

inventio

La génesis de la cultura universitaria en Morelos

Año 16, núm. 39, julio-octubre 2020

ISSN: 2007-1760 (impreso) 2448-9026 (digital) | DOI: [10.30973/inventio/2020.16.39/3](https://doi.org/10.30973/inventio/2020.16.39/3)

ARTÍCULOS

Explorando el genoma de *Anaplasma marginale* para el mejoramiento de la salud animal

Itzel Amaro Estrada

ORCID: [0000-0002-6386-9526/amaro.itzel@inifap.gob.mx](https://orcid.org/0000-0002-6386-9526/amaro.itzel@inifap.gob.mx)

Investigadora, Unidad de Anaplasmosis, Centro Nacional en Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad (CENID-SAI), Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP)

David Bustamante García

bgdavid2309@gmail.com

Investigador, Unidad de Anaplasmosis, CENID-SAI, INIFAP

Rosa Estela Quiroz Castañeda

ORCID: [0000-0002-4481-8360/requiroz79@yahoo.com.mx](https://orcid.org/0000-0002-4481-8360/requiroz79@yahoo.com.mx)

Investigadora Titular C, Unidad de Anaplasmosis, CENID-SAI, INIFAP

RESUMEN

El presente artículo tiene como objetivo describir a la bacteria *Anaplasma marginale* y resaltar cuáles son las repercusiones que se pueden observar en la producción de ganado bovino. Entre las enfermedades que trae como consecuencia se encuentran la anemia y la ictericia, así como la disminución en la producción de leche, abortos y, en casos extremos, la muerte. Esta enfermedad es transmitida por las garrapatas *Rhipicephalus microplus*. En México no se cuenta con un método eficaz para eliminar esta bacteria. Es por eso que se busca implementar tecnologías para prevenir su desarrollo y así evitar la pérdida de ganado bovino. En este artículo se explican las principales características de esta bacteria, empezando por su diversidad genética y estudiando su genoma para la elaboración de vacunas hechas de diferentes proteínas, que se adapten para alcanzar el objetivo de erradicar la bacteria.

PALABRAS CLAVE

genomas, anaplasmosis bovina, vacunas, epítomos

Universidad Autónoma del Estado de Morelos / Secretaría Académica
Dirección de Publicaciones y Divulgación
inventio.uaem.mx, inventio@uaem.mx

En México, las actividades pecuarias son una fuente económica importante, pues el país se encuentra en el décimo lugar en exportación mundial de carne (CIMA, 2018). Sin embargo, la salud animal puede verse comprometida por enfermedades como la anaplasmosis bovina, causada por la bacteria *Anaplasma marginale*, la cual afecta la producción de ganado bovino.

Los signos clínicos de esta enfermedad incluyen anemia, ictericia, disminución de la producción de leche, abortos, y en casos severos, la muerte, lo que causa pérdidas económicas importantes que afectan una gran parte de la economía mundial (Corona et al., 2005). Debido a esto, surge la necesidad de desarrollar tecnologías que contribuyan a generar nuevas alternativas de prevención y control de la anaplasmosis bovina, ya que en la actualidad no se cuenta en el país con un método eficaz que permita la erradicación de la enfermedad.

Características de *Anaplasma marginale*

La bacteria *Anaplasma marginale* tiene forma cocoide, de 0.5-0.8 μm de diámetro. Invade los glóbulos rojos y se replica dentro de éstos hasta formar ocho organismos individuales dentro de una vacuola simple para, posteriormente, salir de forma no lítica y así infectar eritrocitos cercanos a ellos y continuar con la infección (Brayton, 2012). Una vez que entra al bovino, inicia su multiplicación, y entre los quince y 45 días siguientes, los animales no muestran signos de la enfermedad de anaplasmosis (Rodríguez Camarillo et al., 2003).

A. marginale es transmitida por las garrapatas *Rhipicephalus microplus*, que son el vector de transmisión más importante en regiones tropicales y subtropicales del mundo. Las medidas de control contra esta enfermedad se ven afectadas por la amplia diversidad genética de las cepas de una región geográfica a otra, e inclusive en una misma región o en un mismo animal (Aubry y Geale, 2005).

El genoma de la cepa *A. marginale* St. Maries fue secuenciado en 2005. Contiene 1 197 687 pb, con un porcentaje de GC del 49% (Brayton et al., 2005). Como resultado del análisis genómico, se encontró que la superficie de *A. marginale* está recubierta principalmente de proteínas que pertenecen a dos familias de proteínas de membrana externa. En estas familias se incluyen proteínas de superficie de los cuerpos iniciales de *A. marginale* que son codificados por seis genes. Estas proteínas constituyen blancos de la respuesta inmune del hospedero contra el patógeno, y los genes que las codifican son: *mSP1* (*mSP1a α* , *mSP1a β*), *mSP2*, *mSP3*, *mSP4* y *mSP5*.

Un inconveniente de estas proteínas para su uso como blanco de vacunas es su diversidad génica entre cepas (Corona et al., 2005). A pesar de ello, existen aún múltiples proteínas que no han sido analizadas dentro de este genoma y que podrían ser importantes para la prevención de la anaplasmosis (Kocan et al., 2003).

***A. marginale* y su diversidad genética**

La diversidad genética de *A. marginale* se evidencia con base en algunas de las proteínas de superficie, como MSP1a, MSP2, MSP3 y MSP4; sin embargo, estas proteínas no se han utilizado para la prevención de la enfermedad, es decir, como vacunas, ya que en cada cepa de *A. marginale* presentan una gran variabilidad, lo que complica el desarrollo de una vacuna. No obstante, existen proteínas como MSP5, que, debido al alto grado de conservación observada entre cepas de *A. marginale*, es utilizada para el diagnóstico de la anaplasmosis y la detección molecular del patógeno (Quiroz-Castañeda et al., 2016).

La identificación de nuevas proteínas para el desarrollo de una estrategia que permita prevenir la anaplasmosis es fundamental. Una de ellas es el estudio del resto de las proteínas que se encuentran aún sin analizar en el genoma de *A. marginale*.

Explorando el genoma de *A. marginale*

Considerando que las actividades pecuarias son una fuente económica importante en México, existe la necesidad de generar estrategias enfocadas en el desarrollo de vacunas que ayuden a prevenir la anaplasmosis bovina. En la Unidad de Anaplasmosis del Centro Nacional en Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad (CENID-SAI) se cuenta con el mayor reservorio de aislados y cepas de *A. marginale* y recientemente se reportaron los genomas de este patógeno provenientes de tres cepas mexicanas (Quiroz-Castañeda et al., 2018; Martínez Ocampo et al., 2019).

Con la idea de identificar otras proteínas que tengan potencial como candidatas para inducir una respuesta inmune que proteja al ganado bovino, se ha analizado con herramientas bioinformáticas una colección de proteínas del genoma de *A. marginale* localizadas en su mayoría en la membrana citoplasmática (Naranjo et al., 2006). Es importante mencionar que su localización en la membrana amplía las posibilidades de éxito en el reconocimiento de los anticuerpos, debido a su exposición directa con el exterior de la bacteria (Quiroz-Castañeda et al., 2016).

En este análisis se ha identificado una proteína desacetilasa de quitina, la cual se localiza en el periplasma y está relacionada con los procesos biológicos de defensa y los sistemas de ataque (Kocan et al., 2010). Trece de las proteínas estudiadas se encuentran en la membrana plasmática, dentro de las que destaca una proteína de tipo hemolisina, que causa la lisis de los eritrocitos, leucocitos y plaquetas mediante la producción de poros (Del Valle, 2011).

Las proteínas de opacidad, también denominadas proteínas Opa, intervienen en la unión de las células epiteliales y las células fagocíticas, y cumplen una función importante en la señalización intracelular (Murray et al., 2017), en tanto que la proteína de división celular FtsW es esencial para reunir otras proteínas que producen una nueva pared celular entre las células que se dividen (Schaffner Barbero, 2010). Destacan también las proteínas

con resistencia a biciclomicina, un antimicrobiano importante en el sector veterinario (Anadon y Tamargo, 2007).

La metaloproteasa de zinc asociada a la membrana plasmática está relacionada con la proliferación y diferenciación celular, la migración celular y la evasión de la respuesta inmune (González et al., 2009).

Como se observa, la función de las proteínas mencionadas es diversa. Aún así, son proteínas que se encuentran altamente conservadas entre los genomas de cepas mexicanas de *A. marginale*, lo cual favorecería su uso como vacunas a nivel nacional, ya que no habría el impedimento de la diversidad genética, como sucede con las proteínas MSPs.

Un punto importante a destacar en el análisis de los genomas es la utilización de los recursos bioinformáticos que se tienen disponibles actualmente. En este caso, primero se realizó un análisis de los genomas en el servidor RAST (Rapid Annotation using Subsystem Technology), en el cual se hace una anotación completa o casi completa del genoma de interés y se clasifica la información de acuerdo con subsistemas, es decir, con sus aspectos funcionales. Dentro de estos subsistemas se incluyen las siguientes funciones: *virulence, disease and defense; membrane transport; protein metabolism; stress response; cell wall and capsule*, entre muchas otras.

A partir de estos datos se seleccionan aquellas proteínas que mejor se adapten al objetivo que se pretende alcanzar. Para el caso particular del desarrollo de vacunas, el enfoque se dirigió hacia proteínas localizadas en la membrana plasmática que presenten una región hacia el exterior de la célula. El siguiente paso después de la identificación de estas proteínas se enfoca en reconocer dentro de la secuencia proteica aquellas secuencias de epítomos tipo B, que serían identificados por anticuerpos y que podrían tener una respuesta protectora en el ganado bovino. Actualmente se está trabajando en el diseño de arreglos de péptidos que contengan los epítomos tipo B que hemos identificado en estas proteínas, para evaluar su potencial antigénico e inmunogénico *in vitro*. De resultar funcionales en estas condiciones, los péptidos que contienen los epítomos podrían ser evaluados experimentalmente en animales.

El estudio de estas proteínas abre el panorama para la prevención de la anaplasmosis; sin embargo, el reto es elucidar los epítomos tipo B funcionales que induzcan la respuesta inmune en el animal y tener además una respuesta de protección efectiva.

La secuenciación de los genomas de *A. marginale* de cepas mexicanas que se ha reportado por primera vez representa una oportunidad para profundizar en el estudio del patógeno causante de la anaplasmosis bovina en México. Una vez conocida su información genómica se podrá tener un panorama más amplio sobre una gran diversidad de procesos que lleva a cabo esta bacteria. Sin duda, éste es el punto de partida para la posterior realización de análisis bioinformáticos de mayor profundidad que darán respuesta a interrogantes hasta ahora sin resolver.

Finalmente, la contribución de este trabajo impactará en el desarrollo y la generación de tecnologías propias para atender problemas del ganado mexicano. Especialmente, el enfoque en el desarrollo de vacunas es una urgente necesidad que se debe atender, más aún si ya se cuenta con la secuenciación de genomas de cepas mexicanas de *A. marginale*.

Referencias

- Anadon Navarro, A. R. y Tamargo Menendez, J. (2007). *Antibióticos de uso veterinario y su relación con la seguridad alimentaria y salud pública*. Instituto de España, Real Academia de Ciencias Veterinarias, 101-105. <http://racve.es/files/2013/03/2007-02-10-Discursos-ingreso-D.-Arturo-Ram%C3%B3n-Anad%C3%B3n-Navarro.pdf>
- Aubry, P. y Geale, D. W. (2005). A review of bovine anaplasmosis. *Transboundary and Emerging Diseases*, 3 (102), 844-849. <https://doi.org/10.1111/j.1865-1682.2010.01173.x>
- Brayton, A. K. (2012). Transmisión de *Anaplasma marginale* por garrapatas. *Rev Mex Cienc Pecu*, 7 (9), 41-50. <http://ref.scielo.org/rpy29q>
- Brayton, K. A., Kappmeyer, L., Herndon, D., Dark, M. J., Tibbals, D., Palmer, G. H., MCGuire, T. y Knowles, Jr, D. P. (2005). Complete genome sequencing of *Anaplasma marginale* reveals that the surface is skewed to two superfamilies of outer membrane proteins. *Proc Natl Acad Sci USA*, 3 (102), 844-849. <https://doi.org/10.1073/pnas.0406656102>
- Centro de Información de Mercados Agroalimentarios (2018). *Reporte de mercado de carne de bovino*, pp. 3-7, https://www.cima.aserca.gob.mx/work/models/cima/pdf/cadena/2018/Reporte_mercado_bovino_200618.pdf
- Corona, B., Rodríguez, M. y Martínez, S. (2005). Anaplasmosis bovina. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 6 (4), 1-27. <https://www.veterinaria.org/revista/redvet/no40405.html>
- Del Valle Leandro, J. (2011). *Producción de hemolisinas y concentración de antisueros específicos por congelación y descongelación sucesivas*. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, 152 (3-4), 672-691. <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/6107712.pdf>
- González Ávila, G., González, A., Delgado, J. y Gutiérrez González, L. H. (2009). Participación de las metaproteasas de matriz en la progresión del cáncer. *Rev Inst Nal Enf Resp Mex*, 22 (4), 328-336. <https://www.medigraphic.com/pdfs/iner/in-2009/in094i.pdf>
- Kocan, K., De la Fuente, J., Blouin, E., Coetzee, J. y Ewing, S. (2010). The natural history of *Anaplasma marginale*. *Veterinary Parasitology*, 167 (2-4) 95-107. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.09.012>
- Kocan, K., De la Fuente, J., Guglielmonem A. y Melendez, R. (2003). Antigens and alternatives for control of *Anaplasma marginale* infection in cattle antigens and alternatives for control of *Anaplasma marginale* infection in cattle. *Clinical Microbiology Reviews*, 16 (4), 698-712. <https://dx.doi.org/10.1128%2FCMR.16.4.698-712.2003>

- Martínez Ocampo, F., Quiroz-Castañeda, R. E., Estrada, I. A., Cobaxin Cárdenas, M., González, E. D. y Rodríguez Camarillo, S. (2019). Draft Genome Sequences of *Anaplasma marginale* Strains MEX-15-099-01 and MEX-31-096-01, Two Mexican Isolates with Different Degrees of Virulence. *Microbiology Resource Announcement*, 8 (45) eo1184-19. <https://doi.org/10.1128/mra.01184-19>
- Murray, P. R., Rosenthal, K. S. y Pfaller, M. S. (2017). *Microbiología médica*. Elsevier. <https://www.elsevier.com/books/microbiologia-medica/murray/978-84-9113-808-2>
- Naranjo, V., Ruiz-Fons, F., Hofle, U., Fernandez de Mera, I., Villanua, D., Almazan, C., Torina, A. Caracapp, S., Kocan, K., Gortazar, C. y De la Fuente, J. (2006). Molecular epidemiology of human and bovine anaplasmosis in southern Europe. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1078 (1), 95-99. <https://doi.org/10.1196/annals.1374.013>
- Schaffner Barbero, C. (2010). *Interaccion de la proteína de division celular FTsZ con nucleotidos e inhibidores. En busca de nuevos antibioticos* (tesis de doctorado). Universidad Complutense de Madrid, Madrid. <https://digital.csic.es/bitstream/10261/41231/1/Schaffner%20Barbero%20C%202010%20Tesis%20.pdf>
- Quiroz-Castañeda, R. E., Amaro-Estrada, I. y Rodríguez-Camarillo, S. D. (2016). *Anaplasma marginale* Diversity, Virulence, and Vaccine Landscape through a Genomics Approach, *BioMED Research International*, 10 (1155/2016/9032085), 1-18. <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2016/9032085/>
- Quiroz-Castañeda, R. E., Estrada, I. A., Martínez Ocampo, F., Rodríguez Camarillo, S., González, E. D., Cobaxin Cárdenas, M. y Preciado de la Torre, J. F. (2018). Draft Genome Sequence of *Anaplasma marginale* Strain Mex-01-001-01, a Mexican Strain That Causes Bovine Anaplasmosis. *Microbiology Resource Announcement*, 7 (16), 01101-18. <https://mra.asm.org/content/7/16/e01101-18>
- Rodríguez Camarillo, S. D., García Ortiz Ramon, M. A., Aboytes Torres, G. T. y Canton Alarcon, R. B. (2003). Inmunología e inmunoprofilaxis de la Anaplasmosis Bovina, *Ciencia Veterinaria*, 9 (4), 124-128. <https://www.fmvs.unam.mx/fmvz/cienciavet/revistas/CVvol9/CVv9cs.pdf>