

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**“Interacción de mecanismos patológicos
hormonales e inmunológicos en bovinos
afectados con Trichostrongylus axei”**

POR

JOSÉ VALENTIN GUTIÉRREZ TINTORI

MONOGRAFÍA

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER
EL TÍTULO DE:**

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

ASESOR:

MVZ. MC. Francisco J Carrillo Morales

CO ASESOR

MVZ. RODRIGO I. SIMÓN ALONSO

TORREÓN, COAHUILA

MARZO 2011

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**“Interacción de mecanismos patológicos
hormonales e inmunológicos en bovinos
afectados con Tritrichomona foetus”**

POR

JOSÉ VALENTIN GUTIÉRREZ TINTORI

MONOGRAFÍA

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER
EL TÍTULO DE:**

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TORREÓN, COAHUILA

MARZO 2011

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**“Interacción de mecanismos patológicos
hormonales e inmunológicos en bovinos
afectados con Tritrichomona foetus”**

MONOGRAFÍA

Aprobada por el

PRESIDENTE DEL JURADO


MVZ. FRANCISCO J. CARRILLO MORALES

**COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL
DE CIENCIA ANIMAL**


MVZ. RODRIGO I. SIMÓN ALONSO



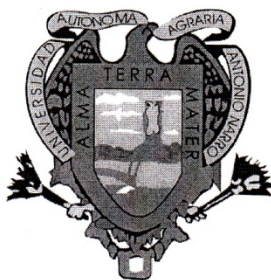
**Coordinación de la División
Regional de Ciencia Animal**

TORREÓN, COAHUILA

MARZO 2011

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**


DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



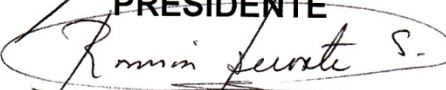
**“Interacción de mecanismos patológicos
hormonales e inmunológicos en bovinos
afectados con Trichostrongylus axei”**

MONOGRAFÍA

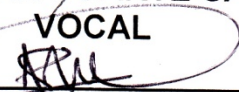
Aprobada por el H. Jurado examinador



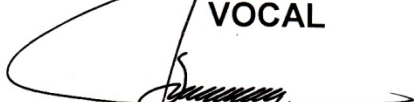
MVZ. MC. FRANCISCO J. CARRILLO MORALES
PRESIDENTE



MVZ. ROMAN DUARTE SALAZAR
VOCAL



MVZ. JOSÉ LUIS FRANCISCO SANDOVAL ELÍAS
VOCAL



MVZ. RODRIGO SIMÓN ALONSO
VOCAL SUPLENTE

TORREÓN, COAHUILA

MARZO. 2011

AGRADECIMIENTOS

A DIOS:

GRACIAS A DIOS POR DARME LA FE, FORTALEZA Y SABIDURIA PARA ENFRENTAR LOS TROPIESOS Y LAS ADVERSIDADES A LO LARGO DE MI CAMINO. LE DOY GRACIAS POR PRESTARME ESTA VIDA TAN MARAVILLOSA.

A MIS PADRES:

LES ESTOY AGRADECIDO POR DARME LA VIDA, EN LA QUE HAN COMPARTIDO SU AMOR, SABIDURIA Y EXPERIENCIAS QUE ME HAN DADO LA MADUREZ SUFICIENTE PARA SALIR ADELANTE. GRACIAS POR ESTAR CONMIGO EN LAS ALEGRÍAS Y TRISTEZAS QUE DA LA VIDA.

A MI QUERIDA UNIVERSIDAD ALMA TERRA MATER:

GRACIAS POR ALBERGAR DENTRO DE SU CENO A LAS PERSONAS MAS NOBLES QUE COMO MAESTROS Y COMO AMIGOS NOS ENSEÑARON Y NOS DIERON LA SABIDURIA PARA SALIR ADELANTE EN UN MUNDO LLENO DE RETOS.

A MI MAESTRO Y AMIGO:

MC. FRANCISCO JAVIER CARRILLO MORALES, GRACIAS POR SU PORTICIPACIÓN EN MI CARRERA APARTE DE MAESTRO POR CONVIVIR COMO AMIGO. QUIERO AGRADECER EL APOYO QUE ME BRINDASTE PARA LA REALIZACIÓN DE ESTE TRABAJO.

GRACIAS A TODOS Y CADA UNO DE MIS MAESTROS QUE COMPARTIERON TIEMPO DE SU VIDA DURANTE MI FORMACIÓN COMO PROFECIONAL. GRACIAS POR SER MIS AMIGOS.

DEDICATORIA

A MI DIOS, MIS PADRES Y MI FAMILIA:

CON AMOR RESPETO Y ADMIRACIÓN, A USTEDES COMO UNA MUESTRA DE PERSEVERANCIA Y GRANDES LOGROS.

A MIS MAESTROS:

MVZ.MC. FRANCISCO JAVIER CARRILLO MORALES
MVZ. ROMAN DUARTE SALAZAR
MVZ. JOSÉ LUIS FRANCISCO SANDOVAL ELÍAS
MVZ. RODRIGO ISIDRO SIMÓN ALONSO.

POR APOYARME E IR PASO A PASO DURANTE MI CARRERA, Y POR CONTAR CON USTEDES COMO UN GRAN APOYO AL SALIR ADELANTE EN ESTA VIDA LLENA DE TROPIESOS Y ALEGRÍAS.

Resumen.

En el presente trabajo se hace una revisión de los aspectos vinculados con la difusión de la trichomonosis en el país poniendo énfasis no sólo en las características morfológicas y ultra estructurales, sino también en la patogenicidad de *Tritrichomonas foetus*. Se considera el efecto de la trichomonosis sobre el tracto reproductor bovino e interacción con el sistema inmune. También se mencionan los factores enzimáticos y de citotoxicidad y su vinculación con los cambios antigénicos que la relación huésped-protocoo puede ocasionar. Asimismo, se citan los recientes avances vinculantes entre los mecanismos hormonales e inmunológicos durante la preñez en el bovino, por un lado, y la interacción de *T. foetus* al expresar su patogenicidad, por el otro. Se consideran los mecanismos inmunes humorales y a nivel patológico que la enfermedad natural ocasiona en ambos sexos. Se analiza la respuesta inmune inducida por vacunas contra *T. foetus*, haciendo una expresa referencia a los trabajos efectuados con vacunas elaboradas con antígenos a célula entera y a subunidades. Se describen además aspectos recientes del diagnóstico y la presencia de otros protozoos aislados del exudado prepucial de toros, como también se destaca la necesidad de utilizar otras técnicas como PCR, inmunohistoquímica y microscopía electrónica. Finalmente, se mencionan cuestiones vinculadas al control y tratamiento de la enfermedad.

Palabras claves: *Tritrichomonas foetus*; Inmunoprolifaxis; inmunidad genital; bovinos, vacunas.

INDICE

AGRADECIMIENTOS	i
DEDICATORIA.....	ii
Resumen	iii
INDICE	iv
Introducción.....	1
Antecedentes	2
Estado actual de la enfermedad.....	4
Prevalencia.....	4
Morfológica, y clasificación taxonómica, y otras especies.....	5
Patología genital.....	7
Patogénesis y mecanismos enzimáticos de T. foetus	9
Adhesión y citotoxicidad.....	9
Mecanismo de endocitosis	11
Variación antigénica	11
Duración y colonización	17
Respuesta inmune inducida por vacunas contra T. foetus.....	19
Inmunoprolifaxis por célula entera de T. foetus.....	19
Inmunoprolifaxis por subunidades de T. foetus.....	20
Inmunoprolifaxis en Toros	22
Adyuvante en vacunas de T. foetus	23
Diagnóstico de la trichomonosis bovina	24
Cultivo.	26
Tratamiento	27
Bibliografía.	29

INDICE DE TABLAS

Tabla	
1.....	28

Introducción.

En México al igual que el resto del mundo se hace necesario aumentar la producción de carne y leche, para alimentar a una población humana en constante crecimiento, en tal sentido plantea como meta mejorar la eficiencia reproductiva y el rendimiento del ganado, para poder hacer frente a la demanda de proteína de origen animal. Mejorar la eficiencia reproductiva, constituye un reto para el éxito económico de nuestra ganadería, Aún cuando la mayor parte de la ganadería en México puede parcialmente obtener 70 a 80% de partos anuales, la cifra real promedio se encuentra alrededor de un 50%. Esta diferencia entre el potencial y la realidad tiene su fundamento en la baja productividad de la ganadería Mexicana e igualmente de la América Latina tropical. Alteraciones de orden fisiológico, endocrino y nutricional afectan la capacidad reproductiva del ganado, ocasionando problemas tales como: anestro, aborto, piómetras, repetición de celos, muertes embrionarias y retenciones placentarias entre otras. Estos síntomas se encuentran ligados a una serie de enfermedades del tracto reproductivo que constituyen una causa predisponente de infertilidad y esterilidad del rebaño. (13, 29, 31)

Al mencionar enfermedades del tracto reproductivo como la Brucelosis, Leptopirosis, Campilobacteriosis, Vibriosis y Trichomoniasis, IBR, DVB, se destaca la importancia de desarrollar programas para controlar y erradicar dichas enfermedades, que por su naturaleza y características inciden negativamente en la producción de las nuevas crías. (12).

Estas razones motivaron la realización del presente trabajo con la finalidad de aislar e identificar el agente etiológico *Trichomonas foetus*, del tracto reproductivo de toros de diferentes razas y edades, teniendo como objetivos específicos: Identificar la prevalencia poblacional de trichomoniasis en toros positivos y negativos ubicados en las diferentes establos de la, Comarca Lagunera utilizando como método de diagnóstico la ducha o lavado prepucial.

Evaluar las posibles asociaciones de las condiciones de manejo con la presencia de enfermedad en animales de diferentes razas y edades localizados en la Comarca lagunera.

- Evaluar la asociación de problemas reproductivos con la presencia de la enfermedad.
- Informar a los productores acerca de la situación general de la Trichomoniasis bovina en la zona y concientizarlos sobre la importancia de los controles sanitarios. (48).

La trichomonosis bovina o tricomoniasis (130) es una enfermedad de transmisión sexual ocasionada por el protozoo flagelado *Tritrichomonas foetus* (12, 56, 97). La infección afecta el área genital de los bovinos produciendo en la hembra vaginitis, endometritis, mortalidad embrionaria y abortos con ocasionales piómetras (4, 50, 52, 53, 142). En el macho la infección usualmente es asintomática y crónica sin afectar la libido ni su fertilidad (51, 141, 154) siendo más frecuente en machos adultos y viejos (27, 29). Los toros permanecen infectados para toda su vida. Los signos de la enfermedad en el rodeo se basan en baja tasa de preñez, repetición de servicios con celos irregulares, preñez des uniforme y abundantes preñeces tardías (29, 52, 53). La pérdida del embrión o expulsión del feto en estadios tempranos de la gestación (2-4 meses) motiva la repetición del celo al finalizar el servicio. Debido al escaso desarrollo del feto, el aborto pasa desapercibido en condiciones de ganadería extensiva (48).

Antecedentes.

La Tricomoniasis bovina es una enfermedad de transmisión sexual ocasionada por el protozoo *Tritrichomonas foetus* (*T. foetus*) (Honigberg 1978). El huésped definitivo es el bovino (*Bos taurus* y *Bos indicus*), pero ha sido ocasionalmente aislado del búfalo, equino, cerdo y roedores (Honigberg 1978; McCool y col. 1987). *T. foetus* es un protozoo flagelado de 9 a 18 x 4 a 8 µm de tamaño, piriforme, que posee una membrana ondulante la cual recorre todo el cuerpo formando de 2 a 5 ondulaciones y presenta tres flagelos anteriores y un flagelo posterior (Honigberg 1978; Mattos y col. 1997; Lun y Gajadhar 1999). Los mecanismos metabólicos de glicólisis son realizados mediante una organela de doble membrana denominada hidrogeno soma, la cual le permite

al protozoo adaptarse a vivir en condiciones de anaerobiosis o microaerofilia (Honigberg 1978).

La enfermedad se transmite por vía sexual, resultando suficiente 200 a 80000 flagelados para establecer la infección en el prepucio de un toro (Clark 1971). Sin embargo, puede difundirse por inseminación artificial, ya que el parásito puede permanecer viable en el semen congelado infectado (BonDurant 1997).

La enfermedad en el macho cursa generalmente en forma asintomática sin afectar la calidad seminal ni la libido (BonDurant 1997). En toros mayores de 4 a 5 años, la recuperación espontánea raramente ocurre (menos del 10% de los toros afectados) y el toro se convierte en una fuente permanente de infección para el rodeo, comportándose el mismo como 'carrier' o transmisor (BonDurant 1997). Estudios realizados en EE.UU han mencionado que toros menores de 3 a 4 años suelen presentar una infección transitoria o bien son resistentes a *T. foetus* (BonDurant 1997). A diferencia de ello, el hallazgo de toros infectados de dicha edad o menor es un hallazgo común en Argentina (Campero Palladito 1983; Campero y col. 1987(b)).

En la hembra bovina, *T. foetus* persiste en las secreciones genitales por 90 a 190 días (Skirrow y BonDurant 1990 (a); Campero y col. 1993) pudiendo persistir hasta 300 días post servicio (Mancebo y col. 1995). *T. foetus* ocasiona en las hembras bovinas muerte embrionaria, infertilidad transitoria, descargas uterinas, piómetra y ocasionalmente aborto (Rhyan y col. 1988; Campero y col. 1993). Sin embargo, es factible que *T. foetus* infecte el útero preñado durante toda la gestación, pudiendo la vaca parir un ternero a término normal y persistiendo la infección en vagina por 6 a 9 semanas post-parto (Skirrow 1987). Por otra parte, ensayos realizados en INTA Balcarce Argentina permitieron aislar *T. foetus* de vagina de vacas con 6 meses de gestación, desapareciendo posteriormente el protozoo y pariendo las hembras un ternero viable (Campero,).

Dentro de los signos clínicos de un rodeo infectado con *T. foetus* se menciona la repetición de celos, preñeces tardías en un servicio de 3-4 meses,

baja tasa de preñez, prolongados intervalos entre partos y una marcada cola de parición (Clark y col. 1983 (b)).

Estado actual de la enfermedad.

La Tricomoniasis bovina ha sido controlada en la mayoría de los países avanzados mediante el empleo de medidas reproductivas tales como la inseminación artificial, control sanitario del semen y el descarte de los animales infectados. Así, en Inglaterra solo se reportaron dos casos en el período 1974-1994 (Taylor y col. 1994) y en Suiza no se registraron casos en igual período (Felleisen y col. 1998). Sin embargo, en países con ganadería extensiva y con la utilización de servicio natural, la enfermedad continúa siendo un problema.

En el noroeste de España se estimó una prevalencia de 2.9% toros infectados con *T. foetus* (Martín-Gómez y col. 1997). La prevalencia de la enfermedad en rodeos cárnicos de EE.UU se estimó en 15.8% en rodeos de California (BonDurant y col. 1990) y entre 26.7% a 44.1 % en rodeos de Nevada (Kvasnicka y col. 1989). En Saskatchewan, Canadá, el 6% de los toros analizados estaban infectados con *T. foetus* (Ryley y col. 1995) y también se reportó la enfermedad en establos de México, Costa Rica y Australia (Pérez y col. 1992; BonDurant 1997).

En Argentina, T. foetus se evidenció como responsable de pérdidas reproductivas en hatos para cría en 1966 a partir de un feto abortado de la localidad bonaerense de Bordenave gracias al aporte del Dr. RM Roberts (29). Desde esa instancia comenzó a difundirse el conocimiento del diagnóstico y manejo de la enfermedad, (29). en la Pampa húmeda, Su esfuerzo y dedicación permitieron apoyar las acciones iniciales para mejorar el control de la enfermedad (29, 34).

Prevalencia

El impacto biológico y productivo de la trichomonosis bovina radica en la temprana pérdida de la preñez ocasionada por *T. foetus* (56, 142) causando perjuicios económicos severos en los rodeos para carne y leche que utilizan el servicio natural (13, 29, 31, 49, 118, 121, 147, 148, 149).

La enfermedad es estimada por la información proveniente de laboratorios privados de diagnóstico veterinario, no existiendo trabajos de relevamiento estadístico a nivel nacional. Los datos recopilados permitieron caracterizar parte de la problemática en la década del 80 (77). Los laboratorios privados de diagnóstico veterinario del país estiman incidencias variables según zonas. Si bien esta información es sesgada dado que no son datos estadísticos y provienen de áreas con diferentes ecosistemas, con ingreso de muestras no sistematizadas de las zonas de influencia, donde realizan, en no más del 50-55% de los casos, el seguimiento anual de los hatos. Pese a las mencionadas limitantes, la información aportada se considera de valor. En aquellas zonas donde la enfermedad se diagnostica por primera vez, los porcentajes de infección son superiores.

La enfermedad ha sido solo erradicada en países donde se implementó un estricto uso de metodologías reproductivas como la inseminación artificial, el control sanitario del semen y el descarte de aquellos animales infectados. Sin embargo, la mayoría de los países con ganadería extensiva con servicio natural, sigue siendo un problema sanitario relevante. Se ha notificado su presencia en el noroeste de España en 2,9% de toros (121), Canadá el 6% (158) y en México, Costa Rica y Australia está presente aunque no bien cuantificada (11, 144). En EEUU, California, el 15,8% de los rodeos presentaron al menos un toro infectado (13), Nevada, 26,7% al 44,1% (110), Florida, 30,4% de los rodeos estaban infectados (149).

Morfológica, y clasificación taxonómica, y otras especies

Tritrichomonas foetus es un protozoo del género *Tritrichomonas*, familia *Trichomonadidae*, clase *Phytomastigophorea* y del *phylum* *Sarcomastigophora*.

Compartiendo similar género con *Tritrichomonas mobilensis* y *Tritrichomonas suis*. Por su parte, el agente de la tricomoniasis humana, *Tricomonas vaginalis* pertenece al género *Tricomonas* (12, 97). *T. foetus* es piriforme y mide de 9 a 18 μm x 4 a 8 μm , aunque debido a la plasticidad de su protoplasma adopta diversas formas según requerimientos fisiológicos (98, 122, 182). Como característica del subreino eucariota, *T. foetus* posee un

núcleo usualmente esférico u ovoide (98). Se identificaron dos formas de *T. foetus*: una en estado de *trofozoito* caracterizado por una forma elongada que constituye la mayor parte de la población normal, y otra forma *seudoquística*, oval e inmóvil, que aparece en condiciones de medio ambiente desfavorable como temperatura hostil o deficiencias nutricionales (92, 120, 143). *T. foetus* posee tres flagelos anteriores de 11 a 17 μm de largo y un flagelo posterior de 16 μm que conforma una membrana ondulante que recorre todo el cuerpo formando 2 a 5 ondas (98, 122, 182) (Figura 1).

Las trichomonas presentan unos organelos únicos, los hidrogenosomas, que tienen doble membrana, se dividen por fisión e importan proteínas en post translación (9, 60, 119). Los hidrogenosomas realizan la glicólisis y producción de ATP anaeróbica del piruvato y malato ya que este protozoo carece de mitocondrias y peroxisomas (9, 60, 119). Si bien los hidrogenosomas tienen una función similar a las mitocondrias, los primeros carecen de genoma propio, cadena respiratoria y citocromos. ((9, 60, 119). El complejo blefaroplasto es otro organelo característica de *T. foetus*, formado por los gránulos basales denominados kinetosomas que se conectan con los flagelos (122). Desde el blefaroplasto surge el axostilo, estructura tubular prominente, delgada e hialina que se curva alrededor del núcleo y pasa longitudinalmente a través del protozoo emergiendo en una corta proyección a caudal (114), y la costa que es un cuerpo basal débilmente cromático que corre por debajo de la membrana ondulante (122).

T. foetus no tiene vida libre ni formas quísticas de sobrevivencia ya que la formación de pseudoquistes es solo un fenómeno de adaptación al huésped en condiciones desfavorables (120). No posee huéspedes intermediarios y debe siempre habitar un huésped que será definitivo en el desarrollo parasitario (12, 52, 97). El huésped de *T. foetus* es el bovino, ya sea *Bos taurus* como *Bos indicus*, aunque puede ocasional y probablemente en forma temporaria colonizar otras especies incluyendo búfalo, equino, cerdo, roedores (12, 80, 97, 124) e inclusive humanos, donde se lo menciona en un caso incidental asociado a un trasplante de médula ósea (131).

T. foetus se transmite, bajo condiciones naturales, exclusivamente por vía sexual (52). La transmisión mecánica o por vía pasiva, por la cual un toro libre de la

infección sirve en un corto tiempo a una hembra infectada en primera instancia y luego a una segunda hembra, infectándolo pasivamente a ésta última, es poco probable en condiciones naturales ⁽⁵²⁾., trabajos realizados al evaluar toros sanos mediante la prueba de capacidad de servicio efectuada sobre hembras bovinas conocidas de estar infectadas con *T. foetus*, se pudo comprobar con qué facilidad algunos toros lograban infectarse al estar en contacto con la hembra durante no más de 20 min. de servicio ⁽⁴²⁾. En condiciones artificiales, *T. foetus* puede difundirse por inseminación artificial ya que el protozoo permanece viable en el semen congelado infectado ^(11, 34, 78).

En la actualidad, y mediante técnicas de biología molecular que permiten conocer el genoma de organismos, nuevos interrogantes se han planteado sobre la taxonomía y huéspedes de *T. foetus*. Así, *T. foetus* presenta una morfología idéntica y una secuencia genética de ARNr homóloga con *Tritrichomonas suis*, habitante apatógeno de la cavidad nasal y tracto digestivo del cerdo. La extrema similitud entre *T. foetus* y *T. suis* sugiere que se tratarían de una misma especie adaptada a diferentes huéspedes ^(81, 82, 83, 97, 122, 171). Pese a ello, un reciente trabajo efectuado con una cepa de *T. suis*, la misma no logró establecerse y colonizar el tracto genital de vaquillonas ⁽⁵⁸⁾. Por otra parte, *T. foetus* fue identificada como agente causal de diarrea crónica en gatos donde colonizó el epitelio del íleo, ciego y colon ^(87, 88, 89, 90, 113). Estos hallazgos sugieren reconsiderar el ciclo de vida de *T. foetus* y eventuales fuentes de diseminación de la enfermedad hasta hoy no contempladas incluyendo la coexistencia de bovinos con cerdos y gatos debiéndose mejorar el conocimiento sobre la posibilidad de la transmisión entre estas especies.

Patología genital.

En los toros, *T. foetus* coloniza exclusivamente los estratos superficiales de la mucosa de la cavidad prepucial, incluyendo las criptas peneanas, fornix y parte distal de la uretra, menos frecuentemente las criptas prepuciales ^(27, 34, 141, 154). Es por ello que existe una mayor frecuencia de presentación en los toros adultos y viejos, pese a ello la enfermedad está presente en toros jóvenes ⁽²⁹⁾. Diferentes antígenos parasitarios son captados por las células presentadoras de antígenos, Presumiblemente macrófagos, localizados en la lámina propia, que inducen una respuesta inmune caracterizada por IgG1, IgA e IgM específicas ^(27, 33, 154). *T. foetus* puede producir una leve balanopostitis ^(27, 33, 141, 154). Si bien las lesiones genitales

no son patognomónicas de *T. foetus*, los antígenos parasitarios son captados y procesados en la mucosa prepucial en forma similar a como ocurre en la mucosa genital de las hembras siendo el tracto genital del toro una potencial vía de inmunización local. Clínicamente, la trichomonosis bovina en el macho cursa en forma asintomática y en toros mayores de 4 a 5 años es rara la recuperación espontánea (50). Dicho fenómeno hace del toro una fuente permanente de infección y transmisión en el hato. (11, 29, 31).

En la hembra, *T. foetus* induce a una precoz pérdida de la preñez que se extiende desde la muerte embrionaria o fetal antes del día 120 de gestación, infertilidad transitoria, descargas uterinas, piómetra y ocasionales abortos tardíos (50, 142, 151, 153). Luego del coito, *T. foetus* invade la vagina induciendo una respuesta inflamatoria leve caracterizada por proliferación de linfocitos, macrófagos y células plasmáticas en la lámina propia vaginal (4, 43, 142) persistiendo en las secreciones genitales por 13 a 28 semanas. También coloniza tempranamente el cérvix, útero y oviductos y durante la gestación, la placenta y feto generando una moderada a severa endometritis con presencia de agregado linfoideos y células inflamatorias en el estrato compacto (4, 43, 142). *T. foetus* no es invasiva y se adhiere superficialmente al epitelio endometrial siendo rodeada por células inflamatorias y detritus celulares (4, 43, 142). Por otra parte, *T. foetus* puede ocasionalmente infectar el útero preñado en tiempo de gestación avanzada (Campero, datos sin publicar) e inclusive llegar la gestación a término y parir un ternero normal denominándose a estas vacas carrier o portadoras crónicas llegando a persistir hasta por 6 a 9 semanas post-parto (118, 165).

Este fenómeno determina que dichas vacas resulte una importante fuente de infección para el rodeo en el próximo servicio (11, 29, 118, 165).

En la placenta y feto produce placentitis con presencia de infiltrado a base de macrófagos y neutrófilos a nivel cotiledonario y en carúnculas (151). En los fetos, la lesión más frecuente es una bronconeumonía piogranulomatosa con ocasionales células gigantes, enteritis necrotizante y la presencia de flagelados libres o fagocitados (46, 151, 152, 153). Al ocurrir el aborto, el feto es expulsado aunque esporádicamente, puede ser retenido, momificarse o macerarse y originar una piómetra (11, 53).

Patogénesis y mecanismos enzimáticos de *T. foetus*.

T. foetus posee endo y exoenzimas que incluyen beta-galactosidasas (177), glycosidasas relacionadas con la ruptura de la capa de mucina genital (64) y neuraminidasas localizadas en la periferia del protozoo (76). Sin embargo, la cisteinproteinasa extracelular (117, 176) es la enzima de mayor importancia en la patogénesis de *T. foetus*. La cisteinproteinasa degrada diferentes proteínas del hospedador, incluyendo fibrinógeno, fibronectin, albúmina y lactoferrina (ayuda al protozoo en la adquisición de hierro, adherencia celular y desintegración de la matriz extracelular epitelial (172). A su vez, favorece al protozoo a evadir la respuesta inmune humoral degradando isotipos de IgG, especialmente IgG2, encargadas de opsonizar y facilitar la fagocitosis mediada por neutrófilos (7) y a evadir el complemento degradando la fracción C3 e inhibiendo la formación de C3b y la cascada complementaria (105). La acción de la cisteín-proteinasa definiría una eficiente evasión de la inmunidad humoral mucosal del tracto genital y la consecuente persistencia parasitaria (7). Por otra parte, los anticuerpos pueden ser genéticamente resistentes a ser degradados por la cisteín-proteinasa explicando el fenómeno de animales naturalmente resistentes o con mayor capacidad para liberarse de la infección (7).

Otra enzima importante en la patogenia de *T. foetus* es la neurominidasa ubicada en la membrana parasitaria y en las vesículas cerca de la superficie (72, 76). Esta enzima hidroliza la unión glicosídica α -2,3- entre el ácido siálico y los glicoconjugados de superficie revelando los glucoconjugados celulares internos (6).

Esta remoción del ácido siálico permitiría la adhesión celular de *T. foetus* como prerrequisito para una posterior degradación de glicoconjugados por parte de otras glicosidasas o proteasas parasitarias (6, 18).

Adhesión y citotoxicidad.

La interacción entre las membranas superficiales del protozoo y las células huéspedes definen la sobrevivencia del parásito, el establecimiento de la infección y el desarrollo de la enfermedad (68, 104). Inicialmente y favorecido por el pH vaginal (6.5), *T. foetus* se adhiere al epitelio superficial queratinizado de la vagina mediante su flagelo posterior y luego por el resto del soma (80), siendo luego capaz de adherirse y producir daños cito tóxicos por contacto (22, 23, 163).

En el proceso de adhesión de *T. foetus* intervendrían moléculas específicas, como la fibronectina, que reconocería la matriz extracelular del huésped (3) y la ecto- ATPasa Mg²⁺ dependiente, que desdoblaría la D-galactosa ubicada en la superficie mucosal del huésped (104). A su vez, el proceso de adhesión se ve facilitado por lectinas superficiales de *T. foetus* que se unen específicamente al ácido siálico de la superficie mucosa (6) y otras moléculas superficiales de las trichomonas reconocidas genéricamente como adhesinas (80). Dichas adhesinas tendrían también la capacidad de adherirse y destruir los glóbulos rojos por hemoaglutinación (74). A su vez, las adhesinas se postulan como candidatos antigénicos para vacunas ya que sus carbohidratos son reconocidos como epitopes por el hospedador e inducen la formación de anticuerpos *in vitro* los cuales previenen la adhesión y colonización parasitaria (164).

Entre las adhesinas con potencial inmunogénico, se describen los lipofosfoglicanos (LPG), comúnmente presentes en la superficie de *T. foetus* y unidos a la membrana parasitaria por una molécula de inositol-fosfoceramida (161).

Los LPG son glicoconjugados ricos en fucosa y en menor cuantía manosa, galactosa, glucosamina, glucosa y galactosamina (162), su composición lipídica incluye principalmente ácido palmítico y esteárico (161). Otra adhesina superficial es la Tf 190 denominada así por su peso molecular (190.000 kDa), la cual contiene 2 subunidades inmunogénicas de 140 kDa y 60 kDa más ciertos componentes polipeptídicos (161). Tf 190 tiene la propiedad de inducir una respuesta inmune caracterizada por linfocitos T los cuales pueden desarrollar una respuesta de memoria ante un nuevo desafío (161).

La adhesina superficial Tf 1.17 es otra glicoproteína altamente glicosilada (50- 70kDa) que posee un péptido extra unido covalentemente con el resto de la molécula de lipofosfoglicanos (164). Este péptido exclusivo le otorgaría a Tf 1.17 mayor poder inmunogénico comparado con el LPG (164). Así, Tf 1.17 estimula anticuerpos que inhiben la adhesión parasitaria al epitelio vaginal y favorecen la aglutinación y destrucción de *T. foetus* mediante el complemento (96). Estas cualidades *in Vitro* sugieren la posibilidad del uso de

vacuna contenedora de Tf 1.17 que evite *in vivo* la migración del protozoo hacia el útero y la consecuente endometritis e infertilidad (14, 96).

Otra adhesina de *T. foetus* es el antígeno soluble y glicosilado (SGA), el cual es continuamente liberado desde la superficie del protozoo y relacionado químicamente con LPG y Tf 1.17 (164). En este caso, a pesar que el SGA ayudaría a evadir la respuesta inmune ya que los anticuerpos estarían dirigidos hacia las moléculas liberadas, una suficiente cantidad de antígeno permanece adherido al parásito como para considerar al SGA un candidato vacunal (164). Otras adhesinas, de aproximadamente 100kDa de peso molecular, fueron descritas en la superficie del protozoo y en las vesículas citoplasmáticas aunque normalmente estarían enmascaradas por carbohidratos específicos y se expondrían solo ante determinadas condiciones (74). Finalmente, la similitud química y fisiológica de varias de las adhesinas descritas para *T. foetus* sugieren que, en ciertos casos, podría tratarse de una misma molécula o grupo de ellas.

Mecanismo de endocitosis.

T. foetus presenta un activo mecanismo de endocitosis que le permite internalizar hacia los lisosomas anticuerpos adheridos a la membrana plasmática, principalmente IgG2 y en menor medida IgG1 y degradarlos mediante proteasas (69, 91, 180). La degradación de anticuerpos mediante uniones inespecíficas es un mecanismo de evasión por parte de *T. foetus* donde la respuesta inmune requiere entre 28 a 50 días para sobrepasar su capacidad endocítica (65). Además, desde el punto de vista diagnóstico, la adhesión de *T. foetus* a anticuerpos inespecíficos predispone la detección de falsos positivos en pruebas destinadas a evaluar la unión del protozoo con anticuerpos específicos (65, 71, 180).

Variación antigénica.

La variación antigénica es un mecanismo de evasión de la respuesta inmune utilizado por organismos patógenos que tienen como hábitat los órganos genitales bovinos como *Campylobacter fetus* (66) y *Leptospira sp.* (2) y que le permiten a los organismos sobrevivir a pesar de la presencia de anticuerpos. *T. foetus*, luego de una prolongada exposición a factores

adversos, como la presencia de anticuerpos, también es capaz de alterar el nivel de expresión de epitopes y antígenos superficiales (91). Así, la expresión del epitope Tf 1.17 varía entre diferentes poblaciones de *T. foetus* (101, 102), resultando ello un desafío para la eficacia de vacunas ya que la inmunización contra antígenos no protectores induce una presión selectiva que favorece la expresión de otros antígenos no incluidos más virulentos.

T. foetus: preñez, inmuno-tolerancia fetal y pérdida de la preñez temprana *T. foetus* es un protozoo mucuoso dependiente y no invasivo desde el punto de vista celular, puede causar inflamación media a moderada de las mucosas de la vagina, cérvix, útero y oviducto. Este patógeno sobrevive lo suficiente como para establecerse en el útero y oviducto y causar inflamación leve pero incapaz de liberar PGF² y destruir al embrión en la parte inicial de la preñez. La preñez suele establecerse y mantenerse hasta al menos los primeros 50 días, facilitado por las condiciones del ambiente uterino bajo la faz progesterónica. Dado que es un agente de transmisión sexual que afecta al útero preñado, accede al tracto genital cuando éste se encuentra en faz estrogénica y ejerce su efecto patológico en un ambiente bajo influencia progesterónica.

Este protozoo puede sobrevivir en los estadios iniciales de la gestación donde es factible que la capacidad de presentar antígenos de las células epiteliales uterinas y otras (células dendríticas, macrófagos, células cebadas) esté disminuida al igual que la capacidad de transferir componentes secretorios para IgA a la luz uterina y vaginal. Hemos realizados trabajos al respecto donde comprobamos que vaquillonas preñadas con infección a *T. foetus* continúan segregando altos niveles de IgA específica en el lumen vaginal (71). Otros autores han comunicado la interacción del sistema inmune del huésped y *T. foetus* (4, 57, 65, 67, 70, 71).

La respuesta inmune de la mucosa genital es el principal mecanismo defensivo del huésped para controlar la colonización e inducir la liberación genital de *T. foetus* (70, 166). El sistema mucosal inmune genital posee estructuras o agregados linfoides ubicados en la submucosa del tracto genital femenino, principalmente a nivel de vagina y útero, los cuales contienen células

presentadoras de antígenos (70, 71). El tejido linfoide mucosal genital induce una respuesta inmune adaptativa igual que el bazo o un linfonódulo, donde las células presentadoras de antígenos endocitan partículas inmunogénicas de la superficie epitelial por donde ingresan la mayoría de los agentes patógenos y las presentan a los linfocitos T y B migratorios (103). A partir de allí, los linfocitos B son estimulados en las mencionadas estructuras linfoideas y migran a la lámina propia para inducir el desarrollo a células plasmáticas productoras de IgA polimérica y opsonizantes (70, 103). Posteriormente, las células epiteliales, mediante receptores superficiales basolaterales, captan la IgA del intersticio, la transportan intracelularmente por transcitosis hacia la superficie celular y la secretan al lumen genital (103).

Luego de la estimulación antigénica en los sitios mencionados, los linfocitos B productores de IgA alcanzan la circulación sistémica y se diseminan a otros sitios efectoros del sistema mucosal, por ejemplo el tracto gastrointestinal y respiratorio (103). La intercomunicación entre las mucosas de diferentes órganos fue demostrada utilizando *T. foetus* como antígeno aplicado por vía intranasal provocando incrementos en los niveles de la IgA específica vaginal y uterina (71, 180). En contraposición, el constante contacto de las mucosas (genital, gastrointestinal o respiratoria) con diversos organismos patógenos puede estimular y producir fenómenos de inmunotolerancia (103). La misma se caracteriza por la presencia de linfocitos T reguladores y gamma-delta que producen TGF- β , IL-4 y IL-10, los cuales inhiben la respuesta Th1 y determinan una pobre respuesta humoral con ausencia de células T inflamatorias (103). Aunque no se han identificado poblaciones de linfocitos T supresores en el tracto genital bovino, fenómenos de tolerancia explicarían la tardía respuesta inmune y la mortalidad embrionaria causada por *T. foetus*.

El reconocimiento y progresión de la preñez implica un fenómeno trascendente: la aceptación por parte de la madre del feto semi-alogénico con antígenos paternos, para lo cual la madre desarrolla un estado fisiológico de inmunotolerancia selectiva e inmuno-supresión conservando su inmunidad antimicrobiana. (116). Uno de los factores que determina la inmuno-tolerancia en la gestación es la supresión de la actividad y proliferación de los linfocitos T y la

producción de IL-2 e IFN- γ (116). A su vez, la inmunosupresión en la gestación bovina estaría dada por las células trofoblásticas que expresan proteínas del complejo mayor histocompatible MHC-I en baja o nula cantidad y de limitado polimorfismo, lo cual evitaría un rechazo materno y la proliferación de linfocitos T cito tóxicos CD8+ (20, 79, 94).

Por otra parte, la placenta cotiledonaria de los rumiantes, epiteliocorial y relativamente no invasiva (79), lejos de actuar como una membrana impermeable permite un activo intercambio materno-fetal durante la gestación que modularía la inmunosupresión (116). Además, el endometrio de los rumiantes presenta una importante población de linfocitos T gamma-delta intraepiteliales CD8+ que si bien secretan IL-10, IFN- γ y TNF- α son incapaces de reconocer antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad (79, 94). Esta inmunosupresión específica en los bovinos aumenta la susceptibilidad hacia infecciones virales y organismos patógenos específicos intracelulares como *Listeria monocytogenes* (116). Contrario a lo que sucede con la función de los linfocitos T, la actividad de los linfocitos B y la producción de anticuerpos sería normal durante la preñez (116).

Otro importante aspecto en la inmunoregulación materno-fetal son las citoquinas, probables inductoras de una respuesta inmune relacionada con la patogénesis del aborto a ciertos organismos. Las citoquinas son producidas por diferentes fuentes maternas y fetales, por ejemplo las células placentarias (79) en rumiantes, la mayor fuente proviene de las células endometriales trofoblásticas (94).

El patrón de citoquinas en una gestación normal está regulado por las hormonas progesterona, estradiol y prostaglandina. Altos niveles de progesterona durante la gestación promueve la proliferación de una respuesta Th2 e inhibe la producción de óxido nítrico, TNF- α y la actividad de células NK (145). La respuesta inmune Th2 promueve en la madre la producción de interleucinas IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 y IL-13, y en el feto IL-4, IL-5 y IL-10 (145). Por otra parte, dicha respuesta Th2 es efectiva controlando parásitos extracelulares e induciendo una respuesta inmune humoral (79, 116, 145). Contrariamente, la respuesta inmune Th1 es efectiva controlando infecciones intracelulares pero la misma se encuentra suprimida en la gestación normal por

ser perjudicial para el feto (183). Como ejemplo de respuesta Th1 contra parásitos bovinos intracelulares que inducen aborto pueden mencionarse *Neospora caninum*, *Leishmania major*, (145, 183) y *Chlamydomphila abortus* (25). La supresión de la respuesta Th1 en la gestación normal es debido a que las citoquinas inducidas por tal respuesta, por ejemplo, IL-2, IL-12, radicales libres, óxido nítrico, IFN- γ y TNF- α , son perjudiciales para la preñez (79). Entre estas citoquinas, TNF- α , producida por macrófagos maternos y fetales que expresan MHC-II (25), es la más dañina para la gestación y el trofoblasto por inducir trombosis y contracción del músculo liso (79). Además, TNF- α induce a las células NK a producir IFN- γ , interferón que en su turno activa aún más a los macrófagos a producir TNF- α (79) y a su vez, TNF- α estimula a las células trofoblásticas a producir IL-8 que atrae a los neutrófilos (25). Los neutrófilos son perjudiciales para la preñez por causar daño placentario y liberación de radicales libres (79) estando asociados a estadios iniciales de infección por *T. foetus* donde opsonizan y destruyen parásitos con la ayuda de anticuerpos y del complemento (5). El hecho que *T. vaginalis*, protozoo emparentado con *T. foetus*, incrementa la producción de TNF- α , IL-2 y IFN- γ y la expresión genética de Toll receptor 4, reconocedores de estructuras parasitarias (132, 185), apoya la teoría de un preponderante rol de TNF- α en la patogénesis de *T. foetus*.

Otra citoquina involucrada en la inmunoregulación materno-fetal es IFN- γ , el cual, perjudica la viabilidad del trofoblasto por estímulo de la expresión de MHC-I en células T y MHC-II en células fetales y placentarias, lo cual aumenta su antigenicidad (25, 79). IFN- γ , parte de la respuesta Th1, está asociado a abortos por *Chlamydia psittaci* (20, 25) y también determinaría la mortalidad embrionaria por *T. foetus* ya que antígenos superficiales del protozoo estimulan la expresión y secreción de IFN- γ en linfocitos T (181). Sin embargo, el rol de IFN- γ sería contradictorio ya que fue postulado como esencial en la gestación temprana induciendo la remodelación de las arterias deciduales y la correcta vascularización placentaria (116). Por otra parte, el interferón IFN- τ secretado tempranamente por las células trofoblásticas y reconocido por receptores de células endometriales, determina el temprano reconocimiento materno de la preñez en rumiantes (75).

Durante la preñez, IFN- τ bloquearía la expresión de receptores de oxitócica en el lumen uterino antes que el blastocisto se adhiere al endometrio y tendría efecto antiluteolítico alterando la producción de PGF2 α (75). El bloqueo de la luteólisis le asegura al feto alta concentración de progesterona en el endometrio que mantiene activas las glándulas endometriales secretando importantes factores nutricionales para el feto (75). Además, IFN- τ favorece una respuesta Th2, reduce la respuesta de linfocitos T intraepiteliales endometriales (94) y favorece la respuesta de linfocitos B (75). El hecho que ambos, *T. foetus* y IFN- τ , actúen en los primeros momentos de la gestación sugiere que *T. foetus* podría inducir mortalidad embrionaria temprana mediante modulación de la expresión y secreción de IFN- τ . Por otra parte, *T. foetus* podría actuar a semejanza de *Chlamydia trachomatis*, bloqueando en las células infectadas la expresión de MHC-I y II en contraposición con IFN- γ (79). La falta de expresión de MHC-I en células trofoblásticas favorece su destrucción por parte de células NK (79), y si bien las células NK no han sido descritas en la placenta de rumiantes, otras células podrían cumplir dicha función. Ciertas enzimas también participan en la tolerancia fetal, tal es el caso de la indoleamina 2, 3 dioxigenasa (IDO) secretada por células trofoblásticas de ratones y humanos (8). Específicamente, IDO degrada el triptófano, activador de linfocitos T e inhibe células T CD8+ contra los antígenos fetales MHC-I (20, 79). Moléculas similares a IDO no han sido descritas en rumiantes pero su presencia sería factible y podría ser degradada por proteasas de *T. foetus*.

A pesar que *T. foetus* se adhiere a la zona pelúcida y células trofoblásticas en las primeras 72 horas del desarrollo embrionario, no afecta la fertilización del óvulo ni el proceso inicial (10). El embrión bovino migra normalmente hacia el útero y se desarrolla como blastocisto (día 6-7) y comienza el proceso de implantación, incluyendo la elongación (día 13), aposición (día 19-20) y adhesión (días 21-22) (93).

No existen referencias de que *T. foetus* provoque alguna alteración en las etapas mencionadas. Al llegar al día 49, *T. foetus* ocasiona endometritis, cervicitis, salpingitis y placentitis (4, 43, 142, 151) invadiendo el feto a nivel del corion placentario y del epitelio mucosal para acceder a los tejidos conectivos y linfáticos (151, 152, 153).

La mortalidad embrionaria y la interrupción de la gestación por *T. foetus* ocurre luego del reconocimiento materno durante el primer tercio de la gestación, Detectándose las pérdidas fetales entre los días 50 y 75 post servicio/infección y solo esporádicamente entre el mes 4 y 7 de la gestación (142, 151). Con este concepto, el objetivo de una vacuna contra *T. foetus* es liberar a la hembra de la infección antes de los 49/55 días evitando así la pérdida de la preñez (70). Pese a lo expuesto, los mecanismos por los cuales se produce la mortalidad embrionaria tardía y fetal temprana son desconocidos. Se especula con la presencia de un fenómeno de hipersensibilidad tardía y de anticuerpos nocivos para el feto y la liberación de productos tóxicos de *T. foetus* luego de un determinado tiempo de infección.

En resumen, *T. foetus* induce una temprana mortalidad embrionaria probablemente por alterar la tolerancia fetal, pero, sin embargo, el rol de *T. foetus* en la hembra bovina estaría condicionado al paradigma inmunológico seleccionado. Así, en un modelo inmunológico convencional de “propio y no propio”, *T. foetus* es un factor “no propio” para el feto y/o la madre que determinan el rechazo materno del feto por alterar factores moderadores, por ejemplo la supresión inmune materna, la barrera placentaria y la inmunidad antigénica fetal reducida. En contraposición, según la nueva teoría inmunológica “Danger Model”, *T. foetus* es un “signo de peligro” al causar daño tisular, stress o muerte celular en el feto, el cual deja de ser tolerado por el sistema inmune maternal por representar para la madre una amenaza (123).

Duración y colonización

T. foetus coloniza la vagina, cérvix y útero durante la primera semana de infección y sobrevive en el tracto genital durante 90 a 190 días (167) aunque puede extenderse hasta los 9 meses post parto (118, 165) constituyéndose así la vaca portadora o carrier. Los antígenos de *T. foetus* son captados y presentados por células epiteliales o macrófagos o células de Langerhans a nivel inferior del epitelio de la vagina y/o útero (70, 71). Luego, entre los 56 a 70 días post infección, se desarrolla una respuesta inmune local con estructuras muy similares a verdaderos folículos linfoides ubicados en la submucosa de la vagina, oviducto y útero, los cuales representan verdaderos sitios de inducción local encargados de procesar los antígenos de *T. foetus* y producir IgA (4, 70,71) e IgG1 (166). A los 49 a 63 días post

infección con *T. foetus* en la vagina y a los 70 a 84 días en el útero, ya se detecta un aumento de las IgA e IgG1 específicas (166).

Ambas inmunoglobulinas genitales, IgA e IgG1, presentan diferentes propiedades para eliminar los organismos patógenos y son de relevancia cuando se planifica el empleo de vacunaciones estratégicas contra las enfermedades venéreas (30). La IgA es originada localmente y persiste en las secreciones genitales hasta 170 días post infección e inclusive luego de eliminado el parásito (166). Por su parte, la IgG1 alcanza el lumen genital desde la circulación sistémica y su transporte a través de la barrera epitelial sería favorecido por la histamina de granulada de los eosinófilos subepiteliales en la vagina que incrementaría la permeabilidad vascular (70, 71). La función primaria de la IgG1 sería opsonizar el protozoo y facilitar su fagocitosis por los macrófagos y polimorfo nucleares que expresan en su superficie receptores Fc para IgG (24).

Los niveles en las secreciones genitales post infección de otras inmunoglobulinas como IgG2 e IgM, son insignificantes (166). La respuesta inmune natural local inducida por *T. foetus* es inefectiva por aparecer tardíamente para prevenir las pérdidas reproductivas (85). Por lo tanto, la presencia del parásito en el tracto genital luego de los 70 días post infección es positivamente correlacionada con las pérdidas fetales (4).

La respuesta inmune sistémica natural generada por *T. foetus* se caracteriza por insignificantes niveles de IgG1 e IgG2 séricos los cuales no tienen efecto preventivo o curativo para evitar la pérdida reproductiva (165, 166, 167). Si bien la exposición a *T. foetus* en el área genital del bovino induce a la formación de anticuerpos locales, los mismos no son suficientes para liberar de la infección al huésped en forma permanente. La hembra que se infecta por primera vez adquiere un cierto grado de inmunidad transitoria que en el mejor de los casos no supera los 9 meses pudiéndose luego reinfectarse hasta 3-4 veces en la vida útil del vientre en el bovino. La inmunidad inicial en la hembra es sólida en los primeros 90 días y luego se diluye para hacerse nuevamente susceptible (53). Estos trabajos permitieron conocer que el 56,3% de las vacas podían reinfectarse a los 9,2 meses posteriores de resuelta la enfermedad natural; el 72,2% a los 10,3 meses; el 75% a los 13,2 meses y el 100% de las vacas se reinfectaron a los 19,7 meses

posteriores. Dichos autores establecieron la correlación existente entre permanencia de la infección, grados de reinfección y porcentaje de abortos. Para las vacas con infección primaria, la enfermedad duraba 20,3 semanas y el 41,9% abortaban; vacas con reinfección secundaria permanecían enfermas por 9,8 semanas y el 10% abortaba y las re infectadas por tercera vez en su vida útil, el 25% abortaban siendo la duración de la infección de 11 semanas.

Macho

Este protozoo coloniza la cavidad prepucial y sus antígenos superficiales son reconocidos por la mucosa peneana y prepucial, lo cual induce un incremento local de IgG1, IgM, IgA y en menor cuantía IgG2 con presencia de agregados linfocitos específicos en la submucosa (27, 154). Sin embargo, la respuesta inmune natural genital del macho contra *T. foetus* carece de efecto protector o curativo y el protozoo puede habitar el tracto genital por años o incluso toda la vida, especialmente en toros mayores de 5 años (34, 50, 11).

Respuesta inmune inducida por vacunas contra *T. foetus*.

Si bien la respuesta generada por la inmunidad natural para eliminar la infección genital por *T. foetus* en las hembras bovinas no es muy sólida ni persistente en el tiempo, su evidencia motivó investigaciones para el desarrollo de vacunas con antígenos de *T. foetus* como una medida para controlar la enfermedad desde épocas tempranas (128). Posteriormente, diferentes trabajos se realizaron en hembras vacunadas con diferentes antígenos de *T. foetus* (4, 14, 44, 45, 59, 61, 95, 99, 100, 111, 159, 180, 181). La inmunización en hembras contra *T. foetus* induce una respuesta humoral genital caracterizada por IgA e IgG1 similar a la que ocurre naturalmente pero más temprana y de mayor cuantía (14, 85) y asociada con la eliminación del parásito (65, 70, 167).

Inmunoprolifaxis por célula entera de *T. foetus*.

El término “vacuna a célula entera” hace referencia a un tipo de inmunógeno donde se considera todas las estructuras del parásito sin distinción de componentes antigénicos específicos. Sin embargo, dicho término puede ser impreciso ya que el desempeño de una vacuna a célula entera dependerá de varios factores, por ejemplo la concentración de protozoos por mililitro, el agente inactivante utilizado y el tipo y concentración del adyuvante. Por ser relativamente

fácil su elaboración, las vacunas con antígeno de célula entera formulada fueron las primeras en desarrollarse en diferentes formulaciones.

En vacas, las vacunas a célula entera de *T. foetus* aplicadas sistémicamente y bajo desafío con toros infectados redujeron el número de hembras infectadas y el tiempo de infección genital, aunque igualmente se produjeron pérdidas reproductivas (44, 85, 99, 100, 111, 150). En toros susceptibles a la enfermedad (mayores de 5,5 años), la vacuna a célula entera careció de efecto preventivo o curativo (54), similar fracaso fue reportado para hembras y machos (95). Sin embargo, a partir de experiencias en hembras donde la vacuna a célula entera demostró cierto grado de reducción de las pérdidas reproductivas (111, 130,159) dicha vacuna fue elaborada comercialmente en EEUU por el laboratorio Fort-Dodge. La aplicación en bovinos de dicho país de esa vacuna comercial fue beneficiosa para el control de la enfermedad (179), aunque disminuyó las pérdidas reproductivas en no más de 20% y fue evaluada en hembras servidas con toros infectados por solo 45 días (111). Se desconoce su eficiencia en las condiciones de los bovinos de cría de nuestro país con 90-120 días de servicio.

Inmunopprofilaxis por subunidades de *T. foetus*.

Las mismas se caracterizan por contener solo una porción (subunidad) del agente infeccioso, la cual fue seleccionada por su capacidad antigénica para inducir una respuesta inmune eficaz (156). Se han desarrollado vacunas a subunidades que contienen desde la totalidad de la membrana de *T. foetus* (45, 55) hasta glicoproteínas específicas (14, 70) y lipofosfoglicanos (161,180). La inmunización con glicoproteínas de membrana en toros (27, 40, 55) y hembras desafiadas experimentalmente (45), redujo el número de animales infectados y ayudó a una pronta liberación genital, a pesar que, comparativamente, resultaron menos efectivas que la vacuna a célula entera (99,100).

Por otra parte, el desempeño de vacunas con glicoproteínas de membrana en hembras desafiadas naturalmente en condiciones de bovinos de cría es desconocido.

Otras vacunas han utilizado el antígeno superficial Tf 190 (180). El empleo de esta vacuna por vía subcutánea incrementó los niveles séricos de IgG1 e IgG2

mientras que al ser aplicada por la vía nasal produjo una mayor concentración de la IgA en los fluidos genitales a los 30 días post desafío ⁽¹⁸⁰⁾. Estas hembras inmunizadas en la mucosa nasal y desafiadas experimentalmente con *T. foetus*, se infectaron en menor porcentaje que aquellas no vacunadas ⁽¹⁸⁰⁾. Si bien la subunidad Tf 190 parecer ser un buen candidato vacunal, falta conocer su eficacia en condiciones de campo.

Finalmente, vacunas a base del antígeno glicoprotéico Tf 1.17, presente en cepas regionales *T. foetus* de diferentes puntos geográficos ⁽¹⁰¹⁾ y capaz de evitar *in vitro* la adhesión parasitaria ^(86, 163, 164). La inmunización con Tf 1.17 en hembras desafiadas experimentalmente con *T. foetus* ^(4, 14, 70) redujo el período de infección genital, determinó una menor respuesta inflamatoria genital, e indujo elevados niveles genitales de IgA y/o IgG1 dependiendo de la vía de administración y del adyuvante utilizado ^(4, 14, 70). De nuevo, se desconoce su eficacia en pruebas a campo.

Otro punto importante en la inmunoprolifaxis contra *T. foetus* es la respuesta inmune celular incluyendo linfocitos T CD4+ helper y CD8+ citotóxico. La inmunización con antígeno Tf 190 indujo una proliferación específica de linfocitos T CD4+ y un aumento en la expresión de IFN- γ ⁽¹⁸¹⁾. El incremento de CD4+ estaría asociado a una respuesta Th1 con la subsecuente producción de IL-12, IFN- γ y TNF- α , y favorecería la producción de anticuerpos al estimular los linfocitos B ⁽¹⁸¹⁾.

La producción de IFN- γ estimularía la IgG y activaría los macrófagos, los cuales incrementarían su poder de fagocitosis por la mayor producción de TNF- α , óxido nítrico y radicales libres ⁽¹⁸¹⁾. El rol de la respuesta Th1 en la trichomonosis bovina es incierto, pudiendo ser beneficiosa para el hospedador en la eliminación del patógeno o ser perjudicial al inducir infiltrados mono nucleares e incremento de IFN- γ y TNF- α que interrumpen la preñez ⁽¹⁸¹⁾.

En relación a la respuesta sistémica inducida por antígenos de *T. foetus*, la vacunación subcutánea aumenta los niveles séricos de IgG1 principalmente e IgG2 secundariamente ^(14, 44, 45, 65, 71, 180) a pesar que su efectivo rol en la prevención o curación de la trichomonosis bovina es indefinido.

Inmunoprofilaxis en Toros.

La inmunidad en toros inducida por vacunas de *T. foetus* ha sido escasamente profundizada mencionándose algunos trabajos (27, 40, 54, 55, 95, 170). Vacunas realizadas con membrana glicoprotéica de *T. foetus* demostraron cierto grado de inmunidad con una mejora en la liberación de la infección (54, 55). Como regla general se puede asumir que no es fácil inducir una adecuada inmunidad protectora en el toro a inmunógeno en general y especialmente en vacunas contra la trichomonosis bovina. Resultados adversos realizados con vacunas a base de célula entera experimentales (95) o comerciales (130), motiva a que se deban realizar mayores estudios para mejorar los aspectos inmunes a nivel genital en el macho (Campero, datos sin publicar). Clark et al. (54, 55), demostraron que la inmunización sistémica con vacuna de membrana de *T. foetus* en adyuvante oleoso curó algunos toros infectados a las dos semanas post segunda dosis. Posteriores trabajos en toros empleando similar vacuna y midiendo la respuesta humoral con el test de Elisa, se observó un incremento en los anticuerpos séricos posteriores a cada dosis vacunal tanto en los toros inmunizados con membrana como con célula entera de *T. foetus*. Post desafío, los toros vacunados tuvieron un incremento en los títulos séricos y también en el plasma seminal aunque en este último fluido, con menor intensidad (40).

La cuantificación mediante inmunohistoquímica de la población de células contenedoras de Ig (CClg) demostró una prevalencia de CCIG1 a nivel prepucial (33) sugiriendo la síntesis local de Ig (27, 33, 40, 154). Si bien parece lógico asumir el rol local de las CClg en la dermis prepucial y peniana, contribuyendo en el nivel de la Ig en la cavidad prepucial, el mecanismo de transferencia involucrado no está clarificado. Al realizar un estudio empleando la inmunohistoquímica por la técnica de peroxidasa-antiperoxidasa en órganos genitales formolados de toros vacunados y lo desafiados con *T. foetus*, se observó que las CClg eran prevalentes en el tejido prepucial tanto en los animales vacunados como en los controles. La naturaleza escamosa del epitelio estratificado y la falta de glándulas secretoria dificultaría la difusión de las Ig en dichas áreas. Es factible que, al menos parcialmente, los niveles de Ig en la cavidad prepucial provengan de las glándulas sexuales accesorias (27, 40). La presencia de *T. foetus* en la cavidad prepucial evoca una respuesta inmune local y sistémica, produciendo cambios en la población de

células T e interactuando con el linfoepitelio y agregados linfoides en la cavidad preputial condicionado con el estado de infección. Esta respuesta no garantiza que los toros infectados se curen en forma espontánea permitiendo especular que otros mecanismos podrían interactuar garantizando la persistencia de la infección en el toro (27). El empleo de toros jóvenes ha sido mencionado como método de control precisamente por la menor posibilidad de infección (49).

Adyuvante en vacunas de *T. foetus*.

Los adyuvantes tienen un rol preponderante modulando la respuesta inmune celular y humoral. Existen numerosos sistemas asociados a la presentación de los antígenos optimizando sus propiedades. Los mismos pueden ser apropiados para la administración del antígeno por la vía parenteral o mucosal. Existen sistemas a base liposomas, coquelatos, ISCOM, diferente micro esferas y nano partículas, algunos más adaptados para la administración en mucosas como las partículas catiónicas las cuales facilitan la adhesión a la carga negativa del mucus de la cavidad como las micro esferas del quitosán utilizado en vacunación intranasal en humanos. Otros adyuvantes son más adecuados para la administración de antígenos por vía oral y otros especializados para ser administrados con micro agujas (106).

La inmunización con organismos inactivados sin el agregado de adyuvante induce una respuesta inmune celular carente de linfocitos T CD8+ y presentación antigénica vía MHC-I (129). Los adyuvantes tienen diferentes particularidades, algunos como el hidróxido de aluminio, potencian la respuesta Th1 y Th2, otros, como el adyuvante incompleto de Freund's a base de lípidos de *Mycobacterium*, estimulan una respuesta inmune Th1 (129).

En el caso de *T. foetus*, el adyuvante influye en la respuesta humoral, la cual varía desde una preponderante producción genital de IgA hasta la exclusiva difusión de IgG desde el torrente sanguíneo a las secreciones genitales (70, 71). Un mismo tipo de antígeno de *T. foetus* aplicado por la vía sistémica con el adyuvante incompleto de Freund's incrementó los niveles genitales de IgG y IgA (14), mientras que con la saponina modificada Quil A, favoreció exclusivamente los niveles genitales de IgG1 (70, 71).

En síntesis, las vacunas contra *T. foetus* hasta hoy desarrolladas no inducen una respuesta inmune que evite la colonización, al menos temporalmente, del tracto genital. Sin embargo, la colonización genital de *T. foetus* es solo por un corto tiempo y de esta forma, las pérdidas reproductivas que ocurren tardíamente serían evitadas. Las alteraciones reproductivas producidas por *T. foetus* (cervicitis, endometritis y placentitis) luego de 50 días post infección, pérdida de preñez luego de 63 días y lesiones fetales luego de 80-90 días (4, 142, 151) serían evitadas sugiriendo la eliminación del protozoo previo a 50-60 días post infección haciendo la preñez compatible con una gestación normal (70, 71).

Diagnóstico de la trichomonosis bovina

Diferentes revisiones han tratado este tema y aquí sólo se mencionarán algunos hallazgos. Si bien se mencionan trabajos serológicos para ser utilizados en el diagnóstico (15, 130), el procedimiento más común y mundialmente reconocido y utilizado hasta el presente en casi todo el mundo para diagnosticar la enfermedad (130) en toros y vacas es el cultivo e identificación del organismo al microscopio óptico a partir de materiales de hembra, feto o macho infectado (1, 11, 19, 26, 28, 34, 35, 36, 50, 107, 108, 115, 137, 138, 140, 160, 174, 175). En hembras, la obtención del mucus cérvico vaginal (MCV) se sugiere hacerlo con pipetas estériles para IA o bien con vainas azules para pipetas de Cassou (41, 43), otros materiales diagnósticos pueden ser pulmón o contenido gastrointestinal de fetos abortados, placenta y fluidos prepucciales (174).

La población de flagelados en las muestras es variable, generalmente es bajo el número en el MCV variando según el estado fisiológico de la hembra. En vacas preñadas, la concentración de protozoos es elevada al momento del aborto (107).

En hembras no preñadas, la población se incrementa entre los 12 y 20 días pos infección, llega al máximo en cada ciclo 3 a 7 días post celo y disminuye 54 a 70 días post infección (1, 43, 50, 107, 165, 167) habiéndose detectado en el MCV de vacas preñadas hasta el 6 mes de gestación siendo posteriormente los cultivos negativos y llevando la hembra la gestación a término (Campero, datos no publicados).

El diagnóstico de la trichomonosis bovina en bovinos se basa en la identificación del agente en secreciones prepuciales de los toros por la persistencia de la infección (11, 34, 50). Pese a ello, existen variaciones o ciclos poblacionales de *T. foetus* en la cavidad prepucial siendo variable o bien puede disminuir en machos menores de 4-5 años, o en machos en servicio, o con abundante flora bacteriana prepucial acompañante (59, 137). En el caso de los toros, el esmegma prepucial puede ser recolectado mediante la aspiración con la pipeta de Cassou o de IA con diferente sensibilidad a un solo muestreo (11, 34, 137, 139, 140) o bien con raspadores metálicos o plásticos descartables igualmente efectivos (29).

La sensibilidad del diagnóstico a un solo muestreo en toros con la metodología en uso y cultivo en condiciones de campo de nuestro país es aproximadamente del 70%. La frecuencia de hallazgos de toros positivos en bovinos con esquemas de doble muestreo negativos, los porcentuales de toros positivos al 1º, 2º, 3º, 4º, 5º y 6º muestreo fueron de 71,2%; 18,6%; 7,1%; 3,1%; 2% y 0,4%, respectivamente, confirmando lo previamente expuesto (Martínez, Lab. Azul, comunicación personal). De allí que se deban realizar al menos dos muestreos consecutivos negativos con un intervalo no menor a los 15-21 días entre ellos como para considerar a un toro libre de la infección y hasta cuatro muestreos si el macho proviene de un bovino donde la enfermedad es endémica (34, 137, 174).

Las muestras son inoculadas en medio de cultivo, incubadas a 37°C en atmósfera aeróbica y examinadas diariamente durante 7 días bajo un microscopio óptico a x100 aumentos (11, 34, 50). Cuando las muestras permanezcan más de 6-8 hs de recolectadas en soluciones que no son medios de cultivos, deberán utilizarse medios de cultivo y transporte adecuados, caso contrario la sensibilidad y posibilidad de aislamiento disminuirá rápidamente (26, 34, 174). Los medios de cultivo para *T. foetus* pueden ser usados eventualmente como transporte (26), deben ser sensibles, específicos y capaces de evitar la proliferación de organismos contaminantes, principalmente bacterias y protozoos intestinales siendo los más conocidos: Diamond, infusión caldo hígado, Plastring, Sutherland, Winter, solución salina con 5% de leche descremada o suero fetal bovino, Oxoid e InPouch (InPouch System TF Ca, USA) (11, 19, 34, 47, 48, 50, 173, 174). El medio comercial InPouch TF sería de buena sensibilidad tanto para muestras de toros y vacas (19, 82, 108, 130),

aunque recientes informes hallaron igual sensibilidad entre InPouch TF, Diamond y caldo hígado (21, 115).

Cultivo.

Deberían prepararse cultivos cuando los microorganismos son demasiado escasos para una detección directa y una identificación precisa. Normalmente es necesario el cultivo de los microorganismos porque, en la mayoría de los casos, el número de microorganismos no es suficientemente grande para hacer un diagnóstico positivo mediante un examen directo.

Pueden utilizarse varios medios. Los medios elegidos son el medio CPLM (cisteína/peptona/infusión de hígado y maltosa), el medio BGPS (extracto de carne/glucosa/peptona y suero), el medio de Clausen (Neopeptna-Lemco-extracto de hígado y glucosa), medio Diamond para *Trichomonas*, medio Oxoid para *Trichomonas* y los sistemas de cultivo comerciales (11,28, 32, 40).

Finalmente, la identificación de *T. foetus* al microscopio óptico se basa en el tamaño y forma del protozoo, la existencia de sus tres flagelos anteriores y uno posterior, la membrana ondulante, más un característico movimiento espasmódico (11, 108). Actualmente, la especificidad del cultivo de *T. foetus* está cuestionada debido a que otros protozoos lograron desarrollar en los medios para *T. foetus* generando resultados falsos positivos (16, 47, 60, 139). Estos protozoos fueron clasificados como *Tetratrichomonads sp.* (60, 63) (Figura 2), habitantes ocasional de la cavidad prepucial de toros, especialmente jóvenes, siendo indistinguibles de *T. foetus* al microscopio óptico, necesitando de la confirmación de los diagnósticos positivos al cultivo mediante otras técnicas, como por ejemplo PCR (Figura 3) o microscopía electrónica (16, 47, 138, 139) u otras técnicas tinto riales o bien por inmunohistoquímica (125, 126).

El diagnóstico de *T. foetus* por PCR se basa en la identificación de dos secuencias específicas de genes de la porción 5.8S rARN y regiones internas laterales ITS1 y ITS2 (81) y permitiría prescindir de la viabilidad del organismo junto a una alta sensibilidad y especificidad de la técnica (17, 21, 82, 83, 127, 139). Sin embargo y pese a las técnicas diagnóstica empleadas, actualmente se tiene el conocimiento de la presencia de toros infectados con cepas de *T. foetus* y *Tetratrichomonads sp.* Conviviendo en la cavidad prepucial, creando

una nueva complicación diagnóstica pudiendo superponer resultados contradictorios hacia uno u otro agente, por lo que esta posibilidad de una infección dual deberá ser considerada.

El empleo de técnicas de inmunohistoquímica en tejidos de animales infectados en forma natural o experimental con *T. foetus*, tejidos uterinos y fetales bovinos, han sido particularmente útiles brindando información de interés para el conocimiento de la patogénesis y también con fines diagnósticos. Se han utilizado diferentes especímenes como tejidos formolados de genitales de toros y vacas, placenta, y pulmón e intestino fetal y animales de experimentación enfrentados con anticuerpos mono o policlonales (29, 39, 62, 126, 151, 152, 153, 154).

Tratamiento.

Diferentes drogas tricomonocidas en toros demostraron una eficacia parcial como, el metanosulfonato y clorhidrato de dimetridazole (34), el ipronidazole (168), 5-nitromidazole, metronidazole y nitrimidazina y otros componentes (34, 37, 38, 109, 112, 133, 134, 135, 136, 150). Los compuestos de dimetridazole administrados inicialmente bajo la forma oral (bolos) y luego aplicado por vía sistémica, tuvieron un impacto inicial en el control de toros infectados. El uso indiscriminado de los tratamientos tricomonocidas en toros en inadecuadas condiciones, sub dosificaciones y falta de controles post- tratamientos, favorecieron la aparición de fallas en la efectividad terapéutica y presencia de cepas quimio resistentes (32, 34, 37, 38, 169, 178, 184).

Hasta el presente no existen agentes terapéuticos definitivamente eficaces, algunas drogas no están aprobadas para su uso en bovino, o su eficacia en condiciones reales de infección es desconocida, o bien poseen efecto carcinogénico (159). Otros intentos de tratamientos locales (73) han servido como un paliativo para casos especiales.

Por lo expuesto, hemos enfatizado, desde mediados de la década del 80, no realizar el tratamiento de los toros enfermos y destinarlos a la faena, dado los problemas de resistencia observados y la factibilidad de re infección del hato, manteniéndose hasta el presente este criterio.

Tabla 1: Incidencia de Trichomonosis en establecimientos y toros según datos de los Laboratorios de diagnóstico veterinario en diferentes zonas del país

Laborat. /autor	Zona y año	Estab. Examinados		Toros examinados	
		Total	Positivos (%)	Total	Positivos (%)
Fort et al. 2004 Álvarez	La Pampa, 2003	329	12,7	6.023	1,3
Com. Personal Lab. Azul	B. Blanca, 2003	880	8,4	13.013	2,2
Com. personal. Serivet	Pampa húmeda 2003	1.209	10,1	27.571	1,5
Com. Personal	Sudeste Bs As 2004	697	8,0	16.049	1,1
Quiroz et al.	Cuenca Salado Rauch 2002	319	25,7	6.200	5,7
Russo et al. 2000	Chaco y Formosa	147	10,8	2.423	1,1
Rossanigo et al. 1998	San Luis	--	4,9	--	1,6

Bibliografía.

1. Abbitt, B., Ball, L., 1978, Diagnosis of Trichomoniasis in pregnant cows by culture of cervical vaginal mucus. *Theriogenology* 9, 267-270.
2. Adachi, Y., Yanagawa, R., 1978, Nature of antigenic determinant of serovar-specific antigen of *Leptospira interrogans* serovar hebdomadis. *Microbiol Immunol* 22, 523-533.
3. Alderete, J.F., Benchimol, M., Lehker, M.W., Crouch, M.L., 2002, The complex fibronectin- *Trichomonas vaginalis* interactions and Trichomonosis. *Parasitol Int* 51, 285-292.
4. Anderson, M.L., BonDurant, R.H., Corbeil, R.R., Corbeil, L.B., 1996, Immune and inflammatory responses to reproductive tract infection with *Tritrichomonas foetus* in immunized and control heifers. *J Parasitol* 82, 594-600.
5. Aydintug, M.K., Widders, P.R., Leid, R.W., 1993, Bovine polymorphonuclear leukocyte killing of *Tritrichomonas foetus*. *Infect Immun* 61, 2995-3002.
6. Babal, P., Russell, L.C., 1999, Sialic acid-specific lectin-mediated adhesion of *Tritrichomonas foetus* and *Tritrichomonas mobilensis*. *J Parasitol* 85, 33-40.
7. Bastida-Corcuera, F., Butler, J.E., Heyermann, H., Thomford, J.W., Corbeil, L.B., 2000, *Tritrichomonas foetus* extracellular cysteine proteinase cleavage of bovine IgG2 allotypes. *J Parasitol* 86, 328-332.
8. Beach, D.H., Holz, G.G., Jr., Singh, B.N., Lindmark, D.G., 1990, Fatty acid and sterol metabolism of cultured *Trichomonas vaginalis* and *Tritrichomonas foetus*. *Mol Biochem Parasitol* 38, 175-190.
9. Benchimol, M., Johnson, P.J., de Souza, W., 1996, Morphogenesis of the hydrogenosome: an ultrastructural study. *Biol Cell* 87, 197-205.
10. Bielanski, A., Ghazi, D.F., Phipps-Toodd, B., 2004, Observations on the fertilization and development of preimplantation bovine embryos in vitro in the presence of *Tritrichomonas foetus*. *Theriogenology* 61, 821-829.
11. BonDurant, R.H., 1997, Pathogenesis, diagnosis and management of trichomoniasis in cattle. *Vet Clin N Am Food Anim Pract* 13, 345-361.
12. BonDurant, R.H., Honigberg, B.N., 1994, Trichomonads of veterinary importance. *In: Kreier JP, (ed.): Parasitic Protozoa, 2nd ed., San Diego, Academic Press, pp. 111-188. Sitio Argentino de Producción Animal*
13. BonDurant, R.H., Anderson, M.L., Blanchard, P., Hird, D., Danaye-Elmi, C., Palmer, C., Sisco, W.M., Suther, D., Utterback, W., Weigler, B.J., 1990, Prevalence of trichomoniasis among California beef herds. *J Am Vet Med Assoc* 196, 1590-1593.
14. BonDurant, R.H., Corbeil, R.R., Corbeil, L.B., 1993, Immunization of virgin cows with surface antigen TF1.17 of *Tritrichomonas foetus*. *Infect Immun* 61, 1385-1394.
15. Bondurant, R.H., van Hoosear, K.A., Corbeil, L.B., Bernoco, D., 1996, Serological response to in vitro-shed antigen(s) of *Tritrichomonas foetus* in cattle. *Clin Diagn Lab Immunol* 3, 432-437.
16. BonDurant, R.H., Gajadhar, A., Campero, C.M., Johnson, E., Lun, Z-R., Nordhausen, R. W., Van Hoosear, K. A., Villanueva, M. R., Walker, R.L., 1999, Preliminary characterization of a *Tritrichomonas foetus*-like protozoan isolated from preputial smegma of virgin bulls. *The Bovine Practitioner* 33, 124-127.
17. BonDurant, R.H., Campero, C.M., Anderson M.L., Van Hoosear K.A., 2003, Detection of *Tritrichomonas foetus* by polymerase chain reaction in cultured isolates, cervicovaginal

mucus, and formalin-fixed tissues from infected heifers and fetuses. J Vet Diag Invest 15, 579- 584.

18. Bonilha, V.L., Ciavaglia Mdo, C., de Souza, W., Costa e Silva Filho, F., 1995, The involvement of terminal carbohydrates of the mammalian cell surface in the cytoadhesion of *Trichomonads*. Parasitol Res 81, 121-126.

19. Borchardt, K.A., Norman, B.B., Thomas, M.W., Harmon, W.M., 1992, Evaluation of a new culture method for diagnosing *Tritrichomonas foetus* infection. Vet. Medicine Feb, 104-112.

20. Brown, J., Howie, S.E., Entrican, G., 2001, A role for tryptophan in immune control of chlamydial abortion in sheep. Vet Immunol Immunopathol 82, 107-119.

21. Bryan, L.A., Campbell, J.R., Gajadhar, A.A., 1999, Effects of temperature on the survival of *Tritrichomonas foetus* in transport, Diamond's and InPouch TF media. Vet Rec 144, 227-232.

22. Burgess, D.E., Knoblock, K.F., Daugherty, T., Robertson, N.P., 1990, Cytotoxic and hemolytic effects of *Tritrichomonas foetus* on mammalian cells. Infect Immun 58, 3627-3632.

23. Burgess, D.E., McDonald, C.M., 1992, Analysis of adhesion and cytotoxicity of *Tritrichomonas foetus* to mammalian cells by use of monoclonal antibodies. Infect Immun 60, 4253-4259.

24. Butt, B.M., Besser, T.E., Senger, P.L., Widders, P.R., 1993, Specific antibody to *Haemophilus somnus* in the bovine uterus following intramuscular immunization. Infect Immun 61, 2558- 2562.

25. Buxton, D., Anderson, I.E., Longbottom, D., Livingstone, M., Wattegedera, S., Entrican, G., 2002, Ovine chlamydial abortion: characterization of the inflammatory immune response in placental tissues. J Comp Pathol 127, 133-141.

26. Campero, C.M., 1985, Medios de Transporte para *Tritrichomonas foetus*. Rev Med Vet 66, 200-209.

27. Campero, C.M., 1988, Inflammation of the accessory sex glands and immunopathological studies of the genitalia of the bull. PhD Thesis. Graduate School of Tropical Veterinary Science, James Cook University of North Queensland, Townsville, Australia.

28. Campero, C.M., 1992, Medios de cultivo para *Tritrichomonas foetus*: consideraciones generales. Vet Arg 9, 318-323.

29. Campero, C.M., 2000a, Las enfermedades reproductivas de los bovinos: ayer y hoy. Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria, Anales 53, 88-112.

30. Campero, C.M., 2000b, Inmunidad local e inmunopatología de las enfermedades venéreas en el tracto genital bovino. Libro de la Segunda Reunión Argentina de Patología Veterinaria, 27 -

29 de septiembre del 2000, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes, Argentina.

31. Campero, C.M., 2002, Eficiencia productiva del rodeo de cría. Rev. Idia XXI 2, 127-131.

32. Campero, C.M.; Palladino, M.R., 1983, Presencia de cepas de *Tritrichomonas foetus* quimioresistentes en Argentina. Gaceta Vet 45, 899-909.

33. Campero, C.M., Ladds, P.W., 1991, Cuantificación de inmunoglobulinas en fluidos genitales y

- células contenedoras de inmunoglobulinas en el tracto genital de toros vacunados y desafiados con *Tritrichomonas foetus*. Rev Med Vet 72, 36-39.
34. Campero, C.M., Palladino, M.R., Villar, J.A, 1983, Actualización sobre Trichomoniasis Bovina. Rev Arg Prod Anim 3, 387-432.
35. Campero, C.M.; Palladino, M.R.; Spina, M.E., 1984, Empleo de dos métodos de cultivo para *Tritrichomonas foetus*. Therios 4, 268-279.
36. Campero, C.M., Catena, M.C., Medina, D., 1986, Caldo infusión hígado para el cultivo de *Tritrichomonas foetus*...Vet Arg 3, 80-81. Sitio Argentino de Producción Animal
37. Campero, C.M., Ballabene, N., Cipolla, A., Zamora, A., 1987a, Dual infection of bulls with campylobacteriosis and trichomoniasis: treatment with dimetridazole chlorhydrate. Aust Vet J 64, 320-321.
38. Campero, C.M., Catena, M., Demayo, M., 1987b, Tratamiento de toros infectados con *Trichomonas foetus* resistentes en rodeos de cría de la Provincia de Buenos Aires, Argentina. Vet Arg 4, 234-240.
39. Campero, C.M., Ladds, P.W., Hirst, R.G., Vaughan, D.E., Emery, J.A., 1989, Detection of *Tritrichomonas foetus* antigens in formalin-fixed, paraffin embedded sections by the peroxidase antiperoxidase technique. Aust Vet J 66, 264-266.
40. Campero, C.M., Hirst, R.G., Ladds, P.W., Vaughan, J.A., Emery, D.L., Watson, D.L., 1990, Measurement of antibody in serum and genital fluids of bull by ELISA after vaccination and challenge with *Tritrichomonas foetus*. Aust Vet J 67, 175-178.
41. Campero, C.M., Conosciuto, G., Odriozola, E., Moreira, A.R., Lodeiro, R., García Boissou, R., Hernaiz, R., 1992, Hallazgos clínicos, bacteriológicos e histopatológicos en vacas lecheras asociados con problemas reproductivos. Rev Med Vet 73, 264-272.
42. Campero, C.M., Cano, D., Pinilla, G., García, J.P., 1993a, Infección a *Tritrichomonas foetus* en toros como secuela de la prueba de capacidad de servicio sobre vaca infectada. Vet Arg 10, 164-168.
43. Campero, C.M., Patitucci, A., Medina, D., 1993b, Tricomoniasis bovina: infección experimental y natural en hembras. Vet Arg 10, 662-670.
44. Campero, C.M., Medina, D., Rossetti, O., Marcovecchio, F., Cosentino, B., Marcone, J., Carracino, M., 1998, Vacunación subcutánea e intravaginal contra tricomoniasis en vaquillonas. Rev Med Vet 79, 347-353.
45. Campero, C., Rossetti, O., Medina, D., Bretschneider, G., Roppel, M., 1999, Inmunización en vaquillonas mediante vacuna de membrana de *Tritrichomonas foetus*. Vet Arg 154, 250-262.
46. Campero, C.M., Anderson, M.L., Bondurant, R.H., Cobo, E.R., 2000, Evidencia de *Tritrichomonas foetus* mediante inmunohistoquímica en tejidos bovinos infectados. XXI Congr. Mundial Buiatría A: 10903, abs: 096.
47. Campero, C.M., Rodriguez Dubra, C., Bolondi, A., Cacciato, C., Cobo, E., Perez, S., Odeon, A., Cipolla, A., BonDurant, R.H., 2003a, Two-step (culture and PCR) diagnostic approach for differentiation of non-*T. foetus* trichomonas from genitalia of virgin beef bulls in Argentina. Vet Parasitol 112, 167-175.
48. Campero, C.M., Moore, D.P., Odeón, A.C., Cipolla, A.L., Odriozola, E., 2003b, Aetiology of bovine abortion in Argentina. Vet Res Comm 27, 359-369.

49. Christensen, H.R., Clark, B.L., Parsonson, I.M., 1977, Incidence of *Tritrichomonas foetus* in young replacement bulls following introduction into an infected herd. Aust Vet J 53, 132-134.
 50. Clark, B.L., 1971, Venereal diseases of cattle. Veterinary Review 11, Univ. of Sydney, Australia, 5-2.
 51. Clark, B.L., Parsonson, I.M., Dufty, J.H., 1974, Experimental infection of bulls with *Tritrichomonas foetus*. Aust Vet J 50, 189-191.
 52. Clark, B.L., Dufty, J.H., Parsonson, I.M., 1977, Studies on the transmission of *Tritrichomonas foetus*. Aust Vet J 53, 170-172.
 53. Clark, B.L., Dufty, J.H., Parsonson, I.M., 1983a, The effect of *Tritrichomonas foetus* infection on calving rates in beef cattle. Aust .Vet . J. 60, 71-74.
 54. Clark, B.L., Dufty, J.H., Parsonson, I.M., 1983b, Immunisation of bulls against trichomoniasis. Aust. Vet. J. 60, 178-179.
 55. Clark, B.L., Emery, D.L., Dufty, J.H., 1984, Therapeutic immunisation of bulls with the membranes and glycoproteins of *Tritrichomonas foetus* var. brisbane. Aust Vet J 61, 65-66.
 56. Clark, B.L., Dufty, J.H., Parsonson, I.M., 1986, The frequency of infertility and abortion in cows infected with *Tritrichomonas foetus* var. brisbane. Aust Vet J 63, 31-32.
 57. Cobo, E.R., Campero, C.M., 2002, Nuevos aspectos inmunológicos y vacunales de la tricomoniasis bovina. Rev Med Vet 83, 203-208.
 58. Cobo, E.R., Cano, D., Campero, C.M., 2001, Experimental infection with *Tritrichomonas suis* in heifers. Vet Parasitol 99, 73-78.
 59. Cobo, E.R., Cano, D., Rossetti, O., Campero, C.M., 2002, Heifers immunized with whole-cell and membrane vaccines against *Tritrichomonas foetus* and naturally challenged with an infected bull. Vet Parasitol 109, 169-184.
 60. Cobo, E.R., Campero, C.M., Mariante, R.M., Benchimol, M., 2003, Ultrastructural study of a tetratrichomona species isolated from prepuccial smegma of virgin bulls. Vet Parasitol 117, 195-211.
- Sitio Argentino de Producción Animal
19 de 26
20
61. Cobo, E.R., Morsella, C., Cano, D., Cipolla, A., Campero, C.M., 2004a, Immunization in heifers with dual vaccines containing *Tritrichomonas foetus* and *Campylobacter fetus* antigens using systemic and mucosal routes. Theriogenology 62, 1367-1382.
 62. Cobo, E.R., Campero, C.M., Gimeno, E.J., Barbeito, C.G., 2004b, Lectin binding pattern and immunohistochemical antigen detection in genitalia of *Tritrichomonas foetus*-infected heifers. J Comp Pathol 131, 127-134.
 63. Cobo, E.R., Cantón, G., Morrell, E., Cano, D., Campero, C.M., 2004c, Failure to established infection with *Tetratrichomonads* sp. in the reproductive tracts of heifers and bulls. Vet Parasitol 12, 145-150.
 64. Connaris, S., Greenwell, P., 1997, Glycosidases in mucin-dwelling protozoans. Glycoconj J 14, 879-882.
 65. Corbeil, L., BonDurant, R., 2001, Immunity to bovine reproductive infections. Vet Clinics of North America Food Animal Practice 17, 567-583.

66. Corbeil, L.B., Schurig, G.G., Bier, P.J., Winter, A.J., 1975, Bovine venereal vibriosis: antigenic variation of the bacterium during infection. *Infect Immun* 11, 240-244.
67. Corbeil, L.B., Schurig, G.G., Duncan, J.R., Wilkie, B.N., Winter, A.J., 1981, Immunity in the female bovine reproductive tract based on the response to *Campylobacter fetus*. *Adv Exp Med Biol* 137, 729-743.
68. Corbeil, L.B., Hodgson, J.L., Jones, D.W., Corbeil, R.R., Widders, P.R., Stephens, L.R., 1989, Adherence of *Tritrichomonas foetus* to bovine vaginal epithelial cells. *Infect Immun* 57, 2158-2165.
69. Corbeil, L.B., Hodgson, J.L., Widders, P.R., 1991, Immunoglobulin binding by *Tritrichomonas foetus*. *J Clin Microbiol* 29, 2710-2714.
70. Corbeil, L.B., Anderson, M.L., Corbeil, R.R., Eddow, J.M., BonDurant, R.H., 1998, Female reproductive tract immunity in bovine trichomoniasis. *Am J Reprod Immunol* 39, 189-198.
71. Corbeil, L.B., Munson, L., Campero, C., BonDurant, R.H., 2001, Bovine trichomoniasis as a model for development of vaccines against sexually-transmitted disease. *Am J Reprod Immunol* 45, 310-319.
72. Costa E, Silva Filho, F., Breier-Saraiva L.M., Tosta, M.X., De Souza, W., 1989, *Trichomonas vaginalis* and *Tritrichomonas foetus* secrete neuraminidase into the culture medium. *Mol Biochem Paras* 81, 188-192.
73. Davico, M.L., 1993, Uso de un tratamiento local en toros infectados con *Tritrichomonas foetus*. *Vet Arg* 10, 524-529.
74. da Silva, N.S., Dias Filho, B.P., de Souza, W., 1999, Identification and localization of an adhesin on the surface of *Tritrichomonas foetus*. *Parasitol Res* 85, 984-992.
75. Demmers, K.J., Derecka, K., Flint, A., 2001, Trophoblast interferon and pregnancy. *Reproduction* 121, 41-49.
76. Dias Filho, B.P., Benchimoli, M., Andrade, A.F., Angluster, J., De Souza, W., 1999, Purification and immunocytochemical localization of neuraminidase from *Tritrichomonas foetus*. *Parasitology* 118, 17-25.
77. Dillon, J.H., Casaro, A.P., Cipolla, A.L., Ibarra, O., Crenovich, H., Bianchi, M., 1995, Programa regional de control de enfermedades venéreas de bovinos (Plan Toros). *Rev Arg Prod Anim* 15, 764-767.
78. Eaglesome, M., Garcia, M., 1992, Microbial agents associated with bovine genital tract infections and semen. Part I. *Brucella abortus*, *Leptospira*, *Campylobacter fetus* and *Tritrichomonas foetus*. *Vet. Bulletin* 62, 743-775.
79. Entrican, G., 2002, Immune regulation during pregnancy and host-pathogen interactions in infectious abortion. *J Comp Pathol* 126, 79-94.
80. Felleisen, R.S., 1999, Host-parasite interaction in bovine infection with *Tritrichomonas foetus*. *Microbes Infect* 1, 807-816.
81. Felleisen, R.S., 1997, Comparative sequence analysis of 5.8S rRNA genes and internal transcribed spacer (ITS) regions of trichomonadid protozoa. *Parasitology* 115 (Pt 2), 111-119.
82. Felleisen, R.S., 1998, Comparative genetic analysis of tritrichomonadid protozoa by the random amplified polymorphic DNA technique. *Parasitol Res* 84, 153-156.
83. Felleisen, R.S., Lambelet, N., Bachmann, P., Nicolet, J., Muller, N., Gottstein, B., 1998, Detection of *Tritrichomonas foetus* by PCR and DNA

enzyme immunoassay based on rRNA gene unit sequences. J Clin Microbiol 36, 513-519.

84. Fort, M.C., Rojas, M. C, Pérez, L.R., Esaín, F.H., 2004, Control de Trichomoniasis genital bovina en siete departamentos de la provincia de La Pampa durante el período 2000-2003.

XIX Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias, Buenos Aires, 24-28 de octubre del Sitio Argentino de Producción Animal 2004.

85. Gault, R.A., Kvasnicka, W.G., Hanks, D., Hanks, M., Hall, M.R., 1995, Specific antibodies in serum and vaginal mucus of heifers inoculated with a vaccine containing *Tritrichomonas foetus*. Am J Vet Res 56, 454-459.

86. Gault, R.A., Hall, M.R., Kvasnicka, W.G., Hanks, D.R., 1999, Characterization of antigenic proteins from *Tritrichomonas foetus* recognized by antibodies in rabbit serum, bovine serum and bovine cervicovaginal mucus. J Parasitol 85, 244-251.

87. Gookin, J.L., Levy, M.G., Law, J.M., Papich, M.G., Poore, M.F., Breitschwerdt, E.B., 2001, Experimental infection of cats with *Tritrichomonas foetus*. Am J Vet Res 62, 1690-1697.

88. Gookin, J.L., Birkenheuer, A.J., Breitschwerdt, E.B., Levy, M.G., 2002, Single-tube nested PCR for detection of *Tritrichomonas foetus* in feline feces. J Clin Microbiol 40, 4126-4130.

89. Gookin, J.L., Foster, D.M., Poore, M.F., Stebbins, M.E., Levy, M.G., 2003, Use of a commercially available culture system for diagnosis of *Tritrichomonas foetus* infection in cats. J Am Vet Med Assoc 222, 1376-1379.

90. Gookin, J.L., Stebbins, M.E., Hunt, E., Burlone, K., Fulton, M., Hochel, R., Talaat, M., Poore, M., Levy, M.G., 2004, Prevalence of and risk factors for Feline *Tritrichomonas foetus* and Giardia Infection. J Clin Microbiol 42, 2707-2710.

91. Granger, B.L., Warwood, S.J., 1996, Rapid internalization and degradation of surface-bound antibodies by *Tritrichomonas foetus*. J Parasitol 82, 539-549.

92. Granger, B.L., Warwood, S.J., Benchimol, M., De Souza, W., 2000, Transient invagination of flagella by *Tritrichomonas foetus*. Parasitol Res 86, 699-709.

93. Guillomot, M., 1995, Cellular interactions during implantation in domestic ruminants. J Reprod Fertil Suppl 49, 39-51.

94. Hansen, P.J., 1995, Interactions between the immune system and the ruminant conceptus. J Reprod Fertil Suppl 49, 69-82.

95. Herr, S., Ribeiro, L.M., Claassen, E., Myburgh, J.G., 1991, A reduction in the duration of infection with *Tritrichomonas foetus* following vaccination in heifers and the failure to demonstrate a curative effect in infected bulls. Onderstepoort J Vet Res 58, 41-45.

96. Hodgson, J.L., Jones, D.W., Widders, P.R., Corbeil, L.B., 1990, Characterization of *Tritrichomonas foetus* antigens by use of monoclonal antibodies. Infect Immun 58, 3078-3083.

97. Honigberg, B.M., 1978, Trichomonads of veterinary importance. Parasitic Protozoa, Vol 2. Academic Press, New York, 163-273 pp.

98. Honigberg, B.M., Mattern, C.F., Daniel, W.A., 1971, Fine structure of the mastigont system in *Tritrichomonas foetus* (Riedmuller). J Protozool 18, 183-198.

99. Hudson, D.B.; Ball, L.; Cheney, J.M.; Mortimer, R.G.; Bowen, B.A.; Marsh, D.J.; PeetZ, R.H., 1993a, Development and testing of a bovine trichomoniasis vaccine. Theriogenology 39, 929- 935.

100. Hudson, D., Ball, L., Cheney, J., Mortimer, R., Bowen, B., Marsh, D., Peetz, R., 1993b, Testing of trichomoniasis vaccine in heifers mated to infected bulls. *Theriogenology* 39, 937-943.
101. Ikeda, J.S., BonDurant, R.H., Campero, C.M., Corbeil, L.B., 1993, Conservation of a protective surface antigen of *Tritrichomonas foetus*. *J Clin Microbiol* 31, 3289-3295.
102. Ikeda, J.S., BonDurant, R.H., Corbeil, L.B., 1995, Bovine vaginal antibody responses to immunoaffinity-purified surface antigen of *Tritrichomonas foetus*. *J Clin Microbiol* 33, 1158- 1163.
103. Janeway, C., Travers, P., Walport, M., Shlomchik, M., 2001, Immunobiology: the immune system in health and disease. Garland Publishing, New York.
104. Jesus, J.B., Lopes, A.H., Meyer-Fernandes, J.R., 2002, Characterization of an ecto- ATPase of *Tritrichomonas foetus*. *Vet Parasitol* 103, 29-42.
105. Kania, S.A., Reed, S.L., Thomford, J.W., BonDurant, R.H., Hirata, K., Corbeil, R.R., North, M.J., Corbeil, L.B., 2001, Degradation of bovine complement C3 by trichomonad extracellular proteinase. *Vet Immunol Immunopathol* 78, 83-96.
106. Kersten, G. and Hirschberg, H., 2004, Antigen delivery systems. *Expert Rev Vaccines* 3, 453-462.
107. Kimsey, P.B., Darien, B.J., Kendrick, J.W., Franti, C.E., 1980, Bovine trichomoniasis: diagnosis and treatment. *J Am Vet Med Assoc* 177, 616-619.
108. Kittel, D.R., Campero, C., Van Hoosear, K.A., Rhyan, J.C., BonDurant, R.H., 1998, Comparison of diagnostic methods for detection of active infection with *Tritrichomonas foetus* in beef heifers. *J Am Vet Med Assoc* 213, 519-522.
- Sitio Argentino de Producción Animal
109. Kulda, J., 1999, Trichomonads, hydrogenosomes and drug resistance. *Int J Parasitol* 29, 199-212.
110. Kvasnicka, W.G., Taylor, R.E., Huang, J.C., Hanks, D., Tronstad, R.J., Bosomworth, A., Hall, M.R., 1989, Investigations of the incidence of bovine trichomoniasis in Nevada and of the efficacy of immunizing cattle with vaccines containing *Tritrichomonas foetus*. *Theriogenology* 31, 963-971.
111. Kvasnicka, W.G., Hanks, D., Huang, J.C., Hall, M.R., Sandblom, D., Chu, H.J., Chavez, L., Acree, W.M., 1992, Clinical evaluation of the efficacy of inoculating cattle with a vaccine containing *Tritrichomonas foetus*. *Am J Vet Res* 53, 2023-2027.
112. Lauriente, P., Campero, C.M., Palladino, M.R., Silva, E., Villar, J.A., 1982, Resultados de dos tratamientos en toros infectados con cepas de *T. foetus* quimioresistentes. *Gac Vet* 44, 695-698.
113. Levy, M.G., Gookin, J.L., Poore, M., Birkenheuer, A.J., Dykstra, M.J., Litaker, R.W., 2003, *Tritrichomonas foetus* and not *Pentatrichomonas hominis* is the etiologic agent of feline trichomonal diarrhea. *J Parasitol* 89, 99-104.
114. Lun, Z.R., Gajadhar, A.A., 1999, A simple and rapid method for staining *Tritrichomonas foetus* and *Trichomonas vaginalis*. *J Vet Diagn Invest* 11, 471-474.
115. Lun, Z., Parker, S., Gajadhar, A.A., 2000, Comparison of growth rates of *Tritrichomonas foetus* isolates from various geographic regions using three different culture media. *Vet Parasitol* 89, 199-208.

116. Luppi, P., 2003, How immune mechanisms are affected by pregnancy. *Vaccine* 21, 3352-3357.
117. Mallinson, D.J., Livingstone, J., Appleton, K.M., Lees, S.J., Coombs, G.H., North, M.J., 1995, Multiple cysteine proteinases of the pathogenic protozoon *Tritrichomonas foetus*: identification of seven diverse and differentially expressed genes. *Microbiology* 141 (Pt 12), 3077-3085.
118. Mancebo, O.A., Russo, A.M., Carabajal, L.L., Monzon, C.M., 1995, Persistence of *Tritrichomonas foetus* in naturally infected cows and heifers in Argentina. *Vet Parasitol* 59, 7- 11.
119. Mariante, R.M., Guimaraes, C.A., Linden, R., Benchimol, M., 2003, Hydrogen peroxide induces caspase activation and programmed cell death in the amitochondrial *Tritrichomonas foetus*. *Histochem Cell Biol* 120, 129-141.
120. Mariante, R.M., Lopes, L.C., Benchimol, M., 2004, *Tritrichomonas foetus* pseudocysts adhere to vaginal epithelial cells in a contact-dependent manner. *Parasitol Res* 92, 303-312.
121. Martin-Gomez, S., Gonzalez-Paniello, R., Pereira-Bueno, J., Ortega-Mora, L.M., 1998, Prevalence of *Tritrichomonas foetus* infection in beef bulls in northwestern Spain. *Vet Parasitol* 75, 265-268.
122. Mattos, A., Sole-Cava, A.M., DeCarli, G., Benchimol, M., 1997, Fine structure and isozymic characterization of trichomonadid protozoa. *Parasitol Res* 83, 290-295.
123. Matzinger, P., 2002, The danger model: a renewed sense of self. *Science* 296, 301- 305.
124. McCool, C.J., Gilham, M.P., Wolfe, S.G., Simpson, M., Olm, T., 1987, Prevalence of trichomonas and *Campylobacter fetus* subsp fetus in the Australian swamp buffalo population. *Technote* 47,1-5.
125. Monteavaro, C., Soto, P., Echeverría, H., Catena, M., Portiansky, E., Gimeno, E., 2000, Inmunohistochemical detection of *Tritrichomonas foetus* in experimentally infected mice. *Pesq Vet Bras* 20, 43-46.
126. Monteavaro, C., Soto P., Campero, C., Barbeito, C., Oliveto, C., Echevarría, H., Catena, M., 2004, Diferenciación entre *Tritrichomonas foetus* y *Tetratrichomonas* sp. Poster Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico. XV Teunión Técnica Buenos Aires, 15-17 septiembre 2004, pag 107.
127. Mutto, A.A., Giambiaggi, S., Angel, S.O. 2006, PCR detection of *Tritrichomonas foetus* in preputial bull fluid without prior DNA isolation. *Vet Parasitol.* 136, 357-361.
128. Morgan, B.B., 1947, Vaccination studies on bovine trichomoniasis. *Am J Vet Res* 8, 54-56.
129. Naiman, B.M., Alt, D., Bolin, C.A., Zuerner, R., Baldwin, C.L., 2001, Protective killed *Leptospira borgpetersenii* vaccine induces potent Th1 immunity comprising responses by CD4 and gamma delta T lymphocytes. *Infect Immun* 69, 7550-7558.
130. OIE, 2000, Manual of standards Diagnostic testd and vaccines 2000. Updated 22.04.2002.
http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/ancien_manuel/a_00053.htm
 Sitio Argentino de Producción Animal
 22 de 26 23

131. Okamoto, S., Wakui, M., Kobayashi, H., Sato, N., Ishida, A., Tanabe, M., Takeuchi, T., Fukushima, S., Yamada, T., Ikeda, Y., 1998, *Tritrichomonas foetus* meningoencephalitis alter allogenic peripheral blood stem cell transplantation. Bone Marrow Transpl 21, 89-91.
132. Paintlia, M.K., Kaur, S., Gupta, I., Ganguly, N.K., Mahajan, R.C., Malla, N., 2002, Specific IgA response, T-cell subtype and cytokine profile in experimental intravaginal trichomoniasis. Parasitol Res 88, 338-343.
133. Palladino, M.R., Campero, C.M., Villar, J.A., 1982a, Resistencia de *Tricomonas foetus* a tricomonocidas. Parte I. Acción terapéutica in vitro de cuatro drogas sobre cepas resistentes y sensibles. Gac Vet 44, 165-174.
134. Palladino, M.R., Campero, C.M., Villar, J.A., 1982b, Resistencia de *Tricomonas foetus* a tricomonocidas. Parte II. Prueba de Hamster. Gac Vet 44, 400-406.
135. Palladino, M.R., Campero, C.M., Acuña, C., 1983, Utilización de diversas drogas tricomonocidas en toros. Gac Vet 45, 1289-1295.
136. Palladino, M.R., Campero, C.M., 1985, Utilización de un tratamiento local en toros infectados con cepas de *Tritrichomonas foetus* resistentes. Vet Arg 2, 73-74.
137. Parker, S., Campbell, J., Ribble, C., Gajadhar, A., 1999, Comparison of two sampling tools for diagnosis of *Tritrichomonas foetus* in bulls and clinical interpretation of culture results. J Am Vet Med Assoc 215, 231-235.
138. Parker, S., Campbell, J., Gajadhar, A., 2003a, Comparison of the diagnostic sensitivity of a commercially available culture kit and a diagnostic culture test using Diamond's media for diagnosing *Tritrichomonas foetus* in bulls. J Vet Diagn Invest 15, 460-465.
139. Parker, S., Campbell, J., McIntosh, K., Gajadhar, A., 2003b, Diagnosis of trichomoniasis in 'virgin' bulls by culture and polymerase chain reaction. Can Vet J 44, 732-734.
140. Parker, S., Campbell, J., Ribble, C., Gajadhar, A., 2003c, Sample collection factors affect the sensitivity of the diagnostic test for *Tritrichomonas foetus* in bulls. Can J Vet Res 67, 138-141.
141. Parsonson, I.M., Clark, B.L., Dufty, J., 1974, The pathogenesis of *Tritrichomonas foetus* infection in the bull. Aust Vet J 50, 421-423.
142. Parsonson, I.M., Clark, B.L., Dufty, J.H., 1976, Early pathogenesis and pathology of *Tritrichomonas foetus* infection in virgin heifers. J Comp Pathol 86, 59-66.
143. Pereira-Neves, A., Ribeiro, K.C., Benchimol, M., 2003, Pseudocysts in trichomonads new insights. Protist 154, 313-329.
144. Perez, E., Conrad, P.A., Hird, D., Ortuno, A., Chacon, J., BonDurant, R., Noordhuizen, J., 1992, Prevalence and risk factors for *Tritrichomonas foetus* infection in cattle in northeastern Costa Rica. Prev Vet Med 14, 155-165.
145. Quinn, H.E., Ellis, J.T., Smith, N.C., 2002, *Neospora caninum*: a cause of immunemediated failure of pregnancy? Trends Parasitol 18, 391-394.
146. Quiroz, G.J.L., Maresca, S., Verdier, M., 2002, Diagnóstico de enfermedades venéreas en la cuenca del Salado, provincia de Bs As. Años 2001.E 22. XIV Reunión Científico Técnica, Asoc. Arg. Vet. Lab. Diag. 13-15 noviembre 2002. Gral Belgrano, Córdoba.
147. Rae, D.O., 1989, Impact of trichomoniasis on the cow-calf producer's profitability. J Am Vet Med Assoc 194, 771-775.

148. Rae, D.O., Chenoweth, P.J., Genho, P.C., McIntosh, A.D., Crosby, C.E., Moore, S.A., 1999, Prevalence of *Tritrichomonas fetus* in a bull population and effect on production in a large cow-calf enterprise. *J Am Vet Med Assoc* 214, 1051-1055.
149. Rae, D.O., Crews, J.E., Greiner, E.C., Donovan, G.A., 2004, Epidemiology of *Tritrichomonas fetus* in beef bull populations in Florida. *Theriogenology* 61, 605-618.
150. Raether, W., Seidenath, H., 1983, The activity of fexinidazole (HOE 239) against experimental infections with *Trypanosoma cruzi*, trichomonads and *Entamoeba histolytica*. *Ann Trop Med Parasitol* 77, 13-26.
151. Rhyan, J.C., Stackhouse, L.L., Quinn, W.J., 1988, Fetal and placental lesions in bovine abortion due to *Tritrichomonas fetus*. *Vet Pathol* 25, 350-355.
152. Rhyan, J.C., Blanchard, P.C., Kvasnicka, W.G., Hall, M.R., Hanks, D., 1995a, Tissue invasive *Tritrichomonas fetus* in four aborted bovine fetuses. *J Vet Diagn Invest* 7, 409-412.
153. Rhyan, J.C., Wilson, K.L., Burgess, D.E., Stackhouse, L.L., Quinn, W.J., 1995b, Immunohistochemical detection of *Tritrichomonas fetus* in formalin-fixed, paraffin-embedded sections of bovine placenta and fetal lung. *J Vet Diagn Invest* 7, 98-101.
154. Rhyan, J.C., Wilson, K.L., Wagner, B., Anderson, M.L., BonDurant, R.H., Burgess, D.E., Mutwiri, G.K., Corbeil, L.B., 1999, Demonstration of *Tritrichomonas fetus* in the external Sitio Argentino de Producción Animal 23 de 26 24 genitalia and of specific antibodies in preputial secretions of naturally infected bulls. *Vet Pathol* 36, 406-411.
155. Rossanigo, C., Avila, J., Lopez Roca, A., Insua, C., Pividal, J., 1998, Situación actual de Trichomoniasis y Campylobacteriosis en la región semiárida central. *Memorias XII AAVLD, Mar del Plata, Argentina*.
156. Roth, J., Henderson, L., 2001, New technology for improved vaccine safety and efficacy. *Vet. Clinics of North America. Food Animal Practice* 17, 585-597.
157. Russo, A.M., Mancebo, O.A., Luciani, C.A., Stahringer, R.C., Monzon, C.M., 2000, Trichomoniasis y Campylobacteriosis en toros de la región este de las provincias de Chaco y Formosa. *Rev Med Vet* 81, 114-116.
158. Ryley, D.E., Wagner, B., Polley, L.T., Krieger, J.N., 1995, PCR-Based study of conserved and variable DNA sequences of *Tritrichomonas fetus* isolated from Saskatchewan, Canada. *J Clin Microbiol* 33, 1308-1313.
159. Schnackel, J., Wallace, B., Kvasnicka, W., Hanks, D., Hall, M., 1989, *Tritrichomonas fetus* vaccine immunogenicity trial. *Agri-Practice* 10, 11-14.
160. Sch`nmann, M.J., BonDurant, R.H., Gardner, I.A., Van hoosear, K., Baltzer, W., Kachulis, C., 1994, Comparison of sampling and culture methods for the diagnosis of *Tritrichomonas fetus* infection in bulls. *Vet Rec* 134, 620-622.
161. Shaia, C.I., Voyich, J., Gillis, S.J., Singh, B.N., Burgess, D.E., 1998, Purification and expression of the Tf190 adhesin in *Tritrichomonas fetus*. *Infect Immun* 66, 1100-1105.
162. Singh, B.N., 1993, Lipophosphoglycan-like glycoconjugate of *Tritrichomonas fetus* and *Trichomonas vaginalis*. *Mol Biochem Parasitol* 57, 281-294.
163. Singh, B.N., Lucas, J.J., Beach, D.H., Shin, S.T., Gilbert, R.O., 1999, Adhesion of *Tritrichomonas fetus* to bovine vaginal epithelial cells. *Infect Immun* 67, 3847-3854.

164. Singh, B.N., BonDurant, R.H., Campero, C.M., Corbeil, L.B., 2001, Immunological and biochemical analysis of glycosylated surface antigens and lipophosphoglycan of *Tritrichomonas foetus*. J Parasitol 87, 770-777.
165. Skirrow, S., 1987, Identification of trichomonad-carrier cows. J Am Vet Med Assoc 191, 553-554.
166. Skirrow, S.Z., BonDurant, R.H., 1990a, Immunoglobulin isotype of specific antibodies in reproductive tract secretions and sera in *Tritrichomonas foetus*-infected heifers. Am J Vet Res 51, 645-653.
167. Skirrow, S.Z., BonDurant, R.H., 1990b, Induced *Tritrichomonas foetus* infection in beef heifers. J Am Vet Med Assoc 196, 885-889.
168. Skirrow, S., BonDurant, R., Farley, J., Correa, J., 1985, Efficacy of ipronidazole against trichomoniasis in beef bulls. J Am Vet Med Assoc 187, 405-407.
169. Soto, P., Lucchesi, E., 1986, Tratamiento inmunológico de la Trichomoniasis genital en toros infectados con cepas quimioresistentes. Vet Arg 30, 980-986.
170. Soto, P., Parma, A.E., 1989, The immune response in cattle infected with *Tritrichomonas foetus*. Vet Parasitol 33, 343-348.
171. Tachezy, J., Tachezy, R., Hampl, V., Sedinova, M., Vanacova, S., Vrlík, M., Van Ranst, M., Flegr, J., Kuldaa, J., 2002, Cattle pathogen *Tritrichomonas foetus* (Riedmüller, 1928) and pig commensal *Tritrichomonas suis* (Gruby & Delafond, 1843) belong to the same species. J Eukaryot Microbiol 49, 154-163.
172. Talbot, J.A., Nielsen, K., Corbeil, L.B., 1991, Cleavage of proteins of reproductive secretions by extracellular proteinases of *Tritrichomonas foetus*. Can J Microbiol 37, 384-390.
173. Taylor, M.A., Marshall, R.N., Stack, M., 1994, Morphological differentiation of *Tritrichomonas foetus* from other protozoa of the bovine reproductive tract. Br Vet J 150, 73- 80.
174. Terzolo, H., Argento, E., Catena, M., Cipolla, A., Martinez, A., Tejada, G., Villa, C., Bentancort, L., Campero, C., Cordeviola, J., Pasini, M., 1992, Procedimientos de laboratorio para el diagnóstico de la campylobacteriosis y tricomoniasis genital bovina. Comisión Científica Permanente de Enfermedades Venéreas de los Bovinos. Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorio de Diagnóstico. Centro Regional Buenos Aires Sur, INTA Balcarce, pp.1-33.
175. Thomas, M.W., Harmon, W.M., White, C., 1990, An improved method for the detection of *Tritrichomonas foetus* infection in bulls. Agri-Practice 1, 13-17.
176. Thomford, J.W., Talbot, J.A., Ikeda, J.S., Corbeil, L.B., 1996, Characterization of extracellular proteinases of *Tritrichomonas foetus*. J Parasitol 82, 112-117.
- Sitio Argentino de Producción Animal 24 de 26 25
177. Vella, M., Greenwell, P., 1997, Purification and partial characterization of betagalactosidase from *Tritrichomonas foetus*. Glycoconj J 14, 883-887.
178. Villar, J.A., Palladino, M.R., Campero, C.M., 1981, Tricomoniasis bovina: resistencia a tratamientos, un problema actual. Gac Vet 43, 891-893.
179. Villarroel, A., Carpenter, T.E., BonDurant, R.H., 2004, Development of a simulation model to evaluate the effect of vaccination against *Tritrichomonas foetus* on reproductive efficiency in beef herds. Am J Vet Res 65, 770-775.
180. Voyich, J.M., Ansotegui, R., Swenson, C., Bailey, J., Burgess, D.E., 2001a, Antibody responses of cattle immunized with the Tf190 adhesin of *Tritrichomonas foetus*. Clin Diagn Lab Immunol 8, 1120-1125.

181. Voyich, J.M., Palecanda, A., Burgess, D.E., 2001b, Antigen-specific T-cell responses in cattle immunized with antigens of *Trichostrongylus axei*. *J Parasitol* 87, 1040-1048.
182. Warton, A., Honigberg, B.M., 1979, Structure of trichomonads as revealed by scanning electron microscopy. *J Protozool* 26, 56-62.
183. Williams, D.J., Guy, C.S., McGarry, J.W., Guy, F., Tasker, L., Smith, R.F., MacEachern, K., Cripps, P.J., Kelly, D.F., Trees, A.J., 2000, *Neospora caninum*-associated abortion in cattle: the time of experimentally-induced parasitaemia during gestation determines foetal survival. *Parasitology* 121 (Pt 4), 347-358.
184. Yule, A., Skirrow, S.Z., BonDurant, R.H., 1989, Bovine Trichomoniasis. *Parasitol Today* 12, 373-377.
185. Zariffard, M.R., Harwani, S., Novak, R.M., Graham, P.J., Ji, X., Spear, G.T., 2004, *Trichomonas vaginalis* infection activates cells through toll-like receptor 4. *Clin Immunol* 111, 103-107.