



# PUBLICACIONES DE NUESTROS ACADÉMICOS Y ACADÉMICAS

Trabajos de Difusión

# La tripanosomiasis del ganado bovino y estrategias para su control en África.

Ismael Escutia Sánchez

Académico Titular

## Introducción

La tripanosomiasis se presenta en más de un tercio de la geografía africana y es la enfermedad más importante que afecta a la ganadería del continente, la tripanosomiasis enfermedad producida por un protozooario sanguíneo es transmitida a los animales domésticos y salvajes y al hombre por la mosca tsé tsé *Glossina spp.*, cuando se alimentan con sangre de estos mamíferos, la vasta presentación de esta enfermedad en las personas y su ganado retarda el desarrollo económico de esta zona del mundo.

La mosca tsé tsé sólo vive y se desarrolla en África y transmite al menos cuatro especies de tripanosomas que son el azote de la ganadería, el *Trypanosoma brucei brucei*, *Trypanosoma congolense*, *Trypanosoma simiae* y el *Trypanosoma vivax*, que provocan serias presentaciones de la enfermedad en bovinos, ovinos, caprinos, porcinos y equinos, además esta mosca también transmite las dos especies de tripanosomas que afectan al ser humano el *Trypanosoma brucei rhodesiense* y el *Trypanosoma brucei gambiense* que producen lo que comúnmente se conoce con el nombre de la “Enfermedad del Sueño” (Figura 1, Cuadro 1).

En algunas áreas de África y Asia los camellos sufren de la enfermedad causada por el *Trypanosoma evansi* que es transmitido por otro tipo de moscas diferentes a la tsé tsé.

El 30% de la población bovina de África, aproximadamente 160 millones de cabezas y un número igual de pequeños rumiantes se encuentran en riesgo de padecer la tripanosomiasis, las pérdidas económicas por la baja producción de carne y leche, así como del ganado de trabajo, aunado a los costos de los programas que se llevan a cabo con el fin de controlar este padecimiento se estiman en más de 500 millones de dólares anualmente. Si consideramos la pérdida potencial de la ganadería y la disminución de la producción agrícola se ha estimado que la enfermedad le cuesta al continente africano cinco mil millones de dólares al año, además de que 50



millones de personas en 37 países están en riesgo de contraer “La Enfermedad del Sueño”, principalmente en Uganda, Sudán, Zambia, Costa de Marfil, Congo, Angola y Mozambique (Figura 1).

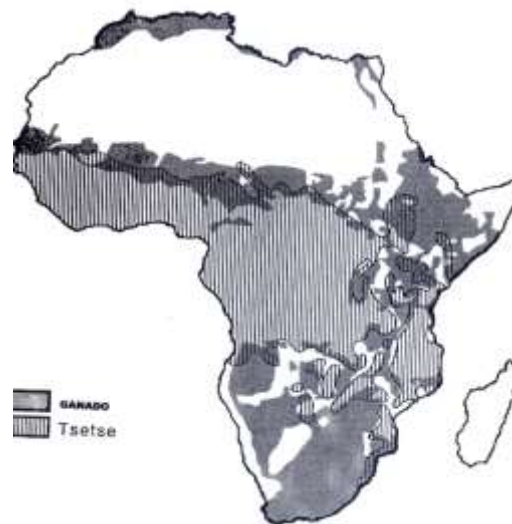


Figura 1. Áreas de distribución de la ganadería y la mosca tsé tsé en la geografía africana.

### TRIPANOSOMAS AFRICANOS Y SUS VECTORES

TRIPANOSOMA	AREA	ENFERMEDAD	VECTOR	ESPECIES AFECTADAS
<b>GRUPO BRUCEI</b>				
<i>T. brucei</i>	África entre 15° N Y 30° S	Tripanosomosis	<i>G. morsitans</i> <i>G. tachinoides</i> <i>G. palpalis</i>	Equinos Perros y Camellos
<i>T. gambiense</i>	África Occidental	Enfermedad del sueño de Gambia	<i>G. palpalis</i> <i>G. tachinoides</i> Otras moscas picadoras	Humanos
<i>T. rhodesiense</i>	África Oriental	Enf. Del sueño del Este de África	<i>G. palpalis</i> <i>G. tachinoides</i>	Humanos
<b>GRUPO CONGOLENSE</b>				
<i>T. congolense</i>	África Oriental y Occidental	Nagana	<i>Glossina</i> spp	Todos los animales domésticos y salvajes
<i>T. simiae</i>	África Oriental y Occidental		<i>G. morsitans</i> <i>G. palpalis</i>	Cerdo Jabalí Facocero Camellos
<b>GRUPO VIVAX</b>				
<i>T. vivax</i>	Toda África Centroamérica Sudamérica I. Mauricio	Nagana	<i>G. morsitans</i> <i>G. tachinoides</i> Otros insectos picadores	Bovino Ovino Caprino Camellos Caballos Fauna Silvestre
<i>T. uniforme</i>	Uganda, Kenya, Tanzania, Sudáfrica	Nagana	Moscas Tsé Tsé	No cabras
<b>GRUPO EVANSI</b>				
<i>T. evansi</i>	Asia África Norte África Central Sudamérica	Surra-India Guffer-Sudán Derrengadera-Venezuela Mbori-África Occidental Murrina-Panamá	Moscas picadoras <i>Tabanus</i> <i>Stomoxys</i> <i>Lyperosia</i> Murciélagos hematófagos	Caballos Perros Camellos Búfalos Elefantes Cerdos Bovinos Capibaras
<i>T. equinum</i>		Mal de caderas	Moscas picadoras <i>Stomoxys</i> <i>Lyperosia</i> <i>Tabanus</i>	Equinos
<i>T. equiperdum</i>	Asia África Prob. Centro y Sudamérica	Durina	Coito	Equinos

Cuadro 1. Los diferentes grupos de tripanosomas, sus vectores y las especies afectadas.

Los tripanosomas parásitos que causan la enfermedad en el ganado y en las personas también infectan a las especies animales salvajes, por lo que son una fuente de infección para la mosca tsé tsé que luego infecta a los animales

domésticos y al hombre. Muchos animales salvajes toleran la infección por tripanosomas y se comportan como portadores sin mostrar signos de la enfermedad (Figura 2).

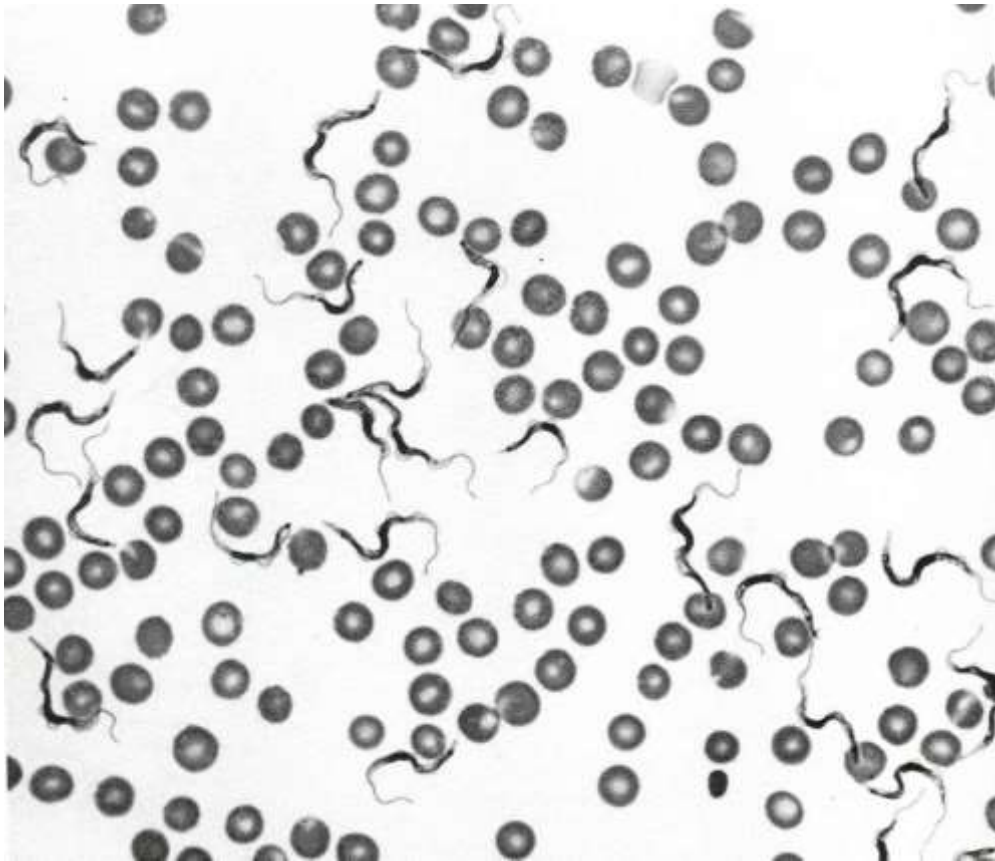


Figura 2. Tripanosomas en el torrente circulatorio del ganado afectado. (Foto: ILRAD).

Varios días después de la infección por tripanosomas los animales susceptibles no muestran signos de la enfermedad, una a dos semanas más tarde desarrolla una fiebre intermitente y anemia. En muchas áreas endémicas el ganado necesita recorrer grandes distancias para conseguir su alimento y agua y son picados repetidas veces por las moscas tsé tsé por lo que son infectados por diferentes clases de tripanosomas, bajo estas condiciones estresantes el ganado afectado continua su deterioro por meses hasta que muere.

La mosca tsé tsé o *Glossina spp*, transmisora de la tripanosomiasis se distribuye por muchos países

africanos o en más de 10 millones de kilómetros cuadrados, actualmente la mosca sigue avanzando en Nigeria, Camerún, Botswana, Zimbabwe, Tanzania, Etiopía, Senegal, Mali y otros. Para los nativos africanos tsé tsé significa “Mosca que destruye al ganado”, la mosca adulta es de color café y habita desde las sabanas arboladas hasta en las zonas boscosas a lo largo de los ríos y lagos, pero no sobreviven a alturas sobre los 1800 metros o en zonas muy áridas. 30 especies y subespecies de las moscas del Género *Glossina* se alimentan de un amplio grupo de animales salvajes de África, o bien de una sola especie de huésped animal o en los asentamientos humanos se alimentan de

diferentes huéspedes como bovinos, ovinos, cabras, cerdos, caballos, mulas, camellos y el hombre, las moscas adultas toman su alimento cada dos a tres días formando una pequeña gota de sangre en el sitio del piquete, aquí inyectan su saliva a través de un largo tubo llamado

hipofaringe que sale de la proboscis del insecto, esta secreción salival contiene un poderoso anticoagulante que conserva a la sangre en forma líquida para que la mosca continúe alimentándose y la saliva sea el vehículo de las formas metacíclicas de los tripanosomas.

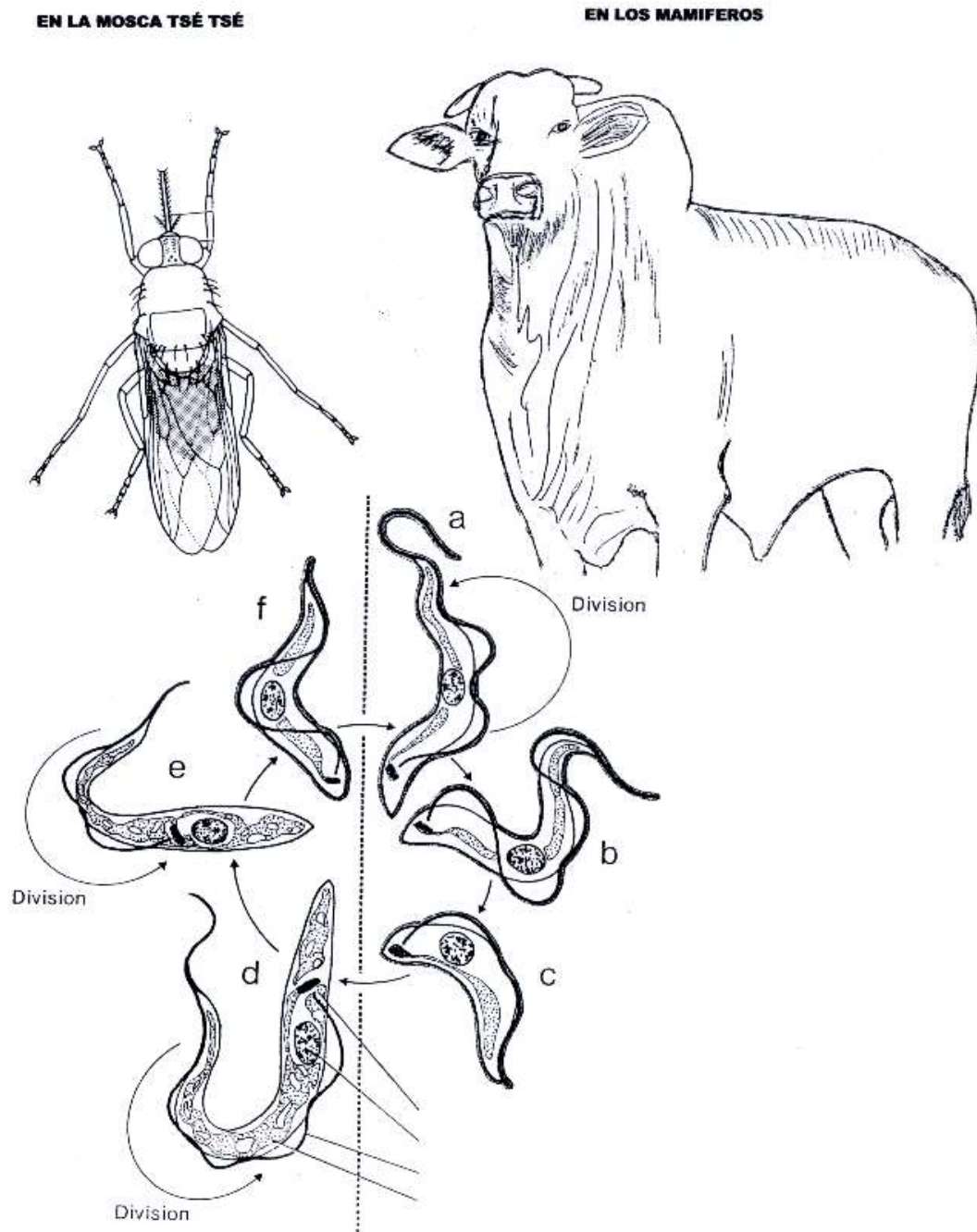


Figura 3. Diagrama que muestra el ciclo biológico del *Trypanosoma congolense* en el bovino.

La infección se inicia si los tripanosomas son inyectados en la sangre del bovino cuando se alimenta la mosca tsé tsé.

a)- En el bovino las formas típicas del parásito se multiplican por fisión binaria hasta que

grandes cantidades del parásito se localizan en el torrente circulatorio.

b)- Posteriormente los tripanosomas se transforman primero en una forma intermedia, para luego convertirse en la forma pleomórfica o achatada o enana.

c)- Esta última forma de tripanosoma es la que se encuentra en la mosca tsé tsé y la obtiene cuando se alimenta de un animal infectado.

d)- En el intestino de la mosca se localizan las formas procíclicas y llevan a cabo su división para después ingresar al proventrículo y luego a las glándulas salivales de la mosca, donde toman la forma de epimastigotes.

e)- Luego se inicia una nueva división para finalmente convertirse en las formas metacíclicas.

f)- Las formas metacíclicas son las que se localizan en las glándulas salivales de la mosca. Las formas metacíclicas son las que infectan a los mamíferos y de esta manera se repite el ciclo. Los tripanosomas que viven en la sangre de los mamíferos tienen una cubierta de glicoproteínas, esta superficie desaparece en las formas procíclicas en el intestino de la mosca tsé tsé y de nuevo se recupera en las formas metacíclicas en las glándulas salivales de la mosca (Figura 3).

## La enfermedad en el bovino

La enfermedad tiene numerosos nombres “Nagana” y “Sannare” en diferentes áreas del continente africano; “Surra” utilizado principalmente en infecciones por *T. evansi* y *T. equiperdum* en camellos y caballos; “Durina” descrito para *T. equiperdum* que se transmite durante el coito en equinos; “Enfermedad del Sueño” en humanos y “Enfermedad de Chagas” para la infección causada por *Trypanosoma cruzi* en América Latina en animales domésticos y silvestres y el hombre.

En cuanto al vector en África existen tres grupos de moscas tsé tsé, las especies representativas de estos grupos son *G. morsitans*, *G. palpalis* y *G. fusca*. Las moscas del grupo *G. morsitans* habitan en las sabanas, por lo que se desarrolla bien entre las acacias, siendo el grupo más peligroso ya que estas moscas acarrean las infecciones más graves,

en aquellas áreas donde se desarrolla la ganadería. El grupo de *G. palpalis* prefiere su hábitat a la ribera de los ríos, donde la sombra y el ambiente húmedo le proporciona las condiciones ambientales adecuadas, el peligro para el ganado se presenta cuando se acercan al río a beber. El grupo de *G. fusca* habita más bien en áreas densamente boscosas. Los perros, gatos y carnívoros salvajes pueden infectarse al ingerir carne fresca de sus presas infectadas o bien al consumir carne fresca y vísceras de animales que han muerto de tripanosomiasis, en estos casos los parásitos penetran a través de lesiones orales. Los leones en la naturaleza africana se infectan de esta manera, además de otros carnívoros como chacales, hienas, leopardos, etc. (Figura 4).



Figura 4. Los leones se infectan con *Trypanosoma* por tener lesiones orales al consumir la carne de presas infectadas. (Foto: I. Escutia)

Las moscas *Glossina spp* no sólo dependen del ganado doméstico para su supervivencia, sino que todos los animales de sangre caliente y fría son susceptibles de ser sus huéspedes,

desde los rinocerontes, jirafas, leones, hasta aves, reptiles y el hombre, esto significa que los tripanosomas pueden supervivir por largos periodos sin tener acceso a las especies animales domésticas. (Figura 5).



Figura 5. La mosca tsé tsé también se alimenta en los rinocerontes (Foto: I. Escutia)

La transmisión no cíclica es esencialmente mecánica, los tripanosomas se transmiten de un mamífero a otro por la alimentación periódica de otros insectos picadores como *Stomoxys* y *Tabanus*.

Los tripanosomas del grupo *Salivaria* son aquellos donde la multiplicación del parásito

se lleva a cabo en el tracto digestivo y en la proboscis de la mosca, de manera que la infección se transmite durante la alimentación por la mosca tsé tsé produciendo la enfermedad que se caracteriza por linfadenopatía y anemia con emaciación progresiva y muerte, afectando a todo el

ganado doméstico principalmente al bovino y a diferentes especies de antílopes y los jabalíes salvajes.

Pocos días después del piquete de una mosca tsé tsé infectada, se desarrolla una gran roncha denominada "chancro" como la que aparece en el hombre, de varios centímetros de diámetro en la piel del animal, con una parasitemia detectable, acompañada de fiebre y marcado aumento de tamaño de los nódulos linfáticos, los tripanosomas se localizan extravascularmente dentro del chancro, su presencia se asocia con una respuesta inflamatoria caracterizada por congestión, edema y extravasación de leucocitos polimorfonucleares, el chancro constituye el sitio inicial de multiplicación de los tripanosomas que luego se dirigen del sistema linfático al torrente circulatorio.

La patogenia de la enfermedad se considera bajo tres situaciones:

Hipertrofia ganglionar y esplenomegalia asociada con hiperplasia de células plasmáticas e hipergamaglobulinemia debida a un incremento de las IgM. En infecciones de larga duración los órganos linfoides y el bazo disminuyen su tamaño debido al agotamiento de los elementos celulares.

La anemia es proporcional al grado de parasitemia, dicha anemia es hemolítica.

Degeneración celular e infiltración ocurre en el músculo esquelético y el sistema nervioso central aunque se observa mayormente en el miocardio.

Los signos clínicos en los rumiantes son la anemia, hipertrofia generalizada de los

nódulos linfáticos superficiales, letargia y pérdida progresiva del estado corporal. Se produce de manera intermitente fiebre y pérdida del apetito, el crecimiento de los becerros es lento, y los adultos muestran disminución de la fertilidad y en vacas gestantes puede producirse el aborto o el nacimiento de animales débiles.

El aspecto más importante de la tripanosomiasis es que guarda relación con la persistencia de la parasitemia en la manera de que el parásito evade la respuesta inmune del huésped, ya que los tripanosomas metacíclicos en el torrente circulatorio poseen una cubierta glicoproteica que es antigénica (VSG Glicoproteína Variable de Superficie) y provoca la formación de anticuerpos que causan la opsonización y lisis de los tripanosomas, cuando se producen los anticuerpos parte de los tripanosomas han alterado la composición química de su cubierta glicoproteica y presentan una superficie antigénica diferente por lo que no son afectados por los anticuerpos. Aquellos tripanosomas que poseen esta nueva variante antigénica se multiplican y producen una segunda fase de parasitemia, el huésped de nuevo produce anticuerpos pero la cubierta glicoproteica se modifica de nuevo en cierto número de tripanosomas por lo cual se produce una tercera elevación de la parasitemia.

Este proceso de variación antigénica asociada a las elevaciones y caídas de las parasitemias a menudo con una semana de intervalo, puede continuar durante meses, terminando



generalmente con la muerte de su huésped. La variación antigénica repetida de la cubierta glicoproteica depende de la expresión

secuencial ordenada de un número indefinido de genes cada uno de los cuales codifica una cubierta glicoproteica distinta.

## Epidemiología y diagnóstico de la tripanosomiasis

La caracterización y el diagnóstico de las infecciones por tripanosomas es complicada por la existencia de muchas especies y subespecies del parásito. Fueron necesarios mejores métodos para identificarlos para obtener datos epidemiológicos y de esta manera optimizar la quimioterapia contra la tripanosomiasis.

Los búfalos africanos y otras especies animales salvajes que conviven en la naturaleza, muestran una resistencia natural al padecimiento, independientemente de sus desplazamientos en las sabanas o áreas intensamente infestadas de mosca Tsé Tsé (por ejemplo, en las riberas de los ríos) (Figura 6).



Figura 6. Los búfalos africanos muestran una resistencia natural al padecimiento. (Foto: I. Escutia).

Desde 1992 los científicos del ILRAD (International Laboratory for Research on Animal Diseases) que actualmente es el ILRI (International Livestock Research Institute), clonaron y secuenciaron los genes que codifican una molécula antigénica utilizada para diagnosticar infecciones por *Trypanosoma congolense*. Para hacer que el método diagnóstico sea disponible para su uso extensivo se examinaron las maneras de etiquetar o identificar sondas de ADN que no requieren de la utilización de materiales

radioactivos. Estas sondas son usadas para identificar tripanosomas en la sangre de los mamíferos huéspedes y en la saliva de las moscas tsé tsé, kits comerciales de ADN no radioactivo fueron evaluados por su habilidad de revelar tripanosomas presentes en muestras crudas preparadas de moscas y ganado infectados. Un kit que utiliza una combinación digoxigenina/LumiPhos probó ser el mejor para detectar parásitos. Una vez identificados con la digoxigenina-11-dUTP, las sondas son lo suficientemente estables para

ser utilizadas repetidamente por un año o más. También se ha utilizado exitosamente la técnica RAPD que emplea secuencias arbitrarias de oligonucleótidos cortos que amplifican el ADN del parásito en el PCR para generar genomas o “huellas digitales” que distinguen a los diferentes especies de tripanosomas, en una de las primeras pruebas la ILo525 distinguió los tres más importantes subgéneros de tripanosomas y produjo huellas digitales identificables para las diferentes poblaciones de parásitos dentro de cada subgénero.

Los científicos de la Universidad Rockefeller de los Estados Unidos han desarrollado una técnica para mantener las formas sanguíneas y procíclicas de *Trypanosoma brucei* en placas

de agarosa más que en un medio líquido, con este método se han dado avances en el conocimiento de la genética del tripanosoma, por lo que desde el trabajo del ILRAD, en nuevas instalaciones del ILRI en África, se mantienen cepas de formas sanguíneas y procíclicas de *T. brucei* y *T. congolense* también para la investigación se cuenta con colonias de las moscas que diseminan la tripanosomiasis en África: *Glossina morsitans centralis* originaria de Tanzania, *Glossina austeni* de Zanzíbar, *Glossina palpalis palpalis* de Nigeria, *Glossina palpalis gambiense* de Bourkina Faso, *Glossina fuscipes fuscipes* de la República Central Africana, *Glossina Tachinoides* de Chad y *Glossina brevipalpis* de Kenya (Figura 7).



Figura 7. Investigadores de ILRAD, trabajaron con colonias de moscas capturadas en zonas áridas como Samburu, en el Norte de Kenya y conocer su relación con la fauna nativa. (Foto: I. Escutia).

## Métodos de control

Ninguno de los métodos actualmente disponibles controlan la tripanosomiasis y ninguna combinación de métodos es suficientemente eficaz y su costo- efectividad en pequeñas granjas no es sustentable, los tratamientos con productos

químicos son extensamente utilizados para controlar la enfermedad, pero los medicamentos son muy caros además de que el uso extendido e indiscriminado de estos pocos productos ha incrementado la resistencia del protozooario a ellos.

La enfermedad también puede ser controlada reduciendo las poblaciones del único vector, la mosca tsé tsé, las áreas infestadas pueden ser nebulizadas con insecticidas para matar las moscas, pero se contamina el ambiente. Las poblaciones de moscas pueden ser reducidas a bajos niveles con el despliegue de trampas, pero este método sólo tiene éxito en algunos ambientes ecológicos y únicamente para determinadas especies de moscas, ya que la regeneración de la vegetación favorece la reinvasión de áreas que se consideraban libres.

Otro método de control de la tripanosomiasis es el manejo de ganado tripanotolerante o razas de ganado indígenas que resisten naturalmente a la enfermedad como la raza de bovinos *N'Dama* del África Occidental. La utilización de estos animales tripanotolerantes es quizá el método más efectivo de control de la tripanosomiasis lo que hace que el ganado pueda supervivir en áreas infestadas por la mosca tsé tsé, sin embargo, los niveles de tripanotolerancia tienen altibajos, ya que se disminuye su protección en animales sometidos a stress, por lo que la cantidad de leche que produce una vaca tripanotolerante es muy baja y su desarrollo es pobre, más bien son animales pequeños que son criados en pequeñas granjas tradicionales y lo más importante es que verdaderamente son pocos los animales disponibles.

En aquellas áreas en donde el ganado susceptible a la tripanosomiasis como el cebú (*Bos indicus*) o el tipo europeo (*Bos taurus*) altamente susceptibles no pueden vivir, el ganado tripanotolerante sólo constituye el 5% del hato ganadero localizado en aquellos países infestados con la mosca tsé tsé.

## Aspectos relevantes de la investigación científica para el control de la tripanosomiasis africana

### Variación antigénica en tripanosomas

Las poblaciones de tripanosomas evitan su eliminación por el sistema inmune del huésped empleando un mecanismo de defensa conocido como “variación antigénica” Muchos animales huéspedes montan una repuesta inmune con la primera invasión por tripanosomas produciendo anticuerpos contra las proteínas antigénicas moleculares distribuidas en la superficie del parásito, los anticuerpos se pegan a estos antígenos y ahí se inician una serie de eventos inmunes que finalizan con la ruptura y muerte de los parásitos. Sin embargo, antes de que todos los parásitos puedan ser eliminados algunos tripanosomas presentan una nueva superficie molecular. Mientras el sistema inmune empieza a producir anticuerpos contra el nuevo antígeno, la segunda oleada de tripanosomas se multiplica rápidamente y antes de que todos los parásitos de esta segunda infección puedan ser destruidos los parásitos van presentando otra superficie molecular. Este proceso continúa con la población parasitaria siempre conservando un paso adelante del sistema inmune del huésped, que incapaz de seguir el paso llega a sucumbir. Este mecanismo de defensa del parásito invalida la vacunación convencional que activa el sistema inmune del huésped contra uno o pocos antígenos. Por lo que se investigan otras estrategias (Figura 8).



Figura 8. Las jirafas se pueden comportar como portadores sanos. (Foto: I. Escutia)

## Diferenciación de los tripanosomas

El ganado tripanotolerante puede controlar la parasitemia a través de señales moleculares que causan que la división de los parásitos sea lenta o bien diferenciarse en formas que no se dividen, para probar esta hipótesis los genes que controlan la diferenciación del parásito y su tasa de replicación deben ser aislados y caracterizados para monitorear las interacciones de sus productos con el huésped. La identificación de tales genes puede hacer posible desarrollar modos de interferir con los productos del gene para controlar la proliferación del parásito en animales susceptibles.

El proceso de Variación antigénica asociada a los picos y caídas de las parasitemias en un animal afectado, a menudo con una semana de intervalo, esta puede continuar durante meses que termina generalmente con la muerte del animal.

La variación repetida de la cubierta glicoproteica depende de la expresión secuencial ordenada de un número indefinido de genes, cada uno de los cuales codifica una cubierta glicoproteica distinta. De acuerdo al hecho de que los tripanosomas metacíclicos pueden ser una mezcla de tipos antigénicos, cada uno de los cuales es capaz de expresar un repertorio genético diferente, explica por qué los animales domésticos incluso tratados

satisfactoriamente contra la enfermedad, son a menudo inmediatamente receptivos a la reinfección. La complejidad de los antígenos, potencialmente involucrados ha frustrado los intentos de vacunación en gran escala.

Las técnicas utilizadas para identificar el desarrollo de los genes incorporan varios métodos para enriquecer el ADN complementario (generado del ARN mensajero) específico para un estadio de vida o célula, todas las técnicas tienen desventajas y nuevos sistemas han sido desarrollados para identificar estos genes. Los sistemas amplifican el ADN complementario del parásito en la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) con oligonucleótidos cortos de secuencias arbitrarias para generar huellas digitales características de los genes que están siendo expresados. Cuando se prueba en *Trypanosoma brucei brucei* esta técnica genera huellas digitales reproducibles con diferentes secuencias, algunas secuencias generan polimorfismos en la forma de amplificaciones específicas. Por esta técnica los científicos realmente identifican genes expresados específicamente en formas sanguíneas y procíclicas del parásito.

## Antígenos del tripanosoma

Varias moléculas de tripanosomas con potencial para proteger al ganado de la tripanosomiasis fueron aisladas y caracterizadas en el ILRAD en 1992, incluso el gene de uno de los antígenos más prometedores una enzima cisteína proteasa de 33 kilodaltons de *T. congolense* asociada con resistencia a tripanosomiasis en el ganado ya ha sido clonada.

Otros antígenos estudiados fueron la enzima ATPasa vacuolar, una casein-kinasa II proteína o proteínas citoesqueléticas y dos moléculas chaperonas, un buen antígeno en ganado infectado con *T. congolense* es una proteína de 69 kilodaltons, los genes que codifican a esta proteína fueron clonados y secuenciados y sus genes expresados en la bacteria *Escherichia coli*. La proteína recombinante será utilizada para estudiar la respuesta inmunológica del ganado a la molécula.

## **Respuesta inmune del huésped a la infección por tripanosomas**

Aprendiendo más acerca de la compleja interacción entre huéspedes y parásitos y su relación en el desarrollo de la enfermedad ayudará a los científicos a entender mejor como el ganado genera la respuesta inmune a los parásitos con esto se desarrollaran nuevos métodos para manipular esta respuesta de manera que bloquearán o inhibirán la proliferación del parásito.

En 1992 se continuaron los estudios sobre la respuesta a la infección hecha por las células B del bovino las que producen anticuerpos contra los tripanosomas y las células T cuyo efecto es regular los mecanismos inmunes incluyendo la formación de anticuerpos.

Para estudiar la activación de las células B se requieren las citoquinas bovinas y en particular los factores del crecimiento como las interleuquinas 4

(IL-4), para proveer grandes cantidades de esta citoquina necesaria para estas investigaciones, los genes que codifican IL-4 fueron expresados en *E. coli*, y la proteína recombinante utilizada como un inmunógeno incrementa los anticuerpos monoclonales y policlonales.

Otras citoquinas bovinas importantes para el estudio de la respuesta de las células T y B son la IL-1alfa, IL-1beta, IL-2 e IL-6 por lo que se han preparado sondas para cada citoquina, para permitir su estudio por expresión de genes.

Los genes codifican otra importante citoquina en bovinos el TNF-alfa (Factor de Necrosis Tumoral Alfa) que ha sido clonada y secuenciada tanto en el ganado susceptible a la tripanosomiasis como la raza *Boran* y en ganado tripanotolerante *N'Dama*. Las diferencias en las secuencias entre las dos razas van a ser estudiadas para determinar si representan errores en el PCR, se trabaja para expresar los genes del factor alfa del tumor de necrosis en *E. coli* para producir suficiente cantidad de citoquinas para estudios biológicos.

Los tripanosomas usan moléculas como mensajeros bioquímicos para comunicarse con otras células del parásito y con células de los animales hospederos. Una de las técnicas desarrolladas conocida como RADES-PCR permite a los científicos identificar rápidamente genes que son expresados en diferentes estadios del ciclo de vida del parásito. Al encontrar genes con actividad es posible clonarlos y derivar su secuencia de ADN y determinar que molécula codifican.

Los científicos examinan moléculas producidas por genes que son activas en las formas metacíclicas de los tripanosomas en la sangre y en las formas del parásito encontradas en las partes bucales de la mosca tsé tsé. Entre estas moléculas fue identificada la enzima ciclofilina como un blanco potencial para investigar la proliferación del parásito.

Desde el punto de vista inmunológico se descubrió que la ciclofilina y otras moléculas asociadas al parásito son las responsables de la supresión de la función inmune en el ganado, para suprimir la respuesta a anticuerpos el parásito ataca al sistema inmune.

La anemia producida por *T. congolense* en el ganado está asociada con la pobre respuesta eritropoyética, ya que la hormona la eritropoyetina es la responsable de estimular la producción de glóbulos rojos. Se observó que 76 días después de la infección con *T. congolense* ya no respondía para incrementar los niveles de la eritropoyetina en el plasma sanguíneo.

Por la prueba de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) se amplifica el ADN para generar huellas digitales de los genes que están siendo expresados.

Los genes que codifican a la proteína de 69 kilodaltons antigénica descubierta en *T. congolense* fueron clonados y secuenciados y sus genes expresados en la bacteria *Escherichia coli*.

En la actualidad los científicos identifican rápidamente genes que son expresados en diferentes estadios del ciclo de vida del parásito.

Al encontrar genes con actividad es posible

clonarlos y derivar su secuencia de ADN para determinar que molécula codifican.

El ILRAD en África ha jugado el papel más importante en el estudio de la tripanosomiasis y otras enfermedades producidas por hemoprotozoarios, algunos de sus grandes proyectos de colaboración han sido con instituciones de investigación de diferentes países en desarrollo, por lo que en la actualidad como ILRI y nuevas instalaciones de alta seguridad inauguradas en Nairobi, Kenya el 17 de abril de 1996, continúa con sus investigaciones contando con el apoyo de otras instituciones africanas dedicadas al estudio del control de esta parasitosis.

## Genética bovina

Para investigar los mecanismos de la tripanotolerancia en bovinos para prevenir el desarrollo de la enfermedad, ILRAD produjo un grupo de animales al cruzar una raza susceptible a la tripanosomiasis como la *Boran* y ganado tripanotolerante el *N'Dama*, el ADN de estos animales esta siendo usado para desarrollar un mapa del genoma bovino que puede revelar que gene o genes controlan la tripanotolerancia. (Figura 9).



Figura 9. Primeras becerradas de ganado tripanotolerante en ILRAD. (Foto: ILRAD).

La identificación y diseminación subsecuente de los genes que provocan la resistencia en el ganado en la población bovina puede proveer opciones para el control sustentable de la enfermedad, después de ser introducidos en un hato de ganado, los genes deseados se propagan ellos mismos, y de esta manera se reduce la dependencia de los

granjeros a las vacunas, medicamentos costosos e insecticidas que dañan el medio ambiente. El esfuerzo internacional de colaboración al tener el mapa del genoma bovino beneficiará a los ganaderos, consumidores y al ambiente principalmente de los países en desarrollo.



Figura 10. Por transferencia de embriones esta vaca Boran fue implantada con un embrión N´Dama y un embrión Boran, posteriormente produjo unos gemelos hematopoyéticos chiméricos. El becerro N´Dama a la izquierda después de convivir en su vida fetal con su gemelo Boran ha desarrollado una médula espinal Boran. Al desafiar con tripanosomas a los gemelos se determinará que genes de tripanotolerancia han sido transferidos del N´Dama al Boran (La palabra chiméricos proviene de chimera o quimera un monstruo mitológico creado con cabeza de león, cuerpo de cabra y cola de serpiente). (Foto: ILRAD).

El ILRAD a nivel mundial ha tenido efecto en sus investigaciones ya que sus resultados de investigación ya son utilizados por las instituciones nacionales responsables del control de enfermedades de la ganadería. A continuación, se mencionan algunas de las nuevas tecnologías desarrolladas en el ILRAD: Técnicas de diagnóstico de enfermedades transmitidas por garrapatas y tripanosomiasis, métodos para caracterizar cepas de parásitos

para su utilización en programas de inmunización por infección-tratamiento en theileriosis (East Coast Fever), nuevos métodos para reproducir garrapatas y moscas tsé tsé, nuevos ensayos in vitro para determinar niveles para resistencia a medicamentos en poblaciones de tripanosomas, novedosas técnicas genéticas para identificar ganado tripanotolerante. (Figura 10).

Programas de computadora para tomar decisiones en la lucha contra las enfermedades transmitidas por garrapatas y tripanosomiasis utilizando datos empíricos en el desarrollo y epidemiología de estas enfermedades para la aplicación de métodos

## Conclusiones

Para estudiar a los parásitos del género *Trypanosoma* (Particularmente los tripanosomas africanos) conocidos por su variación antigénica, laboratorios médicos alrededor del Mundo han hecho del parásito un modelo para estudios de expresión de genes, aunque este mismo fenómeno presenta obstáculos para desarrollar una vacuna convencional contra la tripanosomiasis, se ha abierto la puerta a otras estrategias de vacunación, tales como las de que se podría

de control, modelos de computadora para predecir la aplicación de nuevas estrategias y tecnologías de control y modelos económicos para comparar costos y beneficios para instrumentar varios métodos de control de estas enfermedades.

trabajar más en contra del desarrollo de la enfermedad que sólo actuar en contra del parásito.

En esta área el poder de la biología molecular ha permitido incrementar el examen detallado de los procesos vitales de los parásitos, la localización de sus genes importantes y la producción de suficientes cantidades de moléculas del parásito utilizando las técnicas de la ingeniería genética para probar la habilidad de estas moléculas antigénicas para inducir protección más que una respuesta inmune dañina en el huésped animal.



Foto de Izq.-Der. Dr. Wycliffe Karanja (Kenya); Dr. Mamadou Seye (Senegal); Dr. Ismael Escutia-Sánchez (México); Dr. Abdul-Ganiyn Babatunde Jagun (Nigeria); Dr. John Enyaru (Uganda) y Dr. Evariste Tama (Burundi).

## Referencias

1. Doyle, J.J., S.K. Moloo and N.K. Borowy., (1984) Development of improved control methods

of animal trypanosomiasis: A review. Preventive Veterinary Medicine 2:43-52

2. Donelson, J.E., and A.C. Rice-Ficht., (1985) Molecular biology of trypanosome antigenic variation. Microbiological Reviews. 49(2). 107-125



3. Donelson, J.E., and M.J. Turner., (1985) How the trypanosome changes its coat. *Scientific American* 252(2):8
4. Hall, H.T.B., (1977) *Diseases and Parasites of Livestock in the Tropics*. Longman Group Ltd. London. Pp.163-171
5. International Laboratory for Research on Animal Diseases (1990) ILRAD 1989 Annual Report. Nairobi, Kenya.
6. International Laboratory for Research on Animal Diseases (1991) ILRAD 1990 Annual Report. Nairobi, Kenya.
7. International Laboratory for Research on Animal Diseases (1992) ILRAD 1991 Annual Report. Nairobi, Kenya.
8. International Laboratory for Research on Animal Diseases (1993) ILRAD 1992 Annual Report. Nairobi, Kenya.
9. International Laboratory for Research on Animal Diseases (1994) ILRAD 1993/4 Annual Report. Nairobi, Kenya.
10. Nantulya, V.M., (1986) Immunological approaches to the control of animal trypanosomiasis. *Parasitology Today* 2(6): 168-173
11. Murray, M., and A.R.Gray., (1984) The current situation on animal trypanosomiasis in Africa. *Preventive Veterinary Medicine*. 2:23-30
12. Mc Culloch, R., (2004) Antigenic variation in African trypanosomes: Monitoring progress. *Trends in Parasitology*; 20: 117-121
13. Morrison, W.I., M.Murray., W.I.M. McIntyre., (1981) Bovine Trypanosomiasis. En *Diseases of cattle in the tropics*. Economic and zoonotic relevance. *Current Topics in Veterinary Medicine and Animal Science*. Vol.6 Miodrag Ristic and Ian McIntyre Editors. Martinus Nijhoff Publishers The Hague. pp. 469-497
14. Pelle R., McOdimba F., Chuma F., Wasawo D., Pearson T.W., Murphy N.B., (2002) The african trypanosome cyclophilin A homologue contains unusual conserved central and N-terminal domains and its developmentally regulated. *Gene*; 290:181-191
15. Stenberg J.M., (2004) Human African trypanosomiasis: Clinical presentation and immune response. *Parasite Immunology*; 26:469-476
16. Urquhart, G.M., J. Armour., J.L.Duncan., A.M.Dunn., F.W.Jennings., (2001) *Veterinary Parasitology*. Blackwell Science Ltd. Second Edition pp. 242-250
17. El autor desea expresar su agradecimiento al Dr. Carlos Ramón Bautista Garfias del INIFAP de México por la revisión crítica del manuscrito.