



Año 15, número 35, marzo-junio 2019, pp. 51-54 ISSN: 2007-1760 (impreso), 2448-9026 (digital) DOI: 10.30973/inventio/2019.15.35/6

CIENCIA Y TECNOLOGÍA

Tecnología para la detección de patógenos en el cuidado de la salud animal

Rosa Estela Quiroz Castañeda / 0000-0002-1099-2440 / requiroz79@yahoo.com.mx Investigadora, Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP)

RESUMEN

México ocupa la octava posición mundial en la producción y el consumo de carne de bovino. La vigilancia de la salud animal es un factor importante para mantener un nivel competitivo internacional y satisfacer las necesidades de consumo en el ámbito nacional. La movilización del ganado y los factores como el transporte, la adaptación en los hatos y la presencia de transmisores de enfermedades pueden afectar el sistema inmune de los animales. Los avances que se han logrado en la detección e identificación de patógenos permitirán tener un mayor control de aquellos animales que sean portadores de algún microorganismo. En este artículo se presenta el panorama de tres patógenos que podrían afectar la salud del ganado bovino nacional. Se aporta información concerniente al desarrollo de técnicas moleculares de diagnóstico que permitirán tener un mayor y mejor control sobre la salud del ganado.

PALABRAS CLAVE

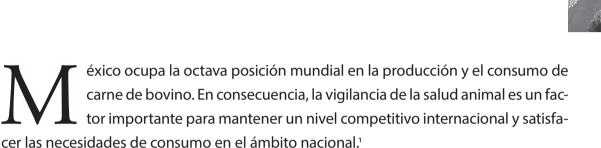
tecnología; patógenos; salud animal; ganado bovino; técnicas moleculares

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

CIENCIA Y TECNOLOGÍA

Tecnología para la detección de patógenos en el cuidado de la salud animal

Rosa Estela Quiroz Castañeda *



Sin embargo, la movilización del ganado en el país representa un reto para la propia salud animal, debido a que los factores como el transporte, la adaptación en los hatos y la presencia de insectos y artrópodos transmisores de enfermedades pueden afectar el sistema inmune de los animales.2 Actualmente, los programas de mejoramiento de la ganadería nacional enfrentan dificultades para su avance debido a la presencia de enfermedades transmitidas por diversos patógenos que afectan al ganado bovino. Por mencionar a algunas, se encuentran ciertas bacterias del orden Rickettsiales, como Anaplasma marginale, y del orden Mycoplasmatales, como Candidatus Mycoplasma haemobos³ y Mycoplasma wenyonii (también llamados micoplasmas hemotrópicos o hemoplasmas), recientemente identificados y reportados en México.4 Estos dos últimos han sido descritos como patógenos que podrían favorecer el desarrollo de enfermedades cuando se presentan solos o en conjunto con otras bacterias (coinfecciones).

Salud animal e importancia económica

Tanto A. marginale como ambos hemoplasmas son microorganismos que se asocian a los eritrocitos

¹ "Panorama Agroalimentario, carne de bovino 2017", Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura (FIRA), Dirección de Investigación y Evaluación Económica y Sectorial, 2017, pp. 3-7, https://bit.ly/2VFppow

² Sergio Rodríguez Camarillo, Miguel Angel García Ortiz, Rafael Jiménez Ocampo y Carlos Agustín Vega y Murguía, "Molecular epidemiology of bovine anaplasmosis with a particular focus in Mexico", Infection, Genetics and Evolution, vol. 9, núm. 6, 2009, pp. 1092-1101, DOI: 10.1016/j.meegid.2009.09.007

Fernando Martínez Ocampo, Sergio Rodríguez Camarillo, Itzel Amaro Estrada y Rosa Estela Quiroz-Castañeda, "Draft genome sequence of Candidatus Mycoplasma haemobos, a hemotropic mycoplasma identified in cattle in Mexico", Genome Announcement, vol. 25, núm. 4, 2016, p. 4, DOI: 10.1128/genomeA.00656-16

⁴ Rosa Estela Quiroz-Castañeda, Fernando Martínez Ocampo y Edgar Dantán González, "Draft genome sequence of Mycoplasma wenyonii, a second hemotropic Mycoplasma species identified in Mexican bovine cattle", Microbiology Resource Announcement, vol. 7, núm. 9, 2018, pp. e00875-18, DOI: 10.1128/MRA.00875-18

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



del animal, localizándose ya sea en su interior (*A. marginale*) o adheridos a ellos, como en el caso de los hemoplasmas. De cualquier manera, esta invasión desencadena una serie de signos clínicos que, de no identificarse a tiempo, podrían afectar severamente la salud animal.⁵

Los signos clínicos asociados con infecciones por *A. marginale*, causante de la anaplasmosis bovina, son anemia, mastitis, ictericia, pérdida de peso, abortos en vacas gestantes, disminución en la producción de leche, debilidad muscular y, en casos graves, la muerte.⁶ Los hemoplasmas *Ca.* M. haemobos y *M. wenyonii* pueden causar anemia hemolítica, edemas, problemas reproductivos y otros signos clínicos similares a los observados en animales enfermos de anaplasmosis, por lo cual en muchas ocasiones llega a confundirse la enfermedad.⁷

Las pérdidas económicas asociadas al tratamiento de los animales enfermos pueden llegar a alcanzar hasta los cuatrocientos dólares por animal, con lo que la industria ganadera tendría pérdidas de

más de trescientos millones de dólares anualmente, como se ha reportado en Estados Unidos.⁸ En el caso de México, no se cuenta con cifras oficiales actuales relacionadas con las pérdidas económicas.

Distribución geográfica

La anaplasmosis se distribuye alrededor del mundo, especialmente en zonas tropicales y subtropicales.⁹ En algunas regiones de Estados Unidos, África, Asia, Centro y Sudamérica, la anaplasmosis es considerada como una enfermedad endémica, debido a su alta prevalencia. En el continente europeo la anaplasmosis se encuentra distribuida en regiones cerca del Mediterráneo.¹⁰ La presencia de los hemoplasmas está ampliamente extendida alrededor del mundo, en países de Europa y Asia; en Latinoamérica solamente la había reportado Brasil. En México no fue sino hasta 2016 cuando se reportó por primera vez la presencia del hemoplasma *Ca*. M. haemobos y, recientemente, la de *M. wenyonii*.¹¹

Marina Meli, Barbara Willi, Ute Dreher, Valentino Cattori, Gabriela Knubben-Schweizer, Karl Nuss, Ueli Braun, Hans Lutz y Regina Horfman-Lehman, "Identification, molecular characterization, and occurrence of two bovine hemoplasma species in Swiss cattle and development of real-time TaqMan quantitative PCR assays for diagnosis of bovine hemoplasma infections", *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 48, núm. 10, 2010, pp. 3563-3568, DOI: 10.1128/JCM.02224-09

Pascal Aubry y Dorothy Geale, "A review of bovine anaplasmosis", *Transboundary and Emerging Diseases*, vol. 58, núm. 1, 2011, pp. 1-30, DOI: 10.1111/j.1865-1682.2010.01173.x

Suzanne Genova, Robert Streeter, Karen Velguth, Timothy Snider, Katherine Kocan y Katharine Simpson, "Severe anemia associated with *Mycoplasma wenyonii* infection in a mature cow", *The Canadian Veterinary Journal*, vol. 52, núm. 9, 2011, pp. 1018-1021, https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3157061/

Brian Whitlock, A study to determine the prevalence and economic impact of anaplasmosis in beef herds in the United States, University of Tennessee, núm. 0232569, Cooperating Schools of Veterinary Medicine, 10 de septiembre de 2013, https://bit.ly/2YBdLYS

⁹ Katherine Kocan, José de la Fuente, Alberto Guglielmonem y Roy Melendez, "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*, vol. 16, núm. 4, 2003, pp. 698-712, DOI: 10.1128/CMR.16.4.698-712.2003

Victoria Naranjo, Francisco Ruiz-Fons, Ursula Hofle, Isabel Fernandez de Mera, Diego Villanua, Consuelo Almazan, Alesandra Torina, Santo Caracapp, Katherine Kocan, Chritian Gortazar y Jose de la Fuente, "Molecular epidemiology of human and bovine anaplasmosis in southern Europe", *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 1078, núm. 1, 2006, pp. 95-99, DOI: 10.1196/annals.1374.013

Fernando Martínez Ocampo et al., "Draft genome...", op. cit.; Rosa Estela Quiroz-Castañeda et al., "Draft genome sequence...", op. cit.

Actualmente se sugiere que el calentamiento global podría incidir en el movimiento y la adaptación de los vectores de transmisión a diferentes zonas (por ejemplo, de zonas tropicales a zonas más templadas), propagando así la enfermedad.12

Transmisión

Uno de los principales factores por los que es difícil de controlar la dispersión de estas enfermedades consiste en que su transmisión se favorece por el uso de material quirúrgico infectado, así como por la presencia de vectores comunes a ambos patógenos, como la mosca de cuerno (Haematobia irritans), la mosca de establo (Stomoxys calcitrans), mosquitos (Aedes y Culex spp.) y tábanos (Haematopota pluvialis y Tabanus spp.).13

En el caso de A. marginale, su principal vector, además de las moscas, son las garrapatas (Ripicephalus microplus).14

Métodos de detección

Ante este panorama, es indispensable contar con métodos de detección e identificación de patógenos que permitan tener conocimiento del estado de salud de los animales, especialmente si se trata de animales que serán movilizados.

Entre los métodos de detección se encuentra el frotis sanguíneo, que mediante la observación al microscopio permite detectar las bacterias teñidas con el colorante de Giemsa dentro o alrededor de los eritrocitos del bovino.15 Esta técnica es la más común y las más practicada hoy en día; sin embargo, requiere de personal entrenado visualmente para una correcta detección.

La anaplasmosis también se puede diagnosticar mediante pruebas serológicas, como el ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA, por sus siglas en inglés), que es un indicativo de la exposición del animal a A. marginale, ya que la prueba se basa en el reconocimiento de los antígenos de la bacteria por los anticuerpos del sistema inmune del animal.

Por otro lado, el desarrollo de las técnicas moleculares, como la basada en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) punto final, seguido de la secuenciación de los fragmentos amplificados, ha permitido la detección e identificación de A. marginale, Ca. M. haemobos y M. wenyonii alrededor del mundo.16

Generando tecnologías

En México, es una prioridad desarrollar tecnologías que nos permitan ser independientes y que

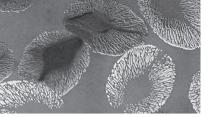
Katherine Kocan, Jose de la Fuente, Edmour Blouin, Johann Coetzee y Sa Ewing, "The natural history of Anaplasma marginale", Veterinary Parasitology, vol. 167, núm. 2-4, 2010, pp. 95-107, DOI: 10.1016/j.vetpar.2009.09.012

¹³ Qiqi Song, Lixia Wang, Rui Fang, Muhammad Khan, Yanqin Zhou y Junlong Zhao, "Detection of *Mycoplasma wenyonii* in cattle and transmission vectors by the loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay", Tropical Anim Health and Production, vol. 45, núm. 1, 2013, pp. 247-250, DOI: 10.1007/S11250-014-0555-Z

¹⁴ Sandor Hornok, A Micsutka, Marina Meli, Hans Lutz y Regina Hofmann-Lehmann, "Molecular investigation of transplacental and vector-borne transmission of bovine haemoplasmas", Veterinary Microbiology, vol. 152, núm. 3-4, 2011, pp. 411-414, DOI: 10.1016/j.vetmic.2011.04.031

¹⁵ Vahid Noaman y Parviz Shayan, "Comparison of Microscopy and PCR-RFLP for detection of Anaplasma marginale in carrier cattle", Iranian Journal of Microbiology, vol. 2, núm. 2, 2010, pp. 89-94, https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3279773/

¹⁶ Laura McAuliffe, Joanna Lawes, Suzanna Bell, Alex Barlow, Roger Ayling y Robin Nicholas, "The detection of *Mycoplasma* (formerly Eperythrozoon) wenyonii by 16S rDNA PCR and denaturing gradient gel electrophoresis", Veterinary Microbiology, vol. 117, núm. 2-4, 2006, pp. 292-296, DOI: 10.1016/j.vetmic.2006.06.011; Michihito Tagawa, Kotaro Matsumoto y Hisashi Inokuma, "Molecular detection of Mycoplasma wenyonii and 'Candidatus Mycoplasma haemobos' in cattle in Hokkaido, Japan", Veterinary Microbiology, vol. 132, núm. 1-2, 2008, pp. 177-180, DOI: 10.1016/j.vetmic.2008.05.006; Aline Girotto, Amanda Zangirolamo, Alexey Bogado, Arnaldo Sotero, Gislaine Ferreira, Joao Garcia, Laurival Vilas Boas, Alexander Welker y Odilon Vidotto, "Molecular detection and occurrence of 'Candidatus Mycoplasma haemobos' in dairy cattle of Southern Brazil", Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria, vol. 21, núm. 3, 2012, pp. 342-344, DOI: 10.1590/S1984-29612012000300034





den solución a los problemas que afectan la salud del ganado nacional.

Es por ello que, con el fin de alcanzar este objetivo, recientemente se elaboró un protocolo para la detección molecular e identificación de Ca. M. haemobos. Mediante esta prueba molecular basada en PCR punto final se logró el análisis rápido de más de setenta muestras y en un lapso relativamente corto.

En este protocolo de detección molecular se hace uso de una región específica del marcador molecular 16S rRNA de Ca. M. haemobos, en donde se diseñaron oligonucleótidos específicos que permitieron la amplificación de productos cuya secuenciación mostró la presencia de este hemoplasma en muestras de sangre provenientes de Morelos, Durango, Jalisco, Querétaro y Veracruz.

Ahora, somos el segundo país en América, después de Brasil, en reportar la presencia de hemoplasmas que afectan al ganado bovino. Es posible que, debido a la importación de ganado bovino de Brasil a México en años pasados, los hemoplasmas hubieran llegado a nuestro país mediante esta vía. Actualmente, con las tecnologías desarrolladas se facilita la detección de los patógenos, algo que no era posible de pensar anteriormente.

Actualmente se está trabajando en el desarrollo de otro par de tecnologías basadas en méto-

dos moleculares que permitan detectar A. marginale y M. wenyonii en muestras de sangre de ganado nacional. De hecho, la propuesta va enfocada en desarrollar una prueba de PCR que permita la detección no solamente de una bacteria sino de los tres patógenos a través de una reacción de PCR multiplex, como se han hecho en otros países.17

Una de las preguntas que surgen habiendo identificado en México a Ca. M. haemobos y M. wenyonii es si estamos frente a la presencia de una o varias cepas de los hemoplasmas, ya que, en el caso de A. marginale, se tiene el reporte de que en nuestro país existe una amplia variedad de cepas.18 La diversidad genética observada en las cepas dificultaría el desarrollo de métodos de prevención, como las vacunas, ya que existe la posibilidad de que los antígenos varíen entre las cepas y no sean reconocidos por los anticuerpos.

Los avances que se han logrado en la detección e identificación de patógenos que comprometen la salud animal permitirán tener un mayor control de aquellos animales que sean portadores de algún microorganismo. De esta forma, se está desarrollando tecnología con potenciales aplicaciones en el área veterinaria, siendo lo más importante que se trata de tecnología de origen nacional. •

Huseyin Bilgiç, Tulin Karagenç, Martin Simuunza, Brian Shiels, Andy Tait, Hasan Eren y William Weir, "Development of a multiplex PCR assay for simultaneous detection of Theileria annulata, Babesia bovis and Anaplasma marginale in cattle", Experimental Parasitology, vol.~133, n'um.~2, 2013, pp.~222-229, DOI:~10.1016/j. exppara.~2012.11.005; Kim Picozzi, Mark Carrington, Susan Carrington,Welburn, "A multiplex PCR that discriminates between Trypanosoma brucei brucei and zoonotic T.b. rhodosiense", Experimental Parasitology, vol. 118, núm. 1, 2008, pp. 41-46, DOI: 10.1016/j.exppara.2007.05.014

Rafael Jiménez Ocampo, Carlos Agustín Vega y Murguía, Nayelli Oviedo Ortega, Edmundo Rojas Ramírez, Miguel Ángel García Ortiz, Jesús Francisco Preciado de la Torre, Rodrigo Rosario Cruz, Delia Dominguez García, Sergio Rodríguez Camarillo, "Diversidad genética de la región variable de los genes msp1a y msp4 en cepas de Anaplasma marginale de México", Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias, vol. 3, núm. 3, 2012, pp. 373-387, https://bit.ly/2HuiiW3