

Selecciones



Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias

<http://rccp.udea.edu.co>

RCCP

Virus de Fiebre Aftosa: Una aproximación al estado del arte [✉]

Foot and Mouth Disease virus: An Approach to the state of the art

Vírus da Febre Aftosa: Uma aproximação ao estado da arte

Julián Ruiz-Sáenz^{1,2*}, MV, MSc; Jairo Jaime², MV, MSc, PhD; Víctor J Vera², MV, MSc, PhD;

¹Estudiante de Doctorado, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia

²Grupo de investigación en Microbiología y Epidemiología, Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá
julianruizsaenz@gmail.com

(Recibido: 5 marzo, 2009; aceptado: 7 mayo, 2009)

Resumen

La fiebre aftosa es una enfermedad viral causada por uno de los miembros prototipo de la familia Picornaviridae, y aunque dicha enfermedad ha sido descrita hace más de 5 siglos, sigue siendo una de las principales barreras económicas y sanitarias tanto para importación como para exportación de ganado bovino y porcino y sus derivados. Dado que el 75% del hato bovino nacional se encuentra libre de la enfermedad con vacunación, es necesario que nos actualicemos en el estado del arte de la enfermedad para poder así estar preparados para el anhelado momento en el que el país sea declarado libre sin vacunación y apartir del cual, un completo conocimiento de la enfermedad, sus factores de riesgo, su correcto reconocimiento y diagnóstico, van a ser clave para mantener este importante estatus zoonosanitario que beneficia tanto a la comunidad ganadera como al país.

Palabras clave: bovino, fiebre aftosa, picornavirus, vacunación.

Summary

Foot-and-Mouth disease (FMD) is a viral disease caused by a prototype member of the Picornaviridae family. Although the disease has been described for more than 5 centuries, it remains one of the major health and economic barriers for cattle and swine import and export. Since 75% of the national cattle herd is FMD free, it is necessary to provide an updated literature review of the disease. Updated information of FMD will assist in the decision making of the need and use of vaccines, especially at the time when the country is declared free of FMD.

Key words: bovines, foot-and-mouth disease (FMD), picornavirus, vaccination.

✉ Para citar este artículo: Ruiz-Sáenz J, Jaime J, Vera VJ. Virus de Fiebre Aftosa: Una aproximación al estado del arte. Rev Colomb Cienc Pecu 2009; 22: 209-220

* Autor para correspondencia: Grupo de Investigación en Microbiología y Epidemiología. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. Edificio de Posgrado 561 B (Antiguo Vecol). Universidad Nacional de Colombia. Sede Bogotá. E-mail: julianruizsaenz@gmail.com.

Resumo

A febre aftosa é uma doença viral causada por dos membros protótipo da família Picornaviridae. Embora que esta doença tem sido descrita a mais cinco séculos, tem sido a principal barreira econômica e sanitária pra a importação e exportação de gado bovino e suíno e seus derivados. Dado que o 75% do rebanho bovino nacional encontra-se livre da doença com vacinação, é necessária a atualização do estado da arte da doença para poder assim estar preparados para o esperado momento em que o país seja declarado livre de vacinação. Momento pelo qual, um completo conhecimento da doença, seus fatores de risco, seu correto reconhecimento e diagnóstico, serão chaves para manter este importante status zoonosanitario que beneficia tanto aos criadores com ao país

Palavras Chave: bovino, febre aftosa, picornavirus, vacinação.

La enfermedad

El primer registro escrito de una enfermedad compatible con la fiebre aftosa probablemente ocurrió en 1514, cuando el italiano Fracastorius describió un brote de enfermedad similar ocurrido en bovinos (28); luego casi 400 años después, Loeffler y Frosch en 1898 demostraron la presencia de un agente filtrable causante de la enfermedad de la fiebre aftosa bovina, siendo esta la primera evidencia de un agente filtrable causante de enfermedad en animales, e iniciando con este hallazgo una nueva era en el estudio de la virología animal (43).

Por nuestra parte, la historia muestra que el ingreso del Virus de Fiebre Aftosa (VFA) a América probablemente se haya producido a partir de la importación de ejemplares desde Gran Bretaña hacia la región del Río de la Plata. Así, la presencia de la enfermedad fue reconocida en América del Sur en 1870, casi simultáneamente en la provincia de Buenos Aires (Argentina), en la región central de Chile, en el Uruguay y en el sur de Brasil.

A Colombia y Venezuela el VFA llegó alrededor de 1950 y desde entonces ha sido considerado enzoótico en nuestro país; en 2007 el 73% del territorio y el 75% del hato bovino nacional fueron declarados libre de la circulación de este virus sin vacunación (35, 58) (véase Figura 1), sin embargo, sigue siendo una de las barreras sanitarias más importante que existe en nuestro país, ya que su presencia hace que se restrinja la circulación de animales desde y hacia algunas áreas de nuestro territorio, bloqueando las exportaciones a los países libres del virus tales como Estados Unidos y los

países que conforman la Comunidad Económica Europea. Sin embargo, se debe tener en cuenta que el VFA recientemente re-emergió en varios de los países de Europa y América, antes declarados libres; para mayo de 2001, Argentina, Francia, Irlanda, los Países Bajos, el Reino Unido (RU) y Uruguay, perdieron el estatus de países libres otorgado por la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE).



Figura 1. Situación actual de Colombia con respecto al VFA. Se presentan las zonas con la certificación otorgada por la Organización Mundial de Sanidad Animal, OIE, como libres de fiebre aftosa (libre sin vacunación y libre con vacunación) (58).

La peor reemergencia de este virus, ocurrió en el RU y en Francia. En 2001, en el RU, se confirmaron alrededor de 3000 casos de animales infectados con el VFA, y 4.000.000 de animales fueron sacrificados. En América las mayores pérdidas económicas debido al VFA las tuvo Argentina, ya que la industria de la carne de este país, se vio afectada por el cierre de mercados por 500 millones de dólares (62).

La fiebre aftosa es una de las enfermedades de importancia veterinaria que tienen mayor repercusión económica en la sociedad; principalmente debido a su naturaleza altamente infecciosa, a su habilidad de causar una infección persistente con fuertes consecuencias en la condición del animal y en la productividad. Los países en los cuales está presente la infección poseen fuertes restricciones económicas y de movilidad (41). La infección en bovinos se ve acompañada invariablemente de: pérdidas en la producción láctea en ganado lechero, reducción en

la tasa de crecimiento en ganado de carne, pérdida temporal de la habilidad de trabajo en búfalos y animales de trabajo, reducción de la fertilidad y muerte de animales jóvenes entre otros; además, de la necesidad de sacrificar a los individuos crónicamente infectados y las fuertes prácticas de manejo tendientes a controlar y erradicar la infección las cuales acarrearán disminución de ingresos económicos de una explotación (57).

La dispersión del VFA es global; la figura 2 muestra los países en los cuales la fiebre aftosa ha sido reportada ante la OIE entre 1990 y 2002 (31). El virus afecta diferentes especies de ganado doméstico tales como cerdos, ovejas, cabras y vacas; todas ellas especies de pezuña hendida. Además afecta la familia Camelidae (miembros del orden Artiodactyla). Aunque todas estas especies animales son susceptibles a la infección por los virus de fiebre aftosa, el grado en el cual diferentes especies, y aun diferentes razas desarrollan enfermedad clínica, varía (68).

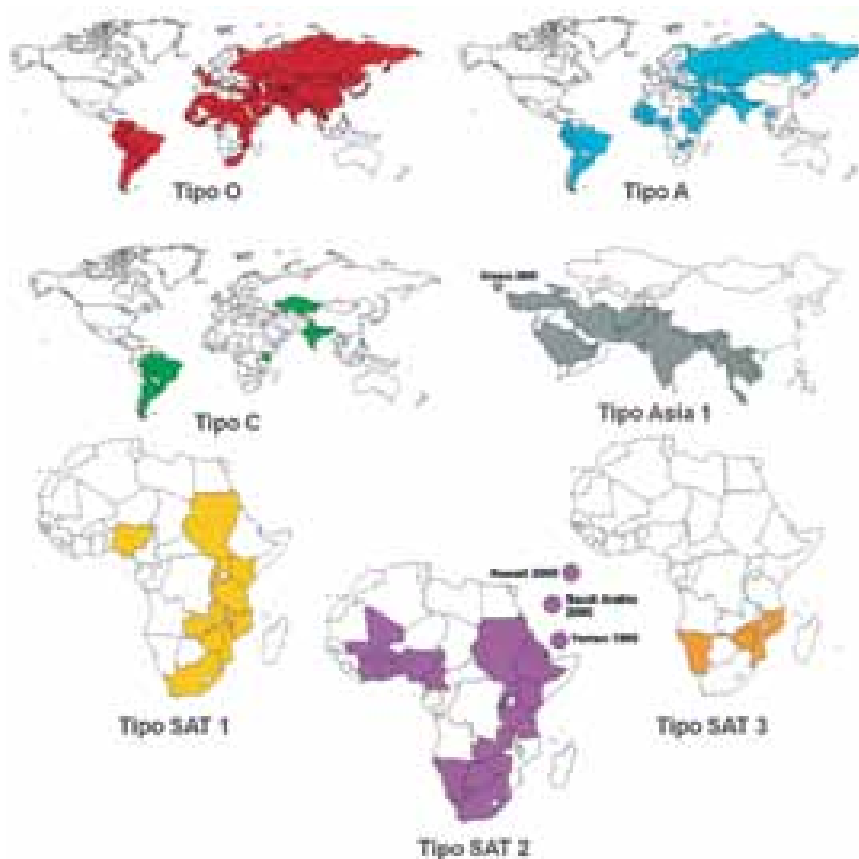


Figura 2. Países en los cuales se ha reportado la presencia del virus de Fiebre Aftosa entre 1990 -2002 (Adaptado de Grubman y Baxt, 2004)

El agente causal

El virus de Fiebre Aftosa (VFA) es el agente viral prototipo del género Aftovirus de la familia Picornaviridae. Esta familia está compuesta por siete serotipos A, O, C, Asia-1, y Territorios de Sur África 1 (South African Territories-1 - SAT1), SAT2, y SAT3, además de una amplia variedad de subtipos y topotipos dentro de cada serotipo, los cuales permiten clasificar los agentes de una manera más específica; además proporcionan información valiosa acerca de la distribución de las cepas virales a fin de tomar medidas epidemiológicas precisas para detener o evaluar la presencia de dichas cepas dentro de las diversas situaciones, tanto endémicas como epidémicas (25, 41, 46)

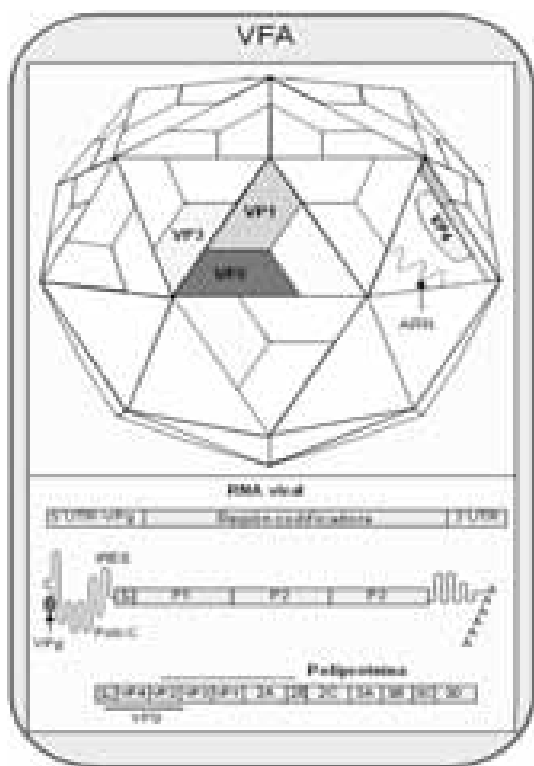


Figura 3. Representación esquemática del virus de fiebre aftosa (VFA). El VFA es una partícula icosaédrica de 25-30 nm de diámetro, formada por el auto-ensamble de las cuatro proteínas virales estructurales (VP1, VP2, VP3 y VP4), al interior de la cápside se encuentra el genoma viral un RNA de polaridad positiva que presenta en los extremos 5' y 3' las regiones no codificantes (UTR del inglés Un-Translated Region), y la región codificante que codifica por una poliproteína que finalmente da lugar a la expresión de las 12 proteínas por las que este virus codifica.

El VFA es un virus pequeño de 25-30 nm de diámetro, desnudo e icosaédrico, el cual, al interior de su cápside protéica almacena un genoma RNA de hebra sencilla y sentido positivo

de aproximadamente 8,400 nucleótidos (46). La cápside viral esta compuesta de aproximadamente 60 copias de las cuatro proteínas estructurales codificadas por el virus, las cuales se denominan VP1 a VP4; como se aprecia en la figura 3, VP1 a VP3 se encuentran en la parte externa de la cápside y VP4 en la parte interior de la misma (38, 46).

Este agente es preservado por refrigeración, congelación y progresivamente inactivado por temperaturas superiores a 50 °C, es inactivado a pH <6.0 o >9.0, y por desinfectantes como el hidróxido de sodio (2%), carbonato de sodio (4%), y ácido cítrico (0.2%); sin embargo es resistente a los yodóforos, a los compuestos cuaternarios de amonio, hipoclorito y fenol, especialmente en presencia de materia orgánica. En el individuo el virus sobrevive en los ganglios linfáticos y la médula ósea con pH neutro, pero se destruye en los músculos a pH <6.0, es decir después del rigor mortis; además puede persistir en forraje contaminado y en el medio ambiente hasta un mes, dependiendo de la temperatura y el pH.

Replicación

Un hallazgo estructural de la superficie externa de la cápside es un asa mayor de VP1, la cual es conformacionalmente flexible; este asa (llamada asa G-H) conforma el mayor sitio antigénico en el virión e incluye en su parte externa un motivo conservado Arginina – Glicina – Ácido Aspártico (RGD) (16, 29). Usando técnicas de inhibición de péptidos sintéticos, dicha región ha sido implicada como sitio de interacción con el receptor celular (1).

En estudios realizados por Sa-Carvalho et al (60), tratando de determinar el receptor utilizado por VFA para entrar a la célula hospedera, han demostrado que los virus atenuados utilizan, in vitro, el heparán sulfato como receptor; sin embargo, trabajos realizados por Neff et al (55) demostraron que los VFA del serotipo A12, patógenos para el ganado, requieren la expresión de la integrina $\alpha V\beta 3$ para iniciar la infección; y que los virus tipo O1BFS, adaptados por pases continuos en cultivos celulares, no patógenos para el ganado, infectan células que expresan heparán - sulfato en la superficie de la célula.

Las integrinas a-b, son miembros de la familia de los receptores proteicos integrinas, se unen a gran cantidad de ligandos, incluyendo fibronectina, fibrinógeno y vitronectina (64). Las integrinas están implicadas en una gran variedad de procesos que incluyen adhesión célula-célula y célula-matriz extracelular; interacción con ligandos extracelulares; inducción de rutas de señalización que participan en procesos de proliferación celular y apoptosis; y participación en procesos fisiológicos que incluyen entre otros, embriogénesis y migración celular.

Integrinas como las avb3 (27), a5b1 (36), avb1 (39), avb8 (37), avb5 (26), avb6 (40, 50), han sido implicadas en la susceptibilidad de células a la infección con el VFA. Recientes estudios usando RT-PCR e inmunohistoquímica confirman que la expresión de la integrina avb6 está restringida a células epiteliales de sitios blanco de la infección por el VFA, tales como epitelio de vías aéreas superiores, cavidad oral, tracto gastrointestinal, bandas coronarias de los cascos, etc., y de manera muy importante, es expresada en altos niveles en el epitelio de las criptas tonsilares de las vías aéreas en ovejas y bovinos, los cuales son el sitio primario de replicación del virus, confirmándose así el papel de esta integrina como receptor celular (15).

El virus entra a la célula por endocitosis mediada por receptores, en un proceso que es fuertemente aumentado por la adhesión inicial del virus a los receptores en la superficie celular. Una vez el virus se encuentra dentro del endosoma, el bajo pH de este compartimento desencadena el desnudamiento y liberación del genoma viral, el cual se trasloca al citosol a través de la membrana endosomal (12, 56).

El RNA genómico por su polaridad positiva funciona como RNA mensajero (mRNA) y por lo tanto por sí solo es infeccioso. Presenta en el extremo 5', una pequeña proteína denominada proteína viral asociada al genoma (VPg) unida por un enlace fosfoéster. Luego, se encuentra una región altamente estructurada de aproximadamente 834 nucleótidos conocida como 5UTR, la cual presenta una región rica en citocinas (PoliC) y el sitio de entrada al ribosoma (IRES) el cual se une directamente a los ribosomas, seguido por la fase abierta de lectura. En el extremo 3' se encuentra la

región 3UTR que tiene una región rica en purinas, localizada entre el codón de parada (que define el fin de la traducción) y una cola poliA de longitud variable. Una molécula de RNA es suficiente para iniciar la infección, lo cual implica que esta puede funcionar como molde para la traducción, para producir la enzima polimerasa y como plantilla para la replicación del RNA (9, 47).

El genoma del VFA es policistrónico (véase Figura 2); presenta tres cistrones que se denominan P1, P2 y P3, que al ser traducido por los ribosomas origina una poliproteína, que posteriormente es clivada por las proteasas virales L, 2A y 3C. El RNA tiene dos sitios alternativos de iniciación de la traducción, ya sea en la región que corresponde a la proteinasa L o en P1 y codifica por 12 proteínas de las cuales cuatro estructurales forman la cápside viral y ocho no estructurales, necesarias para la replicación viral e inhibición de algunas funciones de la célula huésped (44).

El primer producto de la traducción es la proteinasa L, esencial para la rápida replicación del genoma de VFA ya que además de hacer el autoclivaje del péptido naciente, inactiva el factor cuatro de iniciación de la traducción de células eucarióticas (eIF-4G). Este factor es fundamental para la traducción de los mRNA del hospedero, los cuales inician la traducción por un mecanismo dependiente de 7-metilguanosa (CAP). En el VFA, la iniciación de la traducción de la poliproteína se produce por un mecanismo independiente de CAP, ya que en su lugar presenta el internal ribosomal entry site (IRES). Cuando la proteinasa L ejerce su función, inhibe la síntesis de proteínas de la célula hospedera y promueve la síntesis de las proteínas virales. De esta manera, se ve comprometida la capacidad de la célula hospedera, para montar una respuesta antiviral por su incapacidad para sintetizar nuevas moléculas proteicas (21).

Después de que el RNA viral entra al ribosoma, se produce una poliproteína que se autoprocresa y da origen a la proteinasa L y a los tres polipéptidos P1, P2 y P3. P1 se separa de la poliproteína naciente por procesamiento proteolítico realizado por la proteasa 2A y codifica las proteínas estructurales,

VP1, VP2, VP3 y VP4 que se ensamblan para formar la cápside viral icosaédrica. P2 codifica tres proteínas implicadas en diferentes funciones como son el procesamiento primario que separa el péptido nascente P1 (P2A), la interrupción de las funciones de la membrana, resultando en la inhibición de la secreción y el incremento de la permeabilidad de la membrana plasmática (P2B) y la reorganización estructural de membranas intracelulares y formación de vesículas intracelulares dentro de las cuales se realiza la iniciación y elongación de la síntesis de RNA viral (P2C)(45). P3 codifica por cuatro proteínas no estructurales; P3A la cual se encuentra asociada a las membranas en el complejo de replicación y ejerce alguna función, aun no esclarecida, en la replicación del genoma viral; P3B, que se une al genoma viral y se denomina VPg, siendo el cebador utilizado para iniciar la replicación del genoma viral; P3Cpro, una proteasa viral encargada de los procesamientos postraduccionales de las proteínas virales y P3Dpol, una proteína de que funciona como RNA polimerasa dependiente de RNA encargada de la replicación del RNA viral (45).

Cuando se producen las proteínas necesarias para el proceso de replicación del genoma viral, se forman los complejos de replicación, donde el RNA del virus infeccioso, actúa como molde para la síntesis de la cadena complementaria en sentido negativo por medio de la P3Dpol. La nueva cadena de RNA sirve a su vez como molde para la síntesis de cadenas de sentido positivo. Solamente el 10% del RNA viral presente en una célula infectada es encapsidado. Todos los RNA encapsidados terminan con VPg, sugiriendo que esta proteína juega un papel importante en la selección de los genomas a encapsidar (23, 48).

El proceso de replicación del VFA es un proceso rápido y eficaz, una hora después de la infección se observa en las células hospederas una condensación de la cromatina, 3 horas posinfección la proliferación de membranas al interior de la célula infectada y seis horas pos infección se produce la lisis de la célula hospedera y salida de la nueva progenie viral (33).

Patogénesis

La principal fuente de infección parece ser aerosoles y secreciones de faringe y tracto

respiratorio. Los aerosoles se producen localmente y se transmiten a través de la ingestión de alimentos contaminados y por contacto directo aunque pueden ser transmitidos a distancias considerables bajo condiciones ambientales adecuadas (4).

La enfermedad producida por el VFA en bovinos es aguda, muy contagiosa (morbilidad 100%) y se caracteriza por pirexia, anorexia y reducción de la producción de leche durante 2-3 días. Posteriormente aparecen las vesículas, observándose chasquido de labios, rechinar de dientes, babeo, cojera, pateo o coceo, síntomas causados por vesículas (aftas) en las membranas de las mucosas bucales y nasales y/o entre las pezuñas, la banda coronaria y en las glándulas mamarias. Después de 24 horas de su aparición se produce la ruptura de las vesículas, dejando erosiones en las superficies afectadas, las cuales facilitan las infecciones bacterianas secundarias, lo que aumenta los costos de recuperación del animal. La aparición de los signos clínicos es usualmente rápida y las lesiones pueden desarrollarse uno o dos días después de la infección, dependiendo de la cepa del virus y de la cantidad del inóculo; alcanzando una mortalidad baja en adultos (2-5%). Los virus se pueden aislar de diferentes tejidos, incluyendo músculo cardíaco en terneros llevando a un aumento de la mortalidad en animales jóvenes (50%). La recuperación suele producirse en un plazo de 8-15 días

El VFA ingresa al hospedero por inhalación o ingestión a través del tracto respiratorio superior, exhibiendo un fuerte tropismo viral por las células epiteliales; aunque también puede ingresar a través de abrasiones de la piel o de las mucosas de manera menos eficiente (se requiere 10.000 veces más virus infecciosos que en la vía respiratoria) (3). Luego de la infección natural en rumiantes, se da una primera onda de replicación viral, la cual sucede en las células de la oro-faringe principalmente. Durante el desarrollo de la enfermedad, el virus es ampliamente diseminado a través de cuerpo, alcanzando otros tejidos epiteliales (pezones, bandas coronarias, etc.) en los cuales se da la replicación secundaria (4, 31).

Los cerdos generalmente adquieren la enfermedad por consumo de alimento infectado con

el VFA, a través de contacto directo con animales infectados o por ser alojados en sitios en los cuales se tuvieron animales infectados; sin embargo, los cerdos son menos susceptibles a la infección con virus en aerosol que el ganado bovino (2, 3). El cerdo tiene un papel relevante en la vigilancia epidemiológica de fiebre aftosa, al multiplicar pequeñas cantidades de virus que haya ingresado la mayoría de las veces por su vía digestiva (multiplica 3000 veces más virus que un bovino) y no es portador de virus luego de su recuperación clínica (2). Al igual que en bovino, el periodo de incubación es dependiente de la dosis de virus y la ruta de infección, aunque en promedio se puede decir que es de 2 días.

En los animales infectados; la diseminación del virus es muy rápida y es posible encontrar virus infeccioso en sangre, leche y saliva antes de que aparezcan las vesículas; sin embargo, todos los fluidos incluyendo orina, leche, heces y semen pueden tener capacidad infecciosa antes del periodo en el que las vesículas se rompan. El líquido vesicular es altamente infeccioso ya que contiene una alta concentración del virus. Aunque se considera que los animales tienen máxima capacidad infecciosa durante cuatro días, muchos conservan esta capacidad de transmisión por periodos más largos, ya que en algunos animales el VFA después del estado agudo de infección puede producir portadores sanos, causando una infección persistente prolongada y asintomática (30).

La mayor parte de las poblaciones de búfalos africanos (*Syncerus caffer*) mantenidos en libertad, al menos en África austral, tienen altos índices de infección con virus de fiebre aftosa y algunos animales pueden mantener la infección por periodos de al menos 5 años. Si bien los búfalos acuáticos (*Bubalus arnee*) que están domesticados son un género diferente y no se pueden extrapolar los estudios en el búfalo africano salvaje (*Syncerus caffer*), ellos desarrollan regularmente lesiones características de fiebre aftosa a pesar de que su susceptibilidad a la enfermedad y la gravedad de las lesiones puedan variar, de profundas a no aparentes y pruebas realizadas indican persistencia del virus en estos animales hasta 24 por meses (10, 70).

En ovino y caprino las lesiones son menos pronunciadas, pueden observarse lesiones en las almohadillas dentarias de los ovinos; las lesiones podales, cuando existen, pueden pasar desapercibidas al examen clínico, la agalactia es característica en ovinos y caprinos lecheros. Los ovinos son altamente susceptibles a la infección por virus en aerosoles, y son una especie de importancia epidemiológica debido a la dificultad de establecer un claro diagnóstico durante un evento epidémico, pues luego del brote de Inglaterra en 2001 se ha reportado que cerca del 25% de los animales infectados no desarrollan lesiones clínicas y un 20% adicional sólo desarrollan una lesión, mostrando a estos animales como una fuente importante de infección durante un brote (34).

Respuesta del hospedero

La infección con VFA provoca una fuerte respuesta de anticuerpos neutralizantes que preceden la recuperación; la inmunidad contra virus del mismo serotipo es prolongada y aparece entre 7 y 14 días luego de la infección. Se han descrito en la proteína de la cápside viral (VP1) cuatro sitios antigénicos, capaces de inducir la producción de anticuerpos neutralizantes (14, 45). Además, se producen anticuerpos no protectores contra sitios antigénicos de otras proteínas del virus como las proteínas VP2 y VP3; contra la subunidad pentamérica de la cápside viral y contra proteínas no estructurales, especialmente la RNA polimerasa.

La inmunidad mediada por células y por anticuerpos es esencial en el control de la infección natural por el hospedero. La neutralización del virus dentro del hospedero ocurre por mecanismos dependientes de anticuerpos similares a los que ocurren en la neutralización *in vitro*; sin embargo se sugiere que los macrófagos juegan un papel esencial en la limpieza del virus de los tejidos del animal a través de la fagocitosis de virus opsonizados (59). Luego de la vacunación, que se hace con vacuna a virus inactivado, solamente la inmunidad humoral mediada por anticuerpos es activada y se producen anticuerpos neutralizantes de la infección para los serotipos del virus que se incluyan en la vacuna (61).

Se ha reportado un papel importante de los linfocitos T CD4+ y CD8+ durante la infección y vacunación tanto en bovinos como en porcinos, y su principal actividad se atribuye a la limpieza de virus de los tejidos de animales persistentemente infectados (17). Adicionalmente, el interferón (IFN) y otras citoquinas se han visto involucradas en el proceso de recuperación de la infección; involucrando los IFN -a, IFN -b, y IFN -g (18, 20, 72) y citoquinas como la interleuquina 6 (IL-6), IL-8 e IL-12, las cuales incrementan su concentración plasmática luego de la vacunación o reto con virus, induciendo activación de monocitos/macrófagos (8, 71)

El estado de “Portador”

Luego de la fase aguda de infección en rumiantes, algunos animales experimentan una fase de infección asintomática persistente en tejido de la faringe y el paladar blando; este estado, es una fuerte complicación durante un episodio de brote epidémico. Un animal portador está definido técnicamente como un animal en el cual es posible recuperar virus infecciosos luego de 28 días o un periodo mayor luego de una infección (57). En bovinos se ha reportado que este estado puede durar en promedio 3.5 años y puede ocurrir en ovejas y cabras, mas no se ha reportado en cerdos (63). Se ha afirmado que el estado de portador, puede durar en promedio 5 años en búfalos africanos y que el estado de portador puede alcanzar hasta un 50 a un 70% de la población (22).

El mecanismo de establecimiento y mantenimiento del estado de portador no esta completamente claro aun, sin embargo se considera que el estatus inmune del animal controla el nivel de replicación del virus. Se han propuesto dos mecanismos para el desarrollo de la persistencia en la faringe de los animales; el primero sugiere que el VFA puede infectar células del sistema inmune, como los macrófagos, u otras dentro de sitios inmunológicamente privilegiados, llevando así a una evasión de la respuesta inmune (5, 11); el segundo mecanismo propone que el VFA evade y destruye la respuesta inmune posiblemente boqueando las cascadas de señalización de

citoquinas proporcionando así un ambiente optimo para la replicación y mantenimiento de la persistencia (5). Existe un tercer mecanismo conocido con el nombre de trans-capsidación con agentes virales emparentados, el cual fue reportado a comienzo de los años 70, el cual sugiere que en un caso dado en el cual el VFA y el enterovirus bovino logren co-infectar la misma célula, el VFA puede llegar a ensamblarse en la cápside del enterovirus; sin embargo, aunque este evento llegase a suceder, no es un mecanismo necesario para el desarrollo del estado portador (66, 69)

Actuales estrategias vacunales

La vacunación contra la fiebre aftosa se viene realizando desde hace más de cien años utilizando productos de animales enfermos (aftización). El estándar internacional de vacuna anti VFA es una vacuna a virus vivo inactivado con Etilenimina Binnaria (Aziridina) la cual es formulada con un adyuvante, como Hidróxido de Aluminio/saponina para las vacunas de los rumiantes o con adyuvantes oleosos para las de los porcinos. Estas formulaciones varían internacionalmente de acuerdo a las cepas circulantes en cada región del mundo. En Colombia se usa una vacuna polivalente la cual induce una óptima repuesta protectora para los serotipos O1 Campos y A24 Cruzeiro que circulan en el país (51).

En la actualidad se está investigando la utilización de vacunas obtenidas a partir de proteínas o fracciones virales, péptidos sintéticos o de ADN, todas tratando de disminuir el uso de virus infecciosos en preparaciones vacunales. Las principales estrategias se han encaminado a uso de las características inmunogénicas de VP1, y principalmente de su asa G-H, ya sea aislada de virus purificados o producida mediante tecnologías de ADN recombinante, usando péptidos derivados de VP1 o péptido sintetizados químicamente, usando vectores que expresan péptidos de fusión de VP1 o el uso de plantas transgénicas que expresan VP1 solas o por intermedio de infección con virus del mosaico del tabaco, entre otras; muchas son las aproximaciones experimentales que se han abordado, sin embargo todas estas estrategias presentan un grupo de inmunógenos limitado al individuo (24),

y aunque los individuos desarrollen altos títulos de anticuerpos, no siempre desarrollan la inmunidad necesaria para protegerlos ante un reto con virus silvestre (53, 54, 65). Además, se ha reportado la presencia de mutantes virales que escapan fácilmente a la protección péptido específica (67).

Otras alternativas se han enfocado al desarrollo de vacunas vivas atenuadas usando técnicas de ingeniería genética dirigidas a eliminar o mutar regiones específicas tales como la región RGD, la cual es la región de unión con el receptor, generando virus inmunogénicos pero con deficiencias para penetrar a la célula huésped (49); sin embargo, es bien sabido que algunas variantes virales pueden entrar a la célula blanco de una manera independiente de integrinas (6, 7). También se han intentado deleciones en otros sitios tales como regiones codificantes de proteínas no estructurales como la Lpro (19) sin embargo la principal deficiencia es encontrar el tipo de deleción óptima que permita la suficiente replicación para que el individuo pueda generar una buena inmunidad y que no cause enfermedad.

Una estrategia más compleja involucra el clonaje molecular de las regiones genómicas necesarias para la síntesis, procesamiento y el ensamblaje de las proteínas estructurales en cápsides virales; estas estructuras son antigénicamente similares a las partículas virales completas y son tan inmunogénicas como éstas. No obstante, se han empleado un sin número de alternativas con el fin de lograr una mayor eficiencia en la expresión de los constructos que formarán las cápsides, utilizándose desde sistemas de expresión de *E coli* hasta baculovirus, adenovirus y poxvirus recombinantes entre otros (32, 42, 52).

Diagnóstico por laboratorio

Teniendo en cuenta que la enfermedad es clínicamente indiferenciable de otras patologías y la importancia de un rápido diagnóstico en el proceso de toma de decisiones en programas de control y erradicación, es crítico tener un panel de ayudas que aseguren la calidad del diagnóstico presuntivo dado por el clínico. El diagnóstico de la enfermedad

puede hacerse por aislamiento viral, sin embargo, la identificación del agente viral o su genoma en muestras de tejidos o fluidos, no es suficiente para dar un diagnóstico positivo. La presencia del agente puede ser demostrada por medio de técnicas clásicas como la fijación del complemento y el aislamiento o por pruebas convencionales como el ELISA y, la RT-PCR, la cual por su mayor sensibilidad y especificidad ha cobrado gran fuerza a nivel internacional (57).

Por otro lado, la identificación de anticuerpos específicos puede también ser una herramienta útil en el diagnóstico de la enfermedad. La identificación de anticuerpos positivos para VFA en un hato sin antecedentes de vacunación es suficiente evidencia para dar un diagnóstico positivo. El uso y estudio de anticuerpos específicos contra proteínas no estructurales permiten la diferenciación de animales vacunados de animales infectados, ya que las proteínas no estructurales sólo se expresan luego de la replicación viral y esta no ocurre en los animales vacunados (13). La identificación de anticuerpos puede hacerse por medio de pruebas de seroneutralización y de ELISA, siendo las últimas el estándar internacional, al ser más rápidas y sensibles; además, al utilizar antígenos inactivados presentan menores riesgos de bioseguridad para los laboratorios de diagnóstico. Actualmente se tienen pruebas de ELISA internacionalmente aceptadas para movilización de animales a nivel mundial (57). En el caso de América latina, el Centro Panamericano de Fiebre Aftosa – PANAFTOSA, ha establecido ampliamente el uso de la técnica de Inmunoelctrotransferencia como test confirmatorio en los sistemas de vigilancia epidemiológica (57).

Conclusiones

El VFA constituye una de las barreras sanitarias más importante que existe en el mundo, ya que su presencia hace que se restrinja la circulación de animales desde y hacia áreas del mundo portadoras, bloqueando las exportaciones hacia países libres del virus tales como Estados Unidos y la Comunidad Económica Europea, y restringiéndose tanto la

comercialización de animales como toda clase de subproductos proteicos derivados de dicha industria.

Aunque Colombia posee la gran mayoría del territorio libre con vacunación, es necesario recalcar que la vacuna sólo protege durante 6 meses contra los subtipos circulantes en el país (A y O), lo cual hace que sea necesario que se revacune la población ganadera nacional cada 6 meses, aumentándose considerablemente los costos en prevención y en nuestro caso erradicación de la infección; Adicionalmente es necesario concientizar la población de la importancia de restringir las barreras zoonositarias y las importaciones “ilegales” de animales de los países vecinos, no sólo por su estatus epidemiológicos sino por el hecho de que algunos de ellos también tienen VFA subtipo C (véase Figura 2) el cual no se encuentra presente en nuestro país y por tanto no se encuentra en las formulaciones vacunales dejando a nuestros ganados susceptibles a este.

Referencias

- Alcalá P, Feliu JX, Arís A, Villaverde A. Efficient Accommodation of Recombinant, Foot-and-Mouth Disease Virus RGD Peptides to Cell-Surface Integrins. *Biochem biophys res commun* 2001; 285:201-206.
- Alexandersen S, Brotherhood I, Donaldson AI. Natural aerosol transmission of foot-and-mouth disease virus to pigs: minimal infectious dose for strain O1 Lausanne. *Epidemiol Infect* 2002; 128:301-12.
- Alexandersen S, Donaldson AI. Further studies to quantify the dose of natural aerosols of foot-and-mouth disease virus for pigs. *Epidemiol Infect* 2002; 128:313-23.
- Alexandersen S, Zhang Z, Donaldson AI, Garland AJ. The pathogenesis and diagnosis of foot-and-mouth disease. *J Comp Pathol* 2003; 129:1-36.
- Alexandersen S, Zhang Z, Donaldson AI. Aspects of the persistence of foot-and-mouth disease virus in animals--the carrier problem. *Microbes Infect* 2002; 4:1099-110.
- Baranowski E, Ruiz-Jarabo CM, Lim F, Domingo E. Foot-and-mouth disease virus lacking the VP1 G-H loop: the mutant spectrum uncovers interactions among antigenic sites for fitness gain. *Virology* 2000; 288:192-202.
- Baranowski E, Ruiz-Jarabo CM, Sevilla N, Andreu D, Beck E, Domingo E. Cell recognition by foot-and-mouth disease virus that lacks the RGD integrin-binding motif: flexibility in aphthovirus receptor usage. *J Virol* 2000; 74:1641-1647.
- Barnett PV, Cox SJ, Aggarwal N, Gerber H, McCullough KC. Further studies on the early protective responses of pigs following immunisation with high potency foot and mouth disease vaccine. *Vaccine* 2002; 20:3197-208.
- Bassili G, Tzima E, Song Y, Saleh L, Ochs K, Niepmann M. Sequence and secondary structure requirements in a highly conserved element for foot-and-mouth disease virus internal ribosome entry site activity and eIF4G binding. *J Gen Virol* 2004; 85:2555-65.
- Bastos AD, Boshoff CI, Keet DF, Bengis RG, Thomson GR. Natural transmission of foot-and-mouth disease virus between African buffalo (*Syncerus caffer*) and impala (*Aepyceros melampus*) in the Kruger National Park, South Africa. *Epidemiol Infect* 2000; 124:591-8.
- Baxt B, Mason PW. Foot-and-mouth disease virus undergoes restricted replication in macrophage cell cultures following Fc receptor-mediated adsorption. *Virology* 1995; 207:503-9.
- Berryman S, Clark S, Monaghan P, Jackson T. Early events in integrin avb6 mediated cell entry of Foot-and-Mouth Disease Virus. *J Virol* 2005; 79: 8519-8534.
- Brocchi E, Bergmann IE, Dekker A, Paton DJ, Sammin DJ, et al. Comparative evaluation of six ELISAs for the detection of antibodies to the non-structural proteins of foot-and-mouth disease virus. *Vaccine* 2006; 24:6966-79.
- Brown F, Benkirane N, Limal D, Halimi H, Newman JF, et al. Delineation of a neutralizing subregion within the immunodominant epitope (GH loop) of foot-and-mouth disease virus VP1 which does not contain the RGD motif. *Vaccine* 1999; 20:18:50-6.
- Brown JK, McAleese SM, Thornton EM, Pate JA, Schock A, et al. Integrin-avb6, a Putative Receptor for Foot-and-Mouth

Queremos resaltar que es necesario aunar esfuerzos tanto de los entes públicos encargados de la sanidad animal como de la academia como ente formador, para proponer medidas efectivas de prevención encaminados a mantener el estatus de libre de la enfermedad, lo cual redundará en beneficio de toda la población colombiana, y más aun cuando nos acercamos a los diferentes tratados de libre comercio internacionales y la posibilidad de ser declarados país libre sin vacunación, estatus en el cual la prevención y correcto control fronterizo de entrada de animales serán las claves para evitar las pérdidas económicas.

Agradecimientos

Los autores deseamos agradecer a los Doctores Ortiz y Sanmiguel por facilitar el mapa actualizado del proceso de erradicación del VFA.

- Disease Virus, Is Constitutively Expressed in Ruminant Airways. *J Histochem Cytochem* 2006; 54:807-816.
16. Burman A, Clark S, Abrescia NG, Fry EE, Stuart DI, Jackson T. Specificity of the VP1 GH loop of Foot-and-Mouth Disease virus for alphav integrins. *J Virol* 2006; 80:9798-810.
 17. Childerstone AJ, Cedillo-Baron L, Foster-Cuevas M, Parkhouse RM. Demonstration of bovine CD8+ T-cell responses to foot-and-mouth disease virus. *J Gen Virol* 1999;80:663-9.
 18. Chinsangaram J, Koster M, Grubman MJ. Inhibition of L-deleted foot-and-mouth disease virus replication by alpha/beta interferon involves double-stranded RNA-dependent protein kinase. *J Virol* 2001; 75:5498-503.
 19. Chinsangaram J, Mason PW, Grubman MJ. Protection of swine by live and inactivated vaccines prepared from a leader proteinase-deficient serotype A12 foot-and-mouth disease virus. *Vaccine* 1998; 16:1516-22.
 20. Chinsangaram J, Moraes MP, Koster M, Grubman MJ. Novel viral disease control strategy: adenovirus expressing alpha interferon rapidly protects swine from foot-and-mouth disease. *J Virol* 2003; 77:1621-5.
 21. Chinsangaram J, Piccone ME, Grubman MJ. Ability of foot-and-mouth disease virus to form plaques in cell culture is associated with suppression of alpha/beta interferon. *J Virol* 1999; 73:9891-8.
 22. Condy JB, Hedger RS, Hamblin C, Barnett IT. The duration of the foot-and-mouth disease virus carrier state in African buffalo (i) in the individual animal and (ii) in a free-living herd. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 1985; 8:259-65.
 23. Curry S, Fry E, Blakemore W, Abu-Ghazaleh R, Jackson T, King A, et al., Dissecting the roles of VP0 cleavage and RNA packaging in picornavirus capsid stabilization: the structure of empty capsids of foot-and-mouth disease virus. *J Virol* 1997; 71:9743-52.
 24. DiMarchi, G. Brooke, C. Gale, V. Cracknell, T. Doel and N. Mowat, Protection of cattle against foot-and-mouth disease by a synthetic peptide, *Science* 1986; 232:639-641.
 25. Domingo E, Escarmís C, Baranowski E, Ruiz-Jarabo CM, Carrillo E, Núñez JI, Sobrino F. Evolution of Foot and Mouth disease virus. *Virus res* 2003; 91: 47-63.
 26. Duque H, Baxt B. Foot-and-mouth disease virus receptors: comparison of bovine alpha(V) integrin utilization by type A and O viruses. *J Virol* 2003; 77:2500-2511.
 27. Duque H, LaRocco M., Golde Wt., Baxt B. Interactions of Foot-and-Mouth Disease Virus with Soluble Bovine aVb3 and aVb 6 Integrins. *J Virol* 2004; 78:9773-9781.
 28. Fracastorius, H., 1546. De sympathia et antipathia rerum liber unus. De Contagione et Contagiosis Morbis et Curatione Bk. 1, Chap. 12. Venecia, 1546.
 29. Fry EE, Newman JW., Curry S., Najjam S., Jackson T., Blakemore W, et al. The structure of foot-and-mouth disease virus serotype A1061 alone and complexed with oligosaccharide receptor: receptor conservation in the face of antigenic variation. *J Gen Virol* 2005; 86:1909-1920.
 30. Gailiunas P, Cottral GE. Presence and persistence of foot-and-mouth disease virus in bovine skin. *J Bacteriol* 1966; 91:2333-8.
 31. Grubman MJ, Baxt B. Foot-and-mouth disease. *Clin Microbiol Rev* 2004; 17:465-493.
 32. Grubman MJ, Lewis SA, Morgan DO. Protection of swine against foot-and-mouth disease with viral capsid proteins expressed in heterologous systems. *Vaccine* 1993; 11:825-829.
 33. Horsington J, Zhang Z. Analysis of foot-and-mouth disease virus replication using strand-specific quantitative RT-PCR. *J Virol Methods* 2007; 144:149-55.
 34. Hughes GJ, Mioulet V, Haydon DT, Kitching RP, Donaldson AI, Woolhouse ME. Serial passage of foot-and-mouth disease virus in sheep reveals declining levels of viraemia over time. *J Gen Virol* 2002; 83:1907-14.
 35. ICA - Instituto Colombiano Agropecuario. Resolución No. 1681; Por medio de la cual se establece la situación sanitaria en las diferentes zonas del país en relación con la fiebre aftosa; Bogotá, 28 Junio de 2007.
 36. Jackson T, Blakemore W, Newman JW, Knowles NJ, Mould AP, et al. Foot-and-mouth disease virus is a ligand for the high-affinity binding conformation of integrin $\alpha 5\beta 1$: influence of the leucine residue within the RGDL motif on selectivity of integrin binding. *J Gen Virol*; 2000; 81:1383-91.
 37. Jackson T, Clark S, Berryman S, Burman A, Cambier S, et al. Integrin $\alpha v\beta 8$ Functions as a Receptor for Foot-and-Mouth Disease Virus: Role of the b-Chain Cytodomain in Integrin-Mediated Infection. *J Virol* 2004; 78:4533-4540.
 38. Jackson T, King AM, Stuart D, Fry E. Structure and Receptor binding. *Virus res* 2003; 91:33-46.
 39. Jackson T, Mould AP, Sheppard D, King AM. Integrin $\alpha v\beta 1$ Is a Receptor for Foot-and-Mouth Disease Virus. *J Virol* 2002; 76:935-941.
 40. Jackson T, Sheppard D, Denyer M, Blakemore W, King AM. The Epithelial Integrin $\alpha v\beta 6$ is a Receptor for Foot-and-Mouth Disease Virus. *J Virol* 2000; 74:4949-4956.
 41. Knowles NJ, Samuel AR. Molecular epidemiology of foot-and-mouth disease virus. *Virus Res* 2003; 91:65-80.
 42. Li Z, Yi Y, Yin X, Zhang Z, Liu J. Expression of foot-and-mouth disease virus capsid proteins in silkworm-baculovirus expression system and its utilization as a subunit vaccine. *PLoS ONE* 2008; 3:e2273.
 43. Loeffler F, Frosch P. Berichte der Kommission zur Erforschung der Maul- und Klauenseuche bei dem Institut für Infektionskrankheiten in Berlin. *Centralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten, Abt. I* 23, 1898; 371:91.
 44. López de Quinto S, Martínez-Salas E. Parameters influencing translational efficiency in aphthovirus IRES-based bicistronic expression vectors *Gene* 1998; 217:51-6.

45. Mann JA, Seller RF. Foot-and-mouth disease virus. In: Dinter, Z. and Morein, B., Editors, 1990. Virus infection of vertebrates Vol. 3, Elsevier, Amsterdam, 1990. pp. 503–512.
46. Manson PW, Grubman MJ, Baxt B. Molecular basis of pathogenesis of FMDV. *Virus res* 2003; 91:9-32.
47. Mason PW, Bezborodova SV, Henry TM. Identification and characterization of a cis-acting replication element (cre) adjacent to the internal ribosome entry site of foot-and-mouth disease virus. *J Virol* 2002; 76:9686-94.
48. McInerney GM, King AM, Ross-Smith N, Belsham GJ. Replication-competent foot-and-mouth disease virus RNAs lacking capsid coding sequences. *J Gen Virol* 2000; 81:1699-702.
49. McKenna TS, Lubroth J, Rieder E, Baxt B, Mason PW. Receptor binding site-deleted foot-and-mouth disease (FMD) virus protects cattle from FMD. *J Virol* 1995; 69:5787-90.
50. Miller LC, Blakemore W, Sheppard D, Atakilil A, King AM, Jackson T. Role of the Cytoplasmic Domain of the b-Subunit of Integrin avb6 in Infection by Foot-and-Mouth Disease Virus. *J Virol* 2001; 75:1458 – 1464.
51. Mondragón N, Vera V, Restrepo G. Evaluación de dos formulaciones de vacuna antiaftosa oleosa bivalente (O1 campos y A24 cruzeiro) preparadas con dos sistemas diferentes de purificación y concentración *Rev Colomb Cienc Pecu* 2006; 19: 373-81.
52. Moraes MP, Mayr GA, Mason PW, Grubman MJ. Early protection against homologous challenge after a single dose of replication-defective human adenovirus type 5 expressing capsid proteins of foot-and-mouth disease virus (FMDV) strain A24. *Vaccine* 2002; 20:1631-9.
53. Mulcahy G, Gale C, Robertson P, Iyisan S, DiMarchi RD, Doel TR. Isotype responses of infected, virus-vaccinated and peptide-vaccinated cattle to foot-and-mouth disease virus. *Vaccine* 1990; 8:249-56.
54. Mulcahy G, Reid E, Dimarchi RD, Gale C, Doel TR. Maturation of functional antibody affinity in animals immunised with synthetic foot-and-mouth disease virus. *Res Vet Sci* 1992; 52:133-40.
55. Neff S, Sa-Carvalho D, Rieder E, Mason PW, Blystone SD, Brown EJ, Baxt B. Foot-and-mouth disease virus virulent for cattle utilizes the integrin avb3 as its receptor. *J Virol* 1998; 72:3587–3594.
56. O'Donnell V, LaRocco M, Duque H, Baxt B. Analysis of foot-and-mouth disease virus internalization events in cultured cells. *J Virol* 2005; 79:8506-18.
57. OIE - Organización Mundial de Sanidad Animal. Foot and Mouth Disease. In: Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2008 Chapter 2 .1.5. pag 190-217.
58. OIE - Organización Mundial de Sanidad Animal. Resolución XXI del 25 de mayo de 2007. Reconocimiento de la situación sanitaria de los países miembros respecto de la Fiebre aftosa. París, Mayo de 2007.
59. Rigden RC, Carrasco CP, Summerfield A, McCullough KC. Macrophage phagocytosis of foot-and-mouth disease virus may create infectious carriers. *Immunology* 2002; 106:537-48.
60. Sa-Carvalho D, Rieder E, Baxt B, Rodarte R, Tanuri A, Mason PW. Tissue culture adaptation of foot-and-mouth disease virus selects viruses that bind to heparin and are attenuated in cattle. *J Virol* 1997; 71:5115-5123.
61. Sadir AM, Schudel AA, Laporte O, Braun M, Margni RA. Response to foot-and-mouth disease vaccines in newborn calves. Influence of age, colostral antibodies and adjuvants. *Epidemiol Infect* 1988; 100:135-44.
62. Sáiz M, Núñez JI, Jimenez-Clavero MA, Baranowski E, Sobrino F. Foot-and-mouth disease virus: biology and prospects for disease control. *Microbes Infect* 2002; 4:1183-92.
63. Salt JS, Barnett PV, Dani P, Williams L. Emergency vaccination of pigs against foot-and-mouth disease: protection against disease and reduction in contact transmission. *Vaccine* 1998; 16:746-54.
64. Springer TA. Predicted and experimental structures of integrins and b-propellers. *Curr Opin Struct Biol* 2002; 12:802-813.
65. Steward MW, Stanley CM, Dimarchi R, Mulcahy G, Doel TR. High-affinity antibody induced by immunization with a synthetic peptide is associated with protection of cattle against foot-and-mouth disease. *Immunology*. 1991; 72:99-103.
66. Suttmoller P, Graves, JH, McVicar JW. Influence of enterovirus on foot-and-mouth disease virus infection: a hypothesis. *Proc Annu Meet US Animal Health Assoc* 1970; 74:235-239.
67. Taboga O, Tami C, Carrillo E, Núñez JI, Rodríguez A, et al. A large-scale evaluation of peptide vaccines against foot-and-mouth disease: lack of solid protection in cattle and isolation of escape mutants. *J Virol* 1997; 71:2606-14.
68. Thomson GR, Vosloo W, Bastos AD. Foot and Mouth Disease in wildlife. *Virus res* 2003; 91:145-161.
69. Trautman R, Suttmoller P. Detection and properties of a genomic masked viral particle consisting of foot-and-mouth disease virus nucleic acid in bovine enterovirus protein capsid. *Virology* 1971; 44:537-543.
70. Vosloo W, Bastos AD, Kirkbride E, Esterhuysen JJ, van Rensburg DJ, Bengis RG et al. Persistent infection of African buffalo (*Syncerus caffer*) with SAT-type foot-and-mouth disease viruses: rate of fixation of mutations, antigenic change and interspecies transmission. *J Gen Virol* 1996; 77:1457-67.
71. Zhang Z, Ahmed R, Paton D, Bashiruddin JB. Cytokine mRNA responses in bovine epithelia during foot-and-mouth disease virus infection. *Vet J* 2009; 179:85-91.
72. Zhang ZD, Hutching G, Kitching P, Alexandersen S. The effects of gamma interferon on replication of foot-and-mouth disease virus in persistently infected bovine cells. *Arch Virol* 2002; 147:2157-67.