

## EVOLUCIÓN DE LA PREVALENCIA DE LA TRICOMONOSIS BOVINA EN ESPAÑA Y NUEVAS ALTERNATIVAS PARA SU CONTROL

Collantes-Fernández, E.<sup>1</sup>, Rojo-Montejo, S., Sánchez-Sánchez, R., Navarro-Lozano, V., Moreno-Gonzalo, J., Román-Trufero, A., Osoro, K., Ortega-Mora, L.M.

<sup>1</sup>SALUVET, Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, U.C.M., Ciudad Universitaria s/n, 28040 Madrid. Tel: +34913944095. esthercf@vet.ucm.es

### INTRODUCCIÓN

La tricomonosis bovina (TB) es una enfermedad parasitaria de transmisión sexual que produce fallo reproductivo temprano. La importancia de esta enfermedad en España se ha puesto de manifiesto en la última década, siendo frecuente en los sistemas extensivos donde se utiliza la monta natural, causando importantes pérdidas económicas. En este sentido, en un estudio reciente realizado en ganaderías de la raza Asturiana de la Montaña, se ha estimado que los rebaños infectados presentaron un alargamiento del intervalo entre partos de 80 días y disminución del 17,2% en el número de terneros/año, suponiendo un 68,8% menos de ingresos anuales (Collantes-Fernández et al., 2014).

A nivel nacional, las medidas de control de esta enfermedad se basan únicamente en el diagnóstico y sacrificio de toros infectados. Sin embargo, su eficacia es variable debido a la presencia de una serie de factores de riesgo, como el uso de pastos comunales (Collantes-Fernández et al., 2014). Ante esta situación, la vacunación de las hembras podría ser una medida de control beneficiosa (Villarroel et al., 2004), pero en Europa no existe ninguna vacuna comercial disponible.

En el presente trabajo se analiza la evolución de la prevalencia de TB en el ganado vacuno de carne mantenido en condiciones extensivas en España entre los años 2008 y 2014. Así mismo, se presentan los avances realizados en el estudio de la seguridad y eficacia de diferentes formulaciones vacunales para el control de esta enfermedad en nuestro país.

### MATERIAL Y MÉTODOS

#### *Presencia y distribución espacio-temporal de TB en España*

Se analizaron los resultados obtenidos de las muestras enviadas al laboratorio SALUVET para el diagnóstico de la TB. Estas muestras fueron enviadas entre los años 2008 y 2014 y procedían de sementales de granjas con fallo reproductivo temprano o como parte del programa sanitario para el control de enfermedades venéreas.

La detección de *Tritrichomonas foetus* se realizó a partir de muestras de esmegma preputial recogidas mediante el raspado de la mucosa del pene y prepucio utilizando un raspador de cabezal plástico. Las técnicas utilizadas fueron el aislamiento del agente en medio de cultivo y la detección de sus ácidos nucleicos mediante técnicas de PCR (Mendoza-Ibarra et al., 2012).

#### *Desarrollo de una vacuna inactivada para el control de la TB*

Como aproximación para desarrollar vacunas frente a la TB, en este estudio se utilizaron diferentes formulaciones basadas en extractos proteicos del parásito enriquecidos en proteínas de membrana, con la finalidad de inducir una respuesta inmunitaria frente a este tipo de antígenos que pudiera evitar la adhesión de *T. foetus* al epitelio vaginal.

El diseño experimental se describe en la Tabla 1. Se evaluaron 2 vías de inoculación (subcutánea e intranasal) y 2 tipos de antígeno (A y B), combinados con una saponina como adyuvante. Uno de los grupos, se inmunizó utilizando una vacuna comercial (Trich Guard®, Boehringer Ingelheim). Se utilizaron 35 novillas vírgenes de la raza Holstein distribuidas al azar en los diferentes grupos, que fueron inmunizadas con dos dosis separadas 21 días. A los 21 días después de la última inmunización, las novillas fueron desafiadas por vía intravaginal con trofozoítos de *T. foetus* de un aislado heterólogo. De forma periódica hasta el día 112 post-desafío (p.d.) se recogió sangre y moco cérvico-vaginal (MCV).

La seguridad de dichas formulaciones se determinó mediante la observación diaria de los animales analizando el desarrollo de reacciones locales y sistémicas. La eficacia se determinó: i) analizando la duración de la infección mediante cultivo del parásito a partir del MCV y ii) evaluando los niveles de anticuerpos sistémicos (IgG) y genitales (IgA) por la técnica de ELISA.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### *Presencia y distribución espacio-temporal de TB en España*

La demanda del diagnóstico de la TB experimentó un importante crecimiento, de manera que entre los años 2008-2010 se analizaron 117 muestras de toros, entre 2011-2013 se analizaron 848 muestras de toro, y sólo en 2014 se recibieron 1110 muestras de sementales. Por ello, la evolución de la prevalencia de la TB se realizó comparando las prevalencias individuales en estos tres periodos de tiempo (años 2008-2010, años 2011-2013 y año 2014).

Los resultados de diagnóstico indican un descenso significativo de la prevalencia individual a lo largo de todo el periodo de estudio ( $P < 0,0001$ ;  $\chi^2$ ). Así, en el periodo 2008-2010 se detectó la presencia de la TB en el 30,8% (36/117) de los toros analizados. En el periodo 2011-2013, la prevalencia descendió hasta el 15,7% (133/848), y en 2014 se detectó un 11,6% (129/1110) de toros infectados. La presencia de TB en las zonas de montaña fue significativamente superior que en zonas de dehesa del oeste peninsular, detectándose prevalencias del 19,5% (71/363) y del 12,8% (62/485), respectivamente ( $P < 0,001$ ;  $\chi^2$ ).

El incremento del número de muestras a analizar, desde 2008 hasta la actualidad, indica que cada vez más ganaderías de vaca nodriza están implementando el diagnóstico de las enfermedades venéreas en sus programas sanitarios. Probablemente, el descenso en la prevalencia observado está en relación con una mayor concienciación por parte de veterinarios y ganaderos sobre la importancia del diagnóstico y eliminación de toros infectados en los rebaños, como única medida existente para el control de la TB en nuestro país. Sin embargo, la prevalencia sigue siendo elevada. El hecho de que el diagnóstico y control de la TB no es obligatorio en España, y que en muchas ganaderías están presentes diversos factores de riesgo, como el uso de pastos comunales, toros compartidos o el comercio de animales de estados sanitario desconocido lleva a pensar que las medidas disponibles no resultan eficaces al 100%. Por ello, el desarrollo y utilización de la vacunación se plantea como una alternativa viable para el control de la enfermedad.

### *Desarrollo de una vacuna inactivada para el control de la TB*

Los resultados de seguridad y eficacia de las formulaciones y vías de administración probadas en este estudio se presentan a continuación.

En relación a la seguridad, no se observaron reacciones sistémicas y, aunque se produjeron reacciones locales en el punto de la inoculación, éstas se resolvieron favorablemente.

Con respecto a la eficacia, el tiempo medio de infección en los grupos vacunados varió entre 33 y 46 días, mientras que las novillas no vacunadas y desafiadas permanecieron infectadas hasta el día 64 (Figura 1;  $P > 0,05$ , Log-rank). Los mejores resultados se observaron con la formulación B (grupo 3) ya que todos los animales eliminaron la infección antes del día 42.

La protección observada en los grupos vacunados (G1-G4) con respecto al control (G5) estuvo asociada a unos niveles elevados de IgG en suero y de IgA en moco cérvico-vaginal ( $P < 0,0001$ ; ANOVA-Bonferroni).

La formulación B (G3) se presenta como el mejor candidato para el desarrollo de una vacuna frente a la TB. El empleo de una formulación que reduzca el tiempo de infección en las hembras vacunadas antes de que sea un riesgo para el embrión/feto (50-70 días de gestación), podría disminuir las pérdidas económicas asociadas a esta enfermedad (BonDurant et al., 2005; Cobo et al., 2002).

Dada la elevada prevalencia de TB en España y ante la dificultad para controlar la enfermedad en poblaciones expuestas a factores de riesgo, la vacunación podría ser un método viable y eficaz para el control de enfermedad en nuestro país. No obstante, se requiere la realización de pruebas de campo que permitirían evaluar la protección frente a los problemas reproductivos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bonduranth, RH. 2005. Vet Clin N Am Food Anim Pract. 21:383-408.
- Cobo, ER. et al. 2002. Rev. Med. Vet. 83: 203-208.
- Collantes-Fernandez, E. et al. 2014. Vet. J., 200: 140-

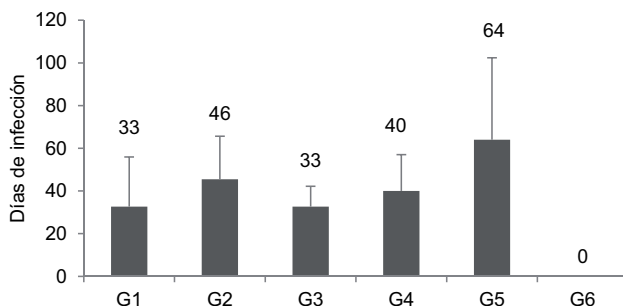
145. • Mendoza-Ibarra, JA. et al. 2012 Vet. J. 193(1): 146-151. • Villarroel, A. et al. 2004. Am. J. Vet. Res., 65(6), 770-775.

**Agradecimientos.** Agradecemos a todos los integrantes del grupo SALUVET, al personal del SERIDA y a los veterinarios clínicos y ganaderos su participación.

**Tabla 1.** Resumen de los grupos de la prueba de vacunación.

Grupo	Número de animales	Inmunización (antígeno)	Vía inoculación	Desafío
1	6	A	SC/SC	SI
2	6	A	SC/IN	SI
3	6	B	SC/IN	SI
4	7	Trich Guard®	SC/SC	SI
5	7	PBS	SC/SC	SI
6	3	PBS	SC/IN	NO

SC: subcutánea; IN: intranasal



**Figura 1.** Tiempos medios de infección y desviaciones estándar

### EVOLUTION OF BOVINE TRICHOMONOSIS IN SPAIN AND NEW ALTERNATIVES FOR ITS CONTROL

**ABSTRACT :** The occurrence of bovine trichomonosis (BT) in Spanish beef cattle farmed under extensive conditions has significantly increased in the last years. Nowadays, the control of BT only relies on the identification of infected bulls followed by their removal from the herd. Vaccination has been proposed as an efficient control measure when risk factors (e.g. sharing pastures) are present. However, commercial vaccines are not available in Europe. The present study focused on the follow-up of BT prevalence in Spain from 2008 to 2014, and on the new insights in vaccine development. In the prevalence study, the number of infected bulls significantly decreased from 30.8% during the period 2008-2010 to 11.6% in 2014, probably due to the implementation of BT regular monitoring programs. Nevertheless, the BT prevalence is still high indicating that the test and cull measures are not 100% efficient. This fact highlights the need for other alternatives such as vaccination. In the second study, the safety and efficacy of different inactivated vaccine formulations based on *Tritrichomonas foetus* membrane antigens in combination with saponins were evaluated in an experimental bovine model. All the formulations were safe and reduced the mean time of infection from 64 days to 33-46 days. These promising results point out vaccination as a feasible and efficient measure for BT control in Spain.

**Keywords:** bovine trichomonosis, prevalence, vaccine, beef cattle.