PREVALENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA EL ANTIGENO ASOCIADO A LA INFECCION POR VIRUS (VIA) DE LA FIEBRE AFTOSA EN BOVINOS DEL CHACO PARAGUAYO

Félix J. Rosenberg*, Hernán Málaga Cruz*, A. Alonso Fernández*, Tomás Martínez **, Anibal Barreto**

RESUMEN

Sueros de bovinos del Chaco (Paraguay) fueron analizados para determinar la presencia de anticuerpos a antígeno asociado a infección viral (VIA). Una muestra de 1.860 bovinos fue seleccionada por un muestreo, en dos etapas, de una población total de aproximadamente 100.000 bovinos.

La prevalencia estimada fue de 0,26. La prevalencia para bovinos >2 años fue de 0,38, y <2 años fue de 0,08.

El área fue dividida en 6 regiones geopolíticas, de acuerdo con la historia de fiebre aftosa en cada una. Las dos regiones que habían tenido los más severos brotes de fiebre aftosa, aproximadamente 2 años antes del estudio, tuvieron una prevalencia de 0,34 y 0,40. Las otras 4 áreas, con una menor notificación de casos clínicos, dieron una prevalencia que varió entre 0,16 y 0,24.

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las poblaciones, según el tamaño, para los bovinos > 2 años. Anticuerpos VIA en bovinos <2 años fueron probablemente debidos al calostro; no obstante, la posibilidad de trasmisión de virus de bovinos portadores no puede ser excluída.

Las siguientes variables deben ser tomadas en cuenta cuando se quiera determinar la prevalencia de infección, para una región, mediante estudios serológicos: a) período de tiempo trascurrido desde la última ocurrencia de fiebre aftosa; b) edad del animal; c) persistencia de anticuerpos a VIA; d) nº y localización de bovinos introducidos en el área.

INTRODUCCION

El control de la fiebre aftosa es una de las principales actividades de salud animal en América del Sur. Hoy en día se reconoce que la estrategia del combate debe basarse en las características epidemiológicas particulares de la enfermedad a nivel regional (1). Si bien los sistemas de información sobre fiebre aftosa se hallan desarrollados en la mayor parte del continente, existen circunstancias en que el apoyo del laboratorio es fundamental para el diagnóstico regional de situación. Para determinar niveles poblacionales de infección,

* Centro Panamericano de Fiebre Aftosa, Caixa Postal 589-ZC-00, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
**Servicio Nacional de Lucha contra la Fiebre Aftosa (SENALFA), Edificio Patria 4: piso, Asunción, Paraguay.

las pruebas de medición de anticuerpos de neutralización son poco eficaces puesto que en la mayoría de los países de Sudamérica, los bovinos son vacunados regularmente.

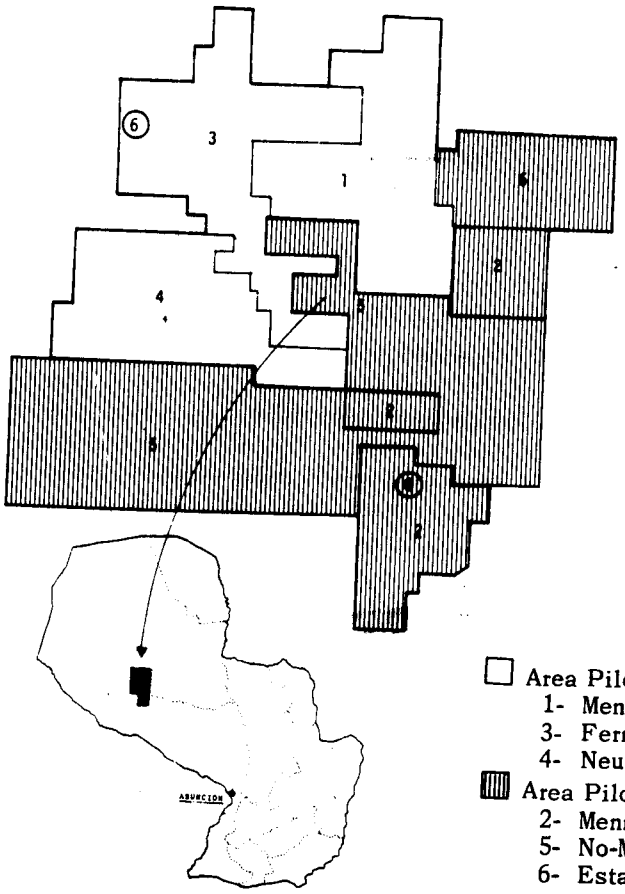
En 1966 Cowan y Graves (2) describieron un antígeno no estructural asociado a la replicación del virus de la fiebre aftosa (VIA). En animales infectados este antígeno induce la formación de anticuerpos similares para todos los tipos y subtipos del virus; sin embargo, es específico de la enfermedad. McVicar y Sutmöller (3) sugirieron el uso de la doble difusión en gel de agar para la detección de anticuerpos VIA en encuestas de terreno. En experimentos, esta prueba demostró ser de gran eficacia para la detección y el seguimiento de animales infectados independientemente del desarrollo o no de lesiones clínicas de fiebre aftosa (4).

El presente trabajo evalúa la utilidad de la detección de anticuerpos contra el VIA para detectar infecciones por virus de la fiebre aftosa en grandes poblaciones.

MATERIAL Y METODOS

La encuesta fue realizada en el departamento Boquerón, Chaco, Paraguay (Mapa 1),

MAPA 1 - *Distribución de regiones geopolíticas. Colonias Mennonitas. 1973*



Area Piloto A, menor riesgo de enfermedad
1- Menno I
3- Fernheim
4- Neuland

Area Piloto B, mayor riesgo de enfermedad
2- Menno II
5- No-Mennonitas
6- Estancias

en julio de 1973, sobre una población bovina de aproximadamente 100.000 cabezas pertenecientes a unos 1.800 productores, en su mayoría de las colonias Mennonitas y distribuidas en 151 aldeas y 3 estancias.

En una encuesta retrospectiva realizada en agosto de 1971, cerca del 50% de los hacendados informaron que nunca había ocurrido fiebre aftosa en sus establecimientos (Alvarez y Kaethler, datos no publicados). Entre 1966 y 1970, la tasa anual de rebaños afectados no había sobrepasado 0,04 (Fig. 1).

En mayo de 1971 comenzó una epidemia ocasionada por el subtipo O_1 del virus de la fiebre aftosa. En agosto, en el pico de la onda epidémica, alrededor de la mitad de los bovinos de las aldeas y la cuarta parte de los establecimientos ya habían sido afectados por la enfermedad (Figs. 1 y 2).

Hasta ese momento, no se había desarrollado ninguna actividad organizada de control de la fiebre aftosa en la zona; no obstante, algunos propietarios vacunaban ocasionalmente su ganado.

En enero de 1972, cuando ocurrieron los últimos casos de fiebre aftosa, el Servicio Nacional de Lucha contra la Fiebre Aftosa (SENALFA) de Paraguay inició dos programas piloto para la erradicación de la enfermedad en el área de estudio. Tanto los bovinos del área de menor riesgo (Area A) como los de mayor riesgo (Area B), fueron vacunados 3 veces durante ese año. En todos los casos se utilizó una vacuna comercial producida en cultivo de tejidos e inactivada con acetiletilenimina (AEI). A partir de diciembre de 1972, no se realizaron vacunaciones contra la fiebre aftosa en ninguna de las dos áreas.

FIGURA 1. *Porcentaje de rebaños afectados por fiebre aftosa, según año de ocurrencia. Colonias Mennonitas. 1966-1973.*

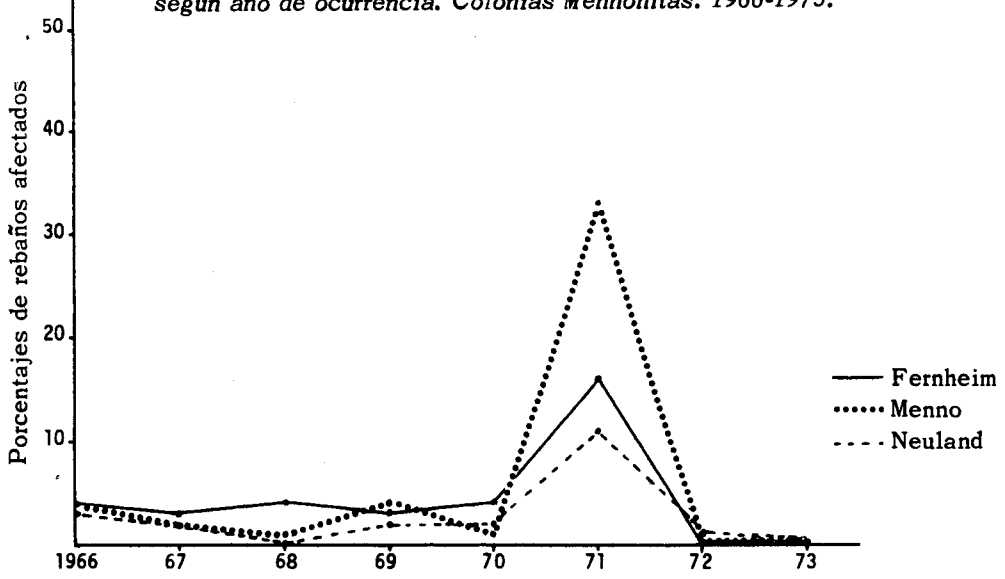
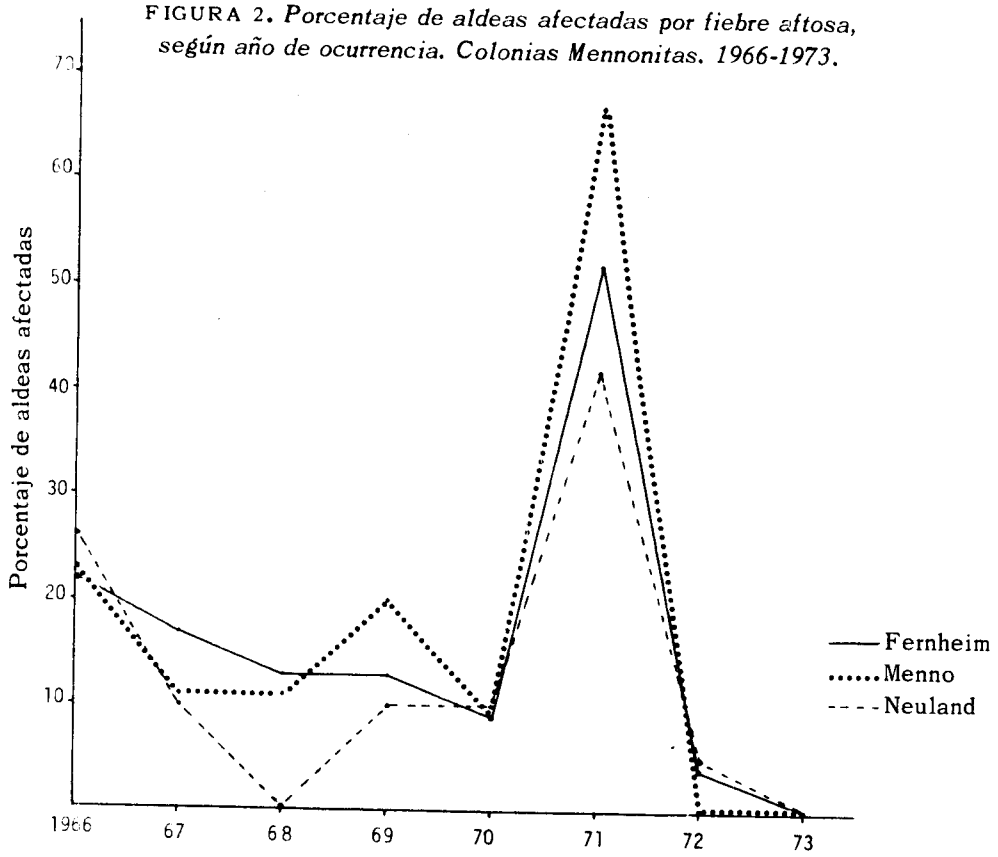


FIGURA 2. *Porcentaje de aldeas afectadas por fiebre aftosa, según año de ocurrencia. Colonias Mennonitas. 1966-1973.*



Selección de la muestra

La muestra fue seleccionada mediante un procedimiento de dos etapas (5). Debido a las características sociológicas particulares del área se escogieron las aldeas como unidades primarias de muestreo en lugar de rebaños bovinos. La selección de la muestra fue realizada según las siguientes variables: a) distribución geográfica de la población bovina y b) edad de los animales (Tabla 1).

El Area A (menor riesgo de enfermedad) estuvo compuesta por: Menno I (N° 1), Fernheim (N° 3) y Neuland (N° 4). El Area B (mayor riesgo de enfermedad) comprendía dos grupos de aldeas, Menno II (N° 2) y aldeas no-Mennonitas (N° 5) y un grupo de estancias (N° 6).

Los bovinos fueron divididos en dos estratos: los mayores y los menores de 2 años.

Pruebas serológicas

Las muestras de sangre de la población fueron recolectadas en julio de 1973, aproximadamente 18 meses después del último caso registrado de fiebre aftosa. Un grupo de terneros menores de 2 años fue nuevamente sangrado en noviembre de 1973. Los sueros fueron mantenidos a 4° C durante 3 a 10 días y posteriormente congelados a -20° C hasta su utilización.

Para la detección de anticuerpos VIA se utilizó la prueba de doble difusión en agar (3). El antígeno VIA fue preparado según la técnica descrita por Alonso Fernández y Sondahl (6).

RESULTADOS

Prevalencia de anticuerpos VIA

La tasa global de bovinos positivos en la población fue de 0,26±0,02 con un límite de confianza de 95% (Tabla 2). Las tasas fueron significativamente mayores en el grupo de animales de más de dos años (0,38±0,02, 95%) que en el grupo de los menores (0,08±0,03, 95%). Las diferencias entre ambos estratos etarios fueron significativas en todos los grupos de aldeas considerados. La tasa de bovinos positivos en los grupos 2 y 5 (0,40 y 0,34 respectivamente) fue mayor que en los grupos restantes, en las que varió entre 0,16 y 0,24. Las diferencias fueron significativas en ambos estratos etarios.

Con el fin de determinar la existencia de asociación entre enfermedad clínica y la tasa de prevalencia de anticuerpos VIA, se analizaron los resultados de acuerdo con la ocurrencia o no de notificación de la enfermedad en las aldeas durante la encuesta de 1971. Hubo una asociación significativa entre el registro de fiebre aftosa y las tasas de prevalencia halladas (X^2 = 35,4 P <0,001) (Tabla 3). La prueba de Chi cuadrado fue significativa para ambos estratos de edad (<2 años = 12,88; >2 años = 28,47).

También se analizaron los resultados del estudio de prevalencia de acuerdo con el tamaño de la población animal en las aldeas muestreadas. Con ese fin éstas fueron divididas en tres categorías: menos de 350 bovinos; entre 350 y 950 y más de 950 bovinos. Tal como se observa en la Tabla 4 los bovinos mayores de 2 años pertenecientes a aldeas de más de 950 cabezas tuvieron un porcentaje de positivos significativamente mayor que en los de las aldeas de poblaciones menores (X^2 = 10;7; P <0,01).

TABLA 1. *Estratificación de los bovinos muestreados. Colonias Mennonitas, 1973.*

Area piloto	Grupo de aldeas	Población			Muestra		
		Aldeas	Predios	Bovinos	Aldeas	Bovinos <2 años	Bovinos >2 años
A	1 (Menno I)	65	690	28.715	12	189	285
A	3 (Fernheim)	31	432	20.320	9	142	210
A	4 (Neuland)	27	217	13.731	7	112	168
B	2 (Menno II)	19	265	16.329	8	118	194
B	5 (No-Mennonitas)	9	232	18.805	9	128	196
B	6 (Estancias)	3	3	10.000	3	54	94
	Totales	154	1.839	107.900	48	743	1.147

TABLA 2. *Número y tasas de prevalencia de bovinos positivos al antígeno VIA según distribución geográfica y estratos etarios. Colonias Mennonitas, 1973.*

Grupo de aldeas	Edad <2 años		Edad >2 años		Total	
	Nº	Tasa	Nº	Tasa	Nº	Tasa*
1	9	0,05	106	0,37	115	0,24±0,04
2	17	0,14	107	0,55	124	0,40±0,05
3	5	0,04	66	0,31	71	0,20±0,04
4	5	0,04	40	0,24	45	0,16±0,04
5	24	0,19	85	0,43	109	0,34±0,05
6	2	0,04	31	0,33	33	0,22±0,07
Total	62	0,08±0,03	435	0,38±0,02	497	0,26±0,02

*Limites de confianza (95%).

TABLA 3. *Número y porcentaje de animales positivos y negativos al antígeno VIA según edad y experiencia clínica de fiebre aftosa*. Colonias Mennonitas, 1973.*

	Menores de 2 años				Mayores de 2 años				Total			
	Positivo		Negativo		Positivo		Negativo		Positivo		Negativo	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Con fiebre aftosa	34	9	348	91	258	43	337	57	292	30	685	70
Sin fiebre aftosa	4	2	231	98	92	26	263	74	96	16	494	84
Total	38	6	579	94	350	37	600	63	388	25	1179	75

*No se dispone de información sobre la historia clínica de fiebre aftosa en el grupo de aldeas 5.

TABLA 4. *Número y porcentaje de animales positivos y negativos al antígeno VIA según edad y tamaño de la población bovina en las aldeas. Colonias Mennonitas, 1973.*

Población bovina en la aldea	Menores de 2 años				Mayores de 2 años			
	Positivo		Negativo		Positivo		Negativo	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
<350	12	8	147	92	85	36	149	64
350 - 950	30	10	276	90	158	33	317	67
>950	20	7	260	93	192	44	245	56
Total	62	8	683	92	435	38	711	62

DISCUSION

Puesto que la encuesta serológica se realizó en julio de 1973, 18 meses después de la epidemia, era de esperar que algunos bovinos menores de 2 años fueran positivos al VIA. Del 8% de positivos en este grupo (Tabla 2) varios tenían menos de 6 meses de edad en el momento de la sangría. Es posible que en estos terneros los anticuerpos VIA fueran de origen calostral ya que en noviembre de 1973 no fue posible detectar anticuerpos contra el VIA en animales menores de 2 años en 4 de las 6 aldeas donde se habían hallado terneros positivos 4 meses antes. Algunos terneros positivos en las 2 aldeas restantes estuvieron próximos a animales que enfermaron fuera del área piloto durante 1972. Ocho terneros con 10 a 18 meses de edad, no tenían historia de haber estado en contacto con ganado enfermo; sin embargo, fueron positivos al VIA. Esto podría indicar que hubo transmisión de virus de casos subclínicos o portadores.

Por este motivo, cuando se interpreten resultados de encuestas para anticuerpos VIA, se deberá tener en cuenta que si bien animales muy jóvenes pueden tener anticuerpos maternos, también es posible que ocasionalmente ocurra transmisión del virus de la fiebre aftosa de portadores a terneros recién nacidos o animales mayores. Esta última posibilidad aún no ha sido probada experimentalmente.

La vacuna inactivada con AEI utilizada en ambas áreas piloto probablemente no causó un aumento significativo en el número de bovinos positivos, ya que tiene una baja probabilidad de virus vivo residual (7).

Los grupos de aldeas 2 y 5 del Area B, con alto riesgo de enfermedad, tuvieron más altos porcentajes de bovinos positivos que los grupos restantes. El grupo 6, aunque también pertenece al Area B, tuvo una tasa de animales positivos al VIA relativamente baja debido al elevado influjo de bovinos provenientes del Area A.

Las diferencias altamente significativas halladas entre las aldeas con y sin registro de aftosa durante el brote de 1971, refuerzan la hipótesis de que las diferencias entre las tasas de bovinos positivos son debidas a riesgos variables de enfermar. La tasa de 0,26 de adultos positivos en las aldeas no afectadas merece un comentario especial. Estos animales pudieron haberse afectado al final de la epidemia; sin embargo, esto no fue observado (Kaethler, comunicado personal). Pueden haber padecido infección subclínica, tal como ha sido observado aun en bovinos no vacunados (4); por último, pueden haber sido introducidos de aldeas vecinas infectadas. Esto último es lo más probable, dado el movimiento frecuente y no registrado que ocurre dentro de las colonias Mennonitas, especialmente hacia y desde las estancias (grupo 6), lo cual concuerda con la observación de tasas de prevalencia significadamente mayores en las aldeas de más de 950 bovinos.

CONCLUSION

Las encuestas serológicas en grandes poblaciones de bovinos pueden contribuir de forma efectiva al diagnóstico epidemiológico de infecciones por fiebre aftosa en aquellas áreas de América del Sur en que se están desarrollando programas de control. Sin embargo, con el fin de utilizar de la mejor forma posible los resultados de estas encuestas, los siguientes parámetros deberán ser tomados en cuenta:

1. Edad de la población animal

Animales muy jóvenes pueden poseer anticuerpos pasivamente transferidos, lo que no implica que haya habido replicación activa de virus. La selección del ganado a ser encuestado de acuerdo con estructuras etarias es crítica para la detección de la última ocurrencia de fiebre aftosa en el área. La posibilidad de transmisión de virus de portadores de fiebre aftosa a terneros recién nacidos o animales mayores tal como fue sugerido por Hedger (8) y Augé *et al.* (datos no publicados) deberá ser investigada.

2. Persistencia de los anticuerpos VIA

En un estudio anterior (4) se informó que anticuerpos VIA persistieron por lo menos 15 meses postinfección en 5 de 12 bovinos infectados, independientemente de que los animales hubieran o no padecido síntomas clínicos de la enfermedad. En este estudio, aproximadamente 40% de los animales fueron positivos a la prueba de VIA, aun cuando una parte de la población del área piloto posiblemente no estuvo expuesta al virus durante la epidemia de 1971. Podemos presumir, pues, que los anticuerpos contra el antígeno VIA persistieron más tiempo en el estudio del Chaco que en el estudio previo. La causa de esta presencia continua de anticuerpos VIA puede residir en diferencias de cepas de virus, en las pequeñas cantidades de polimerasa contenidas en las vacunas pudiendo actuar como "booster" o en la frecuencia de la infección.

Si bien en la presente encuesta se consideró que la población había sufrido una infección única, cuando se encuesten poblaciones sin historia de la enfermedad se deberá tener en cuenta que infecciones frecuentes con tipos diferentes del virus de fiebre aftosa estimulan respuestas de mayor duración.

3. Movimiento de ganado

En América del Sur el ganado bovino transita frecuentemente a través de distancias considerables con fines de comercialización. Por lo tanto, toda encuesta serológica debe incluir información confiable sobre el recambio de ganado y los sitios de origen del ganado introducido al área. Animales provenientes de áreas de alta incidencia de la enfermedad aumentarán la tasa de prevalencia de anticuerpos VIA en la población sin que esto refleje las tasas de infección reales para el ganado nativo.

Las encuestas para anticuerpos VIA pueden jugar un papel importante para determinar las tasas de infección de grandes poblaciones bovinas vacunadas y pueden constituir una herramienta útil para la vigilancia epidemiológica retrospectiva. Encuestas repetidas anualmente pueden ser un medio particularmente confiable para evaluar el progreso de los programas de control de la fiebre aftosa.

REFERENCIAS

1. ROSENBERG, F.J.; GOIĆ M., R.
Programas de control y prevención de la fiebre aftosa en las Américas. *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa 12*: 1-22, 1973.
2. COWAN, K.M.; GRAVES, J.H.
A third antigenic component associated with foot-and-mouth disease infection. *Virology 30* (4): 528-540, 1966.
3. McVICAR, J.W.; SUTMOLLER, P.
Foot-and-mouth disease: The agar gel diffusion precipitation test for antibody to virus-infection-associated (VIA) antigen as a tool for epizootiologic surveys. *Am. J. Epidemiol. 92* (4): 273-278, 1970.
4. ALONSO FERNANDEZ, A.; AUGÉ DE MELLO, P.; GOMES, I.; ROSENBERG, F.J.
The use of virus-infection-associated antigen (VIA) in the detection of cattle exposed to foot-and-mouth disease virus. *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa 17-18*: 17-22, 1975.
5. HENSEN, N.H.; HURWITZ, W.N.; MEDOW, W.G.
In "Sample surveys methods and theory". Vol. 1, J. Wiley Ed. N. York, 1970.
6. ALONSO FERNANDEZ, A.; SONDAHL, M.S.
Preparación y concentración de los antígenos 140 S, 12 S y VIA del virus de la fiebre aftosa. *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa 17-18*: 1-9, 1975.
7. GRAVES, J.H.; ARLINGHAUS, R.B.
Acetylethyleneimine in the preparation of inactivated foot-and-mouth disease vaccines. *Proceedings 71 Am. Meeting US Livestock Sanitary Assn.* pp. 396-403, 1967.
8. HEDGER, R.S.
The isolation and characterization of foot-and-mouth disease virus from clinically normal herds in Botswana. *J. Hig.*, Camb. *66* (1): 27-36, 1968.