

IDENTIFICACIÓN DE TETRATRICHOMONAD SP. EN ESMEGMA PREPUCIAL DE TOROS VÍRGENES

E. R. Cobo¹, M. Benchimol², D. Cano³, C. Rodríguez Dubra⁴, C. M. Campero³. 2011. Unidad Integrada Balcarce INTA EEA GSA.

1.-CONICET.

2.-Universidade Santa Úrsula, Botafogo, R.J., Brasil.

3.-INTA Balcarce, Argentina.

4.-Laboratorio Azzarini, Lincoln.

www.produccion-animal.com.ar

Volver a: [Enfermedades y problemas reproductivos](#)

INTRODUCCIÓN

Diversas Trichomonads y otros flagelados relacionados que habitan normalmente el tracto digestivo de los bovinos, pueden ocasionalmente parasitar la cavidad prepucial de toros (1). La importancia de su caracterización radica en la necesidad de dilucidar los diagnósticos falsos positivos que se generan debido a la similitud morfológica de dichos protozoos con *T. foetus* y la falta de técnicas accesibles para su diferenciación. El objetivo del presente trabajo es comunicar el hallazgo y caracterización de un protozoo flagelado no específico de la cavidad prepucial de toros vírgenes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se recolectaron muestras prepuciales de 6 toros vírgenes de 18 meses de edad de raza Aberdeen Angus de un rodeo de la provincia de Buenos Aires. Las muestras fueron recolectadas con pipeta de IA de Cassou y mantenidas de 4 a 6 horas en solución fisiológica tamponada y luego transferidas al medio de Shuterland modificado (5). Los cultivos positivos fueron enviados al INTA Balcarce para su ulterior caracterización. Los aislamientos iniciales fueron cultivados en aerobiosis a 37°C en caldo infusión hígado, Diamond, Plastridge y Schneiders (S) (5). Se realizaron tinciones de los cultivos con Diff Quick (1), Giemsa y azul de metileno (5).

Luego, a partir de los cultivos positivos, se identificó secuencias específicas de ADN, mediante PCR (polymersasa chain reation), utilizando dos pares de primers que codifican genes 5.8S ARN ribosomal (1). Un par de ellos (TF1 y TF2) amplifica material genómico de protozoos del género Trichomonad y el otro par de primers (TF3 y TF4) amplifica una secuencia específica para *T. foetus*. Por otra parte, se realizaron estudios de ultraestructura de dos de las cepas aisladas mediante microscopía electrónica de transmisión y microscopía electrónica de barrido.

RESULTADOS

Cultivo: Los cultivos iniciales se caracterizaron por presentar una severa contaminación bacteriana, resistente a los antibióticos convencionales, lo cual no interfería con el crecimiento del protozoo. Las Trichomonads tuvieron un crecimiento de bueno a muy bueno en el medio S, con una máxima concentración 24 a 48 horas post inoculación, luego del cual se los mantenía más de 6 días a 20°C. Contrariamente, en el resto de los medios de cultivo las células no crecieron o tuvieron escaso desarrollo no mayor de 48 horas.

Tinciones: Los protozoos evidenciaron una forma ovoide/piriforme, de tamaño igual o levemente menor a *T. foetus*, con presencia de 3-4 flagelos anteriores, un flagelo posterior con su terminación libre prolongada y una notoria membrana ondulante. En la mayoría de los casos, resultó difícil la diferenciación con *T. foetus*.

PCR: Las 6 cepas presentaron material genómico amplificado con los primers TF1 y TF2, pero no con los primers TF3 y TF4.

Microscopía electrónica de barrido: Las células presentaron 4 flagelos anteriores y uno posterior, aunque se observaron unas pocas células con solo 3 flagelos anteriores. Algunas veces, dos de los flagelos anteriores presentaban un tronco inicial en común. Los flagelos anteriores presentaron un largo desigual. Se observó una notoria membrana ondulante extendida a todo lo largo del citoplasma celular, con 3 a 5 ondas que terminaba en la parte libre del flagelo posterior. Se observó una corta y gruesa proyección del axostilo en su polo posterior. Fue un hallazgo común la presencia de bacterias adheridas a la membrana externa del protozoo.

Microscopía electrónica de transmisión: Se observó la presencia de un núcleo, numerosos hidrogenosomas, gránulos de glucógeno y lisozomas, producto de una intensiva fagocitosis bacteriana.

Basado en las características mencionadas se considero que los organismos correspondían a *Tetratrichomonad sp* (2, 4).

DISCUSIÓN

La identificación y caracterización de *Tetratrichomonad* sp. en la cavidad prepucial de toros jóvenes confirma anteriores informes que mencionan la presencia de protozoos no específicos, de probable origen intestinal, como causa de diagnóstico falso positivo de tricomoniasis bovina (1).

La presencia de dichos organismos entéricos en la cavidad prepucial se debería a un comportamiento homosexual común en toros jóvenes criados en grupos o bien por contaminación fecal del pene y prepucio. Si bien se requieren estudios de biología molecular para la identificación de la especie del protozoo involucrado podemos presuponer que se trataría de *Tetratrichomonas buttrei* (2, 4).

Dicho protozoo habita en forma normal, aunque no muy frecuente, en rumen y ciego de bovinos sanos y se lo ha asociado a cuadros de diarrea (2). La presente *T. buttrei* es morfológicamente idéntica a su homónima aislada del intestino delgado y ciego de cerdos; y se trataría de una misma especie adaptada a diferentes huéspedes, como bovino y cerdo (4). Contrariamente, no consideramos que se trate de *Tetratrichomonas pavlovi*, descrita en el tracto digestivo de terneros con diarrea, ya que una de sus características es la igualdad en el largo de los flagelos anteriores. Por otra parte, *Pentatrichomonas* sp son aisladas en un 90% de muestras de rumen y ciego de bovinos normales y se caracterizan por un número variable de flagelos anteriores, donde hasta un 40% de su población puede contar con 4 flagelos anteriores de diferente largo. Sin embargo, el hecho de no visualizar células con 5 flagelos desestima la hipótesis de que los presentes aislamientos resulten ser *Pentatrichomonas* sp.

La presencia de abundante contaminación bacteriana que cohabita con el protozoo, sumado a la identificación de numerosas vacuolas lisozólicas sugieren una probable simbiosis parásito-bacteria, como se ha comprobado entre *Tetratrichomonas* sp. y *Escherichia coli* en el tracto digestivo de patos (3).

Si bien se deben realizar mayores trabajos a los fines de una ulterior caracterización, la identificación de *Tetratrichomonads* sp. en secreciones prepuciales de toros jóvenes es el primer reporte a nivel nacional. La similitud morfológica entre estos organismos y *T. foetus* pone de manifiesto la necesidad de realizar el diagnóstico diferencial utilizando técnicas como tinciones, medios específicos y PCR para su confirmación.

Volver a: [Enfermedades y problemas reproductivos](#)