

PREVALENCIA DE TRICHOMONIASIS BOVINA EN LA ISLA DE GUARA, MUNICIPIO URACOA DEL ESTADO MONAGAS, VENEZUELA.

Bovine Trichomoniasis Prevalence in the Guara Island, Uracoa Town, in the Monagas State, Venezuela

Brígido Cabello, Ely Gómez, José León y Carlos Ramos

*Departamento Biología y Sanidad Animal. Escuela de Zootecnia, Núcleo de Monagas, Universidad de Oriente, Apartado 6201. Maturín, Edo. Monagas, Venezuela.
e-mail: elygomez@monagas.udo.edu.ve / elygomezp@latinmail.com*

RESUMEN

Con la finalidad de evaluar la prevalencia de trichomoniasis bovina en la Isla de Guara, municipio Uracoa, estado Monagas, Venezuela, se realizó una evaluación diagnóstica dirigida a toros reproductores de diferentes razas y edades. Se tomaron muestras prepuciales a un número de 68 toros procedentes de 52 fincas escogidas al azar, en un período de seis (6) semanas para lo cual se utilizó el método de la ducha o lavado prepucial, con la debida asepsia recomendada. Dichas muestras fueron colocadas en frascos de vidrio ámbar y refrigeradas para ser trasladadas al laboratorio donde se procesaron y se cultivaron en tubos de ensayo de 15 cc., en un medio de cultivo específico y selectivo para *Trichomonas foetus*, denominado Diamond. Con la finalidad de obtener un cultivo puro de trichomona se hicieron repiques en tubos en "U" cada 72 horas por 3 semanas (15 días). La técnica de coloración utilizada fue Giemsa a una dilución 1:20. Los resultados no revelaron reproductores positivos a la prueba de trichomoniasis bovina. Sin embargo, se pudieron identificar ciertos géneros de bacterias *Corynebacterium* sp y *Enterobacter* sp. los cuales se encontraron alojados en el prepucio de los animales al momento de tomar la muestra.

Palabras clave: Trichomoniasis bovina, enfermedad venérea bovina, infección protozoaria bovina, enfermedades de transmisión sexual.

ABSTRACT

A diagnostic was performed in sexual nature bulls of different breeds and age, to evaluate the incidence of Bovine Trichomoniasis in the island of Guara, Uracoa Town, Monagas State, Venezuela. Sixty eight bulls from 52 farms were used for collecting prepucial samples in a six week period. The method of the prepucial douche, was used under hygienic condition. All the samples were placed in amber glass bottles, refrigerated until laboratory processing and then, they were cultivated in 15cc test tubes, in a specific and selective Diamond medium for *Trichomonas foetus*. In order to obtain a pure culture of trichomonas, the samples were replicated to others test tubes (IU) every three days during fifteen days. Giemsa Stain in a

dilution of 1:20 was used for staining purposes. Tests results showed that none of the bulls were positive to *Trichomonas foetus* protozoal. However we could identify *Corynebacterium* sp y *Enterobacter* sp.

Key words: Bovine trichomoniasis, bovine venereal disease, bovine protozoal infection, venereal disease.

INTRODUCCION

En Venezuela al igual que el resto del mundo se hace necesario aumentar la producción de carne y leche, para alimentar a una población humana en constante crecimiento, en tal sentido los especialistas en la materia se han trazado como meta mejorar la eficiencia reproductiva y el rendimiento del ganado, para poder hacer frente a la demanda de proteína de origen animal. Mejorar la eficiencia reproductiva, constituye un reto para el éxito económico de nuestra ganadería. Aún cuando la mayor parte de la ganadería en Venezuela puede parcialmente obtener 70 a 80% de partos anuales, la cifra real promedio se encuentra alrededor de un 50%. Esta diferencia entre el potencial y la realidad tiene su fundamento en la baja productividad de la ganadería venezolana e igualmente de la América Latina tropical.

Alteraciones de orden fisiológico, endocrino y nutricional afectan la capacidad reproductiva del ganado, ocasionando problemas tales como: anestro, aborto, piómetras, repetición de celos, muertes embrionarias y retenciones placentarias entre otras. Estos síntomas se encuentran ligados a una serie de enfermedades del tracto reproductivo que constituyen una causa predisponente de infertilidad y esterilidad del rebaño.

Al mencionar enfermedades del tracto reproductivo como la Brucelosis, Leptospirosis, Campilobacteriosis, Vibriosis y Trichomoniasis, se destaca la importancia de desarrollar programas para controlar y erradicar dichas enfermedades, que por su naturaleza y características inciden negativamente en la producción de las nuevas crías.

Estas razones motivaron la realización del presente trabajo con la finalidad de aislar e identificar el agente etiológico *Trichomonas foetus*, del tracto reproductivo de toros de diferentes razas y edades, teniendo como objetivos específicos:

- Identificar la prevalencia poblacional de trichomoniasis en toros positivos y negativos ubicados en las diferentes fincas de la Isla de Guara, utilizando como método de diagnóstico la ducha o lavado prepuccial.
- Evaluar las posibles asociaciones de las condiciones de manejo con la presencia de enfermedad en animales de diferentes razas y edades localizados en la Isla de Guara.
- Evaluar la asociación de problemas reproductivos con la presencia de la enfermedad.
- Informar a los productores acerca de la situación general de la Trichomoniasis bovina en la zona y concientizarlos sobre la importancia de los controles sanitarios.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se realizó en la localidad de la Isla de Guara perteneciente al municipio Urao, del estado Monagas Venezuela, la cual presenta una superficie de 23.474,63 ha. Su posición geográfica está comprendida entre las latitudes Norte 8° 55' y 62° 14'. Forma parte del Delta del Orinoco limitando al Este y al Norte por el Caño Mánamo y al Sur y al Este por el Caño Guara.

El clima de la zona se puede clasificar entre Tropical de Sabana (AW) y tropical lluvioso (AF).

La temperatura promedio anual es aproximadamente de 27°C, con una temperatura media máxima de 32.5°C y media mínima de 21,9°C. La precipitación es de 1.265 mm.

Toda la Isla de Guara está situada por debajo de los 6 msnm. En ella se pueden reconocer tres posiciones geomorfológicas:

- Brazos Deltaicos; con alturas no mayores de 1,5 metros.
- Mapas de desbordamiento; con alturas no mayores de 1 metro.
- Cubetas de Decantación; con alturas no mayores de 0,5 metros.

Los suelos se clasifican en ocho series, seis fases, un complejo y tres tipos misceláneos.

La topografía presenta una posición medianamente alta, pendientes, Clase A, 0,5 a 1%, relieve plano irregular con montículos.

La elevación de los bordes de los caños dejó zonas más bajas, más o menos interceptadas por las terrazas antiguas en la parte sur y claramente dividida en dos por los diques del caño guacina.

La humedad relativa por la gran masa de agua que se encuentra en el Delta, su cercanía al mar hace suponer que la humedad relativa máxima debe estar muy cerca de 100 % en los meses de mayor precipitación y alrededor de 90 % en febrero, marzo, abril, septiembre y octubre; con respecto a la mínima se estima de 70 y 80 % o sea que en la Isla hay condiciones especiales de alta humedad.

Los vientos dominantes son los asilos de N.E y del S.E, del encuentro de ambos resulta una dirección Este -Oeste.

La vegetación corresponde a la formación de bosque seco. Dominado las gramíneas tales como: Chiguirera (*Paspalum*

fasciculatum), Cabezona (*Paspalum virgatum*), Paja amarga (*Panicum laxum*) y Paja de agua (*Hymenachna amplexicaulis*) [9].

El trabajo comprendió dos fases, la primera consistió en desarrollar un breve diagnóstico de la zona de estudio, mediante información suministrada por la Corporación Venezolana de Guayana (C.V.G.) a través del Departamento de Coordinación Agropecuaria de la región y mediante una encuesta de tipo directo y personal (Anexo) a los productores, esto permitió definir:

- Fincas potenciales a muestrear.
- Población total de toros utilizados como reproductores
- Problemas reproductivos como abortos piómetra, repetición de celos, anestro y otros.
- Tamaño de la muestra.
- Manejo de reproductores.

Se procedió a localizar las diferentes fincas ubicadas en la Isla de Guara, por medio de la CVG, a través del Departamento de Coordinación Agropecuaria, donde se detectaron 160 fincas tanto pecuarias como agropecuarias. Para la escogencia de dichas fincas y el total de toros a considerar en el ensayo, se utilizó el método de Muestreo Aleatorio Simple. El cual fue aplicado al azar y sin reposición.

Para determinar la muestra se aplicaron las siguientes fórmulas:

Donde,

N = Número de fincas a determinar

No = Número de fincas calculadas de acuerdo a la posibilidad de confianza deseada.

Ni = Número total de fincas detectadas.

$$N = \frac{T^2 \times P \times Q}{d^2}$$

T = T de Student

d = Margen de error

P = Probabilidad de Ocurrencia del suceso

Q = Probabilidad de No ocurrencia del suceso

El nivel de confianza (Z) deseado en términos porcentuales es:

%	50	80	90	95	99
T	0,67	1,28	1,64	1,96	2,58

El nivel de confianza a utilizar fue de 95%

Sustituyendo los valores en la fórmula, queda

$$N_0 = \frac{(1,96)^2 * (0,95) * (0,05)}{(0,05)^2}$$

$$N_0 = 73$$

Por lo tanto:

$$N = \frac{73}{1 + \frac{73}{160}}$$

$$N = \frac{No}{1 + No / Ni}$$

Una vez aplicada la fórmula se determinó que la muestra era de 52 fincas para un total de 68 toros con edades comprendidas entre 3 a 7 años los cuales estaban distribuidos proporcionalmente en cada una de las fincas de la siguiente manera:

- 40 Fincas con 1 toro reproductor c/u.
- 8 Fincas con 2 toros reproductores c/u.
- 4 Fincas con 3 toros reproductores c/u.

Parte de la información requerida se obtuvo de manera, directa, mediante la aplicación de una encuesta personal.

La encuesta fue dividida en 6 secciones.

1. Datos generales de la finca: Nombre del productor, nombre de la finca, ubicación, superficie, tipos de pastos.
2. Finalidad de la finca: carne, leche o doble propósito.
3. Infraestructura de la finca: Manga, cerca, pozos, galpones, sala de ordeño.
4. Manejo: Identificación, registros, tipo de monta.
5. Población Animal: Razas, número de toros, vacas, novillas.
6. Manejo Sanitario: Vacunaciones, desparasitaciones, manejo de toros, trastornos reproductivos.

El ensayo tuvo una duración de 45 días (6 semanas) desde el 25 de julio de 1997 hasta el 10 de septiembre de 1997, siguiendo los pasos descritos en las técnicas de diagnóstico para la trichomoniasis en toros utilizados por Márquez y Ruíz [6, 7], como se indica a continuación:

1. Recolección de la muestra.
2. Procesamiento de las muestras.
3. Examen directo al microscopio.
4. Aislamiento en medios de cultivo específico y selectivo (Diamond).
5. Conservación y purificación de medios de cultivos.
6. Técnicas de coloración.

1. Recolección de Muestras: Se utilizó la técnica de la ducha o lavado prepucial, debido a la ventaja que presenta:

- A. Existe mayor seguridad al examen.
- B. Sencillez en su realización práctica
- C. Económicas; ya que el material utilizado para su realización es sencillo:
 - Sonda de goma de 1,5 mts de largo y 0,5 cm de diámetro.
 - Embudo pequeño de goma.
 - Frasco de vidrio de 50 cc.
 - Solución salina (cloruro de sodio químicamente puro en concentración de 0,7 o 0,8 %).

El pH de la solución salina fue de 7.2, la corrección de la misma se hizo con hidróxido de sodio (NaOH) 1N. Previamente a la toma de la muestra eran cortados los pelos prepuciales, se realizaba el lavado de la zona con la solución salina luego era secada con

toallas de papel desechables.

En cuanto a la técnica de recolección, consistió en introducir en la cavidad de la vaina prepucial unos 30 cc de solución salina o Buffer, mediante la utilización de una sonda de goma y un embudo. Una vez realizada esta operación, fue cerrado el orificio prepucial por presión manual masajeándose por 5 minutos, de tal manera que la solución penetrara y arrastrara la mayor cantidad de microorganismos tanto del pene como de las criptas de la mucosa prepucial.

Luego la muestra era recogida utilizando la misma sonda de goma y un frasco de vidrio (ambar) debidamente limpio o identificado. Es recomendable recoger la muestra en la forma más limpia posible y libre de orina, para esto último se procedió a masajear estimulando en el orificio prepucial antes de tomar la muestra, para provocar la micción del animal antes de que se nos contaminara la muestra.

2. Procesamiento de la Muestra La muestra recolectada en el frasco de vidrio era introducida en una cava con hielo para su refrigeración y mantenimiento, evitando la exposición a la luz y a la brevedad posible, llevarla al laboratorio ubicado en la estación experimental de la CVG en la Isla de Guara para el debido análisis. Una vez en el laboratorio la muestra era colocada por medio de una gasa (esterilizada) y depositada en Beaker. Se tomaba una gota de la muestra con una pipeta Pasteur (10cc) y se colocaba en un porta objeto. Posteriormente el porta objeto fue pasado varias veces por el mechero para su secado.

El procedimiento antes expuesto se hizo con la finalidad de que estas muestras fueran analizadas en el laboratorio de microbiología de la Universidad de Oriente ubicada en los guaritos, Maturín, para el diagnóstico Bacteriológico respectivo. Luego las muestras se colocaban en los tubos de centrifugado de 10cc y se centrifugaba en una centrífuga pequeña (Internacional Clinical Centrifuge FC) a 2000 rpm. durante 10 minutos. Se descartaba el sobrenadante de cada muestra y se realizaba el examen del sedimento.

3. Observación directa al microscopio Del sedimento anterior y utilizando una pipeta Pasteur, se colocaba una gota en un porta objeto debidamente limpio y libre de grasa y se hacía la observación directa al microscopio del material. La observación se realizaba con objetivo de 10 aumentos lo cual requiere de un conocimiento claro de Trichomonas foetus para no confundirla con otros protozoarios banales que se aloja en el prepucio, que actúan con agentes contaminantes de la muestra y que pueden llegar a confundir el diagnóstico.

4. Aislamiento en medios de cultivos Es importante señalar, que por lo general el grado de infección de los toros es bajo, esto dificulta la observación directa al microscopio, razón esta que a los medios de cultivos como el método más seguro y eficaz para emitir un diagnóstico concluyente y definitivo al respecto.

En cuanto al medio de cultivo que fue utilizado en el ensayo y el de mayor uso es conocido como Diamond, cuya composición es la siguiente:

INGREDIENTES	CANTIDAD (G)
Peptona triptícasea	2,0
Extracto de levadura	1,0
Maltosa	0,5
Hidroclouro de L. Cisteína	0,5
Ácido ascórbico	0,02
Agua destilada C.S.P	90 ml.
Monofosfato dipotásico	0,08
Difosfato potásico	0,08

El medio se ajustó a pH 7,2. Se le agregó 0,05 g. de autoclave durante 10 minutos a 121°C. Luego se enfrió a 49 °C y se le agregó asépticamente 10 ml. de suero bovino inactivando 100.000 UI de penicilina G y 0,1 g. de sulfato de estreptomycin, luego se repartió 10 ml. por cada tubo de ensayo estéril. Para evitar contaminación del medio fue necesario realizar el chequeo de esterilidad, incubando el medio preparado a 37 °C durante 24 horas, antes de la siembra.

Los tubos de ensayos que contenían al medio de cultivo fueron puestos en gradillas para tubos de ensayos y guardados en refrigeración a 15 °C y se retiraron del refrigerador a medida que fueron inoculados con la muestra tomada en el campo, finalmente se hizo el examen al microscopio tomando una gota de la muestra, del fondo de los tubos a revisar.

5. Conservación y purificación de cultivos en el laboratorio

Para conservar los medios de cultivos se hace necesario eliminar la contaminación bacteriana de los mismos, de tal manera que para obtener cultivos puros de *Trichomonas foetus* se recurrió a la técnica de tubos en "U", los cuales eran inoculados cada 3 días de los tubos de ensayos contentivos del medio ya inoculado y se volvieron a incubar a 37 °C por un tiempo de 24 horas. Después de este tiempo se observó al microscopio.

6. Técnica de coloración

La técnica de coloración de Giemsa mediante las modificaciones en la dilución del colorante y en el tiempo de coloración, permitió colorear el frotis en forma satisfactoria. La técnica se puede resumir así:

- Se realizó un extendido de la muestra tanto de los tubos de ensayo como de los tubos en "U", la extensión colocando en una lámina limpia y libre de grasa una gota del medio de cultivo y una gota de fijador (alcohol de 70°).
- La solución de coloración se preparó diluyendo 1 cc de colorante en 20 cc de agua destilada.
- Seguidamente se cubrió el extendido previamente fijado y se dejó actuar el colorante durante 15 minutos.
- Luego de transcurrido este tiempo, se lavó con agua destilada y se dejó secar al aire y posteriormente se observó al microscopio con el objetivo de inmersión.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Un total de 68 toros fueron examinados en la búsqueda del *Trichomonas foetus*, para el diagnóstico de trichomoniasis bovina, arrojando los siguientes resultados: Del total de toros muestreados (68), los cuales pertenecían a diferentes razas tanto de aptitud cárnica como lechera el 100% arrojaron resultados negativos al diagnóstico de Trichomoniasis Bovina. Esto pudo deberse a que muchos productores compran sus animales en centros de cría o en fincas reconocidas por sus controles sanitarios, uso de la inseminación artificial acompañada con la monta natural, posiblemente, como también a que el protozoario no se encuentre en la zona de estudio.

Las muestras prepuciales fueron obtenidas mediante la técnica de la ducha, dando un 100% de confiabilidad en la recolección del material. Estos resultados son comparables a los señalados por Márquez y Ruíz [6, 7], quienes indicaron la eficacia de esta técnica, la cual quedó comprobada en sus trabajos.

Con este trabajo queda demostrado que la conservación de la muestra, mediante una buena recolección, refrigeración y sin exposición a luz, mantiene el medio de cultivo libre de bacterias y mohos, el crecimiento bacteriano no fue mayor de un 4%, tanto en los tubos de ensayos como en los tubos en "U".

De acuerdo al tipo de Bacterias encontradas en el 4% de las muestras, se identificaron ciertos Bacilus tales como: *Corynebacterium sp.* y *Enterobacter sp.* los cuales pudieron estar presentes en el prepucio al momento de la toma de la muestra y de esta forma contaminar el medio.

El medio de cultivo inoculado en tubos "U" y tubos de ensayo mantenidos en estufa a 37 °C fueron conservados por un lapso de 15 días, lo que representa un 99% de probabilidad de desarrollo de la *Trichomonas foetus*, en caso de que estuvieran presentes en 1a muestra recolectada.

Se pudo constatar una eficacia diagnóstica similar entre el examen directo y el aislamiento en el medio de cultivo Diamond, por cuando no se observó *Trichomona sp.* en ambos métodos.

En cuanto al método de recolección de las muestras (método de la ducha), a medida que se fue realizando en toros de diferentes razas existentes en la zona, se pudo comprobar que existían diferencias entre la recolección de una y otra raza, debido a la condición del prepucio que se presentaba en cada una de ellas; Gyr, Pardo Suizo y Carora presentaron mayor dificultad con respecto a la raza Brahman, Nelore, Holstein, Simental, Charolais, Redpoll, Guzerat y sus mestizos.

Tomando en cuenta la edad de los toros muestreados, tanto los toros jóvenes como adultos, resultaron negativos a la prueba de Trichomoniasis bovina, se hace esta comparación de acuerdo a lo citado por Vargas y Contreras [10, 2]. Dichos autores señalan que los toros adultos son más susceptibles a contraer la enfermedad, por tener criptas prepuciales más desarrolladas que los toros jóvenes.

A través de las encuestas efectuadas a los productores un 29,4% de las fincas presentaron indicadores de trastornos reproductivos los cuales pueden ser debido a problemas nutricionales, mal manejo u otras enfermedades del tracto reproductivo como Brucelosis, Vibriosis o Leptospirosis.

CONCLUSIONES

En este estudio no se encontraron animales positivos a Trichomoniasis Bovina.

Las razas no presentaron diferencias en cuanto al diagnóstico de Trichomoniasis, debido a que todas las pruebas arrojaron resultados negativos.

Para efecto de la toma de muestra (método de la ducha), los toros de las razas Gyr, Pardo Suizo y Carora presentaron cierta dificultad con respecto a las razas Brahman, Nelore; Redpoll; Simental, Charolais, Holstein y sus mestizos por la condición del prepucio (largo, corto, orificio reducido).

En cuanto al procesamiento de la muestra, la presencia de bacterias fueron escasas y cuando aparecieron lo hicieron en forma tardía.

Tanto el método de observación directa al microscopio como el aislamiento en medio de cultivo (Diamond), arrojaron resultados negativos a la prueba de Trichomoniasis Bovina.

La prueba de Trichomoniasis Bovina debe estar orientada principalmente a los toros, por ser los responsables de diseminar la enfermedad en los rebaños.

Los productores de la zona no poseen un manejo adecuado de sus explotaciones, entre los problemas principales se pueden mencionar la alta relación vaca toro, plan sanitario deficiente, ausencia de registros y manejo inadecuado de reproductores, lo cual pudiera estar afectando la eficiencia reproductiva de sus rebaños.

La población de toros utilizados como reproductores en toda la isla son pertenecientes a las razas (Bos indicus), debido al alto mestizaje (Bos taurus) de los rebaños existentes en la zona.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] CAMPBELL, J., Bovine Trichomoniasis Laboratory, Saskatchewan Agriculture and Food. Western College of Veterinary Medicine, University of Saskatchewan, Saskatoon. 25 p. 1995.
- [2] CONTRERAS, J.A., Enfermedades de los Bovinos. Diagnóstico, Tratamiento y Control. 1er EDRAPILIT. Barquisimeto. Venezuela. Pp. 603 - 661 pp. 1992.
- [3] HERR, 5. Trichomoniasis in Cattle In: Orad, J., de. Current Veterinary Therapy 3, Food Animal practice. 3rd. Ed. Mexico: WB Saunders. 32 / 608 - 611 pp. 1993.
- [4] KINSEY, PB. Bovine Trichomoniasis Inc: Morrow Da, cd. Current therapy in theriogenology 2. 2nd de. Philadelphia. WB Saunders: 275 - 279 pp. 1986.
- [5] KVASNICKA, W.; HANKS, D.; EBEL, E.; KEARLEY, B. Current Concepts in the Control of Bovine Trichomoniasis in Cow/Calf Production Ma Update. Food Animal Parasitology, the Compenddium April. pp. 105-111 pp. 1996.
- [6] MÁRQUEZ, N. Evaluación de técnicas selectas para el diagnóstico de la Trichomoniasis en toros. Trabajo de Ascenso. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Ciencias Veterinarias. Maracay. Venezuela. 41p. 1972.
- [7] RUIZ, H. Diagnóstico de Trichomoniasis en toros en Venezuela. Trabajo de Ascenso. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Ciencias Veterinarias. Maracay. Venezuela. 36 p. 1973.
- [8] SOWLSBY, E. JL. Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos. 7ma. Ed. Interamericana. México. D.F. pp. 563 -569 pp. 1988.
- [9] TRUJILLO A., J. Proyecto Delta. Estudio detallado semidetallado agroecológico y de clasificación de tierras por capacidad agroecológicas y con fines de riego de la Isla de Guara, distrito Sotillo, Edo. Monagas. CVG.392 p. 1968.
- [10] VARGAS, F. Trichomoniasis. En: I Curso de Actualización sobre Enfermedades Reproductivas del Bovino. Universidad Rómulo Gallegos. Área Medicina Veterinaria. Zaraza. Venezuela. 93- 111 pp. 1997.
- [11] VASQUEZ, D. Enfermedades causadas por Protozoos. Trichomoniasis, Vibriosis. En: Machete. Venezuela. 12:15 pp. 1987.