

Listeriosis en bovinos de la Provincia de Buenos Aires, Argentina

Margineda, C.A.; Cantón, G.; Lischinsky, L.; Moreira, A.; Campero, C.M.

Grupo de Sanidad Animal, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA)
Balcarce, EEA Balcarce, Ruta Nacional 226, km 73,5 (7620) Buenos Aires,
Argentina. Tel/fax: 54-02266-439100/01. E-mail: carlosmargineda@gmail.com.

Resumen

Margineda, C.A.; Cantón, G.; Lischinsky, L.; Moreira, A.; Campero, C.M.: Listeriosis en bovinos de la Provincia de Buenos Aires, Argentina. *Rev. vet.* 23: 1, 32-37, 2012. Se realizó un estudio retrospectivo de casos de listeriosis bovina ocurridos en diferentes partidos de Provincia de Buenos Aires (Argentina). Se utilizaron las técnicas diagnósticas de histopatología, bacteriología e inmunohistoquímica. De 17 casos confirmados por esta última técnica, en 7 de ellos se dispuso de material para el cultivo bacteriológico y solo en 3 casos se pudo aislar *Listeria monocytogenes*. El 64,7% de los casos de listeriosis se presentaron en rodeos que consumían ensilado de maíz. La enfermedad se diagnosticó con mayor frecuencia en sistemas de producción intensivos (feedlot y tambos). Cuatro casos negativos al cultivo de *L. monocytogenes* se lograron confirmar por inmunohistoquímica, por lo cual esta técnica se revela valiosa dado que su empleo mejora la eficiencia diagnóstica de los casos de listeriosis bovina.

Palabras claves: bovino, *Listeria monocytogenes*, inmunohistoquímica, Argentina.

Abstract

Margineda, C.A.; Cantón, G.; Lischinsky, L.; Moreira, A.; Campero, C.M.: Bovine listeriosis in Buenos Aires Province, Argentina. *Rev. vet.* 23: 1, 32-37, 2012. A retrospective study of bovine listeriosis cases occurring in different counties of Buenos Aires Province (Argentina) was made. Diagnosis was performed by histopathology, bacteriology and immunohistochemistry. From 17 positive cases confirmed by immunohistochemistry, samples were available only in 7 for bacteriological study, and *Listeria monocytogenes* was isolated only in 3 of them. Of all the cases, 64.7% were associated with the consumption of corn silage. The disease was most frequently diagnosed in intensive production systems, such as feedlot and dairy herds. One of the isolated strains of *L. monocytogenes* was resistant to rifampicin and sulfonamides. After immunohistochemistry, *L. monocytogenes* positive labeling was observed in 4 cases with previous negative bacteriological isolation. Immunohistochemistry proved to be a valuable technique and improved the diagnosis of bovine listeriosis.

Key words: cattle, *Listeria monocytogenes*, immunohistochemistry, Argentina.

INTRODUCCIÓN

La listeriosis bovina es una enfermedad infecciosa producida por *Listeria monocytogenes*^{5, 19}. Esta bacteria es ubicua, se la ha aislado de suelo, pasturas, ensilados de maíz, aguas residuales y materia fecal de animales domésticos^{5, 30}. Aunque *L. monocytogenes* es capaz de infectar a una gran variedad de especies animales, la infección ocurre primariamente en rumiantes domésticos y seres humanos.

En bovinos, existen diferentes presentaciones clínicas causadas por *L. monocytogenes*: (A) septicémica con abscesos en vísceras como hígado, bazo y linfonódulos, (B) abortos, (C) encefalitis, (D) queratoconjuntivitis y uveítis, (E) mastitis^{5, 11, 12, 20, 23, 25, 28}. La forma septicémica suele afectar a animales recién nacidos y la forma nerviosa es más común en bovinos y ovinos adultos^{3, 16, 20, 23}. En rumiantes, la presentación nerviosa ocurre en forma esporádica o como brotes. Los casos generalmente están asociados al consumo de silajes, ya sea mal elaborados o acondicionados en forma deficiente^{5, 20, 26}. Si el ensilado no está bien confeccionado el pH suele elevarse a valores superiores a 5, generando condiciones ideales para la multiplicación bacteriana^{19, 20}. En las necropsias de casos de encefalitis general-

mente no se observan lesiones macroscópicas en el sistema nervioso central^{2, 14, 27}. Las lesiones microscópicas se confinan al tronco encefálico y consisten en infiltrado de células mononucleares alrededor de los vasos sanguíneos, microabscesos acompañados de focos de malacia, células de Gitter y meningoencefalitis mononuclear en el área basal del encéfalo^{2, 14, 22, 23, 27}. Los signos clínicos de la forma encefálica de listeriosis comprenden: depresión o excitabilidad, anorexia y otros signos relacionados a la disfunción de los nervios craneanos. Los signos nerviosos suelen ser asimétricos, con ptosis mandibular, estrabismo, ptosis del pabellón auricular, torsión de la cabeza, marcha en círculos o tambaleante, ptosis palpebral, parálisis facial, respiración estertorosa, disfagia, parálisis de la lengua, nistagmos, decúbito permanente y pedaleo^{2, 20, 26, 27}.

El diagnóstico presuntivo de la enfermedad se establece por las lesiones histológicas características y se confirma por el aislamiento bacteriano, el cual puede ser laborioso¹⁴. La inmunohistoquímica (IHQ) es una técnica rápida y sensible que permite confirmar el diagnóstico de listeriosis en diferentes tejidos cuando los aislamientos son negativos, o no se dispone de tejidos frescos para realizarlo^{3, 6, 9, 10, 13, 29}.

El objetivo de este trabajo fue realizar un estudio descriptivo de los hallazgos clínicos, bacteriológicos y patológicos de 17 casos de listeriosis bovina diagnosticados por el Servicio de Diagnóstico Veterinario Especializado (SDVE) del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA, Balcarce, Argentina) durante los años 2002-2010.

MATERIAL Y MÉTODOS

Antecedentes. Se realizó un estudio retrospectivo de los casos de listeriosis con diagnóstico confirmado por cultivos y/o IHQ en muestras de tejidos de bovinos de rodeos comerciales. Se recolectó información anamnésica de los registros de cada caso sobre el tipo de alimentación, signos clínicos, edad, raza, sistema de producción e indicadores epidemiológicos, cuando estuvo disponible.

Examen patológico. Se obtuvieron muestras de cerebro de animales muertos espontáneamente con signos clínicos nerviosos y un feto abortado. Las mismas se fijaron durante 4 días en formol bufferado al 10 %. Para el análisis histopatológico se seleccionaron diferentes sectores del encéfalo: corteza frontal, corteza occipital, cerebelo, tálamo, tubérculos cuadrigéminos, protuberancia, pedúnculos y médula oblonga. Del feto se obtuvieron muestras de corazón, pulmón, lengua, abomaso, intestino delgado y grueso, glándula adrenal, hígado, bazo, riñón, músculo esquelético y piel. Las muestras fueron deshidratadas e incluidas en bloques de parafina. Las secciones fueron cortadas a 4-5 μm y teñidas con hematoxilina-eosina (H&E).

Inmunohistoquímica. Los tejidos que presentaron lesiones compatibles con las producidas por *L. monocytogenes* fueron procesadas mediante IHQ^{6,12}. Dichos

tejidos fueron cortados a 4-5 μm espesor y se montaron en histoslides (Micro-Probe Staining System, Fisher Scientific, Pittsburgh, USA). Las secciones fueron procesadas por la técnica de Avidina Biotina Peroxidasa (ABC, Vector Lab, USA) empleando un anticuerpo primario contra *L. monocytogenes* producido en conejo y diluido 1:1500 (Listeria O antiserum Poly Difco 2302-50-0, Difco Lab., USA). Se emplearon tejidos controles positivos y negativos existentes en el Laboratorio de Patología Veterinaria del INTA Balcarce.

Procedimientos bacteriológicos. En los casos de encefalitis los cultivos bacterianos se realizaron a partir de macerados de médula oblonga cultivados en agar sangre Columbia a 37°C en aerobiosis. Las muestras negativas a dichos cultivos fueron reprocesadas: luego de 15 días de enriquecimiento en frío a 4°C se volvieron a cultivar en agar sangre Columbia como se mencionó. En el caso del feto abortado (caso N° 10) se recolectaron muestras de líquido de abomaso, placenta y pulmón. Las mismas se sembraron en agar sangre Columbia y agar Mac Conkey e incubaron a 37°C en aerobiosis. Los cultivos fueron confirmados como *L. monocytogenes* utilizando pruebas bioquímicas convencionales¹⁹.

Otras técnicas. Con el objetivo de descartar la coexistencia de distinta/s patología/s abortiva/s, sobre el feto se utilizaron otras técnicas diagnósticas complementarias descriptas previamente⁴. Se tomaron muestras de pulmón y líquido abomasal para realizar cultivo bacteriológico (aeróbicos y microaerófilos), cultivo y test de inmunofluorescencia directa para la detección de *Campylobacter fetus*. Además, el fluido abomasal se sembró en medio de cultivo para *Tritrichomonas foetus*. Los tejidos fetales se procesaron además con la técnica de IHQ para la detección de *Neospora caninum*⁴. Se obtuvieron muestras de bazo para cultivo viral, las cuales fueron suspendidas en medio de Hank's, homogeneizadas y centrifugadas. Se inocularon alícuotas del sobrenadante en células Madin-Darby Bovine Kidney (MDBK), realizándose 4 pasajes por cultivos celulares de 72 h cada uno⁴.

RESULTADOS

Antecedentes. Luego de analizar los casos recibidos durante el periodo 2002-2010 se identificaron 17 casos de listeriosis confirmados mediante IHQ, de los cuales 16 estaban asociados a encefalitis y uno fue un feto abortado de 4 meses de gestación (Tablas 1 y 2). Los casos ocurrieron en diferentes partidos de la Provincia de Buenos Aires: Bahía Blanca (n=1), Balcarce (n=3), Bolívar (n=2), Chivilcoy (n=1), General Pueyrredón (n=1), General Villegas (n=1), Navarro (n=2), Necochea (n=1), Pehuajó (n=1), Partido de la Costa (n=1), Tandil (n=1) y Trenque Lauquen (n=1). Los parámetros epidemiológicos estuvieron disponibles en solo 3 casos (N° 14, 15 y 16), registrando una morbilidad de entre 0,01 y 7,1% y una letalidad de entre 87 y 100%. En 3 casos (N° 4, 6 y 16) los animales afectados habían sido

Tabla 1. Caracterización epidemiológica de los casos de listeriosis bovina.

caso	categoria/raza/edad	mes	aptitud	alimentación
animales > de 24 meses				
1	Vaca / HA / 4 A	7	lechera	S de maíz + algodón + V avena.
2	Vaca / HA / 3,5 A	10	lechera	S de maíz.
3	Vaca / HA / Sd	9	lechera	S de maíz.
4	Vaca / HA / 4 A	5	lechera	S de maíz.
5	Vaca / HA / Sd	7	lechera	S de maíz.
6	Toro / AA / 3 A	8	cría	pastura natural.
7	Vaca / HA / Sd	11	lechera	S de maíz.
8	Vaca / HA / Sd	2	lechera	S de pastura + S de maíz.
9	Vaca / HA / 3,5 A	8	lechera	S de maíz.
animales < de 24 meses				
10	feto / AA / 4 M	6	cría	campo natural.
11	novillo / Sd / 12 M	5	feedlot	G de maíz + expeller girasol + N.
12	novillo / Sd / 16 M	3	feedlot	G de maíz + expeller girasol + N.
13	novillo / Sd / 18 M	8	feedlot	S de maíz + expeller girasol + N.
14	novillo / Sd / 14 M	8	feedlot	G de maíz + expeller girasol + N.
15	novillo / Sd / Sd	6	feedlot	S de maíz + expeller girasol + N.
16	novillo / Sd / 18 M	9	feedlot	S de maíz + pasturas.
17	novillo / Sd / 14 M	6	invernada pastoril	pastura natural.

Sd: sin dato; HA: Holando Argentino; AA: Aberdeen Angus; M: meses; A: años; V: verdeo; S: silaje, G: granos enteros, N: núcleo vitamínico-mineral.

tratados previamente con penicilina por vía parenteral. En 11/17 de los casos estudiados (64,7%), el silaje de maíz fue utilizado como suplemento nutricional (Tabla 1). Se observó una mayor presentación de casos clínicos durante los meses de invierno y principio de primavera (Figura 1). El feto pertenecía a un rodeo de 510 vacas Aberdeen Angus en pastoreo sin suplementación (fue el único aborto registrado). En la Tabla 2 se mencionan los signos clínicos disponibles; los más frecuentes fueron ataxia/incoordinación (9/14) y marcha en círculo y depresión (6/14).

Examen patológico. Al examen macroscópico del SNC de los casos de encefalitis, solamente en uno se observó hiperemia en meninges y múltiples focos de reblandecimiento en la médula oblonga de 0,5 cm de diámetro (caso N° 17). A la necropsia del feto no se observaron lesiones macroscópicas.

Al examen histopatológico de los casos de encefalitis, se observaron múltiples focos de necrosis acompañada de abundante cantidad de neutrófilos (microabscesos) e infiltrado celular mononuclear (predominantemente macrófagos y escasos linfocitos) a nivel del tronco encefálico, tanto en la sustancia gris como en la blanca. Los mismos fueron más severos en la protuberancia y bulbo raquídeo. También se detectaron manguitos perivasculares con infiltrado de células mononucleares (básicamente macrófagos, linfocitos y ocasionales plasmocitos) especialmente en los vasos sanguíneos adyacentes a los focos de necrosis presentes del tejido nervioso. En el caso N° 14 también se observaron lesiones en corteza cerebral, caracterizadas por meningitis mononuclear y manguitos perivasculares con predominio de macrófagos y linfocitos.

En el feto abortado se registró miocarditis multifocal necrotizante difusa con infiltrado inflamatorio mononuclear. La IHQ para detección de *N. caninum* resultó negativa. En la Tabla 2 se detallan los hallazgos de los casos presentados.

Inmunohistoquímica. En los 17 casos se identificaron antígenos de *L. monocytogenes* siendo la inmunotinción más notoria a nivel de los microabscesos y en los focos de necrosis presentes en el tejido nervioso. En el feto abortado, la IHQ resultó positiva en corazón, pulmón, hígado, intestino delgado y grueso. *L. monocytogenes* se observó como pequeños gránulos ovoides o circulares de color rojizo, en el citoplasma de fagocitos y neutrófilos y como pequeñas estructuras cocobacilares extracelulares. Ocasionalmente, se observaron dichos antígenos en los sitios de infiltrado perivascular en el SNC. Tanto los tejidos controles positivos como los negativos se comportaron adecuadamente a la IHQ.

Procedimientos bacteriológicos. En 7/17 casos se pudo realizar el cultivo bacteriológico obteniéndose *L. monocytogenes* en 3 oportunidades. Del feto abortado, dicho agente fue aislado del líquido de abomaso, pulmón y placenta. En los 10 casos restantes, los tejidos no se pudieron cultivar por haberse recibido únicamente órganos formolados. De los 3 aislamientos positivos (casos N° 2, 10 y 16), las colonias desarrollaron a las 24 h de incubación en pureza siendo todas ellas β -hemolíticas. A la microscopía, se observaron bacilos Gram positivos, clasificados bioquímicamente como *L. monocytogenes*. Las muestras de enriquecimiento en frío y resembradas fueron negativas (casos N° 1, 11, 13 y 17). No se aislaron otros microorganismos en las muestras del SNC.

Otras técnicas. Las muestras extraídas del feto fueron negativas al aislamiento viral y las pruebas para diagnóstico de trichomonosis, campylobacteriosis, brucelosis y neosporosis.

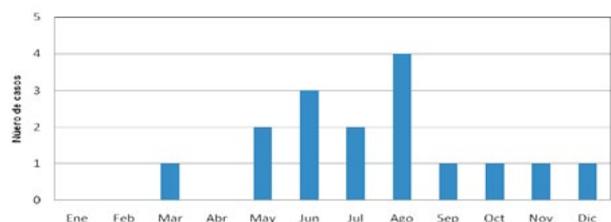


Figura 1. Casos de listeriosis en bovinos durante el periodo 2002-2010.

Tabla 2. Aislamientos, hallazgos patológicos y signos clínicos de los casos estudiados.

caso	aislamiento	histopatología	signos clínicos
animales > de 24 m			
1	(-)	MEC, MA, IPM, E, FN	decúbito lateral, pedaleo, fiebre.
2	(+)	MEC, MA, E, FN	ataxia, marcha en círculos.
3	NR	MEC, IPM, E, FN	ataxia, ceguera, marcha en círculos, temblores musculares, babeo.
4	NR	MEC, MA, E, FN	ataxia.
5	NR	MEC, MA, IPM, E, FN	sialorrea, ptosis de labio inferior, dificultad para comer, pérdida de estado corporal.
6	NR	MEC, MA, IPM, E, FN	depresión, marcha en círculos, decúbito lateral y pedaleo.
7	NR	MA, IPM, E, FN	ataxia, ceguera, depresión.
8	NR	MEC, IPM, E, FN	depresión, incoordinación.
9	NR	MEC, MA, IPM, E, FN	depresión y marcha en círculos.
animales < de 24 m			
10	(+)	Miocarditis mononuclear	feto abortado
11	(-)	MEC, MA, IPM, E, FN	depresión, incoordinación.
12	NR	MEC, IPM, E, FN	Sd
13	(-)	MEC, MA, IPM, E, FN	incoordinación, ceguera, decúbito esternal, opistótonos.
14	NR	MEC, MA, IPM, E, FN	marcha en círculos, incoordinación, bruxismo, ptosis auricular.
15	NR	MEC, MA, IPM, E, FN	depresión, decúbito esternal y pedaleo.
16	(+)	MEC, IPM, E, FN	marcha en círculos, estrabismo, caídas, opistótonos.
17	(-)	MEC, MA, IPM, E, FN	Depresión, marcha tambaleante incoordinación, decúbito lateral y pedaleo.

(+): positivo a *L. monocytogenes*; (-): negativo; NR: no realizado; Sd: sin datos; MEC: meningoencefalitis; MA: microabscesos; IPM: infiltrado perivascular mononuclear; E: encefalitis; FN: focos de necrosis.

DISCUSIÓN

En el presente estudio, el 64,7% de los casos de listeriosis estuvieron asociados al consumo de silaje de maíz. Este resultado es coincidente con trabajos previos en similar zona geográfica³ y también con los hallazgos de otros autores^{5,12,20,26}. Sin embargo, la asociación con el consumo de silaje no se observó en otros episodios registrados en rumiantes de Brasil y Cuba^{18,22,23}. Desafortunadamente, en este trabajo no se dispuso de información referente a la calidad de los silajes consumidos, tipo de construcciones (silo torta, trinchera, puente), condiciones de su elaboración y mantenimiento, así como la posibilidad de realizar cultivos y aislamientos en las muestras de silaje. La morbilidad de los brotes de encefalitis que se incluyen en este trabajo está comprendida dentro de los rangos mencionados por la bibliografía^{3,12,20,26}.

Es importante mencionar que la enfermedad también ocurrió en animales mantenidos exclusivamente a campo en pasturas, sin suplementación (casos N° 6, 10 y 17) y se presentó con las características de un brote en animales de varios *feedlots* que no suplementaban con silo de maíz (casos N° 11, 12 y 13). Varios factores ambientales pueden causar un descenso de la resistencia a la infección por *L. monocytogenes*²⁰. En los *feedlots* de nuestro país, se observan limitadas condiciones de cuidado que afectan el bienestar animal (exceso de barro, largos periodos de transporte, escasa sombra y reparos) las cuales, asociadas al estrés con que suelen ingresar los animales al encierre, crean condiciones predisponentes para la presentación de esta enfermedad^{15,20,21,26}.

En este trabajo, al igual que lo mencionado para otras áreas geográficas^{1,5,20,30}, se observó estacionalidad de los casos con predominio en invierno y principio de primavera. Este hallazgo posiblemente esté ligado a un mayor estrés de los animales por los fríos y bajas temperaturas y/o por una mayor utilización del silaje durante el periodo invernal. El rango etario de los casos de encefalitis observados en el presente estudio (1 a 4 años de edad) es coincidente con el mencionado por otros autores¹. Este hallazgo sugiere que los animales jóvenes tendrían mayor riesgo de adquirir la enfermedad posiblemente por efecto de los cambios de dentición asociados, los cuales facilitarían el ingreso de *L. monocytogenes* al SNC.

L. monocytogenes puede ingresar por vía hematogena y de allí pasar al SNC, cuando bacterias circulantes en el torrente sanguíneo invaden directamente células endoteliales de la barrera hematoencefálica; o bien mediante el transporte de bacterias hacia el SNC dentro de leucocitos circulantes en un mecanismo conocido como 'Caballo de Troya'. Además, la vía neurogénica ascendente es comúnmente descrita, donde las bacterias alcanzan el SNC desde tejidos periféricos por transporte intra-axonal⁷ siendo esta vía neurogénica la más común en rumiantes para invadir el SNC¹⁷. La encefalitis a nivel del tronco encefálico, suele producirse por este último mecanismo, por el cual la infección asciende a lo largo del nervio trigémino luego de producirse lesiones erosivas en la mucosa de la cavidad nasal u oral y el cambio de dientes en animales jóvenes. Estos cambios facilitan el ingreso bacteriano, luego se

produce el ascenso por el nervio trigémino y así se establece la encefalitis basal^{5,21}.

Los hallazgos macroscópicos en el SNC no suelen ser frecuentes^{2,14} habiéndose encontrado un solo caso (Nº 17). Las alteraciones histológicas observadas estuvieron localizadas en el tronco encefálico (bulbo, puente y mesencéfalo) y son coincidentes con lo mencionado por otros autores^{2,10,12,14,27}. En el presente estudio, los antígenos de *L. monocytogenes* detectados por IHC fueron más frecuentes en las áreas de necrosis y microabscesos del SNC en coincidencia con otros trabajos^{3,13,22,23,29}.

En todos los aislamientos de *L. monocytogenes*, las colonias desarrollaron a las 24 h de incubación. Los cultivos negativos lo fueron a pesar del método de enriquecimiento utilizado. Se deberían considerar otras técnicas de enriquecimiento o bien técnicas de biología molecular para disponer de otras herramientas diagnósticas. Es importante destacar lo ocurrido en el caso Nº 16, que a pesar de que el animal fue tratado con penicilina durante 4 días, los cultivos bacteriológicos resultaron positivos.

L. monocytogenes puede tener predilección por la interfase materno-fetal placentaria⁵. En el presente estudio se registró un caso (Nº 10) de aborto en la gestación temprana, lo que no es coincidente con lo reportado por otros autores que mencionan mayor frecuencia de abortos en el último tercio gestacional^{5,17}. En otros países *L. monocytogenes* es comúnmente mencionada como causa de aborto esporádico en el ganado bovino¹¹. En Argentina no es frecuente su presencia como causa de abortos en el bovino^{4,8} o bien estar involucrada excepcionalmente en casos de muerte perinatal en bovinos¹⁶. En base a estos trabajos y nuestros hallazgos se puede aseverar que *L. monocytogenes* es solo un agente esporádico de pérdidas reproductivas en bovinos de nuestro medio.

La importancia de estos casos de listeriosis ocurridos en nuestro país, destaca el papel de los bovinos como posibles reservorios de cepas patógenas para la población humana. Los rumiantes, particularmente los bovinos sanos o enfermos, pueden contribuir a la diseminación de *L. monocytogenes* en el ambiente de los establecimientos ganaderos¹⁷. La leche puede contener *L. monocytogenes* como consecuencia de la contaminación exógena, especialmente en aquellos establecimientos que ordeñan en malas condiciones higiénicas²⁴. Se deberían realizar nuevos estudios en Argentina, con el fin detectar *L. monocytogenes* en leche y así dilucidar cuál es su rol en la transmisión de la bacteria al hombre.

La técnica de IHQ utilizada en este trabajo representa una herramienta auxiliar que mejora significativamente el diagnóstico de la listeriosis bovina. Ello resulta particularmente relevante en casos donde sólo se dispone de tejidos formolados, no pudiéndose realizar cultivos microbiológicos, o bien en animales que previamente recibieron tratamientos con antibióticos, lo cual dificulta la posibilidad del aislamiento. A pesar de

que el cultivo se mantiene como un criterio importante para el diagnóstico de listeriosis, el uso de la histopatología e IHQ combinados mejoran la sensibilidad del diagnóstico.

En conclusión, surge que en la zona estudiada, la listeriosis bovina es más frecuente durante el invierno y en sistemas de producción intensivos (*feedlot* y tambos), donde se utilizan comúnmente diferentes suplementos alimenticios. La técnica de IHQ es útil para el diagnóstico de listeriosis, tanto para casos de encefalitis o abortos producidos por *L. monocytogenes*. En nuestro país, la forma encefálica debe incluirse en el diagnóstico diferencial de aquellas enfermedades que cursan con signos neurológicos en el ganado bovino.

Agradecimientos. Por su valiosa colaboración, a los miembros del Grupo de Sanidad Animal de INTA Balcarce.

REFERENCIAS

1. Barlow RM, McGorum B. 1985. Ovine listerial encephalitis: analysis, hypothesis and synthesis. *Vet Rec* 116: 233-236.
2. Barros CS, Driemeier D, Dutra I, Lemos RA. 2006. *Doenças do sistema nervoso de bovinos no Brasil*. 1ª Ed, AGNS ed., Montes Claros, MG (Brasil) p. 67-70.
3. Campero CM, Odeón AC, Cipolla AL, Moore DP, Poso MA, Odriozola E. 2002. Demonstration of *Listeria monocytogenes* by immunohistochemistry in formalin-fixed brain tissues from natural cases of ovine and bovine encephalitis. *J Vet Med B* 49: 379-383.
4. Campero CM, Moore DP, Odeón A, Cipolla AL, Odriozola E. 2003. Aetiology of bovine abortion in Argentina. *Vet Res Comm* 27: 359-369.
5. Czuprynski CJ, Kathariou S, Poulsen K. 2010. *Listeria*. In: *Pathogenesis of bacterial infections in animals* (Gyles CL, Prescott JF, Songer GJ, Thoen CO, Ed), 4th ed., Ames, Iowa (USA), p. 167-187.
6. Domingo M, Ramos JA, Dominguez L, Ferrer L, Marco A. 1986. Demonstration of *Listeria monocytogenes* with the PAP technique in formalin fixed and paraffin embedded tissues of experimental infected mice. *J Vet Med B* 33: 537-542.
7. Drevets DA, Leenen PJ, Greenfield RA. 2004. Invasion of the central nervous system by intracellular bacteria. *Clin Microbiol Rev* 17: 323-347.
8. Fernandez ME, Campero C, Morrell E, Cantón GJ, Moore DP, Cano A, Malena R, Odeón AC, Paolicchi F, Odriozola ER. 2007. Pérdidas reproductivas en bovinos causadas por abortos, muertes prematuras, natimortos y neonatos: casuística del período 2006-2007. *Rev Med Vet* (Buenos Aires), 88: 246-254.
9. Hsu SM, Raine L, Fanger H. 1981. The use of avidin biotin peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *J Histochem Cytochem* 29: 577-580.

10. **Johnson GC, Fales WH, Maddox CW, Ramos-Vara JA.** 1995. Evaluation of laboratory tests for confirming the diagnosis of encephalitic listeriosis in ruminants. *J Vet Diagn Invest* 7: 223-228.
11. **Kirkbride C.** 1993. Bacterial agents detected in a 10-year study of bovine abortions and stillbirths. *J Vet Diagn Invest* 5: 64-68.
12. **Ladds PW, Dennis SM, Njoku CO.** 1974. Pathology of listeric infection in domestic animals. *Vet Bull* 44: 67-74.
13. **Marco A, Ramos JA, Dominguez J, Domingo M, Gonzalez L.** 1988. Immunocytochemical detection of *Listeria monocytogenes* in tissue with the peroxidase-antiperoxidase technique. *Vet Pathol* 25: 385-387.
14. **Maxie MG, Youssef S.** 2007. Nervous system. In: *Jubb, Kennedy, and Palmer's. Pathology of domestic animals* (Maxie MG Ed.), 5th ed, Saunders, Philadelphia, p. 405-408.
15. **Meredith CD, Schneider DJ.** 1984. An outbreak of ovine listeriosis associated with poor flock management practices. *J S Afric Vet Ass* 55: 55-56.
16. **Morrell EL, Moore DP, Odeón AC, Poso MA, Odrizola E, Cantón G, Paolicchi F, Malena R, Leunda MR, Morsella C, Campero CM.** 2008. Retrospective study of bovine neonatal mortality: cases reported from INTA Balcarce, Argentina. *Rev Arg Microbiol* 40: 151-157.
17. **Oevermann A, Zurbriggen A, Vandevelde M.** 2010. Rhombencephalitis caused by *Listeria monocytogenes* in humans and ruminants: a zoonosis on the rise? *Interdisc Persp Infect Dis* 2010: 1-22 (Article ID 632513, doi:10.1155/2010/632513).
18. **Pérez IN, Sorrondegui M, Alonso M, Sarduy E.** 2002. Listeriosis en las especies bovina, ovina y porcina en Cuba. *Rev Prod Anim* 14: 61-65.
19. **Quinn PJ, Markey BK, Carter ME, Donnelly WJ, Leonard EC.** 2001. *Veterinary microbiology and microbial disease*, Blackwell Pub., Oxford, p.72-75.
20. **Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW, Constable PD.** 2007. *A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*, 10th ed. Saunders, Philadelphia, p. 805-810.
21. **Rebhun WC.** 1987. Listeriosis. *Food Anim Pract* 3: 75-83.
22. **Rissi DR, Rech RR, Barros RR, Kommers GD, Langohr IM, Pierezan F, Barros CS.** 2006. Forma nervosa de listeriose em caprinos. *Pesq Vet Bras* 26: 14-20.
23. **Rissi DR, Glaudia D, Kommers GD, Marco P, Schild ML, Barros CS.** 2010. Meningoencefalite por *Listeria monocytogenes* em ovinos. *Pesq Vet Bras* 30: 51-56.
24. **Sanaa M, Poutrel B, Menard JL, Serieys F.** 1993. Risk factors associated with contamination of raw milk by *Listeria monocytogenes* in dairy farms. *J Dairy Sci* 76: 2891-2898.
25. **Staric J, Krizanec F, Zadnik T.** 2008. *Listeria monocytogenes* keratoconjunctivitis and uveitis in dairy cattle. *Bull Vet Inst Pulawy* 52: 351-355.
26. **Stöber M.** 2005. Listeriosis. In: *Medicina interna y cirugía del bovino* (Dirksen G, Gründer H, Stöber M ed.), 4^o ed, Interamericana, Buenos Aires, p.1119.
27. **Summers BA, Cummings JF, Lahunta A.** 1995. *Veterinary Neuropathology*, Mosby, St. Louis, p. 133-135.
28. **Thompson H, Taylor DJ, Philbey AW.** 2009. Fatal mesenteric lymphadenitis in cattle caused by *Listeria monocytogenes*. *Vet Rec* 164: 17-18.
29. **Weinstock D, Horton SB, Rowland PH.** 1995. Rapid diagnosis of *Listeria monocytogenes* by immunohistochemistry in formalin-fixed brain tissue. *Vet Pathol* 32: 193-195.
30. **Wesley IV, Larson DJ, Harmon KM, Luchansky JB, Schwartz AR.** 2002. A case report of sporadic ovine listerial meningoencephalitis in Iowa an overview of livestock and human cases. *J Vet Diagn Invest* 14: 314-321.