

## Preparados contra la bronquitis verminosa. Posibilidades para la producción de productos recombinantes (Artículo teórico)

Yoanka Mc-Pherson Nápoles\*, Dayami Santiesteban Pérez\* y Rogelio Oliva Rondón\*\*

\* Departamento de Vacunas Veterinarias. Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología. Camagüey

\*\* Instituto de Medicina Veterinaria. Camagüey, Cuba

### RESUMEN

Se analiza una vacuna de larvas irradiadas para combatir *Dictyocaulus viviparus*, que ocasiona la bronquitis verminosa bovina. En este estudio teórico se exponen los principales inconvenientes de dicha vacuna, entre ellos su corta vida útil, y la posibilidad de que provoque la enfermedad, por larvas que no estén realmente atenuadas. Se exponen estudios recientes del parásito, los que, unidos a los últimos avances de la ingeniería genética y la biotecnología, pudieran dar lugar a una vacuna recombinante basada en los productos de excreción-secreción del nematodo.

### ABSTRACT

A vaccine made of irradiated larvae to eradicate *Dictyocaulus viviparus* causing bovine verminous bronchitis was discussed. This theoretical assay states the main disadvantages of the vaccine, among them its short life span and the possibility of being a cause for the disease due to still active larvae. Recent studies on the parasite are presented which, together with genetic engineering and biotechnology last findings, could result in a recombinant vaccinated bases on this nematode excretion-secretion products.

**PALABRAS CLAVES:** *Dictyocaulus viviparus*, gusano del pulmón, bronquitis verminosa, vacunas

### INTRODUCCIÓN

Debido a las condiciones higiénicas de manutención y, particularmente por la contaminación de los alimentos y el agua con partículas de tierra, estiércol y otros desechos, los animales padecen endoparasitosis, con una frecuencia mucho mayor que la del hombre.

Son muchas las especies parasitarias a las que están expuestos los animales en toda su vida; en el ganado bovino una de las más importantes es *Dictyocaulus viviparus*, el que también es llamado gusano del pulmón por su localización en el huésped, sobre todo, en los animales jóvenes. *Dictyocaulus viviparus* en su ciclo biológico no necesita huésped intermediario, por tanto, es un ciclo directo, en el que solo le son necesarias condiciones ambientales adecuadas, que le permitan el desarrollo de los huevos a estadios larvarios con capacidad infestante. La enfermedad que produce se denomina bronquitis verminosa o dictyocaulosis bovina y la infestación se desencadena por ingerir las larvas en la fase infestante (larva 3), presentes en los pastos.

Para la prevención de la dictyocaulosis, existe una vacuna de larvas irradiadas que se comercializa por Intervet (Holanda), bajo el nombre Husvac<sup>R</sup> y por MSD Agvet (Inglaterra), bajo el nombre Dictiol<sup>R</sup> pero, tiene entre sus principales inconvenientes la poca estabilidad y seguridad, esta última, por ingestión de larvas con capacidad infestante, presentes en la vacuna.

Los avances recientes en la ingeniería genética y la biotecnología, combinados con un mayor conocimiento de la composición antigénica y mecanismo de patogénesis del parásito, proveen de medios más eficaces para la prevención de las enfermedades causadas por *Dictyocaulus viviparus*. El empleo desde hace pocos años

de la tecnología de inmunización con ADN desnudo proporciona una vía novedosa de protección, que aventaja a la utilización de antígenos proteicos por la capacidad de inducción de respuesta celular, y al uso del microorganismo patógeno atenuado, por no tener posibilidad de revertir a la virulencia.

En este artículo se comparan o sugieren las posibles vías que se podrían utilizar para la obtención de vacunas para prevenir la dictyocaulosis bovina.

### DESARROLLO

#### Dictyocaulosis bovina

La dictyocaulosis produce una neumonía parasitaria, con aumento de la frecuencia respiratoria, tos frecuente, pérdida de apetito y reducción de la velocidad de crecimiento; de hecho, cuando la tos es grave, puede presentarse en paroxismos que continúan hasta la asfixia del animal afectado. En esos casos se produce con mayor frecuencia la muerte de los animales. No obstante, 45 días después de la infestación o más tarde aún, puede ocurrir la desaparición gradual de los gusanos y la curación, pero los becerros que se recuperan padecen tos crónica debida a la bronquiectasia y adelgazamiento. En este momento los animales presentan tal nivel de deterioro que les es muy difícil su recuperación, por lo que la mayoría son sacrificados.

A nivel internacional, la incidencia real de esta parasitosis se ve enmascarada por el uso de antihelmínticos, lo que hace muy difícil precisar las muertes por dictyocaulosis bovina en la ganadería y por tanto, la incidencia en la masa ganadera; es por ello que normalmente se piense que la inadecuada conversión de los nutrientes, los estados de desnutrición y el deterioro general

del ganado, por etiología desconocida, están influenciados por esta parasitosis.

### **Prevención de la bronquitis verminosa: Desarrollo de vacunas**

Debido al daño que produce esta parasitosis, sobre todo en terneros, los intentos por proveer de un medio eficaz de protección comenzaron en Inglaterra en 1959, cuando Jarret y colaboradores confirmaron que se puede conferir una inmunidad confiable mediante la administración por vía oral de larvas de *Dictyocaulus viviparus* debilitadas por medio de radiaciones. En algunas regiones, después de 30 años, la bronquitis verminosa es controlada usando esta vacuna de larvas irradiadas (Dictiol®, de MSD Agvet y Husvac®, Intervet, Inglaterra); pero, su corta vida media, que oscila entre 14 días y 1 mes, hace que esté restringido el uso sólo a Europa y además, también existe la posibilidad de que alguna larva no haya sido atenuada y se desarrolle la enfermedad.

El tratamiento de esta parasitosis se lleva a cabo con el uso de antihelmínticos (Borgsteede *et al.* y Williams *et al.*, 1988; McKenna; 1985; McKenna; 1989; Taylor *et al.*, 1990 a y b; Williams; 1990; Vanparijs y Quick, 1991; Williams *et al.*, 1996), pero los mismos presentan como principales inconvenientes, en primer lugar, la posibilidad de desarrollar cepas resistentes a dichos fármacos, que hacen difícil el tratamiento posterior de los animales infestados, el elevado costo de estos productos que lo hacen limitado para los países de menores recursos, la acumulación producida en las carnes que imposibilitan su consumo durante un período de tiempo y por último, la incidencia dañina desde el punto de vista ecológico.

En la actualidad, se ha pensado en incidir en las interfases parásito-huésped, utilizando como inmunógenos las proteínas de membrana y los antígenos secretados *in vivo*. La respuesta inmune dirigida contra estos componentes que son esenciales para la supervivencia del parásito, podría provocar la eliminación del mismo. Se piensa que estos productos estén involucrados en varios procesos del mecanismo de patogénesis del parásito, desde la invasión inicial a través de la piel o mucosa intestinal hasta la evasión de los mecanismos efectores de la inmunidad del huésped, algunos de los cuales pueden depender de la actividad de productos de excreción-secreción como proteinasas y acetilcolinesterasas (Britton *et al.*, 1993; Britton *et al.*, 1995).

Estos productos de excreción-secreción de diversas especies de nematodos, ofrecen considerable protección a la infestación parasitaria, por ejemplo los casos de *Trichinella spiralis* (Campbell, 1955), *Trichostrongylus colubriformes* (Rothwell y Love, 1974), *Nippostrongylus brasiliensis* (Day *et al.*, 1979) y *Toxocara canis* (Nicholas *et al.*, 1984). En el caso del *Dictyocaulus viviparus* se han utilizado los mismos, empleando para ello curieles como modelo animal, y se ha logrado

un 78% de protección frente a la colonización de los gusanos en el pulmón (McKeand *et al.*, 1995).

Al igual que se han estudiado los productos de excreción-secreción, se han comenzado a dar los primeros pasos en los productos somáticos, de hecho, se han caracterizado dos proteínas con potencial para la protección frente al desafío y para el empleo en el inmunodiagnóstico de la bronquitis verminosa. Una de estas proteínas fue solicitada como patente en 1997 en la Oficina Europea bajo el nombre Dv18 (Hofmann y Schmid, 1997) y ofrece protección en el 80% de los casos utilizando terneros en las pruebas experimentales. Del Dv18 no se ha descrito su mecanismo de acción, no así de la otra proteína caracterizada en 1995 la cual se denominó Dv3-14 (Schnieder, 1992; 1993) y se conoce que constituye la proteína mayor del esperma.

El Dv3-14 es una proteína que constituye el 15% del total de proteínas en el espermatozoide del nematodo; está asociada con la motilidad ameboidal de los pseudópodos, ya que los espermatozoides no poseen flagelo. En los nematodos, la proteína mayor del esperma forma el único citoesqueleto del espermatozoide maduro (Mansir y Justine, 1996).

Los anticuerpos que reconocen al Dv3-14 se encuentran en los animales infestados experimental y espontáneamente, lo que evidencia que Dv3-14 es liberado por los parásitos adultos *in vivo* cuando alcanzan la madurez sexual (De Leeuw y Cornelissen, 1991).

La inmunización con Dv3-14, debe desarrollar anticuerpos contra la proteína mayor del esperma y por tanto, se espera que se inhiba la fecundación por pérdida o disminución de la funcionalidad del espermatozoide del nematodo. La actividad de esta vacuna se basaría en la inhibición de la reproducción de *Dictyocaulus viviparus* y por tanto la disminución de la población del mismo.

La utilización del Dv3-14 podría ser el primer paso de la búsqueda de antígenos comunes para nematodos, ya que presenta un 84 y 86% respectivamente de similitud con las proteínas mayores del esperma de *Ascaris lumbricoides var suum* y el nematodo de vida libre modelo para los diferentes estudios con estos parásitos *Caenorhabditis elegans* (Schnieder, 1993). De allí podría pensarse que la utilización de la proteína mayor del esperma podría ser la clave para el desarrollo de preparados contra más de una afección parasitaria.

La caracterización de estas proteínas permite expresarlas por vía recombinante para determinar su efectividad en terneros frente a la bronquitis verminosa; también sería posible realizar una librería de expresión *in vivo* (expression library immunization) utilizando como modelo el curiel, empleando vectores para vacunas de ADN y el cDNA del parásito adulto o estadios larvarios, con el objetivo de buscar nuevos antígenos que pudieran conferir protección frente al *Dictyocaulus viviparus*.

## PERSPECTIVAS

Las vacunas para la prevención de una afección parasitaria es uno de los grandes retos de la comunidad científica internacional, de la misma manera, esto unido a lo que constituye un preparado vacunal que reemplace los antihelmínticos tradicionales (compuestos químicos), significaría no sólo un logro de la comunidad científica sino una garantía sin precedentes para los productores y consumidores. Es por esto que se aúnan fuerzas en la investigación en estas vertientes tan complejas, pero que nos dotarían de conocimientos con una extensa e importante aplicación.

## REFERENCIAS

- BORGSTEEDE, F. H. M.; W. A. DE LEEUW Y W. P. J. V. D. BURG: A Comparison of the Efficacy of Four Different Long-Acting Voluses to Prevent Infections with *Dictyocaulus viviparus* in Calves. The Veterinary Quarterly. 10 (3): 65-72, 1988.
- BRITTON, C.; G. J. CANTO, G. M. URQUHART Y M. W. KENNEDY: Characterization of Excretory-Secretory Products of Adult *Dictyocaulus viviparus* and the Antibody Response to Them in Infection and Vaccination. Parasite Immunology. 15 (3): 163-174, 1993.
- BRITTON, C.; J. MOORE, J. S. GILLEARD Y M. K. KENNEDY: Extensive Diversity in Repeat Unit Sequences of the cDNA Encoding the Polyprotein Antigen/Allergen from the Bovine Lungworm *Dictyocaulus viviparus*. Molecular and Biochemical Parasitology. 72: 77-88, 1995.
- CAMPBELL, C. H: The Antigenic Role of the Excretions and Secretions of *Trichinella spiralis* in the Production of Immunity in Sheep. Journal of Parasitology. 41: 483, 1955.
- DAY, P.; R. J. HOWARD, S. J; PROWSE, C. B. CHAPMAN, Y M. MITCHELL: Studies on Chronic Versus Transient Nematode Infections in Mice. I. A Comparison of Responses to Excretory/Secretory Products of *Nippostrongylus brasiliensis* and *Nematospiroides* worms. Parasite Immunology. 1: 217, 1979.
- DE LEEUW. W.A. Y J. B. W. J. CORNELISSEN: Identification and Isolation of a Specific Antigen with Diagnostic Potential from *Dictyocaulus viviparus*. Veterinary Parasitology. 39: 137-147, 1991.
- HOFMANN, J. Y K. SCHMID: *Dictyocaulus viviparus* Antigen zur Diagnose des Lungenwurmbefalls und zur Vakzinierung. European Patent Application, EP 0 785 253 A1, 1997.
- JARRET W. F. H.; F. W. JENNINGS, W. I. M MCINTYRE, W. MULLIGAN Y G. M. URQUHART: Immunological Studies on *Dictyocaulus viviparus* Infection in Cattle. Double Vaccination with Irradiated Larvae. American Journal of Veterinary Research. 20: 522, 1959.
- MANSIR, A. Y J. JUSTINE: Actin and Major Sperm Protein in Spermatids and Spermatozoa of the Parasitic Nematode *Heligmosomoides Polygyrus*. Molecular Reproduction and Development. 45: 332-341, 1996.
- MCKEAND, J. B.; D. P. KNOX, J. L. DUNCAN Y M. W., KENNEDY: Protective Immunization of Guinea Pigs Against *Dictyocaulus viviparus* Using Excretory/Secretory Products of Adult Parasites. International Journal for Parasitology. 25 (1): 95-104, 1995.
- MCKENNA, P. B.: Persistent Anthelmintic Activity of Topically Administered Ivermectin in Cattle. N. Z. Vet. J. 37: 146-147, 1989.
- MCKENNA, P. B: The Persistence of the Anthelmintic Activity of Ivermectin in Sheep. N. Z. Vet. J. 34: 94-96, 1985.
- NICHOLAS, W. L.; A. C. STEWART Y G. C. MITCHELL: Antibody Response to *Toxocara canis* Using Sera from Parasite-Infected Mice and Protection from Toxocariasis Using Immunization with ES Antigens. Australian Journal for Experimental Biology and Medical Science. 62: 619, 1984.
- ROTHWELL, T. L. W. Y R. J. LOVE: Vaccination Against the Nematode *Trichostrongylus colubriformes*. Vaccination of Guinea Pigs with Worm Homogenates and Soluble Products Released During in Vitro Maintenance. International Journal for Parasitology. 4: 293, 1974.
- SCHNIEDER, T.: *Dictyocaulus viviparus*: Isolation and Characterization of a Recombinant Antigen with Potential for Immunodiagnosis. International Journal for Parasitology. 22 (7): 933-938, 1992.
- SCHNIEDER, T.: The Diagnostic Antigen Encoded by Gene Fragment Dv3-14: A Major Sperm Protein of *Dictyocaulus viviparus*. International Journal of Parasitology. 23 (3): 383-389, 1993.
- TAYLOR, S. M.; T. R. MALLON Y W. P. GREEN: A Comparison of Interactions Between Vaccination Against *Dictyocaulus viviparus* and Anthelmintic Suppression in Immunised and Unimmunised Yearling Cattle. The Veterinary Record. 126 (24): 185-189, 1990a.
- TAYLOR, S. M.; T. R. MALLON Y W. P. GREEN: Comparison of the Efficacy of Dermal Formulations of Ivermectin and Levamisole for the Treatment and Prevention of *Dictyocaulus viviparus* Infection in Cattle. The Veterinary Record. 126 (14): 357-359, 1990b.
- VANPARIJS, O. Y J. M. QUICK: Efficacy of Levamisole Pour-on Compared with Levamisole Subcutaneous Injection Against *Dictyocaulus viviparus* Infection in Calves. Veterinary Parasitology. 38: 75-79, 1991.

WILLIAMS, J. C. Y C. S. EDDI: Lungworm Infection in Cattle. LA. Agric. Spring, 33 (3): 18-20, 1990.

WILLIAMS, J. C.; K. S. MARBURY, C. S. EDDI, E. R. WILLIS, Y D. G. LUTHER: Efficacy of Febantel Against Abomasal Nematodes and Lungworms in Cattle. Am. J. Vet. Res. 49 (12): 2085-2089, 1988.

WILLIAMS, J. C.; S. D. BROUSSARD, Y G. T WANG: Efficacy of Moxidectin Pour-on Against Gastrointestinal Nematodes and *Dictyocaulus viviparus* in Cattle. Veterinary Parasitology. 64: 277-283, 1996.