

CARACTERIZACION EPIDEMIOLOGICA, ANTIGENICA, INMUNOGENICA Y BIOQUIMICA DEL VIRUS DE LA FIEBRE AFTOSA A-81 ARGENTINA/87

A. Alonso F.¹, R. Casas Olascoaga¹, R. Graciela Fernández²,
Y.L. Vianna Filho³, M.S. Söndahl¹, Ivo Gomes¹, V.M. Astudillo¹,
P. Augé de Mello¹, H.G. Bahnemann¹

COMUNICACION BREVE

Situación de campo

De 1983 a 1986, la incidencia del virus de la fiebre aftosa tipo A en Argentina, Uruguay y el estado de Río Grande do Sul en Brasil fue baja (Cuadro 1), y la mayoría de las muestras de virus aisladas correspondían a los subtipos A₂₄ y A-79.

Estudios seroepidemiológicos llevados a cabo en muestras de campo, realizados a fines de 1986 por el Laboratorio de Diagnóstico y Referencia para las Américas en el Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (CPFA), mostraron una variación antigénica de virus de la fiebre aftosa tipo A en relación con el usual A₂₄ y aislamientos de campo A-79 en la Argentina. La situación de la enfermedad empezó a mostrar características alarmantes en ese país durante la semana 11 de 1987 (marzo 14-20). El número de cuadrantes afectados (dispersión temporal) aumentó considerablemente después de la semana 16, mucho más allá de las previsiones más pesimistas (Fig. 1). Durante ese período, la Argentina además sufrió una serie de inundaciones que crearon un intenso movimiento de animales y la concentración de animales susceptibles en el área afectada más severamente, la Pampa húmeda, lo

que contribuyó a agravar la situación de la enfermedad. La región norte y la Mesopotamia argentina también fueron afectadas por la epidemia.

La estrecha relación entre la industria ganadera argentina y su contraparte en la frontera con Uruguay, en conjunción con la presencia de una variante del virus A de la fiebre aftosa contribuyó al apareamiento de la enfermedad en el Uruguay, que se inició durante la semana 18 de 1987, después de un período de calma de cuatro años. Esta hipótesis está sostenida por las características antigénicas similares de los aislamientos de Uruguay y de Argentina. Estas muestras de campo fueron caracterizadas como virus A-81 Argentina/87.

La frontera argentina, a lo largo del río Uruguay, fue el área más afectada, aunque la enfermedad se difundió por todo el país.

La frontera entre el Uruguay y el estado de Río Grande do Sul, en Brasil, no tiene barreras naturales, lo que facilita la diseminación del virus de la fiebre aftosa entre los dos países. La enfermedad entró en el estado de Brasil durante la segunda semana de mayo (semana 19).

La situación epidemiológica observada en Río Grande do Sul mostró que la enfermedad se difundió principalmente en la región de la Campaña. El número de focos fue menor que el observado en Uruguay y Argentina y ellos ocurrieron después que en estos dos países (Fig. 1).

Características antigénicas

Los Servicios de Agricultura de la Argentina, Uruguay y Brasil enviaron al CPFA muestras de epitelio bovino recolectadas en establecimientos afectados de la región. De las diversas muestras recibidas, se seleccionó la muestra designada

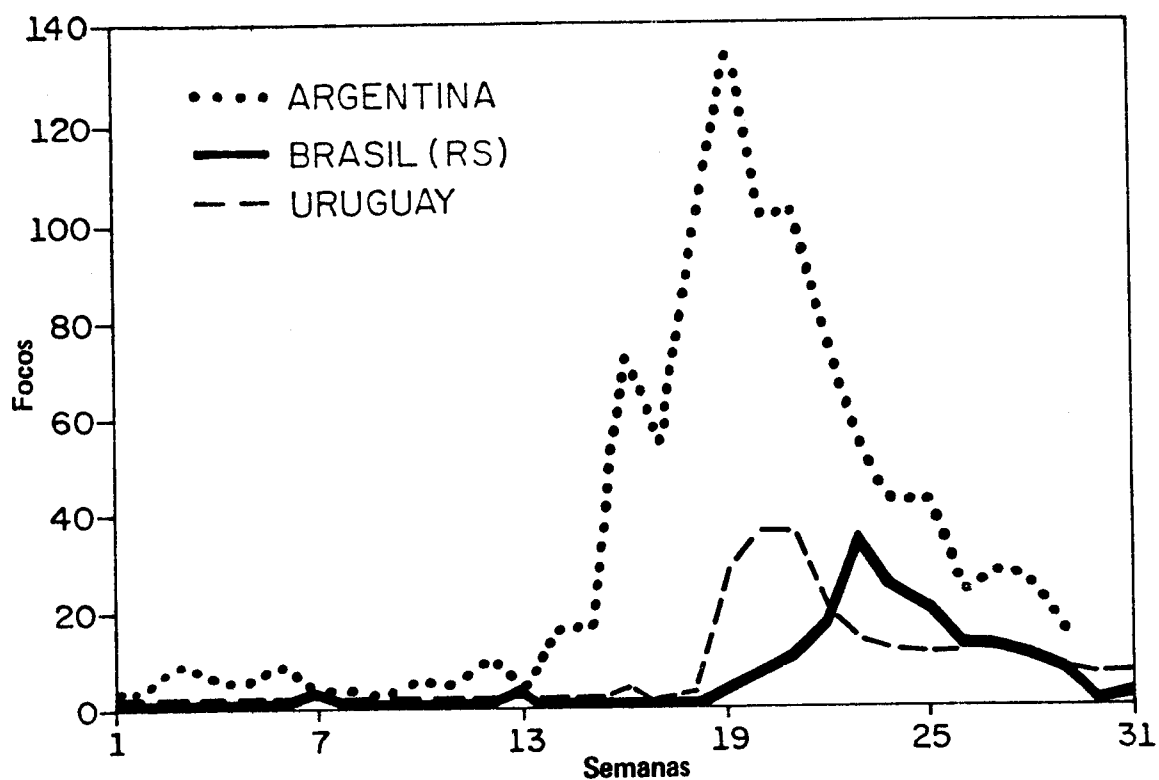
¹ Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (OPS/OMS), Caixa Postal 589, 20001, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

² SELAB, Servicios de Laboratorio del Servicio Nacional de Sanidad Animal, Avenida Fleming 1653, Martínez, Pcia. Buenos Aires, Argentina.

³ LARA-RS, Laboratório de Apoio Animal, Estrada da Ponta Grossa 3036, 90000 Porto Alegre, RS, Brasil.

CUADRO 1. *Rebaños afectados por fiebre aftosa de acuerdo con el tipo de virus, por año. 1980-1986*

País	Tipo de virus	1980	1981	1982	1983	1984	1985	1986
Argentina	O	44	64	13	351	90	10	30
	A	339	429	39	23	6	5	11
	C	37	22	4	196	348	288	316
Río Grande do Sul (Brasil)	O	379	60	6	5	12	2	1
	A	19	103	38	8	27	12	7
	C	1	13	11	7	1	5	4
Uruguay	O	127	4	1	—	10	15	2
	A	6	14	2	1	—	—	1
	C	—	—	—	4	6	3	28

FIGURA 1. *Distribución temporal de focos. Argentina, Uruguay y Río Grande do Sul (Brasil), 1987*

A-81 Argentina/87, originalmente de la municipalidad de Castellanos, provincia de Santa Fé, como la más representativa debido a su antigenicidad, inmunogenicidad, replicabilidad y estabilidad. Todas las muestras recibidas mostraron un espectro serológico similar.

Las relaciones serológicas (r y R) realizadas por fijación del complemento 50% (FC50) (1, 6) de la cepa A-81 Argentina/87 (Cuadro 2) son muy bajas, menos la r y R contra el A-81 Brasil/81 y A-81 Argentina/81. Los resultados de subtipificación de los antígenos usados para estudiar el virus A-81 Argentina/87 se muestran en el Cuadro 3.

Los estudios serológicos con la prueba de ELISA usando anticuerpos policlonales, en comparación con nuestra prueba de FC₅₀, mostraron mayor sensibilidad y una especificidad más baja, lo que no permite una interpretación correcta de los resultados. Para evitar estos problemas estamos usando anticuerpos monoclonales en la prueba de ELISA.

CUADRO 2. Relación serológica (r) y parentesco (R) de la cepa de virus de la fiebre aftosa A-81 Argentina/87

Cepas	r_1	r_2	R
A ₅ Kelderman-Bélgica	<0.02	0.03	<2
A ₅ Allier-Fr/60	<0.02	0.07	<4
A ₁₀ Argentina/61	<0.02	0.02	<2
A ₁₂ UK/32 (A119)	<0.02	0.05	<3
A ₂₄ Cruzeiro-Br/55	<0.02	0.06	<3
A-79 Venceslau-Br/76	<0.02	0.03	<2
A-79 Argentina/79	<0.02	0.04	<3
A-85 Sabana-Col/85	<0.02	0.08	<4
A-81 Uruguay/79	0.25	0.25	25
A-81 Brasil/81	0.50	0.42	46
A-81 Argentina/81	0.65	0.42	52
A-81 Argentina/87	1.00	1.00	100

r_1 = Capacidad de FC de A-81 Argentina/87 en suero hiperinmune de cobayo.

r_2 = Capacidad de FC del antígeno A-81 Argentina/87 por sueros hiperinmunes heterólogos.

CUADRO 3. Subtipificación de antígenos usados para estudiar la cepa A-81 Argentina/87 de fiebre aftosa. CPFA, 1987

Antígeno	Antisueros													
	A ₅ Keld.	A ₅ Allier	A ₁₀ Arg/61	A ₁₂ (119)	A ₂₄ Cruz.	A-79 Venc.	A-79 Arg/79	A Sab. Col/85	A-81 Uru/79	A-81 Bra/81	A-81 Arg/81	A-81 Arg/87	A Poliv.	Control antígeno
A ₅ Kelderman-Bélgica	00	02	29	46	22	65	66	65	67	66	67	67	03	64
A ₅ Allier-Fr/60	01	00	54	54	64	64	66	66	67	66	66	67	02	65
A ₁₀ Argentina/61	64	59	00	62	64	64	65	65	66	67	66	68	05	66
A ₁₂ UK/32 (A119)	69	27	63	00	58	67	67	67	66	65	66	67	04	67
A ₂₄ Cruzeiro-Br/55	09	06	36	14	00	65	45	61	60	60	61	64	02	67
A-79 Venceslau-Br/76	48	48	44	40	59	00	09	62	61	65	67	64	04	65
A-79 Argentina/79	64	64	65	64	65	18	00	65	64	65	66	67	03	66
A-85 Sabana-Col/85	64	65	64	65	66	62	60	00	64	65	66	67	02	68
A-81 Uruguay/79	65	64	61	62	65	64	45	66	00	04	05	06	01	66
A-81 Brasil/81	64	65	65	62	64	64	63	63	09	00	01	01	03	66
A-81 Argentina/81	65	64	66	66	64	61	68	66	07	08	00	03	05	67
A-81 Argentina/87	67	66	67	67	66	66	66	64	35	07	04	00	05	68
Control antisueros	65	66	65	67	65	65	64	65	66	65	67	67	65	

Cobertura inmunológica

Se estudió la cobertura inmunológica de este virus por las pruebas de seroprotección (3) y seroneutralización (4), usando sueros del banco de sueros del CPFA recolectados de bovinos vacunados y revacunados. Los resultados se expresaron como la media de la expectativa porcentual de protección (5, 7) (Cuadro 4). En Argentina y Brasil también se realizaron pruebas en bovinos vacunados y revacunados, cuyos resultados se muestran en los Cuadros 5 y 6.

Estudios bioquímicos

Se estudió por "fingerprint" (2) el ácido ribonucleico (ARN) de las cepas A-81 Argentina/81 y A-81 Argentina/87 (A-81 Castellanos-Arg/87, A-81 Rivera-Uru/87 y A-81 Palmar-Br/87) (Fig. 2). Se están realizando otros estudios como: secuenciación del ARN usando probes sintéticos del Centro de Biología Molecular (Madrid, España), electroenfocado y análisis en gel de poliacrilamida PAGE.

CUADRO 4. Fiebre aftosa: cobertura de varias cepas vacunales de Europa y América del Sur

Pruebas	Virus de desafío				
	A-79 Venceslau	A ₅ Kelderman	A ₂₄ Cruzeiro	A-79 Arg/79	A-81 Arg/81
EPP 30 DPV suero bovinos vacunados con A-79 Argentina/79	—	—	—	61.1	≤38.4
EPP 30 DPR suero bovinos revacunados con A-79 Argentina/79	—	—	—	90.1	52.3
EPP 30 DPV suero bovinos vacunados con A ₂₄ Cruzeiro-Br/55	—	—	67.5	—	≤37.5
EPP 30 DPR suero de bovinos revacunados con A ₂₄ Cruzeiro-Br/55	—	—	91.9	—	79.3
EPP 30 DPV suero bovinos vacunados con A ₅ Kelderman-Belg.	—	61.2	—	—	≤39.0
EPP 30 DPR suero bovinos revacunados con A ₅ Kelderman-Belg.	—	83.3	—	—	56.0
EPP 30 DPV suero bovinos vacunados con A-79 Venceslau-Br/76	68.8	—	—	—	≤39.0
EPP 30 DPR suero bovinos revacunados con A-79 Venceslau-Br/76	91.7	—	—	—	51.3
EPP 30 DPV suero bovinos vacunados con A ₂₄ Cruzeiro + A-79 Venceslau	59.6	—	62.0	—	≤38.1
EPP 30 DPR suero bovinos revacunados con A ₂₄ Cruzeiro + A-79 Venceslau	94.9	—	94.9	—	76.5

EPP = Expectativa porcentual de protección. Límite inferior de confianza (0,95).

DPV = Días posvacunación. DPR = Días posrevacunación.

CUADRO 5. Inmunidad cruzada en bovinos a las tres semanas de vacunados, realizada en SELAB, Argentina

	Virus de desafío				
	A-79 Arg/79	A-81 Arg/81	A-81 Arg/87 (Utracán)	A-81 Arg/87 (25 de Mayo)	A-81 Arg/87 (Castellanos)
Vacunas					
A-79 Argentina/79	14/16 ^a	—	—	—	7/16
A-79 Argentina/79 + A-81 Argentina/81	10/10	10/10	9/10	8/10	10/10

^aBovinos protegidos/bovinos vacunados.

CUADRO 6. Inmunidad cruzada en bovinos vacunados y revacunados, realizada en LARA-Porto Alegre, Brasil

Vacunas	Virus de desafío	
	A-79 Venceslau/76	A-81 Argentina/87 (Castellanos)
Bovinos vacunados con A-81 Castellanos/87	—	16/16 ^a
Bovinos revacunados con A ₂₄ Cruzeiro-Br/55 + A-79 Venceslau-Br/76	16/16	16/16

^aBovinos protegidos/bovinos vacunados.

Medidas tomadas

Después de la subtipificación de las muestras de campo en el CPFA, los países fueron notificados en 24 horas sobre las variaciones antigénicas de las cepas A-81 Argentina/87. Además, por las pruebas de seroneutralización y seroprotección usando sueros del banco de sueros del CPFA, en una semana se pudo determinar la cobertura inmunológica de las cepas vacunales comúnmente usadas en el área contra el A-81 Argentina/87 (Cuadro 4).

En todas las áreas afectadas se prohibieron ferias y exposiciones de animales. El movimiento de rebaños para abate solo se permitió después de la confirmación de la ausencia de la enfermedad en el establecimiento de origen. Se prepararon vacunas monovalentes con la cepa A-81 Argentina/81 o A-81 Argentina/87 y, en algunos casos, esta última se está incluyendo en la vacuna trivalente.

Las medidas tomadas fueron:

- Vacunación masiva con vacuna monovalente A-81 Argentina/87 en Río Grande do Sul (Brasil) y Uruguay.

- Vacunación selectiva con vacuna monovalente A-81 Argentina/81 en Argentina.

- Adelantar el programa regular de vacunación usando la vacuna trivalente normal.

Actualmente se ha observado una nítida disminución de la incidencia y la cepa A-81 Argentina/87 no ha sido encontrada en ningún área de Brasil o en cualquier otro país.

REFERENCIAS

- ALONSO FERNANDEZ, A., VIANNA FILHO, Y.L., DURINI, L.A.E., SUTMÖLLER, P. Los virus de fiebre aftosa usados en la producción y control de vacunas en América del Sur. Foot-and-mouth disease viruses used in vaccine production and control in South America. *Bol.Centr.Panam.Fiebre Aftosa* 43-44: 21-28, 29-36, 1981.
- AUGÉ DE MELLO, P., CASAS OLASCOAGA, R., COSTA GIOMI, M.P., ALONSO FERNANDEZ, A., SCODELLER, E.A., LA TORRE, J.L., BERGMANN, I.E. RNA fingerprinting of South American prototype aphthovirus strains. *Vaccine* 4: 105-110, 1986.

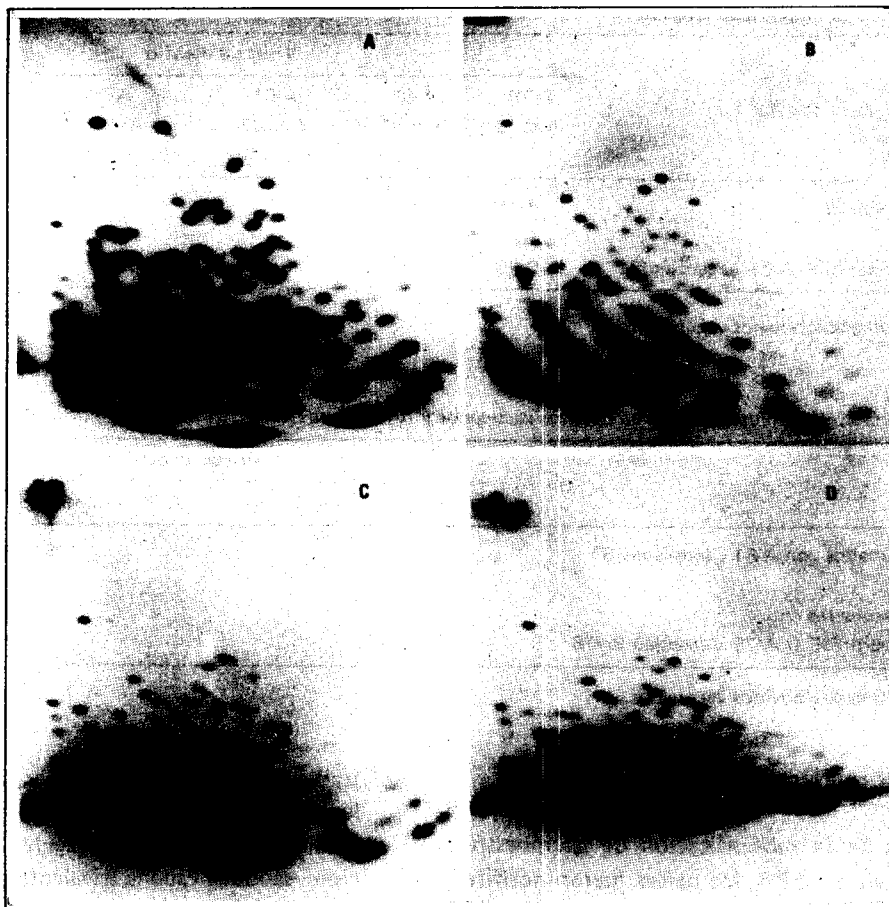


FIGURA 2. RNase T_1 "fingerprints" de cepas del tipo A del virus de la fiebre aftosa. (A) A-81 (Alen-Arg) Argentina/81, (B) A-81 (Castellanos-Arg) Argentina/87, (C) A-81 (Ri-vera-Uru) Argentina/87, y (D) A-81 (Palmar-Br) Argentina/87.

3. CUNHA, R.G., BAPTISTA Jr., J.A., SERRAO, U.M., TORTURELLA, I. El uso de los ratones lactantes en la evaluación de los anticuerpos contra el virus de la fiebre aftosa y su significación inmunológica. *Gac. vet. B.Aires*, 19 (110): 243-267, 1957.
4. FERREIRA, M.E.V. Prueba de microneutralización para estudio de anticuerpos de la fiebre aftosa. Micro-titer neutralization test for the study of foot-and-mouth disease antibodies. *Bol.Centr.Panam.Fiebre Aftosa* 21-22: 17-20, 21-24, 1976.
5. GOMES, I. & ASTUDILLO V. Foot-and-mouth disease evaluation of mouse protection test results in relation to cattle immunity. *Bol.Centr.Panam.Fiebre Aftosa* 17-18: 9-16, 1975.
6. RESOLUTIONS. Int. Symp. on FMD Variants and Immunity, Lyon, 1967. Symp. Series Imm. Stand. 8: 169-170 (Karger, B/NY, 1968).
7. SUTMÖLLER, P., COSTA, K. de F., GOMES, I. Prueba de microneutralización por microtécnica para fiebre aftosa: cálculo de la expectativa porcentual de protección. The serum microneutralization test for foot-and-mouth disease: establishment of an expected percentage of protection. *Bol.Centr.Panam.Fiebre Aftosa* 39-40: 31-36, 37-42, 1980.