CAPÍTULO 21

Tritrichomonas foetus. Trichomonosis bovina

Cesar Iván Pruzzo

Generalidades

Tritrichomonas foetus es agente causal de la trichomonosis bovina, una enfermedad venérea cosmopolita, generalmente asociada a los establecimientos que realizan servicio de monta natural, produce infertilidad temporaria en las hembras durante aproximadamente los 4 a 6 meses que dura su infección, luego estas adquieren inmunidad, presentado en algunos casos piómetra, momificación fetal e incluso aborto en el primer tercio de la gestación. En el toro es asintomático, actuando este como diseminador de la enfermedad. Tritrichomonas foetus tiene como hábitat natural la cavidad prepucial del toro, colonizando la mucosa prepucial, peneana y uretra distal.

Los primeros reportes del agente de la tricomoniasis fueron realizados en Francia por Kunstler (1888) y en Italia por Mazzanti (1900). En Argentina el primer aislamiento fue reportado en 1939 por Rosenbusch en un feto abortado.

La presencia de *Tritrichomonas foetus* en un rodeo ocasiona disminución significativa de la producción anual de terneros y consecuentemente grandes pérdidas económicas.

El control de la tricomoniasis es difícil de realizar, ya que, en la actualidad no existe un tratamiento farmacológico específico y las vacunas que hay en el mercado no funcionan satisfactoriamente. Por consiguiente, el control de la tricomoniasis consiste en realizar pruebas diagnósticas en los toros para determinar su estado de negatividad antes del servicio reproductivo y como parte de la sanidad de los programas de inseminación artificial (IA).

Morfología

Tritrichomonas foetus posee aspecto piriforme, mide de 15 a 24 μm de largo por 5 a 8 μm de ancho. Tiene tres flagelos anteriores y uno posterior unido al soma por una la membrana ondulante. Posee costa y axostilo constituidas por microtúbulos, siendo estas las estructuras principales del citoesqueleto, que le dan sostén y forma al parásito. El axostilo es una estructura tubular que se origina en la región anterior, en el cuerpo parabasal, teniendo un recorrido curvo alrededor del núcleo, luego continúa por todo el soma, sobresaliendo una corta proyección en la región

posterior del cuerpo. La costa se origina de la región anterior y actúa como una estructura basal de la membrana ondulante.

Su metabolismo es anaerobio o microaerófilo. Necesita de un pH neutro a levemente alcalino. Posee una movilidad pulsátil que es máxima a 37°C.

Tritrichomonas foetus presenta en su membrana plasmática lipoglucopéptidos, denominado lipofosfoglican (LPG), que le otorga características antigénicas propias del género y especie. Además de hidratos de carbono unidos a proteínas, compuestos por ácido siálico, ácido N-acetil glucosamina, N -acetil galactosamina y manosa, que actúan como receptores para adherirse al hospedador.

Los flagelos se originan del cuerpo parabasal o blefaroplasto. Los tres flagelos anteriores están libres y el posterior unido al soma por medio de la membrana ondulante, abandona al soma dejando una porción libre. La membrana ondulante, es una estructura fibrilar que se origina en la porción anterior del parásito y se proyecta hacia la zona posterior siguiendo el recorrido la costa. (Figura 1)

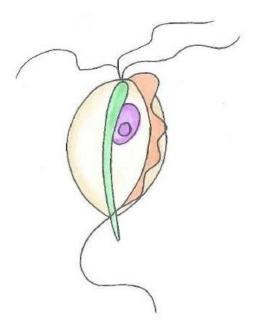


Figura 1. Trofozoíto de T. foetus.

Presenta un núcleo de localización excéntrica, rodeado por el retículo endoplasmático, y próximo se encuentra el complejo de Golgi. Además, se observan, entre otras organelas, fagosomas y liposomas.

Hospedadores

Solo afecta a la especie bovina, aunque se han reportado hallazgos en mucosa intestinal de félidos. Se alojan en la mucosa prepucial y peneana del toro fundamentalmente en los pliegues,

criptas y glándulas. En la hembra coloniza de manera ascendente luego de la infección, primeramente, la vagina, el cérvix y luego el útero. Infecta al embrión o feto provocando reabsorción u abortos tempranos, no superando los 4 meses de gestación. Su distribución es cosmopolita, siendo una gran problemática en aquellos rodeos de cría y tambo donde se realiza monta natural, si bien el uso de inseminación artificial ha disminuido la prevalencia de esta parasitosis, *T. foetus* sobrevive en el semen congelado.

Ciclo Biológico

El ciclo biológico es simple, se transmite durante el coito del toro a la hembra o viceversa, o mediante maniobras mecánicas en la exploración o incluso, aunque en menor medida por la IA. No presenta forma de resistencia o quistes.

Patogenia

El macho es portador asintomático, habitualmente de por vida. No afecta a la libido ni la calidad del semen.

Los toros mayores de tres años se infectan más fácilmente que los jóvenes, esto se debe a que las tritrichomonas se mantienen en los pliegues y en las criptas prepuciales, las cuales adquieren mayor tamaño y profundidad con la edad del animal, generando un ambiente anaerobio propicio para el crecimiento y desarrollo de estos.

La mayor concentración de trichomonas se halla sobre la mucosa del pene y prepucio adyacente, en concentración pueden variar desde menos de 200 a 800000 *T. foetus /* ml.

La baja estimulación antigénica de *T. foetus* no genera una respuesta inmune suficiente que sea capaz de eliminar al agente de la cavidad prepucial. Los toros infectados se convierten en una fuente permanente de infección para el rodeo (toros carrier). Raramente se curan de manera espontánea.

En la hembra, la patogenia es más intensa conllevando a cambios significativos en el tracto reproductivo. Puede producir vaginitis, cervicitis y endometritis que impiden la anidación del cigoto y se produce reabsorción embrionaria, observándose repeticiones de celos a intervalos normales o un poco más prolongados. En algunos casos se manifiesta más tardíamente, provocando maceración fetal, piómetra o aborto en los primeros meses de gestación. La hembra se cura espontáneamente por mecanismos inmunológicos.

Se consideraba la existencia de hembras portadoras, llamadas "carrier", que mantenían la infección después del parto o de un año para el otro. En realidad, se concluyó que se reinfectaban por otras causas.

En las hembras la susceptibilidad es independiente de la edad. Sin embargo, en rodeos crónicamente infectados, las vacas generan inmunidad al tener contacto previo con el parásito, presentándose porcentajes de preñez menores en vaquillonas.

Cuando la parasitosis ingresa en un rodeo sano no hay diferencia de preñeces entre las categorías vaca y vaquillona.

Tritrichomonas foetus no puede sintetizar algunas macromoléculas necesarias para su crecimiento, las obtiene por lisado de células de su hospedador. En la cavidad prepucial las bacterias y la propia descamación de células epiteliales producen la lisis. En las hembras, además de estos mecanismos, existe una acción citotóxica del parásito sobre las células. En esta interacción hospedador-parásito intervienen varios factores de virulencia responsables de la patogenicidad, como son los factores de adhesión, factores de lisis celular y otros encargados de la evasión de la respuesta inmune, que le permiten sobrevivir a pesar de la presencia de anticuerpos.

Signología clínica

Los signos que se observan corresponden al rodeo (solo en los vientres). Si el servicio es estacionado lo que se observa es que hacia el final de la temporada sigue habiendo animales en celos. Disminución del porcentaje de preñez, entre el 5 al 50%. Dispersión de las preñeces con aumento de cola de pariciones.

Se debe destacar que cuando un rodeo se infecta por primera vez, en el primer año no aparecerán todos los signos y los bajos porcentajes de preñez, ya que el porcentaje de toros infectados es bajo al principio y en los sucesivos servicios el número de toros infectados se irá incrementando, produciéndose la explosión de la de enfermedad.

En rodeos infectados por tricomoniasis, se puede alcanzar un porcentaje de vacas vacías entre 45,3% y 57%, resaltando el impacto de la enfermedad. Además, se citan reducciones entre 14% y 50% de la producción de terneros y 4 a 10% del retorno monetario por ternero nacido. Si bien el porcentaje de establecimientos infectados ha ido disminuyendo, la realidad es diferente cuando se diagnostica por primera vez en algún área geográfica, mostrando un amplio contraste epidemiológico con aquellas áreas geográficas donde se examinan a los toros anualmente de manera sistémica.

Diagnóstico

El diagnóstico de certeza se realiza por la observación del agente etiológico en medios de cultivo para evaluar su crecimiento y desarrollo (diamond, macrotric, etc.). Las muestras se incuban a 37°C y se observan cada 24 hs durante 7 a 10 días, con el fin de detectar el desarrollo del agente. Consiste en identificar microscópicamente al protozoario teniendo en cuenta su forma y movimientos espasmódicos. En algunos casos, en los medios de cultivo puede haber crecimiento

de otros trichomonadidos, como *Pentatrichomonas* spp. o *Tetratrichomonas* spp., que se encuentran en el tracto digestivo de los bovinos, en el suelo y agua estancadas con orina y heces. Estas especies pueden llegar a contaminar las muestras, siendo necesario para su diferenciación la utilización de técnicas de tinción, como GIEMSA o T 15 de Biopur (Imagen 1), o PCR (Reacción en cadena de la polimerasa), que permiten amplificar dos secuencias específicas de genes de la Proción 5,8 s rADN y regiones internas trascriptas ITS1 e ITS2 para *Tritrichomonas foetus*.

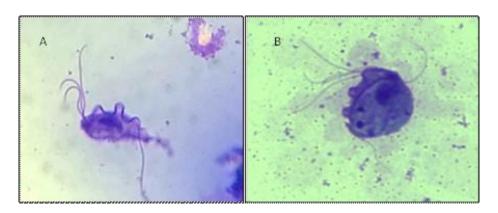


Imagen 1. Tinción 15 de Biapur 100X. A) Tritricomona foetus B) Pentatrichomonas spp.

En toritos criados a corral o en toros que se encierran días antes a la toma de muestras, la contaminación con otros trichomonadidos suele ser frecuente. Es común que se monten entre ellos y se transmitan los flagelados intestinales, que no son patógenos y pueden inducir a un diagnóstico erróneo. Además, las muestras se pueden contaminar con materia fecal adherida a los pelos de la zona del prepucio, por la presencia de barro y materia fecal que aumenta en los días posteriores a lluvias, lo que dificulta la toma de muestras limpias. Las tetratrichomonas tienen un mayor tamaño, forma más globosa y se desplazan más lentamente y pesadamente en los medios de cultivo.

La base del control de la enfermedad es la detección del toro infectado, para lo cual se realizan tomas de muestras de esmegma prepucial pre-servicio. La muestra se toma con raspadores descartables o metálicos de bronce previamente esterilizados (las tritrichomonas mueren en agua en ebullición a 60°C), tratando de tomarla lo más limpia posible (siendo las zonas más sucias el orificio prepucial y la mucosa adyacente). Si bien existen otras técnicas, como la aspiración en seco o el lavado prepucial con PBS, estas son más engorrosas para realizar a campo y por un solo operario, por lo que la primera es la más utilizada.

Se recomienda encerrar a los toros el mismo día de la toma de muestras para evitar la monta y de esta manera la contaminación.

Una vez tomada la muestra, se siembra en el medio de cultivo, con el mismo instrumento que fue tomada, evitando los cambios bruscos de temperatura. Se colocan en una caja de telgopor con papel de diario y se envían de inmediato al laboratorio.

El diagnóstico de trichomonosis por cultivo de material prepucial, es una técnica de fácil aplicación, económica, con alta sensibilidad y especificidad. La sensibilidad del método está relacionada estrechamente con la metodología de la toma de muestra, el instrumento utilizado y el número de muestreo. Estadísticamente la posibilidad de dar negativo de un toro infectado es de 10 a 20% con un solo muestreo, de 1 a 4% con dos y de 0,1 a 0,30% con tres muestreos.

En la hembra el diagnostico se realiza generalmente en aquellas que presentan signología, (aborto, piómetra), sumado a un porcentaje de la vacas sin signos. Para la toma de muestras se realiza una maniobra similar a la de IA, con una pipeta intermediaria y jeringa, aspirando el contenido del cuello del útero. Luego la muestra se procesa como la del prepucio.

En el feto se toma muestra del líquido abomasal con aguja y jeringa y/o hisopado faríngeo. Luego, la muestra se siembra el medio para *T. foetus*.

Tratamiento y prevención

No existe un tratamiento eficiente para la tricomoniasis. Antiguamente se utilizaba metronidazol, pero se ha generado resistencia. Por lo que el control de la enfermedad está enfocado a la detección y eliminación del rodeo de los toros infectados.

Evitar el ingreso de animales vecinos. Mantener instalaciones en buen estado, sobre todo los alambrados perimetrales para evitar el ingreso de toros vecinos. No incorporar al rodeo ganado sin controles sanitarios previos. La utilización de IA disminuye la posibilidad de contagio. En lo posible utilizar animales jóvenes en la época reproductiva.

El método de diagnóstico por cultivo presenta una eficacia de 70 a 90% en la detección de toros infectados, por lo que se recomienda realizar mínimo dos raspados para detectar a todos los toros infectados del rodeo.

El estado de trichomonas libre es un estado muy lábil y de una semana a la otra se nos puede infectar un toro si tiene acceso a una hembra parasitada.

Referencias

Alves, T.M., Stynen, A.P.R., Miranda, K.L. & Lage, A.P. (2011). Campilobacteriose genital bovina e tricomonose genital bovina: epidemiologia, diagnóstico e controle. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*. 31:336-344.

Campero, C.M., Dubra, C.R., Bolondi, A., Cacciato, C., Cobo, E., Perez, S., ... & BonDurant, R.H. (2003). Two-step (culture and PCR) diagnostic approach for differentiation of non-T. foetus trichomonads from genitalia of virgin beef bulls in Argentina. *Veterinary parasitology*. 112(3): 167-175.

- Cobo, E.P., Favetto, V.M. Lane, A., Friend, K., VanHooser, J., Mitchell, R.H. & BonDurant, R.H. (2007). Sensitivity and specificity of culture and PCR of smegma samples of bulls experimentally infected with *Tritrichomonas foetus*. *Theriogenology*. 68: 853–860.
- Cobo, E.R. & Campero, C.M. (2002). Nuevos aspectos inmunológicos y vacunales de la tricomoniasis bovina. Revista de Medicina Veterinaria. 83: 203-208.
- Felleisen, R.S.J., Lambelet, N., Bachmann, P., Nicolet, J., Müller, N. & Gottstein, B. (1998). Detection of *Tritrichomonas foetus* by PCR and DNA Enzyme Immunoassay Based on rRNA Gene Unit Sequences. *Journal of Clinical Microbiology*. 36(2): 513-519.
- Filho, R.B.O., Malta, K.C., Borges, J.M., Oliveira, P.R.F., Filho, G.J.S., Nascimento, G.G., Mota, R.A. & Júnior, J.W.P. (2018). Prevalence and risk factors associated with *Tritrichomonas foetus* infection in cattle in the state of Paraíba, Brazil. *Acta Parasitologica*. 63:346-353.
- Hayes D.C., Anderson, R.R. & Walker, R.L. (2003). Identification of trichomonadid protozoa from the bovine preputial cavity by polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism typing *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 15: 390–394.
- Molina, L., Angón, E., García, A., Caballero-Villalobos, J., Giorgis, A.R.H. & Moralejo Perea, J.A. (2018). Retrospective epidemiological analysis of shared risk factors for bovine. trichomoniasis and bovine genital campylobacteriosis in La Pampa province (Argentina). *Preventive Veterinary Medicine*. 161:109-114.
- Mutto, A.A., Giambiaggi, S. & Angel, S.O. (2006). PCR detection of *Tritrichomonas foetus* in preputial bull fluid without prior DNA isolation. *Veterinary parasitology*. 136(3-4): 357-361. Ondrak,
 J. (2016). *Tritrichomonas foetus*. Prevention and control in cattle. *Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice*. 32(2): 411-23.
- Sanchez, R.O. & Boerco, C.A., (2013). Presencia de trichomonadidas y otros protozoos no patógenos durante 5 años de diagnóstico de tricomonas. *Veterinaria Argentina*. 30(303): 1-3.
- Soto, P., Monteavaro, C. & Echevarría, H. (2013). Epidemiología y control de la Trichomonosis bovina. En: *Enfermedades parasitarias de importancia clínica y productiva en rumiantes*. 1ra. Ed. Buenos Aires, Argentina, Edit. Hemisferio Sur. p. 381-402.
- Vignau, M.L., Venturini, L.M. & Romero, J.R. (2001). *Parasitología práctica*. 1ra Ed. Edit. Universidad Nacional de La Plata. La Plata, Argentina. 13-25.
- Villa, C.E., Sarmiento, F., Mazzoleni, D., Lopez Fonseca, M. & Sergnini D. (2005). *Trichomoniasis* 30 años después, 1ª Ed. Buenos Aires. Dunken.
- Yao, C. (2013). Diagnosis of *Tritrichomonas foetus*-infected bulls, an ultimate approach to eradicate bovine trichomoniasis in US cattle? *Journal of Medical Microbiology*. 62: 1-9.