

ACTUALIZACION DE CEPAS DEL VIRUS DE LA FIEBRE AFTOSA DE IMPORTANCIA EPIDEMIOLOGICA EN AMERICA DEL SUR¹

A. Alonso F.², R. Casas Olascoaga², V.M. Astudillo²,
M.S. Söndahl², Ivo Gomes², Y.L. Vianna Filho³

RESUMEN

La alta variabilidad de la fiebre aftosa, debida entre otros factores a la recombinación genética y a la presión selectiva de los anticuerpos en áreas con vacunación sistemática, hace que una cepa de virus ocasione una única onda epidémica. Por lo tanto, la lista de subtipos debe ser actualizada periódicamente para eliminar los que no actúan más en el campo. Los laboratorios de diagnóstico han de apoyar a las campañas de control de la enfermedad relacionando antigénica e inmunogénicamente las cepas de campo con las usadas en la producción de la vacuna. La cobertura de las cepas vacunales, además, es de suma utilidad e interés para los bancos de vacunas. Una prueba recomendable para este tipo de estudio es la expectativa porcentual de protección (EPP) a partir de la seroprotección realizada con sueros de bovinos vacunados y revacunados. Una EPP inferior al 75% en sueros de bovinos revacunados es indicación de baja protección en el campo.

INTRODUCCION

La fiebre aftosa es producida por un virus de la familia Picornaviridae y, debido a sus propiedades físico-químicas, está clasificado en el género Aphthovirus. Dentro de ese género han sido identificados siete serotipos inmunológicos (O, A, C, SAT₁, SAT₂, SAT₃ y Asia₁), los cuales no proporcionan protección cruzada entre sí.

Debido a su alta capacidad de mutación, cada serotipo agrupa varios subtipos que se caracterizan por presentar diferencias inmunogénicas entre sí. Los subtipos son representados por cepas aisladas de focos, brotes u ondas epidémicas, que poseen características antigénicas e inmunogénicas semejantes. Para evitar errores de identificación, la denominación de una cepa debe incluir el serotipo, el subtipo del virus, el lugar y el año de aislamiento.

VARIABILIDAD DEL VIRUS EN LAS AREAS ENDEMICAS

La alta capacidad de variación del virus de la fiebre aftosa se debe a la elevada tasa de mutación (7), a la recombinación genética (5) y a la acción selectiva de los anticuerpos a la replicación del virus en los animales parcialmente inmunes (4). Estos procesos originan cambios en la secuencia de los nucleótidos, los cuales inducirán modificaciones en los polipéptidos del cápside. Todo esto hace que cada cepa esté compuesta por una población de virus con diferentes genomas.

Los cambios de los nucleótidos pueden ser detectados por técnicas bioquímicas, como mapas RNase T₁ resistentes (2), mientras que las modificaciones de la secuencia de los aminoácidos, cuando localizados en las determinantes antigénicas, son detectadas por pruebas antigénicas e inmunogénicas (1, 6, 8) o mediante el secuenciamiento de los aminoácidos de la proteína viral (3).

Para los programas de control de la fiebre aftosa, los cambios en la antigenicidad e inmunogenicidad de los virus en el campo son de suma importancia, ya que el grado de protección de la población vacunada depende de la calidad de la vacuna aplicada y de la homología entre la cepa vacunal y la de campo. Estos cambios también repercuten en la producción y control de la vacuna y en el diagnóstico.

¹ Presentado en la Reunión de la Comisión Europea para el Control de la Fiebre Aftosa, Rio de Janeiro, Brasil, 15-18 octubre 1985. Publicación autorizada.

² Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (OPS/OMS), Caixa Postal 589, 20001 Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

³ LARA-RS - Laboratorio Regional de Apoio Animal, Estrada da Ponta Grossa 3096, 90000 Porto Alegre, RS, Brasil.

La alta contagiosidad de la fiebre aftosa, unido a la elevada capacidad de variación del virus, hacen que el éxito de los programas de control dependa en primer lugar de la eficiencia de la vigilancia epidemiológica en detectar los focos, recolectar muestras e impedir la difusión de la enfermedad. Este hecho es de vital importancia en los países con explotaciones extensivas y de alta movilización de animales, lo que facilita enormemente la propagación del virus. El laboratorio de diagnóstico junto con el de control de calidad de la vacuna deberán indicar las características antigénicas de las cepas de campo, la cobertura inmunológica de las cepas vacunales y la potencia de las vacunas.

Los estudios de caracterización antigénica del virus de campo y el análisis de la cobertura de las cepas vacunales frente a los virus de campo con importancia epidemiológica deben estar al alcance de los países que vacunan sistemáticamente y de los que tienen bancos de vacunas.

HISTORICO DE LAS CEPAS DE VIRUS IDENTIFICADAS EN AMERICA DEL SUR DESDE 1950 A 1984

Los estudios retrospectivos con los virus de campo de la fiebre aftosa identificados en los países del Cono Sur han mostrado que en los años 50 predominaban virus que podían ser encuadrados en los subtipos O₁, A₂₄ y C₃. En los países andinos pertenecían a los subtipos O₁ y A₅. Entre estos últimos Perú era una excepción, debido a que con frecuencia importaba bovinos, carnes y menudencias de Argentina y Colombia, por lo que se identificaban virus de las dos regiones.

En la década del 50, en el Cono Sur, se producía vacuna antiaftosa por el método de Waldmann, lo que provocó el surgimiento de cepas muy diferentes, como consecuencia de la inoculación de virus en los mataderos de bovinos parcialmente inmunes para la obtención de antígeno. Así fueron identificados en Brasil los subtipos O₈, A₁₃, A₁₆ y A₁₇ y en Argentina el A₁₉. Los aislamientos de estos virus estuvieron relacionados a los locales de manipulación y de producción de las vacunas (mataderos y laboratorios).

El intercambio de cepas entre laboratorios causó la introducción accidental en Argentina

del subtipo A₁₀, usado en Holanda para la elaboración de la vacuna. Las cepas C₂ y A₃₀ fueron causantes de epidemias en los años 40 y 50 en Río Grande do Sul, Brasil, y en Uruguay.

Cepas de los subtipos O₃, O₈, A₁₀, A₁₃, A₁₆, A₁₇, A₁₉, A₂₅, A₃₀ y C₂ desaparecieron totalmente y no causaron focos ni ninguna onda epidémica desde 1963.

En la década del 60, cuando la red de laboratorios de diagnóstico de las enfermedades vesiculares se consolidó en América del Sur (Fig. 1), varios países iniciaron los programas de control basados en la vacunación sistemática de la población bovina. Esa red de laboratorios resultó en una acentuada mejoría de la vigilancia epidemiológica y en la caracterización de los virus que ocurrían en el campo. En esa época los programas aún presentaban algunas deficiencias típicas del inicio y por eso, en algunos países, se registraron ondas epidémicas ocasionadas por cepas de virus muy similares a las utilizadas en la producción de vacunas. Así, en Venezuela, en 1962, se aisló el subtipo A₁₈, eliminado por la aplicación masiva en el campo de la vacuna de virus vivo atenuado A₂₄ Cruzeiro y en 1969 el subtipo A₃₂ que aún persiste. En Perú se identificaron cepas de los subtipos A₂₆ y A₂₉, similares al A₂₄. En Colombia se comprueba la existencia en todo el país de virus similares a los del subtipo A₅, los cuales fueron encuadrados en el subtipo A₂₇. En 1969 la sabana de Bogotá fue afectada por el virus A₃₁, que se eliminó con un estricto control de focos, acompañado con revacunación estratégica con vacuna monovalente homologa, no permitiéndose la propagación a otras áreas del país.

Con relación al tipo C, en 1966, en la Patagonia de Argentina se presentó un foco causado por el virus C₄ Tierra del Fuego, diferente a los identificados anteriormente en el Cono Sur. Los datos epidemiológicos de este episodio apuntan a los bovinos portadores como posibles responsables por el foco. En 1969, Argentina y Paraguay fueron afectados por una onda epidémica originada por una cepa antigénicamente no muy diferente al subtipo C₃. El Laboratorio Mundial de Referencia (LMR) clasificó la cepa de Argentina dentro del subtipo C₅ y la de Paraguay en el C₃.

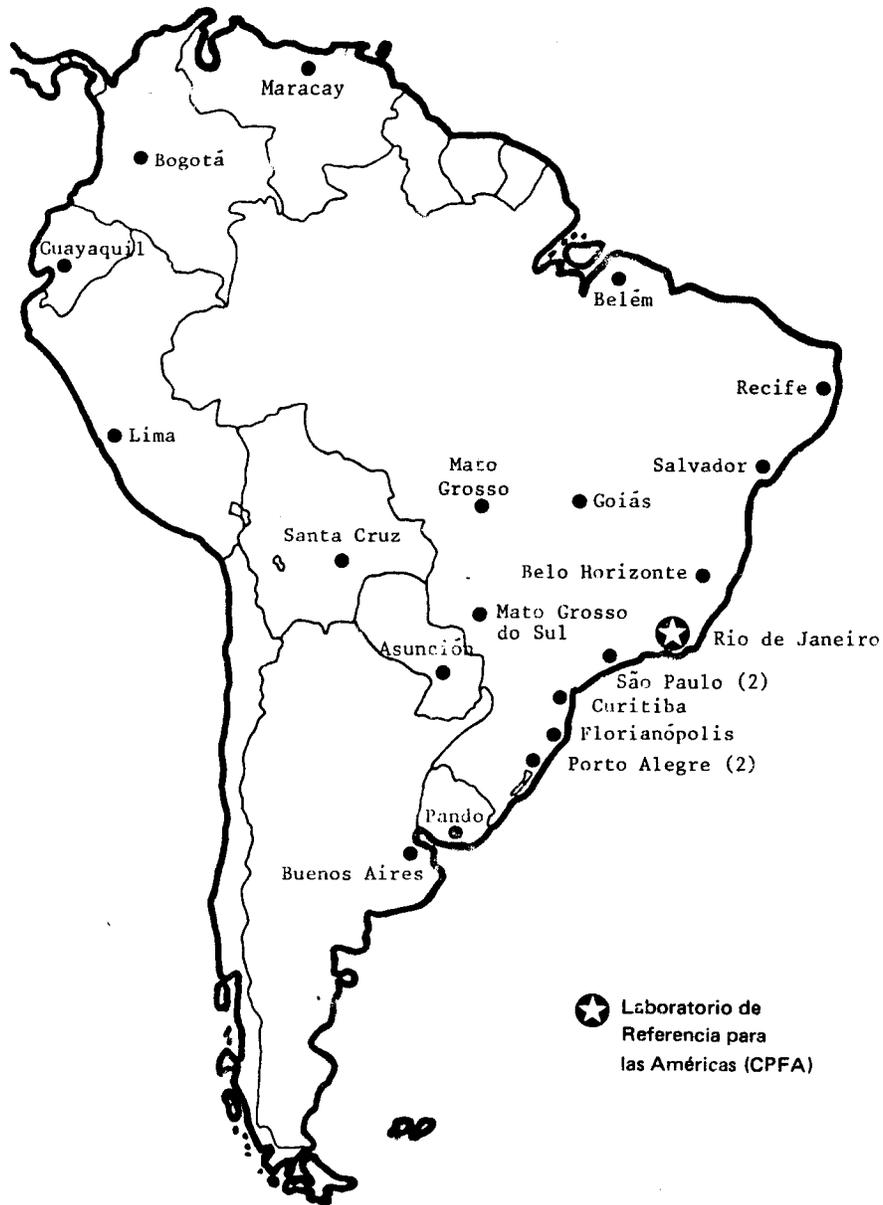


FIGURA 1. Laboratorios oficiales de diagnóstico de las enfermedades vesiculares. América del Sur, 1984.

La década del 70 se caracterizó por la consolidación de los laboratorios de producción y control de vacunas, primero en Uruguay y Chile y después en la Argentina, Brasil, Colombia y Paraguay. La producción regular de vacunas y su control oficial se reflejó en una mejor inmunización de la población bovina bajo programa. Sin embargo fueron aisladas cepas no muy diferentes a las usadas en la elaboración de vacunas. Como ejemplo, se cita el C₃ Indaial que afectó el sur de Brasil de 1971 a 1974, y a la Argentina y Uruguay en 1974-1975. En Brasil, en 1976, se aislaron las cepas A Venceslau y Bagé. Esta última afectó la ganadería de Río Grande do Sul extendiéndose posteriormente a la Argentina y Uruguay y en el proceso de evolución originó el A Argentina/79 y A Brasil/79, muy similares entre sí y al A Venceslau y A Bagé, por lo que son incluidas en un solo grupo.

El decenio del 80 se caracteriza por poseer programas mejor estructurados tanto en laboratorios como en el campo. Esto se demuestra por el combate a la cepa O RS-Br/80, bastante diferente al virus vacunal O₁ Campos (Cuadro 1), la cual originó una severa onda en Río Grande do Sul, Brasil, en 1980. La rápida identificación del virus y la adopción de una vigilancia epidemiológica eficaz impidieron su difusión a Uruguay y Argentina.

En 1981 surgen las cepas de virus A Argentina/81, A Brasil/81 y A Uruguay/81. Se considera que esas cepas sean el efecto de cola de la onda epidémica originada por la cepa A Argentina-Brasil/79. Esas cepas de virus A aisladas en 1981 no se propagaron debido a las medidas epidemiológicas tomadas en la ocasión.

En 1983, en Argentina aumenta la incidencia de virus del tipo C hasta originar una onda epidémica en 1984 que fue controlada por la utilización de una vacuna monovalente homóloga junto con la vacuna polivalente. En esa ocasión tampoco se permitió su difusión a los países vecinos, con la excepción de la ocurrencia de focos en el Chaco boliviano controlados por vacunación perifocal.

En 1984, en el estado de São Paulo, Brasil, se identificó el virus A São Carlos (Cuadros 2 y 3) que fue controlado con la intensificación de la vigilancia epidemiológica y la vacunación estratégica con vacuna clásica A Cruzeiro y A Venceslau.

CEPAS DE VIRUS DE INTERES ACTUAL IDENTIFICADAS EN AMERICA DEL SUR

Por un análisis detallado de las características antigénicas e inmunogénicas de los virus identificados en América del Sur (Cuadros 4, 5 y 6) se concluye que en la actualidad las cepas predominantes deben ser encuadradas en los subtipos O₁, A₂₄, A₃₂ y C₃. Además se deben incluir los virus A Argentina-Brasil/79 y C Argentina/84 pendientes de clasificación (Cuadro 7).

CLASIFICACION DEL VIRUS DE LA FIEBRE AFTOSA

El LMR dictó, en el Simposio Internacional sobre Variantes e Inmunidad realizado en Lyon en 1967, las normas para la clasificación del virus de

CUADRO 1. Relaciones serológicas (*r*), protección a la generalización podal (PGP), índices de seroprotección (ISP) y expectativa porcentual de protección (EPP) en bovinos revacunados con la cepa O₁ Campos controlada frente al virus homólogo y al O RS-Br/80

Cepas comprobación	Suero hiper. O ₁ Campos <i>r</i>	Vacuna O ₁ Campos		
		PGP	Media ISP	EPP ^a
O ₁ Campos-Br/58	1.00	16/16	3.62	87.7
O RS-Br/80	0.34	6/16	2.40	72.5

^aLímite inferior de confianza de 95%, expectativa porcentual de protección. GOMES, I. & ASTUDILLO, V. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 17-18:9-16, 1975.

CUADRO 2. Relaciones serológicas (r) y expectativas porcentuales de protección (EPP) obtenidas con sueros hiperinmunes y de bovinos vacunados y revacunados con vacunas A₂₄ Cruzeiro-Br/55 y A Venceslau-Br/76 comprobados con A São Carlos-Br/84

Cepas comprobación	r — Suero hiper.		EPP — 30 DPV		EPP — 30 DPR	
	A ₂₄ Cruz.	A Venc.	A ₂₄ Cruz.	A Venc.	A ₂₄ Cruz.	A Venc.
A ₂₄ Cruz.-Br/55	1.00	—	69.7	—	99	—
A Venc.-Br/76	—	1.00	—	96.1	—	98.7
A S.Carlos-Br/84	0.31	0.05	≤ 44.6	≤ 61.0	73.2	≤ 47.9

CUADRO 3. Protección a la generalización podal (PGP) en bovinos vacunados y revacunados con una vacuna A₂₄ Cruzeiro-Br/55 y A Venceslau-Br/76 comprobados frente al A Venceslau-Br/76 y A São Carlos-Br/84

Cepas comprobación	Bovinos protegidos/usados	
	30 DPV	21 DPR
A Venceslau-Br/76	14/16	18/18
A São Carlos-Br/84	3/16	11/18

CUADRO 4. Virus de la fiebre aftosa tipo O de interés histórico o actual, identificados en América del Sur. 1950-1984

Subtipo	Cepa	Año		
		Clasificación LMR	Primera	Última
O ₁	O ₁ Campos-Br/58	1967	1958	1984
O ₃	O ₃ Venezuela/50	1956	1950	1958
O ₈	O ₈ Bahia-Br/60	1962	1960	1962
O ^a	O ^a Rio Grande do Sul-Br/80	^a	1980	1980

^aNo enviado al Laboratorio Mundial de Referencia (LMR).

la fiebre aftosa, las cuales se basaban en la obtención de los parentescos serológicos mediante la fijación del complemento (1, 8). Debido a la dificultad de aplicar estas normas, por la existencia de muchos subtipos a su vez integrados por varias cepas, nuevamente en el Simposio de Variantes e Inmunidad realizado en 1976, se propuso analizar solo las relaciones (r) frente a los diferentes subtipos existentes. Cuando el valor de ambas r era inferior a 0,25 la cepa en estudio correspondía a un nuevo

subtipo. Además, se indicó que solo deberían ser clasificadas las cepas con importancia epidemiológica (6). Las propuestas existentes no han resuelto el problema, ya que no han sido clasificados nuevos subtipos a partir de 1970, cuando se identificó el A₃₂.

El Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (CPFA), como Laboratorio de Referencia para las Américas, juntamente con la red de laboratorios nacionales de diagnóstico han procurado

CUADRO 5. *Virus de la fiebre aftosa tipo C de interés histórico o actual, identificados en América del Sur. 1950-1984*

Subtipo	Cepa	A ñ o		
		Clasificación LMR	Identificación	
			Primera	Ultima
C ₂	C ₂ Pando-Uruguay/44	1969	1944	1974
C ₃	C ₃ Resende-Br/55	1969	1955	1984
C ₃	C ₃ Paraguay/69	1969	1969	1969
C ₄	C ₄ Tierra del Fuego-Arg/66	1969	1966	1966
C ₅	C ₅ Argentina/69	1969	1969	1974
C ^a	C ^a Argentina	a	1983	1984

^aPendiente de clasificación por el Laboratorio Mundial de Referencia (LMR).

CUADRO 6. *Virus de la fiebre aftosa tipo A de interés histórico o actual, identificados en América del Sur. 1950-1984*

Subtipo	Cepa	A ñ o		
		Clasificación LMR	Identificación	
			Primera	Ultima
A ₁₀	A ₁₀ Argentina/61	1961	1961	1961
A ₁₃	A ₁₃ Santos-Br/58	1962	1958	1958
A ₁₆	A ₁₆ Belém-Br/59	1964	1959	1960
A ₁₇	A ₁₇ Guarulhos-Br/59	1964	1959	1962
A ₁₈	A ₁₈ Zulia-Ven/62	1964	1962	1963
A ₁₉	A ₁₉ Suipacha-Arg/62	1964	1963	1963
A ₂₄	A ₂₄ Cruzeiro-Br/55	1967	1955	1984
A ₂₅	A ₂₅ Argentina/59	1967	1959	1964
A ₂₆	A ₂₆ Argentina/66	1967	1963	1967
A ₂₇	A ₂₇ Colombia/67	1967	1967	1983
A ₂₉	A ₂₉ Perú/69	1970	1969	1970
A ₃₀	A ₃₀ Uruguay/45	1970	1945	1960
A ₃₁	A ₃₁ Colombia/69	1970	1969	1970
A ₃₂	A ₃₂ Venezuela/70	1970	1969	1984
A ^a	A ^a Argentina/76	a	1976	1976
A ^b	A ^b Ecuador/75	b	1975	1978
A ^b	A ^b Venceslau-Br/76	b	1976	1984
A ^b	A ^b Bagé-Br/76	b	1976	1984
A ^b	A ^b Argentina/79	b	1979	1984
A ^b	A ^b Brasil/79	b	1979	1984
A ^b	A ^b Argentina/81	b	1981	1982
A ^b	A ^b Brasil/81	b	1981	1981
A ^a	A ^a São Carlos-Br/84	a	1984	1984

^aNo enviada al Laboratorio Mundial de Referencia (LMR).

^bPendiente de clasificación por el LMR.

CUADRO 7. Cepas y subtipos del virus de la fiebre aftosa con importancia epidemiológica actual, identificados en América del Sur. 1984

País	Subtipos o cepas					
	O ₁	A ₂₄	A ₃₂	A Arg/79 Br/79	C ₃	C Arg/84
Argentina	x	—	—	x	x	x
Bolivia	x	x	—	—	x	—
Brasil	x	x	—	x	x	—
Colombia	x	x	—	—	—	—
Ecuador	x	x	—	—	—	—
Paraguay	x	—	—	—	x	—
Perú	—	x	—	—	—	—
Uruguay	x	—	—	—	x	—
Venezuela	x	x	x	—	—	—

resolver la situación para los países de la región, mediante la aplicación del siguiente procedimiento:

1. Preparación del cepario

— Identificar las cepas existentes en el campo y las manipuladas por los laboratorios oficiales y privados de la región.

— Designar la cepa representativa de cada subtipo reconocido.

— Elaborar antígenos y sueros hiperinmunes de las cepas de virus relacionadas en los dos puntos anteriores para pruebas de fijación del complemento 50% (FC₅₀) y ELISA.

— Preparar suspensiones virulentas para pruebas de potencia.

— Efectuar mapas RNase y T₁ resistentes (mono y bidimensional "fingerprinting").

— Mantener actualizado el "Banco de Sueros" de bovinos vacunados y revacunados con vacunas elaboradas con las distintas cepas vacunales usadas en América del Sur.

— Obtener las relaciones serológicas.

— Determinar la cobertura inmunológica de las cepas vacunales por seroprotección y/o seroneutralización con sueros del Banco de Sueros de bovinos vacunados y revacunados y por pruebas directas.

2. Identificación de nuevas cepas

— Recolectar muestras de los focos de campo.

— Caracterizar antigénicamente por subtipificación.

— Obtener las r₁ frente a las cepas patrones usadas para preparar vacunas.

— Establecer la cobertura inmunológica de los sueros del Banco de Sueros de bovinos vacunados y revacunados con las cepas vacunales usadas en la región.

— Información epidemiológica.

— Cuando la cepa persiste en el campo es incluida en el cepario y se completa todo el trabajo mencionado en el punto 1. Si la cepa usada en la vacuna proporciona una protección en revacunación igual o mayor al 75% será encuadrada en el mismo subtipo al que pertenece la cepa vacunal.

— Cuando la cepa de campo es diferente a la usada en la producción de vacunas, se seleccionará una cepa para ser empleada en producción y control, teniendo en cuenta la antigenicidad, replicabilidad, estabilidad e inmunogenicidad.

CONCLUSIONES

La gran frecuencia de mutación del virus de la fiebre aftosa, unido a la acción selectiva con que es sometida la replicación del virus en condiciones de campo, así como el pasaje por diferentes huéspedes, tornan prácticamente imposible que en

áreas con vacunación sistemática, una cepa ocasione más de una onda epidémica. Por ese motivo, periódicamente debe revisarse la lista de subtipos y cepas, eliminando los que no han sido identificados en el campo en los últimos años.

Las cepas emergentes, desde el inicio deben ser tratadas de manera de impedir su difusión en el campo. Los virus causantes de los focos en los períodos interepidémicos han de ser analizados cuidadosamente, comparando su estructura antigénica con las cepas vacunales usadas en la región y determinando la cobertura inmunológica de los sueros de animales vacunados y revacunados con la cepa vacunal frente a la de campo. Esta prueba puede complementarse por pruebas de protección a la generalización podal en bovinos vacunados y revacunados con la cepa vacunal.

Cuando el grado de protección en los bovinos después de tres semanas de revacunados es igual o mayor al 75% y la cobertura de vacunación en la región es amplia, medidas de revacunación con la vacuna disponible junto con el control estricto del movimiento de animales serán suficientes para impedir la difusión de la nueva cepa, la cual debe ser incluida en el mismo subtipo al que pertenece la cepa vacunal. Cuando la cobertura inmunológica es inferior al 75%, su difusión adquiere carácter epidémico y de difícil control. Se debe proveer la elaboración y uso de vacuna monovalente específica o la inclusión de la cepa para complementar el perfil antigénico de la vacuna habitualmente usada en la región.

Los países con la fiebre aftosa controlada y que aún vacunan sistemáticamente la población susceptible, como es el caso de Europa Occidental, o aquellos países libres pero que tienen bancos de vacunas, deben conocer la cobertura de sus vacunas frente a las cepas epidemiológicas importantes de los países endémicos. Para este tipo de trabajo son muy adecuadas las pruebas de seroprotección con

sueros de bovinos vacunados y revacunados con sus vacunas. El CPFA ha organizado con los países de la región, a través de la red de laboratorios de diagnóstico de las enfermedades vesiculares, la realización de estos estudios.

REFERENCIAS

1. ALONSO FERNANDEZ, A., SÖNDAHL, M.S., ROSENBERG, F.J., ASTUDILLO, V.M. Variabilidad antigénica e inmunogénica del virus de la fiebre aftosa. (Antigenic and immunogenic variability of the foot-and-mouth disease virus). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 47-48: 11-22, 1983.
2. AUGÉ DE MELLO, P., CASAS OLASCOAGA, R., COSTA GIOMMI, M., ALONSO FERNANDEZ, A., SCODELLER, E.A., LA TORRE, J.L., BERGMAN, I.E. RNA fingerprinting of South American prototype aphthovirus strains. *Vaccine* 4: 105-110, 1986.
3. BECK, E., FEIL, G., STROHMAIER, K. The molecular basis of the antigenic variation of foot-and-mouth disease. *The EMBO Journal* 2 (4): 555-559, 1983.
4. HYSLOP, N.St.G. & FAGG, R.N. Isolation of variant during passage of strains of foot-and-mouth disease virus in partly immunized cattle. *J. Hyg. (Camb.)* 63: 357-368, 1965.
5. McCAHON, D., KING, A.M.Q., SLADE, W.R., SKINNER, H.H., HARESHAPE, J. The potential of recombination for the production of foot-and-mouth disease virus vaccine strains. 3rd. General Meeting of ESECT, Oxford 1979. *Develop. Biol. Standard.* 46: 223-230 (S. Karger, Basel, 1980).
6. PEREIRA, H.G. Foot-and-mouth disease virus subtypes. Int. Symp. on FMD Variants and Immunity, Lyon, 1976. *Develop. Biol. Standard.* 35: 165-174 (S. Karger, Basel, 1977).
7. PRINGLE, C.R. Genetic aspects of the thermal inactivation properties of foot-and-mouth disease virus strains. *Bull. Off. Int. Epiz.* 61 (7-8): 619-628, 1964.
8. RESOLUTIONS. Int. Symp. on FMD Variants and Immunity, Lyon, 1967, Symp. Series Imm. Stand. 8: 169-170 (Karger, B/N.Y., 1968).