

Detección de *Listeria monocytogenes* en un rodeo de bovinos de carne en el que previamente ocurrió un caso clínico de listeriosis nerviosa

Detection of *Listeria monocytogenes* in a beef cattle herd in which previously occurred a clinical case of nervous listeriosis

Matto C¹ 0000-0002-7902-8676

Rodriguez V¹ 0000-0002-0166-551X

Giles M² 0000-0002-2061-8209

Varela G³ 0000-0003-4354-0608

Braga V³ 0000-0002-2749-5264

Mota MI³ 0000-0002-7042-5616

Vico V³ 0000-0001-9538-6855

Adrien ML⁴ 0000-0001-5914-1981

Giannechini E¹ 0000-0003-4908-9678

Rivero R¹ 0000-0003-0364-9908

¹ Laboratorio Regional Noroeste DILAVE “Miguel C. Rubino”. Ruta 3 km 369, CP 60000, Paysandú, Uruguay. Correspondencia C. Matto: cmatto@mgap.gub.uy

² Veterinario Ejercicio libre, Paysandú, Uruguay.

³ Departamento de Bacteriología y Virología, Instituto de Higiene-Facultad de Medicina, Montevideo, Uruguay.

⁴ Departamento de Salud en los Sistemas Pecuarios, Facultad de Veterinaria, Paysandú, Uruguay.

Veterinaria (Montevideo) Volumen 55
Nº 211 - 3 (2019) 14-20

DOI: 10.29155/VET.55.211.3

Recibido :
Aceptado:

Resumen

Listeriosis es una enfermedad asociada al consumo de alimentos contaminados con bacterias del género *Listeria*. Este trabajo se realizó en un sistema de cría extensiva de bovinos. Los objetivos fueron confirmar la sospecha clínica de un caso de listeriosis nerviosa en un bovino de carne a pastoreo, detectar la presencia de portadores asintomáticos de *Listeria* sp. en el rodeo y establecer la presencia de bacterias del género *Listeria* en pasturas y agua de bebida del predio. Se realizó la necropsia de una vaca de cría que presentaba marcha en círculos, decúbito y muerte. En sistema nervioso central (SNC) se recuperaron colonias de *Listeria monocytogenes*, mientras que en la histopatología se observó meningoencefalitis supurativa con múltiples microabscesos en tronco encefálico e inmunomarcación positiva a *L. monocytogenes*. Se detectaron dos vacas de cría portadoras asintomáticas que excretaban *L. monocytogenes* y seis que excretaban *L. innocua* en materia fecal. En las muestras de pasturas no hubo aislamiento, mientras que en la muestra de agua de arroyo se recuperó *L. innocua*. El aislamiento de *L. monocytogenes* obtenido de SNC y otro de una vaca portadora asintomática se tipificaron como perfil de serotipo 4b, el restante se tipificó como perfil 1/2a. Estos serotipos coinciden con los más comúnmente reportados a nivel mundial en casos humanos y animales, así como en alimentos para consumo humano a nivel nacional. Es necesario continuar los estudios epidemiológicos en los sistemas de producción cárnica y lechera de Uruguay para conocer la dispersión del agente, establecer su relación con casos de listeriosis en humanos y diseñar/aplicar medidas de control adecuadas que disminuyan su diseminación entre animales de producción.

Palabras clave: Rumiante, romboencefalitis, pastoreo

Summary

Listeriosis is a disease associated with the consumption of food contaminated with bacteria of the genus *Listeria*. This study was carried out in an extensive beef cattle operation. The aims were to confirm the clinical suspicion of nervous listeriosis in a beef cattle, to detect asymptomatic carriers of *Listeria* sp. within the herd and to establish the presence of bacteria of the genus *Listeria* in pastures and drinking water from the farm. A cow showed circling, decubitus and death. Necropsy was performed and *Listeria monocytogenes* was isolated from the central nervous system (CNS). Suppurative meningoencephalitis with multiple microabscesses was observed in the brainstem and positive *L. monocytogenes* immunostaining was detected. Two asymptomatic cows were shedding *L. monocytogenes* and six were shedding *L. innocua* in feces. *Listeria* sp. was not isolated from pasture samples, while *L. innocua* was isolated in the water sample from the stream. *L. monocytogenes* isolates from CNS and another from an asymptomatic carrier cow were typified as serotype 4b profile, and the other one as serotype 1/2a. Both serotypes belong to the most commonly reported worldwide in humans and animals diseases, as well as in foods for human consumption nationwide. More epidemiological studies are necessary in beef and dairy cattle operations of Uruguay in order to investigate the dispersion of the agent, establish its relationship with cases of listeriosis in humans and design/apply control measures that reduce its dissemination among animals.

Key words: ruminant, rhombencephalitis, grazing

Introducción

El género *Listeria* está constituido por bacterias gram positivas, ampliamente distribuidas en el medio ambiente (Vázquez-Boland y col., 2001; Linke y col., 2014). Hasta la fecha se han identificado 17 especies (Orsi y Wiedmann, 2016). *Listeria monocytogenes* es la principal especie que se asocia a enfermedad en animales y humanos (Vázquez-Boland y col., 2001), aunque también se han descrito casos de listeriosis con aislamiento de *L. innocua* (Walker y col., 1994; Rocha y col., 2013; Favaro y col., 2014). Los productos lácteos y cárnicos (frankfurters, chacinados), ensaladas y alimentos listos para el consumo (RTE) contaminados con *L. monocytogenes* son los alimentos más frecuentemente relacionados a casos de la enfermedad en humanos (Cartwright y col., 2013).

Los rumiantes son particularmente susceptibles a la infección por *L. monocytogenes*, siendo la forma nerviosa la presentación clínica más común, caracterizada por hipoalgesia de la cara, dificultades masticatorias, parálisis facial unilateral, nistagmo, marcha en círculos, entre otros signos de afectación de pares craneanos (Oevermann y col., 2010). También se han reportado, aunque menos frecuentemente, casos de abortos, septicemia neonatal, queratoconjuntivitis/uveítis y enteritis (Oevermann y col., 2010; Fairley y col., 2012). Muchos trabajos han demostrado que los rumiantes sanos son portadores asintomáticos de bacterias del género *Listeria* incluyendo *L. monocytogenes*, excretándolas a través de materia fecal (Nightingale y col., 2004; Esteban y col., 2009). Dentro de los rumiantes, la especie bovina es la que tiene mayor prevalencia de animales portadores (Nightingale y col., 2004; Esteban y col., 2009), esto se relacionaría a una mayor prevalencia de *L. monocytogenes* a nivel ambiental en los predios que contienen bovinos (Nightingale y col., 2005).

En Uruguay, las enfermedades nerviosas de los bovinos tienen particular interés en su estudio y diagnóstico, debido a que integran el diagnóstico diferencial de la encefalopatía espongiiforme bovina (EEB) (Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca, 2001). Un estudio retrospectivo realizado por Easton y col. (2012) reportó que las principales enfermedades infecciosas en Uruguay que afectan el sistema nervioso central de bovinos son rabia, meningoencefalitis por Herpesvirus bovino (BoHV), listeriosis y fiebre catarral maligna. Los objetivos de este trabajo fueron detectar la presencia de *L. monocytogenes* en un animal con signología nerviosa compatible, así como bovinos portadores asintomáticos en el mismo rodeo de carne pastoreando a campo natural. Además, detectar la presencia de bacterias del género *Listeria* sp. en el medio ambiente del predio.

Materiales y métodos

Predio en estudio

Este trabajo se realizó en un establecimiento agrícola ganadero ubicado en el Departamento de Paysandú (32°01'45" S,

57°25'17" W), Uruguay. El caso se presentó en un potrero de 100 hectáreas de campo natural donde pastoreaban 70 vacas de cría, algunas con cría al pie, sin suplementación. El agua de bebida se obtenía del arroyo que corría por el potrero.

En Setiembre de 2015 se consulta al Laboratorio Regional Noroeste DILAVE "Miguel C. Rubino" porque una vaca Hereford, de ocho dientes, con ternero al pie, presentaba marcha en círculos hacia el mismo lado, no podía alimentarse, ni tomar agua. En las 24 horas siguientes el animal adoptó posición de decúbito permanente y muere sin recibir tratamiento alguno. No se constató dentro del rodeo otro animal afectado, ni abortos. Al día siguiente 12 horas luego de ocurrida la muerte, se concurrió al predio a realizar la necropsia.

Durante la necropsia se colectaron muestras (1cm × 1cm) de todos los órganos parenquimatosos y se sumergieron en formol bufferado al 10%. Se extrajo sistema nervioso central (SNC) que se dividió en dos mitades, una se colocó en formol para estudio histopatológico y la otra en bolsa estéril refrigerada para estudio bacteriológico.

Muestreo del rodeo problema y del ambiente

Nueve días después, se concurrió al predio a extraer muestras de materia fecal de 27 bovinos (vacas de cría) que se encontraban pastoreando junto al animal enfermo, de pasturas del potrero donde se encontraba el rodeo y del agua de bebida.

Para el cálculo de la cantidad de animales que se debían muestrear para detectar portadores asintomáticos, se utilizó la fórmula de Dohoo y col. (2003): $n = (1 - (1 - \alpha)^{1/D}) \times (N - (D - 1) \div 2)$.

Para este cálculo se asumió en base a la bibliografía (Nightingale y col., 2004; Esteban y col., 2009) que la prevalencia de portadores en el rodeo es del 10%, con un intervalo de confianza de 95% y que la sensibilidad de la prueba (cultivo en este caso) es del 90%, obteniéndose un número (n) de 27 animales a muestrear.

La elección de las vacas a muestrear fue aleatoria. La materia fecal se tomó del recto de cada animal con guante individual y se depositó en bolsas plásticas estériles individuales.

Se tomó una muestra de 500 mL de agua del arroyo que corría por el potrero. Para la recolección de esta muestra se sumergió un frasco estéril con tapa a rosca, allí se abrió la tapa y se cerró antes de sacarlo al exterior.

Se colectaron dos muestras de pastura (campo natural) del potrero donde se encontraba el animal afectado. Para la toma de muestras, se recorrió el potrero, colectando el forraje en 10 puntos distintos determinados aleatoriamente. El mismo se encontraba a una distancia de 5 cm del suelo, no incluía raíces, materia fecal, ni restos de suelo.

Cada muestra fue identificada y se mantuvo refrigerada en conservadoras a 4°C hasta su procesamiento en el laboratorio.

Aislamiento microbiológico

Procedimiento

Esta actividad se realizó en la sección Bacteriología del Laboratorio Regional Noroeste. El procesamiento de las muestras de agua, pasturas, SNC y materia fecal se realizó siguiendo el protocolo de Nightingale y col. (2004).

La mitad del SNC, 25 g de cada muestra de materia fecal o pastura se colocaron en bolsas estériles Stomacher (Stomacher, UK) y se le agregó aseptícamente 225 mL de caldo de enriquecimiento *Listeria* (Oxoid, UK). El agua fue filtrada utilizando un filtro de celulosa estéril de 0,45 µm (Sartorius, Alemania), el filtro se transfirió a una bolsa Stomacher estéril y se le agregó 100 mL de caldo de enriquecimiento *Listeria* (Oxoid, UK). Las muestras se homogeneizaron durante 30 segundos a 200 rpm en Stomacher Circulator 400 (Stomacher, UK) y se incubaron durante 24 horas en aerobiosis a 30°C en estufa. Al día siguiente se transfirió aseptícamente una alícuota de 100 µL a 10 mL de caldo de enriquecimiento secundario FRASER (Oxoid, UK) incubándose por otras 24 horas en aerobiosis a 30°C. Luego se sembraron 100 µL de FRASER en placa de agar Oxford Modificado (Oxoid, UK). Las placas se incubaron a 35°C, en aerobiosis durante 48 horas. A las 24 y 48 horas fueron inspeccionadas para detectar crecimiento bacteriano.

Identificación de cepas del género *Listeria*

Las colonias con morfología sospechosa en agar Oxford Modificado [blancas, pequeñas y rodeadas de un halo marrón negro (hidrólisis de la esculina)] fueron repicadas en placas de agar sangre ovina al 7% y se incubaron 24 horas a 37°C en estufa. Sobre las colonias sospechosas de *Listeria* se realizaron las siguientes pruebas para la identificación de especie: tinción de Gram, prueba de catalasa, presencia/ausencia de un halo estrecho de β-hemólisis, prueba de CAMP con *Staphylococcus aureus* y *Rhodococcus equi*, y producción de ácido a partir de D-glucosa, L-ramnosa, manitol y D-xilosa.

Las colonias identificadas como *L. monocytogenes* fueron remitidas al Departamento de Bacteriología y Virología del Instituto de Higiene “Prof. Arnoldo Berta”, Facultad de Medicina, Universidad de la República, para la realización de estudios moleculares.

PCR multiplex para determinación del perfil de serotipo

Se utilizó un procedimiento de PCR múltiple para diferenciar los principales perfiles de serotipos de *L. monocytogenes*: 1/2a; 1/2b; 1/2c y 4b, según técnica descrita por Doumith y col. (2004).

Para la extracción de ADN las cepas de *L. monocytogenes* se sembraron en placas de agar infusión cerebro corazón (BHIA) y se incubaron a 37°C durante 18 horas. Se tomaron 3 a 5 colonias de un cultivo puro con ansa descartable y se resuspendieron en 50 µL de solución de lisis (dodecil sulfato de sodio al 0,25% y NaOH 0,05 N). La suspensión se incubó a 99°C durante 15 mi-

nutos, se agregaron 100 µL de agua ultrapura tipo MilliQ a cada tubo y se centrifugaron a 12.000 rpm por 10 minutos. Cada sobrenadante se conservó a -20°C hasta su utilización como molde (2 µL) en las distintas reacciones de amplificación.

Como controles se incluyeron las siguientes cepas de referencia: *L. monocytogenes* serotipo 1/2a (CIP 89381), *L. monocytogenes* serotipo 1/2b (CIP 90602), *L. monocytogenes* 1/2c (CIP 89756) y *L. monocytogenes* serotipo 4b (CIP 88868).

Las reacciones de amplificación se realizaron en un volumen final de 25 µL conteniendo 1,25 U de Taq DNA polimerasa, 0,2 mM de cada dinucleótido trifosfatado (dNTP's), y 50 mM Tris-HCl-10 mM KCl-50 mM (NH₄)₂SO₄-2 mM MgCl₂ por tubo, a pH 8,3. Los cinco sets de primers se utilizaron a las siguientes concentraciones finales: 1 µM para el *L. monocytogenes* o0737, ORF2819 y ORF2110; 1,5 µM para *L. monocytogenes* o1118; y 0,2 µM para *prs*.

Para las reacciones de amplificación se utilizó un termociclador GeneAmp PCR System 2700 (Applied Biosystems, EEUU) y el siguiente programa de temperaturas: desnaturalización inicial a 94°C durante 3 minutos; seguido por 35 ciclos de 94°C por 40 segundos, 53°C por 75 segundos y 72°C por 75 segundos cada uno; con un ciclo de extensión final de 72°C durante 7 minutos. Los productos de PCR se separaron por electroforesis sumergida en geles de agarosa al 2%. Las condiciones de corrida fueron las siguientes: 100V y 40 mA en buffer TBE 0,5X (90 mM base Trizma, 90 mM ácido bórico y 2 mM EDTA a pH 8.3) durante al menos 1 hora. Los geles se tiñeron con una solución de bromuro de etidio (0,5 µL/ml) durante 15 minutos, se destiñeron con agua destilada durante 20 minutos, se observaron con luz ultravioleta y se fotografiaron.

Histopatología e inmunohistoquímica

Se realizó en la sección Patología del Laboratorio Regional Noroeste DILAVE “Miguel C. Rubino”. Se tomaron muestras representativas de todos los órganos muestreados así como de las principales regiones anatómicas del sistema nervioso central fijados en formol bufferado al 10%: corteza frontal, parietal y occipital, *corpus striatum*, tálamo, mesencéfalo, puente, cerebelo, bulbo y obex. Fueron procesadas en forma rutinaria para estudio histopatológico, cortadas a 5 micras de espesor y coloreadas con Hematoxilina y Eosina (H&E). La inmunohistoquímica se realizó siguiendo el protocolo de Easton y col. (2012). Los cortes de tronco encefálico se desparafinaron de forma rutinaria y se sumergieron en peróxido de hidrógeno al 10% en metanol durante 15 minutos. Luego se lavaron con agua destilada y se sumergieron en leche descremada al 5% por 25 minutos. Se lavaron nuevamente y se incubaron con el anticuerpo primario *Listeria monocytogenes* (Difco, EEUU) a una dilución de 1/200 durante una hora a 37°C. Luego se incubaron con el anticuerpo secundario (LSAB) (Dako, EEUU) 20 minutos a temperatura ambiente. Se lavaron nuevamente y se sumergieron en streptavidina-peroxidasa de rábano picante (HRP) (Dako, EEUU) otros 20 minutos a temperatura ambiente. Para el revelado de la reacción se incubaron las láminas con solución cromógena DAB (Dako, EEUU) durante 5 a 10 minutos y como contraste se utilizó Hematoxilina de Harris. Los cortes se deshidrataron rutinariamente y se mon-

taron para su observación al microscopio.

Resultados

Caso clínico

El animal en la necropsia presentó mucosas oculares congestivas. En cavidad abdominal se observó intestino delgado y grueso con escaso contenido. Al corte de los preestómagos no se observaron lesiones de significación. El hígado presentaba escasos trayectos fibrosados. En cavidad torácica destacaban áreas enfisematosas en ambos pulmones. En la apertura de cavidad craneana se observaron meninges congestivas.

En el SNC se aislaron colonias de *L. monocytogenes*.

En el estudio histopatológico, a nivel de tronco encefálico (puente, bulbo raquídeo y obex) se observó severa romboencefalitis caracterizada por meningitis supurativa moderada, difusa; infiltrado perivascular multifocal (“manguitos perivasculares”) compuesto por células mononucleares; múltiples microabscesos y focos de malacia (Figura 1). En la inmunohistoquímica se observó inmunomarcación positiva a *L. monocytogenes* en el citoplasma de neutrófilos y linfocitos de múltiples microabscesos (Figura 2). No se observaron lesiones significativas en el resto de los órganos examinados.

Muestreo del rodeo problema y el ambiente

Se realizaron 30 cultivos, 27 correspondieron a muestras individuales de materias fecales de vacas, una muestra de agua y dos muestras de pasturas. Se obtuvieron 2 aislamientos de *L. monocytogenes* (6,6 %) y 7 de *L. innocua* (23,3 %) (Cuadro 1). En la muestra de agua se recuperó *L. innocua*. En las muestras de pasturas no se aislaron bacterias del género *Listeria*. De las 27 muestras de materia fecal, hubo aislamiento de *L. innocua* en seis (22,2%) de ellas, mientras que en dos (7,4%) se recuperó *L. monocytogenes* (Cuadro 1).

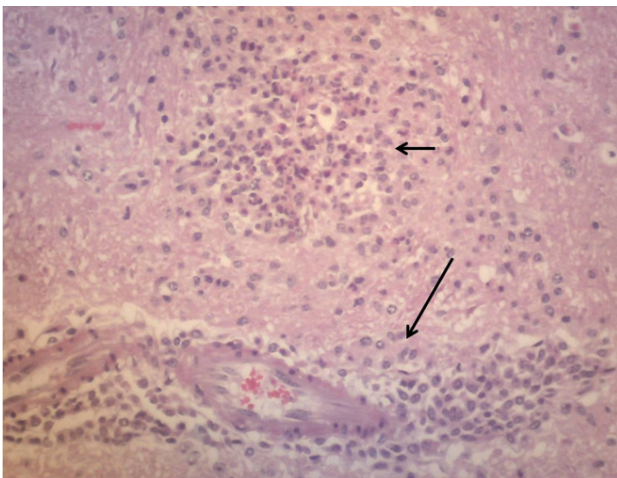


Figura 1: Bovino, SNC (puente). Infiltrado perivascular constituido por células inflamatorias mononucleares (flecha grande) y microabsceso (flecha pequeña). H&E, 100×.

Cuadro 1: Aislamientos realizados por tipo muestra y especie del Género *Listeria* en el establecimiento estudiado.

	<i>Listeria innocua</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	Negativo	Total
Agua	1	0	0	1
Pastura	0	0	2	2
Materia fecal	6	2	19	27
Total	7	2	21	30

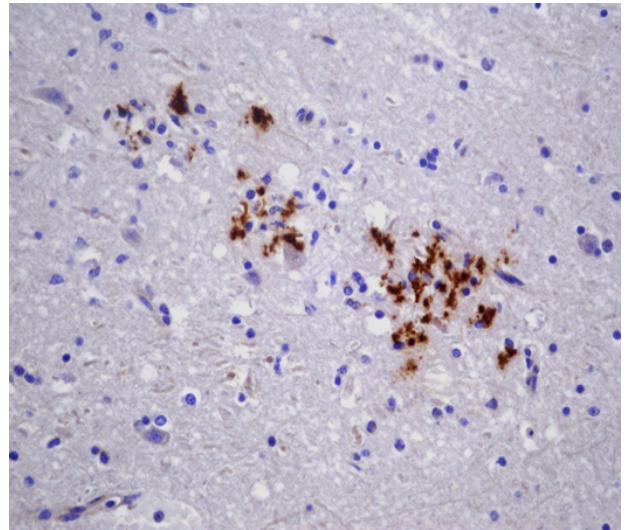


Figura 2: Bovino, SNC (puente). Inmunomarcación positiva a *L. monocytogenes* (áreas de color marrón) en el citoplasma de neutrófilos y linfocitos de un microabsceso, DAB, 400×.

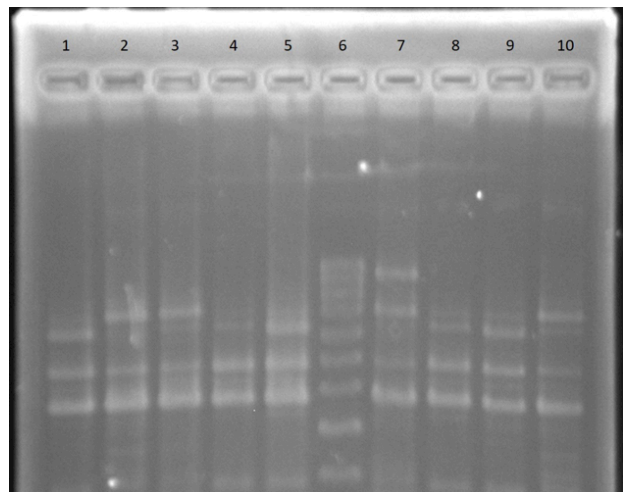


Figura 3: PCR Multiplex: Perfil de serotipo de los aislamientos de *L. monocytogenes* obtenidos. Línea 1: *L. monocytogenes* recuperada del sistema nervioso central de la vaca necropsiada. Línea 2: Control positivo de *L. monocytogenes* serotipo 1/2a. Línea 3: *L. monocytogenes* recuperada de materia fecal de bovino portador. Línea 4: Control positivo de *L. monocytogenes* serotipo 1/2b. Línea 5: *L. monocytogenes* recuperada de materia fecal de bovino portador. Línea 6: Marcador molecular. Línea 7: Control positivo de *L. monocytogenes* serotipo 1/2c. Línea 8: Control positivo de *L. monocytogenes* serotipo 4b. Línea 9: Control positivo de *L. monocytogenes* serotipo 4b. Línea 10: Control positivo de *L. monocytogenes* serotipo 1/2a.

PCR multiplex para determinación del perfil de serotipo

El aislamiento obtenido del sistema nervioso central así como uno de los aislamientos de materia fecal se tipificaron como perfil de serotipo 4b. El otro aislamiento obtenido de materia fecal se tipificó como perfil 1/2a (Figura 3).

Discusión

Se confirmó la sospecha clínica de listeriosis nerviosa en una vaca de cría con ternero al pie en un sistema extensivo de producción de carne. Esta enfermedad ha sido descrita en rumiantes en Uruguay por varios autores (Dutra, 2009; Dutra, 2010; Easton y col., 2012; Matto y col., 2017), sin embargo, existía un solo reporte en bovinos en condiciones extensivas (Dutra, 2009). En este caso, el aislamiento en SNC se asoció a las lesiones histológicas y la marcación inmunohistoquímica observada en tronco encefálico. La romboencefalitis es la forma más común de listeriosis en rumiantes (Oevermann y col., 2010) y en Uruguay *L. monocytogenes* es uno de los principales agentes causales de encefalitis en bovinos (Easton y col., 2012).

Teniendo en cuenta que solo enfermó un bovino en un total de 70 que formaban el rodeo, se sospecha que ese animal presentaba alguna afección que lo hizo susceptible a la infección, debido a que *L. monocytogenes* suele ser un patógeno oportunista (Vázquez-Boland y col., 2001; Oevermann y col., 2010). El factor predisponente para este episodio no pudo determinarse con los estudios realizados.

En coincidencia con lo registrado en este episodio, se ha reportado que los casos de listeriosis en rumiantes tienen una mayor prevalencia en invierno e inicio de la primavera, debido a una mayor excreción fecal del agente y, en consecuencia, mayor contaminación ambiental (Nightingale y col., 2005). Además se dan condiciones ambientales de mayor humedad y frío que permiten la sobrevivencia del agente (Vázquez-Boland y col., 2001).

Se detectaron dos vacas asintomáticas cohabitantes que excretaban *L. monocytogenes* dentro del rodeo. Esto favorecería la dispersión del agente en el predio a través de la materia fecal, perpetuando el ciclo de transmisión de la bacteria en el medio ambiente (Ivanek y col., 2006). En un estudio realizado por Nightingale y col. (2004), se reportó que en aquellos predios con casos de listeriosis, la prevalencia de *L. monocytogenes* en ambientes y animales fue significativamente mayor. Por otra parte, en la bibliografía existen escasos trabajos que estudien la prevalencia de bovinos portadores de *L. monocytogenes* en sistemas de producción de carne. Esteban y col. (2009) en un muestreo en el País Vasco, España, reportaron una prevalencia de 7,7% mientras que, Mohammed y col. (2009) describen una prevalencia promedio de portadores asintomáticos de 3,4 % en establecimientos de cría y 0,3 % en *feedlots* en el estado de California, Estados Unidos. En este trabajo se detectaron además 6 vacas que excretaban *L. innocua* en materia fecal; aunque es una especie clasificada como no patógena, se han reportado casos de listeriosis tanto en seres humanos como en rumiantes (Walker y col., 1994; Rocha y col., 2013; Favaro y col., 2014).

El hecho de detectar bovinos portadores asintomáticos que excretan *L. monocytogenes* en materia fecal, tendría repercusión además a nivel de la industria de la carne, ya que en el proceso de faena en el momento del cuereado podría contaminarse la carcasa (Rivera-Betancourt y col., 2004; Guerini y col., 2007). El trabajo de Rivera-Betancourt y col. (2004) reporta contaminación de los cueros bovinos por *L. monocytogenes* en plantas frigoríficas de Estados Unidos en una prevalencia de 9,9%.

Este caso se presentó en un bovino alimentado a campo natural, sin la administración de ensilado ni suplementos. Tradicionalmente, esta enfermedad se asocia al consumo de ensilado en mal estado (Nightingale y col., 2004). Sin embargo, en Nueva Zelanda, Argentina y Uruguay se han descrito casos de listeriosis en rumiantes asociados a condiciones de pastoreo (Fairley y col., 2012; Margineda y col., 2012; Matto y col., 2017). En el presente estudio no se detectó la presencia de *Listeria* sp. en las muestras de pasturas analizadas. Esto podría explicarse debido a que la pastura no fue la fuente de infección o que, debido a la extensión del potrero problema no se tomaron la cantidad de muestras suficientes para su detección. Mohammed y col. (2009) reportaron una prevalencia de 5,3% de *L. monocytogenes* en pasturas en establecimientos ganaderos, donde el 28% de los predios presentaban al menos una muestra positiva. Por otro lado, se detectó la presencia de *L. innocua* en muestra de agua del arroyo, este hallazgo podría indicar una posible fuente de infección. Estudios realizados por Lyautey y col. (2007), Mohammed y col. (2009) y Linke y col. (2014) recuperaron en aguas fluviales (lagos, tajamares y/o arroyos) especies no patógenas como *L. innocua*, *L. seeligeri*, *L. floridensis* entre otras, así como también especies patógenas como *L. ivanovii* y *L. monocytogenes*. Esto sugeriría que el agua no potable y contaminada con materia fecal de animales podría constituir un vehículo potencial para la diseminación de *Listeria*.

El aislamiento de *L. monocytogenes* del caso clínico y el de otro bovino portador asintomático fueron tipificados como perfil de serotipo 4b, el aislamiento restante (portador asintomático) se identificó como 1/2a. Estos serotipos se encuentran entre los más frecuentemente aislados en casos de enfermedad en humanos y animales (Vázquez-Boland y col., 2001; Oevermann y col., 2010). El serotipo 4b es frecuente en casos de listeriosis en humanos a nivel mundial. Tiende a producir brotes y formas clínicas severas, así como también se asocia a la forma nerviosa en rumiantes (Vázquez-Boland y col., 2001; Oevermann y col., 2010). Por otro lado, Nightingale y col. (2004) observaron mayor prevalencia del serotipo 1/2a en rumiantes clínicamente sanos. La presencia del serotipo 1/2a circulando en los animales y ambiente de los predios, constituye además un riesgo importante para la contaminación de los productos de origen animal. Este serotipo tiene mayor capacidad de adherirse a superficies inertes como acero inoxidable y formar *biofilms*, contaminando el ambiente de las industrias procesadoras y los alimentos (Borucki y col., 2003; Orsi y col., 2011).

En un estudio realizado en Uruguay en alimentos para consumo humano, se encontró que el 87% de los aislamientos de *L. monocytogenes* corresponden a los serotipos 1/2b y 4b, mientras

que el 6,94% al serotipo 1/2a (Braga y col., 2017). En el mismo sentido, los serotipos 4b y 1/2b son los más frecuentes en casos humanos de listeriosis en nuestro país (Mota y col., 2018). Estos resultados sugieren que habría riesgo potencial de contaminación por *L. monocytogenes* de los subproductos de origen animal para consumo humano. Se necesitan más estudios que incluyan encuestas epidemiológicas detalladas y la comparación genética de aislamientos humanos y animales para establecer si existe un vínculo epidemiológico.

Conclusiones

Ante la sospecha clínica de la enfermedad se logró el aislamiento de *L. monocytogenes* del sistema nervioso central, confirmando el diagnóstico en un rodeo de bovinos de carne en un sistema de producción extensiva.

Se detectaron vacas de cría portadoras asintomáticas que excretaban *L. monocytogenes* o *L. innocua* en sus materias fecales. Esta situación contribuiría a la dispersión y perpetuación del agente en el ambiente del predio, así como también, podría ser un riesgo de contaminación de la canal en plantas de faena a través de cueros contaminados.

Sería necesario continuar los estudios epidemiológicos en los sistemas de producción cárnica y lechera de Uruguay para conocer la dispersión del agente, establecer su relación con casos de listeriosis en humanos y diseñar/aplicar medidas de control adecuadas que disminuyan su diseminación entre animales de producción.

Bibliografía

1. Borucki MK, Peppin JD, White D, Loge F, Call DR. (2003). Variation in biofilm formation among strains of *Listeria monocytogenes*. *Appl. Environ. Microbiol.* 69(12): 7336-7342.
2. Braga V, Vázquez S, Vico V, Pastorino V, Mota MI, Legnani M, Schelotto F, Lancibidad G, Varela G. (2017). Prevalence and serotype distribution of *Listeria monocytogenes* isolated from foods in Montevideo-Uruguay. *Braz J Microbiol.* 48 (4): 689-694.
3. Cartwright EJ, Jackson KA, Johnson SD, Graves LM, Silk BJ, Mahon BE. (2013). Listeriosis outbreaks and associated food vehicles, United States, 1998-2008. *Emerg. Infect. Dis.* 19: 1-9.
4. Dohoo I, Martin W, Stryhn H. (2003). Sampling. En: Dohoo I, Martin W, Stryhn H. *Veterinary Epidemiologic Research*. Charlottetown, Ed. AVC, 706 p.
5. Doumith M, Buchrieser C, Glaser P, Jacquet C, Martin P. (2004). Differentiation of the major *Listeria monocytogenes* serovars by multiplex PCR. *J. Clin. Microbiol.* 42(8): 3819-3822.
6. Dutra F. (2009). Archivo Veterinario del Este, Boletín N°1. Disponible en: https://www.smvu.com.uy/moduloBiblioteca/7_f7791f92/archivosAdjuntos/n-1.pdf Fecha de visita: 31/07/2018.
7. Dutra F. (2010). Archivo Veterinario del Este, Boletín N°7. Disponible en: https://www.smvu.com.uy/moduloBiblioteca/8_b5addb8e/archivosAdjuntos/n-4.pdf Fecha de visita: 31/07/2018.
8. Easton C, Preliasco M, Paullier C, Marcolongo-Pereira C, Nakazato L, Rivero R. (2012). Estudio retrospectivo para la identificación de agentes infecciosos que provocan encefalitis en bovinos de Uruguay. *Veterinaria (Montevideo)* 48 (186): 13-18.
9. Esteban JI, Oporto B, Arduiz G, Juste RA, Hurtado A. (2009). Faecal shedding and strain diversity of *Listeria monocytogenes* in healthy ruminants and swine in Northern Spain. *BMC Vet. Res.* 5(2): Vet. Res. doi: 10.1186/1746-6148-5-2.
10. Fairley RA, Pesavento PA, Clark RG. (2012). *Listeria monocytogenes* infection of the alimentary tract (Enteric listeriosis) of sheep in New Zealand. *J. Comp. Path.* 146: 308-313.
11. Favaro M, Sarmati L, Sancesario G, Fontana C. (2014). First case of *Listeria innocua* meningitis in a patient on steroids and etanercept. *JMM Case Rep.* doi: 10.1099/jmmcr.0.003103. 1(2): 1-5.
12. Guerini MN, Brichta-Harary DM, Shackelford SD, Arthur TM, Bosilevac JM, Kalchayanand N, Wheeler TL, Koohmaraie M. (2007). *Listeria* prevalence and *Listeria monocytogenes* serovar diversity at cull cow and bull processing plants in the United States. *J. Food Prot.* 70(11): 2578-2582.
13. Ivanek R, Gröhn YT, Wiedmann M. (2006). *Listeria monocytogenes* in multiple habitats and host populations: review of available data for mathematical modeling. *Food. Path. Dis.* 3(4): 319-336.
14. Linke K, Ruckerl I, Brugger K, Karpiskova R, Walland J, Muri-Klinger S, Tichy A, Wagner M, Stessl B. (2014). Reservoirs of *Listeria* species in three environmental ecosystems. *Appl. Environ. Microbiol.* 80(18): 5583-5592.
15. Lyautey E, Lapen DR, Wilkes G, McCleary K, Pagotto F, Tyler K, Hartmann A, Piveteau P, Rieu A, Robertson WJ, Medeiros DT, Edge TA, Gannon V, Topp E. (2007). Distribution and characteristics of *Listeria monocytogenes* isolates from surface waters of the south nation river watershed, Ontario, Canada. *Appl. Environ. Microbiol.* 73(17): 5401-5410.
16. Margineda C, Cantón G, Lischinsky L, Moreira A, Campeiro C. (2012). Listeriosis en bovinos de la Provincia de Buenos Aires, Argentina. *Rev. vet.* 23 (1): 32-37.
17. Matto C, Varela G, Mota MI, Giannechini R, Rivero R. (2017). Rhombencephalitis caused by *Listeria monocytogenes* in a pastured bull. *J. Vet. Diagn. Investig.* 29(2) 228-231.
18. Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca (2001) *Legislación Sanitaria Animal*. 483 p.
19. Mohammed H, Atwill E, Dunbar L, Ward T, McDonough

- P, Gonzalez R, Stipetic K. (2009). The risk of *Listeria monocytogenes* infection in beef cattle operations. *J Appl Microbiol.* 108(1):349-56.
20. Mota MI, Braga V, Vico V, Vázquez S, Matto C, Pardo L, Schelotto F, Varela G. (2018). Tipificación de aislamientos de *Listeria monocytogenes* de origen humano, bovino, ambiental y alimentario en Uruguay, 2010-2017. Congreso Latinoamericano de Microbiología, XXIV, Santiago de Chile, Chile, 133p.
 21. Nightingale KK, Schukken YH, Nightingale CR, Fortes ED, Ho AJ, Her Z, Gröhn YT, McDonough PL, Wiedmann M. (2004). Ecology and transmission of *Listeria monocytogenes* infecting ruminants and in the farm environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 70(8):4458-4467.
 22. Nightingale KK, Fortes ED, Ho AJ, Schukken YH, Gröhn YT, Wiedmann M. (2005). Evaluation of farm management practices as risk factors for clinical listeriosis and fecal shedding of *Listeria monocytogenes* in ruminants. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 227:1808-1814.42: 245-253.
 23. Oevermann A, Zurbriggen A, Vandvelde M. (2010). Rhombencephalitis caused by *Listeria monocytogenes* in humans and ruminants: A zoonosis on the rise? *Interdiscipl Perspect Infect Dis.* doi: 10.1155/2010/632513.
 24. Orsi RH, den Bakker HC, Wiedmann M. (2011). *Listeria monocytogenes* lineages: genomics, evolution, ecology, and phenotypic characteristics. *Int. J. Med. Microbiol.* 301:79-96.
 25. Orsi RH, Wiedmann M. (2016). Characteristics and distribution of *Listeria* spp., including *Listeria* species newly described since 2009. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 100: 5273-5287.
 26. Rivera-Betancourt M, Shackelford SD, Arthur TM, Westmoreland KE, Bellinger G, Rossman M, Reagan JO, Koohmaraie M. (2004) Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella* in two geographically distant commercial beef processing plants in the United States. *J. Food Prot.* 67(2): 295-302.
 27. Rocha PRD, Dalmaso A, Grattarola C, Casalone C, Del Piero F, Bottero MT, Capucchio MT. (2013). Atypical cerebral listeriosis associated with *Listeria innocua* in a beef bull. *Res. Vet. Sci.* 94: 111–114.
 28. Vázquez-Boland JA, Kuhn M, Berche P, Chakraborty T, Domínguez-Bernal G, Goebel W, González-Zorn B, Wehland J, Kreft J. (2001). *Listeria* pathogenesis and molecular virulence determinants. *Clin. Microbiol. Rev.* 14(3):584-640.
 29. Walker JK, Morgan JH, McLauchlin J, Grant KA, Shallcross JA. (1994). *Listeria innocua* isolated from a case of ovine meningoencephalitis. *Vet. Microbiol.* 42: 245-253.

Nota de contribución:

Matto C ¹	10%
Rodríguez V ¹	10%
Giles M ²	10%
Varela G ³	10%
Braga V ³	10%
Mota MI ³	10%
Vico V ³	10%
Adrien ML ⁴	10%
Giannechini E ¹	10%
Rivero R ¹	10%