

2015

Detección de Tritrichomonas foetus en machos reproductores Bos indicus, en ganaderías de Puerto Salgar, Cundinamarca, Colombia

Rolando Enrique Ramírez Rubiano
Universidad de La Salle, Bogotá

Follow this and additional works at: https://ciencia.lasalle.edu.co/medicina_veterinaria



Part of the [Comparative and Laboratory Animal Medicine Commons](#)

Citación recomendada

Ramírez Rubiano, R. E. (2015). Detección de Tritrichomonas foetus en machos reproductores Bos indicus, en ganaderías de Puerto Salgar, Cundinamarca, Colombia. Retrieved from https://ciencia.lasalle.edu.co/medicina_veterinaria/151

This Trabajo de grado - Pregrado is brought to you for free and open access by the Facultad de Ciencias Agropecuarias at Ciencia Unisalle. It has been accepted for inclusion in Medicina Veterinaria by an authorized administrator of Ciencia Unisalle. For more information, please contact ciencia@lasalle.edu.co.

**Detección de *Tritrichomonas foetus* en machos reproductores *Bos indicus*, en
Ganaderías de Puerto Salgar, Cundinamarca, Colombia**

ROLANDO ENRIQUE RAMIREZ RUBIANO



**UNIVERSIDAD DE LA SALLE
FACULTAD MEDICINA VETERINARIA
BOGOTÁ
2015**

**Detección de *Tritrichomonas foetus* en machos reproductores *Bos indicus*, en
Ganaderías de Puerto Salgar, Cundinamarca, Colombia**

ROLANDO ENRIQUE RAMIREZ RUBIANO

COD. 14061156

**Trabajo de grado presentado como parte de los requisitos para optar por el título
de Médico Veterinario**



**UNIVERSIDAD DE LA SALLE
FACULTAD MEDICINA VETERINARIA
BOGOTÁ
2015**

DIRECTIVOS

RECTOR Hno.

Hno. CARLOS GABRIEL GÓMEZ RESTREPO

VICERRECTOR ACADÉMICO

Hno. CARLOS ENRIQUE SALASAR COSTA

**VICERRECTOR DE PROMOCIÓN
DESARROLLO HUMANO**

Hno. FRANK LEONARDO RAMOS BAQUERO

VICERRECTOR ADMINISTRATIVO

Dr. EDUARDO ANGEL REYES

**VICERRECTOR DE INVESTIGACIÓN
Y TRANSFERENCIA**

Dr. LUIS FERNANDO RAMIREZ HERNANDEZ

**DECANA DE LA FACULTAD DE
AGROPECUARIAS**

Dra. CLAUDIA AIXA MUTIS BARRETO CIENCIAS

DIRECTOR MEDICINA VETERINARIA

Dr. FERNADO NASSAR MONTOYA

ACEPTACIÓN

DIRECTOR

Dr. CARLOS MARIO JARAMILLO

JURADO

Dra. EFRAIN BENAVIDES

JURADO

Dr. FABIO RIOS

COMPROMISO

El presente trabajo no contiene ideas que sean contrarias a la doctrina católica en asuntos de dogma y moral.

Ni la Universidad, ni el director, ni el jurado calificador son responsables de las ideas expuestas por los graduandos.

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
1. RESUMEN	1
2. ABSTRACT	2
3. INTRODUCCIÓN	2
4. OBJETIVOS	3
4.1. Objetivo General	3
4.2. Objetivos Específicos	4
5. MARCO TEORICO	
5.1. Definición	4
5.2. Historia	5
5.3. Distribución	5
5.4. Etiología	7
5.5. Factores de riesgo y transmisión	8
5.6. Patogenia	10
5.7. Manifestaciones clínicas	10
5.8. Diagnóstico	12
5.9. Tratamiento	15
5.10. Profilaxis y control	17
6. MATERIALES Y MÉTODOS	18
6.1. Localización	18
6.2. Tipo de estudio	19
6.3. Población de estudio y tamaño de muestra	20
6.4. Métodos y procedimiento	21
6.5. Variables y análisis estadístico	24
7. RESULTADOS	24

8. DISCUSIÓN	31
9. CONCLUSIONES	35
10. RECOMENDACIONES	35
11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36

TABLA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Localización geográfica	19
Figura 2. Tamaño de la muestra	22
Figura 3. Proceso toma de muestra	23
Figura 4. Toro muestreado	25
Figura 5. Muestra turbia	27
Figura 6. Asociación estadística entre Problemas reproductivos del toro y Presencia de la Enfermedad	29
Figura 7. Asociación estadística entre Problemas reproductivos del toro y Características morfológicas de la muestra	30
Figura 8. Asociación estadística entre Resultados a la Microscopía y Resultados al cultivo	30

TABLA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Relación de toros incluidos en el estudio y resultados encuesta a propietarios	26
Tabla 2. Evaluación cualitativa en campo y laboratorio	27
Tabla 3. Distribución de muestras positivas y negativas	29

Detección de *Tritrichomonas foetus* en machos reproductores *Bos indicus*, en Ganaderías de Puerto Salgar, Cundinamarca, Colombia

1. RESUMEN

Los problemas reproductivos en bovinos, se ven representados generalmente en grandes pérdidas económicas para el productor y el país ganadero. En Colombia, son escasos los estudios actualizados acerca del estatus de enfermedades reproductivas como la Trichomonosis bovina. Con el fin de determinar la presencia o ausencia de Trichomonosis bovina en Puerto Salgar, Cundinamarca, Colombia, se realizó una evaluación diagnóstica para detectar *Tritrichomonas foetus*, dirigida a toros reproductores *Bos indicus* en época de monta, mayores de 3 años. Se incluyeron 58 toros procedentes de fincas del municipio, escogidos al azar. Se realizó una encuesta personal a cada productor para determinar si han existido problemas reproductivos en la finca y en los individuos incluidos en el estudio. Para la recolección de muestras se utilizó el método de lavado prepucial usando Solución Salina Fisiológica Estéril y tubos cónicos para el transporte. Las características de las muestras se evaluaron macroscópicamente y posteriormente se evaluaron mediante microscopía de campo oscuro. Los cultivos en caldo *Tritrichomonas* se evaluaron a los 8 y 15 días de incubación a 37°C. Mediante microscopía se encontraron 5 (8,6%) muestras positivas de 58, mientras que mediante cultivo se detectó la presencia de *T. foetus* en el 14% de los toros muestreados. La asociación de la presencia del protozoario con la historia de problemas reproductivos de los toros no fue significativa.

Palabras claves: Toros, *Tritrichomonas foetus*, cultivo, microscopía de campo oscuro.

2. ABSTRACT

Reproductive problems in cattle are usually represented in large economic losses for producers and cattle country. In Colombia, there are few studies about the status of reproductive diseases such as bovine Trichomonosis disease. In order to determine the presence or absence of bovine Trichomonosis in Puerto Salgar, Cundinamarca, Colombia, a diagnostic evaluation to detect Tritrichomonas fetus was performed in breeding bulls Bos indicus in breeding season, over 3 years. 58 bulls were included from farms in Puerto Salgar, the bulls were randomly selected. A personal interview with each producer was performed to determine whether reproductive problems have existed on the farm and in individuals included in the study. For the collect of the samples, it was used the method of preputial washing using Physiological Saline Sterile and tapered tubes for transportation. The characteristics of the samples were macroscopically evaluated and then they were evaluated by dark field microscopy. Tritrichomonas cultures were evaluated at 8 and 15 days of incubation at 37 ° C. By microscopy it was found 5 (8.6%) of 58 positive samples, while using cultures, T. fetus was detected in 14% of the sampled bulls. The association of the presence of protozoan with the history of reproductive problems of bulls was not significant.

Keywords: Bulls, Tritrichomonas fetus, culture, dark field microscopy.

3. INTRODUCCIÓN

La especie bovina constituye un aspecto de gran importancia en el ámbito cultural, social, económico y sanitario para el hombre y su rendimiento está condicionado al estado de salud de los animales. Diversas enfermedades pueden afectar la especie bovina, pero las más frecuentes en las regiones tropicales y subtropicales son las producidas por bacterias, virus y parásitos, que generalmente conviven con el animal, causando síntomas subclínicos cuya única evidencia es la disminución en la productividad o las alteraciones en los parámetros reproductivos del hato (Cobo y

Campero, 2002; García y Lista, 2005; Villar, 2009; Madoroba et al., 2011; Pereira et al., 2011; Yao, 2013).

Diferentes factores como los cambios ambientales, la reforma en el uso de las tierras y la cercanía estrecha de poblaciones humanas con animales, han hecho que la ecología de algunas enfermedades se vea afectada y estas, cursen de un modo diferente al tradicionalmente conocido, por esta razón, se hace prioritario profundizar en el conocimiento acerca de la trichomonosis en bovinos del país, en zonas en las que el impacto de la ganadería es importante en materia económica y de desarrollo.

Dado que la Trichomonosis se encuentra en la lista de enfermedades reportadas por la OIE como una enfermedad epidemiológicamente importante que posee características enzoóticas, es importante tener el conocimiento epidemiológico de la presencia de la enfermedad en áreas específicas del país, con el fin de evaluar el estatus de salud del hato colombiano y participar en futuros programas de prevención (González et al., 2012). Esta importancia, motivó la realización del presente trabajo de investigación, con la finalidad de aislar e identificar el agente etiológico *T. foetus*, del tracto reproductivo de toros *Bos indicus*, y así establecer la presencia o ausencia de la Trichomonosis en toros del municipio de Puerto Salgar, Cundinamarca, teniendo en cuenta que a pesar de pertenecer a la región del Magdalena medio y de ser una zona con gran desarrollo e impacto en la ganadería del país, no cuenta con estudios de investigación que provean datos del estado de la enfermedad en los hatos.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Evaluar el estatus de la Trichomonosis bovina causada por *T. foetus* en toros reproductores *Bos indicus* en actividad de monta del municipio de Puerto Salgar, Cundinamarca, Colombia.

4.2 Objetivos específicos

- Realizar lavados prepuciales en machos *Bos indicus* reproductores de Puerto Salgar, Cundinamarca.
- Identificar la presencia de *T. foetus* en las muestras de lavados prepuciales mediante microscopía de campo oscuro y mediante cultivo en caldo *Tritrichomonas*
- Evaluar la posible asociación de problemas reproductivos con la presencia de la enfermedad.
- Comparar los resultados obtenidos con los estudios realizados previamente en Latinoamérica.
- Informar a los productores acerca de la situación general de la Trichomonosis bovina en la zona y concientizarlos sobre la importancia de los controles sanitarios.

5. MARCO TEÓRICO

5.1 Definición

La Trichomonosis bovina es una enfermedad genital de transmisión sexual ocasionada por el protozoo *Tritrichomonas foetus* (Honigberg, 1978). El huésped definitivo es el bovino (*Bos taurus* y *Bos indicus*), pero, el parásito ha sido ocasionalmente aislado de búfalos, equinos, cerdos y roedores (Cobo y Campero, 2002). Corresponde a una enfermedad venérea, de gran importancia en hatos donde se usa la monta natural, que causa muerte embrionaria temprana, abortos, piómetra e infertilidad en el ganado bovino (*Bos taurus* y *Bos indicus*) (Quiróz, 2011). La enfermedad es de carácter agudo o subagudo, principalmente en los órganos genitales de vacas y toros (Madoroba *et al.*, 2011). Causa grandes pérdidas económicas a los ganaderos por la disminución de crías a término (Griffths *et al.*, 1984). La transmisión ocurre durante el coito, generalmente de los toros que se consideran portadores asintomáticos, hacia las hembras (Quiróz, 2011).

5.2 Historia

El parásito fue observado por primera vez por Kunstler en 1888, en Francia y por Mazzanti en 1900, en Italia, cuando descubre un protozoario flagelado, en el aparato genital de vacas sacrificadas en el matadero, a consecuencia precisamente de esterilidad y tendencia hacia el aborto (Tachezy *et al.*, 2002). El descubrimiento de Mazzanti no fue suficientemente valorado, pues todavía no estaba probado el carácter contagioso y patógeno de las tricomonas. Posteriormente, Stazzi en 1915 aportó el descubrimiento del aborto tricomoniasis en la vaca a través de numerosas observaciones de vacas abortadas en el tercer y cuarto mes de gestación, fenómeno que se observaba con gran frecuencia en las regiones italianas de Sondrio, Pisa y Siena. Pero fue Riedmüller en 1928 quien definió el parásito como agente causal de la infertilidad temporal de los bovinos (Rogério, 2005). Posteriormente, en 1933, Wenrich y Emmerson, actualizaron la nomenclatura para ajustar la posición sistemática del microorganismo y, por esta razón, sus nombres también se incorporaron al nombre de la especie, conforme las reglas internacionales de nomenclatura y sistemática (Rogério, 2005). En general, puede decirse que todos los países europeos han contribuido intensamente desde 1937 a 1950 al estudio de la Trichomonosis, gracias a lo cual hoy es una enfermedad completamente conocida, pudiendo decirse actualmente que la constituye un problema de gran interés en los países que se han preocupado de establecer los adecuados planes de lucha (Adeyeye *et al.*, 2012).

5.3 Distribución

T. foetus es un protozoo flagelado, que presenta una distribución mundial (Fitzergald, 1986; García y Lista, 2005), afectando especialmente vacas lecheras. En las áreas del mundo donde está ampliamente distribuido el uso de la inseminación artificial, la prevalencia se encuentra muy reducida, aunque todavía presenta importancia en hatos de vacas para carne o en otras circunstancias donde no se utiliza la inseminación artificial (OIE, 2012). Esta enfermedad presenta un comportamiento enzoótico en algunas regiones, aunque en algunas zonas se presentan en forma espontánea (García y Lista, 2005). En un estudio realizado a 117 toros en Venezuela, en el estado

de Trujillo, se reportó el 24.78% de prevalencia, con 29 toros positivos a *T. foetus* (García y Lista, 2005). En gran parte de los países *T. foetus* ha sido controlada mediante prácticas de manejo en reproducción, tales como la inseminación artificial, control sanitario del semen y el descarte de los animales infectados, (Cobo y Campero 2002). 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, por ejemplo, se estimó una prevalencia de 2.9% toros infectados con *T. Foetus* (Cobo y Campero 2002; Pérez et al., 1992).

La prevalencia de la enfermedad en hatos de Estados Unidos, Canadá, México, Costa Rica y Australia superan el 6% en los toros muestreados (Cobo y Campero, 2002). Estudios realizados en el estado de Río de Janeiro en Brasil, reportan prevalencias en hato del 10,3% (Soares da Rocha *et al.*, 2009). Mientras que en estudios recientes en Argentina, se reportan prevalencias del 1,1% en toros y del 5,1% en hatos (Molina *et al.*, 2013).

En 1984, el convenio Colombo Alemán ICA/GTZ, mencionó en un estudio realizado en que la infertilidad bovina correspondía a una de las áreas que requerían mayor control en el país dado el negativo impacto económico que esta situación desencadenaba al estudiar las características de la producción bovina y el sistema de salud de hato en Colombia (Otte y Lobo, 1984), mientras en un estudio realizado por Griffiths y Cols, en Colombia en 1982, concluyeron que los porcentajes de toros infectados con *T. foetus*, fueron de 22.4% para la zona Andina, 44% para la región Caribe y 10% para el Piedemonte Llanero (Villar, 2009). En 1995, en el estudio realizado por Otte y Cols, no hubo presencia de *T. foetus* en los cultivos realizados de muestras de esmegma de 25 toros del Piedemonte llanero y lo atribuyeron a un bajo número de muestras por animal y a que los reproductores no tuvieron un previo descanso sexual. Los estudios más recientes realizados en Colombia han incluido los departamentos de Nariño y Putumayo, obteniendo prevalencias en hato de 16.7% y 48.3% respectivamente (González y Patiño, 1999; Benavides et al., 2010).

5.4 Etiología

T. foetus pertenece a el reino Protista, Subreino Protozoa, Phylum Sarcomastigophora, Orden Trichomonadida, Familia Trichomonadidae, Género *Tritrichomonas* y especie *Tritrichomonas foetus* (OIE, 2012).

T. foetus es un protozoo flagelado de 9 a 18 x 4 a 8 µm de tamaño, piriforme, aunque debido a la plasticidad de su protoplasma adopta diversas formas según requerimientos fisiológicos (Campero y Cobo, 2006), posee una membrana ondulante la cual recorre todo el cuerpo formando de 2 a 5 ondulaciones, presenta tres flagelos anteriores y un flagelo posterior, que caracterizan al parásito por su gran movilidad. Los mecanismos metabólicos de glicólisis son realizados mediante una organela de doble membrana denominada hidrogenosoma, la cual le permite al protozoo adaptarse a vivir en condiciones de anaerobiosis o microaerofilia (Cobo y Campero, 2002; Rogéiro, 2005; Madoroba *et al.*, 2011).

En cuanto al ciclo de vida, el flagelado *T. foetus*, desarrolla su vida corrientemente sin efectuar una fase exógena, pasando de un hospedero definitivo a otro, su multiplicación es asexual por fisión binaria longitudinal (Madoroba *et al.*, 2011). Se identifican 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 pseudoquistica, oval e inmóvil, que aparece en condiciones de medio ambiente desfavorable como temperatura hostil o deficiencias nutricionales (Campero y Cobo, 2006). *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. Sin embargo, en un estudio realizado cuyo objetivo fue verificar la presencia de pseudoquistes de *T. foetus* en toros infectados naturalmente, se estableció que aproximadamente el 55% de los parásitos se encontraban en forma de pseudoquistes en cada muestra prepuccial (Pereira *et al.* 2011). *T. foetus* No posee huéspedes intermediarios y debe siempre habitar un huésped que será definitivo en el desarrollo parasitario. El huésped definitivo es el bovino aunque puede colonizar otras especies como búfalos, equinos, cerdos y roedores (Campero y Cobo, 2006).

En unos primeros estudios se reconocieron tres serotipos basados en la aglutinación: la cepa “*Belfast*”, descrita como predominante en Europa, Africa y Estados Unidos; la cepa “*Brisbane*” en Australia; y la cepa “*Manley*”, que ha sido descrita solamente en algunos brotes. Poco trabajo más se ha realizado en este campo y en la actualidad se está haciendo necesaria la investigación más profunda en el área para comparar las características de crecimiento, la variación genética y antigénica y la patogénesis de los aislados de *T. foetus* de diferentes zonas antes de que pueda realizarse la designación de “cepa” y “serotipo” con garantías (OIE, 2012).

5.5 Factores de riesgo y transmisión

Entre los factores de riesgo de la Trichomonosis se indican, la edad del toro (machos con mayor edad tienen más alto potencial de transmitir la infección), permanencia de portadores asintomáticos (toros y vacas), prácticas ganaderas inadecuadas como carencia de cercas, pastoreo en potreros comunales y fallas en el control sanitario en animales adquiridos en otra explotación (García y Lista, 2005; Benavides *et al.*, 2010; González *et al.*, 2012). La enfermedad se transmite por el coito, y en la mayoría de las ocasiones el macho infecta a la hembra, pues a partir de los cuatro años de edad, el protozoo se aloja en los pliegues o criptas peneanas formadas en la mucosa prepucial; en este sitio, el parásito puede cohabitar con la bacteria *Campylobacter fetus*. Al momento de la cópula, la estimulación y la erección del pene favorecen que se abran las criptas peneanas y salgan las tricomonas que son introducidas a la hembra durante la penetración. No se conoce a ciencia cierta cómo se da la transmisión entre machos, pero se sabe que toros vírgenes pueden contagiarse si le dan servicio a una hembra positiva (Quiróz, 2011).

El toro se considera el principal diseminador de la infección en el hato, encontrando así que la vía de transmisión es venérea, resultando suficiente 200 a 80000 flagelados para establecer la infección en el prepucio de un toro (Cobo y Campero, 2002; González *et al.*, 2012). El macho se infecta durante el coito con hembras infectadas, además de permanecer como portador de por vida (García y Lista, 2005; Yao, 2013). El agente es generalmente transmitido por la monta natural o, incluso, por el uso de

semen contaminado durante el proceso de inseminación artificial, ya que el parásito puede permanecer viable en el semen congelado infectado (Cobo y Campero, 2002; Rogeiro, 2005). La transmisión puede ocurrir además, por medio de instrumentos contaminados usados en el examen ginecológico de la vacas. Es posible introducir Trichomonosis al hato al agregar a este una vaca o un toro afectado (Yao, 2013). Se caracteriza principalmente por alteraciones reproductivas en las hembras, tales como: repetición de celo, mortalidad embrionaria, piómetra, aborto y ciclos estrales irregulares, asemejándose a la campilobacteriosis en los aspectos epidemiológicos, clínicos y patológicos (Honigberg, 1978; Rogeiro, 2005; Madoroba *et al.*, 2011). Epidemiológicamente la hembra puede permanecer como portadora por un periodo de uno a tres meses, pero el macho es portador por más de tres años o incluso de por vida (Quiróz, 2011).

Se han descrito varios animales domésticos susceptibles a la infección experimental con *T. foetus* como conejos, cuyes y hámsters por vía genital. Por otro lado se encontraron tricomonas similares a *T. foetus* del tracto genital y de fetos abortados de yeguas, cerdas y venadas (Quiróz, 2005).

Recientemente, haciendo uso de nuevas técnicas de biología molecular se ha podido identificar que *T. foetus* presenta una morfología idéntica y una secuencia genética de ARNr homóloga con *Tritrichomonas suis*, que habita de manera apatógena la cavidad nasal de cerdos y su tracto digestivo. Se ha determinado que esta cercanía genética estrecha puede deberse a que se trate de la misma especie adaptada a diferentes huéspedes, y en la actualidad se ha propuesto que *T. foetus* y *T. suis* son sinónimos. Existen reportes donde se han logrado infectar bovinos experimentalmente con *T. suis* proveniente del ciego de cerdos, lográndose la transmisión mediante la infección de toros. Sin embargo, estos tienen recuperación espontánea. Experimentalmente se pueden infectar lechones con *T. foetus*, encontrando reacciones cruzadas entre cepas de *T. foetus* y *T. suis* por medio de pruebas de aglutinación en tubos capilares y en difusión en gel (Quiróz, 2005; Campero y Cobo, 2006).

Por otra parte, *T. foetus* ha sido identificada como agente causal de diarrea crónica en gatos en los cuales el parásito logró colonizar el epitelio del íleo, ciego y colon (Campero y Cobo, 2006). En un estudio realizado en ocho se logro obtener un cultivo positivo a partir de una muestra de heces de un gato previamente inoculado con *T. foetus*, sin embargo, todos los felinos inoculados presentaron en mayor o menor severidad, heces blandas con sangre y moco, episodios de vómito y fiebre (Stockdale et al. 2008).

5.6 Patogenia

T. foetus se encuentra de manera natural en la mucosa superficial del tracto reproductivo del hospedador y posee una gran habilidad de adhesión al epitelio vaginal, lo cual se hace indispensable para el establecimiento exitoso de la infección (Cobo y Campero, 2002; Midlej *et al.*, 2009; Cobo *et al.*; 2010). En la patogenicidad de la enfermedad influyen diversas endo y exoenzimas de *T. foetus*, que tienen acción sobre diferentes células del hospedador mediante desintegración de epitelios y degradación de inmunoglobulinas, principalmente IgG2, la cual es muy importante en los mecanismos de defensa del bovino hacia organismos patógenos extracelulares (Anderson *et al.*, 1996; Cobo y Campero, 2002; Midlej *et al.*, 2009).

T. foetus origina en la hembra respuestas inmunológicas leves que generalmente no logran eliminar la infección y en la mayoría de las ocasiones la respuesta que se genera es de tipo local con incremento de inmunoglobulinas como IgA e IgG1. De manera sistémica la respuesta también es leve y se encuentran relacionadas las inmunoglobulinas IgG1 e IG2. En el caso de los machos, también se ha descrito la reacción local por parte de las inmunoglobulinas como mecanismo de defensa humoral, sin embargo esta respuesta es leve y tardía como para prevenir la infección o eliminarla totalmente (Cobo y Campero, 2002).

5.7 Manifestaciones clínicas

En los toros, el protozoo se ubica en la cavidad prepucial, especialmente en las criptas peneanas, fórnix y parte distal de la uretra, sin producir lesiones patológicas (Villar,

2009). En el macho generalmente no hay evidencia de signos clínicos, tampoco se afecta la calidad seminal ni la libido del animal (Anderson *et al.*, 1996; Cobo y Campero, 2002; Rogéiro, 2005). En toros mayores de 4 a 5 años, la recuperación espontánea ocurre en menos del 10% de los casos, de esta manera, se convierte en portador asintomático y fuente permanente de la infección (Parker *et al.*, 2003), sin embargo en algunos machos aparecen síntomas muy discretos, el prepucio se inflama y puede aparecer una secreción purulenta, la micción puede ser dolorosa y sobre el miembro pueden aparecer granulaciones rojas o pálidas (Cobo y Campero, 2002; Villar, 2009; Pereira *et al.*, 2011).

En la hembra bovina, el parásito invade el epitelio vaginal posterior a la cópula, causando también inflamación intersticial en cérvix, útero y oviducto (BonDurant, 1997; Rogéiro, 2005; González *et al.*, 2012), dado que la infección empieza por la vagina, es posible que aparezcan nódulos o formaciones granulares, por la inflamación de los folículos, el síntoma más constante es la presencia de una secreción blanca, lechosa o ligeramente amarillenta, inodora y con pequeñas capas blancas. Al examen rectal, los cuernos pueden aparecer gruesos y fluctuantes (Villar, 2009). El protozoo persiste en las secreciones genitales de la hembra por 90 a 190 días, y pueden persistir hasta 300 días post servicio (Parker *et al.*, 1999; Cobo y Campero, 2002; Tachezy *et al.*, 2002). Las lesiones placentarias y fetales antes del día 60 de gestación son mínimas, permitiendo mantenerla. Sin embargo, luego de este período la presencia de *T. foetus* genera una reacción inflamatoria en los placentomas, con presencia de macrófagos y neutrófilos (González *et al.*, 2012; Yao, 2013). Esta placentitis determina aborto antes del séptimo mes de gestación (Ministerio de Agricultura de Chile, 2012). *T. foetus* ocasiona en las hembras infectadas una diversa sintomatología que incluye muerte embrionaria, infertilidad transitoria, descargas uterinas, piómetra y abortos; así como vaginitis hasta por 9 semanas post-parto en caso de que la vaca mantenga la gestación y para un ternero a término (González y Patiño, 1999). Finalmente, dentro de los signos clínicos de un hato infectado se pueden detectar repetición de celos, preñeces tardías, baja tasa de preñez, e intervalos entre partos prolongados (BonDurant *et al.*, 1999; Cobo y Campero, 2002; Benchimol, 2004; González *et al.*, 2007; Yao, 2013). En el feto se puede encontrar bronconeumonía piogranulomatosa y enteritis necrótica, llegando a

encontrarse ingestión e inhalación de meconio. Microscópicamente se ven macrófagos y células gigantes (Quiróz, 2011).

5.8 Diagnóstico

El diagnóstico se basa en la historia y los signos clínicos, así como en la identificación del agente, que se hace a partir de fluidos placentarios, contenido abomasal del feto, lavados uterinos, exudado de endometritis o moco vaginal (Quiróz, 2011). Así pues, el diagnóstico provisional inicia con la historia y los signos clínicos que pueden indicar procesos de Trichomonosis, tales como síntomas de aborto prematuro, celos repetidos, o ciclos de celo irregulares (Rogéiro, 2005); mientras que el diagnóstico definitivo depende de la confirmación de la presencia del parásito (González *et al.*; 2012) en el líquido placentario, el contenido estomacal de los fetos abortados, los lavados uterinos, el flujo piometral o el mucus vaginal. En los hatos contaminados, el material más fiable para el diagnóstico son los lavados prepuciales o vaginales y los raspados (OIE, 2012, Yao, 2013). El examen en fresco es de fácil realización, rapidez y bajo costo, pero presenta una escasa sensibilidad (entre el 62 y 92%) dependiendo del observador, aunque tiene una especificidad del 98% (Aznar *et al.*; 2007). Tanto la microscopía de luz invertida como la microscopía electrónica y la microscopía de campo oscuro, han sido utilizadas de manera exitosa en estudios de diagnóstico básico de Tricomonas, aunque se han probado también métodos como la microscopía inmunoelectónica, la microscopía de contraste de interferencia diferencial, la video microscopía y la microscopía electrónica de barrido, para usos más detallados en la microestructura del parásito (Benchimol, 2004; González *et al.*, 2012). La identificación del agente mediante el examen directo del cultivo, corresponde a la prueba prescrita para el comercio internacional establecida por la OIE (OIE, 2012). Además, cuando los microorganismos son demasiado escasos para una detección directa y una identificación precisa, deben prepararse cultivos. Normalmente es necesario el cultivo de *T. foetus* porque, en la mayoría de los casos el número de microorganismos no es suficiente para hacer un diagnóstico positivo mediante el examen directo (OIE, 2012). En hatos sospechosos la prueba más confiable es el cultivo a partir de un lavado vaginal o de un raspado prepucial. El éxito de la prueba depende del método utilizado,

de la higiene al tomar la muestra y de la cantidad de tricomonas que se encuentren (mayor concentración de *T. foetus* de los 12 a los 70 días postinfección), por lo que en ocasiones es recomendable repetir la prueba. Los sementales que vayan a ser probados deben tener un descanso sexual de por lo menos 10 días (Quiróz, 2011).

Los microorganismos se desplazan con un movimiento rotatorio entrecortado y se observan en pruebas de cultivo de muestras prepuciales de toros infectados y lavados vaginales o mucus cervicovaginal de las vacas infectadas, o, a veces, en los fetos abortados. Los microorganismos pueden cultivarse in-vitro, y pueden observarse en un portaobjetos húmedo o teñido mediante microscopía (Benchimol, 2004). El método de diagnóstico estándar para los toros implica la recogida, examen y cultivo del esmegma del prepucio y el pene (Griffiths et al., 1984; Rogéiro, 2005). El esmegma se puede recoger de diferentes maneras, incluyendo el lavado prepucial o el raspado de la cavidad prepucial y el glande del pene a nivel del fórnix con una pipeta de inseminación seca (Parker et al., 2003; Yao, 2013). En el toro, las muestras de esmegma prepucial pueden recolectarse mediante la pipeta de inseminación artificial de Cassou o con el método del raspador, siendo ambos métodos prácticamente similares (Pérez et al., 1992; Parker et al., 2003). La sensibilidad del cultivo de *T. foetus* en un muestreo prepucial se estima en 88.8% y 96.1% para el caso de realizar dos muestreos (Cobo y Campero, 2002). En condiciones de manejo extensivo, usuales en Latinoamérica, se debería considerar a un toro libre de Trichomonosis cuando posee dos muestreos prepuciales negativos en animales provenientes de hatos sin antecedentes de la enfermedad y cuatro muestreos negativos para aquellos toros provenientes de hatos con enfermedad endémica (Parker et al., 1999).

Pueden utilizarse varios medios. Los medios elegidos son el medio Diamond para tricomonas, el caldo *Tritrichomonas*, o el kit comercial de cultivo InPouch™. La inoculación de las muestras en los medios de cultivos debe realizarse lo antes posible después de la recogida (González et al., 2012; OIE, 2012). La estimación de la sensibilidad y la especificidad diagnósticas del cultivo e identificación, debe estar basada en la eficacia de la colecta de la muestra, el manejo y el procesamiento de la muestra, así como en la composición y calidad del medio de cultivo. Para el cultivo en

medio Diamond se ha estimado que la sensibilidad oscila entre el 78% y el 99%. En el medio de Diamond modificado cuya composición contiene tripticasa de peptona, extracto de levadura, maltosa, cisteína y ácido ascórbico, la muestra debe cultivarse hasta siete días y las muestras examinarse diariamente, generalmente, la incorporación del agar en el medio limita a los microorganismos contaminantes en la porción superior del medio, mientras que mantiene las condiciones microaerófilas en el fondo del tubo, en donde las tricomonas se encuentran en mayores cantidades (OIE, 2012). El caldo *Tritrichomonas* por su parte, se compone de hígado hidrolizado, glucosa, NaCl, agar, suero equino y Cloranfenicol, y requiere la incubación por 8 y 15 días a 37 centígrados para luego evaluar el cultivo mediante microscopía de campo oscuro (González et al., 2012). La prueba de cultivo en campo disponible comercialmente, permite el crecimiento de *T. foetus* y el examen microscópico directo, es una prueba sencilla y sensible que consiste de dos cámaras, la cámara superior contiene un medio especial en el que se introduce la muestra de lavado prepuccial una vez centrifugada, y la cámara inferior, de ambiente microaerófilico, en la cual se introduce el medio para luego sellar e incubar a 37 centígrados. El examen directo puede realizarse directamente a través del recipiente plástico (OIE, 2012; Rogéiro, 2005; González et al., 2012). Los resultados del diagnóstico con muestras de toros utilizando cualquiera de los dos métodos de diagnóstico por cultivo, han mostrado que los dos métodos ofrecen resultados comparables, pero que el kit ofrece algunas ventajas (Pérez et al., 1992; OIE, 2012). La infección también puede detectarse mediante la reacción de amplificación en cadena de la polimerasa (PCR) (Tachezy et al., 2002; Rogéiro, 2005). En el pasado se ha utilizado como prueba para hatos una reacción de aglutinación, empleando mucus recogido a partir del cérvix y un antígeno preparado a partir de microorganismos cultivados. De manera similar se ha utilizado una prueba intradérmica empleando un precipitado del organismo con ácido Tricloroacético (Pérez et al., 1992; OIE, 2012). Otras técnicas diagnósticas son: TYM (trypticase yeast extract maltose) e inmunohistoquímica en tejidos fijados con formol y parafinados de muestras de pulmón, intestino fetal, placenta o tejidos genitales de hembra y macho (Quiróz, 2011).

Para establecer el diagnóstico diferencial de la Trichomonosis, se deben tomar en cuenta patologías infecciosas como Brucelosis, Campilobacteriosis, Clamidirosis,

Leptospirosis, Listeriosis, Infecciones por ureoplasmas y por Micoplasma, Rinotraqueitis Infecciosa Bovina, Diarrea Viral Bovina, Micosis (Aspergillus, Candida, etc.) y Neosporosis (García y Lista, 2005; Repiso *et al.*, 2005; Quiróz, 2011). La campilobacteriosis es el primer diagnóstico diferencial que hay que tener en cuenta, es una enfermedad venérea del ganado, antes conocida como vibriosis. Esta enfermedad es ocasionada por *Campylobacter fetus* subespecie *venerealis*, una bacteria gram negativa, muy móvil, con un solo flagelo y que se puede observar con el microscopio de campo oscuro, que ocasiona también infertilidad, muerte embrionaria y aborto. *Campylobacter fetus* también habita en las criptas peneanas, por lo que se presenta en donde hay monta natural. Aunque puede sobrevivir a la congelación no se disemina por semen congelado ya que durante su procesamiento se agregan antibióticos que evitan la contaminación del semen. El diagnóstico de este agente se hace por cultivo en medios de transporte como Cary-blair, Amies, Weybridge y Clark's (Quiróz, 2011).

5.9 Tratamiento

En la actualidad no existen agentes terapéuticos completamente eficaces contra la Trichomonosis bovina. El uso indiscriminado o erróneo en condiciones de campo de los nitroimidazoles, hizo que se detectaran fallas en la efectividad terapéutica y presencia de cepas de *T. foetus* quimio-resistentes (Cobo y Campero, 2002; Goñi *et al.*, 2011). De los nitroimidazoles el más utilizado es el metronidazol, este presenta en las diferentes especies una rápida y completa absorción cuando se administra por vía oral. Sin embargo en bovinos, la actividad metabólica reductora a nivel ruminal produce la inactivación del fármaco (Álvarez *et al.*, 2002), haciendo inviable esta vía que puede ser reemplazada por la vía intravenosa o rectal. Cuando el metronidazol ha sido utilizado para el tratamiento de la Trichomoniasis bovina, la administración intravenosa se acompaña de la aplicación de ungüentos (5 %) de metronidazol de manera local (Goñi *et al.*, 2011). Realizando al mismo tiempo masajes vigorosos para asegurar la penetración del producto dentro de las criptas prepuciales (Cobo y Campero, 2002).

Antiguamente, el tratamiento de los toros se favorecía al realizarse lavados prepuciales o tratamientos con ungüentos a base de Acriflavina de los cuales se reportaba una

efectividad cercana al 90% (Honigberg, 1978; UNAM, 2000; Adeyeye *et al.*, 2012). Este tipo de tratamiento a pesar de poder realizarse con el animal en pie, requiere de una previa analgesia local. Posteriormente, los tratamientos a base de aplicaciones de pomadas con acriflavina o tripaflavina repetidamente en los machos fueron superados, relegados y reemplazados por el tratamiento general con dimetridazol. Este tratamiento, en teoría curaba la mayoría de los machos y/o de las hembras tratadas (Goñi *et al.*, 2011). En el caso de las hembras en las que se presentan signos como piómetra, se recomienda el uso de estrógenos y prostaglandinas con el fin de estimular las contracciones y lisar el cuerpo lúteo, estas acciones favorecen la limpieza uterina.

Se ha mencionado que el tratamiento en las hembras consiste en lavados uterinos con estreptomicina diluida en solución salina fisiológica, o bien dar un descanso sexual por 2 ó 3 ciclos estrales, ó 90 días, tiempo en el cual la mayoría de las vacas eliminan naturalmente al parásito (Quiróz, 2011).

Además de representar un gasto considerable, algunos de estos fármacos son capaces de generar resistencia y otro pueden ser cancerígenos, estando prohibido su uso en Europa y Norteamérica, por lo que algunos médicos no recomiendan tratar a los animales (Quiróz, 2011). En Europa específicamente, en el caso del dimetridazol se estableció a partir del hecho de que no puede excluirse el riesgo de carcinogénesis, que las empresas productoras del medicamento tuvieran prohibición de manejar el compuesto, lo que sucedió posteriormente en Norteamérica. De otra parte, algunas publicaciones científicas han sugerido, además, la posibilidad de genotoxicidad de compuestos relacionados con el dimetridazol como el metronidazol (Comisión de las Comunidades Europeas, 1995).

Debido a la dificultad que representa el tratamiento y a los pobres resultados obtenidos hasta el momento, no es aconsejable el tratamiento de la Trichomonosis bovina, excepto en casos excepcionales donde el valor económico lo justifique (Júnior *et al.*, 2010). Se sabe que no hay un medicamento efectivo para tratar la enfermedad y en algunos casos no se hace necesario el tratamiento (Adeyeye *et al.*, 2012). En caso de efectuarse se deberían realizar los controles de eficacia posterior, los cuales consisten

en cuatro cultivos negativos con 10-20 días de intervalo realizados a partir de 25 días post- tratamiento (Campero y Palladino, 1983). También se deberá tener en cuenta los costos del tratamiento y los riesgos que posee el animal tratado de adquirir nuevamente la infección al servir en un hato infectado (Cobo y Campero, 2002).

5.10 Profilaxis y control

Como estrategias para controlar *T. foetus* en las ganaderías, se indica inicialmente la realización de tratamientos a los toros que se encuentren en actividad reproductiva ya sea monta directa o en centrales genéticas dedicadas a la colecta y posterior venta de semen, haciendo chequeos reproductivos cada 6 semanas. Adicionalmente, pueden ser necesarias como medidas de control, la eliminación de toros de mayor edad con infecciones crónicas, el uso de reproductores jóvenes, la realización del diagnóstico previo al ingreso de toros a la monta o al ingreso de animales nuevos a la producción, el uso de inseminación artificial y el retiro de la producción de las vacas que aborten (Fitzergald, 1986; Corbeil, 1994; García y Lista, 2005). En el caso de adquirir animales nuevos es recomendable que sean vírgenes para evitar que se introduzca esta infección al hato, debiendo considerarse que los machos menores de tres años no son portadores (Quiróz, 2011). Se recomienda también, proveer un tiempo de reposo sexual de 90 días para permitir el desarrollo de inmunidad contra la infección y usar instrumental ginecológico y de recolección de semen debidamente esterilizado (Corbeil, 1994).

T. foetus, luego de una prolongada exposición a factores adversos, como la presencia de anticuerpos, es capaz de alterar el nivel de expresión de epítopes y antígenos superficiales. Así, la expresión de epítopes varía entre diferentes poblaciones de *T. foetus*, lo que resulta en un desafío para la eficacia de las vacunas ya que la inmunización contra antígenos no protectores induce una presión selectiva que favorece la expresión de otros antígenos no incluidos más virulentos. Si bien la respuesta generada por la inmunidad natural para eliminar la infección genital por *T. foetus* en las hembras bovinas no es sólida ni persistente en el tiempo, así pues, esto motivó investigaciones para el desarrollo de vacunas con antígenos de *T. foetus* como

una medida alternativa para controlar la enfermedad (Campero y Cobo, 2006).

En las áreas endémicas de alto riesgo se recomienda vacunar contra *T. foetus* a las novillas y a las vacas empleando una vacuna comercial elaborada con parásitos muertos (Trichguard® y Trichguard V5L® de laboratorios Fort Dodge® o Trichcontrol® y Trichcontrol VI5® de Pfizer Animal Health®). Actualmente, se ha identificado un antígeno glicoprotéico superficial presente en *T. foetus* llamado Tf 1.17 (Hodgson y col. 1990) con el que se han desarrollado vacunas, que de manera experimental han logrado detener, aglutinar y evitar la adhesión celular destruyendo al protozoario (Quiróz, 2011). Las vacunas contra la Tricomoniasis deben ser capaces de generar una respuesta inmune capaz de eliminar a *T. foetus* del tracto reproductivo antes que suceda el daño fetal, sin necesariamente evitar la colonización del epitelio vaginal por parte del protozoo, el objetivo principal de la vacunación contra *T. foetus* es evitar la cervicitis, endometritis y placentitis (Cabo y Campero, 2002). De las vacunas comerciales, se deben suministrar 2 dosis, vía subcutánea a intervalos de 3 semanas y un mes antes de la temporada de monta, con revacunaciones anuales. Se ha reportado en estudios realizados, un descenso de la tasa de aborto de 56,32% con 97,1% de preñez en hatos vacunados (García y Lista, 2005; Rogéiro, 2005). Estas vacunas sin embargo, no se comercializan en la actualidad en Colombia.

En el caso de los toros, la inmunidad inducida por vacunas de *T. foetus* ha sido escasamente profundizada, en resumen, las vacunas desarrolladas hasta hoy, no tienen la capacidad de evitar la colonización del tracto genital, mediante una respuesta inmune inducida, sin embargo la colonización de *T. foetus* perdura por un corto periodo de tiempo y esto reduce las pérdidas reproductivas a largo plazo.

6. MATERIALES Y METODOS

6.1 Localización

La fase de toma de muestras se llevó a cabo en distintas fincas del municipio de Puerto Salgar en el departamento de Cundinamarca. La fase de evaluación y procesamiento

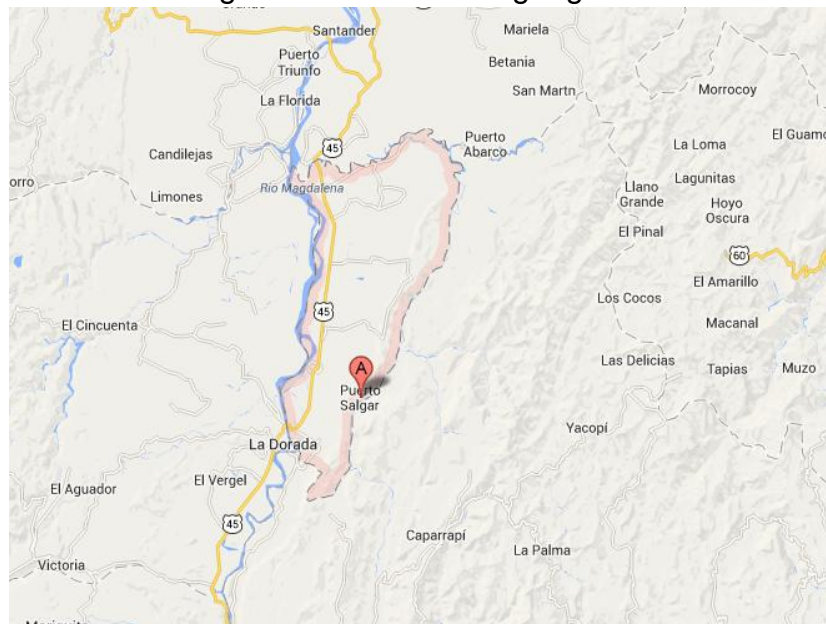
de las muestras, se llevó a cabo en las mismas fincas y en los laboratorios de la Doctora Alcira Judith Guzmán Ríos. El estudio se realizó en el periodo comprendido entre Agosto de 2014 y Febrero de 2015.

Puerto Salgar es un municipio de Cundinamarca (Colombia), ubicado en la región colombiana del Magdalena Medio, se encuentra a 195 km de Bogotá y a 253 km de Medellín. Con aproximadamente 15.237 habitantes y una extensión de 521km². Presenta una altitud de 177 msnm y una temperatura promedio de 27-38°C.

6.2 Tipo de estudio

Este es un estudio observacional, transversal, de tipo descriptivo general acerca de la determinación de la presencia de una enfermedad en función de las características de la población para ello se tendrá en cuenta el modelo de detección de enfermedad (Franco et al., 2011).

Figura 1. Localización geográfica



Map data © 2013 Google

El modelo epidemiológico que se tuvo en cuenta es el tradicional que incluye como componentes el agente, el huésped y el medioambiente (Sanin, 2005). Para su ejecución, se empleó la técnica de tamizaje mediante dos pruebas diagnósticas, de un

grupo de una población aparentemente sana, acompañado por un cuestionario sencillo que se realizó a cada productor que permitió complementar la información de los individuos incluidos en el estudio (Larrieu, 2003; Jaramillo et al., 2010). El estudio fue dirigido a la determinación de la presencia de *T. foetus* en las muestras obtenidas de lavados prepuciales de machos *Bos indicus* reproductores en época de monta en el municipio de Puerto Salgar, Cundinamarca.

6.3 Población de estudio y tamaño de muestra

La población de referencia del presente estudio, fueron los machos *Bos indicus* reproductores de ganaderías de Puerto Salgar, Cundinamarca. La población total de bovinos machos en el municipio de Puerto Salgar, según el reporte del censo de FEDEGAN (2013), es de 25.149 animales. De ellos, 1.127 machos son mayores de 3 años. Los machos se encuentran distribuidos en aproximadamente 442 predios de acuerdo al inventario bovino por municipios actualizado por FEDEGAN hasta el año 2011. Para determinar el tamaño de muestra teniendo en cuenta que el modelo indica la detección de la enfermedad, se utilizó el software de epidemiología WINEPI® incluyendo como nivel de confianza el 95%, como margen de error el 5% (Larrieu, 2003) y como prevalencia mínima esperada el 5% (Griffiths et al., 1982; González y Patiño, 1999; Cobo y Campero, 2002; García y Lista, 2005; Soares da Rocha et al., 2009; Benavides et al., 2010; Molina et al., 2013).

Con el fin de evitar sesgos, el método de selección de los animales que se incluyeron en el estudio fue el de muestreo probabilístico que consiste en un proceso aleatorio simple que se aplicó al azar, de tal forma que se aseguró a todos los individuos la misma posibilidad de ser incluidos en el estudio (Larrieu, 2003; Jaramillo et al., 2010). Para tal efecto se realizó un listado (Jaramillo et al., 2010) de todos los machos reproductores mayores de 3 años y a cada uno se asignó un número consecutivo en el listado con el fin de elegir al azar el número de individuos que nos arrojó el cálculo en el software epidemiológico. Debido a que el objetivo es identificar la presencia o ausencia de la Trichomonosis en el municipio, se hizo el listado general de individuos en la zona independientemente de la finca a la que pertenecen. Como herramienta adicional, se

utilizó el censo realizado por FEDEGAN en 2013, que nos ofreció información de población total de bovinos, población de machos en cada región y población de machos mayores de 3 años, con lo cual realizamos el listado de individuos.

Para presente investigación se realizaron lavados prepuciales para toma de muestras y posterior diagnóstico de Trichomonosis a 58 bovinos machos mayores de 3 años del municipio de Puerto Salgar, Cundinamarca (WINEPI®, 2006) (Ver figura 2).

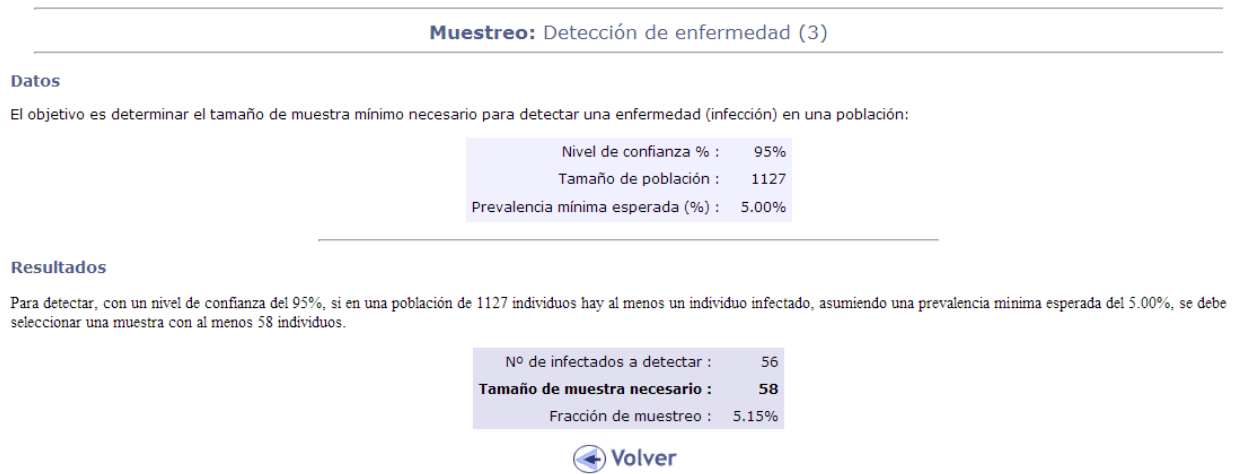
6.4 Métodos y procedimiento

El estudio tuvo una duración de aproximadamente seis meses desde Agosto de 2014 hasta Febrero de 2015. Los pasos que se llevaron a cabo para la detección de Trichomonosis se indican a continuación (Cabello et al., 2002; González et al., 2012)

- Encuesta al productor
- Recolección de la muestra
- Procesamiento y transporte de las muestras
- Evaluación macroscópica de la muestra
- Examen directo al microscopio
- Aislamiento en caldo *Tritrichomonas*

Inicialmente se realizó una sencilla encuesta personal al productor y se observó a cada individuo incluido en el estudio de manera general, las respuestas se consignaron en una base de datos completa de los individuos incluidos en el estudio: 1. Raza del toro, 2. Edad del toro, 3. Condición corporal en una tabla de uno a cinco, 4. ¿El toro ha presentado problemas reproductivos? Cuya posible respuesta es SI o NO y, 5. ¿En la finca se han presentado problemas reproductivos? Cuya posible respuesta es SI o NO (Cabello et al., 2002)

Figura 2. Tamaño de muestra

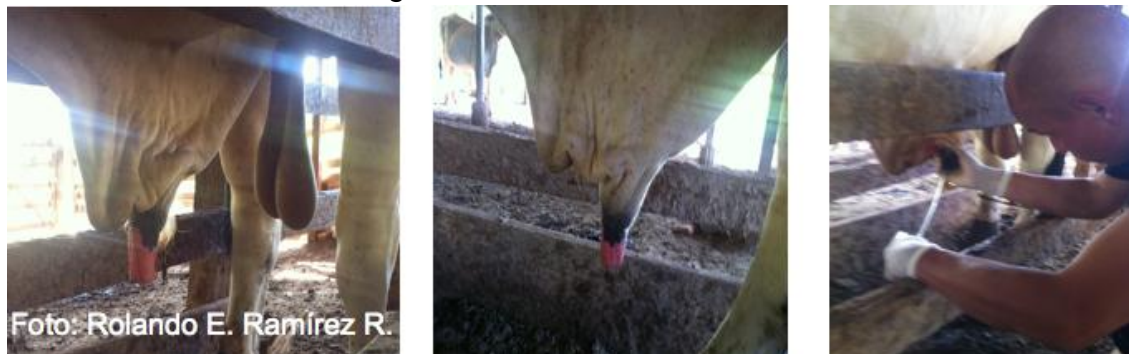


WINEPI®, 2006

Para la recolección de la muestra se utilizó la técnica del lavado prepucial debido a que presenta ventajas como: mayor seguridad en el momento del procedimiento, sencillez en la realización práctica y economía y sencillez del material requerido (Cabello et al., 2002). En el momento de la toma de la muestra se evitó la contaminación fecal eliminando el material externo y los pelos sucios alrededor del orificio prepucial pero no se realizó una limpieza exhaustiva de la zona ya que puede disminuir la sensibilidad del diagnóstico (OIE, 2012). Se realizó un masaje inicial estimulando el orificio prepucial con el fin de provocar la micción del animal y evitar que se contaminara la muestra durante la colecta de la misma. Para recolectar cada una de las muestras se utilizó un catéter de inseminación, una jeringa sin émbolo de caucho, un tubo cónico de 50ml y Solución Salina Fisiológica estéril (Pérez et al., 1992; Cabello et al., 2002). El procedimiento se inició introduciendo 30ml de Solución Salina Fisiológica estéril en la vaina prepucial mediante la utilización del catéter de inseminación y la jeringa. Una vez se realizó esta operación, se cerró el orificio prepucial por presión manual y se masajeó la zona por 5 minutos, de tal manera que la solución pudiera penetrar y arrastrar la mayor cantidad de microorganismos tanto del pene como de las criptas de la mucosa prepucial (Cabello et al., 2002). Posteriormente, la muestra se recogió en el tubo cónico

que previamente se había preparado, y que se encontraba limpio, seco y rotulado con la información del animal (Ver Figura 3).

Figura 3. Proceso toma de muestras



Todas las muestras se transportaron en una cava de icopor al laboratorio privado de la Doctora Guzmán Ríos en el menor tiempo posible para asegurar la viabilidad de *T. foetus* (Cabello et al., 2002; González et al., 2012).

Las muestras se evaluaron macroscópicamente con el fin de evaluar apariencia de la muestra, color y presencia de sedimento.

Para la evaluación microscópica, todas las muestras de lavados prepuciales se llevaron a centrifugación a 500rpm por 5 minutos para evitar la lisis celular. Se tomó una alícuota de 100ul del sedimento que se depositó sobre una lámina portaobjetos y se cubrió con una laminilla cubreobjetos, posteriormente se observó directamente en el microscopio de campo oscuro con el fin de determinar la presencia de *T. foetus* en la muestra (González et al., 2012).

Para la realización del cultivo se tomaron 2ml del sedimento previamente obtenido y se transfirieron a tubos cónicos que contenían caldo *Tritrichomonas*. El caldo se preparó previamente en el laboratorio y la composición fue: 25 g/L de hígado hidrolizado, 5 g/L de D(+)Glucosa, 6,5 g/L de NaCl, 0,8 g/L de agar, 80 ml/L de suero equino y 375 mg/L de Cloranfenicol. Los cultivos se incubaron por 8 y 15 días a 37 centígrados, después de lo cual, los cultivos se evaluaron utilizando microscopía de campo oscuro (González et al., 2012).

6.5 Variables y análisis estadístico

Las variables de medición que se incluyeron para el estudio fueron cualitativas y corresponden a: apariencia macroscópica de la muestra (NORMAL: translúcida ó ANORMAL: turbia, mucopurulenta ó sanguinolenta), color de la muestra (NORMAL: transparente ó ANORMAL: ámbar, amarillento, rosáceo), presencia o ausencia de sedimento en la evaluación macroscópica, presencia o ausencia de *T. foetus* bajo microscopía de campo oscuro, presencia o ausencia de *T. foetus* en cultivo en caldo *Tritrichomonas*. Las variables accesorias que se incluyeron en el estudio son de carácter cualitativo y corresponden a: raza, edad, condición corporal, presencia o no de problemas reproductivos en el toro y presencia o ausencia de problemas reproductivos en la finca.

El análisis de asociación estadística se llevo a cabo utilizando el test de Chi cuadrado (χ^2) con un valor de $p < 0.05$ para determinar las probables asociaciones entre la existencia de problemas reproductivos y la presencia de *T. foetus* (Entendida como una muestra positiva al cultivo), las asociaciones entre la existencia de problemas reproductivos y las características morfológicas de la muestra, las características morfológicas de la muestra y la presencia de *T. foetus* y los hallazgos a la microscopía Vs los hallazgos al cultivo. Los análisis se realizaron utilizando el software epidemiológico WINEPI® (González et al., 2012).

7. RESULTADOS

Se realizaron lavados prepuciales a 58 toros procedentes de Puerto Salgar, Cundinamarca (Figura 4). A cada uno de los propietarios o encargados de las fincas se les tomó una encuesta que contenía 5 preguntas: 1. Raza del toro, 2. Edad del toro, 3. Condición corporal en una tabla de uno a cinco, 4. ¿El toro ha presentado problemas reproductivos? Cuya respuesta indicada es SI o NO y, 5. ¿En la finca se han presentado problemas reproductivos? Cuya respuesta indicada es SI o No.

La relación de los toros incluidos en el presente estudio, se evidencia en la Tabla 1.

El promedio de edad de los toros incluidos en el estudio fue de 4,3 años de edad. De los cuales 47 (81%) se encuentran entre 3 y 5 años y 11 (19%) son mayores de 5 años.

Se puede observar que de los 58 toros 21 (36,2%) han presentado problemas reproductivos a lo largo de su vida y de las 58 fincas evaluadas, 35 (60%) han tenido problemas reproductivos en algún momento determinado. En cuanto a la condición corporal 56 (96,5%) toros se encontraron con una condición corporal entre 3 y 5 mientras que 2 (3,5%) toros, tenían condición corporal de 2 como se puede apreciar en la Tabla 1.

Figura 4. Toro muestreado



A cada muestra se le realizó una evaluación cualitativa en campo y posteriormente en el laboratorio que incluyó apariencia, color y sedimento. En el caso de la apariencia, de las 58 muestras, 42 (72,4%) fueron traslúcidas, 15 (25,9%) de apariencia turbia (Figura 5) y 1 (1,7%) de apariencia mucopurulenta. Con respecto al color, de las 58 muestras 40 (69%) presentaron transparencia, 10 (17,2%) tuvieron coloración ámbar, 7 (12%) coloración amarillenta y 1 (1,7%) color rosáceo. Finalmente, en el caso del sedimento, 12 (20,7%) de las 58 muestras presentaron sedimento, las demás (79,3%) no presentaron esta característica. La distribución de estas características se puede observar en la Tabla 2.

Posteriormente, se realizó la evaluación en laboratorio, que incluyó la evaluación microscópica y el cultivo en caldo *Tritrichomonas*. De las 58 muestras, 5 (8,6%) fueron positivas a la prueba de microscopía mientras que 8 (13,8%) fueron positivas al cultivo

en caldo *Tritrichomonas*. La distribución de las muestras positivas se evidencia en la Tabla 3.

Finalmente, utilizando el software epidemiológico WINEPI®, se realizó el análisis de asociación estadística utilizando el test de Chi cuadrado (χ^2) con un valor de $p < 0.05$ para determinar las probables asociaciones entre las variables medidas.

Tabla 1. Relación de toros incluidos en el estudio y resultados encuesta a propietarios

#	Id Toro	Raza	Finca	Vereda	Edad	CC (1/5)	TPR	FPR
1	63-D0	Brahaman Blanco	Lucilandy	Salamina	5	3	NO	SI
2	127-06	Brahaman Blanco	La Martina	Tres y Medio	3	3	NO	NO
3	2005-3	Brahaman Blanco	La Atarraya	Valle Escondido	3	3	SI	SI
4	M - D19	Brahaman Blanco	El palmar	Rio Negrito	4	3	NO	NO
5	203-0	Brahaman Blanco	Palos verdes	Colorados	3	4	NO	NO
6	255-9	Gyr	Torre molinos	La Ceiba	3	2.5	NO	SI
7	500-9	Brahaman Blanco	La Florida	Puerto Libre	7	3.5	SI	SI
8	55-26	Brahaman Blanco	Talabera	La Viuda	4	3	NO	NO
9	695-37	Brahaman Rojo	Sacapalos	San Antonio	4	4	SI	SI
10	Pepo	Brahaman Blanco	Buenos Aires	Las Balsas	4	4	NO	NO
11	913-66	Brahaman Blanco	El Mirador	Salamina	4	3	NO	NO
12	280-8	Gyr	EL Manantial	Cambras	4	5	NO	NO
13	163-9	Brahaman Blanco	Loma de Grande	Salamina	6	4	SI	SI
14	228-0	Brahaman Rojo	Aguas Vivas	Colorados	5	3.5	SI	SI
15	BPS 037-0	Brahaman Blanco	Don Joaco	Brisas	3	2.5	NO	NO
16	178-1	Brahaman Blanco	Villa Valentina	Caño Ondo	3	3.5	NO	NO
17	715-N6	Brahaman Blanco	San Luis	Rio Negrito	4	3.5	SI	SI
18	910-27	Brahaman Blanco	Montañita	La Viuda	4	3.5	NO	SI
19	M 646-6	Brahaman Blanco	Corral de Piedra	San Cayetano	3	5	NO	SI
20	318-18	Brahaman Blanco	Loma de Julio	Salamina	6	3.5	SI	SI
21	1492-8	Guzerat	El Bosque	La Reines	3	3.5	NO	NO
22	Matías 361/9	Brahaman Blanco	San Antonio	Cambras	7	4	SI	SI
23	190-1	Brahaman Blanco	La Bonita	Galápagos	3	4	SI	SI
24	518-1	Brahaman Blanco	El Rancho	San Calletano	3	4	NO	SI
25	069/9-1	Brahaman Blanco	Cortijo	Brisas	5	3.5	NO	SI
26	2350-1	Gyr	Agropecuarios R&P	Colorados	4	4	NO	SI
27	177-1	Brahaman Blanco	Lomitas	San Antonio	4	5	SI	SI
28	906-11	Brahaman Blanco	El Porvenir	La Reines	5	4	NO	NO
29	2352-7	Brahaman Blanco	La Frontera	Rayadero	4	4	NO	NO
30	123-8	Brahaman Blanco	Patascoy	La Colombia	8	2	SI	SI
31	762	Brahaman Blanco	Quebrada Negra	Rayadero	3	2.5	SI	SI
32	1833	Brahaman Blanco	El palmar	Salamina	3	4	NO	SI
33	199-10	Brahaman Blanco	El Refugio	Puerto Rojo	5	2.5	SI	SI
34	1707-11	Brahaman Blanco	El Planchón	Puerto Rojo	7	4	SI	SI
35	1220-7	Brahaman Blanco	Texas	El Taladro	8	2.5	SI	NO

36	TE12	Brahaman Blanco	Buenos Aires	San Antonio	3	3.5	NO	NO
37	069-12	Brahaman Rojo	La Cukita	San Antonio	3	3.5	NO	SI
38	622-11	Brahaman Rojo	Las Pavas	San Cayetano	4	3.5	SI	SI
39	2306-9	Brahaman Blanco	Palo Grande	La Ceiba	7	2	SI	SI
40	Simón	Brahaman Blanco	Porvenir	Hierbabuena	3	3	NO	NO
41	1109-12	Brahaman Blanco	La Fiscala	Tres y Medio	3	3	NO	SI
42	31029	Brahaman Blanco	El Prado	Cambras	6	3.5	SI	SI
43	0909-1	Brahaman Blanco	Calacalino	EL Guayabo	4	3.5	NO	SI
44	1003-0	Brahaman Blanco	La Choza	La Reines	5	2.5	NO	SI
45	612-11	Brahaman Blanco	La Bomba	Dominoca	4	3	NO	NO
46	321-11	Brahaman Blanco	Chicamocha	La Colombia	4	2.8	SI	SI
47	Vagón	Guzerat	Tesalia	Caño Pescado	4	3.5	No	NO
48	333-7	Brahaman Blanco	Muela	Rayadero	7	3	NO	SI
49	Te125	Brahaman Blanco	La Línea	Colorados	3	3.5	SI	SI
50	Vergel	Brahaman Blanco	Vergel	Las Balsas	5	3	NO	NO
51	1708-12	Brahaman Blanco	La Poderosa	El Taladro	3	3	NO	NO
52	2404-1	Brahaman Blanco	Marruecos	La Ceiba	4	3	NO	SI
53	152-0	Brahaman Blanco	Guayacanas	Guayacanas	5	3	NO	SI
54	1311-0	Brahaman Blanco	El Guamo	La Reines	3	3	NO	NO
55	2010-2	Brahaman Blanco	Manuelita S	El Morro	3	3	NO	NO
56	1906-10	Brahaman Blanco	El Faro	San Antonio	5	4	NO	NO
57	0110-8	Brahaman Blanco	Parmalat	Tres y Medio	7	4	SI	SI
58	TEB 602-12	Brahaman Blanco	La Bonita	San Calletano	3	3.5	NO	NO

Figura 5. Muestra turbia



En primera instancia se analizó la asociación estadística entre los problemas reproductivos en el toro y la presencia de la enfermedad, determinada como un resultado positivo al cultivo. En este caso no se encontró asociación como se puede observar en la Figura 6.

Tabla 2. Evaluación cualitativa en campo y laboratorio

#	Apariencia	Color	Sedimento	#	Apariencia	Color	Sedimento
1	Traslúcida	Transparente	Ausente	30	Turbia	Ambar	Ausente
2	Traslúcida	Transparente	Ausente	31	Traslúcida	Transparente	Presente
3	Turbia	Amarillento	Presente	32	Traslúcida	Transparente	Ausente
4	Traslúcida	Transparente	Ausente	33	Turbia	Ambar	Presente
5	Traslúcida	Transparente	Ausente	34	Turbia	Ambar	Presente
6	Traslúcida	Transparente	Ausente	35	Turbia	Ambar	Ausente
7	Traslúcida	Transparente	Ausente	36	Traslúcida	Transparente	Ausente
8	Traslúcida	Transparente	Ausente	37	Traslúcida	Transparente	Ausente
9	Mucopurulenta	Amarillento	Presente	38	Turbia	Amarillento	Presente
10	Traslúcida	Transparente	Ausente	39	Turbia	Ambar	Ausente
11	Traslúcida	Transparente	Ausente	40	Traslúcida	Transparente	Ausente
12	Traslúcida	Transparente	Ausente	41	Traslúcida	Transparente	Ausente
13	Turbia	Amarillento	Presente	42	Turbia	Amarillento	Presente
14	Traslúcida	Transparente	Ausente	43	Traslúcida	Transparente	Ausente
15	Traslúcida	Transparente	Ausente	44	Turbia	Ambar	Ausente
16	Traslúcida	Transparente	Ausente	45	Traslúcida	Transparente	Ausente
17	Traslúcida	Ambar	Ausente	46	Turbia	Ambar	Presente
18	Traslúcida	Transparente	Ausente	47	Traslúcida	Transparente	Ausente
19	Traslúcida	Transparente	Ausente	48	Traslúcida	Transparente	Ausente
20	Turbia	Rosáceo	Presente	49	Traslúcida	Transparente	Ausente
21	Traslúcida	Transparente	Ausente	50	Traslúcida	Transparente	Ausente
22	Traslúcida	Ambar	Ausente	51	Traslúcida	Transparente	Ausente
23	Turbia	Amarillento	Presente	52	Traslúcida	Transparente	Ausente
24	Traslúcida	Transparente	Ausente	53	Traslúcida	Transparente	Ausente
25	Traslúcida	Transparente	Ausente	54	Traslúcida	Transparente	Ausente
26	Traslúcida	Transparente	Ausente	55	Traslúcida	Transparente	Ausente
27	Turbia	Ambar	Ausente	56	Traslúcida	Transparente	Ausente
28	Traslúcida	Transparente	Ausente	57	Turbia	Amarillento	Presente
29	Traslúcida	Transparente	Ausente	58	Traslúcida	Transparente	Ausente

En el segundo escenario de asociación se incluyeron las variables de problemas reproductivos del toro y características de la muestra, expresadas como NORMAL (Apariencia Traslúcida, Color Transparente y Sedimento Ausente) y ANORMAL (Apariencias Turbia, Sanguinolenta ó Mucopurulenta, Color Ámbar, Amarillento ó Rosáceo y Sedimento Presente, o asociaciones entre estas características). En este caso se determinó que si hay asociación significativa como se puede apreciar en la Figura 7.

Finalmente se analizaron las asociaciones estadísticas entre las variables Características de la muestra y Presencia de la enfermedad y entre las variables Microscopía y Cultivo, sin embargo en éstos casos no se encontró asociación significativa, Ver Figura 8.

Tabla 3. Distribución de muestras positivas y negativas

#	Microscopía	Cultivo	#	Microscopía	Cultivo
1	Negativa	Negativa	30	Negativa	Negativa
2	Negativa	Negativa	31	Positiva	Positiva
3	Positiva	Positiva	32	Negativa	Negativa
4	Negativa	Negativa	33	Negativa	Negativa
5	Negativa	Negativa	34	Positiva	Positiva
6	Negativa	Negativa	35	Negativa	Negativa
7	Negativa	Negativa	36	Negativa	Negativa
8	Negativa	Negativa	37	Negativa	Negativa
9	Negativa	Negativa	38	Negativa	Negativa
10	Negativa	Negativa	39	Negativa	Negativa
11	Negativa	Negativa	40	Negativa	Negativa
12	Negativa	Negativa	41	Negativa	Negativa
13	Positiva	Positiva	42	Negativa	Positiva
14	Negativa	Negativa	43	Negativa	Negativa
15	Negativa	Negativa	44	Negativa	Negativa
16	Negativa	Negativa	45	Negativa	Negativa
17	Negativa	Negativa	46	Negativa	Negativa
18	Negativa	Negativa	47	Negativa	Negativa
19	Negativa	Negativa	48	Negativa	Negativa
20	Positiva	Positiva	49	Negativa	Positiva
21	Negativa	Negativa	50	Negativa	Negativa
22	Negativa	Negativa	51	Negativa	Negativa
23	Negativa	Negativa	52	Negativa	Negativa
24	Negativa	Negativa	53	Negativa	Negativa
25	Negativa	Negativa	54	Negativa	Negativa
26	Negativa	Negativa	55	Negativa	Negativa
27	Negativa	Negativa	56	Negativa	Negativa
28	Negativa	Negativa	57	Negativa	Positiva
29	Negativa	Negativa	58	Negativa	Negativa

Figura 6. Asociación estadística entre Problemas reproductivos del toro y Presencia de la Enfermedad

Estadística básica: Prueba de Chi-cuadrado (3)

Datos

El objetivo es ver si las variables cualitativas Problemas reproductivos y Presencia de la Enfermedad están significativamente asociadas:

Nivel de confianza [0-1] : 0.950

Frecuencias Observadas				Frecuencias Esperadas				
		Problemas reproductivos		Total		Problemas reproductivos		Total
		SI	NO			SI	NO	
Presencia de la Enfermedad	SI	6	2	8	SI	2.90	5.10	8
	NO	15	35	50	NO	18.10	31.90	50
	Total	21	37	58	Total	21	37	58

Resultados

Con los datos introducidos la significación calculada para la prueba Chi-cuadrado (χ^2) no es válida.

Estadístico Chi-cuadrado (χ^2) :	6.046
Grados de libertad (gl) :	1
Significación (p) :	0.0139

Nota: la significación de la χ^2 no es válida ya que el 25.0% de los resultados esperados son menores de 5.

Figura 7. Asociación estadística entre Problemas reproductivos del toro y Características morfológicas de la muestra

Estadística básica: Prueba de Chi-cuadrado (3)

Datos

El objetivo es ver si las variables cualitativas Problemas reproductivos y Características de la Muestra están significativamente asociadas:

Nivel de confianza [0-1] : 0.950

Frecuencias Observadas				Frecuencias Esperadas					
		Problemas reproductivos				Problemas reproductivos			
		SI	NO			SI	NO		
Características de la Muestra	Normal	8	32	40	Características de la Muestra	Normal	14.48	25.52	40
	Anormal	13	5	18		Anormal	6.52	11.48	18
Total		21	37	58	Total		21	37	58

Resultados

Las variables cualitativas Problemas reproductivos y Características de la Muestra están significativamente asociadas.

Estadístico Chi-cuadrado (χ^2) :	14.657
Grados de libertad (gl) :	1
Significación (p) :	0.0001

WINEPI®, 2006

Figura 8. Asociación estadística entre Resultados a la Microscopía y Resultados al cultivo

Estadística básica: Prueba de Chi-cuadrado (3)

Datos

El objetivo es ver si las variables cualitativas Microscopía y Cultivo están significativamente asociadas:

Nivel de confianza [0-1] : 0.950

Frecuencias Observadas				Frecuencias Esperadas					
		Microscopía				Microscopía			
		Positivo	Negativo			Positivo	Negativo		
Cultivo	Positivo	5	3	8	Cultivo	Positivo	0.69	7.31	8
	Negativo	0	50	50		Negativo	4.31	45.69	50
Total		5	53	58	Total		5	53	58

Resultados

Con los datos introducidos la significación calculada para la prueba Chi-cuadrado (χ^2) no es válida.

Estadístico Chi-cuadrado (χ^2) :	34.198
Grados de libertad (gl) :	1
Significación (p) :	< 0.0001

Nota: la significación de la χ^2 no es válida ya que el 50.0% de los resultados esperados son menores de 5.

WINEPI®, 2006

8. DISCUSION

En el presente estudio se encontró de acuerdo a las encuestas a propietarios que el 36% de los toros muestreados han tenido algún problema reproductivo en su vida, y lo que es más alarmante, el 60% de los propietarios manifestaron haber tenido problemas reproductivos en sus fincas entre los cuales mencionaron, infertilidad bovina, amplio intervalo entre partos, abortos y distocias. Dentro de las enfermedades reproductivas, la Trichomonosis bovina continua siendo una enfermedad de gran importancia en hatos donde se usa la monta natural, que causa muerte embrionaria temprana, abortos, piómetra e infertilidad en el ganado bovino (*Bos taurus* y *Bos indicus*) (Quiróz, 2011), lo que concuerda con los hallazgos del estudio. La presencia de problemas reproductivos en un alto porcentaje de animales y fincas, concuerda con lo mencionado por Otte y Lobo (1984) y el convenio Colombo Alemán ICA/GTZ quienes afirmaron que la infertilidad bovina es una de las áreas que requieren mayor control en el país dado el negativo impacto económico que esta situación desencadena al estudiar las características de la producción bovina y el sistema de salud de hato en Colombia. A pesar de que dentro de los signos clínicos de un hato infectado con Trichomonosis, se encuentran la repetición de celos, preñeces tardías, baja tasa de preñez, e intervalos entre partos prolongados (BonDurant *et al.*, 1999; Cobo y Campero, 2002; Benchimol, 2004; González *et al.*, 2007; Yao, 2013), estos mismos hallazgos pueden ser resultado de otras enfermedades reproductivas comunes en los hatos, lo que indica que el diagnóstico no puede ser realizado solo mediante historia y signos clínicos, como lo afirma la OIE en 2012.

En este estudio, se hicieron evaluaciones cualitativas que incluyeron apariencia, color y sedimento y los hallazgos indican que el 69% de los animales muestreados tienen alguna anomalía morfológica en la muestra de lavado prepucial, sin embargo, no todos los animales con anomalías morfológicas en la muestra han presentado previamente problemas reproductivos o son positivos a Trichomonosis, por esta razón, se atribuyen estas características en gran parte a contaminación de las muestras, debido a que la limpieza inicial no fue vigorosa para evitar pérdida de protozoos que influyeran en los resultados.

La Trichomonosis bovina es una enfermedad de distribución mundial según lo mencionado por Fitzergald en 1986 y García y Lista en 2005 y, los hallazgos en Colombia por parte de Griffiths y Cols, en 1982 en donde los toros infectados fueron de 22.4% para la zona Andina, 44% para la región Caribe y 10% para el Piedemonte Llanero (Villar, 2009), corroboran la presencia de la enfermedad en nuestro país. Esta afirmación, se comprueba una vez más con los resultados del presente estudio, en el cual se determinó la presencia del protozoo en toros de Puerto Salgar, Cundinamarca.

De acuerdo a lo mencionado por Cobo y Campero en 2002, esta enfermedad ha sido controlada mediante prácticas como la inseminación artificial, el control sanitario del semen y el descarte de los animales infectados, y, debido a que en el Magdalena Medio se están empezando a utilizar cada vez más este tipo de técnicas, una de las razones por las que la presencia de Trichomonosis en toros de Puerto Salgar no fue masiva puede ser el uso de prácticas ganaderas en las fincas de la región. Por otro lado, también se obtuvieron muestras de fincas con ganadería extensiva y monta natural lo que corresponde a un factor de riesgo para la presentación de esta y de otras enfermedades reproductivas tal como lo mencionaron Cobo y Campero en 2002 y Pérez et al., en 1992.

Una vez realizada la evaluación en el laboratorio, se encontró presencia de *T. foetus* en cerca del 9% de las muestras evaluadas por microscopía y en cerca del 14% de las muestras llevadas a cultivo.

El hecho de que el diagnóstico por microscopía sea menor al diagnóstico por cultivo concuerda con lo mencionado por Aznar en 2007, quien menciona que el examen en fresco es de fácil realización, rapidez y bajo costo, pero presenta una escasa sensibilidad (entre el 62 y 92%) dependiendo del observador, aunque tiene una especificidad del 98%, por otra parte la OIE menciona en 2012 que cuando los microorganismos son escasos para una detección directa y una identificación precisa, deben prepararse cultivos. Debido a que el total de muestras fue bajo, el análisis de asociación entre la microscopía y el cultivo no fue significativo dado que el nivel de confianza incluido fue de 0.950 (WINEPI®, 2006).

Con respecto a la presencia de *T. foetus* en aproximadamente 14% de los cultivos de las muestras del presente estudio, este valor se encuentra por debajo de lo mencionado para la zona Andina, la región Caribe y el Piedemonte Llanero por Griffiths y Cols en 1982 (Promedio 25%); esto puede ser debido a que hay factores claves para el éxito de la muestra mencionados por Quiróz en 2011, que no pudieron llevarse a cabo durante el proceso por diversos motivos fuera de nuestro alcance, entre estos que la cantidad de tricomonas es mayor de los 12 a los 70 días postinfección y posiblemente no todos los toros se encontraban en esa fase de la infección, no se repitieron pruebas por dificultades con el tiempo y el presupuesto, y finalmente, no todos los toros muestreados tuvieron el descanso sexual de por lo menos 10 días a pesar de haber dado previamente la recomendación. Este inconveniente concuerda con lo mencionado por Otte y Cols en 1995 quienes afirmaron que no hubo presencia de *T. foetus* en los cultivos realizados de muestras de esmegma de 25 toros del Piedemonte Llanero debido al bajo número de muestras por animal y a que los reproductores no tuvieron un previo descanso sexual.

Como se pudo observar en los resultados, los toros positivos a *T. foetus* corresponden a los de mayor edad dentro de los muestreados, y esto concuerda con lo mencionado por García y Lista en 2005, Benavides *et al.* en 2010 y González *et al.* en 2012 en donde afirman que entre los factores de riesgo de la Trichomonosis se indica la edad del toro (machos con mayor edad tienen más alto potencial de transmitir la infección), adicionalmente, esto se torna más importante debido a lo mencionado por Parker *et al.* en 2003 que afirma que en toros mayores de 4 a 5 años, la recuperación espontánea ocurre en menos del 10% de los casos, lo que hace que el toro se convierta en portador asintomático y fuente permanente de la infección.

A pesar de las anteriores afirmaciones por las cuales la presencia puede estar por debajo de lo esperado, el porcentaje de 14% se encuentra sobre las prevalencias mencionadas de la enfermedad en Estados Unidos, Canadá, México, Costa Rica y Australia en donde se encuentran cerca del 6% en los toros muestreados según el estudio de Cobo y Campero (2002).

En la actualidad, los estudios más recientes en Colombia realizados por Benavides et al., en 2010, incluyen los departamentos de Nariño y Putumayo pero la prevalencia encontrada (Promedio 32,5%) se estableció en hatos mas no en toros, por esta razón este estudio corresponde al estudio más reciente de presencia de *T. foetus* en toros en Colombia.

En el caso del análisis entre los problemas reproductivos en el toro y la presencia de la enfermedad, no se encontró asociación significativa dado que el nivel de confianza incluido fue de 0.950 (WINEPI®, 2006). Sin embargo esto corresponde a un resultado esperado, pues concuerda con lo mencionado por los autores Anderson *et al.* En 1996, Cobo y Campero en 2002 y Rogéiro en 2005, en donde afirman que en el macho generalmente no hay evidencia de signos clínicos, tampoco se afecta la calidad seminal ni la líbido del animal, esto explica también que en los análisis de asociación entre las variables características de la muestra y presencia de la enfermedad no se encontrara asociación significativa.

Finalmente, en escenario del análisis asociativo de los problemas reproductivos del toro y las características de la muestra, se encontró asociación significativa, sin embargo, esto se relaciona a que otras enfermedades reproductivas pueden estar concomitando con la Trichomonosis de forma que la muestra de lavado prepucial se ve alterada. Esto concuerda con lo mencionado por García y Lista en 2005, Repiso *et al.* en 2005 y Quiróz en 2011, quienes afirmaron que para los diagnósticos diferenciales de la Trichomonosis incluyen patologías infecciosas como Brucelosis, Campilobacteriosis, Clamidiasis, Leptospirosis, Listeriosis, entre otras, y que estas pueden generar cambios en la calidad del semen y del esmegma. Es importante mencionar además que según Benavides *et al.* en 2010 y González *et al.* en 2012, la campilobacteriosis también se presenta en donde hay monta natural y puede ocurrir al mismo tiempo que la Trichomonosis ya que el protozooario se aloja en los pliegues o criptas peneanas formadas en la mucosa prepucial en donde también puede habitar la bacteria *Campylobacter fetus*.

9. CONCLUSIONES

- Fue posible detectar la presencia de *T. foetus* en toros *Bos indicus* mayores de 3 años provenientes de Puerto Salgar, Cundinamarca
- Mediante el presente trabajo se evidenció que el 14% de los toros muestreados fueron positivos a *T. foetus* mediante cultivo
- La Trichomonosis bovina es una enfermedad reproductiva de importancia en hatos y ganaderías extensivas
- En el presente estudio, hubo evidencia que los toros con mayor edad son más susceptibles a ser portadores de *T. foetus*
- En Colombia hay necesidad de realizar estudios de prevalencia de *T. foetus* en todo el territorio nacional donde aún se maneje la monta natural
- Las enfermedades reproductivas son causales de la mayor fuga económica dentro de las explotaciones extensivas de ganado de cría

10. RECOMENDACIONES

- Es indispensable la realización de exámenes precompra para los futuros reemplazos de la explotación ganadera
- Realizar chequeos reproductivos frecuentes para identificar posibles focos de enfermedades que causen alteraciones reproductivas en el hato
- Eliminación de los toros mayores de 5 años que estén en proceso de monta natural y que evidencien disminución en la variable monta concepción
- Implementar técnicas reproductivas como la inseminación artificial ya que se ha demostrado que estas disminuyen el riesgo de infección con enfermedades reproductivas

- Se recomienda también, proveer un tiempo de reposo sexual a las vacas positivas para permitir el desarrollo de inmunidad contra la infección
- Se debe usar instrumental ginecológico y de recolección de semen debidamente esterilizado para así garantizar que no se difundan las enfermedades reproductivas

11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adeyeye, A., Ate, U., Bale, O., Lawa, A. (2012). Bovine Trichomoniasis: An Overview. *Bulletin of. Animal Health and Production in Africa*, 60, 7-18.

Alarcón, G. (2013). Censo de machos bovinos en los municipios de Puerto Berrío (Antioquia), La Dorada (Caldas) y Puerto Salgar (Cundinamarca). *Salud y Bienestar Animal*. FEDEGAN. Comunicación Personal.

Álvarez, L., Moreno Torrejon, L., Mottier, M., Sánchez, S. (2002). Antiparasitarios internos-Fármacos protozoidicidas. *Farmacología y Terapéutica Veterinaria*. Editado por: Botana, Landoni, Martín-Jiménez, Ed. McGraw-Hill Interamericana, Madrid, España.

Anderson, M., BonDurant, R., Corbeil, R., Corbeil, Lb. (1996). Immune and inflammatory responses to reproductive tract infection with *Tritrichomonas foetus* in immunized and control heifers. *Journal of Parasitology*, 82, 594-600.

Aznar, J., Blanco, M., Lepe, J., Otero, L., Vázquez, F. (2007). Diagnóstico microbiológico de las infecciones de transmisión sexual y otras infecciones genitales. *Procedimientos en Microbiología Clínica. Protocolos*, Cap 24.

- Benavides, B., Jurado, C., Cedeño, D. (2010). Factores de riesgo asociados a aborto bovino en la cuenca lechera del departamento de Nariño. *Revista MVZ Córdoba*, 15(2), 2087-2094.
- Benchimol, M. (2004). Trichomonads under microscopy. *Microscopy and Microanalysis*, 10, 528-550.
- BonDurant, R. (1997). Pathogenesis, diagnosis, and management of trichomoniasis in cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food animal practice*, 13(2), 345-361.
- BonDurant, R., Gajadhar, A., Campero, C. (1999). Preliminary characterization of a *Tritrichomonas foetus*-like protozoan isolated from preputial smegma of virgin bulls. *Bovine Practitioner*, 33(2), 124–127.
- Cabello, B., Gómez, E., León, J., Ramos, C. (2002). Prevalencia de Trichomoniasis bovina en la isla de Guara, Municipio Uraoa del estado Monagas, Venezuela. *Revista Científica*, 12(2), 617-621.
- Campero, C., Cobo, E. (2006). *Tritrichomonas foetus* patogénesis de la mortalidad embrionaria/fetal, caracterización de antígenos vacunales y respuesta inmune inducida. *Revista de Medicina Veterinaria*. 87, 47-56.
- Campero, C., Palladino, M. (1983). Presencia de cepas de *Tritrichomonas foetus* quimioresistentes en Argentina. *Gaceta Veterinaria*, 45, 899-909.
- Clark, B., Dufty, J., Parsonson, I. (1983). Immunisation of bulls against trichomoniasis. *Australian Veterinary Journal*, 60, 178–179.
- Cobo, E., Campero, C. (2002). Nuevos aspectos inmunológicos y vacunales de la Tricomoniasis bovina. *Revista De Medicina Veterinaria*, 83, 203-208.

Cobo, E., Corbeil, L., Gershwin, L., BonDurant, R. (2010). Preputial celular and antibody responses of bulls vaccinated and/or challenged with *Tritrichomonas foetus*, *Vaccine*, 28, 361-370.

Comisión de las Comunidades Europeas. (1995). Límites máximos de residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos de origen animal. Propuesta de Reglamento CE del Consejo. Oficina de Publicaciones Oficiales de las Comunidades Europeas. CB-CO-95-142-ES-C. Bruselas. 1-8.

Corbeil L. (1994). Vaccination strategies against *Tritrichomonas foetus*. *Parasitology Today*, 10, 103–106.

Espitia, A., Trheebilcock, E., Gallego, J. (1996). Encuesta sobre manejo de reproductores cebú comercial en el departamento de Córdoba. *Revista de Medicina Veterinaria y Zootecnia. XLEV(1)*, 28-31.

FEDEGAN. (2013). Inventario de bovinos por municipios. Total predios año 2011. Subgerencia de Sanidad y Bienestar Animal. Fedegán FNG. Datos disponibles 2001-2011. Revisado en Febrero de 2014 desde Internet: www.fedegan.org.co/estadisticas/inventario-bovino-nacional.

Fitzgerald, P. (1986). Bovine trichomoniasis in parasites: Epidemiology and control. *Veterinary Clinics of North America: Food animal practice*, 2, 277–282.

Franco, J., Lara, E., Villa N., Ramón, L., Cardeña, I., Flores, A., Galván, O., Meza, M., Mota, L., Ruíz, L. (2011). Los estudios epidemiológicos. *Temas de Ciencia y Tecnología*. 15:45, 51-58.

García, F., Lista, D. (2005). Neosporosis y Tricomoniasis. *Manual de Ganadería Doble Propósito*. 8, 323-327.

- González, H., Patiño, R. (1999). Principales agentes infectocontagiosos del aborto e infertilidad en el ganado lechero de Nariño y Alto Putumayo. Centro de Investigación Obonuco. *CORPOICA*. San Juan de Pasto. Colombia.
- González, L., Sánchez, M., Castañeda, R., Pulido, A., Guáqueta, H., Aranda, M., Rueda, M. (2012). Determination of presence of *Tritrichomonas foetus* in uterine lavages from cows with reproductive problems. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 21(3), 201-205.
- Goñi, J., Segonds, S., Álvarez, L. (2011). Tratamiento experimental de la tritrichomonosis bovina con Diaceturato de Diminazeno. Tesis Medicina Veterinaria. Facultad de Ciencias Veterinarias. *UNCPBA*. Argentina.
- Griffiths, I., Gallego, M., Villamil, L. (1982). Factores de Infertilidad y pérdidas de Ganado de leche en Colombia. Bogotá. Instituto Colombiano Agropecuario. *ICA*. 154ps.
- Griffiths, I., Gallego, M., De León, L. (1984). Levels of some reproductive diseases in the dairy cattle of Colombia. *Tropical Animal Health Production*. 16, 219-223 .
- Hodgson, J., Jones, D., Widders, P., Corbeil, L. (1990). Characterization of *Tritrichomonas foetus* antigens by use of monoclonal antibodies. *Infection and Immunity*. 58:9, 3078-3083.
- Honigberg, B. (1978). Trichomonads of veterinary importance. *Parasitic Protozoa*, 2: 163-273.
- ICA (Instituto Colombiano Agropecuario). (2013). Dirección técnica de vigilancia epidemiológica. Censo Bovino 2013. Revisado en Febrero de 2014 desde

Internet: <http://www.ica.gov.co/Areas/Pecuaria/Servicios/Epidemiología-Veterinaria/Censos-2013/Censo-Bovinos-2013.aspx>.

Jaramillo, C., Martínez, J., Morales, J. (2010). Epidemiología Veterinaria. Ed Manual Moderno. 198p.

Júnior, C., Almeida, H., Júnior, H., Alencar, A., Galindo, M., Jesus, V., Alves., Faustino, M. (2010). Frecuencia de infeccao por *Tritrichomonas foetus* (RIEDMULLER, 1928) em bovinos leiteiros do municipio de Sanharó – PE. *Medicina Veterinária, Recife*. 4(1), 6-11.

Larrieu, E. (2003). Manual de Epidemiología y Salud Pública Veterinaria. Estudios Epidemiológicos Descriptivos. Cátedra de Epidemiología y Salud Pública. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Pampa. Argentina.

Madoroba, E., Gelaw, A., Hlowe, T., Mnisi, M. (2011). Prevalence of Campylobacter foetus and Trichomonas foetus among cattle from Suothern Africa. *African Journal of Biotechnology*. 10(50), 10311-10314.

Midlej, V., Vilela, R., Dias, A., Benchimol, M. (2009). Cytopathic effects of *Tritrichomonas foetus* on bovine oviduct cells. *Veterinay Parasitology*. 165, 216-230.

Ministerio de Agricultura. (2012). Trichomoniasis Bovina. Ficha técnica. SAG. Gobierno de Chile. 2pgs.

Molina, L., Perea, J., Meglia, G., Angón, E., García, A. (2013). Spatial and temporal epidemiology of bovine trichomoniasis and bovine genital campylobacteriosis in La Pampa province (Argentina). *Preventive Veterinary Medicine*. 110, 388-394.

OIE (Organización Internacional de Epizootias). (2012). Tricomosis. Manual de la OIE sobre animales terrestres. Capítulo 2.3.6. Revisado en Febrero de 2014 desde Internet: <http://www.oie.int/es/normas-internacionales/manual-terrestre/>.

Otte, E., Lobo, C. (1984). Research needs of Colombia in the light of the activities of the Colombo/German Project for the intensification of animal disease control. *Preventive Veterinary Medicine*, 3, 109-121.

Otte, M., Ravenborg, T., Hüttner, K. (1995). A pilot study of elevated abortion and stillbirth ratios in cattle in the foothill of the Eastern plains of Colombia. *Preventive Veterinary Medicine*. 22, 103-113.

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. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 215, 231–235.

Parker, S., Campbell, J., Ribble, C., Gadahaj, A. (2003). Sample collection factors affect the sensitivity of the diagnostic test for *Tritrichomonas foetus* in bulls. Short communication. *The Canadian Journal of Veterinary Research*. 67, 138-141.

Pereira, A., Campero, C., Martínez, A., Benchimol, M. (2011). Identification of *Tritrichomonas foetus* pseudocysts in fresh preputial secretion samples from bulls. *Veterinary Parasitology*. 175, 1-8.

Pérez, E., Conrad P., 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. *Preventive Veterinary Medicine* 14, 155-165.

- Quiróz, M. (2005). *Parasitología y Enfermedades Parasitarias de Animales Domésticos*. Cap 5. Enfermedades causadas por flagelados. Ed. LIMUSA, S.A. 96-102.
- Quiróz, M. (2011). Tricomonosis Bovina. *Epidemiología de Enfermedades Parasitarias en Animales Domésticos. Protozoarios*. Editado por Quiróz, H; Figueroa, J; Ibarra, F; López M. Ed. Compact Disc. 2, 11-19.
- Repiso, M., Gil, A., Bañales, P., D'Anatro, N., Fernández, L., Guarino, H., Herrera, B., Nuñez, A., Oliveira, M., Osawa, T., Silva, M. (2005). Prevalencia de las principales enfermedades infecciosas que afectan el comportamiento reproductivo en la ganadería de carne y caracterización de los establecimientos de cría del Uruguay. Premio Sociedad de Buiatría del Uruguay 2004. *Veterinaria*, (Montevideo). 40(157), 5-28.
- Rogéiro, P. (2005). Construção de primers e otimização de ensaios de PCR de NESTED-PCR para detecção específica de *Tritrichomonas foetus*. Tesis. Maestría en ciencia animal. Escuela de Veterinaria. Goiânia. Brasil. *Universidade Federal de Goiás*.
- Romero, J., Villamil, L., Pinto, J. (1999). Impacto económico de enfermedades animales en sistemas productivos en Sudamérica estudios de caso. *Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)*, 18(2), 498-511.
- Sanin, A. (2005). Introducción a la Historia de la Epidemiología. Fundamentos de Salud Pública. Tomo 3: Epidemiología básica y principios de investigación. Ed CIB. Colombia. V3, 1-3
- Soares da Rocha, F., Texeira de Jesus, V., Marques, H., Pereira, M., de Figueiredo, M., do Nascimento, E., Ferreira, T., Cosendey de Aquino, M. (2009). Investigación de *Campylobacter fetus* e *Tritrichomona foetus* na mucosa

prepuccial de touros da regio do Medio Paraiba, RJ. *Ciencia Rural, Santa Maria*, 39(5), 1586-1589.

Stockdale, H., Dillon, A., Newton, J., Bird, R., BonDurant, R., Deinnocentes, P., Barney, S., Bulter, J., Land, T., Spencer, J., Lindsay, D., Blagburn, B. (2008). Experimental infection of cats (*Feliz catus*) with *Tritrichomonas foetus* isolated from cattle. *Veterinary Parasitology*. 154, 156-161.

Tachezy, J., Tachezy, R., Hampl, V., Sedinová, M., Vanacová, S., Vrlik, M., Van-Rast, M., Fleger, J., Kulda, J. (2002). Cattle pathogen *Tritrichomonas foetus* (Riedmuller, 1928) and pig commensal *Tritrichomonas suis* (Gruby and Delafond, 1843) Belong to the same species. *Journal Eukaryotic Microbiology*, 49(2), 154-163.

UNAM. (2000). Tricomoniasis. Enfermedades de los Bovinos. *Enciclopedia Bovina*. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. 4: 222-223.

Villar, C. (2009). Efecto de los parasitismos sobre la reproducción bovina. Enfermedades parasitarias en general y de bovinos. *Sitio Argentino de Producción Animal*. Páginas 1-6.

Working in Epidemiology. *WINEPI*. Revisado en Febrero de 2014 desde Internet: <http://www.winepi.net/index.php>.

Yao, C. (2013). Diagnosis of *Tritrichomonas foetus* infected bulls, an ultimate approach to eradicate bovina trichomoniasis in US cattle. *Journal of Medical Microbiology*. 62. 1-9.