



Curso de Preparación para Alertas de Fiebre Aftosa en España

Módulo 2



Módulo 2

Bienvenida

Les damos la bienvenida al segundo módulo del Curso de Preparación para Alerta de Fiebre Aftosa en España.

Aviso: algunas páginas de este módulo contienen ventanas emergentes. Prueba deshabilitar el bloqueador de ventanas emergentes de tú navegador en caso de tener problemas para verlas. Si aun sigues teniendo problemas, no dudes en contactarnos.

Tal como en el Módulo Uno, en este segundo módulo se incluyen preguntas de autoevaluación que te ayudarán a valorar tu aprendizaje. No revisaremos tus respuestas.

Resultados del aprendizaje

Cuando hayas completado este módulo, serás capaz de:

- Reconocer los signos clínicos de la fiebre aftosa en los bovinos, pequeños rumiantes y cerdos.
- Realizar examen clínico minucioso de un animal sospechoso de padecer fiebre aftosa.
- Determinar la antigüedad de las lesiones ocasionadas por la fiebre aftosa y entender su relevancia epidemiológica y diagnóstica.
- Describir las herramientas de diagnóstico disponibles para detectar la fiebre aftosa.
- Tomar las muestras apropiadas para diagnosticar la fiebre aftosa en el laboratorio.

Signos clínicos de la fiebre aftosa

Signos clínicos de la FA en los bovinos

Los signos clínicos de la fiebre aftosa en los bovinos incluyen:

- Depresión
- Anorexia
- Fiebre
- Cojera
- Disminución de la producción de leche
- Sialorrea
- Vesículas cerradas y lesiones derivadas de vesículas rotas en el morro, el interior de la cavidad bucal, pezuñas y ubres



En bovinos, la FA tiende a ser una condición aguda, con depresión marcada, anorexia y, en algunos casos, postración. En vacas lecheras la producción de leche tiende a disminuir antes de que aparezcan otros signos clínicos. Hay presencia de sialorrea debido al dolor que los animales afectados sienten en la boca que tienden a masticar continuamente haciendo rechinar los dientes.

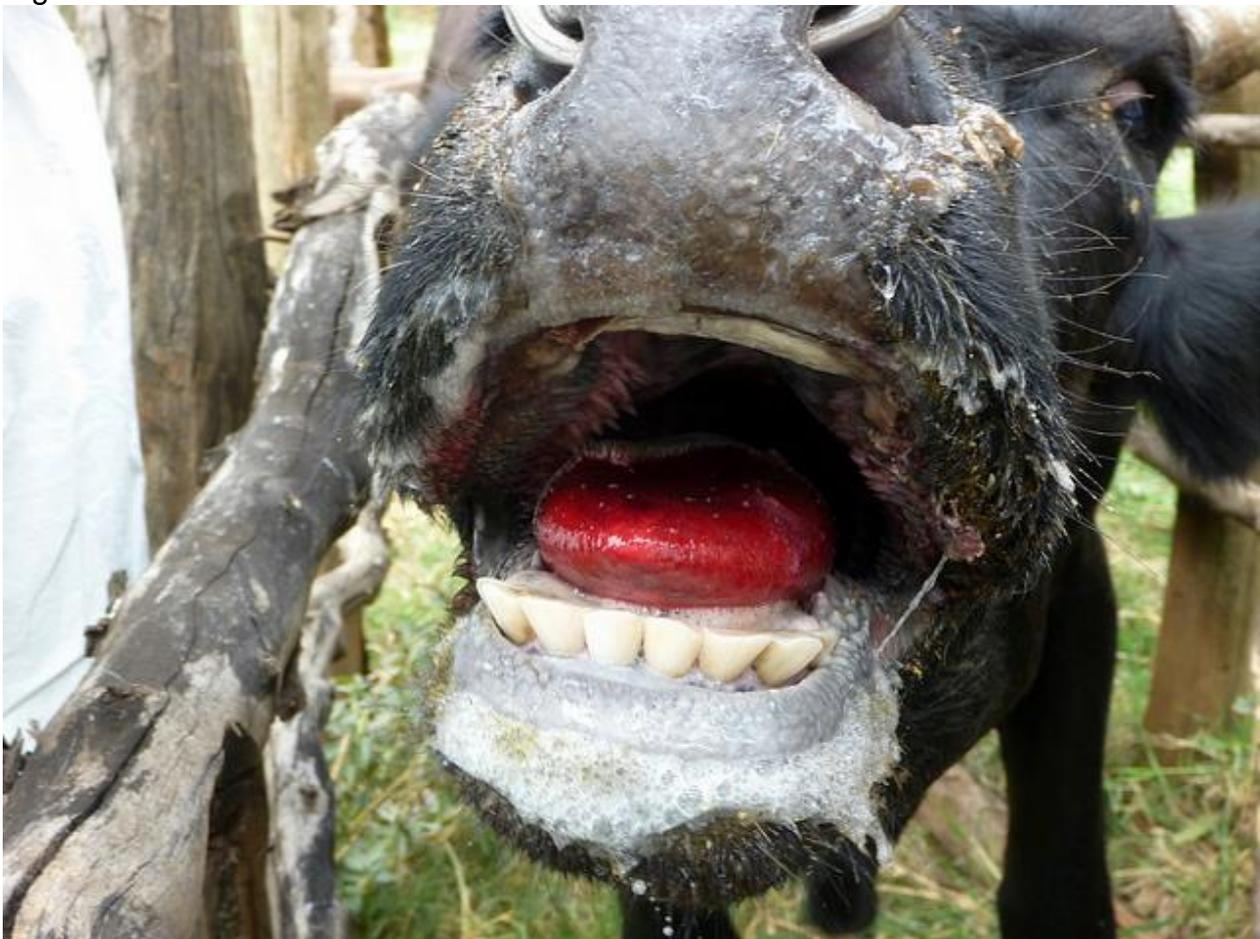
La fiebre aftosa puede provocar **muerte súbita por miocarditis en terneros** y **aborto** en hembras en gestación.

Signos clínicos de la fiebre aftosa en los bovinos

Normalmente se encuentran **vesículas y úlceras** en:

- **Lengua**

Signos clínicos de la fiebre aftosa en bovinos



Lesión de gran tamaño en la lengua

- **Hocico**





Lesión en el hocico de un ternero

La almohadilla dental





Lesión de cuatro días de antigüedad en la almohadilla dental de una vaca

La almohadilla dental



Lesión de cuatro días de antigüedad en la almohadilla dental de una vaca

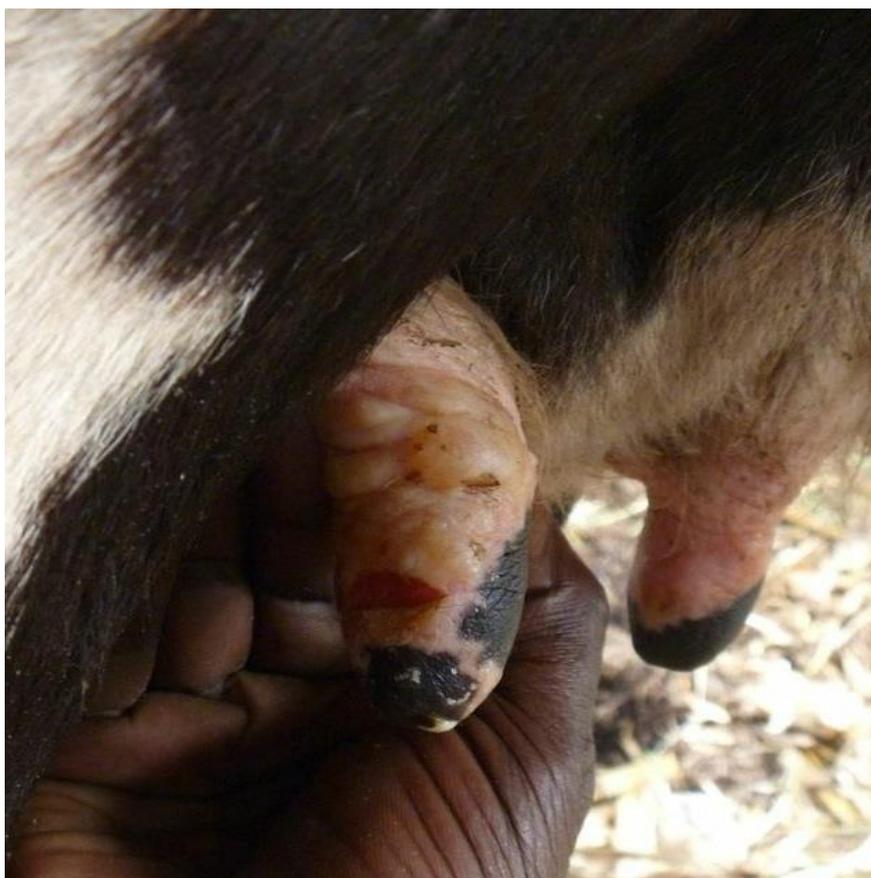
En **pezuñas**, normalmente en el espacio interdigital o en el rodete coronario



Lesión de gran tamaño en el espacio interdigital

Ubres





Vesículas, aún sin romper, en las ubres

Signos clínicos de la fiebre aftosa en pequeños rumiantes

En ovinos y caprinos, la fiebre aftosa suele ser menos grave que en porcinos y bovinos.

Los signos clínicos incluyen:

- **Depresión**
- **Anorexia**
- **Cojera**

Se pueden observar **vesículas** en la lengua y en la almohadilla dental, aunque pequeñas y a menudo difíciles de observar. En las pezuñas, las vesículas se sitúan en el **rodete coronario**, pero también pueden aparecer en el espacio interdigital. Sin embargo se debe mencionar que las lesiones producidas por el VFA en ovinos, especialmente las lesiones podales, tienden a ser transitorias sanando rápidamente o sufriendo infecciones secundarias que dificultan el diagnóstico.

La FA puede provocar **muerte súbita** por miocarditis en corderos y **aborto** en ovejas.



Los ovinos se consideran como potenciales **portadores asintomáticos**, es decir, que pueden transmitir el virus de la fiebre aftosa sin mostrar signos clínicos evidentes ya que en ellos la FA suele ser una condición más bien benigna.

Signos clínicos de la fiebre aftosa en porcinos

Los signos clínicos de la fiebre aftosa en porcinos incluyen:

- **Fiebre**
- **Depresión**
- **Anorexia**
- **Cojera o reticencia a permanecer de pie**
- **Vesículas cerradas y lesiones derivadas de vesículas rotas en el hocico, dentro de la boca y en las pezuñas.**

En los cerdos, la fiebre aftosa suele ser **grave**, los animales se muestran reticentes a permanecer de pie y si se les obliga a caminar chillan de dolor. Algunos cerdos adoptan la posición denominada de “perro sentado”.

La pezuña puede llegar a desprenderse



La pezuña está empezando a desprenderse por la zona rodete coronario. Cochinitos pueden sufrir **muerte súbita** por miocarditis.



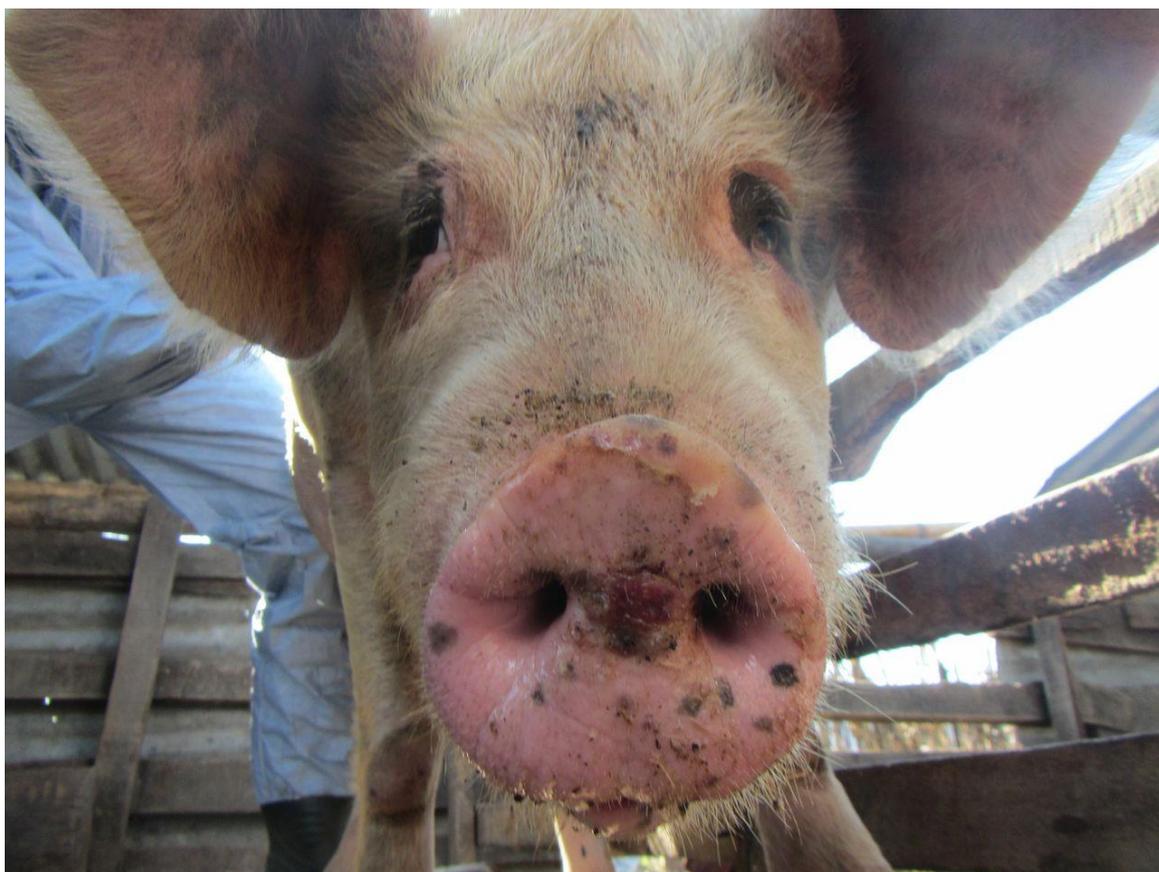
Las **lesiones** más claras se localizan en las pezuñas, más concretamente en el **rodete coronario** y también en la zona plantar o en el espacio interdigital.



Presencia de lesiones en el rodete coronario

Presencia de vesículas visibles en el hocico





Ocasionalmente se pueden ver **vesículas** en la **lengua**, aunque estas pueden resultar difíciles de observar.





Realización de un examen clínico

Es importante adoptar un enfoque sistemático para examinar a los animales en los que se sospecha de la presencia de fiebre aftosa. También es importante **recoger por escrito** los resultados de los exámenes clínicos. Un formulario previamente escrito te puede ayudar a hacerlo de manera eficaz (incluido en el Manual Práctico de operaciones para la lucha contra la FA).

En primer lugar, elabora una **historia clínica completa a partir de la información que te facilite el ganadero:**

- ¿Qué signos clínicos ha observado?
- ¿Cuándo empezaron esos signos?
- ¿Qué animales se han visto afectados?
- ¿Los animales afectados fueron introducidos a la explotación recientemente?

A continuación, **observa a los animales a distancia:**

- Comportamiento general
- Salivación
- Cojera



Observa primero a los animales a distancia



¿Porque es importante comenzar por observar a los animales a distancia?

Observar a los animales a distancia te ayuda a hacer una evaluación general de cuantos animales del grupo pueden estar afectados, la sintomatología clínica que se da en la manada y la severidad de esta.

Si el número de animales presentes es elevado, es recomendable que establezcas un sistema para determinar cuáles son los animales que se deben examinar prioritariamente. Para comenzar a evaluar a los animales que presentan signos clínicos, o, si no los hay, a los que se observan deprimidos o débiles, sino dirígete a los animales que el ganadero considero como animales afectados.

A medida que la investigación avance, puede ser necesario examinar a todos los animales de la explotación, ya sea para descartar la presencia de la enfermedad, o para identificar la lesión más antigua presente en el rebaño (indispensable para la investigación epidemiológica). Esto puede requerir el examen de todos los animales del grupo o de la explotación.

La importancia de mantener registros

Asegúrate que se registrar toda la información sobre cada uno de los animales inspeccionados relacionándola con la identificación individual de cada animal.

Como veremos más adelante, poder relacionar los hallazgos clínicos con los laboratoriales, especialmente la edad de las lesiones encontradas, será crítico para hacer una correcta investigación epidemiológica. Tener una descripción detallada de los hallazgos clínicos será tremendamente útil para tratar de establecer la fecha de posible entrada del virus en la explotación y así poder construir un cronograma de la ventana de riesgo de entrada y difusión más exacta y fiable.

Realización de un examen clínico

Examen del animal: Tu seguridad primero

La fiebre aftosa es una condición muy dolorosa por lo que es muy importante que, por tu seguridad, te asegures de que los animales estén **adecuadamente inmovilizados** antes de empezar el examen clínico. No solo es importante reducir al máximo el dolor y el estrés de los animales, sino también tu propia seguridad y la del personal de apoyo.

Debes preocuparte especialmente de que la cabeza del animal este inmovilizada. Ten en cuenta que te tiene que ser posible abrir la boca del animal para poder examinar todas las áreas en su interior. También se deben inmovilizar las extremidades para poder tener acceso a las áreas dorsal, plantar y palmar de las mismas. Te pueden ser de utilidad cuerdas, utensilios de inmovilización y ocasionalmente la sedación (casos muy difíciles de inmovilizar físicamente).



Realización de un examen clínico

Examinando el animal

Antes de que suba, debido el estrés que conlleva el examen, es recomendable empezar por tomar la temperatura del animal.



Es fácil olvidarse el tomar la temperatura

Asegúrate de examinar la parte exterior del hocico, la cara interna de los labios y los carrillos, la almohadilla dental, la parte inferior y el área dorsal, en toda su longitud, de la lengua. Palpar o rascar la lengua puede ayudar a identificar las vesículas nuevas que estén empezando a formarse. Si no haces una evaluación sistemática, es fácil no ver una lesión en áreas de difícil acceso en el hocico o en la boca.

Ten cuidado al inmovilizar la lengua para examinarla. Puedes utilizar un paño para ayudarte a sujetar la lengua ya que puede resbalarse de tus manos. Esta situación es dolorosa para el animal y en casos graves de aftosa se podría desprender toda la superficie de la lengua.



Lengua a la cual se le ha desprendido su superficie

Realización de un examen clínico



Probablemente tendrás que retirar el barro y la suciedad de las pezuñas para poder examinarlas adecuadamente.

Es importante levantar las pezuñas y separarlas para examinar el espacio interdigital, también se debe examinar la parte inferior de las pezuñas.

En pequeños rumiantes es importante tratar de quitar el pelo o lana del rodete coronario ya que las lesiones están frecuentemente debajo del pelo o lana.

Otra vez una adecuada sujeción de los animales es importante por tu propia seguridad y para un correcto examen.



Pueden haber lesiones en la parte inferior de las pezuñas y en el espacio interdigital que no se pueden apreciar a simple vista

No olvide examinar las ubres de las hembras.



Lesiones de FA en las ubres.

Antigüedad de una lesión

¿Por qué determinar la edad de las lesiones?

Se puede determinar la antigüedad de una lesión provocada por la fiebre aftosa y, por lo tanto, el momento en el que empezaron a aparecer los signos clínicos en el animal y en la explotación.

¿Por qué crees que esto es relevante?

Encontrarás las respuestas en la página siguiente...

Antigüedad de una lesión: ¿por qué es importante determinarla?

Determinar la antigüedad de una lesión es importante en las **investigaciones epidemiológicas**. Conocer la antigüedad de una lesión permite establecer en qué



momento pudieron empezar a manifestarse los signos clínicos y, a partir de este dato, cuándo se produjo la infección. Esto es importante para rastrear el posible origen de la infección. De la misma forma, también se puede estimar cuándo ha empezado la diseminación vírica, lo que permite rastrear la posterior difusión del virus.

Para calcular la antigüedad de las lesiones y determinar la fecha posible de infección de un rebaño, es importante **examinar a todos los animales** del rebaño y buscar las **lesiones más antiguas**. Esto permitirá establecer de forma aproximada cuándo se infectó el primer animal del rebaño.

No es extraño encontrar en un mismo animal lesiones de diferentes antigüedad. En esos casos también es necesario buscar minuciosamente la **lesión más antigua** para así determinar cuándo se infectó el animal.

Determinación de antigüedad de las lesiones en bovinos y ovinos

En bovinos y ovinos, es preferible centrarse en la **determinación de la antigüedad de las lesiones orales**. Las lesiones podales a menudo se ven alteradas por infecciones secundarias y además suelen quedar enmascaradas por la suciedad.

Día de enfermedad clínica	Aspecto de la lesión
Día 1	Epitelio blanquecino seguido por la formación de vesículas con líquido en su interior
Día 2	Vesículas recientemente rotas con epitelio rasgado, lesión bien delimitada en sus bordes que son irregulares, con epitelio rojo y brillante y sin depósitos de fibrina
Día 3	Las lesiones empiezan a perder los bordes nítidos y el color rojo brillante. Empiezan aparecer los primeros depósitos de fibrina
Día 4	Los depósitos de fibrina son considerables, con evidente desarrollo de nuevo epitelio en los bordes de la lesión
Día 7	Formación extensa de tejido de cicatrización y recuperación de la lesión. Sigue habiendo algunos depósitos de fibrina

Tabla adaptada de [Kitching and Mackay, 1995](#)

Determinación de la antigüedad de las lesiones en bovinos y ovinos

La tabla en la pantalla anterior y las imágenes y ejercicios de este curso pueden darte la impresión errónea que la determinación de la antigüedad de las lesiones de FA es una ciencia exacta, pero esto no es así.

¿Con que precisión se puede determinar la antigüedad de las lesiones de FA?

En bovinos y ovinos, como orientación general, lesiones de hasta cinco días se pueden determinar con una precisión de +/- 1 día. La determinación resulta menos precisa cuando las lesiones tienen una antigüedad de entre 5 a 7 días y no es posible hacerlo cuando las lesiones tienen más de siete días.

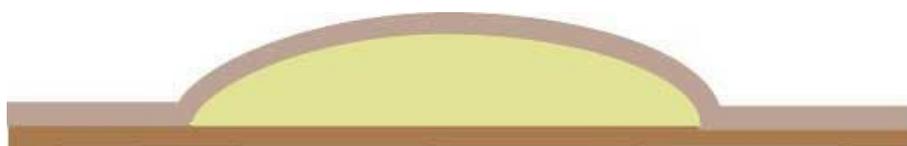


Determinación de la antigüedad de las lesiones en bovinos y ovinos

En las siguientes páginas, emplearemos algunos dibujos sobre la formación y cicatrización de las vesículas para ilustrar este proceso, estos dibujos tratan de mostrarte el proceso de forma gráfica sin tratar de ser similar a la realidad.

Día 1

Blanqueamiento del epitelio seguido de la formación de una vesícula llena de fluido.



En el día uno (el día que los signos clínicos comienzan) se puede observar la formación de una vesícula llena de líquido. Esto comienza como una zona blanquecina del epitelio que lentamente se comienza a llenar de fluido. Si se observa una vesícula intacta, esta tiene un día de antigüedad o menos.

Determinación de la antigüedad de las lesiones en bovinos y ovinos

Día 2

Vesícula rota recientemente, donde se observa el epitelio enrojecido y una lesión con bordes claros normalmente irregulares y sin depósito de fibrina.



En el día dos la vesícula se ha roto. Se pueden observar secciones de epitelio en los bordes de la lesión. Los bordes de la misma son muy definidos y la base tiene un color rojo brillante. No se observa fibrina.

Determinación de la antigüedad de las lesiones en bovinos y ovinos

Día 3

La lesión comienza a perder su demarcación clara en los bordes así como también el color rojo brillante. Comienza a depositarse fibrina.





En el día tres el borde de la lesión es menos evidente y el color rojo en la base es más pálido. Se comienza a depositar fibrina.

La fibrina se puede distinguir del epitelio libre de los bordes de la lesión ya que tiende a ser de color amarillo y está unida a la base de la lesión y no a los bordes como es el caso del epitelio. Finalmente la fibrina es más friable y se despedaza si la frota entre tus dedos.

Determinación de la antigüedad de las lesiones en bovinos y ovinos

Día 4	Se observa una gran cantidad de depósito de fibrina. El crecimiento de epitelio nuevo es evidente en los bordes de la lesión.
-------	---



En el día cuatro se observa crecimiento de epitelio nuevo en los bordes de la lesión. Los bordes ahora no son tan demarcados y se puede observar una delgada línea de tejido de granulación. La base de la lesión ya no luce del color rojo intenso inicial y se observa una gran cantidad de depósitos de fibrina.

Determinación de la antigüedad de las lesiones en bovinos y ovinos

Día 7	Se observa una extensa formación de tejido de cicatrización y ya la lesión se comienza a recuperar. Aun se observa algo de fibrina.
-------	---



En el día siete se observa un nivel considerable de producción de epitelio nuevo en el borde de la lesión y la base de la misma es de un color rosa pálido. Aun se observa algo de fibrina.

Determinación de la antigüedad de las lesiones en bovinos y ovinos



Hacia el día 10 es probable que la lesión haya sanado, aunque la cicatriz será visible como una zona pálida en el epitelio.

Determinación de la antigüedad de las lesiones en bovinos

En las siguientes fotografías se pueden ver casos de fiebre aftosa reales de fotos tomadas en países endémicos. La edad de las lesiones siempre se estima de acuerdo a su aspecto. Puedes ver fotografías de lesiones en animales de experimentación en la [Guide to Lesion Ageing](#), producida por el Ministerio de Medio Ambiente, Alimentación y Asuntos Rurales del Reino Unido (DEFRA).

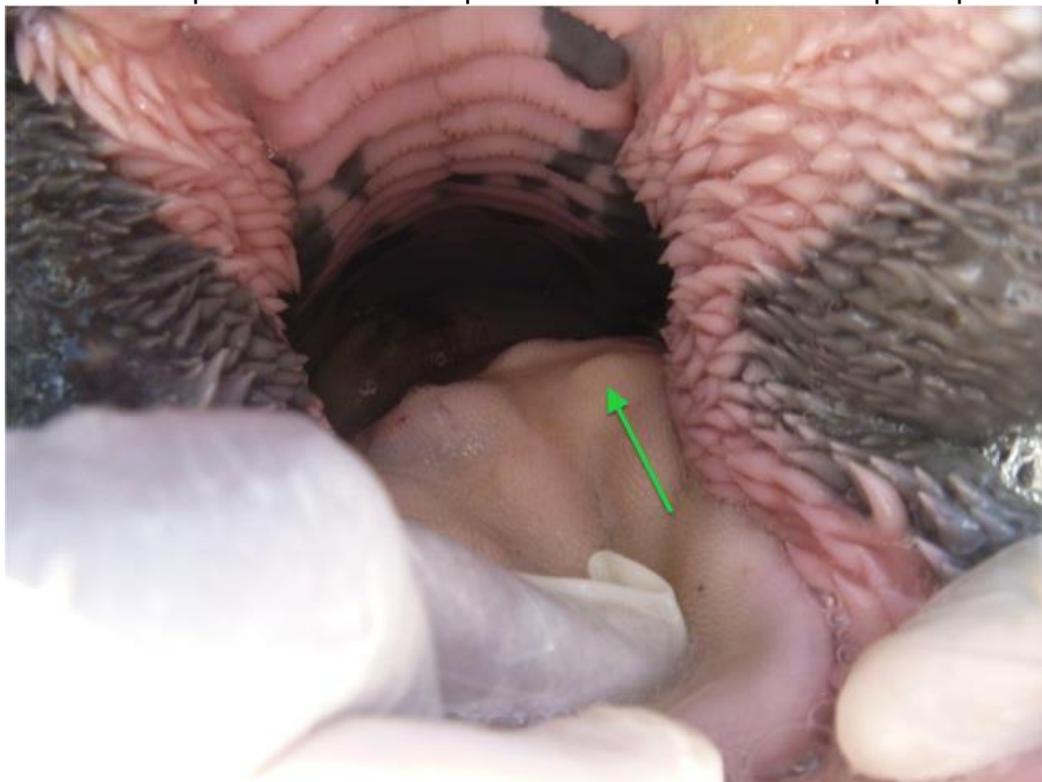
También puedes ver más tipos de lesiones en la [Biblioteca de lesiones](#), en este sitio.

Haz clic en los enlaces siguientes para ver los ejemplos (puede que tengas que habilitar el visualizador de ventanas emergentes).

Lesión oral de un día

En el primer día, las lesiones consisten en vesículas intactas y llenas de líquido. En las primeras fases, si el fluido no se ha formado aun, las vesículas pueden presentarse como epitelio blanquecino.

En la foto se pueden verse múltiples vesículas intactas en la parte posterior de la lengua



Lesión oral de un día

Esta es otra lesión intacta de un día de edad (bajo los dedos del examinador)





Lesión oral de un día

Esta foto muestra la misma lesión que en la foto anterior. La vesícula se ha roto debido a la manipulación del examinador.



Lesión oral de un día

Esta foto muestra la misma lesión que en la foto anterior. La vesícula se ha roto debido a la manipulación del examinador.





Lesión oral de 2 días

Las lesiones de dos días de edad acaban de romperse, sus bordes son nítidos e irregulares, con colgajos de epitelio (indicados por la flecha). La lesión es de color rojo brillante, y los depósitos de fibrina son inexistentes



Lesión oral de 2 días.



La flecha indica un colgajo de epitelio con el borde rasgado.



Lesión oral de 2 días.

La flecha indica un colgajo de epitelio.



Lesión oral de 3 días. Se puede observar el color rojo brillante en la base y los bordes de la lesión están aun claramente demarcados, aunque ya se empiezan a observar depósitos de fibrina.



Lesión oral de 4 a 5 días

Las lesiones de cuatro días de antigüedad presentan considerable depósitos de fibrina (la flecha indica la fibrina que se desprende de la lesión) y bordes poco definidos ya que el proceso de recuperación se ha iniciado.



Lesión oral de 4 a 5 días.



La flecha indica la fibrina.



Lesión oral de 7 días.

La flecha indica depósito de fibrina, que está empezando a desaparecer. Observa la ausencia de bordes claros que delimiten la lesión así como también la formación de tejido de granulación.



Lesión oral de 7 días





Lesión oral de 10 días o más

Esta lesión de 10 días o más de edad se ha sanado y ha dejado una cicatriz en la lengua



Lesión oral de 10 días o más





Lesión oral de 10 días o más
Cicatriz en la lengua.



Lesión podal en fase inicial
Observa la delimitación clara de los bordes y el epitelio de color rojo brillante





Lesión podal antigua

Observa el color rosa pálido y la ausencia de bordes irregulares





Determinación de la antigüedad de lesiones en ovinos

En ovejas, la determinación de lesiones orales se realiza de la misma forma que en bovinos, si bien las lesiones en ovinos suelen ser de menor tamaño y menos evidentes.

En ovinos las lesiones podales suelen ser de menor gravedad que en bovinos. Se observan con **mayor frecuencia en el rodete coronario** que en el espacio interdigital. Ya que a menudo tienen tamaño menor que en bovinos, para ver las lesiones del rodete coronario es necesario levantar o cortar el pelo de la zona. En ovinos las lesiones podales suelen sufrir infecciones bacterianas secundarias por lo que **no resultan útiles para estimar la antigüedad**. En lesiones más antiguas (de más de una semana), debido a la cicatrización en el rodete coronario, es posible distinguir una línea a lo largo de la pezuña. La distancia entre el rodete coronario y la línea de cicatrización puede ser utilizada para calcular la antigüedad aproximada de la lesión, aunque no es posible dar un cálculo preciso. ([Dekker, A et al, 2005](#))

Puedes ver más fotografías de lesiones en ovejas en la [Guide to Lesion Ageing](#) del Ministerio de Medio Ambiente, Alimentación y Asuntos Rurales del Reino Unido (DEFRA).

Lesiones intactas de un día en el rodete coronario en una oveja adulta. Obsérvese que ha sido necesario recortar el pelaje para ver la lesión.





Lesiones de dos días en el espacio interdigital en una oveja adulta

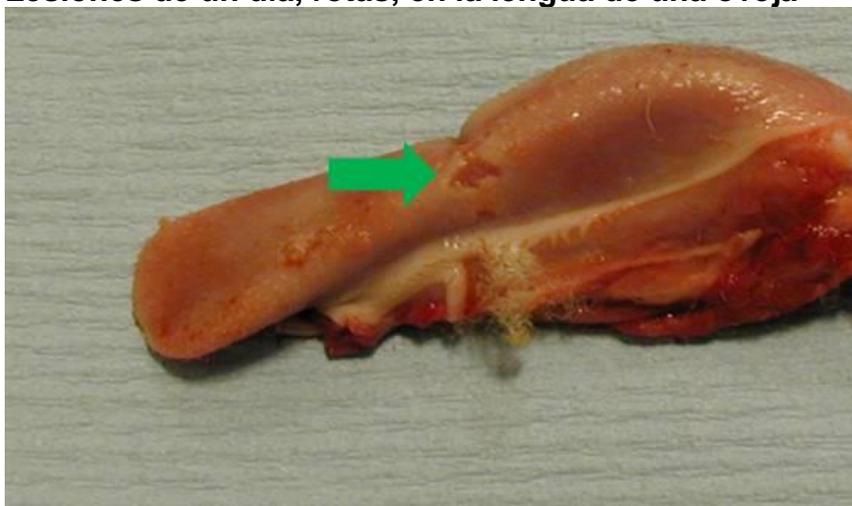


Lesión abierta de un día en el rodete coronario en un cordero (obsérvese que fue necesario recortar el pelo para ver la lesión).



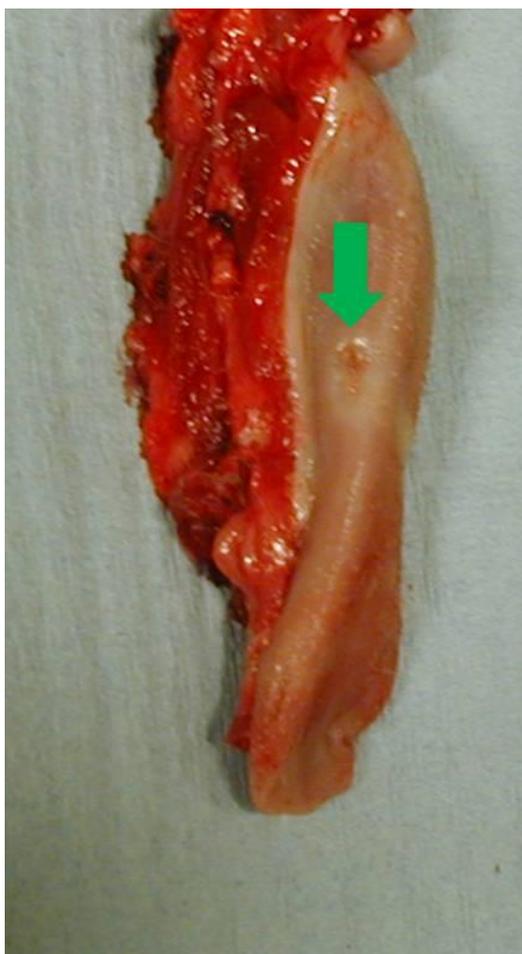


Lesiones de un día, rotas, en la lengua de una oveja



Lesiones de cinco días en proceso de curación en la lengua de una oveja.





Determinación de la antigüedad de lesiones en cerdos

En el caso de los cerdos, las **lesiones podales** son las más útiles para determinar la antigüedad de la lesión aunque de forma no muy exacta puede servir para tener una idea aproximada de la antigüedad.

Si la lesión se encuentra **en el rodete coronario, su antigüedad es inferior a una semana.**

Si la lesión no se encuentra en el rodete coronario, se debe medir la distancia entre la lesión y el rodete. Esta distancia puede servir para calcular de forma aproximada la edad de la lesión.

En cerdos adultos, una regla aproximada es que la pared de la pezuña crece 1 mm por semana.

En los cochinitos destetados, una regla aproximada es que la pared de la pezuña crece a razón de 2 mm por semana.

Lesiones en los labios y la lengua



La determinación de la antigüedad de las lesiones por medio de la evaluación de las lesiones bucales de los cerdos no es fiable. En el animal vivo, las lesiones bucales son difíciles de examinar.



Lesiones antiguas en el hocico

Lesiones en proceso de curación en el hocico de un cerdo





Lesión podal antigua

Obsérvese la escasa distancia entre el defecto y el rodete coronario. La pared de la pezuña se ha desprendido ligeramente.





Pruebas de diagnóstico para fiebre aftosa

Para confirmar el diagnóstico clínico de fiebre aftosa se necesita recurrir al diagnóstico de laboratorio, el cual aporta además otra información como el serotipo y la cepa del virus, lo cual es útil para otros asuntos como la elección de la vacuna a utilizar o para determinar de dónde ha podido venir el virus.

Es importante recordar que las pruebas de laboratorio no reemplazan al diagnóstico clínico preciso de la enfermedad. En particular, el diagnóstico clínico en conjunto con la determinación de la antigüedad de las lesiones es esencial para decidir cuáles son las pruebas diagnósticas más apropiadas tomando en cuenta en qué fase se encuentra la enfermedad en ese rebaño. Necesitaras saber la fecha más probable en que los signos clínicos comenzaron para poder elegir qué muestras son las que se deben recolectar y de esa forma obtener un diagnóstico de laboratorio positivo o negativo que sea confiable.

En general, como ya sabes, las pruebas diagnósticas pueden servir para detectar la presencia del virus o para detectar los anticuerpos que el animal genera contra el virus.

Las pruebas de laboratorio aceptadas para la confirmación de la FA están incluidas en la legislación europea (Directiva del Consejo 2003/85/CE) y en el Manual de Pruebas Diagnósticas y Vacunas en Animales Terrestres de la OIE.

Las pruebas de laboratorio aceptadas para la confirmación de la FA están incluidas en la legislación europea (Directiva del Consejo 2003/85/CE) y en el Manual de Pruebas Diagnósticas y Vacunas en Animales Terrestres de la OIE.





Pruebas diagnósticas más adecuadas en función del escenario

1) Presencia de lesiones clínicas

Las pruebas de laboratorio se utilizarán en una de las siguientes cuatro situaciones o escenarios:

En este escenario, las pruebas de laboratorio se utilizan para confirmar que las lesiones se deben a fiebre aftosa y saber cuál es el serotipo involucrado así como la cepa del mismo. Lo más normal es buscar antígenos virales pero también se puede ver si se han producido ya anticuerpos.

2) Vigilancia activa de casos preclínicos

Dado que el virus está presente en el suero desde uno a dos días antes de la aparición de los primeros signos clínicos, la realización de pruebas para identificar la presencia de RNA vírico puede servir para detectar animales infectados antes de que sean detectables en base a los síntomas clínicos. El problema es que requiere de la realización de RT-PCR lo cual resulta muy costoso en la práctica.

En el brote de FA en el Reino Unido del 2007 este método fue utilizado para la detección de animales virémicos de forma temprana lo que permitió ir por delante de la enfermedad cortando el ciclo de transmisión, aunque fue muy costoso a la postre en ese escenario resultó exitoso.

3) Seguimiento serológico de animales previamente infectados

Las pruebas de detección de anticuerpos son útiles para determinar la infección en animales que ya están recuperados ya que los anticuerpos requieren un tiempo para ser detectables.

En estos casos las pruebas de detección del virus pueden ser negativas porque el virus ya no esté presente en el animal. Aunque en el caso de la FA puede haber animales



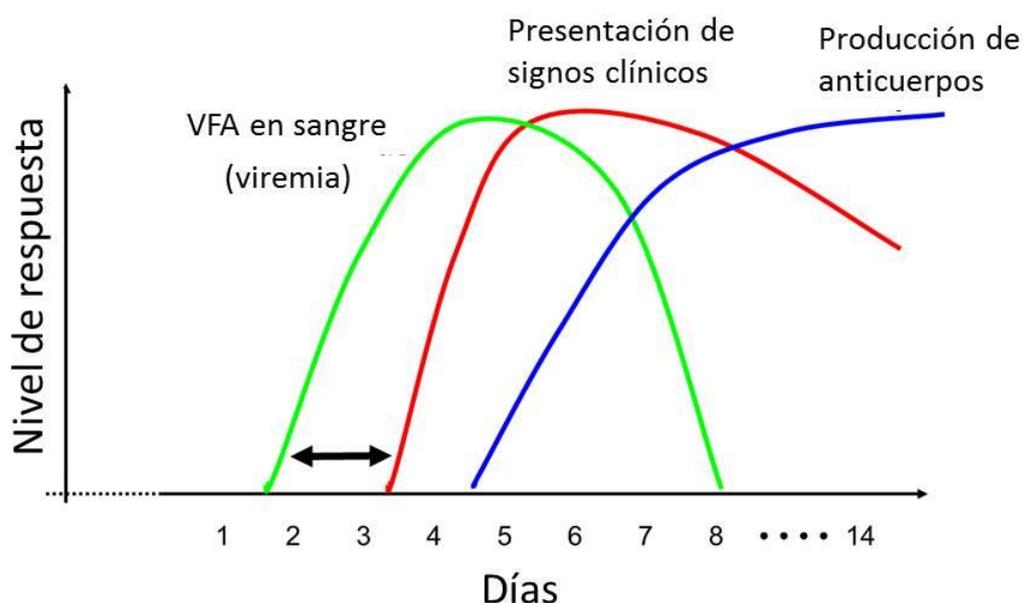
portadores, en los que el virus se puede aislar de la región faríngea mediante muestreo con la prueba de la copa de Probang.

4) Seguimiento serológico posterior a la vacunación

Cuando se utiliza vacunación para controlar un brote de fiebre aftosa, siempre que las pruebas realizadas permitan diferenciar entre animales infectados y vacunados, se puede llevar a cabo un seguimiento serológico para verificar que el virus ya no circula en la zona (DIVA por sus siglas en inglés).

Pruebas diagnósticas más adecuadas en función del escenario (continuación)

El diagrama siguiente ilustra los niveles de antígenos y anticuerpos apropiados para las pruebas en las diferentes fases de la fiebre aftosa.



El gráfico representa datos obtenidos de animales infectados en forma experimental (adaptado de Aleksandersen et al., 2003 y datos no publicados del Instituto Pirbright, Reino Unido)

El VFA se puede detectar en sangre por medio de PCR **antes de que se observen signos clínicos.**

Una vez que se observan signos clínicos el virus se puede detectar en muestras tomadas desde las lesiones por métodos tales como PCR, ELISA para antígenos, y aislamiento viral.



La respuesta inmune comienza 4-5 días después del comienzo de los primeros signos clínicos. Los anticuerpos se pueden detectar por medio de ELISA indirecto.

Tiempo hasta la obtención de los resultados laboratoriales

Por favor ten en cuenta que los tiempos que mencionamos en esta pantalla son los tiempos mínimos que requiere el laboratorio para procesar las muestras (una vez recibidas). Los hemos incluido en este curso solo por motivos didácticos.

Los tiempos dados aquí no deben ser utilizados para informar al ganadero o a ninguna otra persona sobre el tiempo en que se recibirán los resultados, ya que hay muchos factores que influenciarían el tiempo en que los resultados estén listos. Por ejemplo:

- Tiempo necesario para transportar las muestras al laboratorio.
- Problemas que resulten en que haya que repetir el test.
- Tiempo necesario para la interpretación de los resultados, con las necesarias consultas a expertos y la correlación con los signos clínicos y la información epidemiológica.

Una vez que todos esos factores se han considerado y se obtiene una conclusión satisfactoria, los resultados finales serán entregados por las oficinas centrales.

Pruebas directas para detectar la presencia del VFA

Existen diferentes pruebas que permiten aislar el virus o poner de manifiesto la presencia de antígenos virales:

Aislamiento viral

El virus vivo se puede aislar mediante cultivo celular.

Los resultados se obtienen en **1-4 días**

Método ELISA de detección del antígeno

El antígeno viral se detecta por medio de ELISA en laboratorio, o mediante técnica de flujo lateral *in situ* (*Penside test*).

Tiempo para reportar los resultados es **4 horas**



Técnica de flujo lateral / Lateral Flow Device (LFD) *in situ* (*Penside test*)

Estos dispositivos presentan la ventaja de brindar una detección muy rápida, y sobre el terreno, del antígeno vírico. Son muy específicos y tienen una sensibilidad similar a la del método ELISA de detección del antígeno en laboratorio. **Sin embargo, la OIE NO reconoce el dispositivo de flujo lateral como prueba confirmatoria de la fiebre aftosa.**

En la actualidad hay tres tipos de LFD disponibles:

- Pan-serotipo (pruebas que incluye los siete serotipos conocidos, se debe tener en cuenta que la sensibilidad del método varía según el serotipo)
- LFD específico para el serotipo SAT-2
- LFD específico para el serotipo ASIA-1

Los resultados de **LFD** se obtienen entre **10-30 minutos**

Reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR)

El RNA vírico se puede detectar mediante RT-PCR desde uno o dos días antes de que se desarrollen los signos clínicos, el análisis se puede hacer mediante RT-PCR clásica o RT-PCR en tiempo real. Esta es la única prueba diagnóstica que se puede utilizar antes de la aparición de signos clínicos.

Los resultados se obtienen en **4-5 horas**

Pruebas de campo (*Penside Test*)

Es importante recordar que las pruebas de campo no son reconocidas por la OIE como prueba confirmatoria de FA. Hemos incluido esta información solamente por razones didácticas y de conocimiento general.

La única prueba de campo disponible comercialmente para FA es un método inmunocromatográfico que resulta efectivo en corroborar la presencia de la enfermedad cuando se observan signos clínicos claros de FA. Esta efectividad es baja cuando los signos clínicos son poco claros (ovinos/caprinos) y no son nada confiables en ausencia de signos clínicos. Resultados negativos pueden ser en realidad falsos negativos debidos a una muy baja cantidad del virus presente.

El beneficio de utilizar estos test de campo aún se está evaluando. Podría ser de tremenda utilidad, por ejemplo, en países donde el transporte de las muestras al laboratorio es problemático por falta de infraestructuras que permitan garantizar la bioseguridad en el transporte o porque las distancias son muy grandes.

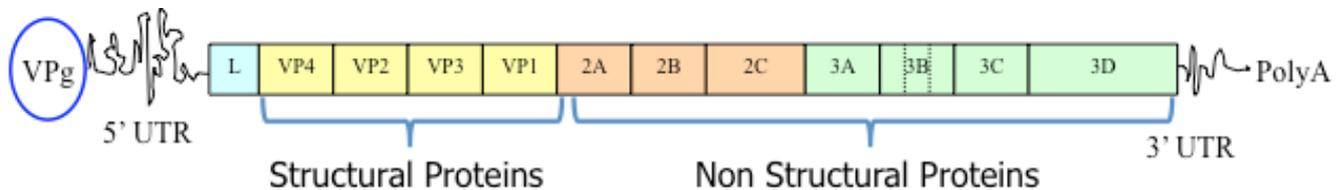


Dispositivos de IFL en terreno actualmente en uso



Proteínas estructurales y no estructurales del VFA

El genoma del VFA codifica proteínas estructurales y no estructurales:



Proteínas estructurales: Forman parte de la cápside vírica (cubierta).

Proteínas no estructurales: Tienen función en la replicación del virus. No forman parte de la cápside vírica.

Durante el proceso de infección natural al final de la replicación viral cuando la célula infectada se lisa no solo se liberan partículas virales, sino también proteínas no estructurales del virus lo que las pone en evidencia ante el sistema inmunitario del animal. **De esta forma, el sistema inmune produce anticuerpos para ambas proteínas estructurales y no estructurales.**

En el proceso de producción de **vacunas purificadas** las proteínas no estructurales se eliminan, por lo que la vacunación con **vacunas purificadas solo induce la producción de anticuerpos contra proteínas estructurales.**

Esto es importante ya que por medio de la detección de diferentes tipos de anticuerpos podemos diferenciar animales vacunados contra FA con vacunas purificadas de animales infectados por el virus natural.

Anticuerpos contra el virus de fiebre aftosa

El hospedador produce anticuerpos contra las proteínas estructurales y no estructurales del virus de la fiebre aftosa.

Anticuerpos contra proteínas estructurales (PE):

- Los anticuerpos contra PE se dirigen contra las proteínas de la cápside vírica (cubierta)
- Los anticuerpos contra las PE se inducen tanto por vacunación como por infección
- Los anticuerpos contra las PE suelen empezar a aparecer de 3 a 4 días después de la aparición de signos clínicos
- Los anticuerpos contra las PE son relativamente **específicos para cada serotipo.**



Anticuerpos contra proteínas no estructurales (PNE)

- Los anticuerpos contra PNE se dirigen contra las proteínas que intervienen en la replicación del virus.
- Los anticuerpos contra PNE se inducen por infección y por vacuna **no purificada**. **No son inducidos por vacuna purificada.**
- Los anticuerpos contra PNE **no son específicos de cada serotipo**. En otras palabras, las pruebas de anticuerpos PNE permiten detectar infecciones causadas por los siete serotipos del virus de la fiebre aftosa.
- Los anticuerpos contra las PNE aparecen de seis a siete días después de los signos clínicos, es decir un poco más tarde que los anticuerpos contra PE. Tras la vacunación, la respuesta a las PNE se puede ver reducida o retardada en casos de una infección clínica leve o subclínica.

Pruebas de detección de anticuerpos

Los anticuerpos, tanto contra las PE como contra las PNE, se detectan mediante varias pruebas ELISA.

Los anticuerpos contra las PE también se pueden detectar mediante pruebas de neutralización del virus.

([Doel, T, 2005](#))



Serovigilancia post vacunación

Como se explicó anteriormente, tanto la vacuna como la infección inducen anticuerpos contra las proteínas estructurales del virus de la fiebre aftosa, mientras que los anticuerpos contra las proteínas no estructurales son inducidos solamente por la infección natural (también por vacunas no purificadas o de mala calidad), pero no por las vacunas purificadas de buena calidad. Por lo tanto, analizar anticuerpos frente a PNE y PE, seguidos de la comparación de los títulos de anticuerpos permite la diferenciación entre animales infectados y animales vacunados.

El objetivo de la serovigilancia post-vacunación es identificar a los animales infectados asintomáticos que al estar vacunados, no muestran signos clínicos. Estos animales pueden ser portadores, por lo que existe un riesgo teórico de que propaguen el virus a otros animales con los que estén en contacto. Esto es especialmente importante en países que han perdido la condición de libres de la fiebre aftosa y esperan recuperarla rápidamente.



En los países donde la fiebre aftosa es endémica y que utilizan entre otras medidas de intervención la vacunación, es importante hacer un seguimiento para verificar que la campaña de vacunación ha sido efectiva. Se pueden analizar muestras de suero de los animales vacunados para comprobar que la vacuna ha inducido la producción de anticuerpos de forma adecuada.

Toma de muestras para diagnóstico

Recuerda que la calidad de las pruebas diagnósticas depende de la calidad de las muestras que tomas y envías al laboratorio para su análisis. Es muy importante asegurarse de que se toman las muestras adecuadas y que sean recolectadas de forma que puedan ser utilizadas como medio de diagnóstico.

Toma de muestras para la detección de antígenos

Las muestras ideales (con un alto contenido de virus) son el **líquido vesicular** y el **epitelio procedente de lesiones recientes**. La **extensión mínima de las muestras de epitelio es de 2 cm²** (aproximadamente, la superficie de la uña del pulgar).

Obtener muestras de epitelio o de líquido vesicular de la boca de un animal que tiene lesiones que le provocan gran dolor no es fácil. Asegúrate de que el animal esté adecuadamente inmovilizado antes de intentar tomar las muestras.

El líquido vesicular se puede recolectar usando una aguja de calibre fino, aunque en un animal vivo esta operación puede resultar difícil. Las muestras de epitelio de lesiones recientes se pueden desprender mientras examinas al animal. Puede ser de ayuda tomar suavemente el epitelio con unas pinzas mejor que cortarlo.

En algunos casos se puede confundir un coágulo grande de fibrina con epitelio. Antes de enviar la muestra comprueba la textura. La fibrina se desmenuza al frotarlo entre los dedos con mucha más facilidad que el epitelio. Es poco probable que la fibrina contenga virus, pues cuando la fibrina aparece debido a la producción de anticuerpos no se suele observar viremia.

El virus se pueden aislar de la **sangre entera**: Ten en cuenta que la toma de muestras de sangre para detección de antígenos virales no es el test de elección y que el VFA estará presente en la sangre solo durante la fase viremia de la enfermedad.

En caso de miocarditis, los virus se pueden aislar a partir



Toma de una muestra de epitelio



Muestra de epitelio: se necesita una superficie de 2 cm², así que esta muestra no es insuficiente



de muestras del **miocardio**.

Muestreo mediante la técnica de Probang

A veces se utiliza el muestreo mediante la técnica de Probang que permite detectar al virus en la orofaringe en animales portadores que se han recuperado de los signos clínicos y en animales portadores en general.

Recuerda que el Probang no debe ser tu método de elección para recolección de muestras. Normalmente es más fácil y rápido tomar muestras de epitelio o muestras de sangre. La finalidad del Probang es tomar muestras en estadios tardíos de infección y en estudios experimentales para determinar portadores.

El Probang es un recipiente metálico situado en el extremo de un cable flexible. Existen de varias medidas, según el tamaño del animal del que se vaya a tomar la muestra.

- 1) Asegúrate de que el animal está adecuadamente inmovilizado.
- 2) Mide la distancia a la orofaringe en el exterior del animal y márcala en el cable de la sonda a modo de guía.
- 3) Introdúzcala por la parte central de la cavidad bucal del animal (si la desvías a un lado, notarás que el animal la mastica).
- 4) Palpe el exterior de la laringe (región laríngea) y la parte superior del esófago. Notarás que el Probang llega a esta zona.
- 5) Mueve suavemente el Probang cinco veces hacia atrás y hacia adelante en esta zona. Deberías sentir como suavemente raspa la pared superior de la orofaringe.
- 6) Retira el Probang suavemente, cuidando de no volcar el recipiente para no derramar la muestra.
- 7) Pasa la muestra al medio de transporte de la sonda.



Medición de la distancia hasta la que se debe introducir la sonda

Cuida de no introducir el Probang demasiado en el esófago, eso haría que el animal eructase y los fluidos ruminales de los bovinos al ser ácidos (pH 6) estropearían la muestra. Si esto ocurre debes lavar el Probang antes de utilizarlo otra vez.

Si necesitas usar un Probang en más de un animal, primero debes lavarlo y desinfectarlo con detergentes y desinfectantes autorizados, finalmente enjuaga el equipo antes de reutilizarlo.

Muestreo mediante la técnica de Probang



Antes de colocar la sonda esofágica en el medio de transporte, comprueba que está limpia y no presenta signos visibles de contaminación proveniente del rumen.

Medio para transporte:

2-3 ml de PBS 0,08 M que contenga 0,01 % de albumina de suero bovino, 0,002 % de rojo de fenol y antibióticos, ajustado a pH de 7,2

Bovinos:

Añade 2 ml de la muestra, incluyendo material celular visible, a un volumen equivalente de solución tampón y mezcla.

Una muestra normal debe tener un pH final de ~7,6

Ovinos:

Introduce el recipiente directamente en un contenedor desechable en el que se hayan incluido previamente 3 ml de solución tampón y mezcla suavemente



Pasa la muestra a un medio de transporte

¿Qué animales se han de muestrear y qué muestras hay que recoger?

Muestras que deben ser enviadas

1. Suero: obténgase la sangre completa empleando tubos estériles sin anticoagulante.

2. Sangre: sangre completa con EDTA procedente de animales con fiebre, vesículas u otros signos clínicos de enfermedad o dentro del probable periodo de viremia de los animales.

3. Otros:

- Epitelio vesicular
- Fluido de vesículas
- Saliva
- Fluido esofaríngeo en bovino (*Probang cups*)
- Hisopos faríngeos y nasales en porcino, ovino y caprino
- Tejidos: Corazón, riñón, ganglios linfáticos e hígado
- Leche

Medio de transporte para envío de epitelios, saliva y fluido vesicular:

- 50% de Tampón fosfato 0,04 M:
Na₂HPO₄·2H₂O 3,05 g
KH₂PO₄ 0,39 g
Llevar hasta 500 ml con agua destilada estéril
Añadir 1 ml de rojo fenol 1%



Añadir antibióticos
Ajustar el pH a 7,2-7,6 con HCl

- 50% de glicerol
- Antibióticos (concentración final):
Penicilina: 1000 unidades/ml
Micostatín: 100 unidades/ml
Neomicina: 50 unidades/ml
Polimixina: 100 unidades/ml

¿Qué animales se han de muestrear?

¿Y si no hay lesiones?

En algunos casos, aunque no existan lesiones adecuadas para tomar muestras existen buenas razones para sospechar que hay fiebre aftosa, ya sea porque:

- hay animales sospechosos de estar incubando la enfermedad por ejemplo porque la explotación tiene un contacto con una explotación confirmada
- hay lesiones típicas de una infección antigua, pero ya no hay epitelio para extraer la muestras de las lesiones

En el primer caso se deben tomar muestras de sangre, que deben ser analizadas por PCR, mientras que en el segundo caso, en tanto que si hay lesiones antiguas, se deben analizar los títulos de anticuerpos.

Además, cuando las lesiones son muy antigua, haciendo imposible la recolección de muestras epiteliales, ocasionalmente el virus se puede aislar de muestras nasales o esofágicas, siempre y cuando los laboratorios estén equipados para trabajar con ellas (deben estar capacitados para llevar a cabo diagnóstico con técnicas moleculares (PCR)) sobre este tipo de muestras.

Envasado y envío de las muestras

El procesamiento de las muestras para el diagnóstico de la FA se debe considerar **URGENTE** y se deben enviar al laboratorio de referencia de la forma más rápida y utilizando el itinerario más directo.



Se debe llamar al laboratorio antes del envío de muestras para que los reactivos estén preparados cuando la muestra llegue. Estos protocolos deberían estar incluidos en los manuales de procedimiento del plan de alerta.

Las muestras de FA son extremadamente bio peligrosas, por lo que se deben envasar y etiquetar correctamente a fin de evitar la propagación del virus. **Consulte las directrices de envasado en la normativa nacional en el Manual práctico de operaciones en la lucha frente a la FA.**

Como sucede con todas las muestras diagnósticas, hay que asegurarse de que cada muestra está correctamente etiquetada y vaya acompañada de la documentación que contenga la información apropiada y completa. Debe ser posible asociar cada muestra con el animal del que se obtuvo.

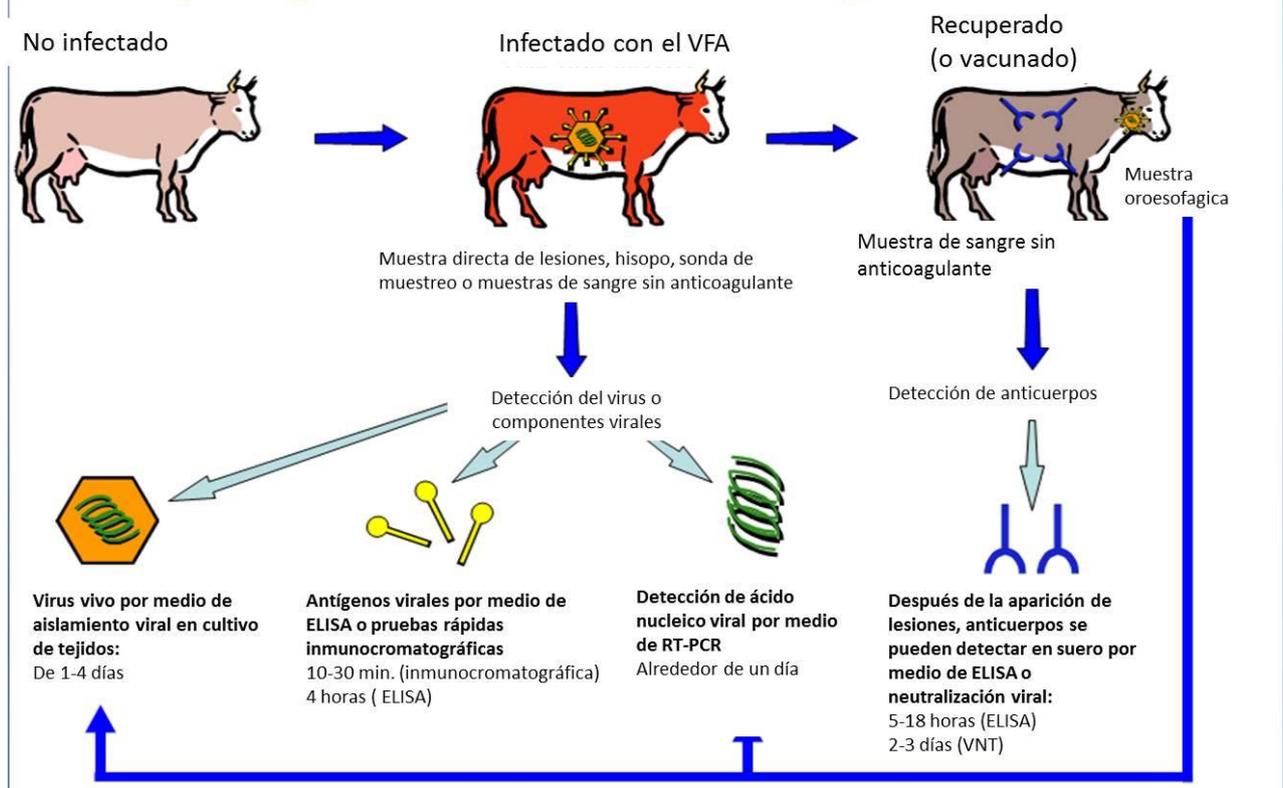
Resumen de las pruebas de laboratorio

En los dos diagramas siguientes se indica qué muestras se han de tomar de acuerdo a la fase de infección de la fiebre aftosa.

Tipo de muestra	Lesión reciente con una antigüedad inferior a los 3-4 días	Lesión con una antigüedad superior a los 3-4 días
Muestra epitelial	PCR, Ag ELISA, IFL, aislamiento viral	Ninguna presente
Sangre	RT-PCR para detección de ARN	Anticuerpos ELISA (PNE, PE)
Saliva/muestra nasal:	PCR o LFD	Ninguna
Muestra esofágica:	PCR, aislamiento viral	PCR, aislamiento viral



Las principales características del diagnóstico de FA



(Cortesía del Instituto Pirbright)

Referencias

Referencias

Alexanderson S., Zhang, Z., Donaldson A.I. and Garland A.J. (2003). The pathogenesis and diagnosis of foot-and-mouth disease. *Journal of Comparative Pathology* 129(1) 1-36 [Disponible aquí.](#)

Dekker, A., Moonen, P. and Pol, J.M.A.(2005) Linear hoof defects in sheep infected with foot-and-mouth disease. *Veterinary Record* **156** 572-75

Doel, T. (2005) Natural and vaccine induced immunity to FMD. *Current Topics in Microbiology and Immunology* **288**, 103-31

Kitching and Mackay (2005) *State Veterinary Journal*. **5(3)** 4-8

i

