

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



Situación actual de la Tritrichomoniasis bovina

POR

PEDRO GAYTÁN MARTÍNEZ

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

FEBRERO 2011

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**Situación actual de la Tritrichomoniasis
bovina**

POR

PEDRO GAYTÁN MARTÍNEZ

MONOGRAFÍA

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

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TORREÓN, COAHUILA

FEBRERO 2011

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



Situación actual de la Tritrichomoniasis bovina

MONOGRAFÍA

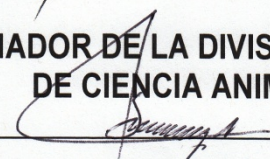
Aprobada por el

PRESIDENTE DEL JURADO



MVZ. FRANCISCO J. CARRILLO MORALES

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



MVZ. RODRIGO I. SIMÓN ALONSO

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
AGRARIA
"ANTONIO NARRO"
Unidad Laguna



TORREÓN, COAHUILA

FEBRERO 2011

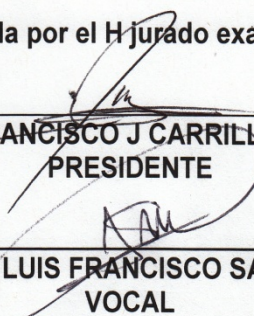
**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**Situación actual de la Tritrichomoniasis bovina
MONOGRAFÍA**

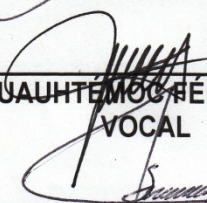
Aprobada por el H. jurado examinador

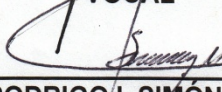

MVZ. MC. FRANCISCO J. CARRILLO MORALES
PRESIDENTE

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
AGRARIA
"ANTONIO NARRO"
Unidad Laguna




MVZ. MC. JOSÉ LUIS FRANCISCO SANDOVAL ELÍAS
VOCAL


MVZ. CUAUHTÉMOC FÉLIX ZORRILLA
VOCAL


MVZ RODRIGO I. SIMÓN ALONSO
VOCAL SUPLENTE

TORREÓN, COAHUILA

FEBRERO. 2011

Índice

Resumen	I
Título.....	1
Introducción.....	1
Antecedentes.....	3
Patología Genital.....	11
Características morfológicas de <i>Trichomona foetus</i>	14
Patogénesis y mecanismos enzimáticos de <i>T. foetus</i>	16
Adhesión y citotoxicidad.....	17
Ciclo de infección.....	19
Diagnóstico.....	19
Medidas de manejo y control.....	20
Medidas de manejo.....	20
Muestreo de vacas.....	22
Diagnósticos de fetos.....	23
Muestreo de toros.....	23
Técnicas de trabajo.....	25
Vacunas contra la Tricomoniasis bovina.....	27
Conclusiones.....	30
Referencias.....	32

Índice de Figuras y Tablas

Imagen 1.....	12
Figura 1.....	24
Figura 2.....	24
Figura 3.....	25
Tabla 1.....	28

Título.

Interacción de los mecanismos de patológicos, hormonales e inmunológicos en bovinos afectados con *Tritrichomonas foetus*.

Resumen.

En el presente trabajo se hace una revisión de los aspectos vinculados con la situación actual de la de la trichomonosis en el país y en otra partes del mundo poniendo énfasis no sólo en las características morfológicas y ultraestructurales, 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-protozoo puede ocasionar. Asimismo, se citan 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 mucosal 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*; Inmunoprofilaxis; inmunidad genital; bovinos, vacunas.

TRICHOMONIASIS BOVINA.

Introducción.

La trichomonosis bovina (actual denominación de la tricomoniasis) es una enfermedad de transmisión sexual ocasionada por el protozoo flagelado *Tritrichomonas foetus*. *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. La infección afecta el área genital de los bovinos produciendo en la hembra vaginitis, endometritis. Martín Gómez, S, et al., 1997. Mattos, A. et al., 1997 *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).

En el macho la infección usualmente es asintomática y crónica sin afectar la libido ni su fertilidad. MARTINEZ, A. 2000. siendo más frecuente en machos adultos y viejos. CORBEIL, L.B. et al., 1998. 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 desuniforme y abundantes preñeces tardías. McCOOL, C.J. 1987. 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. LUN, Z.; PARKER, S.; GAJADHAR, A.A., 2000.

La trichomonosis bovina (actual denominación de la tricomoniasis)(130) es una enfermedad de transmisión sexual ocasionada por el protozoo flagelado *Tritrichomonas foetus*. Bryan, I.A, et al., 1999.

La principal acción patógena de este parásito es producir muertes embrionarias y abortos tempranos. Es una enfermedad sexual. El agente se localiza en prepucio y mucosa peniana produciendo escasa respuesta inflamatoria, la tasa de infección en los toros se incrementa con la edad por el aumento de las criptas epiteliales del prepucio. Los machos no presentan sintomatología clínica.) *Rhyan, J.C.1999.*

Una característica de la enfermedad es la repetición de servicio por muerte embrionaria, lo que hace que los celos se hagan irregulares hasta de 60 días, de esta forma se puede sospechar la enfermedad cuando hay un alto porcentaje de "cola de parición" o "vientres vacíos".

También se observan abortos entre 4º y 8º mes de gestación con una ocurrencia del 5 al 10 % o la producción de infecciones purulentas en útero (piómetra) hasta en un 10% de los casos. La inmunidad natural de la enfermedad en la hembra es corta pudiendo reinfectarse luego de 18 meses el 100%. Las hembras pueden ser portadoras asintomáticas, pudiendo permanecer en útero hasta 90 días.

Antecedentes.

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. falta de medidas sanitarias en muchos rodeos y el insuficiente o nulo diagnóstico en ciertas regiones del país donde la ganadería de cría se ha extendido en los últimos años por la presión de la agricultura, ha provocado una movilización de rodeos donde no existe información actualizada (norte y oeste) sobre el impacto de las enfermedades venéreas.

La enfermedad en México es estimada por la información proveniente de laboratorios privados de diagnóstico veterinario, no existiendo trabajos estadísticos a nivel nacional.

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. *Martin-Gomez, S., Gonzalez-Paniello, R., Pereira-Bueno, J., Ortega-Mora, L.M., 1998*, Canadá el 6%. *Ryley, D.E., Wagner, B., Polley, L.T., Krieger, J.N., 1995*. y en México, Costa Rica y Australia está presente aunque no bien cuantificada. *BonDurant, R.H., 1997,144144. Perez, E.et al.,1992*. En EEUU, California, el 15,8% de los hatos presentaron al menos un toro infectado (13), Nevada, 26,7% al 44,1%. *Kvasnicka, W.G. et al., 1989*.

Florida, 30,4% de los hatos estaban infectados (149), 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. 199). La prevalencia de la enfermedad en hatos 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 hatos 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 (Perez 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. En la Pampa húmeda, Su esfuerzo y dedicación permitieron apoyar las acciones iniciales para mejorar el control de la enfermedad Corbeil, et al., 1998.

Laboratorio Azul en Argentina reporta en 17 años de trabajo los datos siguientes: de Trichomoniasis sobre 445.585 toros analizados correspondientes a 16.673 rodeos, el 19,1 % de los rodeos estaban infectados y el 3,1 % de los toros y sobre 15056 vacas vacías al tacto, el 1.7 % fueron positivas, mientras el 0,8 % de los fetos analizados también fueron positivos a esta enfermedad.

Laboratorio Serivet de Balcarce aportó los siguientes datos para el período 1989 - 1999, sobre 85.093 toros analizados correspondientes a 3514 hatos de cría, la prevalencia promedio ponderada para Trichomoniasis en establecimientos fue de 12.3 % y en toros fue del 1,8 %, y en Campylobacteriosis de 19.3 % en establecimientos y un 2 % en toros. Datos aportados por el Cedivef de Formosa e INTA en Argentina en el período 1995 - 1998 indican que sobre 910 toros correspondientes a 46 establecimientos para Trichomoniasis el 19.5 % de los establecimientos fueron positivos 1,5 % de los toros, en Campylobacter el 74 % de los establecimientos y el 17 % de los toros de la provincia de Formosa, con respecto a la provincia del Chaco para Trichomoniasis sobre 1513 toros correspondientes a 101 establecimientos , el 6.7 % de los establecimientos y el 1% de los toros con, y para Campylobacteriosis, 1156 animales de 90 establos, el 41.1 % de los establos y el 9.1% de los toros. El Dr. Rossanigo y colaboradores indican el descenso de

las prevalencias en dos periodos analizados en la región semiárida central, en el período 1980-1986 para Trichomoniasis la prevalencia media fue del 37,9 % para hatos y 4,9 % para toros y en el período 1994-1997 12,6 para hatos y 1,6 % para toros respectivamente y para Campylobacter en los mismos período fue de 63,5 % para rodeos y 32 % para toros y de 12,5 % y 1,1 % respectivamente.

Las pérdidas anuales en la Pampa Húmeda por enfermedades venéreas se calculan en 1.8 millones de terneros, lo que equivale a 282 millones de dólares a razón de 156 pesos por ternero destetado; si a esto le sumamos gastos de insumos veterinarios, perdidas producidas por la venta de toros infectados, vacas vacías infértiles, la cifra supera los 300 millones de dólares anuales para esta zona. No hay datos nivel nacional que producen estas enfermedades.

Ondrak JD et al., en el 2010, en la Escuela de Medicina Veterinaria y ciencias Biomédicas de la Universidad de Nebraska., realizaron repetidas pruebas con cultivo y PCR para detectar toros portadores de Tritrichomona foetus en ganado infectado de Nebraska, USA. Con el objetivo de comparar los métodos para la identificación de los toros que eran portadores de T. foetus durante un brote en un rancho de carne en Nebraska, 121 animales de las razas Angus y Hereford de 5 rebaños, fueron muestreados, lo que se Procedio con 3 raspados prepuciales secuenciales recogidos de los toros y con intervalos de 27 días se cultivaron, y los cultivos fueron examinados para t. foetus durante 5 días. Al día 5, alícuotas del líquido de cultivo se evaluaron por medio de gel T foetus específicas y los ensayos de PCR en tiempo real. Las vacas fueron una prueba de preñez por medio de la palpación rectal. Veinticuatro de los 121 (19,8%) los toros fueron identificados como infectados con T foetus, se reporta que existe una correlación lineal positiva entre el porcentaje de toros infectados (rango, 0% a 40%) y el porcentaje de vacas gestantes (rango, 8.3% a 19.2%). Se concluye y se sugiere que una combinación de cultivo y el ensayo de PCR en gel realizado de 3 raspados prepuciales secuenciales es el mejor método para identificar toros que eran portadores de T feto durante este brote rebaño. *J Am Vet Med Assoc. 2010 Nov 1; 237(9):1068-73.*

Slapeta J, et al., en el 2010, reportan, en su estudio que el Tritrichomonas Foetus de gatos domésticos y el Tritrichomonas Foetus del

ganado son genéticamente distintos. La relación genética entre *Tritrichomonas* foetus aisladas de gatos domésticos y el ganado fue investigada por la secuenciación del ADN de la región interna de la unidad de transcripción del ADN ribosomal y la repetición TR7/TR8 de longitud variable. Los resultados rechazan la hipótesis de que el *T.foetus* de gatos domésticos es genéticamente idéntica a *T. foetus* del ganado. Se sugiere el reconocimiento de "genotipo del gato 'y un' genotipo de ganado 'de *T. foetus*. En la revisión de los repositorios públicos de nucleótidos reveló que el genotipo gato no ha sido aislado de animales, ni el genotipo ganado no se ha recuperado de los gatos. Sin embargo, por lo menos, el aislado de un gato ha demostrado inducir la enfermedad en bovinos infectados experimentalmente. Llegamos a la conclusión de que estos genotipos entran en la única especie *T. foetus*. *Exp Parasitol.* 2010 Oct; 126(2):209-13.

JJ Lucas .Hayes GR, et al., del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad Médica SUNY Syracuse, NY, EE.UU. reportan un estudio donde se da a conocer que *T. foetus* secreta una proteasa de cisteína (CP8), que induce citotoxicidad y apoptosis en las células epiteliales de la especie bovina vaginal y uterina. (Caracterización de una proteasa de cisteína del *Tritrichomona foetus* que induce la apoptosis de las células huésped.

Mallinson et al., 1995, ¹⁴¹, Reportan originalmente una secuencia de ADN parcial de CP8 *T. foetus* sobre la base de la clonación por PCR del ADN genómico de *T. foetus*. Aquí se muestran las propiedades bioquímicas de la enzima CP8. Propiedades cinéticas y el perfil de especificidad de sustrato de CP8 *T. foetus* se estudiaron mediante análisis de posición en bibliotecas sintéticas combinatorias y el análisis de Michaelis-Menten de tres fluorogénicos sustratos sintéticos. El sustrato preferido Z-Leu-Arg-MCA impide la muerte de la célula huésped / apoptosis inducida por la CP8. Además, la secuencia de ADN se completó por 3' y 5' amplificación rápida de extremos de cDNA (RACE) y el de larga duración se obtuvo la secuencia de aminoácidos. *Arco Biophys Biochem.* 2008 Oct 15; 477 (2):239-43.

[Corbeil LB](#), [Campero CM](#), [Van Hoosear K](#), [Bondurant RH](#). Del Departamento de patología, Division de enfermedades infecciosas de la Univesidad de California San Diego, USA, reportan en su estudio la detección de especies de Trichomonas en el tracto reproductivo de toros vírgenes.

La tricomoniasis es una enfermedad de transmisión sexual de ganado y una enfermedad del intestino de los gatos caracterizada por grandes diarreas causadas por T. foetus. Recientemente, otras especies de tricomonas han sido identificadas a partir del prepucio de los toros vírgenes. No está claro si estos aislamientos son comunes ni es claro si también están presentes en el prepucio de los toros de cría. Para responder a estas preguntas, lo primero que desarrolló un ensayo de inmunofluorescencia (IFA) con T. anticuerpos monoclonales específicos de T. foetus para la comparación con un ensayo de PCR específico de T.foetus. Los resultados mostraron que todos los aislamientos positivos de PCR también IFA fueron positivos, se hicieron análisis comparativos de aislados de T. foetus de gato y de T foetus de bovinos de la especie bovina fueron detectados por ambos métodos de análisis en 14 toros vírgenes, 10 machos reproductores, 21 toros de la situación de cría indeterminado (presumiblemente toros de cría) y dos vacas. Estos aislamientos de toros vírgenes eran en su mayoría Tetratrichomonas spp. Considerando que la no-Tf aislados de la mayoría de los toros de cría y las dos vacas fueron hominis Pentatrichomonas. Todos los aislamientos de T. foetus eran de cría de toros o toros de la situación de cría indeterminado. Esta prueba IFA que discrimina entre T. foetus y no Tf-puede ser útil como una prueba de diagnóstico, ya que ningún tratamiento eficaz está disponible, los toros positivos para T. foetus son sacrificados. Con el aumento de los informes de T. feto infección del intestino grueso en los gatos, estos anticuerpos monoclonales también pueden ser útiles para el diagnóstico de la infección felina. [Vet Parasitol.](#) 2008 Jul 4; 154(3-4):226-32.

[Greenwell P](#), [Younes M](#), [Rughooputh S](#).de la Escuela de Biosciencias de la Universidad de Westminster, London, UK. En su artículo publicado en 2008 realizan un purificado y análisis de DNases de Tritrichomonas foetus, evidenciando que estas enzimas son glicoproteínas, DNAsas solubles de T. foetus, juegan un papel en la patogénesis y son potenciales dianas

terapéuticas, se extrajeron y purificaron utilizando cromatografía de afinidad de la lectina. El DNAsas se consolidaron y enjuagado de Concanavalina A (Con A)-sefaroza que indica que son glicoproteínas con manosa alfa-vinculados o residuos de glucosa. La naturaleza de los glicanos realizado de las proteínas eluidas en la fracción que contiene la actividad DNasa se evaluó mediante un ensayo de lectina ligado a enzimas. Los estudios de la lectina de unión a predecir la presencia de los dos N-y O-glicanos tipo. El manganeso es un potente (33%), activador de la DNasa (s), mientras que el zinc inhibe la actividad de la enzima en aproximadamente un 66%. La DNasa (s) tenía un pH óptimo de 4 y un peso molecular de 160 kDa. La DNasa (s) fue capaz de degradar completamente el ADN de animales, plantas, hongos, levaduras y bacterias de fuentes, pero no significativamente degradar ARN. [*Int J Parasitol.* 2008 Jun; 38\(7\):749-56.](#)

[**Ribeiro C M, et al.**](#), 2010, del Departamento de Salud Pública e Higiene Veterinaria de la Facultad de Medicina Veterinaria y Ciencia Animal de São Paulo State University, Botucatu, São Paulo, Brazil. Reportan en el 2010, que *T. foetus* causa infertilidad y aborto en el ganado, sin embargo, existe escasa información sobre la susceptibilidad de los espermatozoides bovinos a este parásito. El objetivo de este estudio fue analizar in vitro la interacción entre *T. foetus* y el esperma de la especie bovina y para evaluar el efecto de los productos extracelulares secretadas por el parásito sobre estas células reproductoras. Los espermatozoides de los cinco toros fértiles (*Bos taurus taurus*, Holstein-Friesian), seleccionados a través de un gradiente de Percoll, se adhirieron al *T. foetus* después de 30 minutos de interacción, resultando en la aglutinación entre los dos tipos de células. Basado en la reacción en cadena reversa de la transcripción de la polimerasa (RT-PCR), *T. foetus* expreso continuamente su gen de la peptidasa de cisteína en la presencia o ausencia de espermatozoides. El Análisis de semen asistida por ordenador (CASA) reveló que, después de 1 h de incubación de los espermatozoides en el cultivo de *T. foetus*, en el extracto de los productos extracelulares secretadas por el parásito hubo disminución de la motilidad espermática progresiva ($P < 0,05$). Aunque los productos *T. foetus* extracelular no dio lugar a la pérdida de la viabilidad espermática ($P < 0,05$) con base en el ensayo de yoduro de Annexin-

V/propidium, el porcentaje de células positivas-yoduro de anexina V-isotiocianato de fluoresceína-positivas y de propidio se incrementó ($P < 0.05$) durante la incubación de los espermatozoides en el cultivo de los extractos de T. foetus, en consonancia con el daño celular. En conclusión, los productos extracelulares secretados por T. foetus fueron citotóxicos para el espermatozoide bovino, influyendo en la disminución de la motilidad espermática progresiva, tal vez esto contribuye a la patogénesis de la T. foetus sobre la infertilidad inducida. *Theriogenology*. 2010 Jan; 73(1):64-70. Epub 2009 Sep 26.

Midlej V, R Vilela, y et al. De la Universidad de Santa Ursula, Río de Janeiro, Brasil, en el 2009, reportan un estudio sobre los efectos Citopáticos de *Tritrichomonas foetus* en las células del oviducto de la especie bovina. Para investigar los efectos citopáticos de T. foetus en las partes más profundas del aparato reproductor, un sistema de atención primaria de la especie bovina de células epiteliales del oviducto (BOECs) fue desarrollado. El aparato reproductor de vacas se obtuvieron y el efecto de la co-incubación con T. foetus BOECs se analizó mediante el escaneo se realizó, con microscopía electrónica de transmisión y microscopía de fluorescencia y las pruebas de viabilidad se realizaron mediante métodos colorimétricos, como el de TUNEL (Terminaldeoxynucleotidyltransferase mediada nick dUTP extremo etiquetado), y diacetato de fluoresceína, el yoduro de propidio, JC-1 y anexina V-. Los resultados demuestran que:

(1) in vitro en el epitelio del oviducto es útil para los experimentos de interacción con el feto T.,

(2) T. feto se adhiere a la BOECs como única celdas separadas, y más tarde en las células de su conjunto como grandes grupos,

(3) la región posterior de la célula inicia el proceso de adhesión y filopodios formas y digitopodia;

(4) T. feto gravemente BOECs daños dejando huellas en las células epiteliales, los grandes espacios intercelulares, y las lesiones grandes en el epitelio, y.

(5) T.Feto, provoca la muerte de células del oviducto de la especie bovina por apoptosis y necrosis secundaria. Nuestras observaciones indican la posibilidad de que T. foetus puede moverse a través del tracto reproductivo al oviducto y que la infertilidad en las vacas puede estar mediado por un ataque a las células del oviducto por T. foetus. *Vet Méx. 2009 Nov 12; 165 (3-4):216-30. Vet Méx. 2010 Ago 27, 172 (1-2):139-43. Fluorescencia de hibridación in situ para la identificación del feto en Tritrichomonas fijado en formalina y embebidos en parafina muestras histológicas de la tricomoniasis intestinal.*

Gookin, JL, et al., del Departamento de Ciencias Clínicas de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Estatal de Carolina del Norte, Raleigh, NC, EE.UU. en el 2010. Reportan un estudio de una secuencia de oligonucleótidos altamente específico de especie Tritrichomonas foetus 18S rRNA que se usó para diseñar una sonda antisentido para la identificación de T. foetus en muestras histológicas fijados en formalina y embebidos en parafina por medio de hibridación in situ fluorescente (FISH). (*Fluorescence in situ hybridization for identification of Tritrichomonas foetus in formalin-fixed and paraffin-embedded histological specimens of intestinal trichomoniasis.*) Con uso de muestras histológicas de archivo de varias especies con evidencia de tricomoniasis, y bajo condiciones de hibridación, la sonda identifica positivamente tricomonas en las muestras de colon de los lechones y un gatito con la PCR, confirmó la infección por T. foetus. Ni la hibridación positiva de la sonda o la amplificación por PCR del ADN de T. foetus no se observó en las muestras histológicas de hámster (muris Tritrichomonas), el pavo, ni ratón (Entamoeba muris), las infecciones intestinales por protozoos.

La prueba FISH permite la localización simultánea e identificación molecular de T. foetus en muestras histológicas fijadas en formalina y parafina de la tricomoniasis intestinal. El método empleado es probable que sea también aplicable a las sondas diseñadas para el reconocimiento específico de otras especies de tricomonas, especialmente en tejidos de mamíferos, donde se pueden glóbulos rojos de auto-fluorescencia fácilmente distinguible de la señal de hibridación de las tricomonas. *Vet Méx. 2010 Ago 27, 172 (1-2):139-43. Epub 2010.*

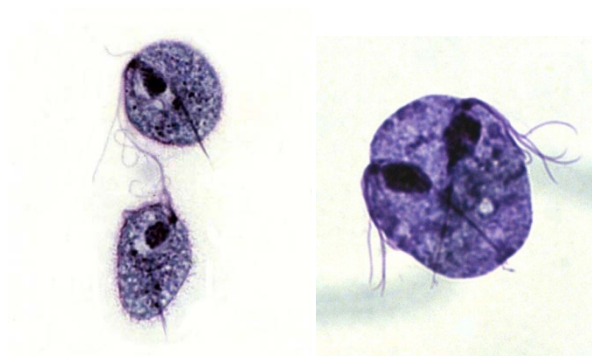
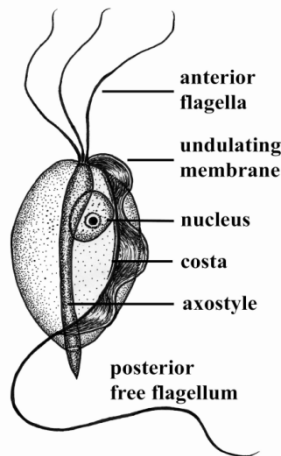
Huby-Chilton F, PN Scandrett, NB Chilton, AA Gajadhar. Del Centro de Parasitología transmitidas por alimentos y animales, la Agencia Canadiense de Inspección de Alimentos, Saskatoon, Saskatchewan, Canadá. Reportan en su artículo Detección e identificación de Tetratrichomonas en un lavado del prepucio de un toro por PCR y SSCP. Tricomonas móviles, Tritrichomonas en fetos fueron encontrados durante el examen microscópico de una muestra en fresco de un lavado prepucial recolectado de un toro. La tinción de los organismos con una modificación de Wright-Giemsa reveló que varias tenía cuatro flagelos anteriores de longitud desigual en lugar de los tres flagelos anteriores de la característica de la misma longitud de *T. foetus*. Se logró una propagación limitada de estos organismos se logró en medio InPouch pero no el crecimiento se produjo en medio de Diamond modificado. El gen 5.8S rRNA y el acompañamiento espaciadores internos transcritos fueron amplificados del gDNA tricomonas de dos muestras de lavado prepucial y una muestra de heces tomadas de los toros afectados. Las Ampliaciones fueron sometidas a un análisis de polimorfismo de conformación de cadena sencilla (SSCP). Los patrones de bandas de SSCP de los amplicones de gDNA de las muestras de lavado prepucial eran diferentes de los de una muestra de control de *T. foetus*.

Estos tricomonas desconocidos no fueron detectados en la muestra fecal. El gDNA extraído de lavados prepuciales, también fue sometido a PCR usando primers desarrollados para amplificar el ADNr 16S de la no-*T. tricomonas foetus*, *Tetratrichomonas* y *Pentatrichomonas* spp. Amplicones fueron producidos a partir de la gDNA de los dos lavados prepuciales, pero no de la muestra de control de *T. foetus* gDNA. Las secuencias de 16S rADN obtenidos a partir de la tricomonas en las dos muestras de lavados prepuciales fueron del 100% similar a la de una especie *Tetratrichomonas* previamente aislada de un toro Angus de los Estados Unidos.

Características morfológicas de *Tritrichomonas foetus*.

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, *Trichomonas vaginalis* pertenece al género *Tricomonas*. BRYAN, L.A., et al., 1999.

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 (182). Warton, A., Honigberg, B.M., 1979,



Morfología de *Tritrichomona Sp*

Las trichomonas presentan unas organelas únicas, 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. *Mariante, R.M. et al., 2003* Si bien los hidrogenosomas tienen una función similar a las mitocondrias, los primeros carecen de genoma propio, cadena respiratoria y citocromos. *Mariante, R.M., et al., 2003* El complejo blefaroplasto es otra organela característica de *T.foetus*, formado por los gránulos basales denominados kinetosomas que se conectan con los flagelos (122). *Mattos, A., 1997*. 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, y la costa que es un cuerpo basal débilmente cromático que corre por debajo de la membrana ondulante. *Mattos, A., Sole-Cava, A.M., DeCarli, G., Benchimol, M., 1997*.

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. *Mariante, R.M., Lopes, L.C., Benchimol, M., 2004*, No posee huéspedes intermediarios y debe siempre habitar un huésped que será definitivo en el desarrollo parasitario *Honigberg, B.M., 1978*, 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 *McCool, C.J., 1987*.

e inclusive humanos, donde se lo menciona en un caso incidental asociado a un trasplante de médula ósea (131). *Okamoto, S., Wakui, M., Kobayashi, H., Sato, N., Ishida, A., 1998*.

T. foetus se transmite, bajo condiciones naturales, exclusivamente por vía sexual. 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. *Clark, B.L., Dufty, J.H., Parsonson, I.M., 1977*. Sin embargo, trabajos realizados en el INTA Balcarce Argentina 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 que facilidad algunos toros lograban infectarse al estar

en contacto con la hembra durante no más de 20 min. de servicio . En condiciones artificiales, *T. foetus* puede difundirse por inseminación artificial ya que el protozoo permanece viable en el semen congelado infectado. *Eaglesome, M., Garcia, M., 1992.*

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. *Tachezy, J., et la., 2002.* 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. *Levy, M.G., et la., 2003*

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, La enfermedad en el macho cursa generalmente en forma asintomática sin afectar la calidad seminal ni la libido (BonDurant 1997). *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. *Rhyan, J.C., 1999.* Es por ello que existe una mayor frecuencia de presentación en los toros adultos y viejos, pese a ello la enfermedad esta 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. *Rhyan, J.C., 1999. T. foetus* puede producir una leve balanopostitis *Parsonson, I.M., 1974*. Si bien las lesiones genitales no son patognomónicas de *T. 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. *Campero, C.M., 2002*, 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 y Palladino 1983; Campero y col. 1987*.

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. *Rhyan, J.C., 1999*. 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. *Parsonson, I.M., Clark, B.L., Dufty, J.H., 1976*.

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 linfoideo y células inflamatorias en el estrato compacto. *Parsonson, I.M., 1976. T. foetus* no es invasiva y se adhiere superficialmente al epitelio endometrial siendo rodeada por células inflamatorias y detritus celulares. *Parsonson, I.M., Clark, B.L., Dufty, J.H., 1976*.

Por otra parte, *T. foetus* puede ocasionalmente infectar el útero preñado entiendo 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. *Skirrow, S., 1987*. Este fenómeno determina que dichas vacas resulte

una importante fuente de infección para el rodeo en el próximo servicio. *Skirrow, S., 1987, Mancebo, O.A., Russo, A.M., Carabajal, L.L., Monzon, C.M., 1995,*

También *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,

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 mas frecuente es una bronconeumonía piogranulomatosa con ocasionales células gigantes, enteritis necrotizante y la presencia de flagelados libres o fagocitados. *Rhyan, J.C., 1995^a, Rhyan, J.C., 1995^b.* Al ocurrir el aborto, el feto es expulsado aunque esporádicamente, puede ser retenido, momificarse o macerarse y originar una piómetra. Clark, B.L., Dufty, J.H., Parsonson, I.M., 1983a

Patogénesis y mecanismos enzimáticos de *T. foetus*.

T. foetus posee endo y exoenzimas que incluyen beta-galactosidasas. *Vella, M., Greenwell, P., 1997.* glycosidasas relacionadas con la ruptura de la capa de mucina genital. *Connaris, S., Greenwell, P., 1997.* Y neuraminidasas localizadas en la periferia del protozoo. Sin embargo, la cistein proteínasa extracelular, es la enzima de mayor importancia en la patogénesis de *T. foetus*. La cistein-proteínasa 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. *Talbot, J.A., Nielsen, K., Corbeil, L.B., 1991.* 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 Neutrófilo y a evadir el complemento degradando la fracción C3 e inhibiendo la formación de C3b y la cascada complementaria. *Kania, S.A. et al., 2001.* 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. *Dias Filho, B.P., Benchimoli, M., Andrade, A.F., Angluster, J., De Souza, W., 1999,* esta enzima hidroliza la unión glicosídica α -2,3- entre el ácido siálico y los gliconjugados de superficie revelando los glucoconjugados celulares internos (6). Esta remoción del ácido siálico permitiría la adhesión celular de *T. foetus* como prerequisite 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. *T. foetus* se adhiere al epitelio superficial queratinizado de la vagina mediante su flagelo posterior y luego por el resto del soma. *Jesus, J.B., Lopes, A.H., Meyer-Fernandes, J.R., 2002,* siendo luego capaz de adherirse y producir daños citotóxicos por contacto. *Singh, B.N., Lucas, J.J., Beach, D.H., Shin, S.T., Gilbert, R.O., 1999,* 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. Felleisen, R.S., 1999, Dichas adhesinas tendrían también la capacidad de adherirse y destruir los glóbulos rojos por hemoaglutinación. 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. Singh, B.N., Lucas, J.J., Beach, D.H., Shin, S.T., Gilbert, R.O., 1999,

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. Shaia, C.I., et al., 1998. Los LPG son glicoconjugados ricos en fucosa y en menor cuantía manosa, galactosa, glucosamina, glucosa y galactosamina, su composición lipídica incluye principalmente ácido palmítico y esteárico. 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. Shaia, C.I., Voyich, J., Gillis, S.J., Singh, B.N., Burgess, D.E., 1998, 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. Shaia, C.I., et al., 1998.

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 lipofosfoglicano (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,

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.

Ciclo de Infección.

Fuente de infección

Animales enfermos y/o portadores
(Toros, vacas y vaquillonas infectadas)

Vías de eliminación

Secreciones
Genitales y semen

Puerta de entrada

Genital a través
del servicio

Ciclo de Infección

Animales susceptibles

Toros, vacas y vaquillonas

Diagnóstico.

Esta enfermedad puede ser diagnosticada en los toros, vacas y vaquillonas, o fetos mediante análisis de laboratorio. El análisis más común es el que se efectúa en los toros mediante la toma de muestra prepucial empleando distintos métodos diagnósticos de rutina.

El nº de muestreos necesarios a realizar en los toros tiene mucho que ver con los antecedentes sanitarios y reproductivos y la situación actual del hato.

Muestras a obtener para el diagnóstico de enfermedades venéreas en las diferentes categorías de animales.

Toros

Material prepucial y semen

Vacas y/o Vaquillonas

Flujo de cuello uterino y vagina.

Fetos y sus envolturas

Líquido de cuajo, pulmón, placenta envolturas y fluidos fetales.

Es conveniente utilizar animales centinelas o sensores a las hembras con problemas reproductivos que son detectados en el tacto o muestrear los fetos hallados.

MEDIDAS DE MANEJO y CONTROL

Para el control de estas enfermedades, particularmente en el caso de Trichomoniasis es recomendable la venta a faena de los animales positivos y para el tratamiento de los toros y para ambas la adopción de medidas de manejo y control. El uso de la inseminación artificial con semen procedente de toros sanos.

MEDIDAS DE MANEJO

La implementación de un programa de control es indispensable muestrear todo toro que ingrese al ható independientemente de su edad y antecedentes.

Estrategias de diagnóstico en rodeos libres, infectados o de situación desconocida en Machos.

Hatos libres 2 muestreos negativos.

Hatos infectados o de situación desconocida.

Líquido de cuajo, pulmón, placenta envolturas y fluidos fetales.

Los muestreos se deben realizar a partir de 30-35 días de finalizado el servicio, con intervalos no menores a 10 días.

Los toros positivos a ambas enfermedades deben enviarse a faena o tratarse. Si se tratan, deben realizarse controles para verificar la efectividad del

tratamiento, con 4 muestreos como mínimo, comenzando 30 días después de finalizada la medicación.

No repetir tratamientos en toros que hayan demostrado resistencia al mismo, enviándolos al Rastro.

Evitar que los toros tengan contacto con hembras fuera de la época de servicio.

No ubicar los toros destinados a servicio en potreros con inadecuados alambrados linderos con otros establecimientos

Utilizar toros jóvenes.

Llevar registros de los toros asignados a cada hato durante el servicio, no rotarlos.

No realizar la prueba de capacidad de servicio en rodeos con enfermedades venéreas.

No realizar la prueba de capacidad de servicio en toros que no tengan control de enfermedades venéreas.

Vacunar contra T. foetus todos los toros que entren a servicio, y también los utilizados en IA, repaso, marcadores de celo y aquellos destinados a la prueba de capacidad de servicio.

EN HEMBRAS.

Realizar tacto pre-servicio para descartar preñeces.

Efectuar diagnóstico de preñez por palpación rectal

Realizar muestreos en no menos del 10 % de los vientres vacíos a la palpación rectal post-servicio, para efectuar los análisis de laboratorio. Estos análisis constituyen una prueba de hato.

Estrategias de diagnóstico en rodeos infectados, o de situación desconocida en Hembras y Fetos Hembras.

Muestreos de hembras con problemas reproductivos (repetidoras de celo, vacías al tacto y/o aquellas que aborten) hatos infectados o de situación desconocida Fetos.

Muestreos de fetos que puedan localizarse y que estén en condiciones de procesarlos.

Las hembras vacías se destinarán a venta para faena.

En hatos problemas se tratará de efectuar el seguimiento por tacto rectal de las hembras preñadas para detectar pérdidas tacto-parición descartando todo vientre abortado.

Al ingresar vientres al establecimiento, estos deben provenir de rodeos libres de enfermedades venéreas y mantenerse aparte hasta finalizada la parición. El riesgo de vaca portadora siempre estará presente.

Las hembras utilizadas en la prueba de capacidad de servicio deberán ser libres de enfermedades venéreas (constatar por análisis de laboratorio).

Se deberán realizar vacunaciones contra *Campylobacteriosis* en todas las hembras (vacas y vaquillonas) que entren en servicio, y en las destinadas a la prueba de capacidad de servicio.

En todo proceso de control de enfermedades debe haber una decisión de implementar medidas de control y cumplir las premisas totalmente, pues de otro modo solo invertiremos el dinero mal y siempre tendremos presente la enfermedad, el productor debe consultar a su Médico Veterinario y juntos planear las estrategias de acuerdo a las premisas que ya están planteadas, seguramente el compromiso de ambas partes permitirá el control de las mismas. Pero también se recomienda en todo momento al productor adoptar las medidas correctas de control.

MEDIO CEDIVE PARA EL CULTIVO DE *TRITRICHOMONA FOETUS*

El medio para cultivo de *Tritrichomona foetus* se prepara en base a un caldo de hígado bovino (Shuterland-modificado) con componentes comerciales de primera línea y suero estéril, lo que garantiza un alto estándar de sensibilidad.

Muestreo de Vacas.

En vacas que se han infectado durante el servicio, la trichomoniasis produce una infección uterina que afecta la nidación y el desarrollo de la placenta, produciendo aborto especialmente entre los 40 días y los 4 meses de gestación. Por esa razón es poco frecuente el hallazgo de los fetos en el campo. Sin embargo es de buena expectativa el diagnóstico en vacas vacías al tacto con o sin piómetra. Este diagnóstico permite anticipar al productor una

propuesta de manejo. Se sugiere el muestreo de varios animales en la oportunidad del tacto.

Aunque en general las vacas desarrollan inmunidad post-infección, las vacas portadoras (“carrier”) son más frecuentes de lo que la bibliografía tradicional estimaba. En rodeos infectados es muy probable demostrar la presencia del parásito en vacas falladas por esa causa, aún después de 6-8 meses de retirados los toros, por lo que el riesgo de infección de los mismos persiste en los próximos servicios. El diagnóstico se puede establecer sembrando una muestra de moco cérvico vaginal. Conviene tomar la muestra del cuello uterino alcanzando preferiblemente el primer pliegue y del fondo de saco vaginal en torno al cuello.

Diagnóstico en fetos.

Como se dijo los abortos en general son tempranos, sin embargo algunas gestaciones pueden sostenerse hasta después de los cuatro meses y un pequeño porcentaje de los abortos más tardíos, incluso a término, pueden deberse a *Tritrichomona foetus*. Hay vacas infectadas que incluso paren terneros vivos. Cuando la infección afecta gestaciones avanzadas el protozoo invade el líquido amniótico y por vía oral al feto, infectando el cuajo, pulmones y eventualmente el hígado antes de la muerte y posterior expulsión. En el feto el lugar de elección para intentar el aislamiento es el líquido de cuajo (al igual que en otras infecciones que siguen el mismo curso). Una pequeña muestra de ese líquido se sembrará en el medio decultivo para *Tritrichomona foetus*.

Muestreo de toros

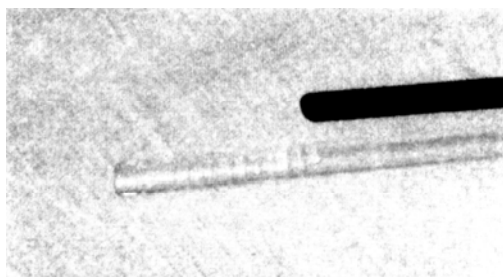
Instrumental para la obtención de muestras prepucciales en el toro. Construido con un catéter plástico, su extremo con ranuras anulares permite remover el exudado que es aspirado con un frasco plástico flexible. El catéter es descartable. El instrumento posee una empuñadura que facilita su accionar y cuenta con una válvula para interrumpir la aspiración.

Desde que Bartlett en 1949 (1) describiera la utilización de una pipeta acodada para obtener muestras prepucciales, se han utilizado distintos

elementos para remover o aspirar material del fondo de saco prepucial. *Bartlett, D. E. et al., 1949.*

Con la intención de simplificar la técnica sin disminuir la calidad del material obtenido se desarrolló el presente instrumental: un aspirador raspador descartable con una empuñadura metálica y un envase plástico para hacer succión,

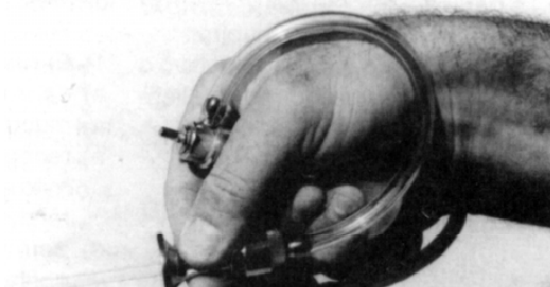
Raspador: Está construido con un tubo plástico semiflexible de 6 mm de diámetro exterior, 4 mm de luz y 60 cm de largo que posee la rigidez suficiente para ser empujado hasta el fondo de saco prepucial sin inconveniente. En el extremo que se introduce dentro del prepucio presenta un sector de 2 cm de longitud con ranuras anulares para remover el esmegma y tres orificios de 2 mm de diámetro, que sumados al del extremo de la pipeta conforman cuatro puntos de aspiración (Figura I).



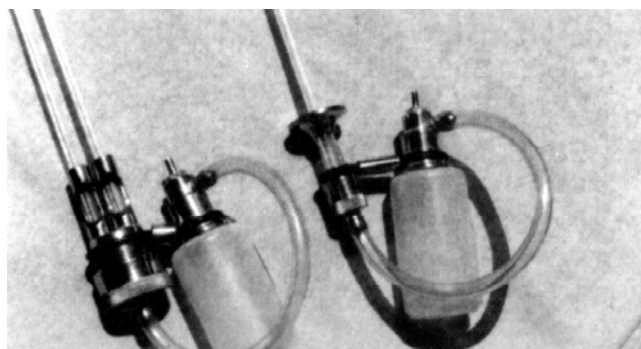
Aspirador: La succión del material removido se realiza mediante un frasco de poliestireno flexible de 60 ml de capacidad que se cambia con facilidad cuando se ensucia.

Empuñadura: Se diseñó una pequeña empuñadura de intermediario para conectar el frasco plástico con el raspador. Es un conjunto de cuatro elementos que cumplen otras tantas funciones y que se desarma con facilidad para permitir su limpieza. a) buje de goma donde se inserta el raspador, b) apoyo para el pulgar e índice que permite sujetar el catéter y facilita los movimientos de vaivén durante el raspado, mientras el frasco se toma con los tres dedos restantes, e) válvula para eliminar el vacío y d) tapón de bronce donde se inserta el frasco.

La movilidad se logró mediante una vinculación flexible entre el frasco y la empuñadura lo que permite no sólo adaptarlo a cualquier posición de trabajo que convenga al operador sino también manejarlo con la mano izquierda o derecha (Figura 2).



Se diseñaron dos modelos de empuñadura según se quiera utilizar uno o dos aspiro-raspadores al mismo tiempo para sembrar en forma independiente un medio de cultivo para tricomonas y otro para campylobacter (Figura 3).



TÉCNICA DE TRABAJO

Introducir el aspiro-raspador hasta el fondo del saco prepucial. Si el avance se dificulta por que la mucosa está muy seca, se lubrica la cavidad colocando con la pipeta un pequeño volumen de la misma solución, medio de cultivo o transporte, que se esté utilizando.

Insuflar aire dentro de la cavidad prepucial comprimiendo el frasco plástico.

Realizar veinte raspados en sentido antero posterior en la zona del fornix y glande del pene.

A partir del décimo movimiento de raspado comenzar a aspirar.

Enjuagar en el medio de cultivo o transporte aspirando y expeliendo con el frasco flexible.

Si bien la aspiración se puede realizar con una jeringa, el uso del intermediario aquí descrito es más práctico porque permite trabajar con una sola mano. El conjunto es totalmente desarmable lo que facilita su limpieza. Utilizar un frasco plástico resultó más conveniente que la pera de goma. No se deteriora por el calor ni se reseca con el uso; se ve cuando pasa líquido a su interior, es lavable y muy económico.

La válvula permite que entre aire al sistema anulando el vacío e interrumpiendo la aspiración. De esa forma se evita diluir la muestra o mojar el frasco en caso que el toro orine durante el raspado. El catéter se sujeta entre los dedos pulgar e índice para no disminuir la sensibilidad del operador durante el raspado. Con esto se evita ejercer una presión excesiva que podría lesionar la mucosa prepucial o peneana. Comparado con otros métodos en uso, el aspiroraspador presenta varias ventajas y algunos inconvenientes.

Ventajas respecto de:

1) El raspador metálico:

- a)** es menos agresivo para la mucosa prepucial.
- b)** recoge más material porque permite aspirar el esmegma que se remueve.
- c)** permite obtener muestras menos contaminadas. Si la pipeta está muy embarrada, se puede limpiar el exterior y sólo se utiliza para sembrar, el material aspirado contenido en su interior.
- d)** no se necesita calentar agua para esterilizar los raspadores. Esto no es una ventaja menor. A menudo conseguir los elementos para encender fuego y hervir agua es una molestia.

2) La pipeta lisa:

- a)** recoge más cantidad de material porque remueve las células superficiales que luego son aspiradas.
- b)** tiene mejor capacidad de aspiración porque es de mayor diámetro y posee cinco orificios en lugar de uno sólo.
- c)** se trabaja con una sola mano porque no se aspira con jeringa. Esto permite tomar el prepucio con la mano libre para guiar la pipeta o sujetarlo, si es muy péndulo, como es caso de los toros cebú.

d) la longitud del instrumento permite llegar hasta el fondo del saco prepucial aun en toros de razas cebuínas o en aquellas mangas donde el animal queda lejos del operador.

3) El raspador blando:

- a) no hay que esterilizar los cabezales.
- b) evita armar los raspadores uno a uno.
- c) es más barato.

Valen las mismas consideraciones de los puntos b) y c) enunciadas arriba.

Inconvenientes:

En relación con el raspador blando de caucho siliconado puede ser más traumático si se emplea una presión exagerada y cotejado con el raspador de bronce los muestreos se encarecen porque el catéter se descarta.

Vacunas contra la Tricomoniasis bovina:

El principal objetivo de las vacunas contra *T. foetus* en hembras bovinas es evitar la cervicitis, endometritis y placentitis, las cuales ocasionan infertilidad y pérdida de la preñez *BonDurant y col. 1993; BonDurant 1997*. Las vacunas contra la Tricomoniasis bovina deben ser capaces de generar una respuesta inmune capaz de eliminar a *T. foetus* del tracto reproductivo antes que suceda el daño fetal (aproximadamente día 60-70 post infección), sin necesariamente evitar la colonización del epitelio vaginal por parte del protozoo *BonDurant y col. 1993; BonDurant 1997*. Trabajos donde se estudió la patogénesis de la enfermedad, determinaron que las pérdidas fetales ocurren luego de 63 días post infección *BonDurant 1997*. Por otra parte, Anderson y col. 1996 demostraron que la respuesta inmune e inflamatoria en la hembra, correlacionado con la pérdida fetal, ocurre luego de 70 días post infección.

Diversos tipos de vacunas se han desarrollado para el control de la Tricomoniasis bovina. En principio se formularon vacunas con célula entera de *T. foetus* inactivada, las cuales aplicadas por vía sistémica en hembras bovinas servidas con toro infectado, redujeron el número de hembras infectadas y el

tiempo de infección *Kvasnicka y col. 1992; Hudson y col. 1993(b)* (Tabla 1). Actualmente, una vacuna a célula entera inactivada de origen importado (EE.UU) es elaborada comercialmente y se encuentra disponible en el mercado argentino. Ensayos realizados en Argentina con dicha vacuna comercial evidenciaron algún grado de protección en las pérdidas provocadas por la enfermedad *Campero y col. 199.*) (Tabla 1), aunque se desconoce su desempeño en condiciones reales de producción bovina. Contradictoriamente, la aplicación de vacunas a célula entera en toros mayores de 5.5 años no tuvo efecto preventivo ni curativo de la infección *Clark y col. 1983a*. Además, otros autores fracasaron al utilizar vacunas con célula entera de *T. foetus* tanto en bovinos hembras como en toros *Herr y col. 1991*. (Tabla 1).

Tabla 1. Características de las principales vacunadas elaboradas contra *Tritrichomonas foetus*.

Autor	Tipo de vacuna (n°)	VA	Dosis	Desafío	PI (días)	% P
Herr et. al. (1991)	Entera (12)	IM	2 c/ 42 días	Servicio natural	49	8
	Control (12)				98	16
Kvasnicka et.al. (1992)	Entera 5x107/dosis (65)	SC	2 c/ 21 días	Servicio natural	27	62.5
	Control (65)				38	31.5
Hudson et. al. (1993b)	Entera (36)	SC	2 c/ 21 días		49	55.5
	Control (15)				69	13.3
Gault et. al. (1995)	Entera 5x107/dosis (10)	SC	2 c/ 21 días	Servicio natural	22	-
	Entera 5x107/dosis (15)			Intravaginal	25	-
	Control (10)			Servicio natural	75	-
Anderson et. al. (1996)	Tf 1,17 (16)	IM	3 c/ 21 días	Intravaginal	30	-
	Control (8)				54	-
Campero et. al. (1998)	Entera (10)	SC	2 c/ 15 días	Servicio natural	-	66.6
	Membrana (6)	V			-	70
	Control (7)	-			-	85.7
Campero et. al. (1999)	Membrana (12)	SC	3 c/ 30 días	Intravaginal	35	-
	Control (13)				64	-

VA: Vía de aplicación / Sc: Subcutáneo Im: Intramuscular V: Vaginal

c/: cada PI (días): Persistencia de la infección %P: Porcentaje de paridas

Por otra parte, se desarrollaron vacunas con subunidades de *T. foetus*, es decir con antígenos seleccionados por inducir una respuesta inmune protectora *Clark y col. 1984; BonDurant y col. 1993; Campero y col. 1998 y 1999*,

Corbeil y col. 1998. A partir de la identificación de antígenos en la superficie celular de *T. foetus* investigadores australianos utilizaron fracciones de membrana glicoproteicas de *T. foetus* como inmunógeno en toros con aceptables resultados *Clark y col. 1984*. Una vacuna desarrollada con similar técnica fue utilizada en hembras desafiadas experimentalmente y permitió acortar el período de infección *Campero y col. 1999*. Sin embargo, no existe suficiente información sobre su desempeño en condiciones de desafío natural de la infección y a su vez, otros autores mencionaron un mejor desempeño de vacunas con célula entera comparadas con vacunas contenedoras de fracciones de *T. foetus* *Hudson y col. 1993a*.

En los últimos años, gracias a la identificación y purificación de un antígeno superficial de *T. foetus* denominado Tf 1.17 *Hodgson y col. 1990*, fue desarrollada una nueva vacuna experimental *BonDurant y col. 1993*; *Anderson y col. 1996*; *Corbeil y col. 1998*. Tf 1.17 es un antígeno glicoproteico presente en cepas de *T. foetus* de diferentes regiones geográficas del mundo *Hodgson y col. 1990*; *Ikeda y col. 1993*. Además, estudios in vitro mencionan que anticuerpos monoclonales contra Tf 1.17 fueron capaces de inmovilizar, aglutinar, evitar la adhesión celular y destruir por la vía del complemento a *T. foetus* (*Hodgson y col. 1990*). Se desconoce la eficacia en condiciones naturales de una vacuna contenedora de Tf 1.17, pero su aplicación en vaquillonas desafiadas experimentalmente con *T. foetus* evidenció una pronta liberación de la infección, protección contra la inflamación y producción de IgA específicas en las secreciones genitales *Anderson y col. 1996*; *Corbeil y col. 1998*.

En reglas generales, hembras inmunizadas con *T. foetus* tuvieron un patrón de respuesta humoral similar al descrito para las infecciones naturales, aunque la respuesta en hembras inmunizadas fue más temprana y de mayor cuantía *Herr y col. 1991*; *BonDurant y col. 1993*. La inmunización de vaquillonas por vía sistémica incrementó los niveles de IgG séricos y genitales e IgA genital, pero el incremento de IgA genital dependió del adyuvante empleado *BonDurant y col. 1993*; *Gault y col. 1995*; *Corbeil y col. 1998*. Así, vaquillonas vacunadas por vía sistémica con adyuvante oleoso o adyuvante incompleto de Freund incrementaron su nivel de IgA vaginal *BonDurant y col. 1993*; *Gault y*

col. 1995, pero no se obtuvo similar resultado utilizando un adyuvante de saponina modificada Quil A Corbeil y col. 1998. La inmunización de vaquillonas en la mucosa superficial de la vagina en forma de “booster” permitió importantes incrementos de IgA uterinas y vaginales Corbeil y col. 1998, pero no se determinó incremento en los niveles de anticuerpos séricos, Cobo y col., La persistencia de la infección genital por *T. foetus* fue menor en hembras vacunadas donde la infección persistió por 3 a 5 semanas en promedio Kvasnicka y col. 1992; Gault y col. 1995; Anderson y col. 1996; Campero y col. 1999. Pudiendo llegar a 7 semanas Herr y col. 1991; BonDurant y col. 1993; Hudson y col. 1993b. En cambio en hembras no vacunadas la infección se prolongó por 5 a 14 semanas Herr y col. 1991; Kvasnicka y col. 1992; BonDurant y col. 1993; Hudson y col. 1993 (b); Gault y col. 1995; Campero y col. 1999. Tabla 1.

El empleo de vacunas en un rodeo infectado con Tricomoniasis permitiría un menor tiempo de infección en las hembras vacunadas y la posibilidad de lograr un 10-15% más de terneros destetados.

En lo referente a la capacidad de las vacunas existentes para evitar pérdidas fetales, grupos de hembras vacunadas desafiadas naturalmente sufrieron pérdidas reproductivas, aunque en menor cuantía que aquellas hembras sin vacunar. En experiencias con vacunas a célula entera, mientras que en un principio el rango de concepción era mayor a 85% en los grupos vacunados y sin vacunar, dicho rango se redujo al 62.5% para el grupo vacunado y 31.5% para el grupo control, aunque cabe mencionar que los animales tuvieron un desafío mayor al que ocurre en condiciones de campo (Kvasnicka y col. 1992). También Hudson y col. 1993(b), trabajando con el mismo tipo de vacuna entera, observaron que el rango de preñez descendió de 66.6% a 55.5% para el grupo vacunado y de 33.3% a 13.3% para el grupo no vacunado (Tabla 1). Sin embargo, se considera escasa la información existente sobre el desempeño de las vacunas contra *T. foetus* en condiciones de ganadería extensiva donde el período de servicio puede extenderse 4 a 6 meses. Además, la presencia de otras enfermedades reproductivas concomitantes comunes en Latinoamérica, tales como la Campylobacteriosis

bovina o Brucelosis, pueden enmascarar los resultados de los animales vacunados.

Conclusiones

La Tricomoniasis bovina continúa siendo uno de los problemas reproductivos más importantes en la ganadería de cría, tal cual lo demuestran los índices de prevalencia de la enfermedad en diferentes regiones del mundo.

En los últimos años se efectuaron importantes avances en el entendimiento de la patógenesis del protozoo y en el desarrollo de diferentes tipos de vacunas contra *T. foetus*. Sin embargo, aún se sabe poco sobre el empleo de diferentes rutas de inmunización y tipos de adyuvantes, lo cual podría mejorar el desempeño de las vacunas ya existentes. Futuras evaluaciones de las vacunas disponibles en condiciones reales de desafío a campo permitirán considerar la vacunación como una herramienta para el control de la enfermedad. Por otra parte, es necesario implementar el diagnóstico de la enfermedad en los rodeos de cría de Latinoamérica para conocer el verdadero status de la enfermedad y poder programar medidas de control sanitario. Finalmente, la implementación de nuevas técnicas moleculares como el PCR y medios de cultivo más sensibles y específicos permitirán un mejor diagnóstico de la enfermedad.

Referencias.-

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.*
13. BonDurant, R.H., Anderson, M.L., Blanchard, P., Hird, D., Danaye-Elmi, C., Palmer, C., Sicho, 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* Químico resistentes 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.
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* trichomonads 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 tricomoniasis. *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 tetratrachomonad species isolated from prepuccial smegma of virgin bulls. *Vet Parasitol* 117, 195-211.
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 *Tetratrachomonads 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 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 actors 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.
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 *Tritrichomona 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 cultura 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 gammadelta 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

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 after 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 *Trichomonas 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 *Trichomonas 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 Científica 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 foetus* 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 foetus*. *Vet Pathol* 25, 350-355.
152. Rhyan, J.C., Blanchard, P.C., Kvasnicka, W.G., Hall, M.R., Hanks, D., 1995a, Tissueinvasive *Tritrichomonas foetus* 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 foetus* 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 foetus* in the external 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 foetus* isolated from Saskatchewan, Canada. *J Clin Microbiol* 33, 1308-1313.
159. Schnackel, J., Wallace, B., Kvasnicka, W., Hanks, D., Hall, M., 1989, *Tritrichomonas foetus* 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 foetus* 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 foetus*. *Infect Immun* 66, 1100-1105.
162. Singh, B.N., 1993, Lipophosphoglycan-like glycoconjugate of *Tritrichomonas foetus* 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 foetus* 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., Vrlik, M., Van Ranst, M., Flegr, J., Kuldaa, J., 2002, Cattle pathogen *Tritrichomonas foetus* (Riedmuller, 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.
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 *Tritrichomonas foetus*. *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