

**INVESTIGACION SEROLOGICA DE LA INFECCION LISTERICA
OVINA EN UN REBAÑO CON ANTECEDENTES PROXIMOS DE
UN BROTE ENCEFALITICO**

Por *M. Fernández Díez*
J. M. Aller Gancedo

INTRODUCCION

Un aspecto sumamente interesante y problemático de la infección listérica es el referente al esclarecimiento de la fuente de infección responsable de la presentación súbita de casos clínicos en cualquiera de sus formas. Personalmente, hemos diagnosticado un foco de encefalitis listérica ovina, en el que la infección pudo atribuirse, sin lugar a dudas, al consumo de ensilado de maíz defectuoso⁴, mientras que en otro de aborto se relacionó hipotéticamente con la presentación de una climatología adversa, que determinó el confinamiento permanente de los animales en un aprisco inadecuado, con lo que pudo ocurrir una activación de infecciones latentes o el ingreso de *Listeria monocytogenes* de otra fuente de infección ambiental³. En todo caso, se ha señalado que son precisas dosis elevadas de la bacteria para que se establezca la infección activa, mientras que dosis bajas dan lugar a infecciones crónicas o inaparentes¹¹.

Desde hace tiempo ha sido reconocido el importante papel jugado por los reservorios animados e inanimados y por los portadores. Los animales salvajes, sobre todo los roedores y aves², pueden albergar la bacteria y servir de fuente de infección para los animales domésticos, pero son éstos últimos los que parecen tener un papel predominante en la perpetuación y transmisión de la enfermedad⁷, pudiendo incluso padecerla al activarse la infección latente bajo diversas condiciones de estrés⁶. A su vez, *L. monocytogenes* se ha venido aislando repetidamente de muy diferentes reservorios inanimados, principalmente de las heces, suelo, aguas residuales y ensilados⁷, en los que puede sobrevivir durante períodos de tiempo más o menos largos, habiéndose comprobado que puede permanecer viable en el suelo por espacio de 67 a 295 días, según el tipo de suelo y grado de humedad¹².

Entre los portadores, las ovejas tienen seguramente una significación especial, ya que se ha conseguido el aislamiento de la bacteria del exudado nasal,

An. Fac. Vet. León., 1983, 29, 273-277.

heces y leche de un elevado número de animales en determinadas latitudes y circunstancias, sobre todo cuando tienen lugar la gestación, paridera y lactación, y cuando concurren el confinamiento y la alimentación con ensilados^{3, 9}. A este respecto hemos comprobado también la presencia de *L. monocytogenes* en los ganglios linfáticos mesentéricos de ovinos de sacrificio normal en matadero⁵.

El propósito de la presente investigación ha sido comprobar la presencia de reaccionantes serológicos entre los animales del rebaño de la Estación Agrícola Experimental, en el que ocurrieron algunos casos de encefalitis durante el mes de febrero de 1979⁴.

MATERIAL Y METODOS

Durante el mes de febrero de 1981 se recogieron muestras de sangre de 27 ovejas de 2 a 3 años de edad, pertenecientes al rebaño de la Estación Agrícola Experimental de León; estas ovejas, que se hallaban en estado de lactación, habían parido 1 a 2 semanas antes de la toma de muestras y no habían sido alimentadas con ensilado en ningún momento desde hacía 2 años, cuando tuvo lugar el brote encefalítico.

Las muestras de sangre se obtuvieron por punción en la yugular, manteniéndose una vez desueradas en el congelador a -30°C .

Asimismo, fueron utilizadas también otras 33 muestras de suero mantenidas en el congelador y procedentes de un muestreo realizado en diciembre de 1980 sobre otros tantos animales del mismo efectivo, para descubrimiento de casos de infección latente paratuberculosa. En el momento del muestreo, 15 de las ovejas se encontraban en gestación y 18 vacías; 10 de las ovejas gestantes volverían a examinarse dentro del grupo de las lactantes.

Se realizó la prueba de la «growth agglutination»⁹. Una vez descongelados los sueros e inactivados a 56°C durante media hora, se prepararon 4 diluciones de factor 2 en Caldo Triptosa Fosfato a partir de una primera dilución al 1/25 obtenida con 4,8 ml de CTF y 0,2 ml del suero problema; 2 ml se utilizaron para preparar las restantes diluciones del 1/50 al 1/400 y 1 ml para control de esterilidad. A cada tubo se adicionaron 2 gotas de un cultivo en CTF de 24 horas de una cepa de *L. monocytogenes* serotipo 4, aislada por nosotros cuando tuvo lugar el brote encefalítico, procediéndose a la posterior incubación a 37°C durante 18 horas.

El enturbiamiento uniforme del cultivo con formación de un pequeño botón de sedimento es considerado como resultado negativo y la formación de masas floculentas con clarificación del líquido sobrenadante como positivo. La aglutinación del título de acuerdo con la dilución en la que el 50 % de las bacterias son aglutinadas; un título superior al 1/50 es considerado positivo⁷.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados de la prueba serológica figuran en el cuadro I.

CUADRO I
Datos de la prueba serológica de 60 muestras de suero pertenecientes a 50 ovejas gestantes, vacías y lactantes

Títulos «growth agglutination»	Muestreo diciembre 80		Muestreo febrero 81
	Gestantes	Vacías	Lactantes
Sin título	3	8	12
1/25	4	5	4
1/50	4	5	6
1/100	4	—	3
1/200	—	—	2

Puede verse que 9 de las 60 muestras de suero dieron títulos valorables (superiores a 1/50), 7 de ellas a 1/100 y 2 al 1/200; el total de las muestras procedió de 50 ovejas solamente, pues 10 de éstas fueron objeto de muestreo en la gestación y en la lactación. De las 50 ovejas resultaron 6 positivas (12 %), dándose la circunstancia de que mientras 4 de las gestantes y 5 de las lactantes fueron positivas, todas las vacías fueron negativas.

De las 10 ovejas repetidas, las 7 que resultaron negativas en la gestación también lo fueron en la lactación; asimismo, las 3 restantes fueron positivas en ambas situaciones, aunque la correspondencia no existió en los títulos, pues si las 3 dieron títulos de 1/100 en la gestación, 2 de ellas pasaron a darlo de 1/200 en la lactación.

La inseguridad de las pruebas serológicas para el diagnóstico de la infección listérica ha sido repetidamente señalada. Se sabe que las cepas avirulentas son capaces de estimular una respuesta antigénica traducible en una serología positiva⁹, pero es sobre todo la existencia de reacciones cruzadas con otras bacterias (enterococos, coliformes, estreptococos beta-hemolíticos, *Staphylococcus aureus* y corinebacterias inmóviles)⁷ lo que conlleva mayores inconvenientes y para cuya superación se han ideado diversos procedimientos. Se ha conseguido una mayor especificidad utilizando antígenos tripsinizados en la prueba de aglutinación convencional¹⁰ y antígenos de fracciones proteicas en la prueba de hemoaglutinación indirecta⁸.

Una mayor fiabilidad se ha atribuido a la «growth agglutination», con la que los títulos de positividad resultantes no llegan a ser elevados; los títulos medios encontrados en una experiencia con ovejas alimentadas previamente con ensilado de pobre calidad y contaminado de forma natural con *L. monocytogenes* oscilaron

entre 1/100 y 1/300⁹, habiendo obtenido nosotros valores similares en esta ocasión con ovejas sin un antecedente similar reciente. Niveles más altos de anticuerpos han sido obtenidos con la inmunofluorescencia indirecta en sueros humanos, iguales o superiores a 1/600, señalando los autores la conveniencia de absorber previamente los sueros con vistas a lograr una mayor especificidad¹.

El escaso número de animales con serología positiva probablemente refleja una escasa difusión de la bacteria en el medio ambiente de la Estación Agrícola Experimental. El régimen de alojamiento y alimenticio varían de acuerdo con la época del año y estado de las ovejas, pero en ningún caso parecen ser favorables al mantenimiento de unas fuentes de infección trascendentales. Durante la estabulación, la densidad animal es correcta y la cama es desinfectada semanalmente con cal viva o superfosfato de cal; el régimen de pastoreo, matinal durante la primavera y otoño, y de mañana y tarde durante el verano, es realizado alternativa y temporalmente en unas parcelas de dimensión adecuada, las que van siendo también sometidas alternativamente a un descanso anual, momento en que son fertilizadas con el estiércol de los propios animales y con abono mineral.

Es verdaderamente difícil determinar la significación de las aglutininas en ovejas aparentemente normales, así como su origen; se ha informado que los títulos producidos después de la inoculación de un antígeno o de la infección natural son generalmente pasajeros, pero que a veces pueden persistir durante meses o años⁷. Por tanto, es posible que los anticuerpos detectados en algunas ovejas sean resultado del episodio clínico encefalítico ocurrido algún tiempo antes, pero también es posible que lo sean de infecciones posteriores, por la extraordinaria ubicuidad del agente.

Parece razonable considerar que los anticuerpos detectados en un escaso número de ovejas gestantes, los cuales se mantienen al menos durante el principio de la lactación, guarden relación con la posible existencia de infecciones latentes, dependientes o no del brote encefalítico y causantes en cualquier caso de una estimulación antigénica más importante durante el período de gestación. Si se tiene en cuenta que bajo condiciones de estrés puede ocurrir una activación de la infección latente⁶, mucho más fácilmente tendrá lugar un incremento de la estimulación antigénica.

RESUMEN

Se han comprobado por la prueba de la «growth agglutination» títulos positivos de anticuerpos contra *Listeria monocytogenes* en 6 animales de un lote de 50 ovejas, pertenecientes a un efectivo en el que ocurrió un brote de encefalitis listérica 2 años antes. Todas las ovejas vacías fueron negativas, perteneciendo las positivas a las gestantes y lactantes.

Se discute el origen de los anticuerpos detectados.

SEROLOGICAL INVESTIGATION ON THE LISTERIC INFECTION IN A FLOCK OF SHEEP WITH NEXT ANTECEDENTS OF ENCEPHALITIC OUTBREAK

SUMMARY

Positive titers of *Listeria monocytogenes* antibodies have been detected by the «growth agglutination» test in 6 of 50 sheep from a flock in which there was two years before an outbreak of listeric encephalitis. All no pregnant sheep had negative titers and the positive titers were demonstrated in pregnant and lactating sheep.

The origin of detected antibodies is discussed.

AGRADECIMIENTOS

A don José Francisco González, de la Estación Agrícola Experimental de León (C.S.I.C.), por su colaboración.

BIBLIOGRAFIA

- 1) COUR, M. I.; ROMERO, N.; MARTÍNEZ, E.; ROMÁN, J. M., y APARICIO GARRIDO, J. (1982).—*Listeria monocytogenes*: detección de anticuerpos por inmunofluorescencia indirecta. *Inmunología*, **3**: 66-71.
- 2) DONKER-VOET, J. (1962).—Epidemiologie van Listeriosis. *Tijdschr. Diergeneesk.*, **87**: 1657-1663.
- 3) FERNÁNDEZ DIEZ, M.; ROJO VÁZQUEZ, J., y ALLER GANCEDO, J. M. (1977).—Sobre un foco de aborto listérico ovino en la provincia de León. *An. Fac. Vet. León*, **23**: 57-63.
- 4) FERNÁNDEZ DIEZ, M.; CÁRMENES DIEZ, P.; ALLER GANCEDO, J. M., y ALVAREZ MARTÍNEZ, M. (1978).—Aislamiento de *Listeria monocytogenes* en casos de encefalitis ovina por inoculación en ratón. *An. Fac. Vet. León*, **24**: 73-77.
- 5) FERNÁNDEZ DIEZ, M., y ALVAREZ MARTÍNEZ, M. (1982).—Presencia de *Listeria monocytogenes* en los ganglios linfáticos mesentéricos de ovinos de matadero. *An. Fac. Vet. León*, **27**: 175-179.
- 6) GRAY, M. L. (1963).—Epidemiological aspects of Listeriosis. *Am. J. publ. Hlth.*, **53**: 554-563.
- 7) GRAY, M. L., y KILLINGER, A. H. (1966).—*Listeria monocytogenes* and listeric infections. *Bact. Rev.*, **30**: 309-382.
- 8) GRONSTOL, H. (1979).—Listeriosis in sheep. *Listeria monocytogenes* excretion and immunological state in healthy sheep. *Acta Vet. Scand.*, **20**: 168-179.
- 9) KILLINGER, A. H., y MANSFIELD, M. E. (1970).—Epizootiology of listeric infection in sheep. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, **157**: 1318-1324.
- 10) LARSEN, S. A., y JONES, W. L. (1973).—Evaluación y estandarización de una prueba de aglutinación para listeriosis humana. *Centro Panamericano de Zoonosis*, **15**: 48.
- 11) SEELIGER, H. P. R., y PLAB, M. C. (1959).—Studien zur therapie der Listeriose. I. Mitteilung: experimentelle untersuchungen zur frzeugung und behandlung der subakuten *Listeria*-infection der weissen maus. *Arzneimittelforsch.*, **13**: 581-586.
- 12) WELSHIMER, H. J. (1960).—Survival of *Listeria monocytogenes* in soil. *J. Bacteriol.*, **80**: 316-321.