia, ataxia, hiperestesia, ataxia, rigidez, ceguera, apatía, hipersalivación, tos, caquexia y sobreviene finalmente la muerte, aunque ésta última puede presentarse repentinamente sin que el bovino presente signos de enfermedad (Córdova *et al.*, 2001)

La aparición de lesiones neumónicas depende de una serie de interacciones complejas entre ellas, los diferentes agentes infecciosos, el estado inmunológico del becerro, y los factores ambientales (Van Donkersgoed *et al.*, 1995; Pijoan *et al.*, 1999).

Las lesiones neumónicas se caracterizan por consolidación pulmonar gris a roja, que pueden involucrar de un 5% a un 80% del volumen pulmonar total, siendo poco frecuente encontrar una pleuritis de tipo fibrinoso (Pijoan *et al.*, 1999).

En la necropsia de los animales con enfermedad respiratoria por *H. somni* muestra faringitis, laringitis, traqueítis, en ocasiones también pleuritis fibrinosa (Orr, 1992; Quiroz, 2009), bronconeumonía supurativa con o sin necrosis y exudado fibrinoso; neumonía embólica supurativa con vasculitis, bronquiolitis (Orr 1992) y/o infartos del miocardio de la pared ventricular izquierda (Quiroz, 2009).

La lesión pulmonar principal de *H. somni* es una pleuroneumonía fibrinosa, similar a la producida por *P. haemolytica* (Trigo, 1987).

Histológicamente se observa una vasculitis serofibrinosa generalizada alveolar, y con la infiltración masiva leucocitos con macrófagos y neutrófilos degenerados (Kwiecien *et al.*, 1994), necrosis del epitelio bronquiolar con infiltración de neutrófilos (Groom *et al.*, 1988), necrosis lobulares, trombosis (Sample and Czuprynski 1991), y dilatación de los vasos linfáticos pulmonares (Quiroz, 2009).

Las hemorragias multifocales en todo el SNC de los animales afectados por *H. somni* son casi patognomónicos de la infección (Behling-Kelly *et al.*, 2007).

#### **4.7 Agente frecuente aislado en casos de neumonías**

Los principales agentes encontrados en los procesos neumónicos de terneros y bovinos adultos pueden ser virus tales como parainfluenza tipo 3, virus respiratorio sincital bovino, rinotraqueítis infecciosa bovina (IBR), diarrea viral bovina (Solís *et al.*, 2008) y agentes bacterianos asociados son *Pasteurella multocida* serotipos A y D, *Mannheimia haemolytica* serotipo A1 (Salmon *et al.*, 1993; Van Donkersgoed *et al.*, 1995), *Actinomyces pyogenes* (Salmon *et al.* 1993), *Streptococcus spp*, *Mycoplasma spp*, *Histophilus somni* (antes *Haemophilus somnus*), *Streptococcus zooepidemicus*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella dublin*, entre otros (Solís *et al.*, 2008; Li and Alvarado 2006). El *Histophilus somni* es un agente patógeno reconocido del sistema respiratorio en el ganado bovino (Martin *et al.*, 1998).

#### 4.8 Métodos de diagnóstico

*Histophilus somni* no sobrevive en periodos prolongados en medios de transportes usados comúnmente, así los hisopos para el cultivo de bacteria deben ser frescos, húmedos y rápidamente transportados al laboratorio bajo refrigeración. Esto incrementa la supervivencia de la bacteria de 1 a 3 días, si se mantiene la cadena de frío a 4 °C hasta el laboratorio. Un diagnóstico a base de un estudio bacteriológico puede ser negativo, ya que a menudo no es posible aislar *Histophilus somni* de bovinos tratados con antibióticos. La presencia de *H. somni* no es necesariamente indicativo de una enfermedad, porque son portadores asintomáticos (Kania *et al.*, 1990).

El diagnóstico de la enfermedad causada por *H. somni* se realiza por el aislamiento e identificación del organismo o mediante la detección de un aumento de anticuerpos a *H. somni* en muestras de suero vinculadas. Diagnóstico de la enfermedad se complica por la heterogeneidad y la falta de reactividad de los organismos *H. somni* en pruebas bioquímicas y las pruebas bioquímicas de los anticuerpos que una reacción cruzada con todas las bacterias se utilizadas como antígeno en las pruebas estándar de microaglutinación o ensayo inmunoenzimático (ELISA) (Thomson *et al.*, 1990).

La técnica contra inmunoelectroforesis ha sido utilizada para detectar reacciones cruzadas entre *H. somni* y otras bacterias (Sanfacon *et al.*, 1983).

El antígeno-270K receptores Fc fue reconocido por de la fase del suero de convalecencia, parece probable que la respuesta inmune a este antígeno puede ser importante en la protección y/o el inmunodiagnóstico (Yarnall and Corbeil 1989).

En estudios recientes en los que utilizaron la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) específica para identificación de *H. somni*, en donde probaron cepas identificadas previamente como *Histophilus ovis* y *Haemophilus agni* y se obtuvieron resultados positivos para PCR, por lo que llegaron a la

conclusión que estos dos géneros deben clasificarse como *H. somni* (Palomares *et al.*, 2009).

#### **4.8.1 Medio requerido para el aislamiento e identificación**

Agar chocolate (ACH) preparado con Infusión cerebro corazón agar suplementado con 10 % de sangre desfibrinada de bovino y 0.5% de extracto de levadura, e incubaron a 37 °C durante 24 a 48 h con atmósfera de 10% de CO<sub>2</sub> (Quiroz, 2009).

Agar chocolate (ACH) Este puede prepararse calentando una base de agar de sangre estéril a una temperatura (alrededor de 80°C) suficientemente alta como para lisar los eritrocitos de carnero y liberar los factores de X y V. Debe evitarse el calentamiento prologado el factor V es termolábil. Una desventaja de que no puede determinar las propiedades hemolíticas del *Haemophilus haemolyticus* y *Haemophilus parahaemolyticus* (Monkeyro, 2009).

La colonia de crecimiento de *H. somni* sobre agar chocolate llega a un tamaño de 1-2 mm en 2-3 días y son húmedos, redondo y convexo con una consistencia butirosa y un pequeño color amarillo gris, mejor observado cuando la colonia activamente hemolítica. Estas bacterias no pueden ser presentadas a ser encapsulado. No presenta alcohol acido, no motil ni presenta filis, flagelos, y no produce espora (Aguilar *et al.*, 2005).



#### 4.9 Control y tratamiento

Para el control de la infección por *Histophilus somni* requiere de un diagnóstico precoz y exacto, así como la identificación de animales portadores (Howard *et al.*, 2000). Esta bacteria se encuentra presente en las mucosas de las vías respiratorias y del aparato urogenital en forma clínicamente inaparente (Lees *et al.* 1990). Lo que quiere decir que la presencia de *H. somni* no es necesariamente indicativo de una enfermedad, ya que son portadores asintomáticos (Kania *et al.*, 1990).

La aparición de la neumonía depende de una serie de complejas interacciones entre los diferentes agentes infecciosos, el estado inmunológico del becerro, y los factores ambientales (Van Donkersgoed *et al.*, 1995).

Una forma de controlar la ocurrencia de neumonías es reduciendo parcial o la eliminación de los factores de predisposición y mejoramiento de las fallas en las técnicas de manejo. Consumo adecuado de calostro, instalaciones adecuadas (corrales secos e individuales), en buena ventilación natural y evitar el estrés nutricional son caminos efectivos para reducir la incidencia de neumonías. Cuando un animal se enferma, la detección temprana es importante para mejorar la probabilidad de supervivencia (Trigo, 1987).

Para controlar un cuadro neumónico agudo el uso sólo de antibióticos es insuficiente ya que estos destruyen a las bacterias causantes de la neumonía, pero hacen muy poco por controlar los efectos adversos producidos por la infección, como son la fiebre, inflamación y la endotoxemia (Li and Alvarado 2006).

Las infecciones respiratorias por *Histophilus somni* son típicamente subaguda a crónica, lo que sugiere que los mecanismos de defensa innata son incapaces de eliminar el organismo durante las primeras etapas de la infección (Lederer *et al.*, 1987).

En México existe muy poca información confiable sobre los niveles de resistencia antimicrobiana en *Pasteurella spp* o *H. somni* la información disponible tiene más de 10 años de haber sido publicada (Pijoan and Aguilar 2000).

Resulta efectivo el tratamiento temprano con ampicilina, oxitetraciclina o eritromicina (Quiroz 2009). Pero *H. somni* es sensible a Florfenicol, penicilina G, tilmicosin y tetraciclina (Dwight *et al.*, 2004).

#### 4.9.1 Resistencia y sensibilidad de antimicrobianos

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

Antibióticos	Resistentes	Sensibilidad media	Sensibilidad alta
<b>Eritromicina</b>	9.1	54.5	36.4
<b>Cefalexina</b>	0	72.7	27.3
<b>Gentamicina</b>	27.3	45.5	27.3
<b>Tetraciclina</b>	27.3	63.6	9.1
<b>Mezlocilina</b>	0	27.3	72.7
<b>Sulfametoxazol-trimetoprim</b>	54.5	18.2	27.3
<b>Amoxicilina</b>	0	45.5	54.5
<b>Cefotaxima</b>	0	27.3	72.7
<b>Florfenicol</b>	27.3	63.6	9.1
<b>Ampicilina</b>	81.8	18.1	0
<b>Penicilina</b>	81.8	18.1	0
<b>Tilmicoci</b>	36.3	45.4	18.1
<b>Cloxacilina</b>	63.6	18.2	18.2
<b>Oxitetraciclina</b>	63.6	36.4	0
<b>Estreptomina</b>	100	0	0
<b>Kanamicina</b>	100	0	0
<b>Lincomicina</b>	100	0	0

(Pijoan and Aguilar 2000)

#### 4.9.2 Vacunación

La vacunas muertas de *H. somni* disponibles comercialmente, es mínima su eficacia en la prevención de la neumonía (Gogolewski *et al.*, 1987). Existen una vacuna que contiene antígenos de membrana externa de *Histophilus somni* se ha utilizado anteriormente con éxito en contra de la inducción experimental forma septicémica de la enfermedad (Silva and Little 1990).

La aplicación de una bacterina a tiempo, es decir, antes de la introducción en un nuevo hato, o la aplicación oral profiláctica de antibióticos parece bajar la tasa de enfermedad y los costos terapéuticos (Quiroz, 2009).

Un estudio en Estados Unidos se una bacterina con inmunoglobulina G1 (IgG1) y IgG2, que actúa contra la proteína de la membrana externa (OMP), protege pasivamente a los becerros contra neumonía producido por este agente (Gogolewski *et al.*, 1987).

En estudios previos, que demostraron que el suero de la fase de convalecencia protege contra *H. somni* experimental inducida por neumonía (Corbeil *et al.*, 1988).

Se realizo un estudio demostrado la protección pasiva con suero de los terneros que se habían recuperado de la neumonía por *Histophilus somni* (Gogolewski *et al.*, 1988).

## V. Materiales y métodos

El trabajo de investigación se realizó en dos tiempos, una fase de campo y una fase de laboratorio. La fase de campo se llevó a cabo en el rastro municipal de Gómez Palacio, Durango, donde se realizó la observación anatómica de pulmones de animales que fueron sacrificados en el rastro municipal (durante 12 semanas, una vez por semana), que presentaban evidencias patológicas de lesiones neumónicas, caracterizadas por presentar áreas rojas de consolidación y atelectasia, pulmones no colapsados o con presencia de abscesos y granulomas. Se obtuvieron 32 muestras con las lesiones. Las muestras se recolectaron en bolsas herméticas con refrigerante para evitar cualquier cambio postmortem, posteriormente fueron remitidas a la Unidad de Diagnóstico donde fueron congeladas, esto fue para conservación de las mismas y su posterior manejo.

La fase de laboratorio se realizó en la Unidad de Diagnóstico del Departamento de Ciencias Médico Veterinarias de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna. Las muestras se sembraron en Agar Chocolate.

### 5.1 Aislamiento de *Histophilus somni*

**Preparación del agar.** Rehidratar 40g de agar sangre en un litro de agua destilada. Reposar 10 a 15 min calentar agitando frecuentemente hasta el punto de ebullición durante 1 min. Para disolverlo por completo. Esterilizar en autoclave a 121 °C (15 lbs. de presión) durante 15 min. Enfriar aproximadamente a 45 °C y agregar de 5 a 10 % de sangre de bovino estéril desfibrinada girando suavemente el matraz para evitar la formación de burbujas homogenizar y vaciar en cajas de petri estériles.

Para sustituir el agar chocolate se hizo el mismo procedimiento que en el anterior solo que la temperatura que se dejó enfriar fue de 70-75 °C y se colocó la

sangre desfibrinada de bovino en un 5 a 10 % y se vació en cajas de petri estériles.

Se deja enfriar durante una media hora hasta que estén endurecidas y almacenarlas en una estufa a 37 °C, durante 24 hrs. Esto es para ver si no hay ningún crecimiento de algunos contaminantes, y después de no a ver crecido nada se pasaron al refrigerador. Para poder sembrar es necesario que no haya ninguna contaminación.

Las muestras de pulmón se sembraron en agar chocolate y agar sangre. Se incubaron, con 10% CO<sub>2</sub> durante 24 a 48 horas, después de un crecimiento positivo se seleccionaron las colonias con características compatibles a la de *Histophilus somni*, se realizaron tinción de Gram.

## **5.2. Identificación de la cepa**

Se identifica de acuerdo a las características de la colonia y su morfología como su forma circular, convexa, brillante, tamaño aproximadamente de 1 a 2 mm, pigmento ligeramente amarillento y consistencia similar a la mantequilla (Ward *et al.*, 1999; Aguilar *et al.*, 2005).

## VI. Resultado y discusión

Del total de las muestras estudiadas, el 100% resulto negativa a el aislamiento de *Histophilus somni*. A las muestras que tuvieron crecimiento característico de la colonia y su morfología se les realizó una tinción de Gram, sin embargo, de aquellas que mostraron crecimiento con la muestra de referencia, ninguna de las laminillas observadas (15) concordó con las características microscópica de *Histophilus somni*.

Se debe tomar en cuenta que esta bacteria no es capaz de prolongar la supervivencia fuera del cuerpo, ya que estas no sobreviven en el medio ambiente durante más de dos horas en la orina, aunque pueden sobrevivir durante largos períodos de tiempo en las secreciones biológicas a - 70 ° C (Harris and Janzen 1989). En otra investigación se demostró que siguen siendo viables a 23,5 ° C en sangre o moco nasal, por lo menos durante 70 días y en el moco vaginal un máximo de cinco días.

En un estudio realizado por Pijoan *et al*; (1999), en Tijuana, Baja California, México donde se tomaron muestras pulmonares de 100 becerras con antecedentes de haber padecido neumonía. Las muestras pulmonares se preservaron entre 4<sup>o</sup> y 6 °C durante un máximo de 6 horas, hasta su análisis. Se sembraron en agar sangre y agar chocolate, y se cultivaron a 37°C por 24-48 horas, bajo condiciones anaerobias, respectivamente. Después del aislamiento primario, las cepas bacterianas se observaron al microscopio con la tinción de Gram, y se les aplicó la prueba de catalasa. Se obtuvieron un total de 11 (9.8%) aislamientos de *Histophilus somni*.

El estudio referido difiere del nuestro ya que las muestras de tejido neumónico se conservaron a una temperatura y tiempo de conservación diferente a las nuestras (Pijoan *et al*; 1999).

En un estudio realizado por Ward *et al.*, (1995) se hizo una comparación del aislado de *Histophilus somni* en 18 aislamiento, 17 de ellos fueron previamente

identificadas como *H. somni* y 1 ligado a *H. somni*. Los cuales fueron 12 de ovinos y 6 de bovinos. En el caso de los bovinos 1 fue de aborto, 1 de neumonía, 1 de miocarditis, 1 de meningoencefalitis y 2 de las muestras prepurciales de los toros asintomáticos. En el aislado de las ovejas se incluyeron 3 de los casos de septicemia, 3 de orquitis y/o epididimitis y 5 de muestras prepurciales, y un aislado de nódulo linfático de una oveja que murió sin la asociación del organismo. Todos los aislados previamente se conservaron en un 40% fosfato tampón (pH 7,2), mas 60 % de solución de glicerol a -70 ° C. los organismos se proporcionaron del reservado conservado en el agar sangre Columbia, con 5% de sangre de ovino (CBA) O infusión cerebro corazón (BHI) agar (Difco) con 5% de sangre ovina o bovina.

Aguilar *et al.*, (2005) en un estudio utilizo placas de agar chocolate (ACH) preparado con Infusión cerebro corazón agar suplementado con 10 % de sangre desfibrinada de bovino y 0.5% de extracto de levadura, e incubaron a 37 °C durante 24 a 48 h con atmósfera de 10% de CO<sub>2</sub>.

El hecho de que no se obtuvo ningún aislamiento positivo esperado en este trabajo realizado con muestras de tejido neumónico, probablemente se debió a la temperatura de conservación de la muestras, también se debe tomar en cuenta si los animales muestreados no fueron sometidos a alguna antibioterapia, ya que es un factor muy importante ya que existen varios estudios que menos entre un 32 % de los pulmones neumónicos que llegan al laboratorio de diagnósticos contienen residuos antibióticos. Otro aspecto se debe al medio de cultivo recomendado agar chocolate o infusión cerebro corazón.



## VII. Conclusión

El total de las muestras trabajadas no se encontró la participación de *Histophilus somni* en lesiones neumónicas de los animales muestreados al menos durante el periodo, en la Comarca Lagunera, probablemente el hecho de que los animales muestreados con presencia de lesiones neumónicas se encontraban en diferentes etapas de antibioterapia.

Otra posible causa podría deberse a el uso de vacunas contra *Histophilus somni*.

Otra razón podría deberse a el largo periodo en el cual estuvieron almacenados (3 meses), ya que en otros estudios el periodo de almacenamiento no fue superior a 12 hrs.

## VIII. Literatura citada

- Aguilar, R. F., T. F. Trigo, H. F. López, J. Ávila G, and G. F. Suarez 2005. *Histophilus somni* (*Haemophilus somnus*) isolated from dairy cattle with reproductive disorders. *Téc Pecu Méx* 42 (2):185-195.
- Angen, O., P. Ahrens, P. Kuhnert, H. Christensen, and R. Mutters. 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 (Pt 5):1449-1456.
- Behling-Kelly, E., D. McClenahan, K. S. Kim, and C. J. Czuprynski. 2007. Viable "*Haemophilus somnus*" induces myosin light-chain kinase-dependent decrease in brain endothelial cell monolayer resistance. *Infect Immun* 75 (9):4572-4581.
- Butt, B. M., P. L. Senger, and P. R. Widders. 1991. Neutrophil migration into the bovine uterine lumen following intrauterine inoculation with killed *Haemophilus somnus*. *J Reprod Fertil* 93 (2):341-345.
- Corbeil, L. B. 2007. *Histophilus somni* host-parasite relationships. *Anim Health Res Rev* 8 (2):151-160.
- Corbeil, L. B., F. D. Bastida-Corcuera, and T. J. Beveridge. 1997. *Haemophilus somnus* immunoglobulin binding proteins and surface fibrils. *Infect Immun* 65 (10):4250-4257.
- Corbeil, L. B., G. Chikami, M. Yarnall, J. Smith, and D. G. Guiney. 1988. Cloning and expression of genes encoding *Haemophilus somnus* antigens. *Infect Immun* 56 (10):2736-2742.
- Corbeil, L. B., S. A. Kania, and R. P. Gogolewski. 1991. Characterization of immunodominant surface antigens of *Haemophilus somnus*. *Infect Immun* 59 (12):4295-4301.
- Corbeil, L. B., P. R. Widders, R. Gogolewski, J. Arthur, T. J. Inzana, and A. C. Ward. 1986. *Haemophilus somnus*: Bovine Reproductive and Respiratory Disease. *Can Vet J* 27 (2):90-93.

- Challacombe, J. F., A. J. Duncan, T. S. Brettin, D. Bruce, O. Chertkov, J. C. Detter, C. S. Han, M. Misra, P. Richardson, R. Tapia, N. Thayer, G. Xie, and T. J. Inzana. 2007. Complete genome sequence of *Haemophilus somnus* (*Histophilus somni*) strain 129Pt and comparison to *Haemophilus ducreyi* 35000HP and *Haemophilus influenzae* Rd. *J Bacteriol* 189 (5):1890-1898.
- Dewey, K. J., and P. B. Little. 1984. The pathogenicity of *Haemophilus somnus* in various laboratory animal species. *Can J Comp Med* 48 (1):27-29.
- Dieguez, C. J., H. P. M. Sanjuan, and R. E. Yus. 2003. Infecciones respiratorias bovinas: Etiologia, epidemiologia y cuadro clínico. Universidad de Santiago de Compostela. URL:[www.produccion-animal.com.ar](http://www.produccion-animal.com.ar):(On line )04-06-09
- Dwight, C. H., M. N. James, and R. L. Walke. 2004. Veterinary Microbiology. Second edition. Blackwell. Pag. 95-99
- Gogolewski, R. P., S. A. Kania, T. J. Inzana, P. R. Widders, H. D. Liggitt, and L. B. Corbeil. 1987. Protective ability and specificity of convalescent serum from calves with *Haemophilus somnus* pneumonia. *Infect Immun* 55 (6):1403-1411.
- Gogolewski, R. P., S. A. Kania, H. D. Liggitt, and L. B. Corbeil. 1988. Protective ability of antibodies against 78- and 40-kilodalton outer membrane antigens of *Haemophilus somnus*. *Infect Immun* 56 (9):2307-2316.
- Groom, S. C., P. B. Little, and S. Rosendal. 1988. Virulence differences among three strains of *Haemophilus somnus* following intratracheal inoculation of calves. *Can J Vet Res* 52 (3):349-354.
- Güiris, A. M., M. E. Rosales, G. Barcena, V. Lara, and J. A. Montaraz. 2001. Prevalencia de anticuerpos contra *H. somnus* en el ganado bovino del estado de Chiapas, México. *Vet. Méx.* 32 (3):213-219
- Harris, F. W., and E. D. Janzen. 1989. The *Haemophilus somnus* disease complex (*Hemophilosis*): A review. *Can Vet J* 30.
- Higgins, R., J. R. Martin, Y. Larouche, and G. Goyette. 1987. Mastitis Caused by *Haemophilus somnus* in a Dairy Cow. *Can Vet J* 28 (3):117-119.
- Howard, M. D., A. D. Cox, J. N. Weiser, G. G. Schurig, and T. J. Inzana. 2000. Antigenic diversity of *Haemophilus somnus* lipooligosaccharide: phase-

- variable accessibility of the phosphorylcholine epitope. *J Clin Microbiol* 38 (12):4412-4419.
- Inzana, T. J., G. Glindemann, A. D. Cox, W. Wakarchuk, and M. D. Howard. 2002. Incorporation of N-acetylneuraminic acid into *Haemophilus somnus* lipooligosaccharide (LOS): enhancement of resistance to serum and reduction of LOS antibody binding. *Infect Immun* 70 (9):4870-4879.
- Inzana, T. J., R. P. Gogolewski, and L. B. Corbeil. 1992. Phenotypic phase variation in *Haemophilus somnus* lipooligosaccharide during bovine pneumonia and after in vitro passage. *Infect Immun* 60 (7):2943-2951.
- Inzana, T. J., J. Hensley, J. McQuiston, A. J. Lesse, A. A. Campagnari, S. M. Boyle, and M. A. Apicella. 1997. Phase variation and conservation of lipooligosaccharide epitopes in *Haemophilus somnus*. *Infect Immun* 65 (11):4675-4681.
- Inzana, T. J., B. Iritani, R. P. Gogolewski, S. A. Kania, and L. B. Corbeil. 1988. Purification and characterization of lipooligosaccharides from four strains of "*Haemophilus somnus*". *Infect Immun* 56 (11):2830-2837.
- Juárez, B. F., F. J. Trigo, C. G. Chavez, and R. E. Vargas. 2003. Viral participation in respiratory disease in feedlot cattle, as identified by immunohistochemistry. *Vet. Méx.* 34 (1):1-12.
- Kania, S. A., R. P. Gogolewski, and L. B. Corbeil. 1990. Characterization of a 78-kilodalton outer membrane protein of *Haemophilus somnus*. *Infect Immun* 58 (1):237-244.
- Kuckleburg, C. J., S. F. Elswaifi, T. J. Inzana, and C. J. Czuprynski. 2007. Expression of phosphorylcholine by *Histophilus somni* induces bovine platelet aggregation. *Infect Immun* 75 (2):1045-1049.
- Kuckleburg, C. J., D. J. McClenahan, and C. J. Czuprynski. 2008. Platelet activation by *Histophilus somni* and its lipooligosaccharide induces endothelial cell proinflammatory responses and platelet internalization. *Shock* 29 (2):189-196.
- Kwecien, J. M., and P. B. Little. 1991. *Haemophilus somnus* and reproductive disease in the cow: A review. *Can Vet J* 32 (10):595-601.

- Kwiecien, J. M., and P. B. Little. 1992. Isolation of pathogenic strains of *Haemophilus somnus* from the female bovine reproductive tract. *Can J Vet Res* 56 (2):127-134.
- Kwiecien, J. M., P. B. Little, and M. A. Hayes. 1994. Adherence of *Haemophilus somnus* to tumor necrosis factor-alpha-stimulated bovine endothelial cells in culture. *Can J Vet Res* 58 (3):211-219.
- Lederer, J. A., J. F. Brown, and C. J. Czuprynski. 1987. "*Haemophilus somnus*," a facultative intracellular pathogen of bovine mononuclear phagocytes. *Infect Immun* 55 (2):381-387.
- Lees, V. W., A. H. Meek, and S. Rosendal. 1990. Epidemiology of *Haemophilus somnus* in young rams. *Can J Vet Res* 54 (3):331-336.
- Lees, V. W., W. D. Yates, and L. B. Corbeil. 1994. Ovine *Haemophilus somnus*: experimental intracisternal infection and antigenic comparison with bovine *Haemophilus somnus*. *Can J Vet Res* 58 (3):202-210.
- Li, E. O., and S. A. Alvarado. 2006. Efectividad y Tolerancia del Antibiótico Inyectable Oxitetraciclina al 30% (Duramycin 300 L.A.) en el tratamiento de neumonías bacterianas de Bovinos de Engorde en crianza intensiva. *Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de medicina veterinaria.*
- Martin, S. W., R. J. Harland, K. G. Bateman, and E. Nagy. 1998. The association of titers to *Haemophilus somnus*, and other putative pathogens, with the occurrence of bovine respiratory disease and weight gain in feedlot calves. *Can J Vet Res* 62 (4):262-267.
- Monkeyro. 2009. Seminario del género *Haemophilus* URL: <<http://www.monografias.com/trabajos16/haemophilus/haemophilus.shtml#A>>: (On line) 04-06-09.
- Morí Álvarez Lorena. 2009. Taxonomía de *Haemophilus*. URL: [www.unmsm.edu.pe/.../clase%20manhemia,%20haemophilus%20y%20actinobacilus.ppt](http://www.unmsm.edu.pe/.../clase%20manhemia,%20haemophilus%20y%20actinobacilus.ppt). (On line) 01-09-09.

- Orr, J. P. 1992. *Haemophilus somnus* infection: A retrospective analysis of cattle necropsied at the Western College of Veterinary Medicine from 1970 to 1990. *Can Vet J* 33 (11):719-722.
- Palomares, R. G., R. F. Aguilar, A. L. Hernández, D. J. P. Acosta, L. E. Herrera, and G. V. Tenorio. Aislamiento y caracterización de *Haemophilus somnus* en muestras de semen de carneros con epididimitis. . *Can J Vet Res* URL: [ammveb.net/XXVI%20CNB/memorias/rum/docs/rum01.doc](http://ammveb.net/XXVI%20CNB/memorias/rum/docs/rum01.doc) (On line) 11-06-09.
- Pijoan, A. P., and R. F. Aguilar. 2000. Resistencia y sensibilidad a antimicrobianos en cepas de *Pasteurella haemolytica*, *P. multocida* y *Haemophilus somnus*, aisladas en becerras lecheras en establos de Tijuana.
- Pijoan, A. P., R. F. Aguilar, and A. J. R. Morales 1999. Caracterización de los procesos neumónicos en becerros lecheros de la región de Tijuana, Baja California, México. *Vet. Méx.* 130 (2):149-155.
- Piscitelli, H. G., G. Zielinski, and A. Cipolla. 2000. Muerte súbita de bovinos en feed-lot. . *Jornada sobre enfermedades emergentes del bovino, F.A.V., UNRC, Rio cuarto.*
- Quinn, P. J., B. K. Markey, M. E. Carter, W. J. Donnelly y F. C. Leonard. 2002. *Veterinary Microbiology and Microbial Disease.* Blackwell. Pag. 147-151.
- Quiroz, M. Á. 2009. Neumonía en becerras. URL: <http://www.fmvz.unam.mx/bovinotecnia/BtRgCliG0010.pdf>. :(On line)04-06-09.
- Ribble, C. S., G. K. Jim, and E. D. Janzen. 1988. Efficacy of immunization of feedlot calves with a commercial *Haemophilus somnus* bacterin. *Can J Vet Res* 52 (2):191-198.
- Salmon, S. A., J. L. Watts, and R. J. Yancey, Jr. 1993. Evaluation of the RapID NH system for identification of *Haemophilus somnus*, *Pasteurella multocida*, *Pasteurella haemolytica*, and *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolated from cattle and pigs with respiratory disease. *J Clin Microbiol* 31 (5):1362-1363.

- Sample, A. K., and C. J. Czuprynski. 1991. Elimination of hydrogen peroxide by *Haemophilus somnus*, a catalase-negative pathogen of cattle. *Infect Immun* 59 (7):2239-2244.
- Sandal, I., W. Hong, W. E. Swords, and T. J. Inzana. 2007. Characterization and comparison of biofilm development by pathogenic and commensal isolates of *Histophilus somni*. *J Bacteriol* 189 (22):8179-8185.
- Sanfacon, D., and R. Higgins. 1983. Epidemiology of *Haemophilus somnus* infection in dairy cattle in Quebec. *Can J Comp Med* 47 (4):456-459.
- Sanfacon, D., R. Higgins, K. R. Mittal, and G. L'Archeveque. 1983. *Haemophilus somnus*: a comparison among three serological tests and a serological survey in beef and dairy cattle. *Can J Comp Med* 47 (3):304-308.
- Siddaramppa, S., and T. J. Inzana. 2004a. *Haemophilus somnus* virulence factors and resistance to host immunity. *Anim Health Res Rev* 5 (1):79-93.
- Silva, S. V., and P. B. Little. 1990. The protective effect of vaccination against experimental pneumonia in cattle with *Haemophilus somnus* outer membrane antigens and interference by lipopolysaccharide. *Can J Vet Res* 54 (3):326-330.
- Solís, J. J., J. C. Segura, F. Aguila, and V. M. Segura. 2008. Prevalence of antibodies against *Histophilus somni* and risk factors in beef cattle in Yucatan, Mexico. *Vet. Méx* 39 (1):29-38.
- Starost, M. F. 2001. *Haemophilus somnus* isolated from a urachal abscess in a calf. *Vet Pathol* 38 (5):547-548.
- Sylte, M. J., L. B. Corbeil, T. J. Inzana, and C. J. Czuprynski. 2001. *Haemophilus somnus* induces apoptosis in bovine endothelial cells in vitro. *Infect Immun* 69 (3):1650-1660.
- Thomson, M. S., L. H. Lauerman, and G. R. Wilt. 1990. Monoclonal antibody in the identification of *Haemophilus somnus*. *J Vet Diagn Invest* 2 (2):116-119.
- Trigo, F. J. 1987. El complejo respiratorio infeccioso de los bovino y ovinos. *Departamento de Patología. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México*. Pg. 13-22.

- Van Donkersgoed, J., C. Guenther, B. N. Evans, A. A. Potter, and R. J. Harland. 1995. Effects of various vaccination protocols on passive and active immunity to *Pasteurella haemolytica* and *Haemophilus somnus* in beef calves. *Can Vet J* 36 (7):424-429.
- Van Donkersgoed, J., E. D. Janzen, A. A. Potter, and R. J. Harland. 1994a. The occurrence of *Haemophilus somnus* in feedlot calves and its control by postarrival prophylactic mass medication. *Can Vet J* 35 (9):573-580.
- Van Donkersgoed, J., A. A. Potter, B. Mollison, and R. J. Harland. 1994b. The effect of a combined *Pasteurella haemolytica* and *Haemophilus somnus* vaccine and a modified-live bovine respiratory syncytial virus vaccine against enzootic pneumonia in young beef calves. *Can Vet J* 35 (4):239-241.
- Ward, A. C., N. W. Dyer, and L. B. Corbeil. 1999. Characterization of putative *Haemophilus somnus* isolates from tonsils of American bison (*Bison bison*). *Can J Vet Res* 63 (3):166-169.
- Ward, A. C., M. D. Jaworski, J. M. Eddow, and L. B. Corbeil. 1995. A comparative study of bovine and ovine *Haemophilus somnus* isolates. *Can J Vet Res* 59 (3):173-178.
- Wattiaux, W. A. 2005. Esenciales lecheras "Crianza de terneras del nacimiento al destete". *Capitulo 32: Neumonia. Instituto Babcock. Universidad de Wisconsin.* URL: [http://babcock.cals.wisc.edu/downloads/de\\_html/ch32.es.html](http://babcock.cals.wisc.edu/downloads/de_html/ch32.es.html). (On line ) 04-06-09.
- Widders, P. R., L. G. Paisley, R. P. Gogolewski, J. F. Evermann, J. W. Smith, and L. B. Corbeil. 1986. Experimental abortion and the systemic immune response to "*Haemophilus somnus*" in cattle. *Infect Immun* 54 (2):555-560.
- Wu, Y., J. H. McQuiston, A. Cox, T. D. Pack, and T. J. Inzana. 2000. Molecular cloning and mutagenesis of a DNA locus involved in lipooligosaccharide biosynthesis in *Haemophilus somnus*. *Infect Immun* 68 (1):310-319.
- Yarnall, M., and L. B. Corbeil. 1989. Antibody response to *Haemophilus somnus* Fc receptor. *J Clin Microbiol* 27 (1):111-117.