

INVESTIGACIÓN DE ANTICUERPOS ANTI-LISTERIA MONOCYTOGENES. I. AGLUTINACIÓN CON ANTIGENO SOMÁTICO EN SUEROS DE BOVINOS¹

DRA. S. GIONO²
M.V.Z. RENE LOAIZA³

Resumen

Se seleccionaron 400 muestras de sueros de bovinos de tres establos del Estado de Veracruz, en donde se habían presentado algunos casos de aborto; se trató de investigar la posibilidad de que *Listeria monocytogenes* estuviera relacionada con la etiología de ellos. Se empleó la reacción de aglutinación con antígeno somático de *Listeria monocytogenes* de tipo 4b, siguiendo las técnicas de Seeliger y Finger. Se consideraron como positivos aquellos sueros que dieron títulos mayores de 1:160. Los resultados de acuerdo con su origen se agruparon en: Grupo A (265 sueros), 41 positivos (15.5%). Grupo B (95 sueros), 11 positivos (11.6%). Grupo C (40 sueros), 5 positivos (12.5%). Es posible que en algunos de los casos. *Listeria monocytogenes* haya sido responsable del aborto.

La infección listérica en animales se ha conocido desde que Murray la observó por primera vez en 1926 en un brote epizootico en conejos y cobayos, estableciendo su papel etiológico (Cray, 1963).

Graham en 1930 fue quien primero la relacionó con el aborto en vacas y demostró que se podía producir el aborto experimental inyectando *Listeria monocytogenes* por vía endovenosa, a animales en el quinto mes de la gestación (Gray y Killinger, 1966).

A estos hallazgos siguieron otros (Scholtens y Brim, 1964 y Smith y Sundquist, 1960) en diferentes especies animales que destacan su importancia como productora de aborto y de otros cuadros clínicos como la encefalitis.

Se puede considerar que si la infección se efectúa en el principio de la gestación, determina el aborto, en caso de que se realice cuando el producto ya está avanzado, éste nace y sobrevive unos cuantos días. Cuando el parto se presenta en forma normal, la vaca suele presentar pocos o ningún signo; no obstante cuando hay retención de placenta o del producto, puede desarrollar una metritis aguda que con frecuencia determina una septicemia mortal. También se ha observado encefalitis listérica postpartum en cabras (Gray y Killinger, 1966).

¹ Presentado en el III Congreso Centroamericano Nacional de Microbiología, Guatemala, C. A. Julio, 1971.

² Jefe del Laboratorio de Bacteriología Médica y Veterinaria. Depto. de Microbiología. E. N. C. B. I.P.N. México 17. D. F.

³ Red Nal. de Laboratorios de Diagnóstico. Dirección de Sanidad Animal. S.A.G.

Experimentalmente, no es posible producir infección intrauterina en rumiantes cuando la inoculación se hace por vía conjuntival; pero sí se puede inducir un cuadro de encefalitis. En cambio, por esta misma vía llega a producir aborto en el conejo (Gray y Killinger, 1966).

La enfermedad está ampliamente distribuida en todo el mundo y existen gran número de portadores; la forma clínica de la enfermedad se favorece cuando hay cambios estacionales, deficiencias nutricionales, embarques, catarros, infecciones intercurrentes, embarazo y parto (Smith y Sundquist, 1960).

Se realizó este trabajo debido a que se disponía de una buena cantidad de sueros de bovinos que formaban parte de establos del Estado de Veracruz, en donde se habían presentado algunos casos de aborto de etiología desconocida, durante los últimos meses de 1970. Dichos sueros se colectaron por sangrado de la vena yugular y se almacenaron en congelación.

Los sueros fueron probados para brucelosis y leptospirosis con resultado negativo. Se consideró entonces investigar la presencia de aglutininas *anti-Listeria monocytogenes* y observar si ésta podría desempeñar algún papel en la etiología de los abortos observados.

Material y métodos

SELECCIÓN DE LA CEPA. Para este estudio se utilizó una cepa de *Listeria monocytogenes* tipo 4b obtenida de la colección del Dr. M. L. Gray de los Laboratorios de Mon-

tana State College en Bozeman, Montana, U.S.A. Dicha cepa se hizo crecer en medio de Agar Triptosa, previo pase por peritoneo de ratón a fin de estar seguros de que se estaba trabajando con la cepa lisa; como prueba complementaria de virulencia se practicó reacción de Antón en la conjuntiva de conejo, observando la aparición de exudado abundante a las 48 horas, acompañado de la blefaroconjuntivitis aguda (Gray. 1962).

La estructura antigénica de *Listeria monocytogenes* se hace tomando como base el estudio serológico de los antígenos somáticos y flagelares, siguiendo el esquema propuesto por Paterson y modificado por otros investigadores como Donker-Voet y Seeliger (Seeliger y Finger 1969).

PREPARACIÓN DE ANTIGENO SOMÁTICO. Se empleó la técnica de Seeliger (Seeliger y Finger. 1969). para preparar antígeno somático; dicha técnica consistió en hacer crecer la cepa de *Listeria monocytogenes* en medio de agar-triptosa con 1% de glucosa, incubar a 37° C durante 24 horas y cosechar el crecimiento en solución salina reguladora de fosfatos a un pH de 7.2. El producto de esta cosecha se puso a hervir en baño María durante una hora, para destruir el antígeno H y se le agregó fenol a una concentración final de 0.5%. La suspensión, se sometió a vibración sónica de baja frecuencia durante 5 minutos, para disgregar grumos y eliminar la tendencia a la aglutinación espontánea. Se ajustó la turbiedad a una concentración de 5×10^8 microorganismos por ml, utilizando el nefelómetro de McFarland y la lectura correspondiente en el fotocolorímetro Klett-Summerson, con filtro azul ajustando el pH a 7.2; durante el tiempo que estuvo usándose, se conservó en refrigeración.

TITULACIÓN DE ANTICUERPOS ANTI-*Listeria monocytogenes*. Se prepararon diluciones decimales de los sueros en solución salina reguladora de fosfatos en volúmenes de 0.5 ml, a los cuales se les agregó un volumen igual de la suspensión de antígeno somático. Se escogió el antígeno somático debido a su alta sensibilidad.

La incubación se hizo a 52°C durante 18 horas, seguida de 1-4 horas a temperatura del laboratorio y se leyó con la ayuda de una lámpara y un espejo cóncavo. En cada serie

se empleó siempre un tubo testigo de antígeno y un testigo de suero de título conocido.

Se separaron los sueros en tres lotes que correspondían a diferentes establos del Estado de Veracruz. con el fin de observar si se presentaban diferencias significativas, en grupos denominados A, B, C.

Resultados y discusión

Los resultados se pueden resumir en el Cuadro 1. En las gráficas 1, 2 y 3 se observa la distribución en % de los títulos en cada dilución,

De la observación de los resultados se puede concluir que existe un porcentaje elevado de bovinos que contienen aglutininas circulantes anti-*Listeria monocytogenes*.

Como se observa en el Cuadro 1, se tomaron en cuenta únicamente títulos de arriba de 1:160 como significativos. Este valor está de acuerdo con Seeliger y Finger (1969), que señalan que en *Listeria* existen antígenos de tipo Rantz, comunes con otras bacterias, que son los causantes de aglutinación o reacción cruzada a títulos bajos, pero no a títulos superiores a 1:160. Estas reacciones inespecíficas las podemos esperar en infecciones por corinebacterias. *E. coli* K8. *Stp. faecalis*, *Sta. aureus* y *Sta. epidermidis* (Gray, 1963).

No se pasaron por alto los inconvenientes del empleo de la técnica serológica para el diagnóstico de infecciones listéricas. Las pruebas serológicas en una población no estudiada. como la que se empleó, hacen pensar que es posible que algunos de los abortos que se observaron en los bovinos estudiados pudieron ser ocasionados por una infección listérica. Tampoco se puede descartar la posibilidad de que existan animales portadores que no den manifestaciones clínicas de la enfermedad.

Con anterioridad a este trabajo, se realizó uno semejante en sueros humanos de pacientes que asistían a una unidad de Obstetricia. El resultado fue similar, en cuanto a que se encontraron reactores positivos, casi en igual proporción, siendo más elevado en el grupo de mujeres embarazadas (16%), con la ventaja de que en esa población fue posible aislar *Listeria monocytogenes* por métodos microbiológicos, del producto infectado y del exudado vaginal (Giono y Pérez-Miravete, 1963).

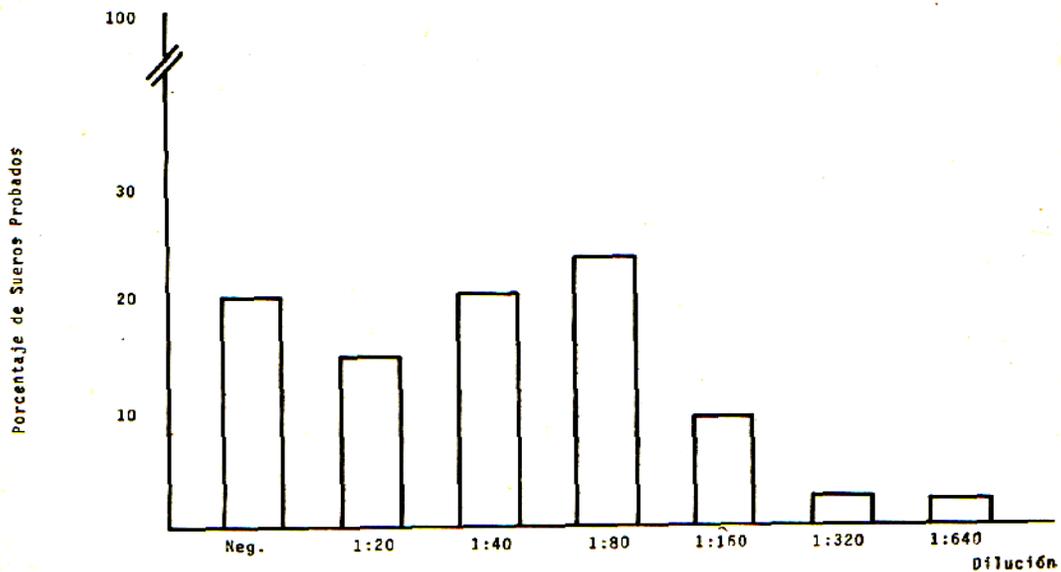
CUADRO 1

Título de anticuerpos anti-*Listeria monocytogenes* en 400 sueros de bovinos, empleando la reacción de aglutinación con antígeno somático

Grupo	Negativos	Menor: 1:160	Mayor 1:160	Total
A	58 (21.9%)	166 (62.6%)	41 (15.5%)	265 (100%)
B	32 (33.7%)	52 (54.7%)	11 (11.6%)	95 (100%)
C	14 (35%)	21 (52.5%)	5 (12.5%)	40 (100%)
Total	104 (26%)	239 (59.8%)	57 (14.2%)	400 (100%)

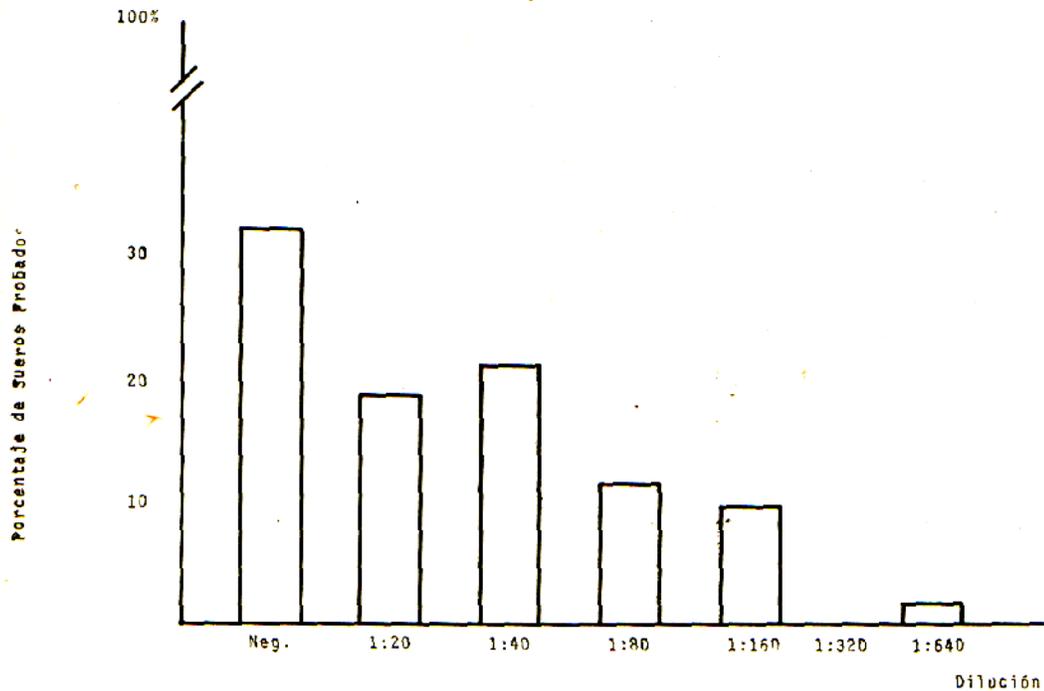
GRÁFICA 1

INVESTIGACIÓN DE ANTICUERPOS ANTI-LISTERIA *monocytogenes* EN 265 SUEROS DE BOVINOS EMPLEANDO ANTIGENO SOMÁTICO TIPO SEELIGER.



GRAFICA 2

INVESTIGACION DE ANTICUERPOS ANTI-*Listeria monocytogenes* EN 95 SUEROS DE BOVINOS EMPLEANDO ANTIGENO SOMATICO TIPO SEELIGER.



Por lo tanto, los títulos altos en 14% de los animales estudiados podían estar relacionados con alguna infección reciente. Los títulos menores pudieron corresponder a aglutininas de reacción cruzada y se observaron en el 60% de la población.

Finalmente, es posible que *Listeria monocytogenes* tenga algún papel importante en la etiología del aborto en bovinos; no debe descartarse la posibilidad de su presencia cuando se manejan estos casos por el Médico Veterinario o por el Microbiólogo, ya que puede pasar inadvertida.

La prueba que se empleó debe ser complementada por alguna otra, como la aglutinación con antígeno flagelar que aunque de menor sensibilidad, tiene especificidad mayor y quizá, la prueba de fijación de complemento.

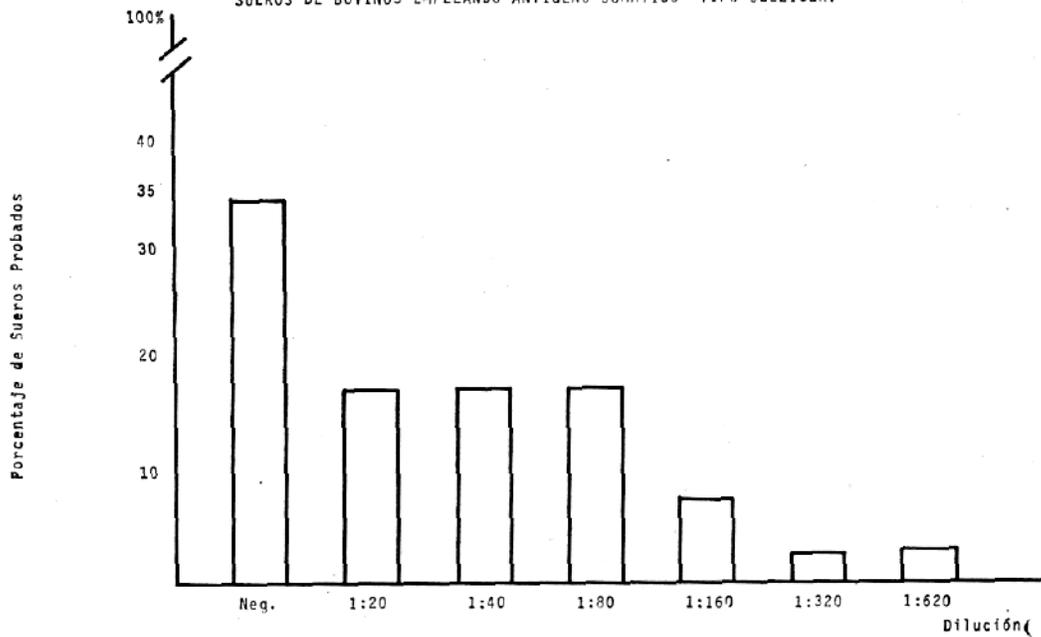
Summary

The role of *Listeria monocytogenes* in abortion problems observed in cattle, was investigated. For these studies, 400 samples of serum from cattle were tested for agglutinins against *Listeria monocytogenes* type 4b. The use of O antigens of agglutination test describe by Seeliger and Finger were preferred for carrying out these work. Titers 1:160 were considered significant. The following results were obtained: Group A (265 sera), 41 positive (15.5%); Group B (95 sera) 11 positive (11.6%), Group C (40 sera), 5 positive (12.5).

Our results suggested that *Listeria monocytogenes* could be implicated in the abortion of at least part of the cases under study.

GRAFICA 3

INVESTIGACION DE ANTICUERPOS ANTI-LISTERIA *monocytogenes* EN 40 SUEROS DE BOVINOS EMPLEANDO ANTIGENO SOMATICO TIPO SEELIGER.



Literatura citada

GIONO, S. Y A. PÉREZ-MIRAVETE, 1963, La infección perinatal listérica en México. III. Titulación de anticuerpos *anti-Listeria monocytogenes*. *Rev. Inst. Sal. Enf. Trop. Méx.*, 23: 115.

GRAY, M. L., 1962, *Listeria monocytogenes* and Listeric Infection in the laboratory, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 98: 686.

GRAY, M. L., 1963, Second Symposium on Listeric Infection. Artcraft Printers, *Montana State College*, Bozeman, Montana, E.U.A.

GRAY, M. L. and A. H. KILLINGER, 1966, *Listeria monocytogenes* and Listeric Infection, *Bact. Rev.*, 30: 309.

SCHOLTENS, G. R. and A. BRIM, 1964, Isolation of *Listeria monocytogenes* from Foxes suspected of having rabies, *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 145: 466.

SEELIGER, H. P. R. and H. FINGER, 1969, Analytical Serology of *Listeria*. En: *Analytical Serology of Microorganisms*. Vol. 2. Editado por J. B. Y. Kwapinski, *Interscience*, Pub. E.U.A. p. 549-608.

SMITH, H. C. and E. SUNDQUIST, 1960, Listeriosis in a herd of cattle, *Vet. Med.*, 55: 70.