

QUERATOCONJUNTIVITIS INFECCIOSA BOVINA:
CARACTERIZACION SEROLOGICA DE CEPAS DE
MORAXELLA BOVIS ADHERENTES AISLADAS EN EL URUGUAY

A. H. Cobo*
G. Leániz*
C. Gil Turnes**

RESUMEN

Se estudiaron las relaciones antigénicas de ocho cepas - fimbriadas de Moraxella bovis aisladas de brotes de Queratoconjuntivitis Bovina Infecciosa ocurridos en tres -- departamentos de la R.O. del Uruguay, con diez sueros antifimbria producidos con cepas aisladas del Uruguay, Brasil y Canadá. Siete cepas estudiadas reaccionaron con anticuerpos antifimbria de uno o mas sueros. Se produjeron bandas de identidad entre cinco cepas. Se comprobó que algunos cepas poseen constitución antigénica mas compleja que otras. Se discute la importancia de estas comprobaciones en la inmunoprofilaxia de la enfermedad.

INTRODUCCION:

Moraxella bovis es hoy reconocida como el principal agente etiológico de la Queratoconjuntivitis Infecciosa Bovina (Q.I.B.) (Baptista, 1979).

Ha sido comprobado la presencia de adhesinas en la superficie de M.bovis, que le confieren capacidad de adherencia y actuan como factor de patogenicidad. Las adhesinas son también responsables por la capacidad de autoaglutinación y hemoaglutinación que presentan cepas patogénicas, (Gil-Turnes, 1983).

Se ha demostrado, también, la existencia de diferencias serológicas entre cepas de M.bovis (Araujo, 1980). Y que las cepas recuperadas de un mismo animal varían serológicamente en diferentes colectas, (Albuquerque, 1982).

* Departamento Técnico Laboratorio Santa Elena S.A., Uruguay.

** Faculdade de Veterinaria, Univ. Fed. de Pelotas, Pelotas RS, Brasil

M. bovis fue aislada por primera vez en el Uruguay de casos de Q.B.I. por Quiñones y col. (1977).

El objetivo del presente trabajo fue determinar las características serológicas de las adhesinas de cepas de M. bovis aisladas de brotes de Q.B.I. en Uruguay.

MATERIALES Y METODOS:

Materiales para recolección de muestras a campo:

Se usaron hisopos estériles y placas de agar triptosa (*) sangre al 10% (de origen ovino).

Recolección de muestras a campo:

Se colectaron muestras de secreción conjuntival, del saco conjuntival inferior de animales enfermos en fase aguda de la enfermedad que no habían recibido tratamiento previo alguno, con el hisopo estéril.

Se sembró con el hisopo un tercio de la placa de cultivo.

Se identificaron las placas y se envolvieron en bolsitas de polietileno o papel, identificándose al animal de donde procedía la muestra, y agregando datos clínicos y epidemiológicos del brote en cuestión.

Se enviaron las muestras en refrigeración (de 2 a 3°C)

Identificación de las muestras:

Una vez en el laboratorio, se siembran por agotamiento las placas remitidas, incubándolas a 37°C por 40 horas.

Colonias hemolíticas, de borde entero, traslúcidas, de cocobacilos o diplococos Gram negativos, oxidasa positivas, catalasa negativas o positiva, no reductoras de nitratos a nitritos, no oxidadoras de lactosa, maltosa, ni sacarosa, no productoras de ácido sulfhídrico, inmóviles e IMFOL negativas en medio SIM(*), que hidrolizan la gelatina, fueron clasificadas como Moraxella bovis (Fraser & Gilmour, 1979).

Para la comprobación de la presencia de adhesinas se utilizaron las técnicas de autoaglutinación en solución 0,15 M de NaCl y hemoaglutinación con hematíes de ovino en suspensión al 0,5%. (Gil-Turnes, 1983).

Para la caracterización serológica de las cepas se utilizó la técnica de inmunodifusión doble en placas de agar noble (DIFCO) al 1%. (Gil-Turnes & Araujo, 1982) se utilizaron diez sueros producidos en conejo contra cepas adherentes de M. bovis aisladas de animales con Q.B.I. en Brasil, Canadá y Uruguay. La identificación de los sueros se comunica en el CUADRO I.

RESULTADOS:

Caracterización bioquímica:

De 52 muestras aisladas de 12 brotes de Q.I.B., 11 fueron clasificadas como M. bovis adherentes, 6 como M. bovis no adherentes, una como Branhamella catharralis y otra como Proteus spp.

Procedencia de las muestras de M. bovis aisladas:

De 11 muestras clasificadas como M. bovis adherentes, 3 pertenecieron al Dept. de Florida, 6 al Dept. de San José y 2 al Dept. de Salto. (CUADRO II).

Caracterización serológica:

Todas las cepas de M. bovis estudiadas reaccionaron con uno o mas de los sueros utilizados, produciendo una o dos bandas de precipitación. La cepa 5 reaccionó solo con 3 sueros, no produciendo bandas de precipitación con anticuerpos de - fimbrias. Las cepas 1,4 y 6 reaccionaron con 4 sueros, las cepas 2,3 y 7 concinco, y la 8 con ocho. Algunas cepas reaccionaron exclusivamente con los anticuerpos antisoma (Ag.O) de los sueros, en cuanto otros reaccionaron también con anticuerpos anti-fimbria. (CUADRO III).

DISCUSION:

Habiendo sido comprobada la participación de fimbrias de M. bovis en la patogenicidad de la bacteria (Gil-Turnes, 1983) y su importancia en la inmunidad inducida por vacuna (Gil-Turnes y col., 1982), fue necesario estudiar la posible existencia de diferencias antigénicas entre fimbrias de cepas aisladas de diferentes brotes.

Gil Turnes & Araújo (1982) estudiaron los antígenos somáticos de doce cepas de M. bovis, determinando que existían por lo menos seis serogrupos, y que estos presentaban un cierto padrón de distribución dentro del Estado de Río -- Grande do Sul, Brasil.

Existen muy pocos estudios sobre los antígenos de fimbria de M. bovis. Sandhu & White (1976) estudiaron mediante la técnica de inmunodifusión doble los antígenos de fimbria de las cepas FLA-64 y IBH-712 L de M. Bovis, concluyendo - que ambos eran idénticos. Saldanha (1983) estudió seis cepas fimbriadas de -- esta bacteria, aisladas de brotes ocurridos en R.G.do Sul, Brasil, también -- por inmunodifusión doble, comprobando la producción de bandas de identidad, lo que demostraría la existencia de homogeneidad de los antígenos de fimbria de esta bacteria.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo aportan nuevas informaciones al tema. Como se desprende de CUADRO III, existen por lo menos cinco cepas } (1,3,4,6,8) que tienen antígenos comunes (bandas de identidad) entre sí, y -- con cuatro cepas aisladas en el Brasil y una en Canadá. Dos de estas cepas - fueron aisladas en Florida, dos en San José y la restante en Salto, lo que - dificulta, con la información disponible, proponer un criterio de distribu--

bución geográfica de M.bovis fimbriada en Uruguay. Es de destacarse, sin embargo, que tres sueros que reaccionaron con estas cepas (JUR, ML 1, ML 2) fueron producidos con cepas aisladas de brotes situados en la frontera con el Uruguay (Santa Vitória do Palmar y Dom Pedrito).

Los únicos sueros producidos con cepas aisladas en el Uruguay testados en este trabajo (U3 y U11) reaccionaron exclusivamente con la cepa 8, aislada en Florida, departamento del cual se aislaron también las cepas utilizadas en la producción de los sueros.

Otra información relevante obtenida en el presente trabajo es que existen cepas cuyas fimbrias poseen una complejidad antigénica mayor que otras, similarmente a lo que fuera demostrado para los antígenos somáticos de la bacteria (Gil-Turnes & Araújo, 1982). La cepa 8 reaccionó con ocho de los sueros estudiados, en tanto que la 5 no reaccionó con ninguno de ellos.

La utilización de técnicas más sensibles para detectar diferencias antigénicas permitirá profundizar el conocimiento de los antígenos de fimbria de esta bacteria. Existen evidencias que la técnica de inhibición de la hemoaglutinación permite diferenciar antígenos que producen bandas de identidad en la inmunodifusión, y que pertenecerían a las fimbrias mayores (senior), de antígenos detectables por métodos más sensibles, pertenecientes a fimbrias menores (Gil-Turnes, 1983 b).

Considerando el número limitado de cepas estudiadas, es necesario continuar el estudio de las relaciones antigénicas de fimbrias de M.bovis para utilizar en vacunas cepas con la máxima cobertura inmunológica.

AGRADECIMIENTOS:

- A la colaboración técnica de la Bioq., Gladis Aver Bretanha
- A la Dra. Iara M.B.Albuquerque

BOVINE INFECTIOUS KERATOCONJUNCTIVITIS: SEROLOGIE CHARACTERIZATION OF ADHERENT STRAINS OF MORAXELLA BOVIS ISOLATED IN URUGUAY.

The antigenic relationship of the fimbriae of eight Moraxella bovis strains isolated from cattle suffering from Infectious Keratoconjunctivitis in Uruguay, was studied. Ten antifimbriae sera produced with strains isolated in Uruguay, Brazil and Canada, were used to perform the antigenic analysis by the double immunodiffusion technique. Seven strains reacted with one or more sera. Five strains produced identity bands, demonstrating the presence of common antigens. Some strains are antigenically more complex than others. The significance of these findings in the immunoprophylaxis of the disease is discussed.

BIBLIOGRAFIA:

- ALBUQUERQUE IMB. Estudo sorológico de cepas de Moraxella bovis isoladas de um surto de Queratoconjuntivitis Infecciosa Bovina. Tese MSc., Faculdade de Veterinaria, Universidade Federal de Pelotas, RS, Brasil, 1982, 35 p.-
- ARAUJO FL. Caracterizacao sorológica de cepas de Moraxella bovis. Tese MSc., Faculdade de Veterinaria, Universidade Federal de Pelotas, RS, Brasil, 1980, 42p.-
- BAPTISTA P. JMP. Infectious bovine keratoconjuntivitis: a review. Br.Vet.J. 135:225-242, 1979.
- FRASER J.GILMOUR NJL. The identification of Moraxella bovis and Neisseria ovis from the eyes of cattle and sheep. Res Vet Sci. 27: 127-128, 1979
- GIL TURNES C. Hemagglutination, autoagglutination and pathogenicity of Moraxella bovis strains. Can J Comp Med 1983; 43:503-504.
- GIL TURNES C. Contribuicao ao estudo das adesinas de Moraxella bovis. Tese MSc., Faculdade de Veterinaria, Universidade Federal de Pelotas, RS, Brasil, 1983 b, 43 p.-
- GIL TURNES C, ARAUJO FL. Serological characterization of strains of Moraxella bovis using double immunodiffusion. Can J Comp Med 1982, 46: 165-168.-
- GIL TURNES C, REYES JCS, ARAUJO FL, SOUZA RSM. Comparacao da protecao induzida por vacinas de Moraxella bovis com e sem antigenos de pili. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINARIA, 18, Balneario Camboriú SC. 1982, p 44.-
- QUINONES CA, RIVAS LA, VIDAL TR, SARGAVIA LA, RIVERO LR. Queratoconjuntivitis infecciosa bovina causada por Moraxella bovis. Primera comprobación en el Uruguay. In: Anales Facultad de Veterinaria Montevideo, 14: 77-90, 1977.
- SALDANHA MR. Estudo comparativo das técnicas de imunofluorescência indirecta e imunodifusão dupla para a caracterizacao sorológica de isolamentos de Moraxella bovis. Tese MSc., Facultad de Veterinaria, Universidade Federal de Pelotas, RS, Brasil, 1983, 36p.-
- SANDHU TS, WHITE FH. Extracellular antigens of Moraxella bovis. Am J Vet Res. 37:1119-1122, 1976.

CUADRO I. Identificación de 10 sueros de M.bovis utilizados para caracterización serológica

Sueros	Origen de la cepa	Año de producción
B 1429	Pelotas, RS, Brasil	1982
I OD	Ontario, Canadá	1982
JUR	Sta.Vitória, RS, Brasil	1982
EL 1	Don Pedrito, RS, Brasil	1982
EL 2	Don Pedrito, RS, Brasil	1982
JUR C	Río Grande, RS, Brasil	1983
U 3	Florida, Uruguay	1983
U 11	Florida, Uruguay	1983
Ar 3	Sta.Vitória, RS, Brasil	1983
Ar 11	Sta.Vitória, RS, Brasil	1983

CUADRO II. Procedencia, identificación y características de los brotes de las sues tras de Moraxella bovis,

Cepa N°	Departamento	Edad	Raza	N°m. (*)	N°E. (**)
1	Florida	1 1/2 año	Hereford	15	63
2	Salto	1 año	Hereford	7	152
3	San José	0	0	13	112
4	Salto	1 año	Hereford	7	153
5	San José	0	0	13	112
6	San José	0	0	13	112
7	San José	0	0	13	112
8	Florida	3 años	Hereford	16	41

(*) N°de muestras remitidas de animales enfermos

(**) N°de animales del brote

CUADRO III: Caracterización de cepas de M.bovis con sueros antifimbria

Sueros	CEPAS							
	1	2	3	4	5	6	7	8
B 1429	of	0	of	of	o	of	0	of
1 OD	of	of	o	0	-	0	ff	00f
jur	f	-	-	-	-	f	-	ff
ml 1	of	0	of	of	0	of	o	of
ml 2	-	0	of	0	0	of	0	of
JUR C	f	-	f	-	-	-	f	f
U 3	-	-	-	-	-	-	-	ff
U 11	-	-	-	-	-	-	-	f
AR 3	-	f	-	-	-	-	-	-
Ar 11	-	-	-	-	-	-	-	-

0: banda de precipitación con anticuerpos antismáticos.

f: banda de precipitación con anticuerpos antifimbria.

*: cada letra representa una banda de precipitación.