Algunas otras infecciones pueden ser causa de neumonía y establecimiento de lesiones focales en los pulmones de las aves, las que obligan a un diagnóstico clínico diferencial, haciéndose mención especial de la neumonía fibrinosa purulenta observable en algunos casos de infección por *Moraxella anatipestifer*<sup>5</sup>.

#### RESUMEN

Se ha aislado Pseudomonas aeruginosa de 2 patos domésticos, que desarrollaron un proceso pulmonar caracterizado por la formación de un gran número de pequeños abscesos en los pulmones.

# PULMONARY ABSCESSES IN DOMESTIC DUCKS DUE TO PSEUDOMONAS AERUGINOSA

#### SUMMARY

Pseudomonas aeruginosa has been isolated from 2 domestic ducks with a pulmonary infection which gives rise to the formation of multiples small abscesses in the lungs.

#### BIBLIOGRAFIA

- 1) Chute, H. L. (1949).—An outbreak of *Pseudomonas* infection in poultry. Can. J. comp. Med., 13: 112-115.
- 2) ESSEX, H. G.; McKENNEY, F. D., y MANN, F. C. (1930).—Pseudomonas pyocyanea a significant factor in a disease of chickens. J. Am. vet. med. Ass., 77: 174-184.
- 3) FARRELL, R. K.; LEADER, R. W., y GORHAM, J. R. (1958).—An outbreak of hemorrhagia pneumonia in mink. A case report. Cornell Vet., 48: 378-384.
- 4) Golasby, A. I., y Eveleth, D. F. (1950).—Pseudomoniasis a disease of poultry. Bi-m. Bull N. Dak. agric. exp. Stn., 13: 59-61.
- 5) GRAHAM, R.; BRANDLY, C. A., y DUNLAP, G. L. (1938).—Studies on duck septicemia. Cornell vet., 28: 1-8.
- Lusis, P. I., y Soltys, M. A. (1971).—Pseudomonas aeruginosa. Vet. Bull., 41: 169-177.
   NARULA, A. S., y Kuppuswamy, P. B. (1969).—Mortality among fowls due to Pseudomonas aeruginosa. Indian vet. I., 46: 650-654.
- 8) NIII.O, L. (1959).—Some observations on pseudomonas infection in poultry. Can. J. comp. med. vet. Sci., 23: 329-337.
- Peterson, E. H. (1945).—Pseudomonas infection in turkeys. J. Am. vet. med. Ass., 107: 79.
   RAY, J., y BANERJI, T. P. (1969).—Pseudomonas pyocianea septicemia in joung chicks. Indian
- STAFSETH, H. J.; MACK, W., y RYFF, J. F. (1940).—Pseudomonas infection in turkeys. Poultry Sci., 19: 126-130.

# CATEDRA DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y EPIZOOTIOLOGIA (Prof. Dr. CARMENES DIEZ)

# PRESENCIA DE *LISTERIA MONOCYTOGENES* EN LOS GANGLIOS LINFATICOS MESENTERICOS DE OVINOS DE MATADERO

Por M. Fernández Díez M. Alvarez Martínez

### INTRODUCCION

Listeria monocytogenes se encuentra ampliamente difundida en la naturaleza, aislándose con relativa frecuencia de un gran número de reservorios y portadores. Dentro de los primeros, las heces, suelo, aguas residuales y ensilados<sup>7</sup>, así como los roedores y aves salvajes<sup>2</sup>, tienen una especial importancia como fuentes de infección. Por otra parte, los portadores parecen tener un papel predominante en la perpetuación y transmisión de la enfermedad<sup>7</sup>.

Dentro de los portadores animales, las ovejas han de tener una especial significación en la epizootiología de la enfermedad, puesto que la bacteria se ha aislado del moco nasal, heces y leche de un alto número de animales durante la gestación y el período de cría de los corderos<sup>8, 10</sup>.

El hecho de que *L. monocytogenes* se haya aislado de las heces de ovejas y otros animales sanos<sup>11</sup> y del hombre<sup>1</sup>, nos indujo a la realización del presente trabajo, que ha tenido como objetivo comprobar si la bacteria estaba también presente en los ganglios linfáticos mesentéricos de algunos ovinos de sacrificio normal en matadero, pudiendo representar en caso positivo una aportación más al conocimiento de la epizootiología de la infección listérica.

## MATERIAL Y METODOS

Durante los meses de febrero a mayo de 1981, se recogieron muestras de ganglios linfáticos mesentéricos de 86 ovejas mayores de 3 años, que habían sido sacrificadas en el Matadero Municipal de León. Dichas muestras se envolvieron en papel de aluminio para su traslado al laboratorio del Departamento.

El mismo día de su recogida, por medio de un triturador, se prepararon las

An. Fac. Vet. León, 1982, 28, 175-179.

suspensiones correspondientes al 10% en caldo con triptosa y fosfato (TPB), al que se le añadió un 3,75% de tiocianato potásico (TK) como inhibidor. Seguidamente, se realizó un previo cultivo de enriquecimiento, transfiriendo 0,2 ml de la suspensión a 5 ml del medio TPB-TK e incubando a temperatura de habitación durante 2 a 3 días. A partir de estos precultivos, se realizaron cultivos con asa de platino en un medio de agar con triptosa, incubándose a 37ºC durante 2 días más.

Las suspensiones se mantuvieron en frigorífico, repitiéndose mensualmente la misma metodología cultural descrita, durante un período de 6 meses.

La selección de las colonias sospechosas se realizó mediante la técnica de iluminación oblícua<sup>9</sup>, para lo cual se utilizó un estereomicroscopio, previa separación del espejo y de la lámpara, que se dispusieron de modo que se obtuviera una adecuada incidencia de los rayos luminosos. Con las colonias seleccionadas se procedió a su identificación, atendiendo a sus caracteres morfológicos, bioquímicos y serológicos.

La identificación serológica preliminar se hizo por aglutinación rápida en portaobjetos con un antisuero polivalente. La determinación posterior del tipo serológico se realizó por aglutinación en tubo con los antisueros específicos 1 y 4 (Difco).

La virulencia en ratón fue comprobada mediante la inoculación intraperitoneal de 0,2 ml de un cultivo de 24 horas en TPB, utilizándose por cepa 4 ratones NMRI de unos 25 g de peso.

# RESULTADOS Y DISCUSION

Dos de las 86 muestras estudiadas resultaron positivas (2,3%). Las 2 cepas aisladas dieron aglutinación positiva al 1/1.280 frente al antisuero tipo 4. Ambas fueron letales para el ratón, muriendo todos los ratones inoculados en un plazo de 2 a 3 días y presentando múltiples foquitos de necrosis en diversos órganos.

Diversas sustancias han sido incorporadas a los medios de cultivo con el fin de mejorar el aislamiento de *L. monocytogenes*, siendo el telurito potásico probablemente el inhibidor más utilizado, que si por un lado ha dado resultados satisfactorios<sup>5</sup>, por otro ha determinado la inhibición de muchas cepas de listerias<sup>14</sup>. En el presente trabajo se ha utilizado el tiocianato potásico, por ser considerado que aumenta notablemente la eficacia del aislamiento<sup>10</sup>, aunque no suprime, como sería deseable, la flora bacteriana contaminante Gram positiva.

La selección de las colonias sospechosas se hizo atendiendo a su coloración azulada, pero hay que tener en cuenta que pueden aparecer colonias similares que no se corresponden bioquímica y serológicamente con los caracteres propios de las listerias. A la vista de esta circunstancia, se procedió a realizar una prueba de

aglutinación rápida en porta con todas las colonias sospechosas frente a un antisuero polivalente de listerias, procedimiento que fue de una especial eficacia y rapidez para la selección previa de aquéllas.

El aislamiento de las 2 cepas de *L. monocytogenes* se consiguió ya en las primeras siembras efectuadas de las suspensiones frescas, volviendo a obtenerse resultados positivos con ambas muestras en las sucesivas resiembras tras la conservación en frío, pero sin llegar a obtenerse un aumento apreciable del número de colonias, lo que ya ha sido señalado hace tiempo<sup>11</sup>. Las restantes muestras resultaron negativas a lo largo 'del período de mantenimiento.

La relativa inhibición del tiocianato potásico dio lugar a que las muestras llegaran a estar muy contaminadas, lo que pudo haber contribuido a que no se consiguiera ningún otro aislamiento de ninguna otra muestra.

Un aspecto a destacar es el de la capacidad patogénica para el ratón de las 2 cepas, ya que cepas aisladas de portadores y reservorios pueden ser avirulentas para el mismo<sup>10</sup>.

En nuestro país se ha aislado *L. monocytogenes* de los ganglios linfáticos mesentéricos de bovinos aparentemente sanos sacrificados en el Matadero Industrial de Santander<sup>13</sup>, señalándose el 16,4% de portadores, porcentaje bastante por encima del 2,3% obtenido por nosotros en ovinos; en dicho trabajo, el autor obtuvo los serotipos 1 y 4, con una mayor frecuencia del primero.

Durante el mes de diciembre de 1973, diagnosticamos un foco de aborto infeccioso ovino debido a listerias en una localidad de la provincia de León³, en el que se produjo el aborto del 6,25 % de las hembras del rebaño, aislándose la bacteria de los órganos de los 2 fetos analizados e identificándose el serotipo 4. Posteriormente, volvimos a diagnosticar un brote de encefalitis listérica en otro efectivo ovino de la provincia⁴, en el que se vieron afectados, en un plazo de 8 días, el 4% de los animales, consiguiéndose el aislamiento del agente por inoculación intraperitoneal en ratón con macerado encefálico fresco y volviendo a identificarse el serotipo 4.

Si en el caso de la encefalitis listérica pudo atribuirse el brote al consumo de ensilado de maíz, cesando la aparición de nuevos casos a los 3 días de haberse suprimido, en el del aborto listérico el modo de transmisión y la fuente de infección se relacionaron hipotéticamente con la climatología adversa del momento, que obligó a un confinamiento permanente de los animales en un recinto inadecuado, a lo que se sumó la administración de una ración alimenticia inadecuada. Como en esta ocasión los animales no consumían ensilado, se estimó que el agente podía haber estado presente en algunos animales portadores o haber sido ingresado de otro tipo de reservorio exógeno.

Los animales portadores pueden eliminar las listerias bajo diferentes factores de stress fisiológicos y físicos. Se ha comprobado la excreción de *L. monocytogenes* en la leche y heces de corderas y ovejas sanas, siendo mucho mayor la tasa de eliminación durante la lactación que durante la gestación<sup>8</sup>. Asimismo, se ha aislado la bacteria de

la mucosidad nasal y heces de animales sanos, siendo más baja la incidencia en las corderas y añojas, y aumentando los portadores nasales cuando tiene lugar la gestación, el confinamiento invernal y la alimentación con ensilados<sup>10</sup>.

Las listerias eliminadas al medio ambiente pueden llegar a multiplicarse en el mismo bajo circunstancias adecuadas hasta alcanzar tasas infectantes para los animales receptivos, pudiendo también ser transmitidas directamente por la leche a los corderos lactantes en el caso de portadores lácteos. Por otra parte, los propios animales portadores de cualquier tipo pueden llegar a sufrir la infección activa cuando concurren dichos factores de stress, lo que parece tener todavía una mayor importancia en la epizootiología de la enfermedad, como en su día fue ya señalado<sup>6</sup>.

La excreción de L. monocytogenes con las heces implica necesariamente su presencia en el tracto intestinal, ya como expresión del simple tránsito temporal relacionado con un ciclo ecológico heces-suelo y vegetales-animal, ya como consecuencia de la previa colonización del intestino, pero que en cualquier caso puede determinar la llegada de la bacteria a los ganglios linfáticos mesentéricos.

Respecto a la participación de estos portadores en la epidemiología humana, no cabe esperar que los productos cárnicos intervengan como tuente de infección, pues no es probable que las listerias puedan localizarse más allá de los ganglios linfáticos señalados en ausencia de infección generalizada. Ha de tenerse en cuenta que la forma septicémica de la listeriosis ovina no es la usual de los animales adultos, aunque a tal respecto se ha informado que la forma encefalítica no es una infección aislada del cerebro, sino una infección generalizada, en la que la bacteria puede estar presente en diversos lugares, incluyendo los ganglios linfáticos mesentéricos<sup>12</sup>.

Entre las diversas modalidades de transmisión de la infección listérica al hombre cabe señalar el contacto con los animales enfermos y portadores, y la ingestión de productos alimenticios de origen animal y vegetal. Probablemente, el consumo de vegetales frescos procedentes de lugares contaminados con las heces de estas ovejas portadoras pudiera representar un modo de transmisión digno de tenerse en cuenta.

# RESUMEN

Se ha comprobado la presencia de *Listeria monocytogenes* en los ganglios linfáticos mesentéricos de ovinos de sacrificio normal en matadero. Dos de las 86 muestras estudiadas resultaron positivas (2,3%), correspondiendo las 2 cepas aisladas al serotipo 4 y siendo ambas virulentas para el ratón.

Se discute el papel de estos portadores en la epizootiología de la infección listérica.

# PRESENCE OF LISTERIA MONOCYTOGENES IN MESENTERIC LYMPH NODES FROM SLAUGHTER-HOUSE OVINES

## SUMMARY

It has been proved the presence of *Listeria monocytogenes* in the mesenteric lymph nodes from slaugther-house ovines. From 86 samples studied, 2 positive were found (2.3%). The two strains isolated belonged to serotype 4 and both were virulent for mouse.

The role of theses carriers in the epizootiology of listeric infection is discussed.

#### BIBLIOGRAFIA

- Bojsen-Møller, J. (1964).—Ocurrence of Listeria monocytogenes in feces from healthy and sic persons. Proc. Scand. Congr. Pathol. Microbiol., 14 th Oslo, pp. 97-98. Norwegian Universities Press.
- DONKER-VOET, J. (1962).—Epidemiologie van Listeriosis. Tijdschr. Diergeneesk, 87: 1.657-1.663.
- 3) FERNÁNDEZ DÍEZ, 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 DÍEZ, M.; CÁRMENES DÍEZ, 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) GRAY, M. L.; STAFSETH, H. J., y THORP, F. (1950).—The use of potassium tellurite, sodium azide and acetic acid in a selective medium for the isolation of *Listeria monocytogenes*. J. Bacteriol., 59: 443-444.
- GRAY, M. L. (1963).—Epidemiological aspects of Listeriosis. Am. J. Public. Health., 53: 554-563.
- GRAY, M. L., y KILLINGER, A. H. (1966).—Listeria monocytogenes and listeric infections. Bact. Rev., 30: 309-382.
- 68) GROENSTOEL, H. (1979).—Listeriosis in sheep. Listeria monocytogenes excretion and inmunological state in healthy sheep. Acta Vet. Scand., 20: 168-179.
- gical state in healthy sheep. Acta Vet. Scand., 20: 108-179.

  9) HENRY, B. S. (1933).—Dissociation in the genus Brucella. J. Infect. Diseases, 92: 374-402.
- 10) KILLINGER, A. H., y Mansfield, M. E. (1970).—Epizootiology of listeric infection in sheep. J. Am. Vet. Med. Ass., 157: 1.318-1.324.
- LARSEN, H. E. (1964).—Investigations on the epidemiology of Listeriosis. Nord. Vet. Med., 16: 890-909.
- LEHNERT, C. (1964).—Bakteriologische, serologische und tierexperimentelle untersuchungen zur pathogenese, epizootiologie und prophylaxeder Listeriose. Arch. Exptl. Veterinaermed., 18: 981-1.027; 1.247-1.302.
- MELLADO POLLO, A. (1977).—Listeria monocytogenes en ganglios mesentéricos de bóvidos aparentemente sanos. Laboratorio, LXIII: 1-8.
- Olson, C., Jr.; Dunn, L. A., y Rollins, C. L. (1953).—Methods for isolation of Listeria monocytogenes from sheep. Am. J. Vet. Res., 14: 82-85.