




Original

# Análisis filogenético de secuencias de Cistein-Proteasas de *Tritrichomonas foetus*: ¿salto de la barrera de especies?

Maria F. Londoño-López<sup>1\*</sup>  Esp; Juan C. González-Corrales<sup>1</sup>  Ph.D; Juan C Rincón-Florez<sup>1,2</sup>  Ph.D.

<sup>1</sup>Universidad Tecnológica de Pereira, Facultad Ciencias de la Salud, Programa Medicina Veterinaria y Zootecnia, Grupo de investigación Grupo BIOPEC: Biomolecular y Pecuaria, Pereira - Risaralda, Colombia.

<sup>2</sup>Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Ciencia Animal. Palmira, Valle del Cauca, Colombia.

\*Correspondencia: [m.londono@utp.edu.co](mailto:m.londono@utp.edu.co)

Recibido: Enero 2020; Aceptado: Agosto 2020; Publicado: Noviembre 2020.

## RESUMEN

**Objetivos.** Realizar un análisis de las secuencias de los genes de las cisteína-proteasas (CP) de *Tritrichomonas* spp. reportadas en GenBank con el fin de desarrollar un análisis filogenético que ayude a esclarecer la posibilidad de transmisión entre especies. **Materiales y métodos.** Se realizó el análisis de las secuencias de CP de *Tritrichomonas* spp. disponibles en GenBank. Las secuencias halladas fueron alineadas, identificando sitios polimórficos. Se determinó el mejor modelo de sustitución nucleotídica y se construyeron árboles filogenéticos por cada gen, usando como grupo externo, *Trichomonas vaginalis*. Además, se construyeron secuencias en tándem de cada patógeno reportado, para construir árboles filogenéticos de mayor fortaleza en las ramas. Finalmente, se estimó la divergencia evolutiva de las secuencias en tándem. **Resultados.** El análisis filogenético evidenció la relación que puede existir entre *T. suis* porcino y *T. foetus* bovino. Las secuencias de *T. foetus* felino y bovino se encontraron en grupos separados; sin embargo, las de *T. foetus* felino fueron similares a las de bovinos de Namibia. También se pudo evidenciar la cercanía de *T. foetus* humano con *T. foetus* bovino y porcino. **Conclusiones.** El análisis filogenético de las secuencias de CP en diferentes especies de *Tritrichomonas* spp. permitió identificar relaciones entre las *Tritrichomonas* de bovinos, porcinos y humanos, pero también entre algunas secuencias aisladas de felinos con las de bovinos de Namibia, lo que sugiere la posibilidad del paso de la barrera entre especies.

**Palabras Clave:** Ganado; protozoarios; parásitos; tritrichomoniasis (*Fuente:MeSH*).

## ABSTRACT

**Objectives.** To analyze the cysteine-protease (CP) gene sequences of *Tritrichomonas* spp. reported in GenBank, and develop a phylogenetic analysis to help clarify the possibility of transmission between species. **Materials and Methods.** The CP sequences of *Tritrichomonas* spp. available in GenBank were analyzed and aligned to identify polymorphic sites. The best nucleotide substitution model was determined, and phylogenetic trees were constructed for each gene, using *Trichomonas vaginalis*

### Como citar (Vancouver).

Londoño-López MF, González-Corrales JC, Rincón-Florez JC. Análisis filogenético de secuencias de Cistein-Proteasas de *Tritrichomonas foetus*, ¿salto de la barrera de especies?. Rev MVZ Córdoba. 2021; 26(1):e1906. <https://doi.org/10.21897/rmvz.1906>



©El (los) autor (es), Revista MVZ Córdoba 2020. Este artículo se distribuye bajo los términos de la licencia internacional Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>), que permite a otros distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir de su obra de modo no comercial, siempre y cuando den crédito y licencien sus nuevas creaciones bajo las mismas condiciones.

as an outgroup. Besides, tandem sequences of each reported pathogen were constructed to build phylogenetic trees with higher branch strength. Finally, the evolutionary divergence of the tandem repeat sequences was estimated to obtain more conclusive results. **Results.** The phylogenetic analysis showed the relationship that may exist between porcine *T. suis* and bovine *T. foetus*. The feline and bovine *T. foetus* sequences were found in separate groups; however, feline *T. foetus* was similar to that of bovines from Namibia. The proximity of human *T. foetus* to bovine and porcine *T. foetus* was verified. **Conclusions.** Phylogenetic analysis of CP sequences in different species of *Tritrichomonas* spp., identified relationships between bovine, porcine and human *Tritrichomonas*, but also between some isolated feline sequences with those of bovines, suggesting a possibility of barrier crossing between species.

**Keywords:** Cattle; protozoan; parasite; tritrichomoniasis (*Source: MeSH*).

## INTRODUCCIÓN

La tritrichomoniasis es una infección ocasionada por el parásito protozoario *Tritrichomonas* spp., que pertenece al orden *Trichomonida* de la familia *Trichomonidae* de la clase *Parabasalia* (1). Las tritrichomoniasis son infecciones comunes en órganos reproductivos en bovinos, siendo su principal transmisión la vía genital, dando como resultado muerte embrionaria, infertilidad y abortos (2). En los porcinos este parásito puede invadir el estómago, ciego y cavidad nasal (3).

Recientemente, se ha determinado que puede ocasionar infecciones el tracto intestinal en gatos, específicamente en el lumen y cripta del epitelio de la mucosa colónica, induciendo efectos citopáticos en las células epiteliales, dando como resultado, diarreas crónicas de difícil tratamiento (4). La adherencia, colonización y patogenicidad de la *T. foetus*, se da por la Cisteín-Proteasa (CP), que es reconocida como mediadora de la citotoxicidad y es la encargada de la adhesión y colonización del protozoario al tejido (5). Estos protozoos tienen expresión de gran número de genes asociados a la virulencia o a su propio metabolismo, pero algunos son altamente conservados. Por ejemplo, las regiones espaciadoras internas transcritas (ITS )1 y 2 son altamente conservadas, lo que las hace poco útiles para realizar análisis filogenético y entender la variación entre especies que puedan estar asociados al hospedero. Por esta razón, es de gran importancia utilizar genes más variables, como es el caso de las CP. Recientemente se ha planteado que la CP2 es la más variables y adecuada para realizar análisis filogenéticos (1).

La *Tritrichomonas* spp. aislada de porcinos ha presentado controversia en cuanto a su denominación. Anteriormente fue clasificada como *T. suis*, sin embargo, estudios genéticos y filogenéticos demostraron que el protozoo *T.*

*suis* es el mismo *T. foetus* bovino, permitiendo así, la reclasificación a *T. foetus* genotipo porcino (6)1928. Existen reportes de infecciones oportunistas por parte de la *Tritrichomonas foetus*, en humanos inmunodeprimidos o inmunosuprimidos permitiendo la colonización de la *T. foetus* en sistema respiratorio (7). Sin embargo, todavía no está clara la ruta de infección y el genotipo de estos parásitos de acuerdo a su hospedero (8).

Por lo anterior, el análisis filogenético podría proveer información importante sobre las variaciones del parásito y su relación con el hospedador, el objetivo del presente estudio fue realizar un análisis de las secuencias de los genes de las Cisteín-Proteasas (CP) de *Tritrichomonas* spp reportadas en el GenBank, con el fin de desarrollar un análisis filogenético que aporte al esclarecimiento de la posibilidad de transmisión entre especies.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Secuencias cisteín-proteasas *Tritrichomonas* spp.** Se realizó una búsqueda en el GenBank usando las palabras Cisteín-Proteasa y *Tritrichomonas* spp, la cual permitió obtener secuencias reportadas para diferentes tipos de Cisteín-Proteasa (CP1, CP2, CP4). Posteriormente se identificó la información de la región geográfica y la especie de la que fue aislada. Para el análisis, Se tuvieron en cuenta solamente los tipos de Cisteín-Proteasa de las que había secuencias de *Tritrichomonas* spp y que además también hubiera en *Trichomonas vaginalis*, ya que esta especie actuó como grupo externo en el análisis. Al finalizar la búsqueda, se contó con 70 secuencias para los análisis posteriores, de las cuales 18 secuencias fueron de CP1, 33 de CP2 y 19 de CP4. Adicionalmente,

se incluyó una secuencia de CP1, CP2 y CP4 de *Trichomonas vaginalis* (outgroup).

### Edición y análisis filogenético de secuencias.

Las secuencias fueron editadas usando el programa Molecular Evolutionary Genetics Analysis v.10.1.8 (MEGA v.10.1.8.) y se realizó un alineamiento para cada una de las proteasas CP1, CP2 y CP4 reportadas en el NCBI, usando el algoritmo MUSCLE del programa MEGA v.10.1.8. A partir del alineamiento se realizó la edición y un análisis descriptivo de las secuencias donde se tomaron los estadísticos relacionados con las regiones variables y conservadas y se determinó el mejor modelo de sustitución nucleotídica usando el menor valor, según el criterio de información bayesiano (BIC), estimado mediante el programa MEGA v.10.1.8.

El análisis filogenético se realizó con Bootstrap mediante máxima verosimilitud usando las secuencias nucleotídicas de cada una las Cistein-Proteasas (CP1, CP2, CP4), usando el mejor modelo de sustitución nucleotídica obtenido en cada caso y anotando la información del país de origen y la especie de la que fue aislada, con el fin de buscar posibles patrones de asociación. Se usaron 1000 repeticiones bootstrap y se consideraron significativos los valores superiores al 70%.

**Construcción de secuencias en tándem.** A partir de la información anterior, se contruyeron secuencias en tándem de las Cistein-Proteasas CP1, CP2 y CP4 de las *Tritrichomonas spp*

reportadas y de la *Trichomonas vaginalis* como outgroup, teniendo en cuenta también la información del el país de origen y las especies de animales de las que fueron aisladas. Se realizó un análisis filogenético con Bootstrap mediante máxima verosimilitud con el modelo de sustitución K2 con distribución gama discreta (K2+G) y un Bootstrap con 1000 repeticiones. Finalmente, se estimó la divergencia evolutiva de las secuencias en tándem mediante el programa MEGA v.10.1.8.

**Aspectos éticos.** En el presente artículo no se realizaron procedimientos experimentales con animales; solo se realizó un análisis de información reportada. El Proyecto fue aprobado por el comité de bioética de la Universidad Tecnológica de Pereira - CBE-UTP (Pereira, Colombia; código CBE-SYR-162016).

## RESULTADOS

Las secuencias reportadas de interés fueron tres tipos de Cistein-Proteasas de *Tritrichomonas spp.*, aisladas de diferentes países de cuatro continentes y de diferentes hospedadores como bovinos, porcinos, felinos, primates y humanos (Tabla 1). Las secuencias reportadas para Latino América fueron principalmente de bovinos y no se encontraron secuencias de gatos para América Latina. Los registros y accesos para cada secuencia se presentan en la tabla 1.

**Tabla 1.** Listado de secuencias de Cistein-Proteasas

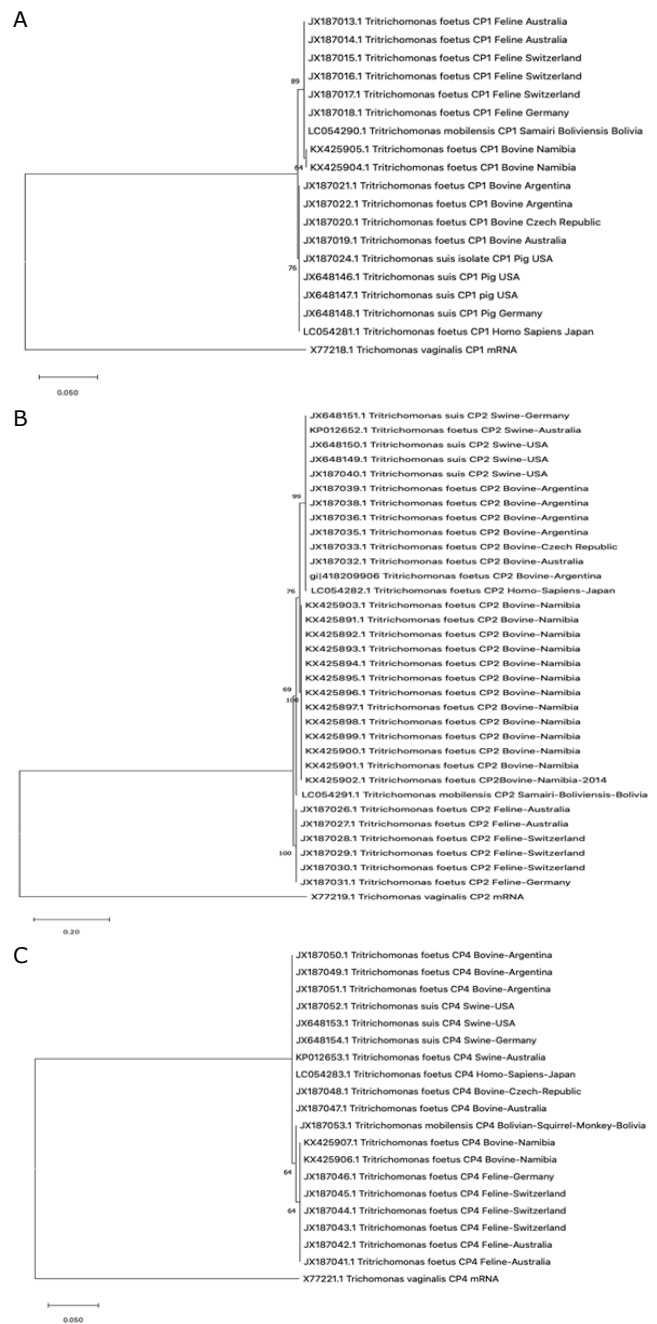
de *Tritrichomonas spp.* reportadas en el GenBank, con número de registro, especie animal del aislado, país de origen y código de acceso en el GenBank.

Gen	N	Especie	Hospedero	País	Acceso
CP1	18	<i>T.suis</i>	Porcine,	Argentina, Australia,	JX648147.1, JX187024.1, JX648146.1, JX648148.1,
		<i>T. foetus</i>	Feline, Bovine,	Bolivia, Czech	JX187017.1, JX187015.1, JX187016.1, JX187014.1,
		<i>T. mobilensis</i>	Saimiri boliviensis,	Republic Germany,	JX187013.1, JX187018.1, JX187020.1, JX187019.1,
		<i>Trichomonas vaginalis</i>	Homo sapiens Human	Japan, Namibia, USA, Switzerland, Unated Kingdom	JX187022.1, JX187021.1, KX425904.1, KX425905.1, LC054290.1, LC054281.1, X77218.1
CP2	33	<i>T.suis</i>	Porcine, Feline,	Argentina, Australia,	JX187040.1, JX648149.1, JX648150.1, JX648151.1,
		<i>T. foetus</i>	Bovine, Saimiri	Bolivia, Czech	KP012652.1, JX187026.1, JX187027.1, JX187028.1,
		<i>T. mobilensis</i>	boliviensis	Republic, Germany,	JX187029.1, JX187030.1, JX187031.1, JX187032.1,
<i>Trichomonas vaginalis</i>	Homo sapiens Human	Japan, Namibia, USA, Switzerland, Unated Kingdom	JX187033.1, JX187035.1, JX187036.1, JX187038.1, JX187039.1, JX187040.1, KX425891.1, KX425892.1, KX425893.1, KX425894.1, KX425895.1, KX425896.1, KX425897.1, KX425898.1, KX425899.1, KX425900.1, KX425901.1, KX425902.1, KX425903.1, LC054282.1, LC054291.1, X77219.1		
CP4	19	<i>T.suis</i>	Porcine, Feline,	Argentina, Australia,	JX648154.1, JX648153.1, JX187052.1, KP012653.1,
		<i>T. foetus</i>	Bovine, Saimiri	Bolivia, Czech	JX187046.1, JX187045.1, JX187044.1, JX187043.1,
		<i>T. mobilensis</i>	boliviensis	Republic, Germany,	JX187041.1, JX187042.1, KX425907.1, KX425906.1,
		<i>Trichomonas vaginalis</i>	Homo sapiens Human	Japan, Namibia, USA, Switzerland, Unated Kingdom	JX187051.1, JX187050.1, JX187049.1, JX187048.1, JX187047.1, JX187053.1, LC054283.1, X77221.1

A partir del análisis descriptivo del alineamiento de las secuencias de *Tritrichomonas spp.*, se pudo evidenciar que la secuencia para CP4 fue la que presentó menos sitios variables (2), y las secuencias CP1 y CP2 las que más sitios variables presentaron (4 y 28 respectivamente). El alineamiento más largo fue para la secuencia CP2 con 669 nucleótidos y el más corto para la CP4 con 273 nucleótidos.

El porcentaje de GC mayor fue el de la CP4 con un rango entre 20.17% y 24.55% y el de menor valor para la CP1 con un rango entre 21.77% y 14.79%. Las secuencias en tándem presentaron un tamaño de 2283 nucleótidos con 48 sitios variables, 2235 conservados y un porcentaje GC entre 22.60 a 21.24 (Tabla 2). En general el mejor modelo de sustitución nucleotídica fue kimura 2-parámetros (K2), pero en el caso de las secuencias CP2 incluyó el parámetro I (K2+I) que asume que cierta fracción de sitios son evolucionariamente invariables. Además, la secuencia en tándem incluyó el parámetros G (K2+G), que usa una distribución Gamma discreta para modelar las tasas evolucionarias no uniformes.

A partir de los reportes del mejor modelo de sustitución, se realizó el análisis filogenético que permitió evidenciar una topología muy similar en los árboles construidos de las diferentes proteasas evaluadas, con una clara separación de la *Trichomonas vaginalis* del resto de las *Tritrichomonas spp.* analizadas. Adicionalmente, se pudo identificar una agrupación entre las *Tritrichomonas foetus* de felinos en clados diferentes a las de bovinos, porcinos y humanos. Llama la atención la agrupación de las *T. foetus* de bovinos de Namibia en el clado de la *T. foetus* de felinos, y muy cerca a ellos la *T. mobilensis*, siendo el bovino más susceptible a los diferentes tipos (Figura 1).



**Figura 1.** Árboles filogenéticos por máxima verosimilitud de secuencias de Cistein-Proteasas de *Tritrichomonas spp.* de acuerdo a: A) CP1, B) CP2 y C) CP4, usando *Trichomonas vaginalis* como outgroup.

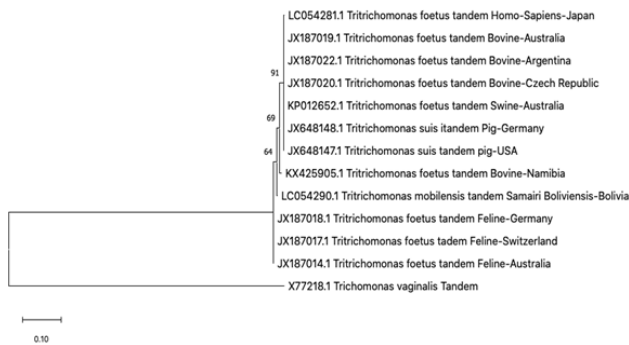
**Tabla 2.** Estadísticos para los alineamientos de secuencias de Cistein-Proteasa de *Tritrichomonas spp.* y mejor modelo de sustitución nucleotídica.

Proteasas	N	Sitios Variables	Sitios Conservados	Nucleótidos	Modelo de Sustitución	Porcentaje G-C (%)
CP1	18	4	499	503	K2	21.77 – 14.79
CP2	33	28	641	669	K2+I	22.22 – 21.77
CP4	19	2	271	273	K2	20.17 – 24.55
Tándem	12	48	2235	2283	K2+G	22.60 – 21.24

G-C: Guanine-Cytosine

Vale la pena resaltar que los diferentes *Tritrichomonas spp.*, se agrupan entre sí dependiendo de los países de los que fueron aislados, pudiendo observar así una clara similitud filogenética en los patógenos de un mismo país, lo que plantea la posibilidad de evidenciar potenciales entradas de la enfermedad y sus probables relaciones (Figura 1).

Finalmente, la secuencia en tándem pretendía dar una mirada global de las relaciones a partir de los tres genes de Cistein-Proteasas de *Tritrichomonas spp.*, lo que permitió mejorar la fortaleza de las relaciones y se evidencia nuevamente la separación en un grupo, de las *Tritrichomonas spp* aislada de bovinos y porcinos, diferente al grupo conformado por las *Tritrichomonas spp* aisladas de felinos, bovinos de Namibia y primates (Figura 2),



**Figura 2.** Árbol filogenético por máxima verosimilitud y bootstrap basado en secuencias en tándem de Cistein-Proteasas CP1, CP2 y CP4 de *Tritrichomonas spp.* y *Trichomonas vaginalis* como outgroup.

Al realizar el análisis de divergencia evolucionaria de las 13 secuencias construidas en tándem, se pudo soportar los resultados obtenidos con los árboles filogenéticos, donde se puede evidenciar la similitud entre las secuencias aisladas de bovinos, porcinos y humanos, que presentaron muy poca divergencia (0.0), quienes, a su vez son distantes a las de felinos y primates no humanos en donde los valores fueron de 0.023. Las secuencias de *Tritrichomonas mobilensis* de primates no humanos, que a pesar de ser una especie diferente a la *T. foetus*, se encontró evolutivamente más cercano a las secuencias de las *T. foetus* de felinos con valores de 0.012, y más distante de las de humanos con 0.019. Se destaca que las secuencias de *T. foetus* de felinos resultaron más cercanas a las secuencias de *T. foetus* de bovinos de Namibia con 0.017

comparandolo con las secuencias de *T. foetus* de bovinos, porcinos y humanos de otros países con 0.023.

## DISCUSIÓN

La *Tritrichomonas foetus* se ha considerado como un parásito común en el ganado bovino en el que causa abortos y en los últimos años se ha identificado en el gato como causante de diarrea crónica (9). En los humanos se encuentran algunos parásitos cercanos exclusivos de la especie, la *Trichomonas vaginalis* (10) y la *Trichomonas tenax* (11) como también la *Pentatrachomonas hominis* (7) que se ha aislado también en animales domésticos; sin embargo se ha detectado a la *T. foetus* como agente etiológico de enfermedad respiratoria y colecistitis. Por otro lado, en el cerdo la *Trichomonas foetus*, antes llamada *Tritrichomonas suis*, causa enfermedad respiratoria en el hombre, lo que hace pensar en un mismo agente etiológico para varias especies (12).

Las proteasas son proteínas indispensables para la virulencia del protozoo y la interacción del hospedero-parásito; además para la adquisición de nutrientes, inducción de la apoptosis celular, adherencia, metabolismo e inducción de la inflamación (13). Por este motivo es un buen candidato para la evaluación filogenética. Además, se ha reportado que usando el análisis multigenético de las Cistein-Proteasas de los diferentes genotipos de *Tritrichomonas spp.* aisladas de felinos, bovinos, porcinos y primates, se encuentran regiones conservadas, que sugieren que los genotipos de las *T. foetus* de bovinos originarios de Namibia y felinos en varios países del mundo se encuentran asociados con la *T. mobilensis* en primates (6).

Al realizar alineaciones de 70 secuencias de las tres diferentes Cistein-Proteasas de *Tritrichomonas spp* analizadas y reportadas en el GenBank, se pudo apreciar que las regiones variantes fueron 4, 28 y 2 para las CP1, CP2 y CP4 respectivamente, evidenciando una alta variabilidad de la CP2 que, de acuerdo a Slapeta, esta Cistein-proteasa es la más variable, siendo la más adecuada para ser usada en análisis filogenéticos para estos casos. (6). Para obtener una mayor fortaleza en las ramas, se construyó la secuencia tándem con las tres proteasas reportadas para cada especie de *Tritrichomonas spp.* aisladas de diferentes animales. Las secuencias tándem al ser más largas y presentar todos los sitios variantes

permitió observar de forma más clara la organización entre los clados del árbol. Además, es importante notar que la *Trichomonas vaginalis* a pesar de ser clasificados como Trichomonadae,

es un protozoo evolutivamente diferente a las *Tritrichomonas spp.* situación que permitió que se comportase como un grupo externo en el análisis filogenético y que puede ser observado en la divergencia evolutiva (Tabla 3).

**Tabla 3.** Divergencia evolucionaria entre las 13 secuencias de Cistein-Proteasas en tándem.

Secuencia	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1. LC054290.1 <i>T. mobilensis Saimiri bolivensis</i> - Bolivia												
2. JX648147.1 <i>T. suis</i> porcino USA	0.017											
3. JX648148.1 <i>T. suis</i> porcino Alemania	0.017	0.000										
4. KP012652.1 <i>T. foetus</i> porcino Australia	0.019	0.002	0.002									
5. LC054281.1 <i>T. foetus Homo sapiens</i> Japón	0.017	0.000	0.000	0.002								
6. JX187017.1 <i>T. foetus</i> felino Suiza	0.012	0.023	0.023	0.023	0.023							
7. JX187018.1 <i>T. foetus</i> felino Alemania	0.012	0.023	0.023	0.023	0.023	0.000						
8. JX187014.1 <i>T. foetus</i> felino Australia	0.012	0.023	0.023	0.023	0.023	0.000	0.000					
9. JX187020.1 <i>T. foetus</i> bovino Republica Checa	0.017	0.000	0.000	0.002	0.000	0.023	0.023	0.023				
10. KX425905.1 <i>T. foetus</i> bovino Namibia	0.013	0.015	0.015	0.017	0.015	0.017	0.017	0.017	0.015			
11. JX187019.1 <i>T. foetus</i> bovino Australia	0.017	0.000	0.000	0.002	0.000	0.023	0.023	0.023	0.000	0.015		
12. JX187022.1 <i>T. foetus</i> bovino Argentina	0.017	0.000	0.000	0.002	0.000	0.023	0.023	0.023	0.000	0.015	0.000	
13. X77218.1 <i>Trichomonas vaginalis</i> humano, Reino unido	1.036	1.057	1.057	1.059	1.057	1.020	1.020	1.020	1.057	1.040	1.057	1.057

Al obtener un mejor panorama de la distribución filogenética de los *Tritrichomonas spp.*, y realizando un análisis de divergencia, se encontró similitud entre las secuencias de *T. foetus* de bovinos y porcinos. Este resultado es similar al encontrado por Mueller et al (14) en Australia en donde comparó Cisteín-Proteasa 1,2,4 y 9 de cerdos y bovinos que convivían juntos y en donde encontró que el genotipo presente en las dos especies era igual. Además, han reportado en los cerdos una prevalencia del 65% del genotipo bovino a pesar de que esta producción está considerada libre de *T. foetus* en el ganado vacuno por 30 años, lo cual quiere decir que este parásito puede estar presente en los cerdos de las granjas sin producir en ellos enfermedad, ni siendo fuente de contagio a los bovinos (14).

A diferencia de este estudio en donde no se encontró similitud entre el genotipo de *T. foetus* de felinos y porcinos usando las secuencias de Cistein-Proteasas, Doi et al (15) encontraron que los genotipos identificados en pacientes felinos de algunos hospitales veterinarios de Japón eran iguales a los genotipos reportados en el GenBank para porcinos de acuerdo a las regiones TR/7 y TR/8; así mismo encontraron que ambos genotipos fueron distintos a la *T. foetus* del bovino (15), aunque es importante tener en cuenta que se usaron diferentes genes para el análisis, estos pueden ser más conservados y menos relacionados con los mecanismos de invasión, lo que puede explicar conclusiones diferentes, pero aumenta la posibilidad de que se pueda dar el salto de barrera entre especies para diferentes genotipos de *Tritrichomonas spp.*,

situación que debe ser investigada a profundidad en otros trabajos con mayor número de genes.

En el árbol filogenético, se puede evidenciar que las secuencias de *T. foetus* de bovinos son similares entre ellas y se presenta muy poca distancia genética, con excepción de la secuencia de *T. foetus* aisladas de Bovino en Namibia, la cual presenta mayor cercanía genética con las *T. foetus* felino que se ubica en el mismo clado, y presenta una divergencia genética mínima. Además, llama la atención que las secuencias de *T. foetus* de Bovinos de Namibia y las de felinos se secuencias más cercanas de *T. mobilensis*, que de las secuencias de *T. foetus* de otros bovinos, de cerdos o de humanos, lo que hace pensar sobre la verdadera clasificación de estos grupos: Es importante resaltar que previamente se había reportado el parecido entre *T. foetus* de los bovinos de Namibia y *T. mobilensis* (6) y que *T. suis* ha sido propuesta como un genotipo de *T. foetus* (12), lo que plantea la necesidad de revisar la clasificación de algunos miembros de *Tritrichomonas*. Lo anterior también plantea que al menos dos genotipos diferentes de *T. foetus* pueden infectar el bovino y que cada genotipo se asocia con especie diferentes, lo que supone una plasticidad del patógeno para pasar entre especies. Sin embargo, aún falta investigación al respecto, usando información de genomas completos aislados de diferentes hospedadores, que permitan aclarar la situación.

Entre las secuencias de *T. foetus* felino se evidencia poca variación entre ellas. Slapeta y colaboradores, coinciden en afirmar que los genotipos de *T. foetus* bovino y felino son diferentes luego de comparar las regiones TR/7 y TR/8 (16); sin embargo Morin et al (17) encontraron una estrecha similitud entre el transcriptoma al comparar ambos tipos de *T. foetus* en un estudio que tenía como objetivo identificar blancos terapéuticos para el tratamiento de este parásito, teniendo en cuenta su adaptación a distintas especies y los cambios en el transcriptoma por esta adaptación. De acuerdo a estos resultados, los autores concluyen que este parásito tiene una reciente adaptación evolutiva al huésped (17). Es importante resaltar que estudios como el de Morin, abren la posibilidad de encontrar blancos terapéuticos específicos dada la dificultad de tratamiento en especies como el felino en el que la *T. foetus* presenta resistencia a la mayoría de antiparasitarios a excepción del ronidazol el cual ha presentado alta toxicidad en los animales tratados (17). Hallazgos similares

fueron encontrados por Reinmann et al (18) quienes compararon secuencias ITS 2 y el factor de elongación  $\alpha$  1 como secuencia semi conservada, encontrando que las secuencias de ambos locis son filogenéticamente muy cercanos (18). Estas similitudes abren la puerta a futuros estudios teniendo en cuenta que en muchas producciones bovinas en donde se guarda alimento concentrado, se encuentran gatos para controlar a los roedores que frecuentan los sitios de almacenamiento, con lo que pueden ser estos felinos un foco de contagio para el ganado vacuno.

Por otro lado, en Mantes, Francia en el año 2006; se reportó un caso de neumonía neumocística en una mujer de 54 años producida por *T. foetus*. El diagnóstico del agente etiológico se realizó por medio de PCR de la región ITS 1 y su secuencia comparada con secuencias encontradas en bases de datos. Las secuencias presentaron homología de 99.2% respecto de las secuencias de *T. foetus*, *T. suis* y *T. mobilensis* encontradas en bovinos, cerdos y ardillas (19). Otro caso reportado en humano fue hecho en Japón, en donde se aisló *T. foetus* de conducto biliar de un paciente con colecistitis. Posterior al aislamiento se realizó genotipificación a las CP 1,2,4 y 9 y se comparó con las secuencias de *T. foetus* de ganado y cerdo dando como resultado genotipos iguales (8).

Todos estos resultados alertan sobre la importancia de la *T. foetus* no solo como causante de enfermedad en gatos y animales de abasto sino también de la importancia como posible zoonosis, más si se tiene en cuenta todos los posibles transmisores hacia el hombre y además porque no se han realizado estudios sistemáticos en humanos que tengan contacto frecuente con las especies susceptibles. A pesar de que algunos estudios muestran que genotipos similares de *T. foetus* se encuentran en diferentes especies sin causar enfermedad (14), otros reportes muestran pacientes como cerdos y humanos con enfermedad respiratoria, problemas intestinales en gatos y reproductivos en bovinos, lo que hace necesario futuras investigaciones en las que se comparen los genotipos de este parásito en las especies mencionadas teniendo en cuenta que es frecuente que producciones tanto bovinas como porcinas tienen gatos en las mismas, además del contacto estrecho del humano con estos animales (20). Por otro lado, al tener solo un reporte conocido en Latino América de *T. foetus* en gatos (1), es fundamental realizar estudios de prevalencia en esta región teniendo en cuenta

la alta prevalencia en países desarrollados como Alemania, Australia y Suiza (6).

Finalmente, al realizar el análisis de los árboles por distribución geográfica, se observó una similitud de patógenos de acuerdo a los países donde fue tomada la muestra, lo que supone que estas secuencias pueden ser útiles para llevar a esclarecer el origen de estos parásitos, y la posible contaminación cruzada entre especies animales, por lo que pueden ser consideradas en futuros estudios en Latinoamérica para identificar la posible procedencia del patógeno.

En conclusión, en el presente estudio se pudieron estimar las distancias filogenéticas de las diferentes secuencias de las cistein-proteasas analizadas, sugiriendo cercanía entre las *Tritrichomonas foetus* aisladas en felinos, bovinos de Namibia y *Tritrichomonas mobilensis* en primates no humanos, pero un poco más distantes del grupo formado por las *T. foetus* de

bovinos, y *T. suis* de porcinos y una secuencia de humanos. Estas cercanías y el hecho de encontrar secuencias de *T. foetus* de bovinos en los dos grupos sugieren la posibilidad del paso de la barrera entre especies. Sin embargo, se requieren estudios moleculares in vivo con diferentes poblaciones de animales y humanos relacionados entre sí.

### Conflicto de intereses

Los autores declaramos que no tenemos conflicto de intereses.

### Agradecimientos

A la Universidad Tecnológica de Pereira por el apoyo y la financiación del proyecto de investigación con código 5-17-9. Titulado "Factores asociados a la presencia, resistencia a antiparasitarios y fenotipos de *Tritrichomonas foetus* en gatos, humanos y algunos animales de producción del Eje cafetero".

## REFERENCIAS

1. Hora AS, Miyashiro SI, Cassiano FC, Brandão PE, Reche-Junior A, Pena HFJ. Report of the first clinical case of intestinal trichomoniasis caused by *Tritrichomonas foetus* in a cat with chronic diarrhoea in Brazil. *BMC Vet Res*. 2017; 13(1):109. <https://doi.org/10.1186/s12917-017-1026-3>
2. Mardones FO, Perez AM, Martínez A, Carpenter TE. Risk factors associated with *Tritrichomonas foetus* infection in beef herds in the Province of Buenos Aires, Argentina. *Vet Parasitol*. 2008; 153(3-4):231-237. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.01.038>
3. Morin-Adeline V, Mueller K, Conesa A, Šlapeta J. Comparative RNA-seq analysis of the *Tritrichomonas foetus* PIG30/1 isolate from pigs reveals close association with *Tritrichomonas foetus* BP-4 isolate bovine genotype. *Vet Parasitol*. 2015; 212(3-4):111-117. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.08.012>
4. Frey CF, Müller N. *Tritrichomonas* - Systematics of an enigmatic genus. *Mol Cell Probes*. 2012; 26(3):132-136. <https://doi.org/10.1016/j.mcp.2012.02.002>
5. Tolbert MK, Stauffer SH, Brand MD, Gookin JL. Cysteine Protease Activity of Feline *Tritrichomonas foetus* Promotes Adhesion-Dependent Cytotoxicity to Intestinal Epithelial Cells. Appleton JA, editor. *Infect Immun*. 2014; 82(7):2851-2859. <http://ia.asm.org/lookup/doi/10.1128/IAI.01671-14>
6. Šlapeta J, Müller N, Stack CM, Walker G, Lew-Tabor A, Tachezy J, et al. Comparative analysis of *Tritrichomonas foetus* (Riedmüller, 1928) cat genotype, *T. foetus* (Riedmüller, 1928) cattle genotype and *Tritrichomonas suis* (Davaine, 1875) at 10 DNA loci. *Int J Parasitol*. 2012; 42(13-14):1143-1149. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2012.10.004>



7. Maritz JM, Land KM, Carlton JM, Hirt RP. What is the importance of zoonotic trichomonads for human health? *Trends Parasitol.* 2014; 30(7):333–341. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pt.2014.05.005>
8. Suzuki J, Kobayashi S, Osuka H, Kawahata D, Oishi T, Sekiguchi K, et al. Characterization of a human isolate of *Tritrichomonas foetus* (cattle/swine genotype) infected by a zoonotic opportunistic infection. *J Vet Med Sci.* 2016; 78(4):633–640. <https://doi.org/10.1292/jvms.15-0644%0A>
9. Manning K. Update on the diagnosis and management of tritrichomonas foetus infections in cats. *Top Companion Anim Med.* 2010; 25(3):145–148. <https://doi.org/10.1053/j.tcam.2010.08.001>
10. Ryan CM, Miguel N de, Johnson PJ. *Trichomonas vaginalis* : current understanding of host–parasite interactions. *Essays Biochem.* 2011; 51:161–175. <https://doi.org/10.1042/bse0510161>
11. Ghabanchi J, Zibaei M, Afkar Md, Sarbazie A. Prevalence of oral *Entamoeba gingivalis* and *Trichomonas tenax* in patients with periodontal disease and healthy population in Shiraz, southern Iran. *Indian J Dent Res.* 2010; 21(1):89. <http://www.ijdr.in/text.asp?2010/21/1/89/62821>
12. Shi Y, Jiang W, Ma Z, Qiu Y. A case report of pulmonary tritrichomonosis in a pig. *BMC Vet Res.* 2017; 13(1):348. <https://doi.org/10.1186/s12917-017-1242-x>
13. Sun Z, Stack C, Šlapeta J. Sequence differences in the diagnostic region of the cysteine protease 8 gene of *Tritrichomonas foetus* parasites of cats and cattle. *Vet Parasitol.* 2012; 186(3–4):445–449. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.12.001>
14. Mueller K, Morin-Adeline V, Gilchrist K, Brown G, Šlapeta J. High prevalence of *Tritrichomonas foetus* 'bovine genotype' in faecal samples from domestic pigs at a farm where bovine trichomonosis has not been reported for over 30 years. *Vet Parasitol.* 2015; 212(3–4):105–110. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.08.010>
15. Doi J, Hirota J, Morita A, Fukushima K, Kamijyo H, Ohta H, et al. Intestinal *Tritrichomonas suis* (= *T. foetus*) infection in Japanese cats. *J Vet Med Sci.* 2012; 74(4):413–417. <https://doi.org/10.1292/jvms.11-0171>
16. Šlapeta J, Craig S, McDonell D, Emery D. *Tritrichomonas foetus* from domestic cats and cattle are genetically distinct. *Exp Parasitol.* 2010; 126(2):209–213. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2010.04.024>
17. Morin-Adeline V, Lomas R, O'Meally D, Stack C, Conesa A, Šlapeta J. Comparative transcriptomics reveals striking similarities between the bovine and feline isolates of *Tritrichomonas foetus*: Consequences for in silico drug-target identification. *BMC Genomics.* 2014; 15(1):955. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-955>
18. Reinmann K, Müller N, Kuhnert P, Campero CM, Leitsch D, Hess M, et al. *Tritrichomonas foetus* isolates from cats and cattle show minor genetic differences in unrelated loci ITS-2 and EF-1 $\alpha$ . *Vet Parasitol.* 2012; 185(2–4):138–144. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.09.032>
19. Duboucher C, Caby S, Dufernez F, Chabé M, Gantois N, Delgado-Viscogliosi P, et al. Molecular identification of *Tritrichomonas foetus*-like organisms as coinfecting agents of human *Pneumocystis pneumonia*. *J Clin Microbiol.* 2006; 44(3):1165–1168. <https://doi.org/10.1128/JCM.44.3.1165-1168.2006>
20. Yao C. Opportunistic Human Infections Caused by *Tritrichomonas* species: A Mini-Review. *Clin Microbiol Newsl.* 2012; 34(16):127–131. <https://doi.org/10.1016/j.clinmicnews.2012.07.004>