

BAC

MODULO DIGITAL



El documento fuente se encuentra en
La Biblioteca Agropecuaria de Colombia

ELEMENTOS BIBLIOGRAFICOS

AUTOR (ES): Gallego Marín, M.I.; Sedano de De León, L.; Villamil Jiménez, L.C.; Bello G, J.A.; Nuñez Largo, O.

TITULO: Evaluación del diagnóstico de la trichomoniasis genital bovina

FUENTE: Revista ACOVEZ (Colombia), (1981), v. 5 (15) P. 3-6

EVALUACION DEL DIAGNOSTICO DE LA TRICHOMONIASIS
GENITAL BOVINA*

Manuel Isaac Gallego M.**
Ligia de Deleón
Luis Carlos Villamil J.
José Augusto Bello G.
Oswaldo Nuñez L.

INTRODUCCION

La TRICHOMONIASIS genital bovina, es una entidad limitante al desarrollo ganadero del país, de frecuente presentación dentro del grupo de enfermedades del tracto reproductivo de los bovinos.

La identificación de la enfermedad exige, un diagnóstico preciso mediante la correcta caracterización del agente etiológico.

En el presente trabajo, se hace la evaluación de tres medios de cultivo para TRICHOMONAS en comparación con la inoculación en animales de laboratorio y el examen directo de los sedimentos de lavados prepuciales.

REVISION DE LITERATURA

El diagnóstico de la TRICHOMONIASIS, requiere la demostración microscópica del parásito tanto en la vagina de hembras infectadas después de la infección inicial (12), ó en las secreciones vaginales, moco cervical, líquidos amnióticos, placenta, contenido estomacal del feto, líquidos orales y otros tejidos fetales; y en el macho a partir de lavados prepuciales. Rara vez se encuentra en el semen ó en el líquido seminal (9). En el toro los gérmenes se encuentran en el prepucio, con frecuencia en número tan pequeño que es posible fracasar en los esfuerzos por aislarlos, pero si se concede atención especial a los detalles de diagnóstico puede tener una precisión de más del 90% (10) siempre se debe identificar morfológicamente las TRICHOMONAS FOETUS, llevando a más de 500 diámetros de aumento para visualizar los flagelos y la membrana ondulante. En cultivos viejos, ciertas formas de T. FOETUS, llamadas pleomórficas, pueden aparecer inmóviles y muy esféricas (2).

Para la observación de muestras procedentes del toro con la finalidad de demostrar la presencia de T. FOETUS, se conocen cinco métodos: Lavado prepucial, de la pipeta, de la torunda de gasa, del raspador metálico y del resorte (2).

Un solo examen no es suficiente para garantizar un diagnóstico negativo. Una vaca puede considerarse libre de Trichomonas si después de tres exámenes negativos tiene dos periodos estrales normales y a continuación concibe un ternero en condiciones normales. Un toro puede considerarse negativo, si después de seis exámenes negativos con intervalos de una semana, sirve dos ó más novillas vírgenes y éstas permanecen negativas (7). Después que los especímenes sean colectados, es esencial que

* Gómez Vesga H. - Comunicación personal.

sean examinados inmediatamente antes de que pierdan su movilidad. Los frotis para colorear preparaciones, y los cultivos deben ser hechos al tiempo de la toma de las muestras para ser examinados posteriormente, sin embargo, deben ser considerados como métodos secundarios al examen directo de preparaciones húmedas y material clínico. El cultivo es demorado y se requieren materiales y equipos especiales, sin embargo, ofrece mayor número de resultados positivos desde que se reciban muestras recién tomadas y aumenta el número de organismos para observación y puede revivir formas que hayan perdido su morfología diagnóstica (6).

Respecto al empleo de animales de laboratorio, para el diagnóstico de la enfermedad, Levine (5) menciona que muchos animales de laboratorio pueden ser infectados experimentalmente por diferentes vías con T. FOETUS, y cita varios autores los cuales han obtenido éxito con infecciones vaginales en conejos, siendo el HAMSTER DORADO el animal de laboratorio de escogencia para infecciones experimentales.

MATERIALES Y METODOS

En el laboratorio de Investigaciones Médicas Veterinarias (LIMV.), se ha empleado como medio de cultivo para TRICHOMONAS, el medio Plastring (11). Sin embargo, no se dispone de un medio alterno que ofrezca las mismas ó mejores garantías para el diagnóstico. En el presente trabajo se comparó en medio Plastring (el que se escogió como medio patrón), con el medio Conway*, empleado para el cultivo de TRICHOMONAS VAGINALIS, y el Tryptic Soy Broth (T. S. B.), recomendado para el crecimiento de MICROCOCCUS, PNEUMOCOCCUS, STAPHYLOCOCCUS y STREPTOCOCCUS (3).

Se evaluaron también el método de inoculación en animales de laboratorio y el examen directo del sedimento de lavados prepuciales. De acuerdo a Brooke (1), los protozoarios urogenitales deben ser identificados por sus características morfológicas.

Toma de muestras - Se tomaron 246 lavados prepuciales de bovino, mediante la técnica de Rodríguez y col. (9), con el objeto de disponer de cepas de T. FOETUS, para realizar la evaluación de medios de cultivo, examen directo a inoculación en animales de laboratorio.

Siembra de muestras - Los lavados prepuciales se sembraron

después del examen directo en medio Plastridge, medio Conway y medio T.S.B. según las técnicas de los mismos autores mencionados anteriormente (9). Se emplearon cinco tubos de cada medio por muestra tomada y se hicieron observaciones cada 24 horas por 3 días. Las muestras se procesaron en un término no mayor de tres horas de obtenidas.

Medios de cultivo - El medio Conway se preparó en el laboratorio de acuerdo a la siguiente fórmula: Agar nutritivo 1.5 gramos; extracto de carne 3.0 gramos; peptona 5.0 gramos; cloruro de sodio 8.0 gramos; glucosa 6.0 gramos; agua destilada csp. 1000 ml. El medio Plastridge se preparó en el laboratorio así: Agar 3.0 gramos; caldo nutritivo 8.0 grs; cloruro de sodio 8.0 grs; y agua destilada csp. 1000 ml. El T.S.B. se preparó de acuerdo a las normas de la casa fabricante (3). La adición de sueros y antibióticos se hizo según Wosu (11).

Curvas de crecimiento: Una vez obtenidos cultivos positivos, se hicieron sub-cultivos, hasta obtener todas las cepas sin contaminantes; dichas cepas se sembraron en 5 tubos de 4 ml. de medio en estudio con 6×10^4 TRICHOMONAS. A cada tubo se le adicionó una capa delgada de aceite mineral estéril y se llevaron a incubación a 37° C., haciendo recuentos individuales cada 24 horas, con un total de 11 recuentos para Conway, y 14 para Plastridge. Los protozoarios se cuantificaron por el método de la cámara de Neubauer (1).

Inoculación en animales de laboratorio - Se inocularon ratones de 60 días de nacidos, 10 hembras preñadas vía vaginal y 10 machos vía intraperitoneal, con una concentración de 6×10^4 TRICHOMONAS cada uno. El mismo procedimiento se realizó en cobayos de 4 meses de edad y HAMSTER DORADOS de 2 meses de edad.

Resultados examen directo y cultivos - De los 246 lavados examinados se obtuvieron 39 positivos al examen directo, lo mismo que mediante la inoculación en los tres medios de cultivo (tabla 1). Los resultados de los exámenes realizados hechos a las 24, 48, 72 y 96 horas, arrojaron los resultados que se anotan en la tabla 2. Los resultados demuestran que el examen directo y el cultivo con lecturas a las 24 y 48 horas, ofrece la misma sensibilidad para la detección de los casos positivos. A las 72 horas, disminuyen las posibilidades para detección de muestras positivas y a las 96 horas, ya, no se encuentran organismos en los medios de cultivo. El medio Plastridge, parece ofrecer una ligera ventaja sobre los otros dos medios, en el sentido de encontrar mayor número de observaciones positivas a las 96 horas de cultivo.

Curvas de crecimiento en medios de cultivo - En la tabla 3, se presentan los resultados al inocular los medios para hacer la curva de crecimiento del parásito. El medio Plastridge permite la supervivencia del germen durante los 14 días de observación y con el mayor número de parásitos en cada lectura, siendo el T.S.B., el que soporta durante menos días el crecimiento del parásito. El medio Conway presenta un rendimiento superior al T.S.B., en cuanto a supervivencia del parásito, y mayor número de éstos en los recuentos, permitiendo afirmar que ocupa un lugar intermedio entre el Plastridge y el T.S.B. (figura 1).

Inoculación en ratones - En sólo cuatro ratones machos pudo observarse el microorganismo a las 24 y 48 horas de inocula-

dos en cantidad inferior a la inoculada. Los demás animales fueron negativos.

Inoculación en cobayos - En ninguno de los animales se pudo aislar el parásito.

Inoculación en Hamster - En sólo dos hamsters machos se pudieron observar Trichomonas en un número tan pequeño que no permitió recuento satisfactorio.

TABLA 1 Correspondencia de 39 diagnósticos al examen directo y cultivos en tres medios diferentes por 48 horas de observación.

CULTIVOS				
		+	-	Total
Examen	+	39	-	39
	-	0	207	207
	Total	39	207	246 = n

TABLA 2 Comportamiento de 39 muestras positivas a Trichomonas foetus en tres medios de cultivos.

Horas	Plastridge	Conway	T. S. B.
24	39	39	39
48	39	39	39
72	18	12	12
96	0	0	0

TABLA 3 Recuentos diarios de Trichomonas foetus, en tres medios de cultivo.

RESULTADOS			
Número de Trichomonas (Miles / ml.)			
Día	Plastridge	T. S. B.	Conway
1	217.187	155.416	149.615
2	550.312	501.250	495.576
3	825.000	700.000	677.692
4	967.968	585.833	835.384
5	992.968	486.904	762.916
6	1.021.000	476.764	554.583
7	599.821	391.964	362.916
8	470.416	264.166	262.000
9	356.111	175.937	215.937
10	208.437	157.500	119.375
11	131.666	96.600	98.750
12	112.500	---	1.250
13	78.750	---	---
14	38.750	---	---

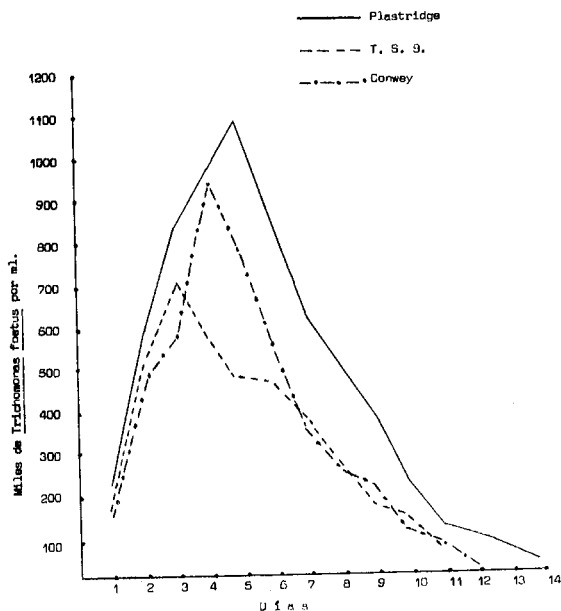


FIGURA 1 Recuentos de *Trichomonas foetus* en tres medios de cultivo.

FIGURA 1 Recuentos de *Trichomonas foetus* en tres medios de cultivo.

DISCUSION

Los tres medios evaluados pueden ser utilizados para el diagnóstico de la Trichomoniasis, ya que en condiciones iguales ofrecen suficiente garantía para el aislamiento del germen durante las primeras 48 horas. El examen directo de las muestras recién tomadas y sus cultivos ofrecen posibilidades similares de éxito en las primeras 48 horas a pesar de la creencia generalmente aceptada, en el sentido de que el cultivo detecta mayor número de casos positivos. El cultivo ofrece ventajas sobre el examen directo en el diagnóstico de muestras de más de 10 horas de tomadas, cuando la movilidad del germen tiende a perderse es necesario cultivarlas para recuperar su movilidad. (6).

En cuanto a las ventajas de los medios para cultivar los microorganismos, el Plastridge ofrece condiciones óptimas comparándolo con los otros dos medios ya que los gérmenes sobreviven más tiempo y alcanzan cifras más altas de crecimiento. Sin embargo, para el diagnóstico corriente, el T.S.B. ofrece mejores ventajas, ya que solamente es necesario rehidratarle y agregarle el suero y los antibióticos manteniéndolo congelado hasta su uso. (11).

Puede notarse una discrepancia en el presente trabajo: Al cultivar las muestras, los gérmenes no sobreviven más de 48 horas, pero al comparar los 3 medios de cultivo se observaron hasta 14 días de recuento. La diferencia radica en que para observar el comportamiento de los medios, las cepas de *Trichomonas* no estaban contaminadas y el diagnóstico a pesar de utilizar antibióticos, no se logra una descontaminación óptima que impida la supervivencia del germen más allá de 48 horas.

A causa de la efectividad del cultivo para revelar infecciones debido a trichomonas, es aconsejable hacerlo rutinariamente como complemento del examen directo de preparaciones húmedas de materiales urogenitales.

Originalmente se pensó, que si los animales de laboratorio soportaban el crecimiento de los trichomonas, podrían ofrecer una garantía para aquellos laboratorios que no disponen de posibilidades, para el cultivo, sin embargo, se encontró que tanto el cobayo como el ratón y el hamster, macho ó hembras eliminan la infección rápidamente e impiden utilizar este sistema como método alternativo en diagnóstico. Los datos obtenidos en este trabajo están en contraposición con los encontrados por otros autores y mencionados por Levine (5), según el cual el hamster dorado es el animal de escogencia para la producción de la enfermedad.

RESUMEN

Con el objeto de evaluar los métodos de diagnóstico de la Trichomoniasis; se examinaron 246 lavados prepuciales, encontrando 39 positivos a *Trichomonas foetus*, tanto en el examen directo como el cultivo en tres medios diferentes. En el trabajo se encontró que tanto el cultivo como el examen microscópico directo son igualmente sensibles y específicos, para muestras obtenidas en forma correcta y procesadas antes de tres horas de tomadas.

Se hicieron recuentos en los tres medios de cultivo previa inoculación con cepas de *T. foetus*, libres de gérmenes contaminantes. Los hallazgos permiten recomendar para diagnóstico rutinario el medio Plastridge, seguido por el Conway y el Triplic Soy Broth.

RECOMENDACIONES:

- 1 El diagnóstico de la trichomoniasis, mediante el examen directo debe hacerse en muestras tomadas en períodos no mayores de tres horas.
- 2 El examen de los cultivos de trichomonas no es confiable después de las 48 horas de incubación especialmente si se observa contaminación.
- 3 Los medios Conway, T.S.B. y Plastridge; pueden mantenerse en congelación hasta el momento de la siembra, cuando se les ha agregado previamente suero y antibióticos.
- 4 El diagnóstico de la trichomoniasis por inoculación en animales de laboratorio no es recomendable porque el parásito no sobrevive en ellos.

SUMMARY

"THE EVALUATION OF TECHNIQUES FOR THE DIAGNOSIS OF BOVINE GENITAL TRICHOMONIASIS".

This work was undertaken in order to compare the methods by which trichomoniasis can be diagnosed.

Two hundred forty six preputial washings were examined

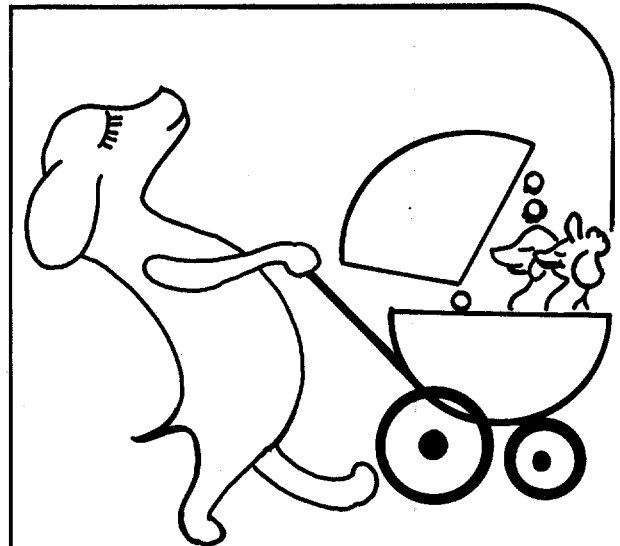
and 39 were found to be positive for *Trichomonas foetus* as well as direct examination. Attempts were made to culture the organism on 3 different media. It was found that culturing was as sensitive as direct examination providing the samples were obtained correctly and processed within 3 hour of being taken.

Counts were made of the number of organisms found in the three different media, previously inoculated with strains of *T. foetus* free of other organisms. the counts showed that Plastridge was the best medium for routine diagnosis, Followed by Conway and Triptic Soy Broth.

REFERENCIAS:

- 1 BROOKE, M.M. Intestinal and urogenital Protozoa. En: American Society for Microbiology. Manual of clinical Microbiology. Lennette E.,H.; Spaulding E., H.; Truant J.,P. 2ed. Washington D.C. s.s 1974 p. 582 - 601.
- 2 CORDERO, A. Trichomoniasis en Rodeos de Crfa. Gaceta Veterinaria. (Argentina). V.5 mo.299. p.238 - 250. 1975.
- 3 DIFCO. Supplementary Literature. Difco Laboratories 7ed Detroit (U.S.A.) s.s. 1972 p.201-202.
- 4 FEINBERG, G.G.; WHILINGTON M.,J. A culture for *Trichomonas vaginalis* Donne and species of Canada. Journal of Clinical Pathology. (U.S.A.) v.2 No. 3 p. 327-329. 1957.
- 5 LEVINE, D., N. Protozoan Parasites of Domestic Animals and of Man, 2ed (U.S.A.) Burges Publishing Company. 1967. p. 82-89.
- 6 NORMAN, L.; BROOKE, M.M. The use of Penicillin and Streptomycin in the Routine Cultivation of Amebas from Specimens. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. (U.S.A.) v. 4 No.3 p.472. 1955
- 7 OSTROWSKI, J.E.B. Obtención de Muestras prepuciales para el Diagnóstico de *Trichomonas foetus* por Raspado de Mucosa. Revista Medicina Veterinaria. (Argentina). v.55. No.6 p.525-527. 1974
- 8 PERL G. Errors in the Diagnosis of *Trichomonas vaginalis* Infection. Obstetrics and Gynecology. (U.S.A.). v.55.No.1. p.79. 1972.
- 9 RODRIGUEZ, M. GONZALEZ, G.G.; MARIÑO, O.C. Manual de Técnicas en Microbiología. Instituto Colombiano Agropecuario. Bogotá, Colombia. s.e. 1978. 505 p.
- 10 SIGMUND, O.H.; EATON, L.G. Manual de Veterinaria. Merk. 3ed. Rahway, EUA. s.e. 1970 333 p.
- 11 WOSU, L.O. Improved Cultural Methods for *Trichomonas foetus*. Veterinary Microbiology. (England). v.2. No. 1 p. 89-93. 1977.
- 12 ZEMJANIS, R. Reproducción Animal y Notas Terapéuticas. 6ed. Mexico. Ed. Lemusa. 1973. p.98.

- * Contribución del Programa de Enfermedades Infecciosas y Epidemología Instituto Colombiano Agropecuario.
- ** Respectivamente: Médico Veterinario M.S., Bacterióloga Médico Veterinario M.S. Laboratorio de Investigaciones Médicas Veterinarias. Apartado Aéreo 29743, Bogotá, D.E.- Colombia; y Médicos Veterinarios Asistencia Técnica particular.



CLINICA VETERINARIA DOVER

DR. EFRAIN V. BENAVIDES E.

25 años de Medicina Veterinaria de los pequeños animales.

Más de 50 profesionales que se han formado en nuestras prácticas clínicas