



XXV Conferencia de la World Association for the Advancement of the Veterinary Parasitology. Liverpool; 2015.

- Pruzzo C.I. (2019). Dinámica de la infestación por *Fasciola hepática* en el sur de la provincia de Entre Ríos. Trabajo de Tesis realizado como requisito para optar al título de Dr. en Cs. Veterinarias Facultad de Cs. Veterinarias, UNLP. Disponible en: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/78667>.
- Rondelaud D., Titi A., Vignoles P., Mekroud A., Dreyfuss G. (2014). Adaptation of *Lymnaea fuscus* and *Radix balthica* to *Fasciola hepática* through the experimental infection of several successive snail generations. Parasit Vectors. 7:296.
- Thaddeus K, Graczy K, Bernard F. (1999). Development of *Fasciola hepática* in intermediate host. En: JP Dalton, ed. London; 1999. p.31-43.
- Torgerson P, Claxton J. Epidemiology and control. En: JP Dalton, ed. London, 1999. p. 544.
- Ueno H. & Gonçalves P.C. (1988). Manual de laboratorio para el diagnóstico de helmintos en rumiantes. 2° ed. Japan International Cooperation Agency Tokyo, Japan. 166 pp.
- Venturini L. (1990). El ciclo de *Fasciola hepática* Linneo 1758 en *Lymnaea viatrix* d'Orbigny 1835: su duración y las formas juveniles presentes con temperatura de verano. Vet Arg. 7(62): 84-90.

## Trichomoniasis

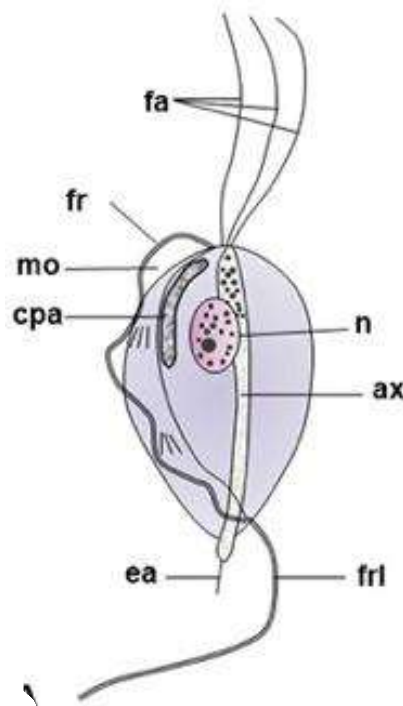
Enfermedad parasitaria que en los bovinos se caracteriza por reabsorción embrionaria, infertilidad, aborto y piómetra, producida por un protozoo flagelado - *Tritrichomonas foetus* (*T. foetus*).

Clasificación: Phylum: Sarcompastigophora; Subphylum: Mastigophora; Clase: Zoomastigophora; Orden: Trichomonadida; Familia: Trichomonadidae

### Etiología y signos clínicos

Los trofozoítos se caracterizan por tener una forma variable, generalmente piriforme. *T. foetus* mide de 15 a 24  $\mu\text{m}$  de largo por 5 a 8  $\mu\text{m}$  de ancho. Poseen tres flagelos anteriores y un flagelo recurrente que se origina del cuerpo parabasal o blefaroplasto. El flagelo recurrente está unido al soma por la membrana ondulante a lo largo de su borde libre, siguiendo el recorrido de la costa (terminando libre en el extremo posterior), formada

por un haz de microtúbulos que dan rigidez a la célula y soporte a la membrana ondulante. El citoesqueleto está conformado por el axostilo, constituido por microtúbulos con forma de bastón, que sobresalen del extremo posterior más puntiagudo. Poseen un núcleo oval y excéntrico, aparato de Golgi y carecen de mitocondrias, ya que su metabolismo es anaerobio o microaerófilo, aunque sobrevive en presencia de oxígeno.



**Figura 3.** Esquema de *Trichostrongylus axei*. Abreviaturas: ax, axostilo; cpa, cuerpo parabasal; ea, espina del axostilo; fa, flagelos anteriores; fr, flagelo recurrente; frl, flagelo recurrente libre; mo, membrana ondulante; n, núcleo.

Su multiplicación se produce en la mucosa genitourinaria, mediante fisión binaria. El ciclo biológico es simple, se transmite durante el coito (venérea). También puede transmitirse por inseminación artificial, ya que es capaz de sobrevivir a la criopreservación. Recientemente Martínez (et al., 2023), pudo demostrar la existencia de formas de resistencia o quistes, que le permitirían sobrevivir en el ambiente, pudiendo en ocasiones ser de importancia (reservorio).

Es necesario describir por separado lo que sucede en machos y en hembras. En los toros no presenta sintomatología (no afecta la libido ni la calidad seminal), por lo que son considerados portadores asintomáticos. *T.*



*foetus* coloniza la superficie de la mucosa prepucial, siendo ésta su hábitat natural (también mucosa del pene y uretra distal) permaneciendo de por vida. Se acumula en los pliegues y criptas prepuciales, que aumentan de tamaño y profundidad con la edad. Esto hace que sea más prevalente en toros mayores a tres años, generándose allí el microambiente propicio (secreciones, descamación celular y anaerobiosis) para su desarrollo.

La inflamación no logra generar una estimulación antigénica suficiente para desarrollar una respuesta inmune capaz de eliminar el agente de la cavidad prepucial. Efecto similar ocurre con los anticuerpos séricos, cuya producción es baja o nula.

En la hembra bovina produce lesiones en el tracto reproductor, muchas veces intensas, con cambios significativos en los tejidos, pudiendo provocar vaginitis, cervicitis y endometritis que impiden la nidación del cigoto y se produce reabsorción embrionaria, observándose repeticiones de celos a intervalos normales o un poco más prolongados. La pérdida de la preñez ocurre generalmente entre el día 60 y 75 post infección. A diferencia del macho, generalmente la hembra se cura espontáneamente por mecanismos inmunológicos, en un proceso que puede durar entre 2 y 6 meses (hay reportes de más de 22 meses). Los anticuerpos séricos en hembras, aunque resultan variables en título y duración, alcanzan valores máximos en torno a las 12 semanas post infección y caen luego de 6 meses, por lo que pueden reinfectarse durante su vida productiva. Independientemente del nivel de respuesta inmune, ésta no evita las consecuencias clínicas (pérdida de la preñez).

Si el rodeo está estacionado, pueden observarse animales en celo hacia el final de la temporada de servicio, mayor dispersión de las preñeces con aumento de la cola de pariciones y disminución del porcentaje de preñez (entre el 5 y el 50%).

La presencia de esta enfermedad ocasiona una disminución significativa en la producción anual de terneros, conllevando a importantes pérdidas económicas. En rodeos infectados, se citan reducciones entre el 14% y el 50% de la producción de terneros y del 4% al 10% del retorno monetario por ternero nacido. Si bien a nivel global el porcentaje de establecimientos infectados ha disminuido, hay regiones (como sucede en la provincia de Buenos Aires), que muestran fluctuaciones y no logran reducir de forma sostenida la prevalencia.



## Epidemiología

La tricomoniasis genital bovina es una enfermedad cosmopolita, que ha sido controlada en muchos países. En aquellos países en los cuales se realizan explotaciones extensivas con servicio por monta natural como Argentina, continúa siendo un problema.

Actualmente en el país esta parasitosis es endémica, aunque la diversidad de sistemas de producción genera condiciones que se reflejan en las prevalencias regionales de la enfermedad. En la provincia de Buenos Aires, se determinó una prevalencia de rodeo del 28% (Pérez et al., 2006) y del 3% al 7% de los toros (Niño et al., 2018); en Salta se detectó en el 1,8% de los rodeos y 0,9% de los toros (Neuman et al., 2010), en Santiago del Estero se halló en el 28,5% de los rodeos evaluados y en el 1,2% de los toros (Neuman et al., 2013); en La Pampa la prevalencia en rodeos es del 2,4% y en toros del 0,6% (Fuchs, 2017). En este último caso se aplica desde 2006 un programa para el control y erradicación de las enfermedades venéreas en toros (PCEV).

En bovinos, la vacunación resulta un tema de estudio desde hace casi 70 años. Hoy en día se sabe que la inmunidad humoral tiene mayor importancia que la inmunidad celular en los mecanismos de acción frente al parásito, por lo que los desarrollos actuales no son eficaces.

## Diagnóstico y control

El diagnóstico en bovinos se realiza por cultivo y observación del agente etiológico.

Para ello se deben tomar muestras directamente del aparato reproductor. En machos, las muestras se obtienen de raspaje prepucial (20-30 movimientos). Deben muestrearse todos los machos en edad reproductiva. Los raspadores pueden ser descartables o reutilizables, plásticos o metálicos de bronce previamente esterilizados (*T. foetus* muere en agua a más de 60° C). Si bien existen otras técnicas efectivas como la aspiración en seco o lavajes prepuciales con PBS, estas son más engorrosas para realizar a campo, requiriendo más personal y mejores herramientas e instalaciones, por lo que el raspaje resulta más práctico y es la más difundida. Para la toma de muestra se recomienda reposo sexual de por lo menos 15 días, situación que permite el aumento (por acumulación) de la carga parasitaria y por lo tanto, las posibilidades diagnósticas.



Se recomienda encerrar los animales el mismo día del muestreo y evitar hacerlo con corrales embarrados o posterior a lluvias. Se recomienda higienizar con papel descartable (seco) el orificio prepucial y mucosa adyacente, pudiendo recortarse el pelo de la zona, asegurando que la muestra sea lo más limpia posible. Al momento de realizar el raspaje es recomendable estimular la micción previamente, de modo de reducir el riesgo de contaminación.

En la hembra bovina el diagnóstico se indica únicamente en aquellas que hayan presentado signología clínica (vacuidad luego de la temporada de servicio, aborto o piómetra). La toma de muestra se puede realizar con el mismo raspador o por aspirado o lavado del cérvix (el aislamiento de estas muestras resulta más dificultoso debido a la gran variabilidad de carga parasitaria).

En fetos abortados puede aislarse del líquido abomasal de al menos 1 cm<sup>3</sup> (con aguja y jeringa estéril).

Una vez obtenida la muestra, es recomendable realizar inmediatamente la siembra en un medio de cultivo (técnica de referencia o *gold standard*), utilizando el mismo instrumento con el que se obtuvo la muestra. Una vez sembrado el medio de cultivo debe mantenerse a temperatura ambiente y arribar al laboratorio entre las 24 y 48 hs luego de tomada la muestra. Los medios de cultivo selectivos, pueden ser líquidos o semisólidos, en base a extracto de carne o caldo de hígado, con el agregado de peptona y suero bovino o equino descomplementado. Además, contienen antibióticos para inhibir el crecimiento de bacterias, que por contaminación puedan interferir en el diagnóstico.

Las muestras se incuban a 37°C y se observan cada 24 hs con el fin de detectar el desarrollo del agente, que generalmente ocurre entre el 2do y 4to día de incubación, pudiendo ocurrir hasta el día 7. Esto fundamenta los 7 días de duración del cultivo en las rutinas diagnósticas. El desarrollo en el medio de cultivo es progresivo hasta que consumen sus nutrientes y terminan muriendo. La observación puede hacerse extrayendo (en medios líquidos previa agitación del tubo porque decantan) una gota en portaobjetos y observando a 100X en microscopio óptico. Se observan los trofozoitos piriformes y móviles.

Este tipo de diagnóstico resulta práctico y económico, con alta sensibilidad y especificidad. La sensibilidad está relacionada con el modo de obtención de la muestra, el instrumento utilizado, periodicidad,



contaminación, entre otros. Existen referencias de 10-20% de sensibilidad con un muestreo, 96-99% con 2 muestreos y superior al 99% con tres muestreos o más. Esto sugiere la necesidad de realizar al menos dos muestreos con el objetivo de aumentar la posibilidad diagnóstica (sensibilidad). En campos problema, se recomienda realizar 3 o incluso más (en la medida que aparezcan nuevos positivos). Se recomienda un intervalo entre muestreos de 15 días (ciclo de recambio epitelial).

Ocasionalmente (2,7% a 11,8%) puede haber crecimiento de otros trichomonadidos, como *Pentatrichomonas spp.* o *Tetratrichomonas spp.*, entre otros (Sánchez et al., 2013). Éstas no son patógenas y pueden encontrarse en el tracto digestivo de los bovinos o en el medio ambiente (agua estancada y/o contaminada). El desarrollo de estos trichomonadidos no patógenos suele ocurrir especialmente en muestras contaminadas con barro o materia fecal. Suele ser más frecuente en muestras obtenidas de toros vírgenes, criados a corral, en épocas lluviosas (el barro contamina la muestra y la región a muestrear) o en toros cuando se encierran un día o más antes del muestreo, montándose entre ellos, lo que predispone su presencia.

Su aislamiento, plantea una dificultad en la especificidad del diagnóstico por cultivo, siendo necesario para su diferenciación la utilización de técnicas de tinción (como Giemsa o Tinción 15) para observación en microscopio óptico a 1000X.

Otra alternativa (con demanda creciente) es el diagnóstico mediante técnicas de biología molecular, como PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) que permite la diferenciación por la detección de dos secuencias específicas de *Tritrichomonas foetus*. Este tipo de diagnóstico consiste en la duplicación en millones de copias de una secuencia específica de ADN, a partir de una pequeña cantidad de material genético. El PCR puede ser "a punto final" (convencional) o "real time" (qPCR). Si bien el fundamento de la técnica es el mismo, la qPCR presenta mayor sensibilidad, es más rápida y permite la cuantificación del material genético. En la PCR convencional se utilizan cebadores (*primers*), TRF3 y TRF4 que amplifican el gen que codifica para el segmento 5.8 de ARNr y los segmentos ITS1, TTS2, (Felleisen et al., 1998). A partir de este protocolo, se han readaptado los procedimientos para realizar la qPCR (MacMillen et al., 2006; Schoeder et al., 2023). Ambas técnicas moleculares han demostrado tener, teóricamente, mayor sensibilidad y especificidad que los medios de cultivo.



La PCR convencional es de uso más difundido especialmente de modo complementario al desarrollo en los cultivos, aumentando la especificidad de éstos ya que permite diferenciar secuencias de ADN específicas para *T. fetus* y otros trichomonadidos no patógenos. La qPCR requieren una puesta a punto y validación, con protocolos internacionales que no están estandarizados (como en el caso de la PCR convencional) pudiendo variar los resultados (con falsos negativos y positivos). Esta situación, lleva a que en muchos laboratorios no se esté implementando.

Concluyendo, las técnicas de biología molecular demandan una inversión elevada en equipamiento e infraestructura, con alto costo de funcionamiento (con insumos importados), necesidad de personal técnico altamente capacitado y una validación y puesta a punto, crítica en qPCR. Aunque prometen reducir la cantidad de muestreos, hasta el momento las recomendaciones con respaldo científico sostienen al menos 2 muestreos para obtener resultados confiables. En tanto las pruebas diagnósticas clásicas (cultivo y tinción), resultan más económicas, pudiendo aumentarse su especificidad (reduciendo los falsos positivos) mediante pruebas complementarias con PCR convencionales, de uso en casos puntuales.

Deben considerarse que las condiciones de muestreo impactan fuertemente en la calidad del diagnóstico realizado por cualquier técnica.

El control de la enfermedad, está enfocado en la detección de positivos (todos los toros) mediante revisiones periódicas y su eliminación del rodeo (mayor riesgo en toros >3-4 años). El mantenimiento de alambrados perimetrales evitaría infecciones con toros linderos (deberían incluirse en la rutina diagnóstica si el vecino resultase un problema). Adicionalmente, la estacionalización del servicio y el diagnóstico de preñez facilitan a la detección del problema y junto con técnicas de inseminación artificial (reduce los costos en reposición de reproductores al disminuir las tasas de contagio) pueden ayudar a erradicarla del establecimiento.

Las hembras pueden eliminar el parásito y considerarse aptas reproductivamente luego de al menos 3 ciclos. En los machos no existe un tratamiento eficaz, permaneciendo los mismos como portadores de por vida debiendo eliminarse del rodeo.

La vacunación resulta un tema de estudio desde hace casi 70 años. Hoy en día se sabe que la inmunidad humoral tiene mayor importancia que la inmunidad celular en los mecanismos de acción frente al parásito. Los



desarrollos actuales no logran evitar la infección, aunque hay indicios que, en ocasiones, pueden reducir las pérdidas gestacionales.

El manejo de esta enfermedad resulta difícil ya que son numerosos factores los que intervienen (técnicos, epidemiológicos y prácticos, etc).

Resulta clave sostener las medidas y recomendaciones generales para un correcto manejo reproductivo, mantener instalaciones y realizar diagnóstico siempre.

#### Bibliografía

- Felleisen, R. S., 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. J Clin Microbiol, 36, 513-51
- Fuchs, L. I. (2017) Tricomoniasis bovina: caracterización de cepas prevalentes en la provincia de La Pampa e inmunoprofilaxis de la enfermedad mediante el empleo de vacunas experimentales en vaquillonas Tesis doctoral. FCV-UNLP. <https://repositorio.inta.gob.ar>.
- Martínez C.I.; Iriarte L.S.; Salas N.; Alonso A.M.; Pruzzo C.I.; dos Santos Melo T.; Pereira Neves A.; de Miguel N.; Cóceres V.M. (2023). Supervivencia prolongada del parásito venéreo *Tritrichomonas fetus* en el tracto gastrointestinal, extracto fecal bovino y agua. Microbiol Spectr 11: e00429-23. <https://doi.org/10.1128/spectrum.00429-23>
- McMillen, L., & Lew, A. E. (2006). Improved detection of *Tritrichomonas foetus* in bovine diagnostic specimens using a novel probe-based real time PCR assay. Veterinary parasitology, 141(3-4), 204-215. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.06.012>
- Neumann, R., Arguello, G., Salatin, A., & Aguirre, D. (2013). Prevalencia de tricomoniasis bovina y campylobacteriosis genital bovina en rodeos de cría de los departamentos Jiménez y Pellegrini, Santiago del Estero. XXXVI Reunión de AAPA. Corrientes. Argentina.
- Neumann, R., Salatin, A., Gaido, A., Clement, M., & Aguirre, D. (2010.) Prevalencia de Trichomoniasis y campylobacteriosis bovinas en rodeos de pequeños ganaderos de la provincia de Salta. Libro de resúmenes XVIII Reunión Científico Técnica. AAVLD. E15.
- Niño Uribe, A., Romero, J., Illanes, F., Cherrutti, C., Pruzzo, C., & Aldabe, A. (2018). Informe preliminar sobre inestabilidad de la prevalencia de