

DOS BROTES DE ROMBENCEFALITIS Y MENINGOENCEFALITIS CAUSADA POR *Listeria monocytogenes* EN BUCERROS (*Bubalis bubalis*) LACTANTES EN VENEZUELA

Two outbreaks of Rhombencephalitis and Meningoencephalitis caused by Listeria monocytogenes in Lactating Buffaloes (Bubalis bubalis) in Venezuela

Carlos A. Marín^{1,***}, Nancy M. de López^{*}, Jesús Regetti^{**}, Carlos Marín R.^{****},
Luisa P. de Álvarez^{*} y Oneyda J. Ramírez^{***}

^{*}Departamento de Patología del Instituto de Investigaciones Veterinarias. INIA-CENIAP. Apartado 588. Maracay 2101. Aragua-Venezuela. ^{**}Propietario del Hato "Terecay". Municipio Camaguán. Guárico-Venezuela.

^{***}Cátedra de Anatomía Patológica, Departamento de Patología. Universidad Central de Venezuela (FCV-UCV) Campus Maracay, Maracay 2101, Aragua, Venezuela

^{****}Centro Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA-CENIAP).

Correo-E: cmarinap@hotmail.com

Recibido: 10/10/19 - Aprobado: 29/11/19

RESUMEN

La bacteria *Listeria monocytogenes* es el agente etiológico de una enfermedad compleja y a veces mortal denominada listeriosis. Esta zoonosis causa signos clínicos en más de 50 especies de mamíferos y aves. La *Listeria monocytogenes* ha sido aislada del hombre, mascotas, reptiles, peces, crustáceos, sanguijuelas, caracoles; y en una variedad de artrópodos terrestres, lo cual indica que la cadena epidemiológica de esta enfermedad es extensa, complicada y no ha sido completamente dilucidada. Se hizo una investigación en dos brotes de listeriosis con manifestaciones clínicas neurológicas (rombencefalitis y meningoencefalitis), en bucerros lactantes menores de 1 año de edad, con un 80-100% de morbilidad y un 30-40% de mortalidad, provenientes de dos hatos ubicados en las zonas de "Terecay", estado Guárico y "Palmichal", estado Táchira, respetivamente. Se realizaron tres necropsias en cada finca, se tomaron muestras de tejidos del sistema nervioso central (SNC) y de vísceras y se procesaron para realizar los siguientes análisis: aislamiento bacteriológico, histopatología, hematología, virus (rabia), parásitos hemotrópicos y toxicología. En esta investigación se pudo lograr

ABSTRACT

The bacterium *Listeria monocytogenes* is the etiologic agent of a complex and sometimes fatal disease called listeriosis. This zoonosis causes clinical signs in more than 50 species of mammals and birds. *Listeria monocytogenes* has been isolated from man, pets, reptiles, fish, crustaceans, leeches, snails; and a variety of terrestrial arthropods, which indicates that the epidemiological chain of this disease is extensive, complicated and has not been fully elucidated. An investigation was conducted in two outbreaks of listeriosis with neurological clinical manifestations (rombencephalitis and meningoencephalitis), in lactating buffaloes under 1 year of age, with 80-100% morbidity and 30-40% mortality, from two herds located in the areas of "Terecay", Guárico state and "Palmichal", Táchira state, respectively. Three necropsies were performed in each farm and samples of the central nervous system (CNS) tissues and viscera were taken and processed to perform the following analyses: bacteriological isolation, histopathology, hematology, virus (rabies), hemotropic parasites and toxicology. In this investigation it was possible to achieve the isolation of *Listeria monocytogenes*

¹ A quien debe dirigirse la correspondencia (To whom correspondence should be addressed)

el aislamiento de *Listeria monocytogenes* solo de los tejidos del SNC en 3 animales. La coloración de *Giemsa* fue negativa en frotis de líquido céfalo-raquídeo y en la sangre en todos los animales examinados. Las lesiones histológicas fueron características de listeriosis en 4 bucerros. Se logró el control y erradicación de ambos brotes, con la administración de ampicilina y benzil-penicilina G, a dosis elevadas superiores a 60000 UI/kg peso vivo y sostenidas durante varias semanas, acompañadas de un plan sistemático de profilaxis sanitaria. Se actualizó la revisión bibliográfica, para explicar las interrogantes que quedaron sin respuesta sobre la patogénesis (factores de neuro-virulencia y tropismo por el SNC, y epidemiología de estos dos brotes.

(Palabras clave: Bucerros lactantes; destete precoz; búfalas nodrizas; *Listeria monocytogenes*; rombencefalitis; meningitis)

only from CNS tissues in 3 animals. Giemsa staining was negative in smears of the spinal fluid and blood in all the animals examined. Histological lesions were characteristic of listeriosis in 4 bucerros. The control and eradication of both outbreaks was achieved, with the administration of ampicillin and benzylpenicillin G, at high and sustained doses for several weeks, accompanied by a systematic plan of sanitary prophylaxis. The bibliographic review was updated to explain the questions that remained unanswered about the pathogenesis (neural-virulence factors and tropism by the CNS), and epidemiology of these two outbreaks.

(Key words: Lactating buffaloes; early weaning; suckler buffaloes; *Listeria monocytogenes*; rhombencephalitis; meningitis)

INTRODUCCIÓN

Listeria monocytogenes (*Listeria m.*) fue aislada por primera vez en 1921 en pacientes humanos con meningitis [1], posteriormente en una variedad de rumiantes domésticos [2]. De todos los miembros del género *Listeria*, *Listeria m.* es el microorganismo más patógeno; es una bacteria Gram positiva, intracelular que tiene la capacidad de infectar un variado número de tipos celulares, los cuales incluyen fagocitos específicos y no fagocitos (células epiteliales, endoteliales, hepáticas y fibroblastos). Cruza las barreras: intestinal, hemato-encefálica y placentaria, siendo hasta el año 1980 cuando la listeriosis fue reconocida como una seria y frecuente enfermedad letal de origen alimentario, por lo cual las actividades de investigación sobre esta enfermedad se intensificaron sustancialmente [3]. Desde entonces, su incidencia se ha elevado constantemente con la ocurrencia de grandes brotes de esta enfermedad, convirtiéndola en un serio problema, económico y, de salud pública [4]. La listeriosis en la patología veterinaria reviste gran importancia, debido a la alta susceptibilidad mostrada por las tres especies de rumiantes domésticos (ovejas, cabras y bovinos), y en las últimas décadas los búfalos lecheros, no solamente por las significativas pérdidas económicas

en producción ganadera debido a su alta morbilidad y letalidad de animales, sino también, por la seguridad de los alimentos y la salud pública, al representar un posible vínculo entre el ambiente y la infección humana. Esta enfermedad provoca signos clínicos en más de 50 especies, además del hombre, en animales domésticos, reptiles, peces, crustáceos, caracoles, sanguijuelas y en una especie de artrópodos terrestres; lo que indica que la cadena epidemiológica de esta enfermedad es extensa, complicada y aún no completamente dilucidada [2]. Debido a su naturaleza de diseminarse y su capacidad para tolerar amplias variaciones de pH, temperatura, ambientales y de salinidad, *Listeria m.* entra fácilmente en los alimentos procesados, sobrevive y se multiplica en alimentos como: leche, productos del mar, vegetales y productos cárnicos [2]. Los síndromes clínicos asociados a la infección por *Listeria m.* son similares en todos los huéspedes susceptibles, siendo los más relevantes: gastroenteritis, fiebre, septicemia, aborto e infecciones del sistema nervioso central (SNC): meningitis, meningoencefalitis y rombencefalitis [5]. La implicación del SNC es un aspecto característico de la enfermedad en humanos y rumiantes y da cuenta de la alta mortalidad asociada con la listeriosis [6]. Sin embargo, aunque muchos progresos se han hecho en diversos campos de investigación sobre

esta bacteria, la patogénesis y la transmisión de la infección al SNC en sus huéspedes naturales, permanecen sin una clara explicación, como es el caso de la rombencefalitis. Asimismo, no es mucho lo que se conoce acerca de los determinantes bacterianos asociados a neurovirulencia [7-13].

El primer brote se presentó en mayo de 2015 en el hato "Terecay", se trató de una explotación de búfalas lecheras cuya actividad fundamental es la producción de leche y queso *mozzarella*. La enfermedad se caracterizó por la aparición de un cuadro clínico esencialmente neurológico en bucerros menores de un año de edad con una morbilidad y mortalidad alta que no respondió fácilmente a los tratamientos indicados (Figura 1).



Figura 1. Bucerro caído con signos clínicos típicos de rombencefalitis (SNC) por infección aguda de *Listeria monocytogenes*

Un año después, se presentó un segundo brote en la finca "Palmichal" ubicada en el municipio Joaquín de Navay, estado Táchira, también, en búfalas lecheras, siendo su actividad específica la producción de leche y queso. El cuadro clínico fue similar al anterior, afectando a bucerros, menores de un año, en los cuales la mortalidad y morbilidad fueron algo menores (Figura 1).

El propósito de esta investigación fue determinar el origen y causa (predisponente y determinante) de ambos brotes, considerando la epidemiología y patogénesis de la rombencefalitis y meningoencefalitis, así como el control sanitario de los mismos.

MATERIALES Y MÉTODOS

El hato "Terecay" es una explotación de búfalas lecheras con un sistema de producción de tipo semi-

extensivo, en un ecosistema de sabanas hipertérmicas, con una temperatura que oscila entre 27 y 38 °C durante todo el año. Las búfalas pastorean en potreros de sabanas inundables y pantanosas con pequeñas lagunas que permanecen con agua durante todo el año, con pastos naturales y artificiales. En el interior de la finca y alrededor de la sala de ordeño el terreno es ligeramente lodoso con detritus proveniente de vegetales, restos de alimentos y heces fecales dispersas donde los bucerros conviven con los adultos mientras dura el ordeño.

El primer caso se presentó en una bucerca de dos meses de edad, que mostró un cuadro clínico de excitación, trastornos neurológicos y posterior muerte a los 4 d. Nuevos casos ocurrieron progresivamente, con síntomas muy similares, caracterizados por: hipertermia de 40-41 °C, disnea, babeo excesivo, tortícolis, estrabismo, nistagmus, marcha en círculo y un signo común que fue observado en todos los animales afectados, el miembro posterior izquierdo arrastrado en pinza. La aparición del brote ocurrió con posterioridad a la implementación de un sistema de destete a las 24 h del nacimiento de los bucerros, y complementación de la lactancia con búfalas nodrizas y leche artificial. Este modelo de destete fue adoptado de países europeos con gran experiencia en la cría y explotación de búfalos lecheros.

El segundo brote ocurrió un año después en la finca "Palmichal" también, se trata de una explotación de búfalas lecheras y sistema de producción semi-extensivo, en un ecosistema montañoso de ~900 msnm y temperatura media de ± 22 - °C, con pastos naturales y artificiales y mayor pluviosidad; ubicada a un lado de la carretera nacional, con proximidad al aeropuerto nacional de Santo Domingo, San Cristóbal (estado Táchira). En el interior de la finca los corrales, las bucerreras y el ambiente eran más limpios, con suelos de buen drenaje y de menor contaminación por heces y detritus de forrajes. Los primeros signos y síntomas fueron muy similares y predominantemente neurológicos, como los observados en el hato "Terecay", apareciendo posteriormente a la implementación del sistema de destete precoz, al cual se le había hecho correcciones como las mejoras en el uso de nodrizas, mejor calidad y cantidad de la leche artificial, mejor vigilancia higiénico-sanitaria de los lactantes y del contacto con el medio ambiente inmediato.

Las investigaciones realizadas comprendieron estudios epidemiológicos, clínicos, anatomopatológicos macroscópicos, histopatológicos, bacteriológicos,

virológicos, parasitológicos y toxicológicos.

Las necropsias en el hato "Terecay" se realizaron en 3 bucerros de 5, 7 y 8 meses de edad, respectivamente; en la finca "Palmichal" en 3 bucerros de 4, 6 y 7 meses de edad, ambos grupos presentaron signos neurológicos severos descritos anteriormente y emaciación notable, piel seca, no plegable, pelo hirsuto, áspero y seco con infestación acentuada de artrópodos (piojos). Para el procesamiento de las muestras de ambos brotes, aunque estos ocurrieron en fechas diferentes, fueron tomados y conservados según la misma metodología utilizada en el brote del hato "Terecay", al igual que para los estudios histopatológicos y otros exámenes. Las muestras recolectadas fueron: sangre con y sin anticoagulante extraídas de la vena yugular para hematología, química sanguínea, aislamiento bacteriano, pesquisa de parásitos hemáticos (*Microbabesia intracerebral*) en tubos estériles cerrados al vacío, y de líquido céfalo-raquídeo (LCR) tomado de la cisterna magna, en tubos estériles cerrados herméticamente. En algunos casos, el LCR presentó turbidez y otros mostraron color amarillento y aumento notable de volumen, el cual fue usado para realizar exámenes en frotis teñidos con la coloración de *Gram* y para aislamiento bacteriológico. Las muestras fueron conservadas convenientemente desde el momento de la toma a +4°C y transportadas en cavas con cierre hermético.

Los animales se sacrificaron por degüello, siguiendo el protocolo de bioética, que en esta materia se aplica en la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UCV; luego, se les practicó la técnica de necropsia clásica, poniendo al descubierto la cavidad abdominal, torácica, oral-cervical, pelviana y craneana-medular, encontrándose cambios exudativos, particularmente evidentes en el encéfalo y meninges, por lo cual la sospecha de listeriosis por *Listeria m.*, cobro relevancia.

Se tomaron fragmentos de órganos y tejidos de tamaño convencional para histopatología, los cuales fueron fijados en formol neutro al 10%, para un posterior aislamiento bacteriano, tales como, rombencéfalo (bulbo raquídeo, protuberancia y cerebelo), meninges y cerebro en el SNC. De las fosas nasales se tomó secreción seromucosa (a comienzos de la enfermedad), y mucopurulenta, en los casos más avanzados. *En la cavidad oral:* amígdalas, faringe y nódulos linfáticos regionales edematosos y blandos. *En el tórax:* corazón (sangre de

ventrículos y de grandes vasos), pulmones (sin lesiones aparentes) y nódulos linfáticos traqueo-bronquiales y mediastínicos, con cambios degenerativos. En la cavidad abdominal, se tomaron porciones y fragmentos adecuados para examen del contenido y pared intestinal (duodeno, yeyuno e íleon), segmentos pequeños de nódulos mesentéricos, hígado con vesícula biliar muy distendida por retención biliar, bazo, riñón, y la vejiga con retención de orina de ± 10 L. Para las muestras de virología (virus de la rabia) y toxicología se usaron frascos de vidrio con tapa de bakelita y bolsas plásticas estériles, respectivamente. La conservación y transporte de las muestras de tejidos para el aislamiento bacteriológico se hizo en frascos estériles a +4 °C y transportadas en cavas de cierre hermético.

Aislamiento e Identificación de Listeria m.

Cincuenta gramos de muestras de tejido encefálico y 40 g de órganos viscerales y secreción nasal (excepto tejidos gastrointestinales), fueron asépticamente mezclados por separado durante 2 min en 250 mL de caldo enriquecido de *Listeria* (UVM I) Merck, y luego fueron incubados a 37 °C por 24 h. El segundo enriquecimiento fue pasado en Oxford Agar (Merck®) y Palcamagar (Merck®) e incubado a 35 °C por 48 h. Algunas muestras fueron subcultivadas en Trypton Soy Agar, suplementado con 0,6% de extracto de levadura (Merck®) e incubado a 37 °C por 24 h.

RESULTADOS

1. Aspectos Clínicos

El período de incubación para la encefalitis por *Listeria m.* es más largo comparado con el de otras formas clínicas de esta patología (septicemia y abortos), siendo este entre 1 y 7 sem. Los signos clínicos de la encefalitis listérica son similares en todos los rumiantes domésticos, pero varían dependiendo de la topografía de las lesiones en el SNC y generalmente se caracterizan por afección unilateral o bilateral de los nervios craneales (NC) [4, 5]. Las manifestaciones más relevantes observadas en los dos brotes de este estudio fueron: trastornos en los movimientos del globo ocular por lesión del III y IV NC, trastornos de la masticación y fallas para el cierre de la mandíbula por lesión del V par del NC, caída de las oreja y ptosis de párpado superior y del labio por lesión del VII NC, dificultad para la

deglución por lesión del IX y XNC, parálisis parcial de la lengua por lesión del XII NC, caminar en círculo, cabeza inclinada y volteada hacia un lado (afección del sistema vestibular) y *nistagmus* por lesión del VIII NC. El signo común en todos los enfermos fue el arrastrar en pinza el miembro posterior izquierdo por lesión del nervio tibial del plexo sacro. Otros signos fueron fiebre de 40-41 °C, somnolencia, diarrea y anorexia; en estadios terminales, postración y convulsiones antes de la muerte.

2. Exámenes Microbiológicos

2.1. Aislamiento e identificación de *Listeria*

El aislamiento a partir de tejido rombencefálico y cerebro de *Listeria m.* se hizo en 3 bucerros; 2 de “Terecay” y uno de “Palmichal” (Cuadros 1 y 2). Las placas fueron examinadas para colonias de *Listeria* y mostraron un crecimiento poco abundante de colonias diminutas azuladas y lisas. Las pruebas bioquímicas, incluyeron la coloración de Gram y pruebas de catalasa, test de motilidad a 25 °C y 37 °C, producción de ácido de glucosa, galactosa, lactosa, maltosa y sacarosa, dextrina, sorbitol, glicerol, pero no formaron ácido sulfhídrico, ni indol.

2.1.a. Los extendidos de sangre venosa y LCR teñidos con la coloración de Gram resultaron negativos a cocobacilos *Listeria m.*, pero mostraron una abundante neutrofilia.

2.1.b. Extendidos de sedimento urinario teñidos con la coloración de Gram fueron negativos a cocobacilos *Listeria m.*

2.2. Detección e Aislamiento del virus de Rabia

Los exámenes y pruebas para diagnóstico de rabia a partir de tejido nervioso por inmunofluorescencia directa y prueba biológica en ratones, resultaron negativas.

3. Examen Anatomopatológico

3.1. *Examen macroscópico:* las necropsias de ambos brotes mostraron los siguientes resultados; malas condiciones físicas (emaciación muscular y caquexia),

pelo hirsuto, áspero y seco, piel poco o nada plegable, sin grasa subcutánea y en otras localizaciones de reserva, presencia abundante de artrópodos (piojos) chupadores de sangre, secreción nasal seromucosa y mucopurulenta en casos más avanzados, heces semilíquidas (diarrea), visibles alrededor del ano y miembros posteriores. En la cavidad oral, mucosas pálidas y lengua con pequeñas heridas en la extremidad anterior por mordeduras debido a protrusión de la misma. Región cervico-torácica sin lesiones visibles a pesar de la torsión del cuello por torticolis. Nódulos linfáticos regionales sin cambios inflamatorios. El corazón mostró el miocardio pálido, ligeramente dilatado, con signos de degeneración y de la grasa epicárdica, por metamorfosis en tejido gelatinoso. Líquido pericárdico aumentado de volumen, de aspecto turbio. En el sistema respiratorio no se observaron cambios. Nódulos linfáticos del tórax con signos degenerativos y flácidos. En la cavidad abdominal, líquido peritoneal ~1,5 L y transudado pardo claro; sistema digestivo: proventrículos escasa ingesta, mucosa pálida, papilas poco desarrolladas, abomaso con escaso contenido alimenticio. Intestino delgado, mucosa pálida, escaso contenido semilíquido con abundante gas. Intestino grueso, mucosa pálida, escaso contenido y abundante gas. Hígado, cápsula grisácea con signos distróficos del parénquima y vesícula biliar repleta por inanición prolongada. Bazo flácido, semiatrótico y con signos de fibrosis parenquimatosa. Páncreas de color rosado pálido. Riñones pálidos y retención en vejiga urinaria de ± 10 L de orina, con abundante sedimento (vejiga atónica con músculo de pared vesical relajado y esfínter contraído por pérdida de inhibición debido a lesión medular en niveles superiores). En la cavidad cráneo-medular, opacidad y engrosamiento de las meninges, específicamente la duramadre cervico-encefálica con adherencias y cambios exudativos (paquimeningitis) a nivel del rombencéfalo (bulbo raquídeo), mesencéfalo y procencéfalo.

Cuadro 1. Frecuencia de Aislamiento de *Listeria m.* y de Rombencefalitis (microabscesos) y Meningoencefalitis purulenta. Hato “Terecay”

Bucerros	E d a d (meses)	Aislamiento de <i>Listeria monocytogenes</i>	Coloración de Giemsa en LCR	Rombencefalitis y microabscesos + cocobacilos <i>Listeria m.</i>	Meningoencefalitis purulenta
1	5	+	-	++	++
2	7	+	-	+++	++
3	8	-	-	-	-

Cuadro 2. Frecuencia de Aislamiento y de Rombencefalitis (microabscesos) y Meningoencefalitis purulenta Hato “Palmichal”

Bucerros	Edad (meses)	Aislamiento de <i>Listeria monocytogenes</i>	coloración Giemsa LCR	Rombencefalitis y microabscesos +cocobacilos <i>Listeria m.</i>	Meningoencefalitis, exudado supurado
1	5	-	-	++	+++
2	7	-	-	-	-
3	6	+	-	+	++

3.2. Examen histopatológico

En ambos brotes, las lesiones histológicas examinadas con la coloración de H&E mostraron en dos bucerros de “Terecay” y en dos de “Palmichal” (Cuadros 1 y 2), cambios de tipo inflamatorio necrótico-exudativo con formación de pequeñas lesiones circunscritas abscedadas (Figura 2), consideradas por algunos autores como patognomónicas. Estas lesiones estaban localizadas en el rombencéfalo como microabscesos.

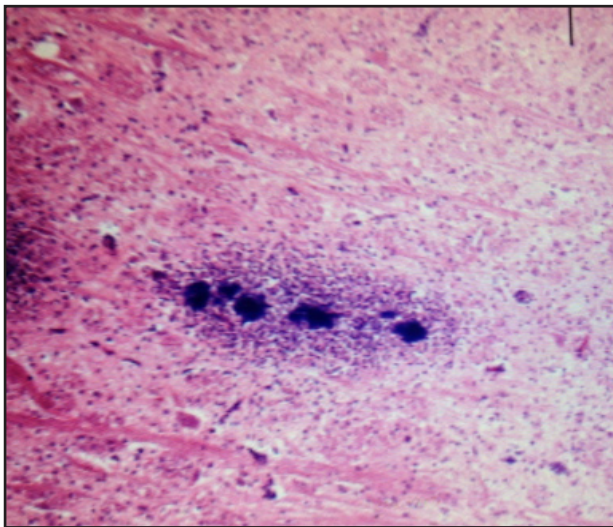


Figura.2. Microabscesos (rombencefalitis) por *L. monocytogenes* en red fibroaxonal del bulboraquideo de bucerros lactantes. Coloración H&E, barra= 100 μ m

En el entramado fibroaxonal se observaron estructuras similares a cocobacilos dentro de los axones (Figura 3), meninges con infiltrados celulares constituidos por histiocitos, linfocitos y abundantes neutrófilos (meningitis purulenta) y cerebro, con cambios caracterizados por proliferación glial, degeneración neuronal, infiltrados inflamatorios mixtos de mononucleares con predominio de neutrófilos, dentro de los espacios de *Virchow-Robiny*; algunos microabscesos dispersos fueron visualizados en el parénquima cerebral. La coloración para bacterias *Gram* positivas por el método de *May Grünwald*-

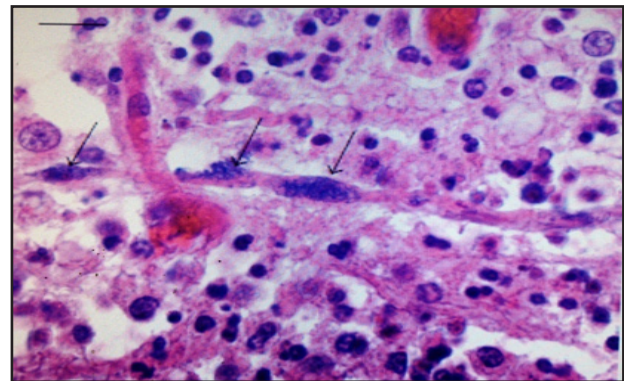


Figura 3. Rombencefalitis, estructuras intraaxonales similares a *Listeria monocytogenes* en bulbo raquídeo de bucerros lactantes. Coloración H&E, barra = 13 μ

Giemsa permitió reconocer microorganismos cocobacilares característicos del género *Listeria* en la periferia de los microabscesos. *Hígado*: degeneración parenquimatosa. *Bazo*: folículos linfoides de la pulpa blanca muestran desarrollo insuficiente y sinusoides de pulpa roja, con escasa generación de elementos formes. Nódulos linfoides: edematosos con signos de depleción.

4. Examen Parasitológico

4.1. Frotis hemáticos, por aposición o compresión para pesquisa de *Microbabesia* intracerebral teñidos con *Giemsa*, resultaron negativos.

5. Examen Toxicológico

Los exámenes toxicológicos para detección de compuestos clorados, fosforados, nitritos, nitratos y plomo, todos resultaron negativos.

6. Tratamiento y Profilaxis Higiénico - Sanitaria

La Ampicilina y Benzyl-penicilina G se mostraron eficaces contra *Listeria m.* a dosis elevadas y superiores a 60000 UI/kg peso vivo y tratamiento sostenido durante varios meses hasta lograr contener

los brotes y cese de la mortalidad que fue de 30-40%. N.B. Vale aclarar que el tratamiento para el control y erradicación de estos fue un trabajo arduo. Se requirieron combinaciones de antibióticos, modificaciones de la dosificación y prolongar su aplicación más allá de lo indicado, coadyuvado con regenerativos y roborantes; además de la suspensión del plan de destete.

La profilaxis sanitaria consistió en la higienización -limpieza y desinfección del ambiente inmediato donde permanecieron aislados los bucerros enfermos- y eliminación de desechos sólidos (restos de alimento concentrado, pasto y/o ensilaje, heces y demás *detritus* contaminantes).

DISCUSIÓN

El aislamiento de *Listeria m.* del rombencéfalo, junto a los signos y síntomas clínicos y cambios histopatológicos del bulbo raquídeo, protuberancia, cerebelo, meninges y cerebro, fueron suficientes para concluir en el diagnóstico de listeriosis en los seis bucerros estudiados en ambos brotes, señalando como causa predisponente el modelo de destete precoz de los recién nacidos, el cual condicionó un cuadro de inmuno-incompetencia al desarrollarse el sistema inmunológico en forma incompleta o deficiente; no obstante se utilizó búfalas nodrizas y la alimentación con leche artificial para completar el período de lactancia. Aunque se conoce con anterioridad que *Listeria m.* es un microorganismo ubicuo, oportunista presente en el suelo, vegetación y en heces de rumiantes como saprofito del intestino, que permite que los animales queden expuestos al riesgo de contraerlo en cualquier momento de su vida, existe la posibilidad de que las búfalas nodrizas hayan sido portadoras sanas asintomáticas de la bacteria en la leche. Sin embargo, en Venezuela hasta el presente no se ha reportado casos de infección individual, mucho menos de brotes de listeriosis en rumiantes, incluidos búfalos; tanto así que se desconocía de su existencia en estas especies en otras latitudes. No obstante, aunque se sugirió que estos dos brotes ocurrieron como consecuencia del método de destete precoz mal implementado; todavía quedan interrogantes por explicar sobre la epidemiología y patogénesis de *Listeria m.* (dosis de células bacterianas necesarias para causar infección en el huésped, forma de entrada e invasión a los bucerros, transmisión-contagio y masificación de la infección,

diseminación a través de la barrera hemato-encefálica determinante del síndrome clínico esencialmente neurológico, factores de neurovirulencia y tropismo por el SNC (rombencefalitis y meningoencefalitis).

Para completar el objetivo específico de este artículo consideramos pertinente una revisión de la bibliografía que detalle la información más reciente sobre la patogénesis de esta compleja patología, para ayudar a esclarecer parte de las citadas interrogantes. En tal sentido, la patogénesis de *Listeria m.* depende de su capacidad para resistir condiciones ambientales hostiles e invadir y replicarse tanto en los fagocitos propiamente conocidos, como en las células hospederas no fagocíticas, lo cual está determinado al menos por 50 genes distribuidos en el genoma [7-18]. Los conocimientos de la patogénesis a nivel del huésped y nivel celular en gran parte se obtuvieron de infecciones en animales de laboratorio (ratones) y modelos *in vitro*.

Interacciones Celulares

A nivel celular, el ciclo de infección es regulado por la sincronizada operación de varios factores de virulencia. El ciclo de vida intracelular y la diseminación intercelular de *Listeria m.* ha sido estudiado intensamente, revelando su adaptación al microambiente [7]. La invasión de la célula huésped es mediada por interacciones entre internalinas, ligandas de la superficie listérica y sus respectivos receptores en las células hospedadoras. Un gran número de internalinas y proteínas parecidas a internalinas se han identificado por análisis de secuenciación del genoma de varias cepas de *Listeria m.* [11-12] y la diversidad de internalinas dentro del registro de diferentes especies de *Listeria* y cepas de *Listeria m.* facilitarían posiblemente la explicación de la variación en la virulencia y patogenicidad [6]. Entre estas, la Internalina A y B (InlA, InlB) son las más estudiadas y han sido detectadas hasta ahora solamente en *Listeria m.* [11]. La primera interactúa con E-cadherina, la cual es principalmente expresada en las células epiteliales [24-25], la cual es expresada en las células de las tres barreras que determinarían los síndromes clínicos: barrera intestinal, barrera hemato-encefálica y barrera placentaria [26]. En contraposición InlB promueve la invasión de una amplia variedad de células de mamíferos mediante interacciones con los tres receptores Met, receptor globular C1q (gC1qR) y proteoglicanos [29], los

cuales expresan en las tres barreras que determinan los signos clínicos.

Existen evidencias recientes de que la entrada de *Listeria m.* a la célula del huésped requiere de factores adicionales tal como endocitosis mediados por Clathrin [21]. Una vez dentro de la célula, *Listeria m.* es retenida en una vacuola de una membrana fagocítica de una sola capa y resiste transitoriamente para no ser degradada por el fagosoma [20]. La bacteria escapa del fagosoma y se mueve dentro del citoplasma de la célula huésped empleando una toxina formada por un poro, la listeriolisina O (LLO), asistida por dos fosfolipasas: fosfatidil-inositol-fosfolipasa C (PLcA) y fosfatidil-fosfolipasa C (PLcB) [18], libre en el citoplasma, *Listeria m.* replica rápidamente. Una proteína de superficie de *Listeria m.* Actin A (ActA), captura filamentos de actina del huésped e induce su polimerización para la llamada actina “cola de cometa” en un polo de la bacteria, lo que permite a la misma moverse libremente dentro del citoplasma y alcanzar la célula vecina debido a la formación de protrusiones en la membrana celular que les permite ser engolfadas por las células vecinas adyacentes. La vacuola resultante secundaria, de doble membrana, dentro de la célula vecina es lisada por PLcB y LLO y, de esa forma, un nuevo ciclo de infección comienza [18]. Se cree que la diseminación intercelular directa le permite a *Listeria m.* multiplicarse y difundir dentro de los tejidos protegida de las defensas del huésped evitando contacto con el compartimiento extracelular.

Neuropatogénesis

La respuesta por la cual *Listeria m.* ataca al cerebro ha sido tema de discusión durante años tanto en medicina humana, como en medicina veterinaria [4]. Desde el punto de vista patológico, la variación de patrones neuropatológicos que están asociados con infección del SNC sugiere que el patógeno es capaz de invadir el cerebro tanto por diseminación hematogena como por migración a lo largo de axones. No obstante, la patogénesis de ambas manifestaciones más importantes de la infección del SNC (meningitis y rombencefalitis) es bastante desconocida.

Rombencefalitis

Tanto la distribución, como la naturaleza de las lesiones son muy similares en rombencefalitis de personas y rumiantes (Figura 3) [26]. No obstante, a pesar de las pérdidas significativas en la

industria ganadera debido a listeriosis y el creciente impacto de esta zoonosis en rumiantes y humanos, sorprendentemente pocos estudios han sido enfocados en la patogénesis de la enfermedad en su huésped natural [27]. Sin embargo, el patrón neuropatológico de la enfermedad natural y la observación intraaxonal e intraneuronal de la bacteria, sugiere que las células de *Listeria m.*, de origen alimentario invaden el tallo encefálico por migración axonal a lo largo de varios nervios craneales [26, 27]. Las observaciones obtenidas de ensayos experimentales en ratones indican que el sitio de invasión bacteriana determina la topografía de las lesiones en el SNC. Una vez en el tallo encefálico, *Listeria m.*, probablemente se disemina rostralmente a centros más altos del cerebro y caudalmente a la médula espinal a lo largo de las conexiones axonales [24]. De acuerdo con este punto de vista, el aislamiento del microorganismo del LCR en encefalitis de rumiantes generalmente falla indicando que raramente entra en el mismo durante la infección. La curiosa topografía de las lesiones que incide sistemáticamente y especialmente sobre el rombencéfalo es atípica para cualquier otra bacteria. Como regla general, la bacteria invade el cerebro por vía hematogena. En contraposición a las acciones para la reproducción experimental de rombencefalitis, la exposición experimental de *Listeria m.* a injurias de la mucosa oral y a inoculaciones intranerviosas en la misma mucosa, causan lesiones en el tallo encefálico de ratones, ovejas y cabras que recuerdan a la enfermedad natural. En este punto, Dreyer [21] sugieren que la exposición de los rumiantes al ambiente los enfrenta a una amplia variedad de cepas de *Listeria m.* y a la fuerte asociación de tipos de secuencias (ST)1 del complejo clonal (CC)1 con rombencefalitis, por lo que sugieren que se produce un aumento de neurotropismo de ST1 en los rumiantes, lo cual está posiblemente relacionado a factores de hipervirulencia de esos genes.

Meningitis

La forma meníngea es difusa en su distribución, como ocurre frecuentemente en humanos, es probablemente el resultado de una diseminación hematogena para cruzar la barrera hemato-encefálica (Figura 4). Experimentos “*in vitro*” e “*in vivo*” demostrarían que *Listeria m.* es capaz de cruzar la barrera hemato-encefálica, invadiendo directamente las células endoteliales diseminando de célula



Figura. 4. Meningitis purulenta: corte de un surco cerebral mostrando Infiltrado de neutrófilos degenerados (piocitos) por infección de *Listeria monocytogenes*

en célula de fagocitos infectados a las células endoteliales; o bien entran a las células endoteliales dentro de fagocitos infectados [22]. Hasta el presente los mecanismos moleculares que permiten a *Listeria m.* franquear o irrumpir la barrera hemato-encefálica todavía son virtualmente desconocidos. En razón de que el endotelio y el epitelio de los plexos coroides de la barrera hemato-encefálica pueden expresar E-cadherina [15,16], algunos autores sugieren que una interacción con un receptor celular entre E-cadherina e internalina A bacteriana puede ser el mecanismo subyacente para cruzar la barrera hemato-encefálica, similar a lo que ocurre en las barreras intestinales y placentaria [23].

CONCLUSIÓN

Se establece que la causa determinante en ambos brotes fue *Listeria m.* y la causa predisponente fue la mala implementación de un modelo de destete precoz y la exposición de los bucerros que probablemente produjo inmunoincompetencia por mal desarrollo del sistema inmune, todo esto aunado a las malas condiciones del ambiente inmediato que se comporta como un nicho ecológico para la proliferación de diferentes cepas de la misma. Para la mejor comprensión de la invasión e infección del SNC por *Listeria m.* se revisaron aspectos sobre la epidemiología, patogénesis, patología y la filogenia de las cepas y genes asociados a la virulencia, así como del tropismo de la misma por el rombencéfalo.

REFERENCIAS

1. Dumont J, Cotoni L. Bacilles emblable a celui du rouget du porc rencontré dans le LCR d'un meningitique. Ann Inst Pasteur. 1921; 35:625-633.

2. Low JC, Donachie W. A review of *Listeria monocytogenes* and listeriosis. Vet J. 1997; 153(1):9-29.
3. Schlech WF, Lavigne PM, Bortolussi RA, et al. Epidemic listeriosis evidence for transmission by food. New England JM. 1990; 308(4):203-206.
4. Drevets DA, Bronze MS. *Listeria monocytogenes*: epidemiology, human disease and mechanisms of brain invasión. FEMS Immunol Med Microbiol. 2008; 53(2):151-168.
5. Hamon M, Bierne H, Cossart P. *Listeria monocytogenes*: a multifaceted model. Nature Revs Microb. 2006; 4(6):423-434.
6. Public Health Agency of Canada. *Listeria monocytogenes* outbreak. Anonymous. 2009 [acceso 15 de enero 2015]. Disponible en: http://www.phac-aspc-gc.ca/alert-alert/listeria/listeria_2009-eng.php.
7. Seveau S, Pizarro-Cerda J, Cossart P. Molecular mechanisms exploited by *Listeria monocytogenes* during host cell invasion. Microb Infec. 2007; 9(10):1167-1175.
8. Bartt R. *Listeria* and a typical presentation of *Listeria* in the central nervous system. Seminar in Neurology. 2009; 20(3):361-373.
9. Bierne H, Sabet C, Personnic N, Cossart P. Internalins a complex family of leucine-rich repeat containing proteins in *Listeria monocytogenes*. Microbes Infec. 2007; 9(10):1156-1166.
10. Dransi I, Biswas E, Magwin L, Braun P, Mastroeni P, Cossart P. Entry of *Listeria monocytogenes* into hepatocytes requires expression of InIB, a surface internal in multi gene family. Mol Microb. 1995; 16(2): 251-261.
11. Cabanes D, Dehoux P, Dussurget O, Frangeul L, Cossart P. Surface proteins and the pathogens potential of *Listeria monocytogenes*. Trends in Microb. 2002; 10(5):238-245.
12. Olafson P. Listerella, encephalitis (circling disease) of sheep, cattle and goats. Cornell Vet. 1990; 30 (2):141-150.
13. Lecuit M, Dramsi S, Gottardi C, Fedor-Chaiken M, Gumbiner B, Cossart P. A single amino acid in a cadherin responsible for host specificity towards the human pathogen *Listeria monocytogenes*. EMBO J. 1995; 18(14):3959-3963.
14. Jonquieres R, Pizarro-Cerda J, Cossart P. Synergy between the N and C terminal domains of InIB fo refficient invasión of non-phagocytic cells by *Listeria monocytogenes*. Molecular Microbiol. 2001; 42(4):955-965.
15. Mostowy S, Cossart P. Cytoskeleton rearrangements during *Listeria* infection: clathrin and septins as new players in the game. Cell Motility and Cytoskeleton 2009; 66(10):816-823.

16. Drevets DA, Leenen PJM, Greenfield RA. Invasion of the central nervous system by intracellular bacteria. Clin Microb Rev. 2004; 17(2):323-347.
17. Antal EA, Loberg EM, Dietrichs E, Maehlen J. Neuropathological findings in 9 cases of *Listeria monocytogenes* brains emencephalitis. Brain Path. 2005;15((3):187-191.
18. Oevermann A, Di APS, Dohert MG *et al.* Neuropathogenesis of naturally occurring encephalitis cause by *Listeria monocytogenes* in ruminants. Brain Path. 2010; 20(2):378-390.
19. Overmann A, Botteron CB, Seuberlich T, et al. Neuropathological survey of fallen stock: active surveillance reveal high prevalence of encephalitic listeriosis in small ruminants. Vet Microb. 2008; 130(3-4):320-329.
20. Dreyer M, Aguilar-Buttler L, Rupp S, Guldemann C, *et al.* *Listeria monocytogenes* type 1 sequences prevailing in ruminants rhombencephalitis. Scientific Reports 2016; 6, Article number: 36419.
21. Drevets DA, Sawyer RT, Potter TA, Campbell PA. *Listeria monocytogenes* infects human endothelial cells by two mechanisms. Infect Immun. 1995; 63(11): 4268-4276.
22. Rubin LL, Hall DE, Porter S, *et al.* A cell culture model of the blood-brain barrier. J Cell Biol. 1991; 115(6):1725-1735.
23. Otter A, Blakemore F. Observation on the presence of *Listeria monocytogenes* in axons. Acta Microbiológica Hungarica 2001; 36(2-3):125-131.
24. Oevermann A, Zurbriggen A, Vandeveld M. Rhombencephalitis caused by *Listeria monocytogenes* in Humans and Ruminants: A Zoonosis on the Rise? Interdisciplinary Perspectives Inf Dis. 2010; Article ID 632513.
26. Dransis S, Biswas E, Magwin L, *et al.* Entry of *Listeria monocytogenes* in hepatocytes require expression of InlB a surface protein of internalin multigene family. Molec Microb. 1995; 16(2):251-261.
27. Lewil S, Drahsi C, Golardi M, Fedor-Chaiken B, *et al.* A single amino acid in E-cadherin responsible for host specificity towards the human pathogen *Listeria monocytogenes*. EMBO J. 1995; 18(14):3956-3963.