

Diagnóstico diferencial de Tricomoniasis bovina

Dr. Carlos M. Campero, Luciana Lázaro, Belén Riccio, Dora Cano
Patología Veterinaria
INTA EEA BALCARCE

Tinción para protozoos flagelados

A los fines de dilucidar la morfología de los protozoos que puedan crecer en los medios de cultivo y diferenciar el protozoo de la tricomoniasis bovina, *Tritrichomonas foetus*, de otros protozoos que pueden parasitar la cavidad prepucial de los toros y confundir el diagnóstico, se presenta una metodología tintorial simple para una mejor observación de las estructuras diferenciales. Mediante esta versión de la tinción 15 de Biopur, un microscopio con lente para inmersión y un poco de paciencia del observador, se podrá aclarar el problema.

Materiales:

- Microscopio con 10x, 40x, 100x (inmersión)
- Colorante: Tinción 15 de Lab BiOPUR, Riccheri 195. (2000) Rosari
- Portas y cubres
- Aceite de inmersión
- Alcohol metílico
- Bálsamo para el montaje del cubreobjeto
- Gradilla para coloración
- Cultivo de 24-48 hs con abundantes protozoos por campo**

El kit comercial de Biopur viene con 3 frasco: sol fijadora, sol 1 y sol 2. Nosotros la solución fijadora no la usamos, la sustituimos con Alcohol metílico (sinónimo: Metanol) Biopack o calidad similar.

Procedimiento

- 1) **Frotis:** se hace un extendido del cultivo de 24/48 hs. El frotis se hace extendiendo suavemente una ansada de la microgota del cultivo en un área aproximada de 1-2 cm en un porta limpio y desengrasado.
- 2) Secar el frotis al aire
- 3) **Fijación:** cubrir bien el extendido con metanol y dejar durante **10 minutos** (se puede usar gradilla o jarra de Coplin)
- 4) Cumplida la fijación, se vuelca el exceso de metanol y se deja secar el frotis al aire a temperatura ambiente (TA), SIN LAVAR
- 5) **Tinción:** usar el frasco del kit identificado como solución 1 (color rojizo) durante **10 minutos** sin diluir. Luego se escurre el líquido y SIN LAVAR, se deja secar el slide al aire (TA). Secar con servilleta de papel la parte inferior del porta donde no se realizó el frotis para que el colorante no dificulte la observación microscópica posterior

- 6) Colocar luego el frotis en la solución 2 del kit (color violeta), se deja **10 minutos** y luego SIN LAVAR, se escurre y se deja secar para observar al microscopio
- 7) Se puede luego agregar una gota de bálsamo (evitar burbujas de aire) al frotis y poner un cubreobjeto para observarlo bajo inmersión

Coloración de Giemsa

Hacer frotis de cultivos como se indicó previamente, fijarlo en metanol 10-15 min y sin lavar colocar solución de Giemsa durante 15-30 minutos.

SIEMPRE OBSERVAR CON OBJETIVO DE INMERSIÓN PARA VER ADECUADA MORFOLOGÍA (MEMBRANA ONDULANTE, NUMEROS DE FLAGELOS) ETC.

Figura 1: kit y materiales para la tinción



Figura 2: protozoos de morfología compatibles con *Tetratrichomonas spp*
Notar la presencia de 4 o 5 flagelos anteriores bien notorios

