

**PRESENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA RINOTRAQUEITIS
INFECCIOSA, DIARREA VIRAL BOVINA, PARAINFLUENZA 3,
BRUCELOSIS, LEPTOSPIROSIS, VIBRIOSIS Y Haemophilus somnus
EN SUEROS DE BOVINOS CON PROBLEMAS PATOLÓGICOS
REPRODUCTORES Y RESPIRATORIOS ***

M.V.Z., M.A. PABLO CORREA G.¹
D.V.M., PH. D. L.N. BROWN²
PH. D. J.H. BRYNER³

Resumen

Se realizaron pruebas serológicas con 47 sueros de bovinos, del D.F., Estado de México y Yucatán, con historia clínica de problemas reproductivos y del aparato respiratorio. El objetivo fue determinar la presencia de anticuerpos contra Rinotraqueítis infecciosa bovina (IBR), Diarrea-viral bovina (BVD), Parainfluenza-3 (PI₃), Brucela, Leptospira, Vibrio y *H. somnus*. Los bovinos nacieron en México y nunca fueron vacunados contra estas enfermedades, excepto contra Brucelosis. Mediante pruebas de virus neutralización, utilizando cultivos celulares, se encontró 37.5, 75 y 86% de sueros positivos a IBR, BVD y PI₃, respectivamente. Fueron positivos el 17% a la prueba de aglutinación para el diagnóstico de Brucelosis; el 12% a la prueba de aglutinación en tubo para el diagnóstico de Vibriosis; y el 25% a la prueba de fijación de complemento para el diagnóstico de *H. somnus*. Todos fueron negativos a la prueba de aglutinación para el diagnóstico de Leptospirosis. La mayoría de los sueros presentaron simultáneamente anticuerpos contra varios de estos antígenos utilizados.

Con anterioridad Rodríguez (1969), encontró que al estudiar 160 sueros de vacas con historia clínica de aborto, en el 32.7% de dichos sueros hubo evidencias serológicas de Brucelosis y en el 16.2% hubo anticuerpos contra Leptospiras; encontrándose además que en el 3.7% había anticuerpos contra *Brucella* y Leptospiras. Únicamente el 6.8% de ellos correspondieron a leptospiras, actualmente reconocidas en los EUA como productoras de aborto en bovinos. Esto nos da un total de 52.6% de casos, en los que hubo anticuerpos contra estos dos microorganismos. En el 47.4% restante, no se pudo determinar

el agente etiológico involucrado, el cual pudo corresponder a otros padecimientos, entre los que se pueden encontrar tanto las infecciones por *Trichomona foetus*, como infecciones por *Vibrio fetus venerealis*, *Listeria monocytogenes* u otras enfermedades bacterianas; enfermedades producidas por hongos, entre los que pueden figurar los del género *Aspergillus*, *Absidia*, *Mucor* y *Rhizopus*; y desde luego los abortos producidos por virus, entre los que destacan el virus de IBR y el de la BVD (Faulkner, 1968). También hay que tomar en cuenta al virus de PI₃ que de acuerdo con Sattar, Bohl y Senturck (1965) y Sattar *et al.* (1967), ha sido aislado a partir de fetos abortados, y es letal para el feto al ser inoculado por vía intrauterina (Sattar, Bohl y Trapp, 1967; Swift and Kennedy, 1972). Hay que considerar, además, a otros agentes no infecciosos, tóxicos, etc. (Faulkner, 1968).

El objetivo de este trabajo fue determinar la presencia de anticuerpos contra IBR, BVD, PI₃, Brucela, Leptospira, Vibrio y *H. somnus*, en sueros de bovinos con historia clínica de infertilidad, abortos y/o signos respiratorios, con miras a determinar los posibles agentes etiológicos involucrados.

Recibido para su publicación el 27 de junio de 1974.

* Presentado en la X Reunión Anual del Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias, SAG, 1973, San Jerónimo Lídice, México, DF.

¹ Jefe del Depto. de Virología y Bacteriología, Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias, km 15.5 Carretera a Toluca, Palo Alto, DF. México.

² Jefe del Lab. de Diagnóstico, Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad de Iowa, Ames, Iowa, EUA.

³ Del Departamento de Agricultura de los EUA, Laboratorio Nacional de Enfermedades Animales, Ames, Iowa, EUA.

Material y métodos

Se obtuvieron 47 sueros de bovinos con historia clínica de problemas patológicos de los aparatos reproductor y respiratorio (Cuadro 1); los cuales habían nacido en la República mexicana y nunca habían sido vacunados contra las enfermedades en estudio, excepto las hembras, que fueron vacunadas contra Brucelosis. Para la detección de anticuerpos contra IBR y BVD, se realizaron pruebas de virus neutralización, basadas en la reducción de aproximadamente 25 unidades formadoras de placas (UFP). Antes de hacer las virus neutralizaciones, los sueros fueron inactivados a 56°C durante 30 minutos. En cada caja de petri, conteniendo monoestratos secundarios de cultivos de células testiculares de bovinos, se inocularon 25 UFP mezcladas con la dilución correspondiente de suero. Se inoculó un volumen total de 0.50 ml. Se utilizó la cepa "Colorado" del virus IBR y se consideraron como positivos los sueros que neutralizaron al virus IBR a la dilución 1:16 o a mayores diluciones. Y como sospechosos a los que neutralizaron a la dilución 1:8.

En el caso de la BVD se utilizó la cepa NADL y se consideraron como sospechosos aquellos sueros que neutralizaron a la dilución 1:64; y como positivos los que inhibieron la formación de placas a la dilución 1:256 o diluciones mayores.

Las pruebas de virus neutralización con el virus de PI₃ se realizaron utilizando 100 UFP. El virus de PI₃ fue proporcionado por la American Type Culture Collection. Se utilizaron cultivos celulares de la línea Madin Darby Bovine Kidney (MDBK). Se consideraron positivos aquellos sueros que neutralizaron más del 50% de las placas, a la dilución 1:32.

Para determinar la presencia de anticuerpos contra *Brucella abortus*, inicialmente se utilizó la prueba de tarjeta. Después, los sueros positivos fueron titulados mediante la prueba de Huddleson.

Para determinar la presencia de aglutininas contra *Leptospira pomona*, se utilizó antígeno comercial; ⁴ los sueros fueron probados en placa (Stoenner, 1955). Los que no aglutinaron con la dilución 1:40 se consideraron como negativos a *L. pomona*. Tomando en

⁴ Fort Dodge.

cuenta que los sueros con títulos bajos en contra de *L. pomona*, en ocasiones tienen anticuerpos contra otras leptospiros (Stoenner, 1972), con los sueros que fueron positivos a la dilución 1:2, contra *L. pomona*, se hicieron diluciones 1:40 y se probaron contra otros antígenos de *Leptospira* que estaban disponibles: *L. icterohemorrhagiae*, *L. canicola*, *L. hardjo* y *L. grippotyphosa*. La dilución mínima considerada como positiva fue 1:40. Desafortunadamente no hubo suficiente suero, ni tampoco otros antígenos de *leptospira*, para hacer más completa esta parte del estudio.

Los anticuerpos contra *Vibrio* se determinaron mediante pruebas de aglutinación en tubo, utilizando antígenos de células completas, inactivados con formalina, elaborados con tres diferentes *Vibrios*: Tipo A, *V. fetus venerealis* cepa 470; Tipo B, *V. fetus intestinalis* cepa 436; Tipo C, *V. fetus intestinalis* cepa 958 (Berg, Jutila y Firehammer, 1971). El procedimiento seguido consistió en diluir el antígeno 1:100 en solución salina fisiológica, con 0.3% de formalina. Se depositaron 0.08 ml del suero problema en el tubo N° 1 (de 11 X 100 mm), con 2 ml de antígeno, y se hicieron diluciones dobles en tubos que contenían 1 ml de antígeno. Se incubaron 24 hs a 37°C y se realizó la lectura de la aglutinación. Se consideraron como sospechosos los títulos de 1:50 y como positivos aquellos sueros que presentaron títulos de 1:100 o mayores (Cuadro 3).

Para determinar la presencia de anticuerpos contra *H. somnus*, se utilizó la prueba de fijación de complemento, siguiendo el método estándar del sistema de microtitulación (Brown *et al.*, 1972; U.S. Government Printing Office, 1965). En el caso de *H. somnus* se consideró como sospechoso el suero cuando produjo fijación de complemento a la dilución 1:4 o 1:32; y se consideró como positivo cuando hubo fijación de complemento a la dilución 1:64 o mayor.

Resultados y discusión

De los resultados de los Cuadros 1 y 2 se concluye que los anticuerpos contra IBR, BVD, PI₃ y *H. somnus* estuvieron presentes en los sueros de los bovinos en estudio, lo

CUADRO 1

Características y resultados de los sueros estudiados

Esta- blo	Sueros Estudiados (No.)	Razas	Sexos	Procedencia	Historia clínica	ANTIGENOS UTILIZADOS						
						IBR*	BVD	PI ₃	Leptospiriosis	Brucella	Vibrio	H. Somnus
I	19	Holstein	1M 18H	D F	Aborto en las hembras	** 12/19	11/19	19/19	0/19	7/19	3/19	2/19
II	2	Holstein	H	D F	Sospechosos de IBR	2/2	2/2	0/2	0/2	0/2	1/2	1/2
III	1	Cebú	M	Puebla	Oligospermia	0/1	1/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1
IV	2	Holstein	H	Edo. de Méx, (Ixtlahualtongo)	Infertilidad	2/2	2/2	1/2	0/2	0/2	0/2	0/2
V	11	Cebú	H	Yucatán (Tokipap)	Aborto e Infertilidad	1/11	10/11	10/11	0/11	1/11	1/11	5/11
VI	9	Cebú y Charolais	H	Yucatán (San Juan)	Infertilidad	1/9	4/9	8/9	0/9	0/9	1/9	3/9
VII	3	Holstein	M	D F	Sospechosos de IBR	0/3	3/3	2/2	0/2	0/2	0/2	1/2

* IBR = Rinotraqueítis Infecciosa Bovina; BVD = Diarrea Viral Bovina; PI₃ = ParaInfluenza - 3.

** Número de sueros que resultaron positivos/Número estudiado.

CUADRO 2

**Porcentajes de sueros de bovinos, del DF, Edo. de México y Yucatán,
con anticuerpos contra los antígenos utilizados**

SUEROS RESULTADOS %	A N T Í G E N O S						
	IBR*	BVD*	PI ₃ *	L. pomona	Br. abortus	V. fetus	H. somnus
Positivos	37.5	75	86	0	17	12	25
Sospechosos	23	17	6	0	0	51	33.5
Negativos	39.5	8	8	100	83	37	18.7**

* IBR = Rinotraqueítis Infecciosa Bovina; BVD = Diarrea Viral Bovina; PI₃ = Parainfluenza - 3.

** Once sueros fueron anticomplementarios y por ello no fueron considerados en los resultados.

cual establece que estos agentes infecciosos están presentes en México, puesto que los animales muestreados nacieron en México y nunca fueron vacunados contra estas enfermedades. El hecho de haber encontrado sueros positivos en animales de lugares tan distantes como el DF, Estado de México y Yucatán, aun con un muestreo tan reducido como el que se notifica, indica que es probable que estas enfermedades estén ampliamente difundidas en todo el país; sin embargo, se deben hacer estudios más amplios al respecto.

Los porcentajes de sueros con anticuerpos contra IBR, BVD y PI₃ (87.5, 75 y 86%, respectivamente), coinciden con los encontrados recientemente en terneras y bovinos de aproximadamente un año, muestreados al llegar a Arizona para ser engordados; entre los cuales, por supuesto, había ganado de origen mexicano (Brown, comunicación personal). Por otra parte, Kahrs *et al.* (1964), al hacer un muestreo estadístico en el Estado de Nueva York, USA, antes de que se iniciaran los programas de vacunación en ganado lechero, encontraron una incidencia de 48% de sueros con anticuerpos contra PI₃, 53% con anticuerpos contra BVD y 13% con anticuerpos contra IBR.

El porcentaje de sueros positivos más alto correspondió a aquellos con anticuerpos contra PI₃ (86%) (Cuadro 2). Lo que indica que esta enfermedad es la más difundida en los hatos estudiados, correspondientes al DF, Edo. de México y a Yucatán. Dada la gran cantidad de animales con anticuerpos, lo que

indica una gran cantidad de animales resistentes, es dudoso que la infección por PI₃ fuera la que tuviera mayor relación con los problemas reproductivos correspondientes a los bovinos de este estudio.

Es probable que alguno de los casos estudiados pudiera corresponder a abortos por IBR, especialmente los del establo Núm. 11, en el que se sospecha clínicamente de IBR. Tomando en cuenta, además, que una de las causas más frecuentes de aborto es el producido por el virus de IBR, y que ya se han informado casos de aborto por IBR en México (Ruiz y Cuevas, 1971).

El virus de la BVD raras veces causa abortos, excepto cuando es introducido inicialmente a hatos de ganado susceptible. El hecho de que el 75% del total de sueros estudiados (Cuadro 2) mostraron anticuerpos contra esta enfermedad, indica que está muy difundida, y que hay pocas probabilidades de que fuera una de las principales causas de aborto en los establos estudiados.

No obstante que a la dilución 1:2 algunos sueros resultaron positivos a la prueba de aglutinación, con antígeno de *Leptospira pomona*, al hacer la dilución 1:40 resultaron negativos. Por ello se consideró que ningún suero tuvo títulos significativos contra ninguno de los serotipos de leptospiras utilizadas, que fueron: *L. pomona* (que es la que más frecuentemente afecta al ganado bovino en los EUA), *L. icterohemorrhagiae*, *L. canicola*, *L. hardjo* y *L. grippityphosa*. Estos serotipos hasta ahora son los únicos que se ha demostrado que son capaces de producir abor-

to en bovinos en los EUA (Smith *et al.*, 1972). Desde luego hay que tomar en cuenta que en México se deben hacer estudios tendientes a saber si otras especies de leptospiras pueden producir abortos en nuestros bovinos, para incluir sus serotipos en los estudios serológicos de rutina. Al respecto en Europa, Ellis y Miehn (1974) observaron que la leptospira J-10, miembro del serogrupo *hebdomadis*, al ser inoculada por vía intramuscular en 20 vacas que tenían entre 3 y 8 1/2 meses de preñadas produjo aborto en una vaca que estaba casi a término y un prematuro en otra, entre los 58 y 60 días después de la infección. Los animales que están diseminando Leptospira tienen títulos de 1:640, lo cual sugiere también una infección reciente. Considerando que el aborto por Leptospirosis ocurre varias semanas o meses después de la infección, si se colecta suero en el momento del aborto o poco después, como es el caso de los sueros que se estudiaron, si el aborto se debiera a Leptospirosis, el título de los sueros sería generalmente muy alto. Por lo tanto no hay muchas posibilidades de que los casos estudiados correspondieran a Leptospirosis de los serotipos estudiados.

Los títulos encontrados de aglutininas contra Brucela, de 1:400 o mayores, sugieren fuertemente la infección reciente por *Brucella abortus* y probablemente la presencia de portadores. Por lo tanto es muy probable que *Brucella Spp* sea la causa más importante de los problemas reproductivos en los hatos correspondientes a los establos I y V de este estudio (Cuadro 1).

La mejor forma de demostrar la presencia de Vibriosis es mediante el aislamiento del agente causal. No obstante que siguiendo este procedimiento se ha demostrado que esta enfermedad existe en México (Urquiza y Correa, 1971; Flores y Ruiz, 1974), el aislamiento en muchas ocasiones no es posible. Por ello es importante tomar en cuenta los resultados serológicos. Sin embargo, hay que hacer notar que las indicaciones serológicas de aborto por vibriosis, se deben confirmar mediante el aislamiento e identificación del microorganismo. El hecho de que seis sueros tenían títulos de anticuerpos de 1:100, o mayores, contra *Vibrio fetus* (Cuadros 1 y 2), indican altas posibilidades de que el aborto vibriónico esté

presente en los establos Núms. I, II, V y VI (Cuadro 1). Sobre todo, si se toma en cuenta que los títulos de anticuerpos séricos pocas veces son suficientemente altos para ser significativos para propósitos de diagnóstico.

Esta prueba no será satisfactoria para diagnosticar vibriosis genital, al menos que se presente aborto. La infección genital sola no produce cantidades significativas de anticuerpos séricos. Se deberán excluir de este tipo de estudios los bovinos vacunados contra vibriosis bovina, porque pueden resultar positivos, sin que esto se deba a la infección (Clark, 1974).

Del Cuadro 3, se concluye que el serotipo B, de *V.f. intestinalis*, es el tipo predominantemente involucrado, dado el número de sueros que reaccionaron con el tipo B y los títulos observados. Solamente el suero N° 48 mostró un título significativo con el tipo A de *V.f. intestinalis*. Posiblemente hubo anticuer-

CUADRO 3

Resultado de las pruebas serológicas para determinar la presencia de anticuerpos contra *Vibrio*

Sueros ¹ No.	Resultados obtenidos ante los diferentes tipos de antígenos utilizados de <i>Vibrio fetus</i> ²		
	A ³	B ⁴	C ⁵
4	—	100	25
9	25	200	25
17	—	400	—
21	—	100	—
22	—	50	—
41	—	50	—
48	200	50	25
52	—	50	25
53	25	50	—
58	25	50	—
60	—	50	—
66	50	50	25
67	25	100	50
68	—	50	—
70	50	50	25
78	—	50	25
1A	—	50	25
AV 1/72	—	50	25

¹ Los sueros negativos no fueron incluidos en este cuadro.

² Títulos de 1:100 o mayores, indican vibriosis; 1:25 y 1:50 son sospechosos.

³ *V. f. veneralis*, tipo A, Cepa 470;

⁴ *V. f. intestinalis* tipo B. Cepa 436;

pos simultáneamente contra los serotipos B y C; excepto en un caso, los títulos no fueron mayores de 1:25 contra el tipo C, el cual aparentemente no produce aborto en ganado, pero sí lo ocasiona en borregos. Los títulos bajos de anticuerpos, mostrados en el Cuadro 3, podrían indicar que hubo infertilidad o aborto por vibriosis en gestaciones previas, o que las muestras de suero fueron colectadas después de que el título había decrecido.

La presencia de animales con anticuerpos contra *H. somnus* indica que este microorganismo está involucrado en los problemas respiratorios del ganado bovino en México. Lo cual seguramente está produciendo pérdidas económicas, si se toma en cuenta que, al poner en contacto animales portadores de IBR, con portadores de BVD, PI₃ y *H. somnus*, se pueden presentar brotes severos de problemas de tipo respiratorio con elevada morbilidad y mortalidad (Hoerlein, 1970). Esta situación es muy probable que ocurra en las explotaciones de ganado productor de carne y de leche, de México, puesto que los ganaderos forman sus hatos con ganado de diferente procedencia, que pueden ser portadores de las diferentes enfermedades en cuestión.

En el Cuadro 4 se puede observar que cinco sueros fueron positivos a uno de los antígenos utilizados; 17 fueron positivos a dos; 18 fueron positivos a tres; siete fueron positivos a cuatro antígenos y uno fue positivo a cinco de ellos. Por lo tanto, cuando se presente un brote de abortos, hay que tratar de determinar si la causa se debe a uno o a varios agentes infecciosos. No hubo sueros positivos si-

multáneamente a seis ni a los siete antígenos utilizados.

Ninguno de los grupos de bovinos muestreados, de los establos en cuestión, se mostró libre de anticuerpos contra los padecimientos en estudio. Sin embargo, cuatro de los sueros estudiados presentaron anticuerpos contra PI₃, sin presentar anticuerpos contra el resto de los antígenos utilizados; no obstante que en el mismo hato, había animales positivos a otros antígenos. Un suero del estable Núm. VII, del DF, únicamente presentó títulos positivos de anticuerpos contra BVD.

Si bien, desde el punto de vista cualitativo, se demuestra la existencia de anticuerpos contra estas infecciones en el ganado en estudio, hay que hacer notar que, en la mayoría de los casos, no se puede precisar cuáles animales abortaron o tuvieron problemas a causa de determinado agente etiológico. Puesto que, por una parte, la mayoría de los animales tuvieron anticuerpos contra varios de los agentes utilizados (Cuadro 4); y por otra parte, para determinar qué agente etiológico fue el causante de aborto o problemas respiratorios, es necesario colectar por lo menos dos muestras de suero sanguíneo: una antes o cuando se inicia la infección y otra muestra varias semanas después. Esto se hace para establecer el diagnóstico en los animales que presenten signos de las enfermedades en cuestión, el cual será determinado por la elevación del título de anticuerpos contra uno o varios de los agentes etiológicos mencionados.

En base a los resultados de este estudio se recomienda que en aquellos hatos con problemas del aparato reproductor o respiratorio, atribuibles a estos microorganismos, se deben realizar el aislamiento e identificación de los agentes causantes, o el diagnóstico serológico basado en el doble muestreo; para que al determinar los agentes involucrados, se pueda dictaminar sobre los programas de vacunación recomendables en cada caso.

También se debe tomar en cuenta que los problemas del aparato reproductor pueden estar relacionados con otros factores no infecciosos, tales como: deficiencias nutricionales, mal manejo, consumo de plantas tóxicas o exposición a herbicidas o insecticidas y probablemente también anomalías endocrinas individuales. Por lo tanto, al tratar de diagnosticar la etiología de los casos de aborto

Cuadro 4

Número de sueros con anticuerpos contra varios de los antígenos en estudio

No. de Sueros con anticuerpos	No. de Antígenos contra los que mostraron anticuerpos
5*	1
17	2
18	3
7	4
1	5
0	6
0	7

* Cinco sueros mostraron anticuerpos contra un solo antígeno; 17 mostraron anticuerpos contra dos antígenos, etc.

o infertilidad, se deben analizar los datos de la historia clínica, especialmente los de manejo, prácticas reproductivas, movimientos de animales y exposición a sustancias tóxicas.

Summary

Serological tests were performed with 47 bovine sera obtained from the DF, Estado de Mexico and Yucatan. The clinical history suggested the presence of reproductive and respiratory disease problems. The objective was to determine the presence of antibodies against infectious bovine rhinotracheitis (IBR), bovine virus diarrhea (BVD), and parainfluenza-3 (PI₃) viruses, and against *Brucella*, *Leptospira*, *Vibrio* and *Haemophilus somnus*. The sampled cattle were native to México and

they had never been vaccinated against these diseases with the exception of brucellosis.

By virus neutralization tests using cell cultures, 37.5, 75 and 86% of the sera were found positive to IBR, BVD and PI₃ respectively. Also 17% were found positive using the standard brucellosis plate agglutination test, 12% to the tube agglutination test for vibriosis, and 25% to the complement fixation test for *H. somnus*. All of them were negative to the leptospirosis plate agglutination test. Most of the sera contained antibodies against several of the antigens used.

Agradecimiento. Al Dr. César Soto, al Dr. Salvador Romero A., y al Dr. Rodrigo Ríos, por su valiosa colaboración en este trabajo. Se agradece también al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por haber patrocinado parcialmente este trabajo.

Literatura citada

- BERG, R.L., J.W. JUTILA and B.D. FIREHAMMER, 1971, A revised classification of *Vibrio fetus*, *Amer. J. Vet. Res.*, 32 pp. 11-22.
- BROWN, L.N., C. REGGIARDO, M.W. KHAN, P.G. ENESS and H.L. SELF, 1972, Application of the complement fixation test to the study of *Haemophilus somnus* infections of cattle. *Proceedings 76th Annual Meeting US. Animal Health Association*, pp. 502-508.
- CLARK, B.L., 1974, Immunization of Cattle Against Genital Vibriosis, *VI Congreso Latinoamericano y I Venezolano de Microbiología*, 1 al 7 de diciembre de 1974, Caracas, Venezuela.
- ELLIS, W.A. and S.W. MITEHNA, 1974, Experimental leptospiral abortion in cattle, *Vet. Rec.*, March 23, p. 255.
- FAULKNER, L.C., 1968, Abortion Diseases of Livestock. *Charles C. Thomas*. Springfield, Illinois, USA.
- FLORES C., R. y R. Ruiz D., 1974, Diagnóstico y Control de la Vibriosis genital bovina en un hato comercial de ganado productor de carne, *Resúmenes XI Reunión Anual. INIP, SAG*, 11 al 16 de febrero, San Jerónimo Lídice, México, p. 7.
- HOERLEIN, A.B., 1970, Shipping Fever Complex, In *Bovine Medicine & Surgery and Herd Health Management*. Gibbons, Carcott & Smithcors. First Edition *American Veterinary Publications*, Inc.
- KAHRS, R., G. ATKINSON, J.A. BAKER, L. CARMICHAEL, L. COGGINS, J. GILLESPIE, P. LANGER, V. MARSHALL, D. ROBSON and B. SHEFFY, 1964, Serological Studies On The Incidence of Bovine Virus Diarrhea, Infectious Bovine Rhinotracheitis, Bovine Myxovirus Parainfluenza-3, and *Leptospira pomona*, In New York State, *The Cornell Veterinarian*, Vol: LIV: N° 3, July, 330-369.
- RODRÍGUEZ HERES, G.A., 1969, Exploración serológica de Leptospirosis y Brucelosis en ganado bovino y porcino con historia clínica de aborto, Tesis Profesional, *Escuela Nacional de Medicina Veterinaria y Zootecnia.*, UNAM.
- RUIZ, D., R. and F.R., CUEVAS C., 1971, Rinotraqueítis infecciosa bovina como causa de aborto en México, *Téc. Pec. Méx.*, 15-16, pp. 51-52.
- SATTAR, S., E. BOHL, A. TRAPP and A. HAMDY, 1967, In Utero infection of Bovine Fetuses with Myxovirus Parainfluenza 3, *Am. J. Vet. Res.*, Vol. 28 (Enero), pp. 45-49.
- SATTAR, S.A., E.H. BOHL and A.L. TRAPP, 1967, Abortion in Cattle caused by Experimental Infection with Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus, *Cornell Vet.*, 57:438-454.
- SATTAR, S.A., E.H. BOHL, M. SENTURCK, 1965, Viral Causes of Bovine Abortion in Ohio, *JAVMA*, Vol. 147, N° 11 pp. 1207-1210.
- SMITH, R.E., I.M. REYNOLDS, G.W. CLARK, J.A. MILBURY, 1972, Bovine Leptospirosis in Massachusetts., University of Massachusetts, *Research Bulletin* N° 600, August, pp. 1-30.
- STOENNER, H.G., 1955, Leptospiral antigens and the combination plate and capillary tube test for the serodiagnosis of leptospirosis, Department of Health, Education and Welfare, Public Health Service, National Institutes of Health, National Microbiological Institute, Rocky Mountain Laboratory. Hamilton, Mont., USA, Circular 16.

- STOENNER, H.G., 1972, Application of serologic findings to the diagnosis of leptospirosis. Proceedings of 76th Animal Meeting. US. Animal Health Association, pp. 622-634.
- SWIFT, B.L. and P.C. KENNEDY, 1972, Experimentally Induced Infection of *in Utero* Bovine Fetuses with Bovine Parainfluenza 3 Virus, *Am. J. Vet Res.*, 33. (Jan.): 57-63.
- URQUIZA, R.F. and P. CORREA, 1971, Aislamiento y Tipificación de *Vibrio* en tracto genital de ganado de leche. *XIX Congreso Mundial de Medicina Veterinaria y Zootecnia en México*, pp. 1024.
- U.S. GOVERNMENT PRINTING OFFICE, 1965, Standardized Diagnostic Complement Fixation Method and Adaptation to Micro test, *Public Health Monograph N° 74*. Washington. DC. 20401. Publication N° 1228.