

INFLUENCIA DE LA LISTERIOSIS EN LA FERTILIDAD Y PRESENTACIÓN DE MASTITIS SUBCLÍNICA EN UN CONGLOMERADO LECHERO DE LA SABANA DE BOGOTÁ, COLOMBIA

LISTERIOSIS INFLUENCE ON FERTILITY AND OCCURRENCE OF SUBCLINICAL MASTITIS IN A DAIRY CLUSTER OF SAVANNAH BOGOTA, COLOMBIA

Manuel Isaac Gallego¹, José Luis Azumendi², Andrés Felipe Salazar³, Carolina Gallego⁴

¹ Médico Veterinario, MSc., Docente Facultad de Ciencias Pecuarias, Programa de Medicina Veterinaria. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A, calle 222 No 54-37, Bogotá, Colombia, e-mail: mgallego@udca.edu.co; ² Médico Veterinario, Director Científico. Fundación FUNCEP, calle 137 No. 12-15, Bogotá, Colombia, e-mail: funcepdircientifico@cable.net.co;

³ Médico Veterinario. Ejercicio particular, calle 145 No. 21-61 Apto. 301B, Bogotá, Colombia, e-mail: asalazarmv@gmail.com;

⁴ Médico Veterinario, MSc., c.PhD., Docente Facultad de Ciencias Pecuarias, Programa de Medicina Veterinaria. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A, calle 222 No. 54-37, Bogotá, Colombia, e-mail: cgallego@udca.edu.co

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 18(2): 409-415, Julio-Diciembre, 2015

RESUMEN

Esta investigación tuvo como objetivo determinar la influencia de la listeriosis sobre el desempeño reproductivo y la presentación de mastitis subclínica, en un conglomerado lechero, de la Sabana de Bogotá. Se tomaron al azar ochenta y cuatro vacas en producción y en capacidad reproductiva, que fueron examinadas dos veces, con un intervalo de dos meses, para un total de 168 muestras, mediante la técnica de ELISA, para IF_γ bovino específico para listeriosis. Los resultados indicaron una incidencia de 36% de positividad a la enfermedad. Las vacas positivas a IF_γ presentaron mastitis subclínica grado 1 ($P < 0.00001$) y grado 2 ($P < 0.3402$); adicionalmente, las cifras de abortos en estas vacas fueron mayores ($P < 0.0002$). En consecuencia, tuvieron mayor número de días abiertos ($P < 0.00001$) y un número mayor de servicios por concepción ($P < 0.0093$). Los resultados obtenidos ponen en evidencia los efectos negativos de la infección por *Listeria monocytogenes* sobre el tracto reproductivo y la responsabilidad del microorganismo en la presentación de mastitis en bovinos infectados.

Palabras clave: Infertilidad, mastitis, ganado de leche.

SUMMARY

This research aimed to determine the influence of listeriosis on the reproductive performance and the presentation of mastitis in a dairy cluster of the Sabana de Bogotá. We

randomly selected eighty four cows in production and reproductive capacity in four farms, which were examined twice with an interval of two months for a total of 168 samples by ELISA test for specific bovine IF_γ for listeriosis. The results indicated an incidence of 36% of positivity to the disease. Positive cows for IF_γ had grade 1 of subclinical mastitis ($P < 0.00001$) and grade 2 ($P < 0.3402$). The figures for abortions in these animals were higher than negatives ($P < 0.0002$). Accordingly, had higher number of open days ($P < 0.00001$) and a greater number of services per conception ($P < 0.0093$). The results highlight the negative influence of *Listeria monocytogenes* infection on the reproductive tract and responsibility of the microorganism in the presentation of mastitis in infected cattle.

Key words: Infertility, mastitis, dairy cattle.

INTRODUCCIÓN

La listeriosis ha estado involucrada como una entidad infecciosa de gran importancia para la salud de los seres humanos, al consumir alimentos contaminados, procedentes de animales infectados o del medio ambiente, convirtiéndose en un significativo contaminante, en todas las etapas de la cadena alimenticia (Tienungoon *et al.* 2000; Vanegas *et al.* 2007; Pérez-Trallero *et al.* 2014).

En los seres humanos induce el desarrollo de patologías, como abortos, anormalidades fetales, pérdidas neonatales,

septicemia y diversos problemas nerviosos. En las mujeres, la infección materna es frecuentemente asintomática, mientras que la infección fetal y neonatal es severa y de pronóstico reservado, con 25-35% de mortalidad (Charlier-Woerther & Lecuit, 2014). La enfermedad en los bovinos cursa también con la presentación de lesiones en el sistema nervioso central, pero ha sido implicada también en problemas de tipo reproductivo, como pérdidas gestacionales y mortalidad perinatal, además de retención de placenta, metritis y mastitis (Czuprynski *et al.* 2010), con la consiguiente disminución de la fertilidad. Tanto en los seres humanos como en los animales, en general, la listeriosis está más referenciada como una enfermedad de tipo nervioso y reproductivo, ya que la bacteria puede cruzar las barreras placentaria, intestinal y nerviosa (Charlier-Woerther & Lecuit, 2014); sin embargo, desde el punto de vista veterinario, no se han hecho estudios de su influencia sobre los diferentes parámetros reproductivos o productivos en ganado de leche.

La colonización del útero grávido y del feto ha sido reproducida experimentalmente por inoculación intravenosa, oral y respiratoria de animales gestantes de diferentes especies, como bovinos, ovinos, conejos, ratas, ratones y, en ellos, se ha demostrado que *Listeria monocytogenes* accede al feto por penetración hematogena de la barrera placentaria, lo cual, explica el tropismo especial que presenta el microorganismo por el útero grávido. La depresión local del sistema inmune en la placenta contribuye al incremento de la susceptibilidad a la infección por la bacteria. Lo anterior, se relaciona con la deficiencia en producción de Interferón-gamma (IF γ), que facilita la invasión listerial de la placenta y de los tejidos fetales (Torres *et al.* 2005).

El diagnóstico de esta enfermedad ha descansado, usualmente, en el aislamiento bacteriológico, con el inconveniente que esta técnica no presenta la sensibilidad y la especificidad adecuadas, además de la demora en obtener los resultados; debido a lo anterior, se han diseñado diferentes técnicas de diagnóstico, como ELISA y PCR (Sierra *et al.* 2005; Vanegas *et al.* 2007). La técnica de (IF γ) ha sido ampliamente usada en el diagnóstico de patógenos con ciclos de vida intracelulares, como *Mycobacterium tuberculosis* (Cho, 2007; Dhedda *et al.* 2007), demostrando, en el caso de la listeriosis, ser altamente significativa ($P < 0,01$) con el aislamiento microbiológico (Gallego *et al.* 2015), lo cual, permite determinar, con seguridad, las posibles consecuencias de la enfermedad en el comportamiento reproductivo y productivo de los animales, a nivel de campo.

En Colombia, la bacteria ha sido reportada en casos humanos de meningoencefalitis (Sánchez *et al.* 1992; Crespo *et al.* 1999) y en alimentos de diferente naturaleza, como leches crudas (Díaz & Muñoz, 1994) y quesos frescos (Muñoz & Díaz, 1996), lo mismo que en productos cárnicos (Vanegas *et al.* 2007).

Este microorganismo fue detectado por Gallego *et al.* (2003), en un conglomerado lechero de la Sabana de Bogotá, en porcentajes que fluctuaron entre el 2,4 y 24% y Moreno *et al.* (2007), en un estudio sobre la contaminación microbiológica y la calidad de la leche realizado en el departamento de Boyacá, registraron que de 28 fincas, el 92,8% presentó contaminación con *L. monocytogenes*. Posteriormente, Gallego *et al.* (2007) reportaron la presencia de la bacteria en canales de ganado Holstein, sacrificado en una planta de beneficio de la Sabana de Bogotá, en 2,26%, de los canales examinados y, en canales de ganado cebú, un grado de contaminación del 8,33%, con un rango entre el 3,4 y el 13,2% (Villamil *et al.* 2007). Otros estudios adelantados por Gallego *et al.* (2015) hallaron una prevalencia, empleando la técnica de IF γ , del 31,36%, en el mismo grupo de fincas de la Sabana de Bogotá, que fue empleado en la realización del presente trabajo.

La listeriosis es una enfermedad infecciosa que ha cobrado gran importancia en diferentes partes del mundo, especialmente, en la población bovina y ovina; en ambas especies, la enfermedad se puede manifestar como una infección del sistema nervioso, meningoencefalitis en adultos y meningitis en animales jóvenes, aborto, septicemia generalizada, afectando el hígado y otros órganos y mastitis (Czuprynski *et al.* 2010).

Gray & Killinger (1966) mencionaron que *L. monocytogenes* puede tener predilección por invadir el feto y la placenta de varios mamíferos. El aborto, se presenta, según estos autores, en el tercer trimestre de la gestación, con los signos clínicos obvios del problema, pudiendo ocurrir una presentación simultánea con problemas nerviosos, como se ha observado en ovejas (Vásquez-Boland *et al.* 1992), pudiendo ser detectada en los fetos abortados o placenta de los animales afectados.

De acuerdo con Barzoza-Lewis *et al.* (2012), el Interferón tipo I (I-IFN, IFN $\alpha\beta$) es la llave de la respuesta inmune a los patógenos virales; sin embargo, su papel frente a las infecciones bacterianas se está empezando a entender. Teniendo en cuenta estos estudios, se deja en evidencia un mecanismo mediante el cual, el interferón tipo I regula la respuesta inmune a la listeria, a través de una regulación negativa de quimioquinas, conducentes al reclutamiento de neutrófilos.

Rayamaghi *et al.* (2010) comprobaron que la producción del interferón tipo I incrementa la susceptibilidad a *L. monocytogenes*, mientras que el tipo II o IFN γ , activa la resistencia de los macrófagos. Los autores hallaron que estos aspectos inmunológicos, se realizan por interrelaciones entre las respectivas vías de señalización, lo que permite la priorización del tipo de respuesta inmune y contribuye a los efectos benéficos del interferón.

Uno de los aspectos más importante de la listeriosis es la implicación en la presentación de mastitis subclínica, lo cual, ha sido reportado por diversos autores que evaluaron el problema, mediante la inoculación experimental de la glándula mamaria (Gitter *et al.* 1980; Czuprynski *et al.* 1989; Fthenakis *et al.* 1998; Tzora *et al.* 1998; Maliki *et al.* 2002; Winter *et al.* 2004; Czuprynski *et al.* 2010). Estudios presentados por Jamali & Radmehr (2013) mostraron que los serogrupos que producen mastitis son, principalmente, 4b, 4d, 4e, 1/2a, 3a, 1/2b, 3b, 7, 1/2c, 3e todos codificados en inlA, inlC, inlG, necesarios para la internalización de *Listeria* spp. en células intestinales y empleados para la diferenciación de cepas virulentas y avirulentas.

Los autores anteriores coinciden en que *L. monocytogenes* puede ser detectada en la leche por períodos variables, incluso, en cantidades pequeñas; por lo tanto, es muy posible que las vacas positivas –en la técnica de ELISA para IF_γ y que presenten reacción positiva en CMT–, uno de las posibles microorganismos involucrados sea *L. monocytogenes*, dada la sensibilidad de la técnica y su correlación con los cultivos bacteriológicos. Considerable atención ha tenido la presentación de la mastitis, que puede tener varios grados de severidad, desde una forma subclínica a una infección supurativa severa. Gitter *et al.* (1980), Doyle *et al.* (1987) y Czuprynski *et al.* (2010) establecieron que *L. monocytogenes* pudo ser encontrada en los neutrófilos en leche de cuatro vacas examinadas, que presentaron mastitis. La infección prolongada de la ubre puede ocasionar incremento de eliminación de la bacteria, especialmente, en períodos de inmunodepresión. Chen & Novick (2009) hallaron una asociación estrecha entre *L. monocytogenes* y *S. aureus*, que puede tener un gran significado en la presentación de mastitis por listeriosis.

Las cifras anteriores revelan la importancia que pueda tener la enfermedad desde el punto de vista de salud pública, como un contaminante de alimentos de origen animal; sin embargo, hasta el momento no se ha realizado una investigación que ponga de manifiesto el posible impacto de la enfermedad sobre la fertilidad y la productividad en los hatos lecheros.

MATERIALES Y MÉTODOS

De acuerdo con la Asociación de Ganaderos de Facatativá (Castro, 2013), en una población de 21.631 bovinos del conglomerado lechero de los municipios de Madrid, Mosquera y El Rosal, donde se registró una prevalencia de 24% de positividad, mediante exámenes bacteriológicos (Gallego *et al.* 2003), se seleccionaron 84 bovinos, en capacidad reproductiva y en producción, ubicados en cuatro fincas, de acuerdo a una frecuencia esperada del 36% y un nivel de confianza del 99% (Kish, 1972; Kuehl, 2001). Las fincas fueron seleccionadas de acuerdo a los siguientes criterios: explotaciones

lecheras, atendidas directamente por sus propietarios; con predominio de la raza Holstein; asistencia veterinaria; registros de producción y de reproducción; certificadas libres de brucelosis; con planes de inseminación artificial; control de enfermedades parasitarias e infecciosas, especialmente, del tracto reproductivo y mastitis. No se tuvieron en cuenta fincas negativas a listeriosis, dadas las prevalencias altas de la enfermedad, encontradas anteriormente en este conglomerado lechero y que *L. monocytogenes* es considerado un microorganismo ambiental (Orndorff *et al.* 2006).

De las vacas seleccionadas al azar, se tomaron dos muestras de sangre con heparina, con intervalos de dos meses, para un total de 168 muestras; fueron transportadas al laboratorio en refrigeración, en un período de cinco horas. A las muestras seleccionadas, se les realizó cuantificación de IF_γ, como indicador de la inmunidad celular para *L. monocytogenes*, de acuerdo al protocolo establecido por Gallego *et al.* (2015).

En el momento de la toma de muestras de sangre a las vacas en producción, se les realizó la prueba de California Mastitis Test (CMT), de acuerdo al protocolo e interpretación de Schalm & Nordlander (1957).

Con el fin de analizar la influencia de la enfermedad sobre el comportamiento reproductivo, se tomaron –de los registros de las fincas, en el momento de la visita–, la información relacionada con los parámetros reproductivos, de acuerdo con Gallego (2009). A la información obtenida, se le realizó una estadística descriptiva y se analizó la significancia, mediante las técnicas de Chi cuadrado, de acuerdo al programa EPI-INFO (2014).

Conforme con los resultados, se formaron dos grupos de vacas, tomando, en uno de ellos, los animales con días abiertos, superiores a 100 y, del otro, los que presentaron cifras menores de 100. Para el intervalo entre partos, se tuvo en cuenta el rango de vacas, con un número igual o menor de 380 días y mayor, de 380. En relación con los servicios por concepción, se fijó como parámetro, animales con un servicio por concepción y los que presentaron dos o más servicios. En mastitis, se formaron, de la misma manera, grupos positivos y negativos a la enfermedad y se evaluó cada uno de los cuartos en las ubres, de acuerdo a la escala de Schalm & Nordlander (1957).

En los dos grupos de vacas, positivos y negativos a la prueba de IF_γ, se compararon los parámetros encontrados, tanto superiores como inferiores, de las variables consideradas como normales.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Todos los predios involucrados en este estudio disponían de asistencia profesional y eran atendidos directamente por sus propietarios. En estos predios, no se hallaron evidencias anteriores o actuales de problemas generales de salud o relacionados con factores nutricionales, enfermedades infecciosas y parasitarias o de manejo, lo que permite descartar la influencia de estos aspectos, en los resultados obtenidos.

Los primeros estudios sobre la enfermedad en el mismo conglomerado de leche y bajo las mismas condiciones reportaron una prevalencia máxima del 24%, mediante exámenes bacteriológicos (Gallego *et al.* 2003). En la presente investigación, mediante el empleo de una técnica de mayor sensibilidad y especificidad, la prevalencia encontrada fue del 36%, en las dos mediciones que se efectuaron con dos meses de intervalo, por lo tanto, es deducible que la técnica de IF_γ presenta una mayor utilidad, en la detección de animales positivos a listeriosis.

En relación con el grado de reactividad a la prueba de CMT, del total de animales examinados, 16 (9,52%) fueron positivos. Al realizar la prueba de ELISA para IF_γ, se evidenció una relación estadística significativa en las vacas que presentaron grado uno ($P < 0,0001$) y grado dos ($P < 0,009$), consideradas como subclínicas, lo cual, está relacionado con los hallazgos presentados por Czuprynski *et al.* (1989), Bourry *et al.* (1995), Fthenakis *et al.* (1998), Tzora *et al.* (1998) y Winter *et al.* (2004). Las mastitis tipo 3 y 4 no fueron evaluadas, debido al escaso número de animales que presentaron esta condición.

El hallazgo de *L. monocytogenes* en la leche y la presentación de mastitis tendrían como origen la contaminación bacteriana suscitada de la eliminación en las materias fecales o como consecuencia de la septicemia y necrosis focal en hígado y en bazo, de los de los animales infectados. El desarrollo de la mastitis puede variar desde una forma subclínica a supurativa con localización de la bacteria en los neutrófilos y la consecuente reactividad de la prueba de CMT. La infección que se establece a largo plazo en la leche, acompañada de la eliminación de la bacteria en la leche, puede ser exacerbada periódicamente por inmunodepresión, debida a enfermedades subyacentes u otras causas. Este fenómeno tiene implicaciones prácticas, ya que el tratamiento de las mastitis por *L. monocytogenes* sería difícil de lograr (Czuprynski *et al.* 2010). Es importante tener en cuenta la posible asociación de este microorganismo con otros agentes, ya sea desde el punto de vista patológico o de protección, como el *Staphylococcus aureus* (Chen & Novick, 2009).

La eliminación de *Listeria monocytogenes*, a través de la leche en vacas infectadas, constituye uno de los principales

problemas en salud pública, debido a las implicaciones que presenta el organismo para la salud humana (Díaz & Muñoz, 1994; Muñoz & Díaz, 1996; Gallego *et al.* 2003; Moreno *et al.* 2007), ya que las vacas lecheras pueden ser reservorios de una población diversa de *L. monocytogenes* patógenas para humanos, con el consiguiente peligro en salud pública (Haley *et al.* 2015). El empleo de técnicas de diagnóstico de alta sensibilidad y especificidad, como la técnica de ELISA para IF_γ, para la detección de animales positivos, permitiría el establecimiento de programas más eficientes de control de la enfermedad.

Al analizar el comportamiento reproductivo de los animales, se encontró, en relación con el número de días abiertos correspondientes al penúltimo parto, una diferencia significativa ($P < 0,0001$) en las positivas en la técnica de ELISA para IF_γ, que presentaron un número de días abiertos superiores a 100, en comparación con los que mostraron cifras inferiores, a este parámetro.

Igualmente, en las vacas positivas a IF_γ, que mostraron un incremento significativo en los días abiertos superiores a 100, se evidenció, además, un incremento significativo en el número de servicios superiores a uno ($P < 0,009$).

En relación con la presentación de abortos, en el presente estudio se halló una alta relación estadística ($P < 0,0002$), entre las vacas positivas a la prueba de ELISA para IF_γ, con la presentación de uno o más abortos en su vida reproductiva, en comparación con las negativas que, en el momento del estudio, manifestaban un comportamiento reproductivo normal. Aunque no existe historia sobre los posibles agentes etiológicos o causas de los abortos presentados anteriormente, es evidente la significancia estadística, que existe entre la positividad a listeriosis y la exposición de abortos. Este factor, al mismo tiempo, incide en el incremento en el número de días abiertos y puede ser una de las causas del incremento, en los servicios por concepción.

La influencia de *L. monocytogenes* sobre el comportamiento reproductivo de las vacas ha sido estudiando por diferentes autores (Abram & Doric, 1997; Parkash *et al.* 1998; Gulleria & Pollard, 2000; Vásquez-Boland *et al.* 2001; Torres *et al.* 2005), por inoculación intravenosa, oral y respiratoria, en animales gestantes susceptibles, como ovejas, reses, conejos, cobayos y ratas. De esta manera, se demostró que la bacteria accede al feto por penetración hematogena.

Entre los principales mecanismos por los cuales *L. monocytogenes* puede desencadenar la presentación de aborto, Engeland *et al.* (1997) planteó una posible explicación de tipo hormonal. Después de la inoculación del microorganismo encontró una disminución significativa en los niveles de progesterona y un incremento en 15-ketodihydro-PGF_{2α}.

Esta alteración en la función endocrina placentaria podría ser la responsable del aborto por la bacteria; plantearon, además, que durante la preñez se presenta un período de inmunodepresión, para evitar el rechazo alógráfico del feto, un hecho que se puede manifestar ante cualquier enfermedad infecciosa y que no es exclusivo de listeriosis. A este fenómeno, se puede añadir el hecho que *L. monocytogenes* induce una disminución de la expresión de la hemo-oxigenasa-1 (HO-1) en las células del trofoblasto, importantes para reducir la expresión de las HO-1, lo cual, puede influir en la presentación del aborto, tal como fue observado por Irvin *et al.* (2008) en ratones.

Tachibana *et al.* (2011) descubrieron un aspecto adicional. El gen Bcl-XL, el cual, presenta un factor de protección placentaria en unión de las HO-1, podría estar subregulado en placentas de ratones infectados con *L. monocytogenes*; por lo tanto, la bacteria induciría una muerte celular, por un mecanismo alterno dependiente de la HO-1 y del gen Bcl-XL. Poulsen *et al.* (2011) compararon ratones genéticamente resistentes a la infección por *L. monocytogenes* con ratones susceptibles, a una inoculación intragástrica de diseminación del microorganismo a los órganos fetales, a los tres días de inoculación. Los primeros fueron más resistentes que los susceptibles, durante la preñez; la inflamación y la necrosis fueron más severas en los susceptibles.

La presentación del aborto por *L. monocytogenes* ha sido establecida en forma definitiva por diferentes autores, en varias especies; en la especie bovina, el mecanismo empleado por el microorganismo no ha sido dilucidado específicamente, por lo tanto, establecer la patogénesis del microorganismo en los bovinos contribuiría al desarrollo de programas de control de la enfermedad.

Financiación: Este estudio fue financiado por la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A. **Conflicto de intereses:** El manuscrito fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaramos que no existe ningún conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados.

BIBLIOGRAFÍA

1. ABRAM, M.; DORIC, M. 1997 Primary *Listeria monocytogenes* infection in gestating mice. Folia Microbiol. (Czech Republic). 42:65-71.
2. BARZOZA-LEWIS, K.L.; HOTH, J.J.; HILTBOLD, E.M. 2012. Type I interferon signalling regulates the composition of inflammatory infiltrates upon infection with *Listeria monocytogenes*. Cellular Immunol. (USA). 73:41-51.
3. CASTRO, I. 2013 Asociación de Ganaderos de Facatativá. Comunicación personal.
4. CHEN, J.; NOVICK, R.P. 2009. Phage-mediated intergeneric transfer of toxin genes. Science (USA). 323:139-141.
5. CHO, S. 2007. Current issues on molecular and immunological diagnosis of tuberculosis. Yonsei Medical J. (Japan). 48(3):347-359.
6. CRESPO, M.; VÉLEZ, J.; CASTAÑEDA, C.; HOYOS, F.; LÓPEZ, M.; SALAZAR, J. 1999. Aislamiento de *Listeria monocytogenes* en un hospital de tercer nivel. Col. Médica (Colombia). 30(2):89-98.
7. CHARLIER-WOERTHER, C.; LECUIT, M. 2014 Listeriosis and pregnancy. Presse Med. (France). 43(6):676-682.
8. CZUPRYNSKI, C.J.; NOEL, E.J.; DOYLE, M.P.; SCHULTZ, R.D. 1989. Ingestion and killing of *Listeria monocytogenes* by blood and milk phagocytes from mastitic and normal cattle. J. Clin. Microbiol. (USA). 27:812-817.
9. CZUPRYNSKI, C.J.; KATHARIOU, S.; POULSEN, K. 2010. Listeria. En: Gyles, C.L.; Prescott, J.F.; Songer, J.G.; Thoen, C.O. (eds). Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals. Ed. Wiley-Blackwell (USA). p.167-187.
10. DHEDA, K.; POORAN, A.; PAI, M.; MILLER, R.; LESLEY, K.; BOOTH, H.; SCOTT, G.; AKBAR, A.; ZUMLA, A.; ROOK, G. 2007. Interpretation of *Mycobacterium tuberculosis* antigen-specific IFN γ release assays (T-SPOT.TB) and factors that may modulate test results. J. Infection. (England). 5:169-173.
11. DÍAZ, G.; MUÑOZ, A. 1994. Incidencia de *Listeria monocytogenes* en leches crudas y leches pasteurizadas en el altiplano Cundiboyacense. Biomédica (Colombia) 4:58.
12. DOYLE, M.P.; GLASS, J.T.; BEERY, J.T.; GARCIA, G.A.; POLLARD, D.J.; SCHULTZ, R.D. 1987. Survival of *Listeria monocytogenes* in milk during high temperature, short time of pasteurization. Applied Environ. Micro. (USA). 53:1433-1438.
13. J. 1995. Bovine mastitis caused by *Listeria monocytogenes* of natural and experimental infections. J. Med. Microbiol. (USA). 3:125-132.

13. ENGELAND, I.V.; WALDELAND, H.; RAPSTAEL, E.; KIN-DAHL, H.; ANDRESEN, O. 1997. Effect of experimental infection with *Listeria monocytogenes* on the development of pregnancy and concentration of progesterone, oestrone sulphate and 15-ketodihydro-PGF2 α in the goat. An. Reprod. Sci. (USA). 5:311-327.
14. EPI-INFO TM 3.5.4. 2014. Database and Static Software; Public Health Profesional org.; Center for Disease control and Prevention. Disponible desde internet en: www.cdc.gov/epiinfo/7/ (con acceso 13/10/2014).
15. FTHENAKIS, G.C.; SARATSIS, P.H.; TZORA, A.; LINDE, K. 1998. Naturally occurring subclinical ovine mastitis associated by *Listeria monocytogenes*. Small Ruminant. Res. (USA). 31:23-27.
16. GALLEGU, M.I.; TORRES, O.A.; SOTO, C.Y.; DUQUE, D.C.; BENÍTEZ, C. 2003. Determinación de portadores de *Listeria* sp. en un conglomerado lechero de la vereda Puente de Piedra municipio de Madrid (Cundinamarca, Colombia). Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. (Colombia). 6(1):49-56.
17. GALLEGU, M.I.; MANRIQUE, P.C.; TORRES, O.A.; RAMÍREZ, M.F. 2007. *Listeria monocytogenes* en canales de ganado Holstein en una planta de sacrificio de la Sabana de Bogotá (Colombia). Rev. U.D.C.A. Act. & Div. Cient. 8(2):95-101.
18. GALLEGU, M.I. 2009 Manejo del problema reproductivo en ganado de leche. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales. Fondo de Publicaciones. Digi-print Editores Bogotá, Colombia. 232p.
19. GALLEGU, L.C.; GALLEGU, M.I.; AZUMENDI, J.L.; PAIPA, J.; JARAMILLO, D. 2015. Estandarización de la técnica de Interferón-gamma (IFN- γ) para la detección de Bovinos infectado con *Listeria monocytogenes*. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 18(1):163-170.
20. GITTER, M.; BRADLEY, R.; BLAMPIED, P.H. 1980. *Listeria monocytogenes* infection in bovine mastitis. Vet. Record. (England). 107:390-393.
21. GRAY, M.L.; KILLINGER, A.H. 1966. *Listeria monocytogenes* and listeric infections. Bacteriology Reviews (Canada). 30:309-382.
22. GÜLLERIA, I.; POLLARD, J.W. 2000. The trophoblast is a component of the innate immune system during pregnancy. Nature Medicine. (England). 6:589-593.
23. HALEY, B.J.; SONNIER, J.; SCHUKKEN, Y.H.; KARNS, J.S.; VAN KESSEL, J.A. 2015. Diversity of *Listeria monocytogenes* within a U.S dairy herd, 2004-2010. Food Borne Pathog. Dis. (USA). 10:844-850.
24. IRVIN, E.A.; WILLIAMS, D.; VOSS, K.A.; SMITH, M.A. 2008. *Listeria monocytogenes* infection in pregnant guinea pigs associated with maternal liver necrosis, a decrease in maternal TNF α concentration and increase in placental apoptosis. Reprod. Toxicol. (USA). 26:123-129.
25. JAMALI, H.; RADMEHR, B. 2013. Frequency, virulence, genes and antimicrobial resistance of *Listeria* sp. isolated from bovine clinical mastitis. Vet. J. (England). 198:541-542.
26. KISH, L. 1972. Muestreo de encuestas. Edit. Trillas. 1^{Ed}. México D.F. 739p.
27. KUEHL, R.O. 2001 Diseño de experimentos. Ed. Thomson. México D.F. 666p.
28. MALIKI, S.V.S.; BARBUDDHE, S.B.; CHANDARI, S.P. 2002. Listeric infections in humans and animals in the Indian subcontinent. A review. Trop. Animal Health Prod. (England). 34(5):359-381.
29. MUÑOZ, A.; DÍAZ, G. 1996. Determinación e identificación de *Listeria monocytogenes* en quesos frescos y madurados que se comercializan en Santafé de Bogotá. Notinvima. (Colombia). 1:19-21.
30. MORENO, V.F.C.; RODRÍGUEZ, M.J.; MÉNDEZ, M.M.V.M.; OSUNA, A.L.E.; VARGAS, M.R. 2007. Análisis microbiológico y su relación con la calidad higiénica y sanitaria de la leche producida en la región del Alto de Chicamocha (departamento de Boyacá). Rev. Med. Vet. Univ. De la Salle. (Colombia). 14:61-83.
31. ORNDORFF, S.V.S.; HANRICK, T.S.; SMOAK, I.W.; HAVELL, E.A. 2006. GráfHost and bacterial factors in listeriosis pathogenesis. Vet. Microb. (USA). 114(1-2):1-5.
32. PARKASH, V.; MOROTTI, R.A.; JOSHI, V.; CARTUN, R.; RAUCH, C.A.; WEST, A.B. 1998. Immunohistochemical detection of *Listeria* antigen in the placenta in perinatal listeriosis. Int. J. Gynec. Pathol. (USA). 17:343-350.
33. PÉREZ-TRALLERO, E.; ZIGORRAGA, C.; ARTIEGA, J.; ALKORTA, M.; MARIMÓN, J.M. 2014. Two outbreaks

- of *Listeria monocytogenes*, northern Spain. *Emerg. Inf. Dis. (USA)*. 20(12):2155-2157.
34. POULSEN, K.F.; FAITH, N.G.; STEINBERG, H.; CZUPRYNSKI, C.J. 2011. Pregnancy reduce the genetic resistance of C57BC/b mice to *Listeria monocytogenes* infection by intragastric inoculation. *Microbial Pathogenesis (USA)* 50:360-366.
 35. RAYAMAGHI, M.; HUMANN, J.; PENHEITER, K.; ANDREASEN, K.; LENZ L. 2010. The induction of IFN- $\alpha\beta$ enables *Listeria monocytogenes* suppress macrophage activation by IFN- γ . *J. Exp. Med. (USA)*. 207(2):327-337.
 36. SÁNCHEZ, E.; PARDO, R.; DUQUE, A.; PALOMINO, S.; REYES, E. 1992. Listeriosis del sistema nervioso central. Formas meníngeas agudas supurativas y romboencefálica. *Acta Neurol. (Colombia)*. (3):165-168.
 37. SCHALM, O.; NORDLANDER, D. 1957. Experiments and observations leading to the development of the California Mastitis Test. *J. Am. Vet. Med. Assoc. (USA)*. 130:189-204.
 38. SIERRA, S.C.; POUTOU, R.A.; CARRASCAL, A.K.; TORRES, K.J.; MERCADO, M. 2005. Validación de PCR para detección de *Listeria monocytogenes* en quesos frescos. *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 7(2):53-65.
 39. TACHIBANA, M.; HASHIDO, M.; NISHIDA, T.; SHIMIZU, T.; WATARAI, M. 2011. Protective role of heme Oxygenase-1 in *Listeria monocytogenes*-induced abortion. *PLoS ONE* 6(9):e25046.doi:10.1371/journal.pone.002546.
 40. TIENUNGOON, S.; RATOWSKY, D.; MCMEEKEN, T.; ROSS, T. 2000. Growth limits of *Listeria monocytogenes* as a function of temperature, pH. NaCl and lactic acid. *Appl. Environm. Microbiol. (USA)* 66(4):709-772.
 41. TORRES, K.; SIERRA, S.; POUTOU, R.; CARRASCAL, A.; MERCADO, M. 2005. Patogenesis de *Listeria monocytogenes*. Microorganismo zoonótico emergente. *Rev. MVZ-Córdoba (Colombia)*. 10(1):511-543.
 42. TZORA, A.; FTHENAKIS, G.C.; LINDE, K. 1998. The effects of inoculation of *Listeria monocytogenes* into the ovine mammary gland. *Vet. Microbiol. (USA)* 59:193-202.
 43. VANEGAS, L.M.C.; MARTINEZ, L.A.J.; BOTINA, B.L. 2007. Detección por PCR de *Listeria monocytogenes* en productos cárnicos distribuidos en Bogotá. *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 9(2):149-156.
 44. VÁSQUEZ-BOLAND, J.; 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. (USA)* 14(3):584-640.
 45. VÁSQUEZ-BOLAND, J.A.; DOMÍNGUEZ, L.; BLANCO, M.; ROCOURT, J.; FERNANDEZ-GARAIZABAL, J.M.; GUTIÉRREZ, C.B.; TASCÓN, R.I.; RODRÍGUEZ-FERRI, E.F. 1992. Epidemiological investigations of a silage associated epizootic of ovine listeric encephalitis using a new *Listeria*-selective enumeration medium and phage typing. *Am. J. Vet. Res. (USA)*. 3:368-371.
 46. VILLAMIL, D.; GALLEGO, M.M.I.; TORRES, O.A.; RAMÍRES, M.F. 2007. *Listeria monocytogenes* en canales de bovinos cebú en una planta de sacrificio de la Sabana de Bogotá (Colombia). *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 10(1):93-101.
 47. WINTER, P.; SCHILCHER, F.; BAGO, Z.; SCHOEDER, D.; EGERBACHER, M.; BAUMGARTNER, W.; WAGNER, M. 2004. Clinical and histopathological aspects of naturally occurring mastitis caused by *Listeria monocytogenes* in cattle and ewes. *J. Vet. Med. B. Infect. Dis. Vet. Public Health. (USA)* 51(4):176-179.

Recibido: Diciembre 2 de 2014

Aceptado: Noviembre 12 de 2015

Cómo citar:

Gallego, M.I.; Azumendi, J.L.; Salazar, A.F.; Gallego, C. 2015. Influencia de la Listeriosis en la fertilidad y presentación de mastitis subclínica en un conglomerado lechero de la sabana de Bogotá. Colombia. *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 18(2): 409-415.