

## ***Tritrichomonas foetus*: mecanismos de acción patógena**

### ***Tritrichomonas foetus*: mechanisms of action pathogenic**

**DOUMECQ, M.L.<sup>1</sup>; SOTO, P.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología Clínica y Experimental. Departamento de Sanidad Animal y Medicina Preventiva. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. CIVETAN. Tandil. Campus Universitario. e-mail: ldoumecq@vet.unicen.edu.ar

### **RESUMEN**

*Tritrichomonas foetus* es un protozoo flagelado que afecta al ganado bovino siendo responsable de la Trichomonosis genital bovina, enfermedad de transmisión venérea con infertilidad y abortos, la cual causa grandes pérdidas económicas en muchos países del mundo incluyendo a la Argentina. En la presente revisión se resumen la información vinculada al mecanismo de acción patógena y factores de virulencia del protozoo.

Palabras clave: (*Tritrichomonas foetus*), (Trichomonosis Genital bovina), (acción patógena).

### **SUMMARY**

*Tritrichomonas foetus* is a flagellate protozoan that affects cattle and causes the Bovine genital Trichomonosis. This is a sexually transmitted disease that produces infertility and abortions. The disease causes great economic losses in many countries including Argentina. The present review summarizes the information related to the mechanism of pathogenic action and virulence factors of the protozoan.

Key words: (*Tritrichomonas foetus*), (Bovine genital Trichomonosis), (Action pathogenic).

Correspondencia e-mail: María Laura Doumecq ldoumecq@vet.unicen.edu.ar

Recibido: 09-01-2012

Aceptado: 30-08-2013

## INTRODUCCIÓN

La Trichomonosis genital bovina es una enfermedad venérea del bovino que causa pérdidas reproductivas en el sector agropecuario; cuyo agente etiológico es un protozooario piriforme flagelado denominado *Tritrichomonas foetus* (*T. foetus*)<sup>60,64,8</sup>.

Los signos clínicos de esta enfermedad en la hembra incluyen infertilidad, vaginitis, endometritis, mortalidad embrionaria, y ocasionalmente abortos y piómetras<sup>49</sup>. Sin embargo en los machos no se observan signos clínicos; esto se debe a que *T. foetus* coloniza exclusivamente la superficie de la mucosa del prepucio y del pene sin una adherencia específica al epitelio<sup>48</sup>. Esta colonización produce baja estimulación antigénica y la respuesta inmune es insuficiente para la eliminación del protozooario de la cavidad prepucial, esto determina que el toro actúe como portador<sup>13,14</sup>. En nuestros ensayos de infección experimental en toros vírgenes hemos podido observar la persistencia de la infección durante 16 semanas con escasa o nula respuesta de anticuerpos séricos y prepuciales<sup>62</sup>.

La dinámica de la patogenia de *T. foetus* en las hembras bovinas se caracteriza por una proliferación del protozooario en vagina al inicio de la infección con disminución del número de organismos a los 20-30 días. En este período los protozoarios se localizan en el útero con una leve inflamación en las glándulas endometriales, donde los cambios histopatológicos se manifiestan entre los 63 a 74 días post infección, incrementando la severidad a los 90 días asociados con la pérdida embrionaria o fetal<sup>49,2</sup>. Este proceso infeccioso, induce en la hembra una respuesta inmune a nivel sistémico y local en el tracto reproductor donde la inmunidad de mucosas cumple un rol importante, que permite en algunos casos eliminar el protozooario antes de los 4 o 5 meses post infección<sup>62,61</sup>. No obstante, en otros casos, la hembra permanece infectada durante más de un año, siendo una fuente de infección en el rodeo<sup>17</sup>. Esta persistencia de la infección en las hembras, podría depender de la patogenicidad y

de los mecanismos de evasión de las cepas de *T. foetus* frente a la respuesta inmune del huésped.

La importancia del estudio de la Trichomonosis y la necesidad de trabajar con modelos experimentales de fácil manejo y bajo costo incentivaron que diversos investigadores buscaran modelos alternativos al bovino para la reproducción de la misma. Se realizaron ensayos en diferentes animales de laboratorios tales como conejo, cobayo, hámster y ratón BALB/c, resultando este último más susceptible a la infección<sup>35</sup>.

Algunos autores para lograr la instalación de la infección vaginal con *T. foetus* en el ratón BALB/c postulaban trabajar con estrogenización persistente observándose efectos colaterales como descargas vaginales purulentas, abscesos perivulvares, hiperqueratosis del epitelio vaginal e hidrómetra<sup>65,68</sup>. No obstante, Mutwiri y Corbeil (1998) no observaron diferencias en la instalación de la infección vaginal en ratones estrogenizados y no estrogenizados<sup>46</sup>.

Frente a estos resultados contradictorios de los diferentes autores fue necesario dilucidar aspectos para poder definir un modelo confiable y reproducible, teniendo en cuenta algunas consideraciones básicas del modelo natural en bovinos.

La infección de *T. foetus* ocurre naturalmente en hembras en período de estro y va seguida por la colonización de la mucosa del tracto reproductor, donde es importante la adherencia del parásito a células del epitelio. En este período ocurre un aumento en la queratinización del epitelio vaginal resultando estas células las predilectas para la adherencia de *T. foetus* en la etapa inicial de la colonización y además en esta fase la ausencia de neutrófilos, que se ha demostrado que es la primera respuesta del sistema inmune con una fagocitosis inespecífica<sup>15,16,51</sup>. Por lo tanto el uso de modelos animales para la reproducción experimental de esta enfermedad requiere un manejo hormonal para la sincronización del estro evitando la estrogenización persistente.

Teniendo en cuenta estos datos las investigaciones de nuestro grupo sobre dicho modelo, determinaron a partir de diferentes

dosis ensayadas, la concentración adecuada de 5 mg de 3 benzoato de b estradiol para sincronizar el estro a las 48 h post tratamiento, con retorno a los ciclos normales a partir de los 5 a 7 días posteriores, evitando los efectos indeseables de la estrogenización persistente<sup>63</sup>.

De esta manera nuestros trabajos experimentales nos permitieron presentar al ratón hembra BALB/c como modelo experimental para profundizar las investigaciones sobre mecanismos de patogenicidad, respuesta inmune, interacción molecular de la relación huésped-parásito y evaluación protectora de diferentes inmunógenos<sup>4,63</sup>.

Con respecto a los principales mecanismos de acción patógena y factores de virulencia de *T. foetus*, que naturalmente interactúan entre sí, pueden ser descritos bajo tres ejes principales: a) moléculas intervinientes en la adherencia y colonización, b) producción de enzimas extracelulares con efecto citotóxico que provocan daño tisular, c) mecanismos de evasión de la respuesta inmune que permiten la persistencia en el huésped susceptible.

#### **a) Moléculas intervinientes en la adherencia y colonización**

La adherencia del protozoario al epitelio vaginal es importante para la posterior colonización del tracto reproductor y así ejercer su acción patógena<sup>53,16</sup>. Este es un evento altamente específico y complejo donde están implicadas moléculas asociadas al parásito y a la célula huésped.

Ambas células, tanto *T. foetus* como las del epitelio vaginal, poseen cargas negativas por este motivo, en primer lugar hay un reconocimiento a través de las adhesinas y luego un cambio electrostático de membrana en el cual intervienen las neuraminidasas. Estos componentes promueven el contacto parásito-célula disminuyendo la electronegatividad y permitiendo la proximidad de ambas células<sup>27,55</sup>.

Las neuraminidasas se localizan en la membrana citoplasmática y en vesículas cerca de la superficie<sup>54,21</sup>. Éstas hidrolizan la unión glicosídica entre los glicoconjugados superficiales

y el ácido siálico dejando al descubierto glicoconjugados celulares internos, los cuales posteriormente serán degradados por otras enzimas propias del protozoario<sup>3,9</sup>.

Como se mencionó anteriormente las adhesinas participan en la adherencia y son componentes superficiales de la membrana citoplasmática del protozoario. Se han descrito diferentes adhesinas, la más abundante es un lipogluco péptido denominado lipofosfoglican (LPG)<sup>56</sup>, otras son el Tf 1.17 (50-70 KDa) cuya composición química es una glicoproteína<sup>34</sup>, el Tf 190 (190 KDa) es un lipogluco péptido y el antígeno soluble y glicosilado (SGA)<sup>57</sup>. Burgess<sup>10</sup>, logró identificar con anticuerpo monoclonal (AcMc) un antígeno de 150 kDa, ampliamente distribuido en diferentes cepas de *T. foetus*, con funciones protectoras por muerte mediada por complemento.

Estos compuestos presentan similitudes en su estructura química y comparten características antigénicas por este motivo han sido utilizados para la formulación de vacunas<sup>69</sup> y en la elaboración de reactivo de diagnóstico de enzimo inmuno ensayo para la detección de anticuerpos específicos, obteniéndose diferentes resultados<sup>36,17,18</sup>.

Las glicoproteínas superficiales pueden identificarse mediante la utilización de lectinas marcadas las cuales permiten la identificación y localización de residuos de hidratos de carbono presentes en diferentes estructuras superficiales e intracelulares del protozoario. En las membranas citoplasmáticas de *T. foetus* se han descrito alguno de los siguientes compuestos: ácido N-actetil glucosamina, ácido N-actetil galactosamina, D-galactosa, D-manosa, D-glucosa, ácido siálico. Estos compuestos indicarían los sitios de afinidad del protozoario para adherirse y colonizar células queratinizadas del epitelio cérvico-vaginal y endometrio<sup>3,45</sup>.

Benchimol y Bernardino (2001) empleando una técnica con diferentes lectinas marcadas con fluorocromos y con la utilización de microscopia electrónica establecieron el patrón de carbohidratos de diferentes componentes ultraestructurales en la cepa K de *T. foetus*<sup>6</sup>.

Nuestro grupo de trabajo empleando la técnica de lectinocitoquímica (LCQ) realizó un estudio del patrón de carbohidratos de diferentes aislamientos de *T. foetus*. Se estudió la marcación a nivel de: citoplasma, membrana ondulante, membrana celular y flagelos. Los resultados de este trabajo nos permitieron concluir que el patrón de carbohidratos de los diferentes aislamientos estudiados presentan heterogeneidad y esta variación parece relacionarse con la capacidad de los protozoarios de generar o no una infección intravaginal en el modelo murino<sup>24</sup>. También utilizando la técnica de Lectinohistoquímica (LHQ) hemos observado modificaciones en el contenido de carbohidratos del epitelio genital de ratonas infectadas con *T. foetus* versus ratonas no infectadas. Estos cambios podrían interpretarse como una respuesta del huésped frente al protozoario o puede ser debido al efecto de las enzimas extracelulares de *T. foetus* como las neuraminidasas<sup>45</sup>.

En el proceso de adherencia también intervienen moléculas específicas presentes en la matriz extracelular de las células vaginales. Una de ellas es una glicoproteína denominada fibronectina la cual actúa como receptor y es reconocida por residuos de glicoconjugados que contienen manosa<sup>52</sup>. La adhesión a las moléculas superficiales de la matriz es un proceso transitorio debido a que la fibronectina es rápidamente digerida por las proteasas del protozoario. Otra glicoproteína que se encuentra en la matriz extracelular es la laminina, *T. foetus* posee una molécula superficial de 118 kDa que facilita el reconocimiento de laminin-1<sup>53</sup>.

Otra molécula que interviene en la adherencia es la ecto-ATPasa Mg dependiente la cual es estimulada por la glicoproteína D-galactosa expuesta en la superficie de las células del huésped<sup>38</sup>; además esta enzima presente en *T. foetus* hidroliza ATP, ITP, CTP and UTP aunque su rol fisiológico no es bien conocido.

En este fenómeno tan importante y a la vez tan complejo también intervienen enzimas extracelulares como las glicosidasas que degradan la mucina, principal componente del mucus, de manera que facilita que el protozoario tome

contacto con la superficie celular del epitelio vaginal<sup>27</sup>.

En relación a este tema, Corbeil *et al.* (1989) investigaron *in vitro* la unión de *T. foetus* a células del epitelio vaginal bovino (BVECs). Detectaron que los parásitos se unieron significativamente más a células epiteliales escamosas queratinizadas que a células redondeadas no queratinizadas. Además comprobaron que el rango óptimo de pH para la adherencia fue de 6,0 a 7,5, con un pico promedio registrado a un valor de pH de 6,5 para células escamosas<sup>16</sup>. Recientemente ha sido publicado, que *T. foetus* puede ingerir y digerir la queratina y así acceder a partes más profundas del epitelio vaginal o usar estas proteínas para su nutrición<sup>12</sup>.

En ensayos de citoadherencia *in vitro* realizados en nuestro laboratorio hemos podido observar la adherencia de diferentes cepas de *T. foetus* a células vaginales queratinizadas obtenidas del modelo murino y bovino durante la fase estrogénica (datos del autor sin publicar).

Con respecto a las células del oviducto, Midlej *et al.* observaron que el protozoario se une preferentemente a las células secretorias y no a las células ciliadas que se encuentran en él<sup>42</sup>.

La adhesión de *T. foetus* a la célula huésped comienza por el flagelo posterior, continuando con el resto del soma<sup>60,16,11,27</sup>. También se ha observado la presencia de pseudópodos y/o filopodia; este es un eficiente mecanismo expuesto por el protozoario para aumentar el contacto con la superficie epitelial<sup>27,44</sup>. En un trabajo realizado para estudiar la dinámica de la patogenia de la infección en el modelo murino, mediante microscopía electrónica observamos que la unión entre la membrana del protozoario y el endometrio está mediada por una sustancia amorfa (glucocalix)<sup>44</sup>.

Variadas líneas celulares han sido utilizadas para intentar comprender la interacción huésped-protozoario de la familia *Trichomonadidae*. Las más comúnmente utilizadas han sido células de cuello cervical de humano (HeLa), células de riñón de mono verde africano (Vero), células Madin-Darby de riñón bovino (MDBK) células de ovario de hámster chino (CHO),

células de linfoma temprano bovino (BL-3), células epiteliales humanas (HEp-2) y más recientemente se han desarrollado líneas celulares primarias a partir de células de epitelio vaginal humano (HVEC), células de epitelio vaginal bovino (BVEC)<sup>56</sup>, y células epiteliales de oviducto bovino (BOECs)<sup>42</sup>. En estas líneas celulares y cultivos primarios se ha observado diferentes grados de adherencia y en algunos casos efectos citopáticos. Burges *et al.* 1990 demostraron que *T. foetus* fue altamente citotóxico sobre la línea celular HeLa y sobre BL-3, pero presentó baja toxicidad sobre la línea Vero<sup>11</sup>. Esto podría hacer pensar que *T. foetus* posee organotropismo (aparato reproductor) y especificidad de especie (bovino).

En un ensayo realizado recientemente en el cual se evaluó el efecto de diferentes cepas de *T. foetus* sobre la línea celular CHO (ovario de hámster chino) se observó que la acción patógena, como la adherencia y el efecto citopático (EC) de *T. foetus*, fue diferente para los distintos aislamientos ensayados. El EC observado fue vacuolización del citoplasma, condensación de la cromatina en los núcleos, alteración en la morfología celular fusiforme a células redondeadas y finalmente el desprendimiento con alteración de la monocapa en diferentes grados según la cepa<sup>25</sup>.

La actividad hemolítica de *T. foetus*, al igual que la citoadhesión, es un mecanismo especie específico. Por este motivo cuando se analiza la interacción del protozoario con los eritrocitos se debe tener en cuenta la especie animal de la cual provienen. En nuestros trabajos sobre caracterización de cepas de *T. foetus* mediante el estudio cualitativo de hemólisis en placa utilizando glóbulos rojos bovinos, hemos demostrado la presencia de colonias hemolíticas de *T. foetus*<sup>22,23</sup>.

Con respecto al mecanismo por el cual la familia *Trichomonadidae* produce hemólisis hay mucha controversia entre los autores. Algunos autores postulan que el contacto entre los protozoarios y los eritrocitos no es un requisito previo para la hemólisis, el cual también podría ser debido a factores solubles (proteínas),

liberadas por el protozoario<sup>11,28,29</sup>. Sin embargo De Carli *et al.* (1996)<sup>20</sup> observaron únicamente hemólisis en presencia de contacto eritrocito-*T. vaginalis*<sup>19</sup>. Además en *T. gallinae* observaron la eritrofagocitosis del parásito, sugiriendo un mecanismo contacto dependiente<sup>20</sup>. Este autor postula que la actividad hemolítica de *T. vaginalis* no es debida a la liberación de hemolisina por el protozoario o por un producto de su metabolismo, sino que pareciera que depende de los receptores de manosa que se encuentran presentes en la superficie del protozoario, ya que esta actividad es notoriamente reducida por el tratamiento previo de los protozoarios con la lectina Con A.

En ensayos realizados con distintas cepas de *T. foetus* en las cuales se enfrentó *T. foetus* lavadas, sobrenadante de *T. foetus* y *T. foetus* lisadas contra eritrocitos bovinos, solo se obtuvo presencia de actividad hemolítica en el primer caso, por lo que podríamos hipotetizar, en coincidencia con De Carli, que sería necesario el contacto entre ambas células para la posterior hemólisis (datos del autor sin publicar).

Benchimol *et al.* (2001) han estudiado la interacción del protozoario con espermatozoides bovinos observando que además de la adherencia ocurre una aglutinación y posteriormente una fagocitosis<sup>7</sup>. Además se comprobó que el sobrenadante o secreciones presentes en el sobrenadante del cultivo de *T. foetus* disminuían la motilidad de los espermatozoides en ensayos *in vitro*<sup>50</sup>. Estos hallazgos quizás contribuyan a la infertilidad que se asocia a esta enfermedad teniendo en cuenta un menor número de espermatozoides capacitados para fecundar.

## **b) Producción de enzimas extracelulares con efecto citotóxico**

En *T. foetus* es importante la producción de enzimas tanto endoenzimas como exoenzimas, estas últimas involucradas en el proceso de degradación de macromoléculas indispensable para la incorporación de nutrientes y además responsable del daño celular<sup>56</sup>.

Las proteinasas extracelulares, de las cuales las cisteinproteinasas (CP) son las de mayor

importancia en la patogenia de *T. foetus* degradan diferentes proteínas del hospedador, muchas de ellas componentes no específicos de la respuesta inmune del huésped, como fibrinógeno, fibronectina, albúmina y lactoferrina, ayudando al protozoo en la adquisición de hierro, adherencia celular, desintegración de la matriz extracelular epitelial y reduciendo los mecanismos para eliminar al protozoo<sup>66,67</sup>.

Burgess *et al.* (1990) observaron en estudios *in vitro* de citotoxicidad la lesión celular que provocan estas enzimas y sugirieron que esta acción también podría afectar al tejido placentario<sup>11</sup>.

Mediante técnicas de biología molecular fueron detectadas una gran variedad de CP y se evidenció que en todas las cepas no se encuentra el mismo número de copias<sup>41</sup>. Hasta el momento, las CP más importantes secretadas por *T. foetus* son la CP30 y la CP8, estas proteasas producen citotoxicidad en líneas celulares y se las asocia con la inducción de apoptosis de células epiteliales vaginales y uterinas. Dicho mecanismo de apoptosis pareciera ser por la activación de la caspasa 3, ya que un inhibidor de caspasas redujo considerablemente el efecto apoptótico<sup>58,59,40</sup>. Las caspasas son un grupo de proteínas perteneciente al grupo de las cisteín-proteasas, estas son mediadores esenciales de los procesos de apoptosis y la caspasas 3, 6 y 7 (caspasas efectoras) son la últimas en activarse en la cascada apoptótica<sup>26</sup>.

Singh *et al.* (2004) reportaron que la activación de la caspasa-3 fue inducida por la CP 30 de *T. foetus* y esto condujo a la apoptosis de células derivadas del tracto reproductor bovino como las BVECs y BUECs<sup>58</sup>.

Ante la presencia de todas estas enzimas extracelulares la posibilidad de *T. foetus* para ejercer su actividad citotóxica en células de cultivo epitelial sin adherencia específica merece ser considerada<sup>53</sup> ya que el efecto citopático está relacionado con la liberación de enzimas extracelulares del parásito y probablemente con un factor similar al de desprendimiento celular (cell-detaching factor) aislado en *T. vaginalis*, que posee un efecto tóxico para la célula

epitelial, originando la pérdida de la integridad del epitelio<sup>30</sup>.

En un trabajo realizado sobre la reproducción experimental de Trichomonosis genital en el modelo murino se observó mediante estudios histopatológicos que a partir del día 20 pos infección comenzaba una hiperplasia, metaplasia y necrosis de glándulas endometriales. En el día 40 pos infección se observó úlceras en el endometrio. Estas lesiones pueden ser inducidas por las enzimas extracelulares y el factor de desprendimiento celular mencionado anteriormente<sup>45</sup>.

Entre las endoenzimas, las endonucleasas son importantes, como la DNAsa, que es una glicoproteína de 160 kDa, catión dependiente, activada por manganeso e inhibida por zinc, con mayor actividad en medios ácidos. Tiene actividad hidrolítica sobre cadenas simples y dobles de DNA por lo tanto parece estar relacionadas con los procesos de apoptosis<sup>33</sup>.

### c) Mecanismos de evasión de la respuesta inmune

El parásito posee mecanismos que le permiten evadir la respuesta inmune del huésped. Estos mecanismos permiten una mayor resistencia del protozoo, y en determinadas ocasiones puede llevar a una cronicidad o larga persistencia de la infección. Es por ello, que estos mecanismos se comportan como factores de virulencia.

Como se mencionó en el ítem anterior las proteasas extracelulares secretadas por *T. foetus* (probablemente CP) favorecen al protozoo a evadir la respuesta inmune, esto es debido a la degradación de inmunoglobulinas (Ig), principalmente IgA e IgG, localizadas en vagina y útero respectivamente. Dichas proteasas tienen la capacidad de degradar a) isotipos de IgG2, encargadas de opsonizar y facilitar la fagocitosis mediada por neutrófilos<sup>5</sup> y b) evadir el complemento degradando la fracción C3 e inhibiendo la formación de C3b y la cascada de activación del complemento<sup>39</sup>. La acción de las CP definiría una eficiente evasión de la inmunidad humoral de mucosa



del tracto genital y la consecuente persistencia parasitaria. No obstante, los anticuerpos pueden ser genéticamente resistentes a ser degradados por la CP explicando el fenómeno de animales naturalmente resistentes o con mayor capacidad para liberarse de la infección<sup>5</sup>.

Por otro lado, las CP al producir hidrólisis sobre la fibronectina y fibrinógeno también alteran el mecanismo de eliminación del protozoario al impedir la unión parásito-neutrófilo o macrófago, etapa necesaria para la efectiva acción fagocítica. Rutkowski y Harmsen demostraron que ratones carentes de neutrófilos poseen una carga de *T. foetus* en el tracto reproductor mucho mayor a los controles y pareciera que los neutrófilos mediante la síntesis de óxido nítrico controlan temporalmente la diseminación de *T. foetus* en el tracto reproductor en las etapas iniciales de colonización del protozoario<sup>51</sup>.

También este parásito puede cubrirse y enmascararse por pegado de inmunoglobulinas y otras proteínas propias del huésped, este mecanismo se denomina enmascaramiento antigénico e impide al sistema inmune reconocerlo como extraño<sup>17</sup>.

Otro mecanismo interesante es la internalización de inmunoglobulinas específicas adheridas a la membrana citoplasmática, al citoplasma y su posterior degradación<sup>31</sup>. Dicha internalización se lleva a cabo vía receptores y se ha observado que es un proceso rápido<sup>1</sup>.

Un mecanismo bastante estudiado debido que resulta un desafío en la formulación de vacunas efectivas es la variación de los epitopes antigénicos de superficie, que inhiben la especificidad de los anticuerpos<sup>17</sup>. Así, la expresión del epitope Tf 1.17 varía entre diferentes poblaciones de *T. foetus*<sup>36,37</sup>. Con respecto a este punto, nuestro grupo realizó un análisis de los patrones antigénicos de aislamientos *T. foetus* mediante la técnica de SDS-PAGE (sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis). La movilidad electroforética de las proteínas, mostró un perfil de 34 bandas predominantes distribuidas entre 29 y 150 kDa, de las cuales 5 a 11 proteínas, dentro del rango de 45 a 97 kDa, se colorearon intensamente

con Coomassie brilliant blue G250. Mediante inmunoblot, se revelaron 26 bandas con un fuerte predominio de un antígeno de 50 kDa, presente en todas las cepas analizadas. Si bien en líneas generales, las cepas mostraron una similitud antigénica, se observaron variaciones cuantitativas de algunas proteínas expresadas<sup>43</sup>.

Sinhg *et al.* (2001) demostraron que el antígeno soluble glicosilado (SGA) adherido a la superficie del protozoario, es liberado al medio y actuaría ayudando a evadir la respuesta inmune ya que los anticuerpos estarían dirigidos hacia las moléculas liberadas<sup>57</sup>; no obstante una suficiente cantidad de SGA queda adherido al protozoario.

También se ha podido demostrar la presencia de un factor quimiotáctico de los neutrófilos (NCF) que se caracteriza por ser un polipéptido de 22-24 kDa<sup>47</sup>. Posteriormente se indicó que se trataría de la superóxido dismutasa de *T. foetus*, la cuál tiene propiedades quimioatrayentes hacia los neutrófilos<sup>32</sup>.

## CONCLUSIÓN

El control de la Trichomonosis genital bovina ha sido siempre un desafío para la medicina veterinaria en los sistemas de cría bovina con manejos extensivos. La investigación de esta enfermedad durante mucho tiempo estuvo basada en aspectos epidemiológicos, patogénicos y control de la enfermedad.

El principal interés científico fue orientado a la comprensión de la respuesta inmune y a la protección contra la infección, orientando las investigaciones al desarrollo de inmunógenos con el objetivo de lograr una respuesta inmune local y/o sistémica que evite las pérdidas embrionarias.

La utilización de nuevas técnicas moleculares en el estudio del agente etiológico ha permitido caracterizar el mecanismo de acción y los factores de virulencia del protozoario, que interactúan con el huésped a través de mecanismos de acción involucrados con el proceso de adherencia, daño tisular y evasión de la respuesta inmune.

Teniendo en cuenta que en la infección natural de la hembra bovina existen diferencias en la persistencia del protozoario, queda aún por investigar si todos los factores de

virulencia descriptos están presentes en todos los aislamientos de campo de *T. foetus*.

## BIBLIOGRAFÍA

- Affonso, A.L.; Benchimol, M.; Ribeiro, K.C.; Lins, U.; De Souza, W. Further studies on the endocytic activity of *Tritrichomonas foetus*. *Parasitol Res.* 1994; 80:403-413.
- Anderson, M.; Bon Durant, R.; Corbeil, R.; Corbeil, L. Immune and inflammatory response to reproductive tract infection with *Tritrichomonas foetus* in immunized and control heifers. *J Parasitol.* 1996; 82:594-600.
- Babál, P.; Russell, L. Sialic acid-specific lectin mediated adhesion of *Tritrichomonas foetus* and *Tritrichomonas mobilensis*. *J Parasitol.* 1999; 85:33-40.
- Barbeito, C.; Woudwyk, M.; Cacciato, C.; Soto, P.; Portiansky, E.; Catena, M.; Echeverría, H.; Gimeno, E.; Monteavaro, C. *Tritrichomonas foetus*: Experimental Infection in Pregnant BALB/c Mice. *Exp Parasitol.* 2008; 120:156-160.
- Bastida Corcuera, F.; Butler, J.E.; Heyermann, H.; Thomford, J.W.; Corbeil, L.B. *Tritrichomonas foetus* extracellular cysteine proteinase cleavage of bovine IgG2 allotypes. *J Parasitol.* 2000; 86(2):328-332.
- Benchimol, M.; De Andrade Rosa, I.; Da Silva Fontes, R.; Burla Dias A.J. *Trichomonas* adhere and phagocytose sperm cells: adhesion seems to be a prominent stage during interaction. *Parasitol Res.* 2008; 102:597-604.
- Benchimol, M.; Vargas Bernardino, M. Ultrastructural localization of glycoconjugates in *Tritrichomonas foetus*. *Parasitol Res.* 2001; 88(2):134-143.
- BonDurant, R.H. Pathogenesis, diagnosis, and Management of trichomoniasis in cattle. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 1997; 13:345-361.
- Bonilha, V.L.; Ciavaglia, M.C.; De Souza, W.; Silva Filho, F.C. The involvement of terminal carbohydrates of the mammalian cell surface in the cytoadhesion of trichomonads. *Parasitol Res.* 1995; 81:121-126.
- Burgess, D.E. *Tritrichomonas foetus*: Preparation of monoclonal antibody with effector function. *Exp Parasitol.* 1986; 62:266-274.
- Burgess, D.E.; Knoblock, K.F.; Daugherty, T.; Robertson, N.P. Cytotoxic and Hemolytic Effect of *Tritrichomonas foetus* on Mammalian Cells. *Infect Immun.* 1990; 58(11):3627-3632.
- Chaves Vilela, R.; Benchimol, M. Interaction of *Trichomonas vaginalis* and *Tritrichomonas foetus* with keratin: an important role in parasite infection. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2011; 106(6): 701-704.
- Cobo, E.; Campero, C.M.; Gimeno, E.J.; Barbeito, C.G. Lectin binding patterns and immunohistochemical antigen detection in the genitalia of *Tritrichomonas foetus*-infected heifers. *J Comp Pathol.* 2004; 131:127-134.
- Cobo, E.R.; Barbeito, C.G.; Fernández, P.E.; et al. Lectinohistoquímica del prepucio y pene de toros infectados experimentalmente con *Tritrichomonas foetus*. VI Reunión Argentina de Patología Veterinaria. UNNE. Corrientes. Julio 2008.
- Corbeil, L.B.; Chatterjee, A.; Foresman, L.; Westfall, J.A. Ultrastructure of cyclic changes in the murine uterus, cervix, and vagina. *Tissue Cell.* 1985; 17:53-68.
- Corbeil, L.B. Vaccination strategies against *Tritrichomonas foetus*. *Parasitol Today.* 1994; 10(3):103-107.
- Corbeil, L.B.; Anderson, M.L.; Corbeil, R.R.; Eddow, J.M.; Bondurant, R.H. Female reproductive tract immunity in bovine trichomoniasis. *Am J Reprod Immunol.* 1998; 24: 189-198.
- Corbeil, L.B.; Hodgson, J.; Jones, D.; Corbeil, R.; Widders, P.; Stephens, L. Adherence of *Tritrichomonas foetus* to bovine vaginal epithelial cells. *Infect Immun.* 1989; 57:2158-2167.
- De Carli, G.A.; Brasseur, P.; da Silva, A.C.; Wendorff, A.; Rott, M. Hemolytic Activity of *Trichomonas vaginalis* and *Tritrichomonas foetus*. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1996; 91:107-110.
- De Carli, G.A.; Tasca, T. *Trichomonas gallinae*: a possible contact-dependent mechanism in the hemolytic activity. *Vet parasitol* 2002; 106:277-283.



21. Dias Filho, B.P.; Souza, W.; Andrade, A.F.B.; Esteves, M.J.G.; Angluster, J. Phospholipase C-mediated release of neurominidase from *Tritrichomonas foetus* cell surface. *Parasitol Res.* 1995; 81(3): 188-192.
22. Doumecq, M.L.; Monteavaro, C.; Echevarría, H.; Catena, M.; Soto, P. Caracterización patogénica de cepas de *Tritrichomonas foetus* en la provincia de Buenos Aires. En libro de resúmenes de la XVII Reunión Científica Técnica de la de la Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorio de Diagnóstico (AAVLD). Santa Fe. Octubre 2008.
23. Doumecq, M.L.; Soto, P.; Echevarría, H.; Monteavaro, C. Clonado de cepas de *Tritrichomonas foetus* obtenidas de infecciones naturales en bovinos. *In Vet.* 2011; 13(2): 61-67.
24. Doumecq, M.L.; Barbeito, C.G.; Soto, P.; Cacciato, C.; Gimeno, E.J.; Monteavaro, C.E. Caracterización de carbohidratos de *Tritrichomonas foetus* y su relación con infección intravaginal en el modelo murino. En libro de resúmenes de la VIII Reunión Argentina de Patología Veterinaria y sexto Seminario de la Fundación Charles Louis Davies. Córdoba. Mayo 2012.
25. Doumecq, M.L.; Monteavaro, C.; Soto, P. Variación del efecto citopático entre diferentes cepas de *Tritrichomonas foetus* sobre líneas celulares CHO. En libro de resúmenes de la XIX Reunión Científica Técnica de la de la Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorio de Diagnóstico (AAVLD). CABA. Noviembre 2012; 321-323.
26. Earnshaw, W.C.; Martins, L.M.; Kaukmann, S.H. Mammalian caspases: structure, activation, substrates, and functions during apoptosis. *Annu Rev Biochem.* 1999; 68:383-424.
27. Felleisen, R.S. Host parasite interaction in bovine infection with *Tritrichomonas foetus*. *Microbes Infect.* 1999; 1:807-816.
28. Fiori, P.L.; Rappelli, P.; Rocchigiani, A.M.; Cappuccinelli, P. *Trichomonas vaginalis* haemolysis: evidence of functional pores formation on red cell membranes. *FEMS Microbiol Lett.* 1993; 109:13-18.
29. Fiori, P.L.; Rappelli, P.; Addis, M.F.; Sechi, A.; Cappuccinelli, P. *Trichomonas vaginalis* haemolysis: pH regulates a contact-independent mechanism based on pore-forming proteins. *Microb Pathog.* 1996; 20:109-118.
30. Garber, G.E.; Lemchuk-Favel, L.T.; Bowie, W.R. Isolation of a cell-detaching factor of *Trichomonas vaginalis*. *J. Clin. Microbiol.* 1989; 27(7):1548-1553.
31. Granger, B.L.; Warwood, S.J. Rapid internalization and degradation of surfacebound antibodies by *Tritrichomonas foetus*. *J Parasitol.* 1996; 82 (4): 539-549.
32. Granger, B.L.; Warwood, S.J.; Hayai, N.; Hayashi, H.; Owhashi, M. Identification of a neutrophil chemotactic factor from *Tritrichomonas foetus* as superoxide dismutase. *Mol Biochem Parasitol.* 1997; 89: 85-95.
33. Greenwell, P.; Younes, M.; Rughooputh, S. Purification and analysis of DNases of *Tritrichomonas foetus*: Evidence that these enzymes are glycoproteins. *Int J Parasitol.* 2008; 38: 749-756.
34. Hodgson, J.L.; Jones, D.W.; Widders, P.R.; Corbeil, L.B. Characterization of *Tritrichomonas foetus* antigens by use of monoclonal antibodies. *Infect Immun.* 1990; 58:3078-3083.
35. Hook, R.R.; St Claire, M.; Riley, L.; Franklin, C.; Besch-Williford C.L. *Tritrichomonas foetus*: comparison of isolate virulence in an estrogenized mouse model. *Exp. Parasitol.* 1995; 81:202-207.
36. Ikeda, J.S.; Bondurant, R.H.; Campero, C.M.; Corbeil, L.B. Conservation of a protective surface antigen of *Tritrichomonas foetus*. *J Clin Microbiol.* 1993; 31: 3289-3295.
37. Ikeda, J.S.; Bondurant, R.H.; Corbeil, L.B. Bovine vaginal antibody responses to immune affinity-purified surface antigen of *Tritrichomonas foetus*. *J Clin. Microbiol.* 1995; 33:1158-1163.
38. Jesus, J.B.; Lopes, A.H.; Meyer-Fernandes, J.R. Characterization of an ecto-ATPase of *Tritrichomonas foetus*. *Vet Parasitol.* 2002; 103:29-42.
39. Kania, S.A.; Reed, S.L.; Thomford, J.W.; et al. Degradation of bovine complement C3 by trichomonad extracellular proteinase. *Vet Immunol and Immunopathol.* 2001; 78: 83-96.

40. Lucas, J.J.; Hayes, G.R.; Kalsi, H.K.; *et al.* Characterization of a cysteine protease from *Tritrichomonas foetus* that induces host-cell apoptosis. *Arch Biochem Biophys.* 2008; 477(2): 239-243.
41. Mallinson, D.J.; Livingstone, J.; Appleton, K.M.; Lees, S.J.; Coombs, G.H.; North, M.J. Multiple cysteine proteinases of the pathogenic protozoan *Tritrichomonas foetus*: identification of seven diverse and differentially expressed genes. *Microbiol.* 1995; 141(12):3077-3085.
42. Midlej, V.; Vilela, R.; Dias, A.B.; Benchimol, M. Cytopathic effects of *Tritrichomonas foetus* on bovine oviduct cells. *Vet Parasitol.* 2009; 165:216-230.
43. Monteavaro, C.; Soto, P.; Catena, M.; Parma, A.; Echevarría H. Análisis antigénico de diferentes cepas de *Tritrichomonas foetus*. *Rev Med Vet.* 1999; 80(3):178-181.
44. Monteavaro, C.E.; Aguirre, J.I.; Soto, P.; *et al.* Interaction of *Tritrichomonas foetus* with the reproductive tract of experimentally infected female BALB/c mice: Ultrastructural evaluation. *Vet J.* 2007; 173: 204-208.
45. Monteavaro, C.; Soto, P.; Gimeno, E.J.; *et al.* Histological and lectin binding changes in the genital tract of mice infected with *Tritrichomonas foetus*. *J Comp Pathol.* 2008; 138:40-45.
46. Mutwiri, G.K.; Corbeil, L.B. Genital and systemic immune responses in a murine model of *Tritrichomonas foetus* infection. *J Parasitol.* 1998; 84(2):321-327.
47. Owhashi, M.; Tomiyoshi, F.; Hayashi, H. Isolation and characterization of a neutrophil chemotactic factor from *Tritrichomonas foetus* organisms. *Immunol Cell Biol.* 1994; 72:249-255.
48. Parsonson, I.M.; Clark, B.L.; Dufty, J. The pathogenesis of *Tritrichomonas foetus* infection in the bull. *Aust. Vet. J.*, 1974; 50:421-423.
49. Parsonson, I.M.; Clark, B.L.; Dufty, J.H. Early pathogenesis and pathology of *Tritrichomonas foetus* infection in virgin heifers. *J Comp Pathol.* 1976; 86:59-66.
50. Ribeiro, C.M.; Falleiros, M.B.; Bicudo, S.D.; *et al.* *Tritrichomonas foetus* extracellular products decrease progressive motility of bull sperm. *Theriogenology.* 2010; 73:64-70.
51. Rutkowski, M.R.; Harmsen, A.G. *Tritrichomonas foetus*: Pathogenesis of acute infection in normal, estradiol-treated, and stressed mice. *Exp Parasitol.* 2007; 115 (2):143-159.
52. Silva Filho, F.C.; Elias, C.A.; de Souza, W. Partial lost of fibronectin-binding sites on the cell surface of trichomonads after treatment of the parasites with alpha mannosidase. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1987. 82: 379-384
53. Silva Filho, F.C.; de Souza, W.; Lopes, J.D. Presence of laminin-binding proteins in trichomonads and their role in adhesion. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1988; 85:8042-8046.
54. Silva Filho, F.C.; Breier Saraiva, E.M.; Tosta, M.X.; de Souza, W. *Trichomonas vaginalis* and *Tritrichomonas foetus* secrete neuraminidase into the culture medium Original. *Mol Biochem Parasitol.* 1989; 35:73-78.
55. Silva Filho, F.C; Kasai, S; Nomizu, M.; *et al.* How laminin-1 can be reconized by the protozoan parasite *Tritrichomonas foetus*: possible role played by the extracellular matrix glycoprotein in both cytoadhesion and cytotoxicity exerted by the parasite. *Parasitol Int.* 2002; 51 (3):305-307.
56. Singh, B.N.; Lucas, J.J.; Beach, D.H.; Shin, S.T.; Gilbert, R.O. Adhesion of *Tritrichomonas foetus* to bovine vaginal epithelial cells. *Infect Immun.* 1999; 67:3847-3854.
57. Singh, B.N.; BonDurant, R.H.; Campero, C.M.; Corbeil, L.B. Immunological and Biochemical Analysis of Glycosylated Surface Antigens and Lipophosphoglycan of *Tritrichomonas Foetus*. *J Parasitol.* 2001; 87(4):770-777.
58. Singh, B.N.; Lucas, J.J.; Hayes, G.R.; *et al.* *Tritrichomonas foetus* induces apoptotic cell death in bovine vaginal epithelial cells. *Infect Immun.* 2004; 72(7):4151-4158.
59. Singh B.N.; Hayes G.R.; Lucas J.J.; Beach D.H.;

- Gilbert R.O. In vitro cytopathic effects of a cysteine protease of *Tritrichomonas foetus* on cultured bovine uterine epithelial cells. *Am J Vet Res.* 2005; 66:1181-1186.
60. Skirrow, S.Z. Bovine Trichomoniasis. *Veterinary Bulletin.* 1988; 58:591-603.
61. Skirrow, S.Z.; BonDurant, R.H. Immunoglobulin isotype of specific antibodies in reproductive tract secretions and sera in *Tritrichomonas foetus*-infected heifers. *Am J Vet Res.* 1990; 51: 645-653.
62. Soto, P.; Parma, A.E. The Immune Response in Cattle Infected with *Tritrichomonas foetus*. *Vet Parasitol.* 1989; 33:343-348.
63. Soto, P.; Echevarría, H.; Monteavaro, C.; Catena, M. Experimentally induced intravaginal *Tritrichomonas foetus* infection in mouse model. *Brazilian Journal of Veterinary Research.* 2005; 25(4): 225-230.
64. Soulsby, E.J.L. Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos. 7ma Edición. Nueva editorial interamericana S.A. de C.V. México D.F, 1987: 106-112
65. St. Claire, M.C.; Riley, L.K.; Franklin, C.L.; Besh-Williford, C.L.; Hook, R.R Jr. Experimentally induced intravaginal *Tritrichomonas foetus* infection in the estrogenized mouse. *Lab Anim Sc.* 1994; 44(5): 430-435.
66. Talbot, J.A.; Neilsen, K.; Corbeil, L.B. Cleavage of proteins of reproductive secretions by extracellular proteinases of *Tritrichomonas foetus*. *J Microbiol.* 1991; 37: 384-390.
67. Thomford, J.W.; Talbot, J.A.; Ikeda, J.S.; Corbeil, L.B. Characterization of extracellular proteinases of *Tritrichomonas foetus*. *J Parasitol.* 1996; 82(1): 112-117.
68. Van Andel, R.A.; Franklin, C.L.; ST Claire, M.C.; Riley, L.K, Besh-Williford, C.L.; Hook, R.R Jr. Lesions of experimental genital *Tritrichomonas foetus* infections in estrogenized BALB/c mice. *Vet. Pathol.* 1996; 33: 407-411.
69. Voyich, J.M.; Ansotegui, R.; Swenson, C.; Bailey, J.; Burgess, D.E. Antibody responses of cattle immunized with the Tf190 adhesin of *Tritrichomonas foetus*. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2001; 8:1120-1125.

