DIVERSIDAD DE MORAXELLA SPP. Y QUERATOCONJUNTIVITIS INFECCIOSA BOVINA EN URUGUAY

Vanessa Sosa y Pablo Zunino*. 2008. Laboratorios Santa Elena.

*Depto. de Microbiología, Instituto Clemente Estable.

www.produccion-animal.com.ar

Volver a: Patologías de los ojos

INTRODUCCIÓN

La queratoconjuntivitis infecciosa bovina (QIB) es una severa enfermedad ocular que afecta a los bovinos, cuyo principal agente etiológico es la bacteria Gram negativa Moraxella bovis. Esta enfermedad está ampliamente distribuida en diversas regiones de distintos continentes y constituye un serio problema sanitario que afecta al sector ganadero (Brown et al., 1998).

La principal medida de prevención de la QIB, como en el caso de otras enfermedades infecciosas animales, es la vacunación. Sin embargo, el caso de Moraxella spp. presenta particularidades que hacen que el desarrollo y producción de vacunas efectivas sea una tarea en permanente revisión.

Como ya se ha comentado en notas anteriores, M. bovis posee una serie de atributos importantes para la colonización ocular y desarrollo de la enfermedad. Entre ellos se destacan los pili (o fimbrias), organelos de naturaleza proteica que protruyen hacia afuera de la superficie bacteriana y que son responsables de la adhesión a las células epiteliales de la córnea y posterior progreso de la enfermedad. Esto convierte a estas estructuras en los blancos predilectos sobre los cuales basar la formulación de las vacunas, buscando inducir una respuesta inmune en el huésped que interfiera con la adhesión inicial de la bacteria a las células oculares y así inhibir el desarrollo de la enfermedad.

Sin embargo, los pili presentan una significativa variabilidad antigénica dependiente estrechamente de la cepa, es decir que la respuesta inmune capaz de proteger al animal estará fuertemente relacionada con la o las cepas responsables de los brotes (Atwell et al., 1994). En consecuencia, el análisis de la diversidad de las cepas de M. bovis es un requisito esencial para el diseño de un programa inmunoprofiláctico exitoso basado en vacunas efectivas ya que la protección está estrechamente relacionada con las cepas responsables de los brotes exigiendo una continua caracterización bacteriana.

A pesar de que la QIB causa serias pérdidas económicas en Uruguay, existen pocos datos disponibles acerca de la diversidad y distribución de cepas de M. bovis. Por otra parte, estas situaciones varían con el correr del tiempo por lo que es necesario realizar estos tipos de monitoreo en forma periódica.

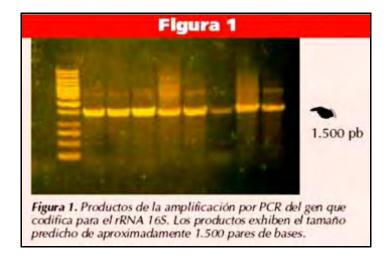
Actualmente, en el Departamento de Microbiología del Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, y en colaboración con Laboratorios Santa Elena, se está llevando a cabo un estudio de diversidad de cepas responsables de brotes de QIB a nivel nacional. Los resultados obtenidos en este estudio permitirán analizar la diversidad intraespecífica de M. bovis, comparar las cepas circulantes con aquellas empleadas en la elaboración de vacunas y contribuir de esta forma con la producción de estrategias de prevención eficaces para el control de eventuales brotes de la enfermedad. Otro objetivo del estudio es evaluar la compleja flora bacteriana asociada a casos de QIB en bovinos.

RESULTADOS

Hasta el momento se generó una amplia colección de aislamientos obtenidos de brotes de QIB que fueron colectados en diferentes años (1983-2007) provenientes de diversas zonas del país. Los diversos aislamientos se identificaron y caracterizaron por medio de diversas aproximaciones clásicas y moleculares.

Inicialmente se realizó una caracterización fenotípica macroscópica (forma, borde, color y tamaño de la colonia) y microscópica (características tintoriales, forma bacteriana y patrón de agrupación celular). Además, se efectuó la caracterización bioquímica que incluyó una amplia variedad de pruebas incluyendo movilidad bacteriana, producción de oxidasa, catalasa, ureasa, gelatinasa, desoxirribonucleasa y hemolisinas, ensayos de óxido- fermentación (OF), producción de ácido o ácido y gas a partir de glucosa, sacarosa y lactosa (TSI), diseminación del triptofano y fenilalanina y capacidad de crecer en diferentes medios de cultivo. La caracterización fenotípica y bioquímica demostró que la mayoría de los aislamientos en estudio presentaban en general las características esperadas inicialmente para Moraxella ssp.

Por otro lado, la confirmación de la identidad bacteriana se llevó a cabo determinando la secuencia nucleotídica de los genes que codifican para el RNA ribosomal (rRNA) 16S así como regiones de los genes que codifican para el rRNA 23S y el espaciador intergénico (ITS), previamente amplificados por PCR (Figura 1).



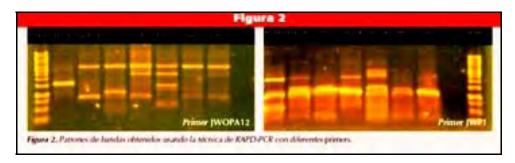
Los resultados de las secuencias permitieron corroborar que la mayoría de las cepas correspondían al género Moraxella. Curiosamente dentro del grupo de cepas aisladas de casos clínicos pertenecientes al género, además de M. bovis se determinó la presencia de una especie muy cercana y recientemente propuesta como tal denominada Moraxella bovoculi (Angelos et al., 2007).

El análisis de similitud de las secuencias de otras cepas aisladas indicó que se trata de otros géneros o especies bacterianas que conformarían la flora normal asociada a la QIB. Entre ellos se puede destacar la presencia, entre otros, de Acinetobacter spp., Stretptococcus spp., Cellulomonas spp., Staphylococcus spp., Pasteurella multocida y Microbacterium spp.

Una pregunta adicional a resolver es si esta flora asociada corresponde a una colonización secundaria del ojo afectado o si desempeña algún rol en la patogénesis de la enfermedad.

Finalmente, también está en curso el estudio de diversidad genética de las cepas mediante distintas técnicas moleculares. Estas técnicas, basadas en PCR, permiten determinar distintos genotipos correspondientes incluso a cepas pertenecientes a una misma especie. Inicialmente se están caracterizando las cepas por medio de RAPD-PCR (Randomly Amplified Polymorphic DNA) utilizando diferentes primers.

Por medio de esta técnica de evaluación de diversidad genética se obtuvieron diversos patrones de bandas correspondientes a cepas de distintos orígenes geográficos y fechas de aislamiento (Figura 2). Se pudo determinar una importante diversidad genética entre la colección de aislamientos a través de la presencia de diversos patrones de bandas incluso en un mismo brote de QIB.



Estos resultados indican que en principio existe una elevada heterogeneidad genética entre las cepas de Moraxella spp. causantes de QIB circulantes en nuestro país lo que ratifica la necesidad de realizar monitoreos para evaluar la situación en forma periódica y optimizar las estrategias de elaboración de vacunas e inmunización.

Actualmente se están realizando estudios adicionales con el objetivo de analizar la diversidad de las cepas asociadas a la QIB en nuestro país mediante el empleo de otras técnicas de biología molecular que permitirán ampliar los resultados obtenidos hasta el momento.

REFERENCIAS

Angelos, J.A., Spinks, P.Q., Ball, L.M., George, L.W. 2007. Moraxella bovoculi sp. nov., isolated from calves with infectious bovine keratoconjunctivitisInt. J. Syst. Evol. Microbiol. 57: 789-795.

Atwell, J.L., Tennent J.M, Lepper A.W.D., Elleman T.C. 1994. Characterization of Pilin Genes from Seven Serologically Defined Prototype Strains of Moraxella bovis. J. Bacteriol. 176:4875-4882.

Brown, M.H., Brightman, A.H., Fenwick, B.W., Rider, M.A. 1998. Infectious bovine keratoconjunctivitis: a review. Vet. Intern. Med. 12(4):259-66.

Departamento de Microbiología, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Avenida Italia 3318, Montevideo, Uruguay.

Volver a: Patologías de los ojos