

**LISTERIOSIS EN RUMIANTES:  
ASPECTOS EPIDEMIOLOGICOS Y EN RELACION  
CON LA HIGIENE DE LOS ALIMENTOS**

*Por B. Moreno García*

**INTRODUCCION**

La listeriosis es en nuestro país una enfermedad desconocida, o al menos ignorada, tanto en la clínica veterinaria como en la inspección de alimentos, y esta falta de atención contrasta con la abundante bibliografía extranjera sobre la misma. Solamente BERMEJO (s. a.) señala la enfermedad en gallinas, BADIOLA y PARLA (1968) dan cuenta del aislamiento de *Listeria monocytogenes* a partir de dos fetos ovínicos y ALLER GANCEDO *et al.* (1968) describen un caso de listeriosis en chinillas.

El hecho de que cada vez sea mayor el número de casos de listeriosis humana (SEELIGER, 1961; LIEBE y DEGEN, ed., 1969), la circunstancia comprobada en múltiples ocasiones de que en una determinada zona sean idénticos los serotipos aislados de personas y animales, y la comprobación real de la transmisión, llevaron a considerar la listeriosis como una zoonosis, siendo quizás los alimentos de origen animal un vehículo importante de transmisión de la enfermedad de los animales al hombre.

El cambio operado en los sistemas de explotación animal y la utilización creciente en la alimentación de productos ensilados hacen suponer que esta enfermedad va a aumentar su frecuencia en el futuro.

En el curso de año y medio diagnosticamos diez focos de listeriosis en ovejas, ganado vacuno y cabras, en distintas áreas geográficas. En varios casos, la sospecha clínica de listeriosis no pudo ser confirmada en el laboratorio. De cinco de los focos estudiados ya se dio cuenta en una nota preliminar (MARTÍNEZ y MORENO, 1968). Este hecho, junto con la información que pudimos recoger sobre presentación de procesos con síntomas nerviosos en éstas y otras explotaciones, nos ha-

cen suponer que la listeriosis es ya bastante frecuente en los animales domésticos en nuestro país.

En el presente trabajo, nos proponemos dar cuenta del diagnóstico de una serie de casos de listeriosis en rumiantes, examinar el problema de las formas clínicas en que la enfermedad se presenta en nuestro país con vistas a la inspección de carnes y llamar la atención sobre el papel de los alimentos de origen animal en la transmisión de la enfermedad al hombre.

## MATERIAL Y METODOS

**Muestras.** Las muestras estudiadas procedían de los animales enfermos que diariamente llegan a la antes denominada Sección de Bacteriología del antiguo Patronato de Biología Animal (hoy Departamento de Higiene y Sanidad Animal, I. N. I. A.). En la mayoría de los casos, se trataba de varios animales vivos, pero en alguna ocasión se contó sólo con la cabeza de animales muertos con síntomas nerviosos. También se estudiaron fetos, muestras de leche y productos ensilados. Más adelante se hace una descripción de los focos estudiados. Se tomaban alícuotas de cerebro, cerebelo y bulbo raquídeo, con instrumental previamente esterilizado y con la máxima asepsia posible. Una vez mezcladas las tres muestras correspondientes a cada animal, los tejidos se trituraban y homogeneizaban en un homogeneizador de vidrio estéril, empleando como diluyente caldo nutritivo estéril (proporción 1:3, aproximadamente), con el fin de liberar las bacterias del interior de las células. Se sembraba inmediatamente del homogeneizado y, una vez realizada la siembra, éste se conservaba a 4º C. Las muestras de hígado, bazo y músculos de la canal, etc., se preparaban de modo semejante. Las muestras de ensilado se maceraban en caldo nutritivo estéril antes de su siembra. Las muestras de leche y las procedentes de fetos se sembraban directamente.

**Descripción de los focos.** **Foco n.º 1.** Mes: Febrero. Finca «La Ventosilla», Aranda de Duero (Burgos). Componen el rebaño 3.000 animales, ovejas y corderos. Las bajas se producen con una evolución clínica que dura de algunas horas a varios días. Sintomatología nerviosa predominante. El número de casos en ovejas es mayor que en corderos, y en éstos la enfermedad se presenta tanto en lactantes como en destetados. Los animales consumen ensilado de maíz. En los primeros quince días se produjeron 200 bajas. Animales enviados: una oveja y un cordero, en el primer envío; una oveja y dos corderos en el segundo, junto con tres muestras de ensilado y dos muestras de paja. Todos los animales recibidos presentaban síntomas nerviosos.

**Foco n.º 2.** Mes: Marzo. Finca «El Teatino», Villanueva de los Infantes (Ciudad Real). En un rebaño de 800 ovejas y 400 corderos aparecen inicialmente bajas en estos últimos con sintomatología nerviosa. Más tarde, la enfermedad se presenta también en ovejas. El rebaño consume ensilado de maíz. El número de bajas en los primeros diez días fue de 20 corderos, con 40-50 enfermos, y de 14 ovejas. Doce corderos fueron llevados al matadero. Entre los corderos enfermos figuran varios cuyo único alimento es la leche de sus madres. El número de abortos en la paridera anterior fue del 30 %. En la actual, un 5-6 %, pero van en aumento. Es el tercer invierno que se repite el mismo proceso. Muestras recibidas: dos fetos, cabeza y vísceras de un cordero. En un segundo envío varias ovejas vivas y corderos, todos con síntomas nerviosos, muestras de leche de estas mismas ovejas y muestras de ensilado.

**Foco n.º 3.** Mes: Abril. Explotación ovina en Almazán (Soria). Rebaño compuesto de 500

ovejas y 150 corderos de toda edad en estabulación permanente, con ensilado de maíz, alfalfa, etc., como base de su alimentación. En el transcurso de los últimos meses aparecen semanalmente 3-4 animales enfermos (corderos), con dificultades en la marcha, andar de medio lado, etc. Un tercio de ellos, aproximadamente, presentan síntomas nerviosos más pronunciados y mueren. La enfermedad no afecta a las ovejas. Muestras estudiadas: un cordero muerto.

Nuevos problemas en el mismo rebaño al comienzo de la primavera del año siguiente. Desde que empezó el invierno aparecen 3-4 corderos cada semana con iguales síntomas. En total, unos 70-80 corderos enfermos de 50-60 días de edad. Tratados con sulfamidas, se han salvado todos los que presentaban cojeras y síntomas nerviosos leves y ninguno de los que presentaban síntomas nerviosos avanzados. Muestras recibidas: un cordero que no puede mantenerse en pie y que presenta estrabismo y exceso de salivación. Existen en el rebaño actualmente otros dos corderos con iguales síntomas. El proceso no se presenta en ovejas.

**Foco n.º 4.** Mes: Marzo. Explotación caprina en Chapinería (Madrid). Rebaño en régimen mixto, sin que en su alimentación intervengan productos ensilados. En los 5 primeros días de presentación de la enfermedad se produjeron 10 bajas, tanto en adultos como en animales jóvenes. Conjuntivitis y síntomas predominantemente nerviosos: los animales «dan vueltas». Las cabras no pierden la producción de leche. Muestras estudiadas: un cabrito muerto.

**Foco n.º 5.** Mes: Abril. Explotación vacuna en la provincia de Madrid. Compuesta de 180 animales en estabulación. Alimentación a base de maíz y alfalfa ensilados. Hasta el momento del envío del material al laboratorio, se habían producido tres bajas. Síntomas nerviosos: primero movimientos en círculo y luego incoordinación de movimientos. Muestras recibidas: una cabeza de novilla muerta con síntomas típicos.

**Foco n.º 6.** Mes: Diciembre. Finca «La Charpona», Maqueda (Toledo). Rebaño de 325 ovejas. En los últimos quince días han aparecido 16 ovejas enfermas con síntomas nerviosos. Consumen ensilado de veza por primera vez. Fue diagnosticada en este rebaño una infestación nasal por larvas de *Oestrus ovis*. Muestras recibidas: una cabeza de oveja.

**Foco n.º 7.** Mes: Enero. Finca «La Puebla» (Ciudad Real). Se presentan abortos. Muestras estudiadas: un feto ovino.

**Foco n.º 8.** Mes: Febrero. Finca: «Rincón de Collado», Ciempozuelos (Madrid). Explotación extensiva de 250 ovejas de toda edad y 34 corderos de 15 a 45 días. Consumen ensilado de maíz. En el último mes han muerto 10 corderos: todos los que aparecieron enfermos. En los tres últimos días han muerto tres ovejas. Síntomas nerviosos. Muestras estudiadas: un cordero y una oveja, ambos con síntomas típicos.

**Foco n.º 9.** Mes: Abril. Explotación ovina en Berlanga de Duero (Soria). Dos rebaños extensivos de unas 250 ovejas cada uno, separadas unos 2 Km y entre los que se intercambian constantemente animales. Alimentación igual en ambos: durante el invierno consumen ensilado de maíz, heno y granos. Al llegar la primavera se alimentan únicamente de los pastos. En ambos rebaños se presentan el problema, pero en grado distinto. Rebaño de «El Batán»: en la última semana han muerto ocho ovejas, todas las que presentaban síntomas de enfermedad. Corderos: 8-10 con dificultades en la marcha que han salido adelante y 5 con síntomas nerviosos típicos que han muerto. Los corderos tenían una edad de unos dos meses. Rebaño de «La Serna»: sólo ha habido 10-12 corderos (de unos 150) que presentaban dificultades en la marcha y cierta parálisis del tercio posterior. No ha muerto ninguno. Síntomas típicos de los corderos que han muerto: conjuntivitis, orejas caídas, torticolis, los animales «andan de medio lado». Material estudiado: una oveja viva con síntomas típicos y la cabeza de un cordero muerto a consecuencia del proceso.

**Foco n.º 10.** Mes: Abril. Finca «El Campillo», Usagre (Badajoz) y Trasierra (Badajoz). Tres rebaños, con 2500 cabezas en total, que se van mezclando, en explotación extensiva. Desde el otoño pasado, en que comenzó el proceso, hasta el momento se han dado más de 700 abortos (50 %). Actualmente con unas 600 ovejas en gestación se presentan diariamente 4-5 abortos. No hay ovejas ni corderos con síntomas nerviosos. Consumen ensilado solamente en otoño. Primer envío: un feto. Segundo envío: dos fetos.

**Medios de cultivo.** Los medios empleados para el aislamiento del germen fueron agar triptosa (DIFCO) y agar sangre de oveja.

*Animales de laboratorio.* Se utilizaron ratones blancos y cobayas.

*Observación del germen en frotis de material encefálico.* Como exploración inicial, se realizaban frotis de material encefálico, preferentemente de bulbo raquídeo, que se tenían por el método de Gram para tratar de evidenciar la presencia de bacterias Grampositivas. En el caso de los fetos, también se realizaban frotis a partir de cotiledones placentarios y de vísceras.

*Aislamiento del agente causal.* El aislamiento se intentó por cultivo primario y por la técnica de incubación en frío (GRAY *et al.*, 1948). Los homogeneizados y el resto de las muestras se sembraban en placas con los medios de cultivo citados, usando como inóculo dos asas por placa. Las placas sembradas se incubaban a 37° C durante 18-24 horas. Cuando el primer intento de aislamiento daba resultado negativo, se verificaban nuevas siembras con intervalos aproximados de una semana a partir de los homogeneizados refrigerados. A la vez que se hacían las siembras, se llevaban a cabo inoculaciones en ratones blancos y en cobayas por vía intraperitoneal con dosis de 0,25 y 0,50 ml., respectivamente, del homogeneizado encefálico. Igual proceder se seguía con los homogeneizados de vísceras y de músculos de la canal.

*Identificación del agente causal.* La identificación de *Listeria monocytogenes* se realizó teniendo en cuenta su morfología, caracteres de cultivo, propiedades bioquímicas y serológicas. La tipificación de las cepas aisladas se llevó a cabo por la técnica de aglutinación rápida en placa con sueros DIFCO.

*Patogenicidad para animales de laboratorio.* Se demostró por instilación en el saco conjuntival del cobaya según la técnica de ANTON (1934) y por inoculación intraperitoneal en ratón blanco y cobaya.

## RESULTADOS

*Formas clínicas.* En todos los casos estudiados, exceptuados naturalmente los abortos, la forma clínica encontrada fue la encefálica (Figs. 1, 2 y 3). En ningún foco se observó la forma septicémica. En los óvidos, al principio de la enfermedad los animales afectados se separaban del rebaño y aparecían deprimidos o indiferentes al medio. Los síntomas subsiguientes eran incoordinación de movimientos y, en algunos casos, tortícolis. En otros, se observó también contracción y parálisis de los músculos de la garganta, faciales y lengua, con la consiguiente protrusión de este órgano, exceso de salivación y dificultad en la deglución. En un foco fue patente la posición caída de una o ambas orejas. Se observaron también conjuntivitis y movimientos en círculo. En fases avanzadas de la enfermedad, los animales yacían en el suelo, incapaces de levantarse. La muerte, entre pocas horas y algunos días, fue casi constante en todos los animales con síntomas claros, a pesar de los diversos tratamientos ensayados. En las cabras estudiadas, fue muy significativa la conjuntivitis, así como los movimientos en círculo



Fig. 1.—Oveja diagnosticada de listeriosis (forma encefálica). Obsérvese la posición inclinada de la cabeza y la dificultad para mantenerse en pie (extremidades posteriores muy separadas y apoyo en la pared).



Fig. 2.—Oveja: listeriosis cerebral. Obsérvese la torsión hacia atrás de cuello y cabeza, así como el estado de extensión de las extremidades. El animal no podía mantenerse en pie.



Fig. 3.—Cordero diagnosticado de listeriosis (forma encefálica). Obsérvese la torsión hacia arriba del cuello y cabeza. El animal era incapaz de mantenerse en pie.

y los ataques epileptiformes. En el ganado vacuno, los animales afectados mostraban incoordinación, excitación, disnea y ataques epileptiformes, principalmente.

*Observación del germen en frotis de material encefálico.* La observación microscópica de frotis de material encefálico teñidos por el método de Gram permitió solamente en dos ocasiones evidenciar la presencia de una bacteria después identificada, previo aislamiento, como *Listeria monocytogenes*. Se presentaba en escaso número, en forma de un pequeño bacilo Grampositivo. También en dos de los fetos estudiados se observó el germen en frotis de hígado y de cotiledones placentarios.

*Aislamiento.* En la Tabla I se presentan los aislamientos realizados por siembras en agar triptosa y en agar sangre de oveja, con indicación de las muestras positivas. En la mayoría de los casos, se aisló *Listeria monocytogenes* a partir de material encefálico en primera siembra. Sólo en los animales procedentes de dos de los focos estudiados (números 1 y 9) se aisló el germen después de un período de 2-3 semanas de refrigeración del homogeneizado. El aislamiento a partir de fetos y muestras de leche se verificó siempre en primera siembra. Tanto la primera siembra como las sucesivas (de los homogeneizados refrigerados) a partir de hígado, bazo y músculos de la canal resultaron negativas. Igualmente resultaron negativas las siembras de macerados de ensilado.

TABLA I  
AISLAMIENTOS DE LISTERIA MONOCYTOGENES

Foco	Especie animal	Animales jóvenes y adultos						Fetos			Muestras estudiadas
		Encéfalo	Hígado	Bazo	Músculos canal	Leche	Estómago	Hígado	Corazón		
1	Ovina (cordero)	+	—	—	—	—	—	—	—	++	
2	Ovina (feto)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	Ovina (oveja)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	Ovina (cordero)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	Ovina (oveja)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	Ovina (oveja)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	Ovina (oveja)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	Ovina (cordero)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	Ovina (cordero)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	Caprina (cabrito)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	Vacuna (novilla)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	Ovina (oveja)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	Ovina (feto)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	Ovina (cordero)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	Ovina (oveja)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	Ovina (oveja)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	Ovina (cordero)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	Ovina (feto)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	Ovina (feto)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
3	Ovina (cordero)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
4	Ovina (cordero)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
5	Caprina (cabrito)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
6	Vacuna (novilla)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
7	Ovina (oveja)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
8	Ovina (cordero)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
9	Ovina (oveja)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
10	Ovina (cordero)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	Ovina (feto)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	Ovina (feto)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	Ovina (feto)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	

+ = Aislamiento positivo.

— = Aislamiento negativo.

Los espacios en blanco indican muestras no examinadas.

En todos los casos en que dieron resultados positivos las siembras en agar triptosa y en agar sangre, también se aisló el germen a partir de los ratones inoculados por vía intraperitoneal. Estos animales morían a las 48-72 horas post-inoculación, como término medio, aunque a veces la muerte sucedía más tarde y en alguna ocasión fue necesario sacrificarlos a los 5-7 días para comprobar la infección. Se aisló *Listeria monocytogenes* por siembra a partir de hígado y bazo de todos los animales inoculados. En la autopsia, se encontró frecuentemente necrosis focal hepática y esplenomegalia. La inoculación en cobayas sólo produjo la muerte de estos animales en contadas ocasiones. Se observaron también en algunos casos abortos.

**Identificación.** Las cepas de *Listeria* estudiadas fueron uniformes en su morfología. Los frotis de colonias de 24-36 horas mostraban bacilos finos, Grampositivos. En algunas ocasiones se observaron agrupaciones en empalizada. Se obtuvieron excelentes resultados en el cultivo de las cepas estudiadas en agar triptosa. La Fig. 4 muestra una fotografía de una placa de este medio sembrada a partir de hígado de un feto, después de 48 horas de incubación a 37° C. Pueden observarse en ella las colonias de *Listeria monocytogenes* en cultivo puro. Los resultados en agar sangre de oveja fueron ligeramente inferiores. Las cepas aisladas de fetos ovinos mostraron propiedades hemolíticas más claras. La movilidad del germen fue demostrada en cultivos en medio semisólido incubados a temperatura ambiente.

Todas las cepas aisladas fueron catalasa positivas y fermentaban la glucosa

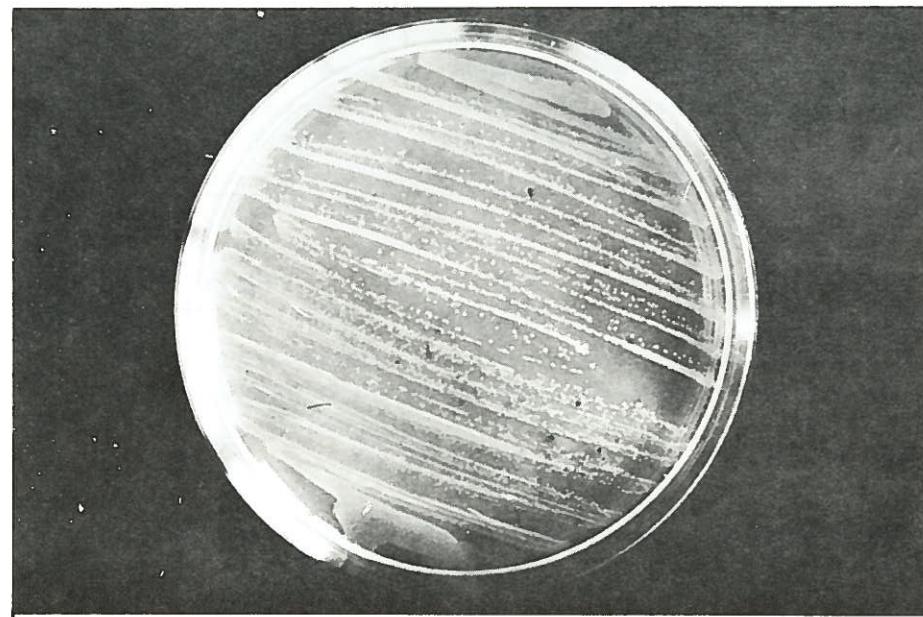


Fig. 4.—Placa de agar triptosa con un cultivo puro de *Listeria monocytogenes*, obtenido por siembra a partir de hígado de un feto ovino.

sin producción de gas. No fermentaban la lactosa ni la sacarosa a las 48 horas. Ninguna cepa producía indol ni SH<sub>2</sub>.

Mediante la técnica de aglutinación en placa, todas las cepas fueron aglutinadas por el suero polivalente. Con los monovalentes, las cepas procedentes de ocho de los focos estudiados fueron identificadas como pertenecientes al serotipo 4, y las de los dos restantes (focos 3 y 9) al serotipo 1. En los casos de varios aislamientos a partir de distintos animales de una misma explotación, el serotipo siempre fue el mismo.

**Patogenicidad para animales de laboratorio.** La instalación con material de cultivos en caldo de 24 horas en el saco conjuntival del cobaya produjo de modo constante conjuntivitis a las 24-36 horas, seguida a los 2-3 días de una reacción purulenta. Ninguno de los cobayas murió, pero en algún caso se observaron abortos. La inoculación por vía intraperitoneal de 0,2 ml de estos cultivos en caldo produjo siempre la muerte de ratones blancos en 24-48 horas. En la autopsia, se observaron las típicas lesiones de necrosis focal en hígado, y el germen fue aislado por siembras a partir de hígado y bazo. La inoculación por vía intraperitoneal en cobayas de 0,3 ml del mismo caldo sólo produjo la muerte en algún caso. Aproximadamente, abortaron la mitad de los animales hembras en gestación inoculados.

## DISCUSION

Los diez focos de listeriosis diagnosticados lo han sido en rumiantes. Siete de ellos en ganado ovino mantenido en régimen de explotación mixto que había recibido en su alimentación alimentos ensilados. Un foco también en ganado ovino, pero en régimen de estabulación permanente y alimentado asimismo con forrajes ensilados. En este foco, se diagnosticó la enfermedad en dos inviernos consecutivos. Otro foco fue comprobado en ganado caprino en régimen de explotación mixto, sin que en su alimentación los animales recibiesen productos ensilados. Y, finalmente, otro foco corresponde a una explotación vacuna, en la que la alimentación era, fundamentalmente, a base de maíz y alfalfa ensilados.

A la vista de la distribución geográfica de estos focos, que se representa en la Fig. 5, y teniendo en cuenta que es principalmente de la zona central del país de donde se reciben los animales enfermos en el laboratorio donde fueron realizados estos estudios, puede suponerse que, como en dicha zona, la enfermedad debe estar extendida por otras regiones.

Su presentación estacional en los meses de invierno y comienzo de la primavera coincide con las observaciones de diversos investigadores, quienes señalan de modo unánime (GRAY Y KILLINGER, 1966) que la listeriosis se da casi exclusivamente desde noviembre hasta comienzos de mayo. GILL (1933), KHALIMBEKOV (1952) y GRAY (1958) asocian esta presentación a circunstancias climáticas desencadenantes. VALLEE *et al.* (1972) son de la opinión de que la mayor frecuencia

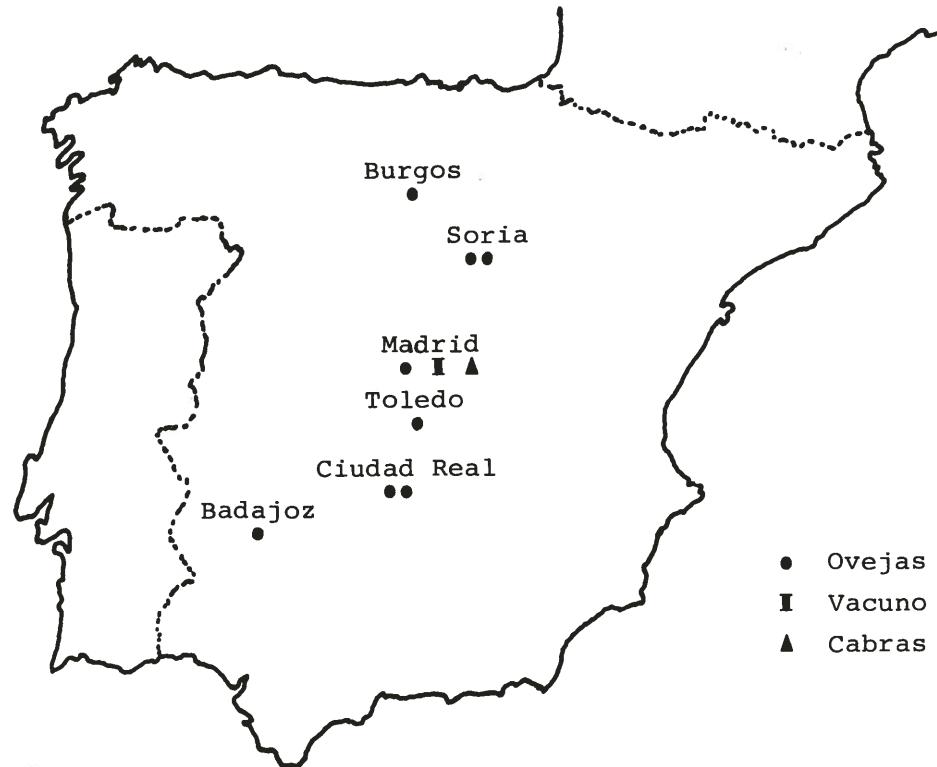


Fig. 5.—Distribución geográfica de los focos de listeriosis estudiados.

de la enfermedad en la estación fría podría ser consecuencia de la alimentación con alimentos ensilados.

Hemos comprobado la estrecha relación entre listeriosis y consumo de alimentos ensilados, puesto que de los diez focos estudiados en ocho existía esta relación. Estos resultados concuerdan plenamente con las observaciones de diversos investigadores que coinciden en afirmar que la listeriosis es más frecuente en rumiantes que consumen ensilado, especialmente si el producto no está en buenas condiciones (YOUNG Y FIREHAMMER, 1958; GRAY, 1960; KRUGER, 1963; PALSSON, 1963; LEHNERT, 1964; DIJKSTRA, 1965; DZINIC *et al.*, 1967; GOYON, 1972; NICOLÁS *et al.*, 1974). El papel del ensilado en la presentación de la listeriosis se explica por el hecho de que *Listeria monocytogenes* es un germe presente en el suelo y en las plantas (GRAY, 1963; BAKULOV Y KOTLYAROV, 1968; LARSEN, 1966). Durante la fermentación láctica que tiene lugar en el ensilado, el pH alcanza valores muy ácidos, disgenésicos para *Listeria* y por lo tanto inhibidores de su desarrollo. Pero, en las partes laterales y superior del silo no se dan a veces las condiciones óptimas de la fermentación, por lo que el pH del producto es mucho más alto en estos lugares que

en el resto de la masa. Se ha aislado *Listeria* a partir de ensilados con pH superior a 5 (GRAY y KILLINGER, 1966). En nuestro caso, no fue posible aislar el agente causal a partir de macerados del alimento ensilado que consumían los animales en algunos de los focos estudiados. Se cree que estos ensilados con listerias determinan en la mayoría de los animales que los consumen (quizás en el 100%, referido a ovejas) una forma inaparente o latente de listeriosis, aunque sólo un porcentaje reducido llega a presentar síntomas clínicos (LEHNERT, 1964).

Otro aspecto importante relativo a la epizootiología de la enfermedad es la coexistencia de la misma en individuos adultos y en jóvenes, incluso en lactantes alimentados exclusivamente con leche materna. El aislamiento en uno de los focos (foco n.º 2) de *Listeria monocytogenes* a partir de tres muestras de leche de ovejas en las que se comprobó la forma encefalítica de la enfermedad, foco en el que también se diagnosticó la enfermedad en corderos lactantes, considerado a la luz de las múltiples citas bibliográficas que dan cuenta del aislamiento de este germe a partir de leche de ovejas infectadas (PATERSON, 1940; GRAY, 1958), cabras (GRAY, 1958; HANNEFELD y HANNEFELD, 1959) y vacas (véase más adelante) hace suponer que la enfermedad se transmite de la madre infectada al lactante a través de la leche. Como en el mismo foco coexistían no sólo formas encefalíticas en ovejas y corderos y eliminación de listerias en la leche, sino también abortos, cabe suponer también la posibilidad de que la infección de los corderos pudiera ser de origen congénito.

El examen microscópico de frotis de material encefálico teñidos por el método de Gram puede, en algunos casos, permitir un diagnóstico provisional rápido, que debe confirmarse siempre por cultivos e inoculación en ratones. Con ambos métodos se lograron resultados similares al de aislamiento del germe a partir de casos clínicos avanzados y de fetos. En dos de los focos estudiados, el aislamiento a partir de las muestras recién obtenidas resultó negativo, siendo positivas las siembras realizadas después de un período de incubación de los homogeneizados de 1-2 semanas a 4° C. Además de permitir su multiplicación, las bajas temperaturas parecen neutralizar algún inhibidor presente en los tejidos que dificulta el crecimiento de *Listeria* a temperaturas más elevadas (MAIR, 1968).

Los caracteres morfológicos, culturales y bioquímicos de las cepas de *Listeria monocytogenes* aisladas coinciden, en general, con las descripciones de otros autores. Es de destacar el hecho de que las cepas aisladas de fetos tenían propiedades hemolíticas más claras (frente a sangre de oveja). La prueba de instilación de cultivos en el saco conjuntival del cobaya (reacción de ANTON) resultó muy valiosa en la identificación definitiva del germe.

Las cepas de listerias aisladas produjeron casi siempre la muerte de los ratones inoculados por vía intraperitoneal, pero sólo excepcionalmente en cobayas. Los abortos registrados tanto en cobayas inoculadas por vía intraperitoneal como en los instilados en el saco conjuntival, demuestran la especial afinidad de *Listeria monocytogenes* por el útero grávido (GRAY, 1958).

El problema de la transmisión de la listeriosis de los animales al hombre ha sido considerado en muchas de las múltiples publicaciones aparecidas en los últimos años, y de modo particular en los seis simposios internacionales sobre listeriosis que han tenido lugar en el corto tiempo de poco más de 15 años. Pero, los escasos progresos en el campo de la epidemiología de esta enfermedad, como en el de su epizootiología, contrastan con los notables avances en otros aspectos.

La listeriosis es una enfermedad tanto humana como animal. Hombre y animales comparten los mismos biotipos, iguales serotipos y casi idénticas formas clínicas. Se desconoce sin embargo, en qué medida contribuyen los alimentos de origen animal y el contacto con los animales infectados a la transmisión de la enfermedad al hombre. Diversos investigadores (RALOVICH *et al.*, 1970); KAMPELMACHER y VAN NOORLE JENSEN, 1969) han estudiado la frecuencia de portadores y reactores sanos entre ganaderos, empleados de matadero y manipuladores de alimentos, tratando de demostrar que es mayor que en personas que no tienen contacto con los animales ni con sus productos. Los resultados obtenidos no son, sin embargo, uniformes. En todo caso, es evidente la gran importancia de los animales como reservorios del germe (BUSCH, 1971). Según GRAY (1963), en los Estados Unidos la mayoría de los casos de listeriosis proceden de zonas urbanas, donde las personas afectadas no tienen ninguna relación con animales, salvo a través de los alimentos que consumen. En cambio, KAMPELMACHER (1963) señala que los casos de listeriosis en Holanda se dan principalmente en personas que trabajan en granjas o tienen contacto regular con los animales.

De los resultados obtenidos por nosotros en las pruebas de tipificación serológica de las cepas de *Listeria monocytogenes* aisladas, puede deducirse la frecuencia mucho mayor del serotipo 4 que del serotipo I. GÓMEZ MAMPASO *et al.* (1973) llevaron a cabo un estudio serológico en medio sólido con tres grupos de mujeres. En el primero, constituido por 251 mujeres embarazadas sin ninguna manifestación patológica, la serología fue positiva en 49 (19,5 %), 48 para *L. monocytogenes* tipo 4 y 1 para *L. monocytogenes* tipo 1. En el segundo, formado por 73 mujeres que habían padecido aborto, las pruebas serológicas fueron positivas en 11 (15 %), siempre para *L. monocytogenes* tipo 4. Y en el tercero, integrado por 77 mujeres con historia de prematuros o niños a término muertos en época perinatal, las pruebas serológicas fueron positivas en 25 (32,4 %), también en todos los casos para el tipo 4. En un grupo de 33 varones sanos, los autores mencionados encuentran 3 positivos (10,1 %): 2 para el tipo 1 y 1 para el tipo 4. ALES *et al.* (1974) aislaron *L. monocytogenes* a partir de pacientes humanos con distintas formas de listeriosis, principalmente la meningoencefalítica. De 9 cepas estudiadas, 2 se identificaron como pertenecientes al tipo 1 y 7 al tipo 4. Si comparamos nuestros resultados con los de estos autores, hemos de concluir la coincidencia en nuestro país tanto en animales como en personas de una frecuencia mucho mayor del serotipo 4 que del serotipo 1. Este hecho que, por otra parte, es general en el momento actual

tanto en Europa como en Estados Unidos, tiene sin duda un evidente significado epidemiológico.

Como en otras zoonosis transmitidas por los alimentos, en múltiples casos de listeriosis humana se ha intentado averiguar el origen de la infección, poniendo de manifiesto en los alimentos consumidos la presencia del germe causal. Sin embargo, sólo en contadas ocasiones ha sido posible obtener resultados positivos.

La carne y sus productos derivados se consideran fuentes de infección humana por *Listeria monocytogenes*. En la inspección de carnes, tiene máxima importancia el conocimiento de las formas clínicas como la enfermedad se presenta en nuestro país. En primer lugar, por la necesidad de su diagnóstico durante la inspección *ante mortem* de los animales, en segundo, porque la distribución del germe en vísceras y canal, y por tanto la peligrosidad de estos alimentos, es distinta según se trate de la forma encefálica o de la septicémica, y en tercero, porque no se observan lesiones macroscópicas en la primera forma y sí en la segunda. El diagnóstico *post mortem* en la forma encefálica o cerebral tiene, en efecto, el inconveniente de la ausencia de lesiones. Adquiere, por estas razones, máxima importancia el examen *ante mortem* de los animales.

En todos los casos por nosotros estudiados, se diagnosticó la forma encefálica y nunca fue posible en el examen *post mortem* observar alteraciones macroscópicas, sino únicamente congestión cerebral en diverso grado.

Por lo que respecta al ganado ovino, el agente causal siempre fue aislado a partir de material encefálico y en ningún caso de vísceras ni de músculos de la canal. Todo ello demuestra, en principio, que la única forma en que la enfermedad se presenta, o al menos la forma predominante, es la encefálica o cerebral. Estos resultados apoyan el consenso casi unánime de que la listeriosis cerebral es la forma más frecuente en el ganado lanar, siendo muy rara en estos animales la forma septicémica (GRAY y KILLINGER, 1966). El no haber aislado en ningún caso el germe a partir de vísceras ni de músculos parece indicar su falta de diseminación orgánica. No hemos podido constatar tampoco el hecho comprobado por otros autores (GITTER *et al.*, 1965; GITTER, 1966) de que en corderos jóvenes la listeriosis se presenta en forma septicémica (septicemia neonatal), semejante a la que se observa en animales monogástricos. Resulta, sin embargo, sorprendente el haber aislado el germe a partir de tres muestras de leche procedentes de tres animales en los que se diagnosticó la forma encefálica de la enfermedad. Ello cabe interpretarlo como coexistencia de la forma encefálica con mamitis o admitiendo una diseminación de gérmenes. Un aspecto poco conocido, y no estudiado por nosotros, es la distribución del germe en el organismo materno en los casos de abortos.

Por lo que se refiere al ganado vacuno y caprino, nuestra mínima experiencia no nos permite generalizar los resultados. Es de señalar, sin embargo, que la listeriosis se presenta de modo uniforme en todos los rumiantes.

Además de la infección en vida, debe tenerse en cuenta también la posible

contaminación de la canal con restos fecales durante el sacrificio y manipulación posterior de la carne. KUZMINSKIJ (1956) cita varios casos de listeriosis humana en los que la causa fue el consumo de carne contaminada con heces de ratones.

Existen pocos datos acerca de la supervivencia de *Listeria* en los productos cárnicos.

La leche es, quizás, el alimento más peligroso e importante en la transmisión de la listeriosis al hombre (SEELIGER, 1961; SIELAFF, 1966), tanto por la mayor frecuencia de la presencia del germe en este alimento cuanto por su notable resistencia a los tratamientos térmicos. Los datos con que se cuenta sobre este aspecto se refieren fundamentalmente a la leche de vaca. POTEL (1953) describe el caso más claro de infección humana por la leche: una mujer que había consumido leche de una vaca con mamitis, de la que se aisló *Listeria*, dio a luz prematuramente dos gemelos de los que aisló también el agente causal. Las tres cepas de *Listeria* pertenecían al mismo serotipo. En 1950-51, la listeriosis pre y postnatal alcanzó gran incidencia en la región de Halle, Alemania, y en Praga (POTEL, 1957; MENCIKOVA, 1956). En ambos casos, el origen de la enfermedad se atribuyó al consumo de leche cruda. El hecho de que cada vez sea mayor el número de mamitis en el ganado vacuno producidas por este germe (WRAMBY, 1944; POTEL, 1954; de VRIES y STRIKWERDA, 1956; HYSLOP y OSBORNE, 1959; LUCAS, 1961; DONKER-VOET, 1963; LEHNERT, 1964; SIPKA *et al.* 1973), la circunstancia de que siempre se trata de mamitis muy leves en las que la leche presenta aspecto normal, aun conteniendo gran número de listerias, y el que estos gérmenes puedan multiplicarse en la leche refrigerada, son factores que favorecen la difusión de la enfermedad por esta vía. Es clásico el caso descrito por DONKER-VOET (1963) de una vaca con mamitis listeriosa, que estuvo excretando de modo continuado durante seis meses leche con un contenido de 10.000-20.000 listerias por ml, a pesar de que no presentaba inflamación de la ubre y la leche aparecía normal. De VRIES y STRIKWERDA (1956) señalan también que la eliminación de listerias por la leche puede durar hasta tres meses. HYSLOP y OSBORNE (1959), en Inglaterra, aislaron este germe de ocho vacas en lactación, en dos de las cuales lo hicieron de modo continuado durante varios meses. SIPKA *et al.* (1973) comprobaron la excreción intermitente de listerias en leche procedente de tres vacas, en dos de las cuales la excreción duró todo el período de una lactación. Desde el punto de vista sanitario, estos casos son los más peligrosos. DIJKSTRA (1966) demostró la presencia de *Listeria monocytogenes* en leche procedente de vacas cuya causa de aborto había sido este germe. La leche no presentaba ninguna alteración organoléptica.

Otro aspecto importante en la epidemiología de la listeriosis es la posible contaminación exógena de la leche, principalmente a partir de restos fecales (LARSEN, 1966; LEHNER, 1964; SIELAFF, 1966).

Se han realizado muchos trabajos para estudiar la resistencia de *Listeria monocytogenes* al tratamiento térmico (DEDIE y SCHULZE, 1957; ZELLER, 1949; POTEL, 1953; KAMPELMACHER, 1958, 1963; DONKER-VOET, 1963). BEARNS y GIRARD (1958)

demonstraron que la pasterización de la leche carece de eficacia cuando el número de listerias es muy elevado (más de  $5 \times 14^4$  /ml). En estos casos, la pasterización a 61,7° C durante 33 minutos redujo el número de listerias viables, pero su inactivación no fue total. Cuando esta leche se dejaba a temperatura ambiente, las listerias supervivientes se multiplicaban. KAMPELMACHER (1963) señala que incluso con un tratamiento de 15 segundos a temperaturas de hasta 66,3° C es posible aislar listerias de la leche. La eficacia de la pasterización industrial de la leche respecto a la inactivación de *Listeria monocytogenes* ha sido muy estudiada y debatida en los últimos años. Los resultados tan diversos obtenidos se explicarían, como es lógico esperar, por el distinto número de listerias contenidas en las leches estudiadas. El análisis de los trabajos publicados, demuestra, sin embargo, que los procedimientos corrientes de pasterización no son de eficacia absoluta. SIELAFF (1966) aconseja un tratamiento térmico de seguridad de 71-74° C durante 30 segundos y SEELIGER (1966) sostiene que sólo una pasterización alta a 85°C durante 45 segundos da resultados seguros.

Se tienen pocos datos sobre la supervivencia de *Listeria monocytogenes* en los productos lácteos.

## RESUMEN

En este trabajo se da cuenta del diagnóstico de diez focos de listeriosis en rumiantes: ocho en ovejas, uno en ganado vacuno y otro en cabras. De los ocho focos en ovejas, en cinco de ellos se observó la forma encefalítica o cerebral, en uno coexistía esta forma con la presentación de abortos y en dos la única manifestación de la enfermedad fue el aborto. Tanto en ganado vacuno como en cabras la forma observada fue la encefalítica. La enfermedad se presentó en los meses de invierno y al comienzo de la primavera y en nueve de los focos los animales consumían alimentos ensilados.

Las cepas de *Listeria monocytogenes* aisladas en ocho de los focos pertenecían al serotipo 4 y las aisladas de los dos restantes al serotipo 1. En los focos donde se aislaron varias cepas a partir de distintos animales, el serotipo siempre fue el mismo.

En ninguno de los animales en los que se diagnosticó la forma encefalítica de la enfermedad se observaron lesiones macroscópicas fuera de la localización encefálica y tampoco fue posible demostrar la presencia de listerias en vísceras ni en músculos de la canal, por lo que se descartó la posible presentación de la forma septicémica. En uno de los focos donde coexistía la forma encefalítica en ovejas y corderos lactantes y se presentaban también abortos, el agente causal pudo aislarse también a partir de muestras de leche de los animales enfermos.

Se discuten los aspectos epidemiológicos de la listeriosis, los criterios sanitarios en la inspección de carnes y el papel de la carne y de la leche en la transmisión de la enfermedad al hombre.

## RESUME

Ce travail rend compte du diagnostic de dix foyers de listériose en ruminants: huit en ovins, en un bovins et un autre en chèvres. Des huit foyers de l'espèce ovine, on a pu observer dans cinq d'entre eux l'encéphalite, dans un cas cette forme coexistait avec la présentation d'avortements et dans deux autres la seule manifestation de la maladie a été l'avortement. Aussi bien dans les bovins que dans les chèvres la forme observée a été l'encephalite. La maladie s'est présentée dans les mois d'hiver et au commencement du printemps et dans neuf des foyers les animaux recevaient de l'ensilage.

Les souches de *Listeria monocytogenes* isolées en huit foyers appartenaient au type sérologique 4 et celles qui ont été isolées dans les deux autres au type sérologique 1. Dans les foyers où on a isolé plusieurs souches à partir de différents animaux, le type sérologique a été toujours le même.

Dans aucun des animaux avec l'encephalite on n'a observé des lésions macroscopiques en dehors du cerveau et il n'a pas été possible non plus de démontrer la présence de *Listeria* dans le foie, dans le rate et dans les muscles, c'est pourquoi on écarte la forme septicémique. Dans l'un des foyers où coexistait l'encephalite dans les brevis et les agneaux en allaitements et où se présentait des avortements, on a pu isoler aussi *Listeria* à partir du lait des animaux malades.

On discute les aspects épidémiologiques de la listériose, les critères sanitaires dans l'inspection de la viande et le rôle de la viande et du lait dans la transmission de la maladie à l'homme.

## SUMMARY

In this work ten outbreaks of listeriosis are reported in ruminants: eight in sheep, one in cattle and one in goats. Five out of eight outbreaks reported in sheep showed up as encephalitis. In one of them also abortion occurred, being in the remaining two only abortion observed. In cattle and goats only encephalitis was developed. Outbreaks appeared in the winter months and early spring. Nine of the outbreaks were associated with silage feeding.

The strains of *Listeria monocytogenes* isolated in eight of the outbreaks belonged to the serotype 4 and the ones isolated from the remaining two were of the serotype 1. In the outbreaks where several strains were isolated all belonged to the same serotype.

None of the animals diagnosed of listeric encephalitis showed macroscopic lesions in other organs. All attempts of isolation of *Listeria* from liver, spleen or muscles failed. So septicemia was excluded. However, in one of the flocks where encephalitis and abortions were registered and lactating ewes as well as lambs were affected by the disease, *Listeria* was isolated from milk.

Role of meat and milk in the transmission of this disease to man is discussed as well as epidemiology and hygienic criteria in meat inspection.

## BIBLIOGRAFIA

- ALES REINLEIN, J. M., FLÓREZ ALIA, C. y SORIANO GARCÍA, F. (1974). *Rev. Clínica Esp.*, 133 (3), 205-210.  
 ALLER GANCEDO, B., CORDERO DEL CAMPILLO, M. y MARTÍNEZ FERNÁNDEZ, A. (1968). *Anales de la Fac. de Veterinaria de León*, XIV, 233-238.  
 ANTON W. (1934). *Zentr. Bakteriol. Parasitenk. Abt. I, Orig.*, 131, 89-103.  
 BADIOLA, C. y PARLA MUÑOZ, J. (1968). *Dep. Med. Vet., Lab. Reunidos*, Madrid.  
 BAKULOV, I. A. y KOTLYAROV, U. M. (1968). Abstract en *Vet. Bull.*, 38 (11), 763.  
 BEARNS, R. E. y GIRARD, K. F. (1958). *Canad. J. Microb.*, 4, 55.  
 BERMEJO LOZANO, J. (s. a.). *Dep. Med. Vet., Lab. Reunidos*, Madrid.  
 BUSCH, L. A. (1971). *J. Infect. Dis.* 123, 328-331.  
 DEDIE, K. (1955). *Arch. Exp. Vet. Med.*, 9, 251.  
 DEDIE, K. y SCHULZE, D. (1957). *Berl. Munch. Tierarztl. Wochsch.*, 70, 231-232.  
 DIKSTRA, R. G. (1966). *Proc. Third Intern. Symp. on Listeriosis*, ed. Rijs Instituut voor Volksgezonheid, Utrecht.  
 DONKER-VOET, J. (1963). En *Second Symposium on Listeria Infection*, Ed. M. L. Gray, Montana State College, pág. 132-139.  
 DZINIC, M. (1968). Abstract en *Vet. Bull.*, 38, 763.  
 GILL, D. A. (1933). *Vet. J.*, 89, 258-270.  
 GITTER, M. (1966). En *Proc. Third Intern. Symp. on Listeriosis*, pág. 201.  
 GITTER, M., TERLECKI, S. y TURUBULL, P. A. (1965). *Vet. Rec.*, 77, 111-115.  
 GÓMEZ MAMPASO, E., ARBETO, A., de RAFAEL, L., PEÑA, P. y GRACIA RIVAS, M. (1973). Comunicación, *IV Congreso Nacional de Microbiología*, Granada, pág. C31.  
 GOYON, M. (1972). *Rec. Med. Vet.*, 148 (8), 949-958.  
 GRAY, M. L. (1958). En *Listeriosen* (Symposium), E. Roots y D. Strauch, eds., Beiheld I, Zentr. Veterinaermed., Paul Parey Verlag, Berlín, pág. 110-116.  
 GRAY, M. L. (1960). *Science*, 132, 1767-1768.  
 GRAY, M. L. (1963). En *Second Symposium on Listeric Infection*, Montana State College, pág. 153.  
 GRAY, M. L. y KILLINGER, A. H. (1966). *Bact. Rev.*, 30, 2, 309-382.  
 GRAY, M. L., STAFSETH, H. J., THORP, F., jr., SHOLL, L. B. y RILEY, W. F., jr., (1948). *J. Bacteriol.*, 55, 471-476.  
 HANNEFELD, H. y HANNEFELD, E. (1959). *Arch. Exptl. Veterinaermed.*, 13, 897-943.  
 HYSLOP, N. St. G. y OSBORNE, A. D. (1959). *Vet. Rec.*, 71, 1082-1091.  
 KAMPELMACHER, E. H. (1958). Discusión en *Listeriosen*, Ed. E. Roots y D. Strauch, Zentr. Vet. Med., Suppl. 1, 106-109.  
 KAMPELMACHER, E. H. (1963). En *Second Symposium on Listeria Infection*, Montana State College, pág. 153.  
 KAMPELMACHER, E. H. y VAN NOORLE JENSEN, L. M. (1969). *Zentbl. Bakt. Parasitkde I (Orig.)*, 211, 353-359.  
 KHALIMBEKOV, M. M. (1952). *Veterinariya*, 29 (7), 37-41.  
 KIDD, A. R. M. y TERLECKI, (1966). *Vet. Rec.*, 78, 453-454.  
 KRUGER, W. (1963). *Arch. Exptl. Veterinaermed.*, 17, 181-203.  
 KUZMINSKIJ, A. S. (1956). *J. Microbiol. Epidemiol. Inmunobiol.*, 27 (8), 25-30.  
 LARSEN, H. E. (1966). En *Proc. Third Intern. Symposium on Listeriosis*, pág. 295.  
 LEHNERT, C. (1964). *Arch. Exptl. Veterinaermed.*, 18, 981-1027; 1247-1302.  
 LIEBE, S. y DEGEN, R. (ed.), (1969). *Symposium mit internationaler Beteiligung*. 16-17 Mai 1968 in Leipzig, Gustav Fischer Verlag, Jena.  
 LUCAS, A. (1961). *Bull. Off. Intern. Epizoot.*, 55, 879-883.  
 MAIR, N. S. (1968). En: *Some Diseases of Animals communicable to man in Britain*, Edited by O. Graham Jones, Pergamon Press, pág. 221.  
 MARTÍNEZ MENDIVIL, E. y MORENO GARCÍA, B. (1968). *Rvta. Patr. Biol. Anim.*, XII, 2, 87-90.  
 MENCÍKOVA, E. (1956). *Cesk. Epidemiol. Microbiol. Inmunol.*, 5, 225.  
 NICOLÁS, J. A., PESTRE-ALEXANDRE, M., FARGEOT, C., CHANCEF, S. y LANTIE, R. (1974). *Rev. Med. Vet.*, 125 (11), 1369-1372.  
 PALSSON, P. A. (1963). En *Second Symp. on Listeric Infection*, ed., M. L. Gray, Montana State College, pág. 73-84.  
 PATERSON, J. S. (1940). *J. Pathol. Bacteriol.*, 51, 427-436.  
 POTEL, J. (1953). *Wiss. Z. Martin Luther Univ.—Halle-Wittenberg*, 3, 341-364.  
 POTEL, J. (1954). *Deut. Gesundheitsw.*, 9, 92-95.  
 POTEL, J. (1957). *Wiss. Z. Martin Luther Univ.—Halle-Wittenberg*, 6, 311.

- RALOVICH, B., FORRAY, A., MERO, E. y MALOVICS, H. (1970). *Zentbl. Bakt. Parasitkde I (Orig.)*, 214, 231-235.
- SEELIGER, H. P. R. (1961). Listeriosis, Karger, Basilea.
- SEELIGER, H. P. R. (1966). En Discusiones *Proc. Third Intern. Symp. on Listeriosis*, pág. 291.
- SIELAFF, H. (1966). En *Proc. Third Intern. Symp. on Listeriosis*, pág. 283.
- SÍPKA, M., STAJNER, B. y ZAKULA, S. (1973). Abstract en *Vet. Bull.*, 43, 486.
- VALLEE, A., GUILLON, J. C., LEVADITI, J. y DESPIERRES, M. (1972). *Bull. Acad. Vet. de France*, 45 (6), 277-282.
- VRIES (de), J. y STRIKWERDA, R. (1956). *T. Diergeneesk.*, 81, 833.
- WRAMBY, G. O. (1944). *Scand. Vet. Tidskr.*, 34, 277-290.
- YOUNG, S. y FIREHAMMER, B. D. (1958). *J. Amer. Vet. Med. Ass.*, 132, 434.
- ZELLER, M. (1949). Dis., Justus Liebig Univ., Giessen, 33 págs.