

# LEPTOSPIROSIS III. AISLAMIENTO DE UNA CEPA DE LEPTOSPIRA DEL GRUPO CANICOLA, DE FETOS PORCINOS \*

GUSTAVO MANRIQUE L. Y E. D. ROBERTS \* \*

## INTRODUCCION

El Instituto Colombiano Agropecuario, ICA, ha venido estudiando la leptospirosis en los animales domésticos en el país desde 1960. En ese plan ha hecho estudios serológicos y de aislamiento en varias especies animales. Por primera vez en Colombia comprobó por aislamiento la existencia de este microorganismo en perros y bovinos aparentemente sanos en 1964 y 1965 respectivamente

Esta es una comunicación de un brote de leptospirosis en una porqueriza cuyo síntoma aparente y el único que se presentó fue el aborto en el 95 por ciento de las cerdas

## REVISION DE LITERATURA

La leptospirosis ha sido demostrada en cerdos desde 1937 en Europa (23). La *Leptospira pomona* es la causa más común de la enfermedad en bovinos y porcinos en los Estados Unidos, Europa, Sur América y Australia (23, 18, 9)

---

\* Contribucion del Programa Nacional de Medicina Veterinaria del Instituto Colombiano Agropecuario, ICA

\*\* Patólogo Agregado y Director del Programa Nacional de Medicina Veterinaria (Fundacion Rockefeller) respectivamente, Laboratorio de Investigaciones Médicas Veterinarias, ICA, Ciudad Universitaria, Bogota

Los autores agradecen al doctor R B Mackenzie del Programa de Arbo virus de la Fundación Rockefeller su asistencia en el estudio epizootológico de este brote

En varios países de Europa y los Estados Unidos se han comprobado brotes de esta enfermedad por *Leptospira icterohaemorrhagiae* (10, 22, 1). Sin embargo, debido al amplio margen de huéspedes para las leptospirosas, debemos estar preparados para la posibilidad de invasión de los cerdos por otros serotipos.

La leptospirosis en los cerdos es un problema de la manada y no es posible prever el curso que ha de tomar la enfermedad cuando ésta aparece por primera vez. Los síntomas de la enfermedad son muy variables y pueden ser agudos o crónicos. El más aparente y casi el único es el nacimiento prematuro de los cerditos. El aborto puede ocurrir en el 100 por ciento de las cerdas preñadas. Las cerdas generalmente abortan de dos a cuatro semanas antes del parto (3). Por otra parte, Caleffi (4), sostiene que el aborto puede ocurrir durante cualquier tiempo del embarazo con la expulsión de fetos momificados. York (29) hace notar que en el cerdo el efecto principal de la leptospirosis es el daño de los fetos si la cerda se infecta durante el embarazo.

En una infección experimental, Ferguson y Powers (8) demostraron que la inoculación de *L. pomona* vía conjuntival o nasal en cerdas, el tiempo más susceptible ocurrió al segundo mes de embarazo, ya que la infección al primero y tercero meses de gestación tuvo muy poco efecto en la reproducción.

El cerdo es uno de los animales más importantes en la epizootiología de esta enfermedad. Esta especie es un huésped ideal para perpetuar la leptospirosis porque elimina el germen en la orina durante mucho tiempo, el número de gérmenes es muy grande y mantiene un pH en ella por encima de seis lo cual favorece la transmisión de la enfermedad (18). Teóricamente el pH de la orina puede influenciar directamente la duración del estado portador y la efectiva transmisión a nuevos huéspedes.

Los roedores parece que juegan un papel importante en la transmisión de la leptospirosis en porcinos y bovinos. De mucha mayor importancia es el estado portador del cerdo mismo (3).

En la práctica, el diagnóstico de la leptospirosis en los flúidos del cuerpo es muy difícil, debido a la poca cantidad de microorganismos presentes, con la excepción de la orina de los roedores y del cerdo (11). En los fetos abortados, incluyendo los cerdos, no es común encontrar leptospirosas, por eso el diagnóstico de la enfermedad se debe acompañar con las pruebas serológicas de las hembras que abortan, las cuales poseen títulos muy altos. Para confirmar el serotipo se debe hacer el aislamiento respectivo ya que es muy conocido el hecho de las reacciones cruzadas. Así por

ejemplo, Lang y Morse (14) hicieron pruebas serológicas en cerdos inoculados con *Leptospira pomona* y encontraron reacciones positivas con antígenos de *L. icterohaemorrhagiae* y *L. canicola*.

El cerdo es quizás la especie doméstica que más se ha usado en el tratamiento experimental de la leptospirosis, tanto del estado sintomático como del estado portador de la enfermedad. Lococo *et al.* (15), erradicaron la leptospirosis de los cerdos inoculados experimentalmente con *Leptospira pomona*, con una sola inyección de dihidroestreptomina en 41 animales (22 a 44 miligramos por kilogramo de peso). El trabajo más reciente a este respecto es de Stalheim (24) quien erradicó *L. pomona* de los riñones de 40 cerdos, administrando dihidroestreptomina vía muscular en la única dosis de 25 miligramos por kilogramo de peso vivo o en dosis diarias por tres días de 20 a 25 miligramos por kilogramo de peso, o administrando clorotetraciclina por ocho y 11 días, en la dosis de 800 gramos por tonelada de alimento.

En la prevención de la enfermedad el cerdo también ha figurado como uno de los animales experimentales más importantes. Morter *et al.* (19), descubrieron que las cerdas con infección activa quedan protegidas, lo mismo que sus fetos, contra una inoculación posterior de *Leptospira pomona* virulenta. Stalheim (24, 25) protegió curies y cerdos con leptospiras muertas pero intactas irradiadas con rayos gamma o tratadas con dihidroestreptomina. El mismo autor en un trabajo más reciente (26) protegió porcinos y bovinos con una cepa no virulenta de *Leptospira pomona* seleccionada en medio sintético.

En Colombia se ha sospechado la leptospirosis en cerdos desde los trabajos de Muñoz (20) por medio de pruebas serológicas. En 1964 el autor de este trabajo investigó muestras de 100 cerdos para cultivo (orina), serología (sangre). No se hizo ningún aislamiento. El 80 por ciento de las orinas estaban contaminadas. Serológicamente predominaron los serogrupos *pomona* y *canicola*.

En 1966 Bravo *et al.* (2), aislaron *Leptospira pomona* en un brote, en cerdos en Antioquia. Varios sueros de cerdos, provenientes de la misma región de donde se hizo el aislamiento, resultaron positivos serológicamente al mismo serogrupo.

## MATERIALES Y METODOS

Se recibieron seis fetos porcinos de una porqueriza de la Sabana de Bogotá sospechosos de leptospirosis, numerados 1, 2, 3, 4, 5 y 6. Los fetos se trajeron al laboratorio en tres lotes diferen-

tes con una semana de intervalo. En todos los casos se procuró que los fetos llegaran al laboratorio el mismo día de producido el aborto, y de ellos se hicieron cultivos inmediatamente. Se extrajeron el contenido estomacal y los riñones de los fetos en forma aséptica. Los fetos se sometieron a exámenes bacteriológicos rutinarios y a exámenes para brucelosis, vibriosis y trichomoniasis.

El contenido estomacal de todos los fetos se sembró en forma directa sin diluir en medio Fletcher (Difco), al cual se le adicionó concentraciones de 200 a 400 ug por centímetro cúbico de 5-Fluororacil, como agente selectivo \* según la publicación de Johnson y Rogers (12). Igualmente se sembraron diluciones de las muestras en solución salina tamponada desde  $10^{-1}$  hasta  $10^{-5}$ . Los riñones fueron macerados en la misma solución en la proporción de uno a 10 peso por volumen. De ese macerado se hicieron cultivos sin diluir y diluidos, como en la forma anterior. Los cultivos se incubaron en aerobiosis a 30 grados centígrados por 30 días con lecturas cada 10 días. Simultáneamente el contenido estomacal y los macerados riñones sin diluir se observaron al microscopio en forma directa, usando condensador de campo oscuro.

Por otra parte, con cada una de estas muestras sin diluir se inocularon tres hamsters y tres curies, con medio centímetro cúbico vía peritoneal. Los animales inoculados se mantuvieron en observación por 15 días. Se tomó sangre de los mismos a los ocho días y al momento del sacrificio. A los animales que murieron naturalmente, se les extrajeron los riñones y se trabajaron en igual forma que los fetos. Los animales de experimentación que no murieron en forma natural, se sacrificaron a los 15 días y se les extrajo sangre y riñones asépticamente para exámenes serológicos y de cultivo.

Algunos de los riñones de los animales experimentales se conservaron en solución de formol al 10 por ciento y se enviaron a la sección de patología para los cortes histológicos correspondientes, los cuales fueron coloreados por la técnica de Levaditis.

Para las pruebas serológicas se emplearon 16 muestras de sangre de cerdas que habían abortado \*\*, se usaron también los sueros de los hamsters y curies inoculados con los materiales anteriormente especificados.

Se tomó orina y sangre de cinco perros de la porqueriza para los exámenes corrientes de cultivo y serológico para leptospirosis.

---

\* Cedido gentilmente por Hoffmann La Roche, Inc. Hutley, New Jersey, U. S. A.

\*\* Cedidas gentilmente por el doctor Tirso de Paula Molina del Instituto Zooprofiláctico Colombiano.

El aislamiento de leptospiras de las orinas se intentó siguiendo la misma técnica empleada con el material de los fetos.

Para la clasificación de las cepas aisladas se usaron 20 sueros específicos cuyo origen detallaron Manrique y Sierra (17). Como antígeno para la prueba se usaron las cepas descritas por Manrique *et al.* (16) adicionada de los siguientes serotipos: kremastos, copenhageni, javanica, borincana, bratislava, butembo, tarasovi y wolffi. La técnica de aglutinación-lisis fue detallada por Manrique *et al.* (16), sólo que para esta oportunidad se usó el medio líquido sintético a base de seroalbúmina de bovino, Tween 80, vitaminas B<sub>1</sub> y B<sub>12</sub> y sales minerales (7).

Simultáneamente se tomaron muestras de orina y sangre a seis trabajadores y al dueño de la porqueriza, con el fin de intentar el aislamiento de la leptospira y buscar aglutininas leptospirales en el suero sanguíneo.

También se tomaron varias muestras de agua de la porqueriza para cultivarla e inocular animales en la forma descrita anteriormente. Estas muestras consistieron en agua estancada, agua de consumo de los animales, agua de los desechos y agua de los corrales. Finalmente se trató de cazar roedores de la finca durante tres días, usando trampas National.\*

A las muestras de orina de humanos y a las aguas se les tomó el pH antes del cultivo correspondiente.

## RESULTADOS

Los fetos recibidos comprendían edades entre uno y tres meses, y no mostraron lesiones macroscópicas aparentes. En el examen con campo oscuro no se observaron microorganismos parecidos a espiroquetas en el contenido estomacal o en el macerado de riñón de los cuatro primeros fetos, es decir los números 1, 2, 3 y 4. Los cultivos y las pruebas biológicas de estas mismas muestras resultaron negativas a brucela, vibrio y leptospiras y tampoco se observaron trichomonas.

En el feto 5, correspondiente al último lote, se vieron microorganismos en campo oscuro muy parecidos a leptospiras ya que tenían gran movilidad, eran de un tamaño de 6-20 micras, tenían en forma espiral y los extremos encorvados en forma de gancho. De los fetos 5 y 6 se logró hacer a los diez días después del cultivo, el aislamiento de sendas cepas que por sus características parecían

---

\* National Live Trope Corp. Temahank, Wisconsin, U. S. A.

leptospiras. Entre las características más notables para pensar que pertenecieran al género leptospira se pueden citar: su carácter aeróbico, su tamaño, su activo movimiento vermiforme en el medio semisólido hacia adelante o atrás. Se formó también, en algunos tubos de cultivo, el característico anillo por debajo de la superficie.

El aislamiento se logró del contenido estomacal sin diluir y diluido a  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  y  $10^{-3}$  del feto 5, es decir de aquél en donde se logró observar microorganismos directamente de la muestra en el campo oscuro. También se hizo el aislamiento del macerado de riñón sin diluir de los fetos 5 y 6; de las diluciones  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  y  $10^{-3}$  del feto 5 y de las diluciones  $10^{-1}$  y  $10^{-2}$  del feto 6.

Los hamsters infectados con material de los fetos murieron a los 10 días después de la inoculación y de todos ellos se logró el aislamiento de cepas parecidas a leptospiras de los macerados de los riñones sin diluir y diluidos hasta  $10^{-3}$ . De dos de los curies se logró el aislamiento del macerado de riñón sin diluir y a la dilución  $10^{-1}$  al momento de sacrificio, ya que ninguno murió en forma natural.

Los cortes histopatológicos de los riñones de los hamsters que murieron en forma natural, coloreados con solución argéntica, revelaron la presencia de leptospiras.

En la clasificación preliminar de las cepas aisladas, el suero del grupo canícola fue el que presentó título más alto en la prueba de aglutinación-lisis. También se obtuvo reacción a títulos más bajos con los serotipos: *icterohaemorrhagiae*, *pyrogenes*, *pomona*, *ballum* y *sejroe*. Para confirmar su clasificación las cepas se enviaron al Centro Panamericano de Zoonosis de Argentina, el cual informó que según sus resultados preliminares eran del grupo *canícola*. La prueba de tipificación por medio de la absorción de aglutininas comprobó esta clasificación. Por la igualdad en los resultados serológicos parece que se trata de una sola cepa.

Los sueros de las cerdas que abortaron dieron un título alto en la prueba de aglutinación-lisis con el antígeno homólogo vivo. Estos títulos en los 16 sueros que se analizaron fueron desde 400, hasta 12.800. Todos los 16 sueros reaccionaron igualmente con el serogrupo canícola a títulos entre 1:400 y 1:6400. También se presentaron reacciones positivas con los serogrupos *pyrogenes*, *butembo*, *copenhageni* e *icterohaemorrhagiae* en número más reducido y en diluciones más bajas (Tabla 1). Los sueros de los hamsters y curies inoculados con material de los fetos 5 y 6 dieron un título promedio en la aglutinación-lisis de 1:1600 con el antígeno prepa-

rado con las cepas aisladas. Los sueros de los animales de experimentación inoculados con los fetos 1, 2, 3 y 4, las orinas canina y humana y las aguas resultaron negativas a la prueba de aglutinación-lisis con varios antígenos de leptospiras, incluyendo las cepas aisladas.

Los cultivos y las inoculaciones de animales experimentales, de las orinas de los perros y de las personas de la porqueriza, resultaron negativas. Tampoco se encontraron anticuerpos leptospirales en los sueros tanto en los caninos como de los humanos. Los cultivos y las pruebas biológicas de las aguas resultaron negativas.

No se cazó ningún roedor en la finca durante el tiempo que permanecieron las jaulas en la porqueriza. El pH promedio de las aguas de la finca fue de 7,6 siendo 7,1 el más bajo y 8,5 el más alto. El pH de las orinas humanas comprendió valores entre 5,2 y 6,6 para un promedio de 6,0. Estos valores son muy parecidos al pH de la orina de los perros (5,7 a 6,1).

## DISCUSION

Este es el primer trabajo de los realizados en el ICA en el cual se encontró por lo menos una señal de anormalidad en los animales, como fue el aborto. Las dos investigaciones anteriores se habían realizado en perros y bovinos aparentemente sanos.

Por lo demás, este brote de leptospirosis coincide con la publicación de Morter *et al.* (19) en que ninguno de los cerdos de la porqueriza, inclusive las cerdas que abortaron, mostraron otro síntoma de enfermedad.

En vista del resultado negativo a leptospirosis y otras bacterias en los cuatro primeros fetos se sospechó que podría tratarse de una infección viral por la presencia de fetos momificados, de uno a tres meses e inclusive de cerditos que nacían a término pero que morían poco después (6). Los dos últimos fetos y el examen serológico posterior de los sueros de un 50 por ciento de las cerdas que abortaron confirmaron el diagnóstico de leptospirosis.

Aunque el cultivo es esencial para la confirmación de la leptospirosis y la identificación del serotipo en una piara como lo anota Ferguson (9), el procedimiento no es práctico para el diagnóstico rutinario de la enfermedad en casos individuales.

Las pruebas serológicas juegan un papel muy importante en el descubrimiento de la leptospirosis. En el resultado de los cultivos de los cuatro primeros fetos se perdieron 30 días con resultado

negativo. Si en esa misma época se hubiera tenido antígeno para la prueba serológica de los 16 sueros de cerdas que abortaron el diagnóstico se habría hecho en 24 o 48 horas. Este diagnóstico habría tenido dudas porque reaccionaron el 100 por ciento de los sueros a títulos muy adultos. Si se tiene en cuenta que el criador alarmado por el número de abortos y sobre todo por desconocerse la causa de los mismos, eliminaba todas las cerdas que abortaban, las pérdidas económicas se habrían reducido al máximo al conocerse la causa de los abortos, especialmente en esta enfermedad en cerdos tan fácil de controlar con la dihidroestreptomina (24).

El aislamiento de una cepa de leptospira del grupo *canícola* de cerdos también fue hecho por Ward *et al.* (28) y Coghland y Norval (5), ambos relacionados con brotes de leptospirosis en el hombre.

El aislamiento hecho en este trabajo no necesariamente significa que el serogrupo *canícola* es el más común en cerdos en nuestro medio. En un estudio sobre 167 sueros de cerdos Muñoz (20) encontró que 89 por ciento eran positivos a *L. pomona*. En 1964, el autor en un estudio no publicado, sobre 100 sueros de cerdos predominaron los serogrupos *pomona* y *canícola*. Bravo *et al.* (2) aislaron *L. pomona* de cerdos en Antioquia.

Se hace necesario hacer una encuesta serológica en cerdos en las varias regiones del país para determinar el serotipo más frecuente en cada una de ellas y en nuestro medio en general.

Hubo reacciones cruzadas de los sueros de los animales infectados con otros antígenos distintos al grupo *canícola* tales como *butembo*, *copenhageni*, *pyrogenes* e *icterohaemorrhagiae*.

La reacción cruzada tan marcada entre las cepas aisladas y los antisueros de referencia *canícola* y *pyrogenes*, coincide con los resultados de otros autores como Murphy *et al.* (21); Turner *et al.* (27); Kravis e Ivler (13); Manrique *et al.* (16); quienes afirman que estas reacciones son bastante típicas en la infección con *L. canícola*.

Lang y Morse (14) publicaron la existencia de componentes antigénicos comunes y de relación muy estrecha entre *L. pomona*, *L. icterohaemorrhagiae* y *L. canícola*, lo cual explicaría en parte las reacciones cruzadas mencionadas anteriormente. Nosotros únicamente encontramos reacciones entre *L. canícola* y *L. icterohaemorrhagiae*.

En el estudio epizootiológico de este brote no se pudo determinar exactamente la fuente de contagio. De las aguas del tanque

de la porqueriza que suministra agua para los animales, se observó un microorganismo sospechoso de ser leptospira al examen directo. Se hizo el aislamiento del mismo en medio Fletcher con gran contaminación. En varias oportunidades se trató de obtener cultivo puro sin ningún resultado. El tamaño de esta espiroqueta nos pareció muy grande y la asociación con otras bacterias no se pudo evitar ni con la técnica de las diluciones, ni con el 5-Fluorauracil, ni con el filtro Millipore de 0,45 u\*. Además las pruebas biológicas en hamsters y curies resultaron siempre negativas en el cultivo y serológicamente.

El dueño de la porqueriza tenía como norma para desinfectar el agua del tanque, dejar en el fondo del mismo una capa de cal de unos 20 centímetros. La contaminación mencionada anteriormente desapareció al tratar el agua con cloro.

Se hizo el tratamiento general a todos los animales tal como lo recomienda Stalheim (24). El brote se controló en forma inmediata y no se ha presentado ningún problema después de un año.

## RESUMEN

Se hizo el aislamiento de una cepa de leptospira del Grupo *canícola* de fetos de cerdas de una porqueriza de la Sabana de Bogotá. De 37 hembras en gestación abortaron 35 en un período de mes y medio.

En el estudio epizootiológico no se pudo establecer la fuente de contagio. Se hizo el estudio serológico de 16 sueros de hembras que habían abortado reaccionando todas a título alto con la cepa homóloga y el serogrupo *canícola* de referencia.

Se presentaron reacciones cruzadas a título más bajo con los grupos *pyrogenes* e *icterohaemorrhagiae*. La infección después de establecer el diagnóstico, se controló con dihidroestreptomocina y adición de cloro al agua para consumo de los animales.

## SUMMARY

The isolation of a leptospira strain of the *canicola* serogroup was made from aborted fetuses of sows in a herd on the Bogotá Sabana; 95 per cent of the pregnant sows aborted in a period of time of 45 days.

---

\* Millipore Filter Corporation - Belford, Massachusetts.

In the epizootiological study, it was not possible to establish the origin of the outbreak. Serological studies on 16 serums from sows which had aborted showed a high titer with the homologous strain and with the *canicola* serogroup. There were cross-reactions with the *pyrogenes* and the *icterohaemorrhagiae* serogroups at a low titer. The administration of dihydrostreptomycin and the addition of chloride to the drinking water was curative in this incident.

TABLA 1 AGLUTINACION-LISIS DE 16 SUEROS DE CERDAS QUE ABORTARON, FRENTE A VARIOS ANTIGENOS DE LEPTOSPIRAS

			GRUPO SEROLOGICO						
Nº del Suero			Canicola	Butembo	Pyrogenes	Copenhageni	Icterohaemorrhagiae	Australis	Cepa Aislada
22	H	1	1600	100	—	100	100	—	6400
43	P	2	6400	50	50	—	—	—	6400
31		3	200	—	—	—	—	—	1600
22	C	4	3200	—	—	—	—	—	6400
43	A	5	1600	—	—	—	—	—	6400
43	C	6	3200	200	200	100	100	100	6400
22	A	7	1600	100	100	100	50	—	6400
29		8	800	—	—	—	—	—	6400
47	A	9	1600	50	50	100	—	—	6400
43	B	10	1600	—	—	—	—	—	3200
22	B	11	800	—	—	—	—	—	400
50		12	400	—	—	—	—	—	3200
22	F	13	800	—	—	—	—	—	12800
22	D	14	3200	—	—	—	—	—	3200
22	G	15	1600	—	—	—	—	—	6400
22	F	16	6400	—	—	200	—	—	6400

Fueron negativos a los siguientes grupos serológicos

javanica	tarassovi
borincana	bataviae
pomona	ballum
grippothyphosa	bratislava
wolffi	kremastos

## BIBLIOGRAFIA

1. BOHL, E. H. and L. C. FERGUSON. 1952. Leptospirosis in Domestic Animals. J.A.V.M.A., 121: 421.
2. BRAVO, C.; M. RESTREPO; M. ROBLEDO y G. PÉREZ. 1966. Leptospirosis en Antioquia. Comunicación Preliminar. Antioquia Médica, 16: 543-544.
3. BRYAN, S. H. 1957. Leptospirosis of Domestic Livestock. Vet. Med., 52: 535 - 536.
4. CALEFFI, F. 1967. Sulla Vaccinazione Antileptospira dei Swini. Vet. Rec., 80: 355.
5. COGHLEND, J. D. and J. NORVAL. 1960. Canicola Fever in Man from Contact Infected Pigs. Brit. Med. J., 2: 1711.
6. DUNNE, H. W. 1967. Abortos y Mortinatos. En Enfermedades del Cerdo. 1ª Edición. Dirigida por Dunne, H. W. Unión Tipográfica Editorial Hispano Americana, México. 701 - 711.
7. ELLINGHAUSEN, H. C. and G. W. MCCULLOUGH. 1965. Nutrition of *Leptospira pomona* and Growth of 130 other Serotypes: Fractionation of Oleic Albumin Complex and a Medium of Bovine Albumin and Polysorbate 80. Am. J. Vet. Res., 26: 45 - 51.
8. FERGUSON, L. C. and T. E. POWERS. 1956. Leptospirosis en Pregnant Swine. Am. J. Vet. Res., 17: 471 - 477.
9. FERGUSON, L. C. 1967. Leptospirosis. En Enfermedades del Cerdo. 1ª Edición. Dirigida por Dunne, H. W. Unión Tipográfica Editorial Hispano Americana. México, 346 - 361.
10. FIELD, H. I. and K. C. SELLERS. 1951. *Leptospira icterohaemorrhagiae* Infection in Piglets. Vet. Rec., 68: 78.
11. GOCHENOUR, S. W., JR. and V. C. COLONEL. 1957. Laboratory Diagnosis of Leptospirosis: Demonstration of Leptospire. Vet. Med., 52: 562-570.
12. JOHNSON, R. C. and L. ROGERS. 1960. 5-Fluorouracil As a Selective Agent for Growth of Leptospirae. J. Bacteriol. 87: 422 - 426.
13. KRAVIS, E. M. and D. IVLER. 1961. A Serologic Survey of *Leptospira* Antibodies in an Urban Canine Population J.A.V.M.A., 138: 24 - 26.
14. LANG, R. W. and E. V. MORSE. 1958. Serologic Cross Reactions Among *Leptospirae* Observed with Sera from Animals Infected with *Leptospira Pomona*. Michigan Agricultural Experiment Station. J. Series Article Nº 2346: 471 - 476.
15. LOCOCO, S.; E. H. BOHL and H. R. SMITH. 1958. Treatment of Porcine Leptospirosis. J.A.V.M.A., 132: 251 - 253.
16. MANRIQUE, L. G.; R. D. CASORSO y F. P. SIERRA. 1964. Estudio de Leptospirosis en Animales Domésticos I. Aislamiento de *Leptospira canicola* en perros de la ciudad de Bogotá. Ganadería Colombiana 3: 97 - 112.

17. MANRIQUE, L. G. y F. P. SIERRA. 1966. Leptospirosis II. Aislamiento de una cepa de *Leptospira* del Grupo Canicola en Bovinos. Revista ICA 1: 109 - 116.
18. MORSE, E. V. 1960. New Concepts of Leptospirosis in Animals A. V. M.A., 136: 241 - 246.
19. MORTER, R. L.; E. V. MORSE and R. F. LANGHAM. 1960. Experimental Leptospirosis VII. Re-Expouse of Pregnant Sows with *Leptospira pomona*. Am. Vet. Res., 21: 95 - 98.
20. MUÑOZ, R. G. 1957. Existe la Leptospirosis en Colombia. Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Bogotá, 21: 590 - 594.
21. MURPHY, L. C.; P. T. CARDEILHAC; A. D. ALEXANDER; L. B. EVANS and R. H. MARCHWICKI. 1958. Prevalence of Agglutinins in Canine Serums to Serotypes other than *Leptospira canicola* and *Leptospira icterohaemorrhagiae*. Report of Isolation of *Leptospira pomona* from a Dog. A. J. Vet. Res., 19: 145 - 151.
22. NISBETT, D. I. 1951. *Leptospira icterohaemorrhagiae* Infection in Pigs. J. Comp. Path. Therap., 61: 155.
23. POPPENSIEK, G. C. 1966. Aspectos Epidemiológicos de la Leptospirosis en Animales Domésticos. 5º Congreso Panamericano de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Memorias, 1: 131 - 139.
24. STALHEIM, O. H. 1967 a. Chemotherapy of Renal Leptospirosis in Swine. Am. J. Vet. Res., 28: 161 - 166.
25. STALHEIM, O. H. 1967 b. Vaccination Against Leptospirosis: Protection on Hamsters and Swine. Against Renal Leptospirosis by Killed but Intact Gamma - Irradiated or Dihydroestreptomycin - Exposed *Leptospira Pomona*. Am. J. Vet. Res., 28: 1671 - 1676.
26. STALHEIM, O. H. 1968. Vaccination Against Leptospirosis: Immunogenicity of Viable, Avirulent *Leptospira pomona* in Hamsters, Swine and Cattle. Am. J. Vet. Res., 29: 473 - 478.
27. TURNER, L. W.; C. S. ROBERTS; A. M. WIGGINS; A. D. ALEXANDER and L. C. MURPHY. 1958. *Leptospira canicola* Infection in a New Born Calf. Am. J. Vet. Res., 19: 780 - 784.
28. WARD, M. K.; M. B. MCDANIEL; H. W. TATUM; L. E. STARR and H. R. WILLIAMS. 1956. An Epidemic of Canicola Fever in Man with the Demonstration of *Leptospira canicola* Infection in Dogs, Swine and Cattle. Am. J. Hyg., 64: 59.
29. YORK, J. C. 1957. Immunology and Profilaxis of Leptospirosis. Vet. Med., 52: 563 - 565.