

## 1. INTRODUCCION

Durante el curso de más de 30 años de presentación de la Fiebre Aftosa (F. A.) en Colombia, un considerable número de cepas causantes de brotes epidémicos en diferentes regiones del país, han mostrado cambios antigénicos importantes atribuidos en la mayoría de los casos a variaciones de las condiciones de medio ambiente y huésped, las cuales facilitan la aparición de mutantes que comprometen a diario los planes de control sanitario de la enfermedad.

Los estudios serológicos realizados hasta el momento han permitido el reconocimiento de cepas virales afines a los subtipos conocidos que bajo una posible influencia de los factores relativos al medio ecológico, las movilizaciones y vacunaciones irregulares, la presencia de portadores, etc., han segregado poblaciones virales con características antigénicas comunes a dos o más subtipos creando inconvenientes en la selección apropiada de cepas vacunales que ofrezcan una amplia protección frente a los varios subtipos presentes en el campo.

Lo anterior permite establecer que los virus de campo sufren cambios en sus características antigénicas e inmunogénicas de pendientes de las condiciones imperantes del medio ambiente generando descendientes diferentes de los virus originales. Varios de estos cambios pueden ser debidos a posibles interacciones genéticas compatibles con los fenómenos de recombinación, heterocigosis, mezcla fenotípica o mezcla de poblaciones virales por efecto de la participación de varios subtipos.

El presente trabajo, se propone definir una metodología ágil y eficaz encaminada a establecer los grados de variación antigénica de las cepas ocasionantes de problemas de campo tomando como referencia los virus representativos de los subtipos tradicionales y los utilizados en vacuna, aplicando técnicas inmunológicas que permitan su determinación cuantitativa. Además, la determinación del espectro antigénico contemplado en este estudio constituye un complemento importante en la caracterización de las cepas, permitiendo un conocimiento más exacto del grado de cobertura inmunológica que ofrecen los virus vacunales, como condición básica para una adecuada inmunización de las poblaciones bovinas expuestas en eventos epidémicos.

De manera sustancial se pretende conocer si los virus mantienen en la progenie las características originales cuando son replicadas sucesivamente en diferentes huéspedes, especialmente en monocapas de cultivos celulares BHK, lo que constituye un aporte básico en la adecuada selección de nuevas cepas para producción de vacuna. Para tal efecto, se realiza un estudio de los clones aislados en base a la forma, distribución y tamaño de las placas formadas, identificando las poblaciones segregadas por medio de la prueba de subtipificación.

## 2. REVISION DE LITERATURA

### 2.1 EL VIRUS DE LA FIEBRE AFTOSA

El virus de la Fiebre Aftosa pertenece a la categoría de los Ribovirus (virus que contiene ácido ribonucleico o ARN), familia Picomaviridae, género de los Aphovirus (44).

El virus completo o virión está formado por una masa central de ARN rodeada por una cubierta proteica periférica compuesta por 32 capsómeros esféricos que le dan la estructura cúbica icosaédrica (33).

Varios antígenos han sido identificados en el virus de la Fiebre Aftosa. El virus completo posee un coeficiente de sedimentación de 140S, las partículas con un coeficiente de 75 S corresponden a capsides vacías, partículas menores derivadas de la degradación del virus presentan un coeficiente de 12 S y un

antígeno asociado con la infección (antígeno VIA), con un coeficiente de sedimentación menor de 4,5 S (14, 26).

Hasta el presente han sido reconocidos siete tipos inmunológicamente distintos: C, A, C, SAT 1, SAT 2, SAT 3 y ASIA 1. Dentro de estos tipos se han identificado numerosos subtipos que presentan un grado variable de reactividad cruzada.

Es un hecho reconocido que la evolución de las variantes dentro de cada tipo puede establecer una amplia gama de subtipos con relaciones antigénicas tan grandes, al igual que si se tratara de dos tipos diferentes (23).

## 2.2. LA FIEBRE AFTOSA EN COLOMBIA

La Fiebre Aftosa en Colombia comienza en 1950 cuando se presentaron los primeros brotes en Arauca, ocasionados por el virus "O". Un año más tarde en el Valle del Cauca, se presentaron brotes ocasionados por el virus "A" (21).

El virus "O" no ha presentado variaciones antigénicas significativas a través de los años y su permanencia en el campo es de presentación esporádica ocasionando brotes de alguna o poca importancia epidemiológica (21).

El virus "A" en su inicio no fué claramente identificado; se supone que era el subtipo "A5" procedente de Europa. Se considera que este virus actuó hasta 1963, año en el cual se presentó una grave epizootia en todo el país ocasionada por un nuevo subtipo, denominado "A18", cuyo probable origen fué en el Estado de Zulia, Venezuela (55).

En 1967 se presentó una nueva epizootia causada por el subtipo A27 originado en Colombia y difundido por todo el país (60).

En 1969 se presentó en la Sabana de Bogotá y los Valles de Ubaté y Chiquinquirá un nuevo subtipo el A31 (A Sabana 1969) que desde mediados de 1970 no se ha vuelto a identificar (32).

En 1971 se aisló el subtipo A32 en el departamento del Cesar en la zona limítrofe con Venezuela. En ese mismo año

se aisló en Boyacá el subtipo A24 que no tuvo importancia epidemiológica (20).

### 2.3 EPIDEMIOLOGIA

La Fiebre Aftosa constituye la mayor amenaza del estado sanitario de la ganadería por lo menos desde hace 450 años. Las características epidemiológicas muestran que la recurrencia de las ondas de infecciones severas y de gran difusión tienden a producirse cada 10 años, alternando con períodos de pocos brotes y de escasa importancia durante los cuales, por razones económicas, se produce un relajamiento de las medidas de seguridad (31).

Es evidente que la evolución de cepas de variantes dentro de un tipo, es un hecho activo que surge como consecuencia de la formación de un "espectro" de cepas subtipos, algunas de las cuales presentan diferencias casi tan grandes como las que existen entre los mismos tipos (28).

Además de la variabilidad atribuída a la modificación de la estructura antigénica, algunas cepas de virus aftoso muestran

marcadas diferencias en su patogenicidad, infecciosidad y en la especificidad de su predilección por huéspedes susceptibles (31).

El virus probablemente está presente en todos los líquidos fisiológicos durante las fases de viremia. En consecuencia, cualquier material segregado o excretado debe ser considerado como una fuente permanente de infección para otros animales (27, 29).

La Fiebre Aftosa puede ser diseminada de muchas maneras a partir de materiales contaminados, por medio de animales y pájaros silvestres, camiones, equipos agrícolas, barcos, ropas o personas (4, 9).

Aunque los bovinos pueden presentar una recuperación completa tras la infección de Fiebre Aftosa, un cierto número de ellos se tornan portadores de virus durante largos períodos y de acuerdo con la evidencia epidemiológica, ellos sirven como focos para nuevos brotes de la enfermedad. Diversas investigaciones fueron realizadas con fines de establecer la existencia de portadores sanos del virus aftoso, la persisten-

cia del virus en la garganta y en animales parcial o totalmente inmunes, y las características del virus en los portadores sobre la infecciosidad y características antigénicas, como consecuencia de la infección natural o de vacunación (8, 58, 61).

El estudio epidemiológico de las cepas de campo debe comprender una gama de atributos correspondientes a los riesgos de ocurrencia en la población bovina, considerando las tasas de morbilidad, mortalidad y letalidad, así como también el nivel de protección de la población, lo cual comprende criterios inmunológicos y epidemiológicos. La vacunación, la identificación del agente, la presencia de epidemias, y el movimiento y concentración de animales son factores significativos en la actividad de las cepas virales en zonas epidémicas de Fiebre Aftosa (3).

#### 2.4 FIJACION DEL COMPLEMENTO

Los primeros estudios para identificar el virus de la Fiebre Aftosa aplicando la prueba de fijación del complemento se remontan al año de 1929, cuando Ciuca trabajó con antígenos procedentes de cobayos. Más tarde, en 1946

Traub y Mohlman la utilizan para demostrar diferencias antigénicas de tres cepas virales observando además, una relación aplicable a la eficiencia de las vacunas (4).

En 1952 Brooksby adaptó el método de Wadworth y Maltaner para el estudio del virus de la Fiebre Aftosa teniendo como medida la cantidad de complemento que fija el suero inmune al reaccionar con los antígenos homólogos y heterólogos (6).

Posteriormente Bradish y Brooksby modifican la técnica de fijación de complemento y le dan nuevas aplicaciones presentando las bases de método para el estudio de cepas virales en el laboratorio de Pirbright (5).

Osler y col. (48) introdujeron la técnica del 50% de hemólisis adaptada por el Instituto Frances de la Fiebre Aftosa (IFFA), para reconocer tipos y subtipos. El título óptimo del suero corresponde a la dilución que fija 4 o 5 unidades de complemento en presencia de cantidades variables de antígeno.

La técnica de Camargo y col. (10) descrita por Kent Bruchantz y Rein, es utilizada en el Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (CPFA) y bajo los mismos parámetros por el Programa Nacional de Enfermedades Vesiculares del Instituto Colombiano Agropecuario (IOA). Esta técnica es igualmente aplicada en la realización de este estudio.

En 1967 Brooksby, Fontaine y col. (7,23) en el Simposio de Fiebre Aftosa en Lyon, revisan el criterio de clasificación y diferenciación de tipos y subtipos del virus de la Fiebre Aftosa, basados en la pérdida total o parcial del grado de protección entre las cepas. Este principio es fundamento para la utilización de un método que determina las relaciones antigénicas de los virus homólogos y heterólogos expresadas como valores  $n$  o relación unilateral y valor  $R$  o relación bilateral. Es así como se han reconocido 65 subtipos identificados con un número colocado en la parte inferior de la letra del tipo correspondiente.

Para determinar el grado de diferencia entre la cepa de vacuna y cepas de campo, el CPFA establece un valor  $n$  usando el suero hiperinmune de cobayo producido con el virus vacunal. Si