

BOLETÍN

del
centro panamericano
de
fiebre aftosa

61



Organización Panamericana de la Salud
Oficina Sanitaria Panamericana, Oficina Regional de la
Organización Mundial de la Salud

BOLETÍN

del

Centro Panamericano de Fiebre Aftosa

Nº 61, enero-diciembre 1995

Contenido

Convenio de cooperación técnica internacional para el control y la erradicación de la fiebre aftosa en la cuenca del Río de la Plata: logros y perspectivas.....	3
<i>V.M.Astudillo, F.Dora, F.Muzio, R.Casas O., B. Cané, I.A. Kroetz, C.A. Trapani O., D.H. Geymonat</i>	
[Abstract, Resumo, p.12-13]	
Contribuciones del médico veterinario al desarrollo local.....	14
<i>H.Málaga</i>	
[Abstract, Resumo, p. 21]	
Persistencia de anticuerpos anti-VIAA en bovinos vacunados con diferentes vacunas antiaftosa oleosas de uso comercial.....	22
<i>L.E.Díaz, R.Dilandro, E.Vitale, A.Lena</i>	
[Abstract, Resumo, p. 26]	
Estabilidad y respuesta inmunogénica de una vacuna de adyuvante oleoso contra el virus New Jersey de la estomatitis vesicular, estudiada en ratones adultos y lactantes.....	27
<i>J.M.Obregón H., J.R.de Domínguez</i>	
[Abstract, Resumo, p.33]	
Desempeño de un ensayo inmunoenzimático de electrotransferencia rápido para la detección de bovinos expuestos al virus de la fiebre aftosa.....	34
<i>Performance of a rapid enzyme-linked immunolectrotransfer blot assay for detection of cattle exposed to foot-and-mouth disease virus.....</i>	40
<i>I.E.Bergmann, V.Malirat</i>	
[Resumo, p.39]	

Microcaracterización de riesgo en fiebre aftosa.....	45
<i>L.E.Días, E.Vitale, F.Etchegaray</i>	
[Abstract, Resumo, p.50]	
Foot-and-mouth disease in the European Union.....	51
<i>R.P.Kitching</i>	
[Resumen, Resumo, p.56]	
Resumenes - Abstracts.....	57
Bibliografía sobre enfermedades vesiculares - Bibliography on vesicular diseases.....	70
Instrucciones/Instructions.....	85

Reconocimientos

El Editor responsable agradece la colaboración de los siguientes doctores en la revisión de los manuscritos:

Rossana Allende
 Albino Alonso Fernández
 Paulo Augé de Mello
 Narey Cotrina
 Gilfredo C. Darsic
 Ivo Gomes
 Julio Guilherme Gubel
 Juan Lubroth
 José Antônio P. Prado
 Victor Saraiva
 Ubiratan Mendes Serrão
 Paul Sutmöller
 Aníbal Zottle

CONVENIO DE COOPERACION TÉCNICA INTERNACIONAL PARA EL CONTROL Y LA ERRADICACIÓN DE LA FIEBRE AFTOSA EN LA CUENCA DEL RÍO DE LA PLATA: LOGROS Y PERSPECTIVAS

Vicente M. Astudillo¹, Fernando Dora¹, Francisco Muzio², Raúl Casas Olascoaga³,
Bernardo Cané⁴, Inácio A. Kroetz⁵, Carlos A. Trapani O.⁶, Dante H. Geymonat⁷

¹*Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (OPS/OMS)*
Caixa Postal 589, 20001-970 Rio de Janeiro, RJ, Brasil

²*Proyecto Cuenca del Plata, Colonia 892, 2º piso, Montevideo, Uruguay*

³*Consultor, OPS/OMS, Montevideo, Uruguay*

⁴*SENASA, Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca, Buenos Aires, Argentina*

⁵*Departamento de Defensa Animal, MALAR, Esplanada dos Ministerios, Brasilia, DF, Brasil*

⁶*SENACSA, Km 10 1/2 Ruta Mcal. Estigarribia, Asunción, Paraguay*

⁷*Servicio de Sanidad Animal, MGAP, Colonia 892, 7º piso, Montevideo, Uruguay*

Los Gobiernos de Argentina, Brasil y Uruguay, con la Organización Panamericana de la Salud (OPS), a través del Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (PANAFTOSA), en junio de 1987 suscribieron un Convenio de Cooperación Técnica Internacional para el Control y Erradicación de la Fiebre Aftosa en la Cuenca del Río de la Plata. El Convenio comenzó a ejecutarse en 1989 y en 1992 se incorporó al mismo Paraguay. La aplicación de una estrategia coordinada a través del Proyecto Subregional de Control y Erradicación de la Fiebre Aftosa en la Cuenca del Río de la Plata y ejecutada por los servicios veterinarios de los países con la cooperación técnica de PANAFTOSA, de acuerdo con la caracterización epidemiológica de la región logró, al término de los cinco años de la primera etapa—partiendo de una situación inicial con importante presencia de fiebre aftosa—, la eliminación gradual del endemismo viral y la ausencia clínica de la enfermedad en la casi totalidad del área inicial del Convenio. También se logró la participación activa en los programas de los productores pecuarios y en menor grado de los veterinarios de la actividad privada, las universidades y agroindustrias. Los resultados obtenidos, incluso en el campo internacional como en el caso de Uruguay, reconocido por la Oficina Internacional de Epizootias (OIE) como país libre de fiebre aftosa con vacunación, posibilitaron la continuidad del Convenio en una segunda etapa, 1994 -1998, con el propósito de consolidar los resultados en la región inicial y ampliar el área geográfica hacia nuevas fronteras epidemiológicas interrelacionadas con aquella.

A mediados de la década de 70 se inició una larga serie de convenios de frontera que culminaron con el Convenio de Cooperación Técnica Internacional para el Control y Erradicación de la Fiebre Aftosa en la Cuenca del Río de la Plata (/). Con la asesoría y coordinación del Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (PANAFTOSA), el

Convenio fue suscripto por los Gobiernos de Argentina, Brasil y Uruguay y la Organización Panamericana de la Salud (OPS), representada por PANAFTOSA, el 24 de junio de 1987, en la ciudad de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. En 1992 se incorporó al mismo Paraguay.

El Convenio le otorgó al Proyecto Subregional de Control y Erradicación de la Fiebre Aftosa en la Cuenca del Río de la Plata el necesario marco político-institucional para su ejecución. El

Solicitar separatas al :
Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (OPS/OMS)

objetivo de este Convenio era consolidar el control y lograr la erradicación de la fiebre aftosa, en una primera etapa de cinco años, en el área comprendida por las provincias de Entre Ríos, Corrientes y Misiones en la Argentina, el estado de Río Grande do Sul en Brasil y todo el territorio de Uruguay.

Las actividades de cooperación técnica del Convenio se iniciaron en 1989 al concretarse los primeros aportes presupuestarios de los países participantes, cuando entró en funciones el Coordinador Internacional.

CARACTERIZACIÓN DEL ÁREA

Se trata de una subregión ampliamente excedentaria en producción de alimentos de origen animal: carne bovina, ovina y porcina, leche y derivados, de neto perfil exportador; animales en pie hacia otras regiones como en el caso de la Mesopotamia argentina, o productos cárnicos y lana como en Uruguay y Río Grande do Sul.

Engloba una superficie de aproximadamente 813.500 km², con 600.000 productores, 36.000.000 de bovinos, 38.000.000 de ovinos y 4.600.000 de porcinos (figura 1).

La distribución de las formas de producción pecuaria se observa en la figura 2, destacándose el predominio del tipo empresarial extractivo en gran parte de la región, que comprende el sur de la provincia de Misiones, todo el territorio de Corrientes y norte de Entre Ríos en Argentina, la llamada región de Campaña de Río Grande do Sul (que abarca desde la frontera con Uruguay hasta el centro del estado), y el área ubicada al norte del Río Negro en Uruguay. Esta distribución coincide, en su mayor parte, con las áreas endémicas primarias (figura 3) que es donde existen condicionantes para el mantenimiento del virus en el ecosistema, que luego, por movimientos de animales se difunde hacia las áreas endémicas secundarias y ocasionalmente a las paraendémicas.

OBJETIVOS Y METAS DEL CONVENIO

Los principales objetivos del Convenio, cuya meta principal fue eliminar la enfermedad clínica



Figura 1. Convenio de Cooperación Técnica Internacional para el Control y Erradicación de la Fiebre Aftosa en la Cuenca del Río de la Plata, celebrado entre los Gobiernos de la República Argentina, República Federativa de Brasil, República Oriental del Uruguay y República del Paraguay, y la Organización Panamericana de la Salud (OPS), en la Cuenca del Río de la Plata. Área del convenio: Primera etapa.

en la región inicial en un plazo de cinco años, se resumen en:

1. coordinación de la programación, ejecución y evaluación de las actividades de control y erradicación de la fiebre aftosa entre los servicios oficiales responsables de Argentina, Brasil, Uruguay y Paraguay;

2. capacitación técnica de los recursos humanos involucrados en el control y la erradicación de la fiebre aftosa en la región;

3. asesoramiento directo en cuestiones vinculadas con la planificación y evaluación de los programas nacionales, comunicación social, epidemiología, informática y análisis del impacto del proyecto sobre la pecuaria subregional;

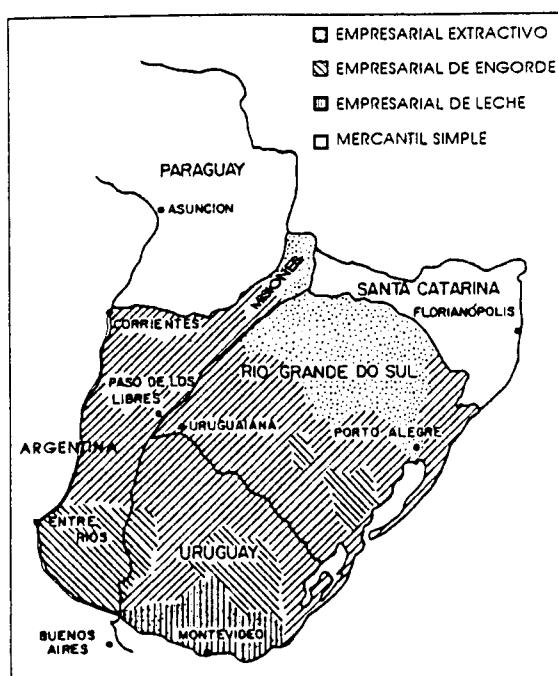


Figura 2. Cuenca del Río de la Plata (región sudeste) formas de producción pecuaria, 1987

o de salud animal y un dirigente de las asociaciones de ganaderos, estos últimos incorporados en 1992, reuniéndose de forma ordinaria dos veces por año. Además se formó un grupo técnico (GT) integrado por un coordinador, un consultor en epidemiología del Proyecto y cinco técnicos de cada país, tres del área de epidemiología y campo y dos del área de laboratorio. El rol de este grupo ha sido asesorar técnicamente al Comité para la toma de decisiones, realizando cuatro reuniones ordinarias por año (figura 4).

En su primera etapa el Convenio contó con tres funcionarios permanentes: el coordinador, un consultor en epidemiología y una secretaria. El coordinador y la secretaria estaban en la sede del Proyecto en Porto Alegre, Brasil, y el epidemiólogo tuvo su sede en Montevideo, Uruguay. El presupuesto originalmente proyectado, destinado a cubrir la primera etapa, fue de US\$ 1.580.793 cuya financiación estaba a cargo de cada país participante, siendo que las contribuciones efectivamente realizadas totalizaron US\$ 970.000. Durante los

4. cooperación técnica con la investigación epidemiológica y la detección y eliminación precoz de situaciones de emergencia, incluyendo la provisión oportuna de inmunógenos, y

5. comunicación inmediata, oportuna y completa de todos los aspectos relacionados con la conducta de la enfermedad, materializándose a través de una intensa comunicación entre los países y autorizando PANAFTOSA a transmitir a cada país cualquier evento epidemiológico que sea de importancia para el proyecto, para el uso exclusivo de los servicios (/).

ORGANIZACIÓN Y RECURSOS FINANCIEROS

Desde su inicio el Convenio ha tenido como organismo rector al "Comité de control y erradicación de la fiebre aftosa en la Cuenca del Plata", compuesto por el director de PANAFTOSA con las funciones de Director Ejecutivo, dos representantes de cada país, el director de los servicios veterinarios

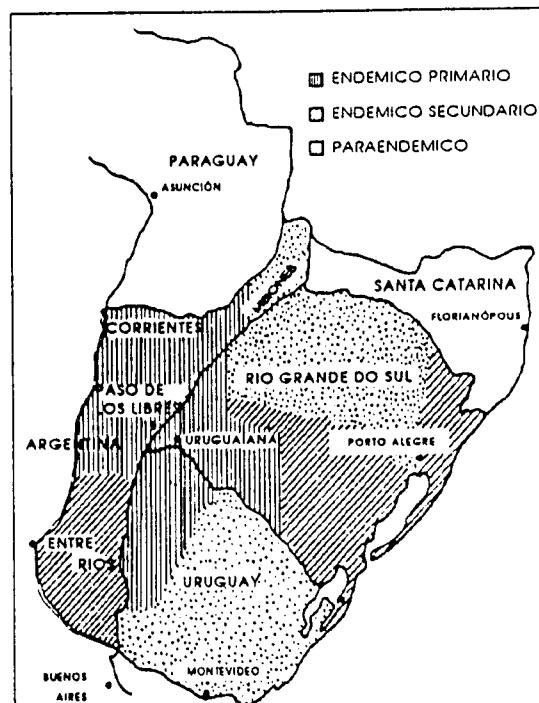


Figura 3. Cuenca del Río de la Plata (región sudeste) ecosistemas de fiebre aftosa, 1987

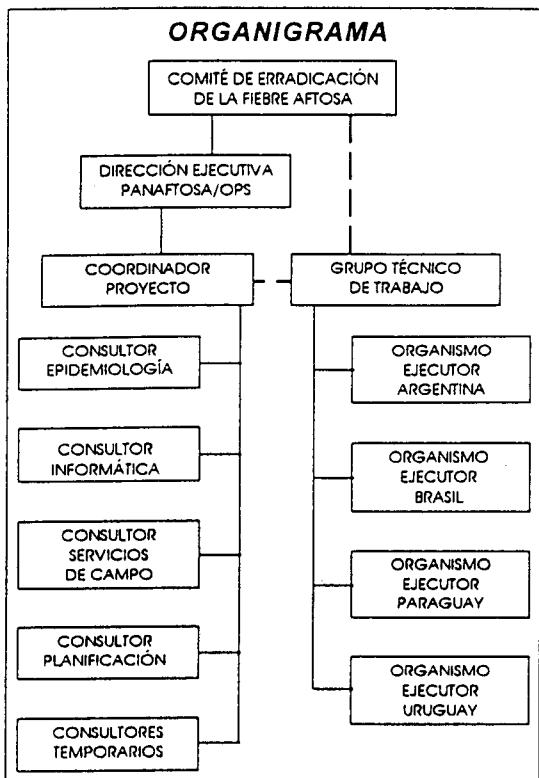


Figura 4. Convenio de Cooperación Técnica Internacional para el Control y Erradicación de la Fiebre Aftosa en la Cuenca del Río de la Plata

dos primeros años, el funcionamiento del Convenio se vio dificultado por la lentitud en la concreción de los aportes.

Estos recursos fueron adicionales a los presupuestos de los programas nacionales de fiebre aftosa. El total de recursos públicos y privados utilizado en las campañas para la erradicación de la fiebre aftosa en la región, en 1992 fue estimado en US\$ 56.500.000 (5).

ESTRATEGIA GLOBAL

Regionalización de los programas

Se planificó y ejecutó una estrategia regional, caracterizando el área endémica primaria común,

para toda la subregión y su impacto sobre las áreas endémicas secundarias y esporádicas. Se instrumentaron medidas sanitarias tendientes a la eliminación del endemismo autóctono para posteriormente evitar la influencia de otras áreas endémicas primarias ubicadas fuera de los límites del Convenio, pero con fuerte interrelación epidemiológica con la misma, especialmente en zonas de pequeñas propiedades.

En particular se destaca: a) la regionalización de la Mesopotamia argentina (provincias de Misiones, Corrientes y Entre Ríos), donde se llevó a cabo una descentralización de las acciones táctico-operativas con la creación de una comisión técnica regional para las tres provincias, b) el control en una fase inicial y restricción posterior de los ingresos de animales susceptibles y productos de origen animal factibles de vehiculizar el virus, y c) el funcionamiento del sistema de información de vigilancia epidemiológica de la Cuenca del Plata centralizado en Paraná, Brasil, y Entre Ríos, Argentina, con recepción y distribución de información epidemiológica para las tres provincias (4,5).

Integración de los servicios veterinarios

Se materializó una real integración entre los servicios veterinarios del área del Convenio con un total de 400 unidades de campo, permitiendo acciones conjuntas especialmente en áreas de frontera y el funcionamiento de un sistema de información y vigilancia epidemiológica adecuado a los objetivos trazados.

Unificación de las estrategias y procedimientos técnicos

En un proceso gradual, en toda el área del Proyecto se llegó a la utilización de un mismo tipo de inmunógeno, definiéndose como instrumento sanitario prioritario la vacuna de adyuvante oleoso.

Se definieron esquemas de vacunación adecuados a los distintos ecosistemas. En la casi

totalidad de la región se utilizó una vacunación anual en los animales adultos revacunados y dos en los menores de dos años, en períodos acotados en torno de 60 días. En áreas de ganadería marginal con pequeñas propiedades (áreas esporádicas) se empleó una vacunación anual hecha por el servicio oficial. En Argentina se estructuraron planes con participación del sector privado en la gestión, efectuando la vacunación con personal contratado. En áreas ganaderas en Río Grande do Sul, en Uruguay y en Paraguay la vacunación estuvo a cargo de los productores, con controles directos de los servicios oficiales mediante calendarios preestablecidos.

Se definió una estrategia de obtención de alta cobertura de vacunación en la especie bovina, en tanto que el ovino, de acuerdo con su papel epidemiológico, solo fue considerado en las vacunaciones tácticas para el control de focos, convirtiéndolo de esa forma en un continente de la enfermedad.

Con el asesoramiento de PANAFTOSA, el GT elaboró un manual de procedimientos para atención de focos único para toda la región, armonizando las distintas legislaciones y reglamentos sanitarios de los países.

Se concedió especial atención al control del movimiento de animales entre los distintos ecosistemas, tendiente a disminuir la influencia de los ecosistemas endémicos sobre los restantes.

En 1992 se aprobaron normas de bioseguridad comunes para todos los laboratorios de la región que manipulaban virus de la fiebre aftosa, y se creó una comisión integrada por técnicos de laboratorio de los países y PANAFTOSA encargada del diagnóstico de las condiciones específicas en la región y monitoreo de las mismas con frecuencia anual.

Capacitación de recursos humanos involucrados en el Proyecto

Se capacitó a un número significativo de los recursos humanos disponibles, a través de cursos, seminarios, becas, pasantías, consultorías y simulacros en las áreas de epidemiología, vigilancia

epidemiológica, informática, legislación sanitaria, comunicación social, diagnóstico diferencial de enfermedades vesiculares, actuación en focos, serología, desarrollo de programas, erradicación de enfermedades exóticas, y bioseguridad. De estos eventos participaron aproximadamente 1000 profesionales. Además de estas tareas comunes, cada programa nacional desarrolló sus actividades en estos mismos campos.

De acuerdo con el cambio de situación epidemiológica se realizaron seminarios de erradicación de fiebre aftosa, incluyendo simulacros y visitas a áreas libres como Chile.

Continuidad de los programas

En el marco de la prioridad asignada a la erradicación de la fiebre aftosa por los gobiernos, la continuidad de las actividades de cooperación técnica y de los programas nacionales se obtuvo a través de la estabilidad en los cargos de los integrantes del GT, posibilitando el logro de las metas perseguidas.

Extensión paulatina del área del convenio

Paraguay, luego de asistir como observador durante dos años, ingresó formalmente al Convenio en 1992. En los dos últimos años de ejecución, otras provincias argentinas y estados de Brasil vecinas al área del Convenio acompañaron como observadores las reuniones técnicas y las actividades de adiestramiento, como paso previo a su incorporación en la segunda etapa.

Actividades desarrolladas

En el cuadro 1 se resumen las principales actividades desarrolladas durante el período 1989-

Cuadro 1. Resumen de las principales acciones del Convenio Cuenca del Río de la Plata, realizadas en el período 1989-1993, según año

Año calendario Convenio	1989	1990	1991	1992	1993	Total	Observaciones
	1	2	3	4	5		
ACTIVIDAD							
1. REUNIONES COMITÉ	2	2	3**	2	2	11	Una extraordinaria
2. REUNIONES GT	2	1	4	3	3	13	
3. CURSOS							
Nº Eventos	1	-	-	-	4	5	
Nº Participantes	26	-	-	-	185	211	
4. SEMINARIOS							
Nº Eventos	3	-	5	7	2	17	
Nº Participantes	65	-	260	192	70	587	
5. BECAS (CURSOS EXTERNOS)							
Nº Eventos	-	-	3	3	2	8	
Nº Participantes	-	-	12	16	13	41	
6. VIAJES ESTUDIOS							
Nº Eventos	2	-	1	-	2	5	
Nº Participantes	10	-	6	-	24	40	
7. VIAJES DE ASESORÍA	9	23	27	42	31	132	A partir de abril/91, epidemiólogo
8. CHARLAS Y REU- NIONES DIVERSAS	21	45	37	28	15	146	
9. VISITAS RECIBIDAS	6	2	5	3	2	18	Chile, Colombia, Cuba, UE, España y países del área
10. RECORRIDOS DE FRONTERA	2	-	1	-	1	4	(BRA-URU) (ARG-BRA) (ARG-URU) (ARG-PAR)
11. REUNIONES MINISTROS	1	1	-	-	-	2	
12. COOP. TÉCNICA	3	5	4	11	8	31	

1993. En los primeros años, las mismas estuvieron enfocadas al cambio de objetivo de control a erradicación, integración de los servicios y adiestramiento técnico. En los últimos años se afianzó el cumplimiento de la programación anual de actividades, aprobada por el comité en el año anterior, a iniciativa del GT, ejecutándose un alto porcentaje (superior al 80%) de lo previsto, además de un importante número de acciones no programadas que los consultores desarrollaron a solicitud de los países.

Sistema de información y vigilancia epidemiológica

A partir de 1992 se logró la consolidación del sistema de información y vigilancia epidemiológica, lo que significó un sensible avance al poder disponer de información epidemiológica de contenido adecuado, con la oportunidad y coberturas requeridas para un programa de erradicación.

En la figura 5 se observan las oficinas centrales desde donde se intercambia la información, por

fax, con frecuencia semanal y mensual. En esta última se incluyó información de precios de bovino en pie y de vacuna oleosa en los países de la región. En situaciones de emergencia, las comunicaciones en áreas de frontera se realizan también directamente entre las unidades de campo.

Previo a la puesta a punto del sistema de información, desde 1989 a 1991 se realizaron recorridos de frontera en toda la región inicial con el objeto de visitar todas las unidades de campo y poner en contacto a las contrapartes respectivas, para las futuras acciones conjuntas. En 1993 se completó toda el área de la primera etapa con la visita a la frontera argentino-paraguaya.



Figura 5. Cuenca del Río de la Plata. Argentina, Brasil, Paraguay, Uruguay y PANAFTOSA/OPS/OMS. Sistema de información y vigilancia epidemiológica

Participación comunitaria

En el bienio de 1992-1993 se puso especial énfasis en la participación de la comunidad en los programas a través de la realización de seminarios con participación de productores agropecuarios, veterinarios privados y universidades, así como visitas a diversos puntos de la región para intercambio de distintas experiencias de trabajo, como ejecución de planes de vacunación.

PRINCIPALES LOGROS

Eliminación de la enfermedad clínica en la casi totalidad de la región inicial

De una situación inicial con una importante dispersión geográfica de la enfermedad en toda la región, al finalizar la primera etapa se constató la siguiente situación sanitaria: a) Uruguay sin focos de fiebre aftosa desde junio de 1990; b) la Mesopotamia argentina sin focos desde diciembre de 1993, y c) Río Grande do Sul con dos episodios aislados en 1993, dos focos en febrero-marzo en la ciudad de Porto Alegre, probablemente asociados a escape de virus desde laboratorio y un brote en

diciembre con 11 focos en el norte del estado, producto de la introducción de cerdos, ya infectados, destinados a faena en dos frigoríficos, provenientes del estado de Paraná (cuadro 2).

Eliminación del endemismo viral

La información disponible permite inferir que paulatinamente se fue eliminando el endemismo viral en importantes áreas. Esto se demuestra por el quiebre de la estacionalidad histórica de presentación de la enfermedad (figuras 6,7), la ausencia clínica de la fiebre aftosa en áreas endémicas por un periodo de más de dos años y la presencia de la enfermedad en áreas esporádicas, cuya fuente de infección se ubicó en áreas endémicas primarias externas a la región.

Muestreos serológicos realizados en Uruguay y en parte de la Mesopotamia argentina corroboran la ausencia de actividad viral.

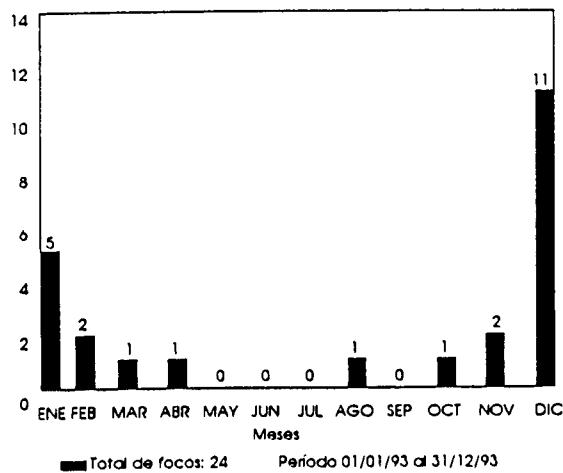


Figura 7. Convenio de la Cuenca del Río de la Plata. Incidencia mensual de la fiebre aftosa

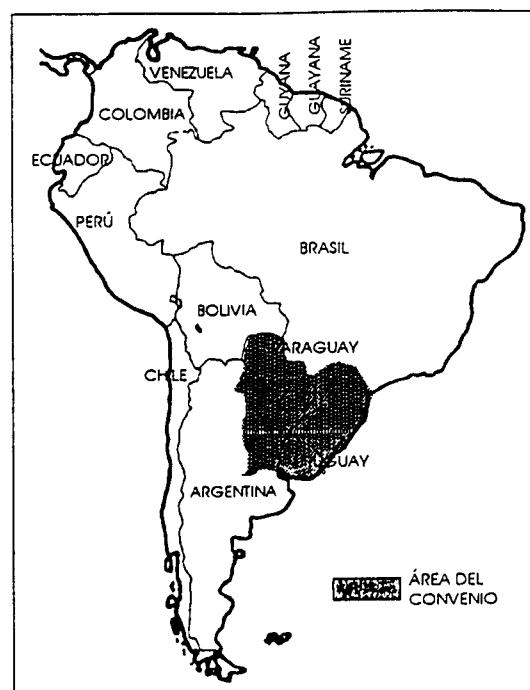


Figura 8. América del Sur. Área del convenio. Segunda etapa 1994-1998

Cuadro 3. Comparación de la superficie, establecimientos y población animal en el Convenio. 1^a y 2^a etapas

País	Área (km ²)	Nº Propiet.	Bovinos	Ovinos	Porcinos
Argentina					
1 ^a etapa	196.781	60.723	9.507.000	3.661.000	221.000
2 ^a etapa	313.719	55.143	10.482.672	95.245	488.000
Total	510.500	115.866	19.989.672	3.756.245	709.000
Brasil					
1 ^a etapa	282.184	367.522	12.901.000	9.056.000	1.943.000
2 ^a etapa	295.795	336.452	11.355.136	500.000	7.500.000
Total	577.979	703.974	24.256.136	9.556.000	9.443.600
Paraguay					
1 ^a etapa	159.227	104.876	6.950.889	331.200	2.257.000
2 ^a etapa	246.925	5.928	2.910.274	-	47.000
Total	406.152	110.804	9.861.163	331.200	2.304.000
Uruguay					
Total	175.215	53.696	9.500.000	25.220.000	250.000
Total región	1.669.846	984.340	63.606.971	38.863.445	12.706.600

Paraguay, no solo aumenta la población bovina y duplica la porcina involucrada, sino que significa un nuevo desafío al englobar circuitos productivos con características sumamente disímiles.

REFERENCIAS

1. Convenio de cooperación técnica internacional para el control y la erradicación de la fiebre aftosa en la Cuenca del Río de la Plata celebrado entre el gobierno de la República Argentina, el gobierno de la República Federativa de Brasil, el gobierno de la República Oriental del Uruguay y la Organización Panamericana de la Salud (OPS). Porto Alegre, Brasil, 24 junio 1987.
2. COSALFA. Resolución I. In: *XX Reunión Ordinaria de la Comisión Sudamericana para la Lucha contra la Fiebre Aftosa*, Montevideo, Uruguay, 25-26 marzo 1993.
3. COSALFA. Resolución I. In: *XXI Reunión Ordinaria de la Comisión Sudamericana para la Lucha contra la Fiebre Aftosa*, Lima, Perú, 14-15 abril 1994.
4. MUZIO, F. La importancia de la regionalización de los programas de erradicación de fiebre aftosa. In: *VI Congreso Internacional de Medicina Veterinaria en Lengua Portuguesa*, Salvador, Bahia, Brasil, 6-10 diciembre 1993.
5. MUZIO, F. Evaluación global y principales logros del proyecto Cuenca de Plata (1989-1993) In: *XIV Reunión Ordinaria del Comité de Control y Erradicación de la Fiebre Aftosa en la Cuenca del Plata*, Asunción, Paraguay, 16-17 diciembre 1993.
6. MUZIO, F., ACUÑA, L., BITTENCOURT, E., BAPTISTA, F., DIAS, L., MARESKA, R., PITTA PINHEIRO, L.A. Bases técnicas para la segunda etapa del proyecto Cuenca del Plata. In: *XII Reunión Ordinaria del Comité de Control y Erradicación de la Fiebre Aftosa en la Cuenca del Plata*. Asunción, Paraguay, 16-17 diciembre 1993.
7. OIE. Informe de la comisión de la fiebre aftosa y otras epizootias. In: *61a Sesión General de la OIE*, Paris, Francia, 24-28 mayo 1993.

ABSTRACT

International cooperation agreement for the control and eradication of foot-and-mouth disease in the river plate basin: achievements and perspectives

The Governments of Argentina, Brazil and Uruguay, with the Pan American Health Organization (PAHO) through the Pan American Foot-and-Mouth Disease Center (PANAFTOSA), signed in June 1987 an International Cooperation Agreement for the Control and Eradication of Foot-and-Mouth Disease in the River Plate Basin. The agreement was initiated in 1989 and in 1992 Paraguay was also incorporated. The undergoing coordinated strategy through the Subregional Project for the Control and Eradication of Foot-

and Mouth-Disease in the River Plate Basin, and performed by the veterinary services of the countries with the technical cooperation of PANAFTOSA according with the epidemiological characterization of the region accomplished, at the end of the five years of the first stage, the gradual elimination of viral endemicism and the clinical absence of the disease in almost all the initial area of the agreement. The active participation of animal producers was also achieved, and in a lesser manner from private veterinarians, universities and agroindustries. The obtained results, including that of Uruguay in the international field has being recognized by the International Office of Epizootics (OIE) as free of foot-and-mouth disease with vaccination, helped the continuity of the Agreement into a second stage, 1994-1998, in order to consolidate the results in the initial region and expand the geographical area towards new interrelated epidemiological borders.

RESUMO

Convenio de Cooperação Técnica Internacional para o Controle e a Erradicação da Febre Aftosa na Bacia do Rio da Prata: logros e perspectivas

Os Governos da Argentina, Brasil e Uruguai, e a Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS), através do Centro Pan-Americano de Febre Aftosa (PANAFTOSA), subscreveram em junho de 1987 um Convenio de Cooperação Técnica Internacional para o Controle e a Erradicação da Febre Aftosa na Bacia do Rio da Prata. O Convenio começou suas atividades em 1989 e em 1992 Paraguai se incorporou ao mesmo. A aplicação de uma estratégia coordenada através do Projeto Subregional de Controle e Erradicação da Febre Aftosa na Bacia

do Rio da Prata e executada pelos serviços veterinários dos países com a cooperação técnica de PANAFTOSA, de acordo com a caracterização epidemiológica da região logrou, ao finalizar a primeira etapa de cinco anos –a partir de uma situação inicial com importante presença da febre aftosa–, a eliminação gradual do endemismo viral e a ausência clínica da enfermidade na quase totalidade da área inicial do Convenio. Logrou-se também a participação ativa nos programas dos produtores pecuários e, em menor grau, dos veterinários privados, das universidades e agroindústrias. Os resultados obtidos, inclusive no campo internacional como é o caso do Uruguai, país reconhecido pela Oficina Internacional de Epizootias (OIE) como livre de febre aftosa com vacinação, possibilitaram a continuidade do Convenio em uma segunda etapa, 1994-1998, com o propósito de consolidar os resultados na região inicial e ampliar a área geográfica a novas fronteiras epidemiológicas interrelacionadas com aquela.

CONTRIBUCIONES DEL MÉDICO VETERINARIO AL DESARROLLO LOCAL

Hernán Málaga

*Representante de la Organización Panamericana de la Salud/
Organización Mundial de la Salud
Apartado 6722, Caracas 101, Venezuela*

La meta de Salud Para Todos no solo debe lograr que todos utilicen los servicios sanitarios, sino que reduzcan y eliminen las diferencias en salud que resulten de factores que se consideren evitables e injustos. Estos factores predominan en los grupos vulnerables como las comunidades rurales y las poblaciones urbano-marginales e indígenas, ya que poseen la menor esperanza de supervivencia y tienen la menor probabilidad de recibir un buen nivel de servicios. Para producir cambios hay que darle poder a los gobiernos locales y estatales, concienciándolos de la necesidad del autocuidado y autogestión, lo que multiplica el número de personas que deciden el que hacer nacional. En este proceso es necesario que los niveles locales gestionen la salud con equidad, insistiéndose en que la comunidad elabore respuestas mediante proyectos específicos que resuelvan los problemas locales. A este respecto, los médicos veterinarios pueden contribuir identificando la importancia de las zoonosis rurales como un problema de salud pública. Estas atacan a grupos vulnerables, fundamentalmente campesinos, que son los expuestos a riesgo y justifican programas de intervención en los animales, para de incrementar su producción y eliminar la exposición a riesgos de los expuestos. También es importante la intervención en la solución de otros problemas de salud animal, que no sean zoonosis, ya que se incrementa la producción y productividad. Sin embargo, este incremento de ganancias de los productores no se refleja en bienestar social, siendo necesario pensar en formas familiares para contribuir a la reactivación socioeconómica de las áreas rurales postergadas. Enfrentar los problemas de zoonosis en las ciudades también resuelve problemas de grupos vulnerables, ya que generalmente son las comunidades postergadas las más afectadas por su presencia, como es el caso de la rabia y de la leptospirosis urbanas, entre otras. También es importante para estas comunidades la protección que proporcionan los servicios de higiene de alimentos que disminuyen el riesgo de las enfermedades transmitidas por alimentos.

Los países signatarios de Alma Ata escogieron como meta el logro de la Salud para Todos en el Año 2000. Esta meta ha sido entendida por muchos como "cuidados de salud a todos los enfermos" (19), principio que ha guiado las políticas de salud durante los últimos 20 años en nuestros países, por lo que los recursos para la salud han tendido a

concentrarse en las grandes áreas urbanas y disponibles para quienes tienen capacidad de pago o mejor acceso. La promoción del uso de tecnologías de alto costo también ha creado mayores desigualdades en la distribución y en el acceso a los servicios. El uso ineficiente de los recursos existentes ha hecho que los servicios de salud no estén dando respuesta adecuada a los problemas y sus acciones sean insuficientes o deficientes en términos de cantidad, calidad y cobertura (23).

En Venezuela, el modelo de desarrollo ha conducido a injusticias, lo que se refleja direc-

Solicitar separatas al :
Centro Panamericano de Fiebre Altosa (OPS/OMS)

tamente en las condiciones de salud de los diferentes grupos humanos, existiendo grandes diferencias en la estructura de la mortalidad según las condiciones de vida. En el estudio de esta situación se usó el porcentaje de hogares con necesidades básicas insatisfechas (NBI) para clasificar los municipios del país en 10 grupos según sus NBI, entre 0 y 100%, mostrándose la existencia de grandes diferencias en la estructura de la mortalidad según las condiciones de vida.

Así, por ejemplo, la tasa de mortalidad infantil es 2,5 veces más alta en el grupo que tiene NBI entre 90 y 100% cuando se le compara con el grupo que tiene entre el 0 y el 10%. La tasa de mortalidad por enfermedades transmisibles es tres veces superior en el grupo extremo, la tasa de mortalidad por causas perinatales es seis veces mayor y prácticamente todos los casos de tétones neonatal registrados en los últimos años ocurrieron en los municipios que tienen el 70% o más de la población con NBI (20).

Estudios realizados en 1940 en poblaciones rurales demostraron que debido a sus bajos ingresos consumían deficientes calorías y, algunas veces, proteínas (70% de la alimentación formada por arepas y caraotas, menos de 2.000 calorías), generando desnutrición crónica. Por esto los niños presentaban baja estatura y escasa corpulencia. En Caracas, los niños a los 7 años en Caracas tenían una media de 1,16 de estatura y pesaban 21,516 kg, mientras que en Sanare la media era de 1,12 m y 18 kg. Esta tendencia se conservó a los 15 años, con medias de 1,59 m y 49,726 kg en Caracas, contra 1,57 m y 44 kg en Sanare. Por lo tanto, la talla y el peso eran superiores en Caracas dado el mejor nivel social de esta población. A pesar de ser estadísticas recogidas en un medio rural hace 50 años, esta problemática se mantiene vigente en muchos aspectos (7).

Esta afirmación es refrendada por Méndez Castellano al decir que en las primeras cinco décadas de este siglo se creció en promedio 2,5 centímetros por década y que actualmente, por diferencias socioeconómicas (alimentación, vivienda, estímulos psicosociales), los niños de los sectores IV y V tienen un retraso biológico de 20 años con respecto a aquellos de los sectores I y II (17). Las diferencias en estatura y peso entre niños

urbanos y rurales se establecen desde muy temprana edad, pero se reducen en la edad adulta. Las mismas llegan a ser aproximadamente de 4 cm a los 7 años y de 2,6 cm en los adultos jóvenes (21), lo que se confirma en la encuesta social de 1992, en la que el porcentaje de niños por abajo del porcentual 10 de peso para la talla es mucho mayor en el estrato de pobreza extrema en los niños de 5 años (20).

En las grandes ciudades, cuando se examinan sus estadísticas como un todo, aparentemente los indicadores de salud y desarrollo social son muy satisfactorios. Sin embargo, en un estudio reciente realizado en Barquisimeto (12) se demostró que al agrupar los barrios y urbanizaciones según sus NBI, a medida que estas se incrementan, se incrementan la mortalidad general, la mortalidad infantil y la mortalidad por transmisibles. Además, la probabilidad de nacimientos de bajo peso (menos de 2,5 kg) es dos veces mayor en los barrios que tienen entre el 90 y el 100% de sus NBI que en los que tienen entre 0 a 10%, y el nacimiento de menores de 1,5 kg en el estrato, de los que tienen entre el 90 y el 100% de sus NBI es tres veces mayor.

Venezuela tiene una población indígena superior a 314.000 habitantes (1,55% de la población total del país) y existen pocos datos sobre morbi-mortalidad en estos grupos aborígenes. Se conocen algunos problemas específicos y se registró que el 35% de los casos de cólera que ocurrieron durante 1992 se dieron en poblaciones indígenas en Venezuela, fundamentalmente guajiros (extremo noreste) y guarao (extremo noroeste).

Estos ejemplos son argumentos más que suficientes para justificar que para lograr la meta de salud para todos se debe aplicar la descentralización a través de la estrategia de la atención primaria de salud, utilizando como táctica operacional los sistemas locales de salud, como la respuesta sectorial más adecuada a las urgentes necesidades de nuestros pueblos (22).

En Venezuela se podría considerar un porcentaje pequeño de la población como artífice de su propio destino, por lo que existe la necesidad de distribuir y democratizar el conocimiento para que los grupos vulnerables participen en la decisión de sus destinos. Queda claramente demostrado que

el país postergado es el país rural y luego el país urbano-marginal, por lo que para producir el cambio hay que darle poder a quienes no lo han tenido, haciéndolos conscientes de la necesidad del autocuidado y autogestión. Se debe distribuir mejor el poder ampliando su participación, posibilidad que existe en el proceso de descentralización en donde, además del gobierno central, se tienen los gobiernos estatales y los más importantes, los gobiernos locales, lo que multiplica el número de personas que deciden el quehacer nacional.

En este proceso se debe dar énfasis a la necesidad de que los niveles locales gestionen la salud con equidad. Para ello es imprescindible iniciar un proceso que permita la toma de decisiones en este nivel, no solo por la repetición rutinaria de las actividades planificadas en años anteriores, o en compromisos políticos nacionales o internacionales provistos de grandes sumas de dinero para su financiamiento, o por constituir problemas de salud de relevancia internacional (23), sino basado en una planificación ideal con la participación activa de los miembros de la comunidad con el fin de lograr el bienestar del pueblo. Para ello es fundamental la reactivación socioeconómica de las comunidades para conseguir su desarrollo social como base inicial en la consecución de su bienestar.

Para favorecer este proceso es necesario que la comunidad elabore respuestas mediante proyectos específicos que resuelvan los problemas locales. El proceso y el impacto de los programas realizados se pueden medir a través de sistemas de vigilancia que primero hayan servido para jerarquizar los problemas, para explicar las razones de la presencia de los mismos y para identificar los factores que intervienen. La elaboración de los proyectos se debe basar en este conocimiento, a fin de conseguir su financiamiento y su gestión con plena participación de la comunidad. Cuando esto no sea posible se debe apelar a otros organismos de cooperación técnica y financiera existentes en la comunidad y/o en los niveles regionales nacionales o internacionales.

A este respecto, los médicos veterinarios pueden contribuir a conseguir la equidad al enfrentar los problemas de zoonosis; por ejemplo, los campesinos que viven en hábitat compartidos

con animales tienen más riesgo de sufrir de estas enfermedades que el resto de la población.

Como los animales son los reservorios de estos problemas, la existencia de los mismos estará ligada a la existencia de la enfermedad en los animales. El conocimiento de la distribución geográfica de las enfermedades es muy importante para evitar que tengan repercusión sobre el hombre. Por lo tanto, también requieren de programas descentralizados, ya que deberán ejecutarse diagnósticos locales para el buen conocimiento de la ocurrencia de estas enfermedades y del riesgo a que someten a la población humana.

Sin embargo, el principal problema de que estos programas no han tenido ni tengan prioridad dentro del sector salud se debe al escaso conocimiento sobre la repercusión que más de 170 zoonosis tiene en la población humana. Una de las más importantes investigaciones que se debe iniciar en los niveles rurales es determinar cuál es la importancia que estos problemas tienen, tanto desde el punto de vista de salud pública, como del de las pérdidas económicas que para la población animal representan. Una vez identificada la magnitud de los problemas se podrán definir las políticas sobre su control. Como los recursos son cada vez más escasos se deberá conocer bien el modelo epidemiológico que explique el porqué de la presencia o ausencia de la enfermedad en la población y su intensidad en caso de presencia, con el fin de establecer estrategias epidemiológicas que abaraten los programas de control.

APORTES VETERINARIOS A LA SOLUCIÓN DE ZOONOSIS RURALES

En la mayoría de los países, con excepción de México y Perú, cuando se desea justificar un problema de brucellosis como problema de salud pública, al examinar las tasas de incidencia de esta enfermedad se encuentra que esta es muy poco prevalente y que tendría muy poca repercusión basado en los sistemas de información existentes en la mayoría de los ministerios de salud. Sin embargo, al hacer estudios específicos sobre

poblaciones humanas en grupos de alto riesgo, esta enfermedad es mucho más manifiesta de lo que se piensa, representando realmente un problema de salud pública para estos grupos específicos. Así, por ejemplo, en un estudio caso-control sobre brucelosis en personas que trabajan en fincas bovinas con brucelosis, al comparar las muestras recogidas con las procedentes de un banco de sangre del Distrito Maracaibo del estado Zulia, la prevalencia de reaccionantes en el grupo expuesto fue de 10 en 80, mientras que en los no expuestos fue de 0 en 80. Esto indica que la brucelosis es un problema ocupacional en el estado Zulia (5).

En otro estudio en grupos humanos de alto riesgo, realizado también en el estado Zulia en trabajadores de un frigorífico industrial en busca de anticuerpos para la brucelosis, se encontró una alta prevalencia de 8% de reaccionantes. Dentro de este matadero de bovinos, el personal más expuesto al riesgo fueron quienes trabajaban con vísceras, pues en 137 personas examinadas se encontró una prevalencia del 22,2%, contra un 4,5% en el resto del personal del frigorífico. Esto ratifica las diferencias de riesgo que existen dentro de un matadero y enfatiza que esta es una enfermedad ocupacional en el estado Zulia (24).

En un estudio similar en el estado Barinas, en el grupo expuesto se encontró el 11,8% de reaccionantes en 644 individuos y un 8,2% de prevalencia en el grupo de 134 individuos de bajo riesgo. Esto indicó que en este estado posiblemente la enfermedad se transmite por alimentos, debido a que no existe una gran diferencia entre los dos grupos, como se observó en el estado Zulia (14). También es muy importante conocer la prevalencia de esta enfermedad desde el punto de vista animal, con fines de estimar la magnitud de la misma y justificar el programa de control.

En el estado Lara se determinó que la prevalencia de la brucelosis bovina es de 0,48% en 3.944 vacas representativas del estado, obtenidas a través de un muestreo estratificado proporcional a la población existente en los distritos, por conglomerados en dos etapas. Este tipo de estudio ha permitido calcular el costo del programa de erradicación de brucelosis en el estado Lara, estimado en aproximadamente 4.800.000 bolívares (17).

También, para estimar las pérdidas económicas por efecto de brucelosis bovina en fincas

lecheras realizamos un estudio en el distrito Perijá del estado Zulia, utilizando la metodología de caso-control en el que surgieron las siguientes conclusiones:

Las pérdidas económicas en una finca lechera con 6,4% de brucelosis estarían dadas por el envío de vacas al matadero y becerros malogrados, y la eficiencia reproductiva disminuye en un 10% en comparación con una finca libre. El 12% de los becerros se malograron al destete y el 2,6% de las vacas abortan y paren un becerro cada 16,3 meses, siendo la merma fisiológica de la producción de leche en la finca con brucelosis de alrededor del 15%.

Se determinó una pérdida estimada en US\$ 9.910 en la finca afectada, lo cual representa el 17% de los ingresos por producción de leche anual. Lamentablemente este estudio se realizó solo en dos fincas, una afectada y otra control. Lo más importante de este estudio es la metodología descrita, que podría ser aplicada en estudios similares (8).

El conjunto de estos estudios justificaría la necesidad de ejecutar programas de erradicación de la brucelosis en los animales, y programas de detección de personas reaccionantes a la enfermedad en grupos humanos de alto riesgo, en situaciones como la del estado Zulia y en pacientes febriles de la población en general, como la del estado Barinas.

Estos estudios demuestran una injusticia, ya que la persistencia del problema de brucelosis expone más a riesgo a los campesinos que trabajan con animales enfermos. Por lo tanto, la propuesta de la eliminación de esta zoonosis desde el punto de vista de salud pública se justifica como uno de los programas para lograr la meta de "Salud para Todos". Además, su justificación económica sería suficiente argumento para la reactivación socio-económica de los niveles rurales postergados. Así como este ejemplo existen muchos otros, como es el caso de la teníasis-cisticercosis, en donde el problema es importante desde el punto de vista de salud pública, pero no del económico. Lamentablemente esto hace que la necesidad de eliminación a veces sea postergada, por lo que el no justificarlo desde el punto de vista de salud pública es contribuir a la persistencia de las injusticias.

FORMAS EMPRESARIALES DE CONTRIBUIR A LA REACTIVACIÓN ECONÓMICA DE LAS ÁREAS POSTERGADAS RURALES

El médico veterinario también colabora en la reactivación económica del país a través de los programas de control de enfermedades animales que afectan a la producción, ocasionando pérdidas económicas. Así, la fiebre aftosa produce pérdidas en el volumen de producción de leche en las vacas enfermas, que fluctúa en animales de 1 a 4 partos en alrededor de un 40%, mientras que en las que tienen de 5 a 7 partos llegan a 22%. Las pérdidas del peso vivo en bovinos de carne enfermos de fiebre aftosa se estimaron entre 29 a 39 kg y 21 a 31 kg, respectivamente en Rio Grande do Sul y São Paulo, Brasil. La diferencia media de tiempo para recuperar el peso se estimó entre 78 a 91 días en Rio Grande do Sul y 100 a 125 días en Sao Paulo, siendo estas pérdidas más acentuadas en bovinos jóvenes, de menos de 2 años que en los de más de 2 años (4). Estas pérdidas físicas justificarían la decisión tomada de erradicar la fiebre aftosa del continente, pero si además se considerase la apertura de los mercados para exportación de carnes a los países libres, se incrementarían aún más los beneficios económicos de su erradicación. Sin embargo, el incremento de las ganancias a los productores no se refleja en bienestar social, pues las empresas se consideran únicamente como sociedad de capitales y no como sociedad de personas (11), por lo que los trabajadores del campo no consiguen niveles satisfactorios de ocupación, a pesar del incremento de los ingresos de los productores.

Esta última afirmación está respaldada por la información procedente del SISVAN relacionada con el estado Portuguesa, en Venezuela, que presentó el segundo más alto déficit nutricional en 1988 (30,97%) y en 1989 (27,35%) (9), no obstante ser considerado como el "granero de Venezuela", con una producción agrícola en 1990 estimada en 22.000 millones de bolívares, pues tenía sembradas 103.000 hectáreas de maíz, 25.000 de arroz, 8.000 de sorgo, siendo el primer productor de café. Por lo tanto debemos considerar nuevos campos de trabajo para el médico veterinario, contribuyendo mejor al desarrollo social.

FORMAS FAMILIARES DE CONTRIBUIR A LA REACTIVACIÓN SOCIOECONÓMICA DE LAS ÁREAS POSTERGADAS RURALES

En el medio rural persiste el "conquero" que desarrolla una agricultura de subsistencia, caracterizada por bajos niveles de producción y productividad, con lo que los ingresos familiares per cápita son inferiores a medio salario mínimo mensual (3).

Para incrementar la producción y productividad de este tipo de agricultores, en algunos países se desarrollaron iniciativas, como los Hogares Juveniles Campesinos en Colombia, promoviendo en 16 departamentos un total de 137 hogares juveniles y más de 6.000 microempresas agropecuarias llamadas granjas integrales autosuficientes. Este programa ha beneficiado a 80.401 niños y jóvenes de todo el país.

Recientemente se han auspiciado las aldeas comunitarias integrales con el fin de impulsar los desarrollos regionales, obteniéndose un verdadero modelo de desarrollo autóctono, y se han promocionado proveedores de estructuras campesinas, como son estacones para cercas normales y eléctricas, portadas, pesebreras, etc.

Para la formación de estas granjas se realizan cursos a través del Centro de Investigación, Educación y Desarrollo del Campo, y esto se ha planteado como una solución al éxodo campesino que es la mayor causa del desempleo y de problemas sociales. Con esta iniciativa colaboran el Proyecto Manos Unidas de España y el Ministerio de Agricultura de Colombia, siendo las líneas de trabajo la cría de animales, la fruticultura, la hidroponía, la agroindustria, la pisicultura, la lombricultura, entre otros (2).

En Centroamérica, el Ministerio de Agricultura de Guatemala y la Secretaría de Recursos Naturales Renovables en México han desarrollado estas iniciativas, siendo propietarias de granjas de porcinos, aves, conejos, pavos y otras especies menores, y sirven de lugares de adiestramiento para los campesinos y de abastecimiento de animales para la creación de granjas familiares. Por ejemplo existen los paquetes avícolas, en donde una ama de casa es adiestrada en la cría de aves (plan de inmunizaciones, alimentación e instalaciones).

ción para los animales, etc.) y reciben 10 gallinas y un gallo ya criados para iniciar la fase de recria a las cuatro semanas. Su desarrollo se hace en corrales alrededor de sus casas, y así pueden aprovechar el consumo de los huevos para mejorar la nutrición de sus familias y organizarse en pequeñas cooperativas para el manejo del excedente de producción. Estos importantes proyectos están en manos de los Servicios Veterinarios de estos dos ministerios.

APORTES VETERINARIOS A LA SOLUCIÓN DE PROBLEMAS URBANOS

Los problemas de zoonosis urbanas ligados a los animales domésticos que cohabitan con el hombre en las grandes ciudades y a los productos y subproductos de origen animal y otros alimentos contaminados constituyen también injusticias. Así la rabia urbana afecta más a los barrios con altos porcentajes de NBI, ya que se manifiesta en barrios con alta densidad de población canina, con alto índice de mordeduras o altos porcentajes de perros en la calle y con bajas coberturas de vacunación. Estas zonas coinciden con las áreas urbanomarginales y para el combate es importante el diagnóstico de la situación local, caracterizándose los barrios que presentan alto y mediano riesgo. En Venezuela se tiene muy buena experiencia de la aplicación del enfoque de riesgo en la eliminación de este problema (13), con muy escasa repercusión en salud pública pues actualmente no existe ninguna ciudad importante del país afectada del mal.

Otro ejemplo de problema urbano de zoonosis lo constituye la leptospirosis, enfermedad que también es rural, pero que en las ciudades afecta más a los grupos expuestos. En Maracaibo, Venezuela, en el personal que trabaja en alcantarillados se encontró una prevalencia de 13%, mientras que en el personal que trabaja en mataderos se encontró una prevalencia de solo el 3%. En esta misma ciudad, posteriormente se realizó un estudio caso-control encontrándose una prevalencia del 5% en personas expuestas (matarifes, carniceros, sepultureros, obreros del Instituto Municipal del Asco Urbano y veterinarios) y 0% en grupos no expuestos, procedentes de muestras de un Banco de Sangre (16).

Las ratas son reservorio de este problema y fundamentalmente en Maracaibo están infectadas por *Leptospira icperohemorragiae* (7). La recomendación para el control de esta enfermedad en las ciudades utiliza una estrategia de búsqueda temprana de personas reaccionantes en grupos humanos de alto riesgo, investigación epidemiológica para determinar el lugar donde se infectó la persona y desratización perifocal al caso detectado. De más está decir que la ubicación de los casos humanos coincide también con el tipo de trabajo (personas expuestas a alcantarillados o animales, o con viviendas en lugares marginales muy infectados de roedores).

El incremento de la población urbana y la industrialización produjo cambios en las actitudes alimentarias. Esta mejora en las condiciones de vida y el establecimiento de programas de higiene de alimentos produjo disminuciones en la mayoría de las enfermedades transmitidas por alimentos. Las parasitosis intestinales que presentaban en la década de los 50 una media de 4.000 casos/100.000 habitantes, en la década de los 80 se redujo a una media de 1.000/100.000 habitantes. Las amebiasis disminuyeron de 250/100.000 en los 50, a 150/100.000 en los 80. La shigelosis disminuyó de 25/100.000 a 5/100.000 y la tifoidea y paratifoidea de una media de 20 a 30/100.000 pasó a tener una casuística de menos de 1/100.000. Sin embargo, la excesiva emigración del campo a la ciudad produjo la ruralización de la ciudad, incrementándose la gastroenteritis, que en los años 50 tenía una media de 10.000/100.000 niños, pasando en los 80 a subir por encima de 20.000.

En 1991 apareció el cólera en Venezuela y también se concentró en los barrios urbanomarginales de las grandes ciudades y en los medios rurales dispersos. En la ciudad actuaron como factores predisponentes las migraciones internas, y las deficientes áreas de saneamiento básico y de educación sanitaria, siendo los medios de transmisión indirectos (manipulación inadecuada de alimentos contaminados y/o ingesta de agua contaminada) y directos (contacto con heces y secreciones de casos) (6).

En el control de estas enfermedades transmitidas por alimentos, nuevamente el médico veterinario tiene una gran responsabilidad, ya que a través de la inspección de los alimentos previo a

su consumo y a través de la educación sanitaria se previene la transmisión, eliminando el producto contaminado o evitando su contaminación.

REFERENCIAS

1. BENGOA, J.M. *Sanare hace 50 años*. 3 ed., Caracas, Ed. Cavendes, 1992. 278p.
2. BOLETIN ANUAL FUNDACIÓN HOGARES JUVENILES CAMPESINOS, (22): 1-24, 1994.
3. BRICEÑO L., R. *Venezuela: clases sociales e individuos*. Caracas, Venezuela, Ed. Capriles, 1992. 235p.
4. CENTRO PANAMERICANO DE FIEBRE AFTOSA. *Estudo de perdas de produção e produtividade em gado com febre aftosa*. Rio de Janeiro, MARA/PANAFTOSA/BID, 1984. 76p.
5. COLMENARES, G., FLORES, D. *Estudio caso control sobre brucelosis en personas que trabajan en fincas bovinas del Municipio Jesús Enrique Lossada, Distrito Maracaibo, Estado Zulia*. Zulia, Venezuela, Univ. del Zulia, 1989. 16p. (Tesis IV CISA, LUZ). (mimeog.)
6. ECHEZURÍA, L., PERDOMO, M., FERNANDEZ, M., CHIQUE, J., HERNÁNDEZ, J., SAYAGO, F. *Epidemia de cólera en Venezuela (03/12/91-03/12/92)*. Venezuela, Min. de Sanidad y Asistencia Social, 1992. 7p. (mimeog.)
7. GARCÍA, A., GERARDO, R. Prevalencia de leptospirosis canina en la ciudad de Maracaibo. In: *XXVII Jornadas Científicas de la Sociedad Venezolana de S.P. Portamar*, Venezuela, 1987. 25p.
8. GUTIÉRREZ, M., REYES, M. *Estimación de pérdidas económicas por efecto de la brucelosis bovina en fincas lecheras del Distrito Perijá del Estado Zulia*. Zulia, Venezuela, Univ. del Zulia, 1989. 21p. (Tesis IV CISA, LUZ). (mimeog.)
9. INSTITUTO NACIONAL DE NUTRICIÓN. *Sistema de vigilancia alimentaria y nutricional*. Boletín Informativo 88-89. Venezuela, INN, 1990. 25p.
10. JIMÉNEZ, M., TOMEI, R. Las diferencias socioeconómicas y ambientales repercuten en el crecimiento del niño. *Fundacredesa Investiga*, 1 (1): 6-7, 1993.
11. JUAN PABLO PP. II. *Carta encíclica centesimus annus*. Venezuela, Ed. Tripode, 1991. 117p.
12. LUDEWIG, C., FINIZOLA, B., GIL, M., RIVERA, E., UGEL, EL., ZEMAN, P. Propuesta para el análisis de la situación de salud según condiciones de vida de la población para el apoyo a la gestión en los niveles locales. In: *VI Reunión Científica Nacional de Epidemiología*, San Cristóbal, Venezuela, 1994.
13. MÁLAGA, H., GARCIA, A., GOMES BARRIOS F., G., BOCARANDA, P. Can rabies be eradicated? The epidemiological basis for urban control in Venezuela. *Health Policy and Planning*, 7 (3): 279-283, 1992.
14. MALVESTUTO, V. Detección de reaccionantes a brucelosis en grupos humanos de alto y bajo riesgo en el Estado Barinas, In: *II Seminario Taller sobre el Control de las Zoonosis*, Caracas, Venezuela, 17-20 octubre 1988. p. 174-196.
15. MALVESTUTO, V. *Prevalencia de anticuerpos a leptospira en grupos humanos expuestos y no expuestos a riesgo en la ciudad de Maracaibo*. Zulia, Venezuela, Univ. del Zulia, 1988. 12p. (Tesis III CISA, LUZ). (mimeog.)
16. MÉNDEZ CASTELLANOS, H. Niños pobres venezolanos con 20 años de retraso biológico. *Diario El Nacional*, 17 septiembre, 1992.
17. MOSQUERA, O. Proyecto de erradicación de la brucelosis bovina en el Estado Lara. In: *II Reunión Nacional de Epidemiología Veterinaria*, Caracas, Venezuela, 22-24 mayo 1989. p. 299-314.
18. NAKAJIMA, J. *WHO Director General calls for new health paradigm*. Geneve, WHO, 1991. 3p. (Press release WHO/4).
19. NUÑEZ, N. Perfiles de mortalidad según condiciones de vida en Venezuela. In: *Congresso Brasileiro de Epidemiologia*, Salvador, Bahia, Brasil, 1992. 27p.
20. OFICINA CENTRAL DE ESTADÍSTICA E INFORMACIÓN. *Encuesta social*. Venezuela, OCEI, 1992.
21. OPS. *Desarrollo y fortalecimiento de los sistemas locales de salud en la transformación de los sistemas nacionales de salud. La administración de salud*. Washington, D.C., OPS, 1992. 59p.
22. OPS. *Orientaciones estratégicas y prioridades programáticas*, 1991-1994. Washington, D.C., OPS, 1991. 126p.
23. OPS. *Toma de decisiones en el nivel local de salud*. Caracas, Venezuela, MSA/OPS, 1992. 59p.
24. PLAZA, N. *Prevalencia de anticuerpos de brucella en trabajadores de un frigorífico industrial del Estado Zulia*. Caracas, Venezuela, Univ. Central de Venezuela/Escuela de Salud Pública, 1988. 25p.

ABSTRACT

Veterinarian's contributions to local development

The goal of Health for All should not only attain sanitary services for everyone but also reduce and eliminate health differences as a result of facts considered preventable and unfair. These factors appear mainly in vulnerable groups as rural communities and urban-marginalized and Indians, since they have the least hope for survival and have also the least possibility of receiving good services. In order to obtain changes, it is necessary the local and state governments have the necessary power and be aware of their responsibility for care and delivery of services which results in multiplying the number of persons deciding upon national tasks. It is necessary that in this process the local levels act on health with equality, insisting that the population respond through

specific projects that may solve the local problems. On this regard, veterinarians may, therefore, contribute by identifying the importance of rural zoonoses as a public health problem. These mainly attack vulnerable groups as peasants who are mostly exposed to the risk and therefore justify programs in order to increase animal production and eliminate exposure risks. It is also important the intervention to solve some other animal diseases aside of zoonoses in order to increase production and productivity. However, this increase in the farmer profits is not reflected in social well-being so it is therefore necessary to think in family production scheme in order to contribute to reactivate the socio-economic situation in deferred rural areas. Confronting zoonoses problems in cities also solve vulnerable group problems, since generally those disregarded communities are the most affected, as is the case with rabies, and urban leptospirosis, among others. It is also important for these communities to count with proper services of food hygiene which diminishes the risk of food borne diseases.

RESUMO

Contribuições do médico veterinário ao desenvolvimento local

A meta de Saúde Para Todos além de lograr que todos utilizem os serviços sanitários deve reduzir e eliminar as diferenças em saúde oriundas de fatores considerados evitáveis e injustos. Esses fatores predominam nos grupos vulneráveis como as comunidades rurais, e as populações urbano-marginais e indígenas, já que possuem a menor esperança de supervivência e têm a menor probabilidade de receber um adequado nível de serviços. Para produzir cambios é necessário dar poder aos governos locais e estaduais, mediante a conscientização da necessidade do autocuidado e autogestão, multiplicando o número de pessoas que tomam decisões nas tarefas nacionais. Nesse processo dá-se ênfase à necessidade dos níveis locais gestionarem a saúde com equidade, insistindo na necessidade de que a comunidade elabore respostas mediante projetos

específicos que resolvam os problemas locais. Assim, os médicos veterinários podem contribuir identificando a importância das zoonoses rurais como problemas de saúde pública, já que estas atacam a grupos vulneráveis, fundamentalmente camponeses, que são expostos a riscos e justificam programas de intervenção nos animais, com a finalidade de incrementar a produção destes e eliminar a exposição a riscos dos expostos. Também é importante a intervenção na solução de outros problemas de saúde animal, além das zoonoses, já que se incrementa a produção e a produtividade. Este incremento de ganhos dos produtores não se reflete no bem-estar social, sendo necessário pensar em formas familiares para contribuir à reativação sócioeconômica das áreas rurais postergadas. Enfrentar os problemas de zoonoses nas cidades também resolve problemas de grupos vulneráveis, já que geralmente são as comunidades postergadas as mais afetadas pela sua presença, como é o caso da raiva e da leptospirose urbanas, entre outras. Também é importante para essas comunidades a proteção que os serviços de higiene dos alimentos proporciona, diminuindo o risco de doenças transmitidas pelos alimentos.

PERSISTENCIA DE ANTICUERPOS ANTI-VIAA EN BOVINOS VACUNADOS CON DIFERENTES VACUNAS ANTIAFTOSA OLEOSAS DE USO COMERCIAL

L.E. Días, R. Dilandro, E. Vitale, A. Lena

*Dirección de Sanidad Animal y Dirección de Laboratorios Veterinarios,
Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca,
Colonia 892, Montevideo, Uruguay*

Se estudió la persistencia de anticuerpos anti-VIAA en bovinos inmunizados con diferentes vacunas antiaftosa oleosas de uso comercial, utilizadas en la República Oriental del Uruguay. Se procesaron 726 sueros de estos animales mediante la técnica de inmunodifusión en gel de agar con antígeno VIA. Se encontró que la detección de anticuerpos anti-VIAA persistió por más de 171 días en animales inmunizados con vacunas de antígeno concentrado con hidróxido de aluminio.

Desde julio de 1990, la República Oriental del Uruguay presenta la condición de ausencia clínica de la fiebre aftosa. Esta situación evolucionó hacia el cumplimiento de metas que le permitió ser considerado como país libre de la enfermedad, con vacunación (6).

Cowan y Graves (3) relatieron el hallazgo de una proteína específica para fiebre aftosa producida en cultivos de células BHK y en tejidos de animales infectados por el virus de la fiebre aftosa. Este antígeno fue relacionado con la actividad replicativa del virus en las células infectadas. Posteriormente, Dawey Pinto demostraron una respuesta transitoria al antígeno VIA en animales inmunizados con vacunas inactivadas con acetiletilencimina (AEI) bajo condiciones de campo (4).

En otro trabajo (9) se analizó la respuesta inmunitaria al antígeno VIA en la aplicación de vacunas sucesivamente. Se observó que la respuesta en animales vacunados fue de menor intensidad y

duración en los que recibieron vacunas con AEI, que en los tratados con vacunas formoladas. Giambruno et al. (8) detectaron la aparición de anticuerpos anti-VIAA en animales inmunizados con vacunas con hidróxido de aluminio hasta los 60 días posvacunación (DPV). Esta observación fue corroborada por estudios seroepidemiológicos realizados a campo, con el esquema de vacunación cada cuatro meses, utilizando vacunas acuosas hidróxido-saponinadas.

Más recientemente, Alonso et al. (1) comunicaron que vacunas formuladas con antígenos tratados con inactivantes de primer orden, generalmente concentrados por adsorción y sedimentación con hidróxido de aluminio, pueden originar anticuerpos anti-VIAA, aun no diferenciables por pruebas de laboratorio de aquellos inducidos por la infección natural. No obstante, estos anticuerpos anti-VIAA no persisten por más de cuatro meses después de la revacunación, a diferencia de los originados por la infección natural, que perduran por años.

Por otra parte, en estudios realizados en el Uruguay sobre el seguimiento de lanares VIA-positivos, después de la infección natural, se

Solicitar separatas al :
Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (OPS/OMS)

encontró que los sueros eran reaccionantes a la inmunodifusión en gel de agar (IDGA) hasta 16 meses después de haber sufrido la enfermedad. No se pudo seguir los estudios en el tiempo, por haberse realizado la faena de los animales (7).

La información disponible en el laboratorio oficial (5) indicó que bovinos vírgenes al virus de la fiebre aftosa, mantenidos en condiciones de aislamiento presentaron, durante más de 90 días después de inmunizados con vacunas de uso comercial con adyuvante oleoso, reacciones positivas a la prueba IDGA para la detección de anticuerpos anti-VIAA. Dado que la cobertura de vacunación estaba por encima del 97% y que cinco laboratorios probados producían vacunas oleosas por diferentes métodos, los estudios seroepidemiológicos, que adquirieron un papel relevante en esta etapa del Programa de Control y Erradicación de la Fiebre Aftosa en el país, se vieron dificultados.

En base a estas consideraciones y a los antecedentes (1, 4, 8, 9), se realizó este estudio para investigar la presencia de anticuerpos anti-VIAA en función del tiempo, en bovinos inmunizados en condiciones de campo con distintas vacunas comerciales y en predios donde no hubo constatación de la enfermedad por un tiempo no menor de cinco años.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se seleccionó una muestra de conveniencia de establecimientos ubicados en Seccionales Policiales de cuatro departamentos (Artigas, Lavalleja, Paysandú y Treinta y Tres) sin registro de fiebre aftosa y que no habían presentado casos clínicos de la enfermedad por más de cinco años. Los mismos se caracterizan, desde el punto de vista productivo, como criadores (extractivos).

Para la inmunización de los animales en esos establecimientos se emplearon diferentes vacunas comerciales, buscando diferentes combinaciones y asociaciones entre ellas. En la muestra se tuvieron en cuenta las categorías de terneros, sobreños y adultos.

Los animales se identificaron en forma individual mediante caravanas numeradas y se procedió

a una primera sangría, alrededor de los 96 días de la revacunación.

Se realizaron extracciones sucesivas, aproximadamente cada 30 días a los animales que reaccionaron positivamente a la técnica de IDGA, en los días indicados en el cuadro 1, hasta que se constató la desaparición de la reacción.

En cada caso, las muestras de sangre fueron obtenidas por técnicos de los servicios veterinarios de campo y remitidas a la Dirección de Laboratorios Veterinarios/Dirección de Lucha contra la Fiebre Aftosa para su estudio. Se procesaron 726 sueros mediante la técnica de IDGA, efectuada de la manera descripta anteriormente (2). La última sangría se realizó hasta los 219 DPV, por no encontrarse ningún animal positivo en tal fecha.

RESULTADOS

Se observó que hasta los 171 días aparecían animales positivos a la IDGA, particularmente en los adultos (cuadro 1).

Los animales vacunados (penúltima y última vacunación) que presentaron reacciones positivas fueron solamente los inoculados con las vacunas tipo oleoso con hidróxido de aluminio. Por el contrario, en los animales inmunizados con vacuna oleosa sin concentración con hidróxido de aluminio no aparecieron reactores VIAA-positivos.

En general, la persistencia fue más prolongada en el ganado adulto que en el ganado de categoría menor (cuadro 1).

DISCUSIÓN

En el presente estudio se observó que en vacunas oleosas que utilizan antígeno concentrado con hidróxido de aluminio, los reaccionantes persisten por más de 171 días. En cambio, en los animales inmunizados con vacunas que no utilizan este método, no aparecieron reaccionantes durante el período del estudio. De estos resultados, se desprende una persistencia mayor en el tiempo de los anticuerpos anti-VIAA en vacunas que tienen adyuvante oleoso que los que plantea la bibliografía consultada (1, 8, 9).

Cuadro 1. Estudio serológico posvacunación en 726 sueros procesados

Penúltima y última vacuna: oleosa-hidróxido de aluminio

Dpto.	1 ^a Sangría			2 ^a Sangría			3 ^a Sangría			4 ^a Sangría		
	Días	T	SA	A	Días	T	SA	A	Días	T	SA	A
Artigas	104	3/20	4/20	5/20	133	0/2	0/4	0/3	-	-	-	-
Artigas	99	2/20	0/20	14/20	136	0/2	-	9/14	159	-	-	-
Lavalleja	92	0/20	0/20	7/20	119	-	-	1/7	169	-	-	-
Paysandú	104	5/20	1/20	1/20	139	2/5	0/1	1/1	177	0/2	-	-
T. y Tres	66	2/15	2/15	0/15	122	0/2	0/2	-	-	0/1	-	-
T. y Tres	77	3/20	4/18	5/20	113	2/3	3/4	5/5	171	1/2	0/0	3/5
									219	0/2	0/2	0/5

Penúltima y última vacuna: oleosa

Dpto.	1 ^a Sangria			2 ^a Sangria			3 ^a Sangria			4 ^a Sangria		
	Días	T	SA	A	Días	T	SA	A	Días	T	SA	A
Artigas	93	0/20	0/20	0/20	-	-	-	-	-	-	-	-
T. y Tres	66	0/6	0/14	0/15	-	-	-	-	-	-	-	-

Penúltima vacuna: oleosa-hidróxido de aluminio

Dpto.	1 ^a Sangria			2 ^a Sangria			3 ^a Sangria			4 ^a Sangria		
	Días	T	SA	A	Días	T	SA	A	Días	T	SA	A
Artigas	95	3/20	5/19	10/19	131	0/3	2/5	4/10	153	-	1/2	2/4
T. y Tres	65	1/20	1/20	2/20	121	0/1	0/2	2/2	171	-	0/2	-

Penúltima vacuna: oleosa-ultracentrifugación

Dpto.	1 ^a Sangria			2 ^a Sangria			3 ^a Sangria			4 ^a Sangria		
	Días	T	SA	A	Días	T	SA	A	Días	T	SA	A
T. y Tres	94	0/8	0/20	0/20	-	-	-	-	-	-	-	-

T = Terneros SA = Sobreño A = Adultos

Este trabajo, realizado en condiciones de campo, ofrece las restricciones propias de las dificultades operativas. Una de ellas fue no haber establecido, al comienzo de la prueba, la seronegatividad por IDGA de los animales incluidos en el estudio.

En países que tienen ausencia clínica de la enfermedad, y que mantienen esquemas de vacunación utilizando vacunas con adyuvante oleoso, existe la necesidad de poder diferenciar el reaccionante considerado positivo, si este proviene de una actividad viral o si es un falso positivo provocado a consecuencia de la vacunación.

En un país cuyo objetivo es la erradicación de la fiebre aftosa, el estudio mediante la técnica de VIAA no es suficiente para, por sí solo, determinar actividad viral y debe ser complementado con otros métodos de laboratorio.

RECONOCIMIENTOS

Este trabajo se realizó gracias a la aprobación del Dr. Luis U. Sarasúa, Director de Sanidad Animal del Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca (MGAP), y a la participación de los Dres. L. Mazilli, E. Patysson, L. Casariego, A. Villalva, H. Larrauri, M. Díaz; los técnicos de campo, Dres. N. Donati, G. Xavier, A. Algorta, S. Kmaid, R. Castro; en el laboratorio, A. Núñez. Además agradecemos la valiosa y desinteresada colaboración prestada por los Dres. Amílcar Collazo, Juan Vergara, Silva Rivero, Fermín Donazar, Julio Olascoaga, Villasmor Paredes, Londa Dos Santos, Nilda Dos Santos, Gustavo Xavier, Venancio e Iriarte.

REFERENCIAS

1. ALONSO, A., SÖNDAHL, M.S., AUGÉ DE MELLO, P. Apoyo del laboratorio de diagnóstico a los programas de prevención, control y erradicación de la fiebre Aftosa. Presentado en el Seminario Internacional sobre Sistema de Vigilancia Epidemiológica con Especial Referencia a la Prevención de Enfermedades Exóticas. Rio de Janeiro, Brasil, 18-20 de marzo de 1991.
2. CENTRO PANAMERICANO DE FIEBRE AFTOSA. Identificación de anticuerpos VIA de la fiebre aftosa. Rio de Janeiro, PANAFTOZA, 1984. 31 p. (Serie de manuales técnicos, 6).
3. COWAN, K.M., GRAVES, J.H. A third antigenic component associated with foot-and-mouth disease infection. *Virology*, 30: 528-540, 1966.
4. DAWE, P.S., PINTO, A.A. Antibody responses to type specific and "virus-infection-associated" antigens in cattle vaccinated with inactivated polyvalent foot-and-mouth disease virus in North Malawi. *Br. Vet. J.*, 504-511, 1978.
5. DI LANDRO, R. Seminario sobre el Uso de los Instrumentos Seroprevidélicos. Uruguayana, 20 al 24 mayo de 1991. (Comunicación personal).
6. DIAS, L.E., MUZIO, P. El programa de la fiebre aftosa en el Uruguay. Presentado en la Exposición del Prado. Montevideo, Uruguay, 1991.
7. DIAS, L.E. "Fiebre aftosa". "Enfermedades de los lanares". II Tomo. Cap. II. Montevideo, Uruguay. Ed. Hemisferio Sur. (p.117-140)
8. GIAMBRUNO, E., DI LANDRO, R., PIKE V. Anticuerpos VIA en bovinos, consecutivos a la aplicación de vacuna antiaftosa. En: III Congreso Nacional de Veterinaria. Montevideo, Uruguay, 3-5 de noviembre de 1982.
9. PINTO, A.A., GARLAND, A.J.M. Immune response to virus infection associated VIA antigens in cattle repeatedly vaccinated with foot-and-mouth disease virus inactivated by formalin on acetyl-ethyleneimine. *J. Hyg.*, 82: 41-50, 1979.

ABSTRACT

Persistence of anti-VIAA antibodies in cattle vaccinated with different anti-foot-and-mouth disease oil-adjuvant vaccines of commercial use

The persistence of anti-VIAA antibodies in cattle inoculated with different commercial anti-foot-and-mouth disease oil-adjuvant vaccines utilized in Uruguay was studied. 726 sera of these animals were studied by agar gel immunodiffusion test with VIA antigen. It was found that the detection of anti-VIAA antibodies persisted for more than 171 days in animals inoculated with vaccines of antigen concentrated with aluminum hydroxide.

RESUMO

Persistência de anticorpos anti-VIAA em bovinos vacinados com diferentes vacinas antiaftosa oleosas de uso comercial

Estudou-se a persistência de anticorpos anti-VIAA em bovinos imunizados com diferentes vacinas antiaftosa oleosas de uso comercial, utilizadas na República Oriental do Uruguai. Foram estudados 726 soros desses animais pela técnica de imuno-difusão em gel de agar com antígeno VIA. A detecção de anticorpos anti-VIAA persistiu por mais de 171 dias em animais inoculados com vacinas de antígeno concentrado com hidróxido de alumínio.

ANUNCIO / ANNOUNCEMENT

Reunión de la Comisión Sudamericana para la Lucha contra la Fiebre Aftosa (COSALFA)

Todos los años se realiza una Reunión de los países miembros de la COSALFA donde se discuten asuntos relacionados al combate a la fiebre aftosa.

Previamente se realiza un Seminario con un tema seleccionado en el Seminario del año anterior.

XXIII Reunión de la COSALFA. Caracas, Venezuela, 18 y 19 de abril de 1996.

Seminario Internacional sobre Análisis de Riesgo en Relación al Comercio Internacional de Animales y Productos de Origen Animal. Caracas, Venezuela, 15 al 17 de abril de 1996.

Meeting of the South American Commission for the Control of Foot-and-Mouth Disease (COSALFA)

Meetings to discuss matters related to the prevention and control of foot-and-mouth disease are held annually by the member countries of COSALFA. Prior to each meeting, a Seminar on a topic selected during the preceding Seminar is also held.

XVII Regular Meeting of COSALFA. Caracas, Venezuela, 18-19 April 1996.

International Seminar on Risk Analysis in Relation to the International Commerce of Animals and Products of Animal Origin. Caracas, Venezuela, 15-17 April 1996.

**ESTABILIDAD Y RESPUESTA INMUNOGÉNICA DE
UNA VACUNA DE ADYUVANTE OLEOSO CONTRA EL VIRUS
NEW JERSEY DE LA ESTOMATITIS VESICULAR,
ESTUDIADA EN RATONES ADULTOS Y LACTANTES**

José Magín Obregón H., Josefina R. de Domínguez

Instituto de Investigaciones Veterinarias
Av. Principal Las Delicias, aptº 70, Maracay, Estado Aragua, Venezuela

Se realizaron dos clases de ensayos en ratones para evaluar la estabilidad e inmunogenicidad de una vacuna inactivada oleosa contra la estomatitis vesicular (EV) tipo New Jersey, almacenada a 4°C, 25°C y 37°C por 30 días. Los grados de inmunidad pasiva y activa se estimaron, respectivamente, por inoculación intraperitoneal en ratones lactantes provenientes de madres vacunadas y por vía intranasal en ratones adultos. La vacuna demostró estabilidad física y antigenica, observándose resistencia a la infección en los grupos de animales inmunizados. Estos ensayos piloto pueden ser útiles en el diseño de protocolos para la evaluación de eficacia o potencia de vacunas contra EV si se comprueba una adecuada correlación con los ensayos en bovinos.

Desde mediados de la última década se ha incrementado el interés en cuantificar y minimizar el impacto negativo que genera la estomatitis vesicular (EV) en la ganadería nacional de carne y leche (6).

Epidemiológicamente la EV presenta aspectos desconocidos (10), lo cual crea controversias en cuanto a la aplicación de un programa de vacunación para su prevención y control; sin embargo se ha demostrado que es posible inmunizar bovinos en base a estudios de anticuerpos seroneutralizantes (5, 11, 12, 21) y respuesta inmunitaria celular (15). No obstante, el significado inmunológico de los anticuerpos sistémicos contra el virus de la estomatitis vesicular (VEV) en el control de esta enfermedad aún no ha sido determinado.

En Venezuela se han desarrollado vacunas inactivadas oleosas experimentales contra la EV (4, 14) capaces de inducir seroconversión en bovinos de campo, faltando por definir los parámetros de referencia para evaluar su eficacia y potencia en el laboratorio oficial de control.

Las pruebas de protección en bovinos, similares a las usadas en las vacunas contra la fiebre aftosa son muy costosas. Además es raro observar en estos animales generalización a la inoculación del VEV en condiciones de laboratorio.

En el estudio de otras rhabdovirosis así como en diversos entes bacterianos, se ha reconocido el valor del ratón como animal de elección por su susceptibilidad a la infección por patógenos de relevancia en investigación básica, diagnóstico y en pruebas de eficacia y potencia de vacunas en protocolos de control establecidos.

Su definición de cepas, economía de producción y mantenimiento, facilidad de manejo, aunado al amplio conocimiento existente de su patogenia

Solicitar separatas al :
Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (OPS/OMS)

por infección con VEV (16, 17, 20) lo señalan como una alternativa viable a utilizar en este tipo de estudios.

Estas últimas consideraciones han llamado la atención a investigadores del tema. Slavin et al. (17) demostraron que una inmunidad pasiva era transmitida por madres activamente inmunizadas con VEV a sus crías por medio de la lactancia. Estas observaciones podrían utilizarse para determinar el estado inmunitario de madres vacunadas con inmunobiológicos experimentales por medio de un ensayo de inmunidad pasiva, similar a los descritos por Strobbe et al. (19) y Gonçalves y Moreira (9).

Otros autores (11, 12, 21) han descrito experiencias con sus fórmulas inmunizantes en bovinos, en paralelo con ratones adultos, destacando la importancia de éstos en el posible desarrollo de métodos indirectos de control extrapolables a bovinos.

En vista de estos precedentes se decidió iniciar estudios en modelos murídos con la finalidad de conocer su comportamiento a la vacunación e infección experimental con el VEV.

MATERIALES Y MÉTODOS

Virus

Se utilizó una cepa del VEV NJ patógena proveniente de epitelio lingual bovino de campo, aislada en células Vero y multiplicada en cultivos de células BHK21 C13 en suspensión (13) con un título fijador del complemento de 1/31 y una infecciosidad de $10^{7.9} \text{ DL}_{50} \text{ RL/ml}$.

Formulación de la vacuna

El virus se inactivó con 3 mM de etilenimina binaria (BEI) por 24 horas a 25°C y las pruebas de inocuidad se realizaron en 100 ratones lactantes y tres pasajes en monocapas de células BHK21 C13, las cuales se controlaron por fijación del complemento 50% (FC_{50}) (2).

El inmunógeno con 1% de Tween 80 se emulsificó según Stone et al. (18) en partes iguales con una mezcla de 85% de Marcol 52 y 15% de

Montanide 888 (1) y se usó Timerosal 1:30.000 como preservativo.

La vacuna completa presentó una resistencia eléctrica de >100 Megaohm/cm, densidad de 0,93 g/ml y pH 7,9. La esterilidad se comprobó en medios bacteriológicos y su inocuidad y tolerancia por inoculación intraperitoneal en ratones lactantes de 5 a 6 días de edad. Se conservaron aliquotas de la vacuna final a 4°C, 25°C y 37°C por un mes para evaluar su estabilidad física y antigénica.

Asimismo, a los 0 días y a un mes se rompió la emulsión de cada clase de aliquotas y se tituló el antígeno por FC_{50} .

Al mes de almacenamiento se retiraron muestras de la vacuna mantenidas a diferentes temperaturas y se procedió a los siguientes ensayos:

Diseño experimental

Ensayo 1. Inmunidad pasiva en ratones lactantes

Se cruzaron ratones cepa IVIC de 75-90 días de edad. A los 4 días se retiraron los machos y se vacunaron tres grupos de hembras, cada uno con 0,25 ml por vía subcutánea de las aliquotas de las vacunas mantenidas a 4°C (grupo A), 25°C (grupo B) y 37°C (grupo C), dejando un grupo control (grupo D) sin vacunar.

Se repartieron en jaulas individuales y se revisaron diariamente, registrando el número de ratones paridos y la fecha de nacimiento de cada camada.

A los 28 días posvacunación (DPV) se inocularon los ratones lactantes (edad promedio 5-6 días) de los cuatro grupos con VEV NJ en diluciones décuples seriadas a razón de 0,05 ml por vía intraperitoneal. De la misma manera se realizó un título control en ratones lactantes de 5-6 días de edad. Los animales paralíticos y muertos fueron registrados diariamente durante 7 días y los títulos fueron calculados por el método de Sperman y Kärber.

El índice de protección en ratón lactante (IPRL) para cada grupo se calculó como la diferencia entre el título infeccioso del grupo D y el título de cada uno.

Ensayo 2. Inmunidad activa en ratones adultos

Se vacunaron los tres grupos A, B y C de 20 ratones cada uno, de 21 días de edad, cepa CIV con 0,25 ml por vía subcutánea en el dorso, dejándose el grupo D sin vacunar como testigos.

A los 30 DPV se sangraron en blanco por punción intracardíaca la mitad de cada grupo y los ratones restantes fueron infectados por vía intranasal con 10^3 DL₅₀ RL del VEV NJ, a razón de 5 ml por fosa (lo que provoca aproximadamente el 50% de mortalidad). La prueba se observó por 15 días, y se sangraron los animales sobrevivientes.

El "pool" de sueros obtenidos de cada grupo se inactivó a 56°C por 30 minutos y se conservaron a -20°C.

Las respuestas humorales de los ratones fueron estudiadas por índices de seroprotección en ratones lactantes (ISP) (7), seroneutralización en placas de microtécnicas (MSN) (8) con monocapas preformadas de Vero contra 100 DICC₅₀ del VEV NJ homólogo FC₅₀ (3), usando una unidad FC₅₀ de la cepa VEV NJ Costa Rica/66 y cinco unidades hemolíticas del complemento 50%.

RESULTADOS

Esterilidad, inocuidad y estabilidad de la vacuna

La vacuna resultó estéril e inocua y no se observaron reacciones indescubiertas en los ratones adultos sometidos a las experiencias anteriormente descritas.

La integridad física de la emulsión se mantuvo en todas las condiciones observadas.

El cuadro 1 presenta los títulos de FC₅₀ del antígeno vacunal mantenido a diferentes temperaturas en los lapsos señalados cuando se procedió a la ruptura de la emulsión.

Ensayos de inmunidad pasiva en ratones lactantes

La tasa de sobrevivencia de los animales a la infección intraperitoneal se calculó por dilución de virus. Los resultados se muestran en el cuadro 2.

En el grupo de control (grupo D), la tasa de sobrevivencia está relacionada con la dilución de virus inoculado, a excepción en la dilución 10⁻³. Por otra parte, para el cálculo del título infeccioso del grupo D asumimos que no hubo sobrevivencia en las diluciones menores a 10⁻³, basados en el título infeccioso del virus de exposición. También se muestra el grado de inmunidad adquirida alcanzado por los ratones lactantes de los grupos A, B y C provenientes de madres vacunadas. Estos títulos se calcularon asumiendo que ningún animal de estos grupos moriría inoculado con diluciones mayores de 10⁻² del virus de exposición.

De los resultados presentados en el cuadro 2 llamó la atención lo observado en las camadas inoculadas con la dosis más alta de virus lo cual se detalla en el cuadro 3.

Las tres camadas del grupo A resistieron parcialmente a la descarga del virus, en el grupo B una camada fue completamente resistente y la otra no sobrevivió, y en el grupo C dos camadas resistieron parcialmente y la otra no sobrevivió.

Ensayos de inmunidad activa en ratones adultos

Se detectó seroconversión a los 30DPV en los tres grupos de ratones adultos vacunados (cuadro 4).

Todos los animales vacunados e infectados por vía intranasal sobrevivieron, manteniéndose normales durante el tiempo de observación. El estudio serológico a los 15 días posinfección (DPI)

Cuadro 1. Títulos de fijación del complemento del antígeno vacunal almacenados a diferentes temperaturas en función de tiempo

Temperatura de almacenamiento	Meses	
	0	1
4°C	1/28	1/32
25°C	-	1/80
37°C	-	1/144

**Cuadro 2. Inmunidad pasiva en ratones lactantes.
Tasa de sobrevida por dilución de virus**

Dilución de virus	Grupo A		Grupo B		Grupo C		Grupo D		Título de virus	
	S/T	%S	S/T	%S	S/T	%S	S/T	%S	S/T	%S
10 ⁰	10/26	38,46	8/19	42,10	12/32	37,50	-	-	-	-
10 ⁻¹	15/15	100	9/11	81,81	16/16	100	-	-	0/6	0,00
10 ⁻²	19/19	100	9/9	100	11/14	78,57	-	-	0/6	0,00
10 ⁻³	-	-	-	-	-	-	6/9	66,67	3/6	50,00
10 ⁻⁴	-	-	-	-	-	-	3/10	30,00	3/6	50,00
10 ⁻⁵	-	-	-	-	-	-	6/6	100	6/6	100
10 ⁻⁶	-	-	-	-	-	-	15/15	100	6/6	100
10 ⁻⁷	-	-	-	-	-	-	9/9	100	6/6	100
Título*	0,11		0,26		0,33		3,53		3,50	
IPRL	3,42		3,27		3,20					

S/T Número de ratones sobrevivientes/total de ratones inoculados

IPRL Índice de protección en ratón lactante

%S Porcentaje de sobrevida

* Log₁₀ DL₅₀ RL/0,05 ml

evidenció altos niveles de anticuerpos circulantes que, salvo un caso, no permitieron calcular los puntos finales de título.

Seis de los 10 testigos infectados comenzaron a mostrar incoordinación motora, parálisis progresiva y muerte a partir de los 5 DPI, muriendo el último a los 8 DPI; el tejido cerebral de estos animales fue positivo al VEV NJ por FC₅₀. Los testigos sobrevivientes presentaron bajos niveles de anticuerpos a los 15 DPI.

DISCUSIÓN

El incremento de los títulos de FC₅₀ del antígeno vacunal mantenido durante un mes a 25°C y 37°C (cuadro 1) pudiera deberse a la acción de la temperatura y el Tween 80 sobre las proteínas del virus inactivado. Sin embargo, esto no afectó la inmunogenicidad de la vacuna (11, 18) y los datos aquí presentados. Se ha demostrado que los detergentes no iónicos solubilizan selectivamente las proteínas de la cápsula dejando la ribonucleo-

cápside intacta, y tienen poco o ningún efecto adverso sobre la antigenicidad de la subunidad inmunogénica del VEV, la glicoproteína G, (21).

Las experiencias de inmunidad pasiva demostraron una marcada resistencia a la infección en ratones lactantes provenientes de madres vacunadas. Basados en los resultados obtenidos se

Cuadro 3. Inmunidad pasiva en ratones lactantes. Tasa de sobrevida por camada en dilución 10⁰

Camada	Grupo A		Grupo B		Grupo C	
	S/T	%S	S/T	%S	S/T	%S
1	3/8	37,50	0/11	000	9/10	90,00
2	4/9	44,44	8/8	100	3/11	27,27
3	3/9	33,33	-	-	0/11	0,00

S/T Número de ratones sobrevivientes/total de ratones inoculados

%S Porcentaje de sobrevida

Cuadro 4. Inmunidad activa en ratones adultos

		30 DPV	15 DPI
VACUNADOS Grupo A	MSN	100	>2,560
	ISP	3,47	>3,82
	FCF ₅₀	-	>1/320
	Mortalidad		0/10*
VACUNADOS Grupo B	MSN	200	>2,560
	ISP	3,34	>3,82
	FCF ₅₀	1/236	1/160
	Mortalidad		0/10
VACUNADOS Grupo C	MSN	320	>2,560
	ISP	3,17	>3,82
	FCF ₅₀	1/140	>1/320
	Mortalidad		0/10
TESTIGOS Grupo D	MSN	<20	-
	ISP	0,00	1,80
	FCF ₅₀	<1/10	1/20
	Mortalidad		6/10

DPV Días posvacunación

DPI Días posinfección

MSN Seroneutralización en placas de microtécnica

ISP Índice de seroprotección

FCF₅₀ Fijación del complemento en frío

• Ratones protegidos/ratones infectados

Los resultados de los ensayos de inmunidad activa en ratones adultos mostraron, como informan otros autores (11,12,16,21), que estos animales responden a la inoculación parenteral del VEV con altos niveles de anticuerpos séricos capaces de producir inmunidad.

El método de infección por vía intranasal para desafío de inmunidad parece ser más sencillo y efectivo que el utilizado por Mackett et al. (12) e Yilma et al. (21), consistente en administrar 10⁸ unidades formadoras de placa del VEV en la vena caudal del ratón, lo que provoca una encefalitis fatal al 50-60% de la población infectada en 6 a 12 DPI.

En el ratón, el área olfatoria constituye una gran parte de la membrana mucosa nasal y su epitelio neural ofrece un sustrato de células nerviosas de fácil exposición al virus instilado por las fosas nasales. La protección contra la invasión del cerebro por la vía olfatoria en ratones adultos es una prueba crítica de la eficacia de su inmunidad activa. La vacuna experimental produjo seroconversión y una sólida inmunidad en los tres grupos estudiados.

Estos modelos murídos descritos proveen sistemas básicos de pruebas para evaluar la potencia o eficacia de vacunas contra la EV, con la ventaja de que no es necesario adaptar cepas virales a ratón. Sin embargo, las cepas virales de desafío y las cepas de ratón utilizadas deben ser definidas, ya que la respuesta inmunitaria celular del ratón depende de la dosis de virus inoculadas, de la virulencia del virus y de la cepa de ratón (22).

Otros estudios están en progreso para determinar si la respuesta inmunitaria cuantificada en ratones se correlaciona con la protección de bovinos vacunados contra la EV.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Dr. Vicente Astudillo por la revisión del trabajo y sus acertadas sugerencias, y a la Sra. Luz María Sifontes por el trabajo secretarial.

REFERENCIAS

1. ABARACÓN, D., MESQUITA, J.A., SALLÚA, S., PÉREZ RAMA, R. Emulsificante Montanide 888 para la preparación de vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso./Montanide 888 emulsifying agent for preparation of oil adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa*, 45-46:51-57, 1982.
2. ALONSO FERNÁNDEZ, A. *Manual de diagnóstico de laboratorio de las enfermedades vesiculares*. Centro Panamericano de Fiebre Aftosa, 1986. Rio de Janeiro, PANAFTOZA, 1986. Serie de manuales didácticos nº 15.
3. ALONSO FERNÁNDEZ, A., SÖNDALH, M.S., ALLENDE, R. Identificación de anticuerpos antiestomatitis vesicular por la fijación del complemento en trío 50% (FC_{50}). (Referencia personal).
4. CASTAÑEDA, J. Obtención de una vacuna inactivada oleosa contra el virus New Jersey de estomatitis vesicular. *Vet. Trop.*, 15:39-55, 1990.
5. CASTAÑEDA, J., LAUERMAN, L.H., HANSON, R.P. Evaluation of virus neutralization tests and association of indices to cattle resistance. *Proc. U.S. Livestock Sanitary Assoc.*, 68:455-468, 1964.
6. CASTAÑEDA, J., NOVELL de ADRIÁN, M., ORDOÑEZ, J., ARANDA de OBANDO, M., CAMPOS de LLAVANERAS, E., CÁRDENAS, S. Impacto económico de las enfermedades vesiculares sobre la industria bovina y porcina en Venezuela. En: *First Inter. Conf. Impact. Vir. Dis. Develop. Latin America and Caribbean Region*, Rio de Janeiro, March 21-26, 1982. v.1. p. 203-212.
7. CUNHA, R.G., BAPTISTA, J.A., SERRÃO, U.M., TORTURELLA, I. El uso de los ratones lactantes en la evaluación de los anticuerpos contra el virus de la fiebre aftosa y su significación inmunológica. *Gac. Vet. B. Aires*, 19 (110):243-267, 1957.
8. FERREIRA, M.E. Prueba de microseroneutralización para estudios de anticuerpos de la fiebre aftosa./Microtiter neutralization test for the study of foot-and-mouth disease antibodies. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa*, 21-22:17-24, 1976.
9. GONÇALVES, E.I., MOREIRA, E.C. Utilização de camundongos adultos e lactentes na avaliação de eficiência de vacina anti-aftosa. *Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.*, 44 (6):527-536, 1992.
10. HANSON, R.P. Vesicular stomatitis: introduction and overview. In: *Proceedings of an International Conference on Vesicular Stomatitis*, Mexico City, Sep. 24-27, 1984. p. 1-13.
11. LAUERMAN, L.H., LINCOLN, S., GILES, R., WIESEHANH, G., STEVENS, D.R., HOOVER, T.R. Potency, stability and efficacy of an inactivated vesicular stomatitis virus vaccine. In: *Proceedings of an International Conference on Vesicular Stomatitis*, Mexico City, Sep. 24-27, 1984. p. 583-590.
12. MACKETT, M., YILMA, T., ROSE, J.K., MOSS, B. Vaccine virus recombinants: Expression of vesicular stomatitis virus genes and protective immunization of mice and cattle. *Science*, 277:433-435, 1985.
13. OBREGÓN, J.M. Multiplicación de cepas patógenas y atenuadas del virus de la estomatitis vesicular en cultivos celulares de BHK₂₁, C13 en suspensión. *Rev. Cient. Fac. Vet. Univ. Zulia*, 4 (2):119-122, 1994.
14. RAMOS, P., OBREGÓN, J.M., APONTE, J., CAMPOS, E., NOVELL, M. Evaluación de una vacuna oleosa experimental contra la estomatitis vesicular en bovinos. En: *II Congreso de Ciencias Veterinarias*, Maracay, Venezuela, 1993. Memorias.
15. REDELMAN, D., NICHOL, S., KLEIFORTH, R. Antigen-specific proliferative responses to vesicular stomatitis virus following immunization of cattle with inactive virus. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 20:363-373, 1989.
16. SKINNER, H.H. The virus of vesicular stomatitis in small experimental hosts. I. White mice, cotton rats, chick embryos and young chickens. *J. Comp. Path.*, 67:69-86, 1957.
17. SLAVIN, H.B., HALE, H.W., BERRY, G.P. Passive protection of the central nervous system of mice against viruses that pursue the pathway of the olfactory nerves after intranasal instillation, vesicular stomatitis and St. Louis encephalitis. *J. Immunol.*, 54 (2):179-188, 1946.
18. STONE, H.D., BRUGH, M., HOPKINS, S.R., YODER, H.W., BEARD, C.W. Preparation of inactivated oil-emulsion vaccine with avian viral or mycoplasma antigens. *Avian Disease*, 22:666-674, 1978.
19. STROBBE, R., de CLERCQ, R., DEBECQ, J. Maternally acquired immunity in suckling mice used to evaluate the potency of foot-and-mouth

- disease vaccines: Estimation of the degree of immunity. In: *Report of the Session of the Research Group of the Standing Technical Committee of the European Commission for the Control of Foot-and-Mouth Disease*, Madrid, Spain, Oct. 14-17, 1986. p. 26-29.
20. WAGNER, R.R. Pathogenicity and immunogenicity for mice of temperature - sensitive mutants of vesicular stomatitis virus. *Infect. Immun.*, 10:309-315, 1974.
21. YILMA, T., BREEZE, G.R., RISTOW, S., GORHAM, J.R., LEIB, S.R. Immune responses of cattle and mice to the Glyco-protein of vesicular stomatitis virus. In: *Proceedings of an International Conference on Vesicular Stomatitis*, Mexico City, Sep. 24-27, 1984. p. 608-622.
22. ZINKERNAGEL, R.M., ADLER, A., HOLLAND, J.J. Cell-mediated immunity to vesicular stomatitis virus infection in mice. *Expl. Cell.*, 46:53-70, 1978.

ABSTRACT

Stability and immunogenic response in adult and suckling mice of an oil-adjuvant vaccine against vesicular stomatitis New Jersey virus

Two assays to assess the stability and immunogenicity of an inactivated oil vaccine against vesicu-

lar stomatitis (VS) type New Jersey, stored at 4°C, 25°C and 37°C during 30 days, was performed. The levels of passive and active immunity were estimated both by intraperitoneal inoculation in suckling mice born from vaccinated mothers and intranasally in adult mice. The vaccine showed physical and antigenic stability, and resistance to infection in the groups of animals immunized was observed. These pilot tests can be useful to design protocols for evaluation of efficacy or potency of vaccines against VS provided that an adequate correlation with the assays performed in cattle is demonstrated.

RESUMO

Estabilidade e resposta imunitária de uma vacina de adjuvante oleoso contra o vírus New Jersey da estomatite vesicular, estudada em camundongos adultos e lactentes

Realizaram-se dois ensaios em camundongos para avaliar a estabilidade e imunogenicidade de uma vacina inativada oleosa contra a estomatite vesicu-

lar (EV) tipo New Jersey, armazenada a 4°C, 25°C e 37°C durante 30 dias: ensaio de imunidade passiva em camundongos lactentes e ensaio de imunidade ativa em camundongos adultos. Os graus de imunidade passiva e ativa foram estimados, respectivamente, por inoculação intraperitoneal em camundongos lactentes provenientes de mães vacinadas e por via intranasal em camundongos adultos. A vacina demonstrou estabilidade física e antigenica, e se observou resistência à infecção nos grupos de animais imunizados. Esses ensaios piloto podem ser úteis no desenho de protocolos para a avaliação da eficácia ou potência de vacinas contra a EV, prévia comprovação de uma adequada correlação com as provas em bovinos.

Comunicación Breve

DESEMPEÑO DE UN ENSAYO INMUNOENZIMÁTICO DE ELECTROTRANSFERENCIA RÁPIDO PARA LA DETECCIÓN DE BOVINOS EXPUESTOS AL VIRUS DE LA FIEBRE AFTOSA

Ingrid E. Bergmann, Viviana Malirat

Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (OPS/OMS)
Caixa Postal 589, 20001-970 Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Se evaluó la efectividad de un ensayo inmunoenzimático de electrotransferencia (EITB) para la detección de anticuerpos contra antígenos de replicación del virus de la fiebre aftosa (VFA) en bovinos expuestos al mismo. El ensayo EITB, que utiliza como sondas serológicas antígenos virales no estructurales producidos por bioingeniería y altamente purificados, se comparó con la prueba tradicional de inmunodifusión en gel de agar (prueba VIAA), que emplea un antígeno asociado a la infección viral parcialmente purificado. Se evaluó la sensibilidad y especificidad de ambas pruebas mediante el estudio de 110 sueros de bovinos naturalmente expuestos, y con comprobado estado de infección, así como de sangrías seriadas de 25 animales infectados experimentalmente, y de 1.899 sueros de animales de regiones libres de FA (1.058 de los cuales provenían de bovinos vacunados sistemáticamente). Además se realizaron estudios en 43 bovinos para evaluar la sensibilidad de estas pruebas para reconocer animales persistentemente infectados. Los resultados indicaron que, comparado con la prueba VIAA, el ensayo EITB es más sensible y específico para detectar bovinos expuestos al VFA, aun durante la infección persistente, y especialmente en regiones con vacunación sistemática. Por lo tanto, se recomienda el uso del EITB como una prueba sensible, segura, rápida y económica para la detección específica de exposición viral en el campo.

Debido a la habilidad del virus de la fiebre aftosa (VFA) de establecer infección subclínica en bovinos y otros rumiantes (3, 6, 9, 10, 15, 16, 17), el desarrollo de métodos confiables para la detección de actividad viral asintomática en una población animal sería una contribución importante, tanto para los programas de erradicación vigentes en América del Sur cuanto para el comercio internacional de ganado y subproductos de origen animal.

Solicitar separatas al:
Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (OPS/OMS)

En regiones endémicas donde se realizan programas sistemáticos de vacunación, la identificación de bovinos infectados debe basarse en pruebas capaces de diferenciar los animales infectados de aquellos que están solamente vacunados. Mientras que las vacunas inducen anticuerpos principalmente contra antígenos estructurales, la replicación viral en el hospedador induce, además de anticuerpos contra proteínas estructurales, aquellos correspondientes a las proteínas no estructurales. Así, los animales infectados pueden ser identificados en forma confiable mediante la detección de anticuerpos específicamente inducidos contra antígenos no estructurales y por lo tanto, contra el virus replicativo.

El uso del(de los) antígeno(s) asociado(s) a la infección viral (VIAA), formado por una mezcla compleja de proteínas de las cuales la polimerasa 3D es un componente principal, como sonda serológica en una prueba de inmunodifusión en gel de agar (prueba VIAA) (1, 7, 11, 12) constituyó una herramienta valiosa para evaluar el estado de infección en bovinos vacunados.

Debido a la baja sensibilidad de la prueba VIAA, una cantidad considerable de animales expuestos puede dar resultados falso-negativos, especialmente en los estados tardíos de la infección persistente, durante los cuales hay una disminución significativa de los niveles de anticuerpos específicos de infección (4). Esto es especialmente importante en las pruebas para importación y exportación, y para evaluar la actividad viral residual en regiones con programas avanzados de erradicación. Además, resultados VIAA positivos pueden ser inducidos por vacunas actualmente usadas que contienen una elevada concentración de antígenos de VFA impuros, especialmente después de repetidas vacunaciones (2, 4, 8, 14). Esto puede dar un elevado porcentaje de resultados falso-positivos, no aceptable, que interferiría en la evaluación de muestras seroepidemiológicas, especialmente en poblaciones con baja prevalencia de FA.

Para superar las limitaciones mencionadas, el Centro Panamericano de Fiebre Altosa desarrolló un ensayo inmunoenzimático de electrotransferencia (EITB) seguro, rápido, de bajo costo y simple ejecución, capaz de identificar animales con infección persistente, independiente de su estado de vacunación (4, 13). Usando solo una pequeña cantidad de suero, este ensayo permite detectar anticuerpos contra los polipéptidos 3A, 3B, 2C, 3D y 3ABC producidos por el virus durante su replicación en el hospedador. Utilizando este método se demostró la eliminación de resultados falso-negativos obtenidos mediante la prueba VIAA en sueros con títulos bajos, así como de resultados falso-positivos de la prueba VIAA, ocasionados por la reactividad de sueros de animales vacunados (4).

El objetivo de este estudio fue extender trabajos anteriores sobre sensibilidad, especificidad y confiabilidad del EITB para detectar animales positivos al VFA, incluyendo aquellos

infectados subclínicamente, independiente de su estado de vacunación.

El ensayo utiliza como sondas serológicas un conjunto de antígenos virales no estructurales obtenidos por técnicas de ADN recombinante, purificados hasta homogeneidad electroforética (13). Una mezcla de 20 ng/mm de cada una de las proteínas no estructurales del VFA, 3A, 3B, 2C, 3D y 3ABC se resuelve por electroforesis en un gel de poliacrilamida al 12,5% y se transfiere a membranas de nitrocelulosa. Las reacciones inmunoenzimáticas se realizan de acuerdo con lo descripto (13). El ensayo es utilizado como una prueba de screening en una única dilución. Como alternativa se puede obtener información semicuantitativa a través de la titulación de los sueros reaccionantes.

Para cada hoja de nitrocelulosa que define un gel transferido se deben incluir duplicados de los sueros controles. Estos sueros controles primarios incluyen: a) un control positivo proveniente de un pool de sueros de animales comprobadamente infectados; b) un control positivo débil proveniente de un pool de sueros de animales que mostraron un nivel de anticuerpos igual al más alto registrado por EITB en regiones de muy bajo riesgo epidemiológico (tres años después del último brote); c) un control límite (*cut-off*) proveniente de un pool de sueros con la máxima reactividad observada por EITB en animales de regiones libres de FA, sin vacunación; d) un control negativo proveniente de un pool de sueros de animales en regiones libres de FA, sin vacunación.

Para que el ensayo sea válido, las tiras con los sueros controles positivos, débilmente positivos y los *cut-off* deben mostrar reacción con todos los antígenos, mientras que las tiras de suero control negativo no deben mostrar ninguna reactividad. Una muestra se considera EITB negativa si todas las bandas de proteína viral están por debajo de la reactividad del control *cut-off*, o si un máximo de dos líneas de antígenos están por encima del nivel del control *cut-off*. Una muestra se considera EITB positiva si los cinco antígenos muestran reactividad igual o superior al nivel del control *cut-off*. Una muestra es indeterminada si los criterios para positivo o negativo arriba mencionados no son alcanzados.

La sensibilidad fue estimada por la evaluación de 110 sueros de animales involucrados en brotes de campo y comprobadamente infectados, recolectados 20 días después del aparecimiento de la enfermedad. Como se ve en el cuadro 1, el EITB identificó correctamente todos los sueros de los bovinos infectados como positivos. También se muestra una comparación con los resultados obtenidos por la prueba VIAA. Solo 88 de estos sueros fueron positivos por la prueba VIAA. La población positiva al VFA también incluyó 10 bovinos vacunados y 15 sin vacunar que fueron inoculados con VFA. Los sueros antes de la inoculación fueron negativos por ambas pruebas, VIAA y EITB, pero a los 14 días posinoculación todos los sueros dieron resultados EITB positivos, independiente de la vacunación. En este caso, todas las muestras fueron VIAA positivas, aunque con títulos de 10 a varios miles de veces más bajos que los obtenidos por el método EITB. Estos resultados indican que la sensibilidad del EITB, usando el nivel de *cut-off* mencionado, es de 100%.

Sin embargo continúa la pregunta sobre la sensibilidad de la prueba de EITB para reconocer animales persistentemente infectados por VFA en los estados tardíos de la infección, durante los cuales los títulos de los sueros serían bastante bajos, y el estado de infección del animal es difícil de evaluar con seguridad (4) por los procedimientos disponibles en el presente (5). Con este propósito se realizaron estudios en un grupo de 15 animales no vacunados, infectados experimentalmente, y mantenidos en aislamiento por dos años. Se tomaron muestras seriadas de fluidos esofágico-faringeos (EF) y de sangre a intervalos de 15 ó 30

días. Los resultados indican que la prueba EITB es adecuada para detectar, consistentemente, anticuerpos del VFA persistentes en los estados tardíos de la infección, durante los cuales los resultados de la prueba VIAA ya no fueron positivos, y el virus no fue recuperado de fluidos EF, o solo lo fue ocasionalmente. El cuadro 2 muestra los datos de 4 de los 15 animales estudiados. Conclusiones similares fueron deducidas de un grupo de ocho bovinos vacunados infectados experimentalmente y otro de 20 animales infectados naturalmente y sometidos a vacunación sistemática (datos no mostrados).

El hecho de que varios animales estudiados mantenían seropositividad por EITB, aun después de los 350 días del último aislamiento de VFA (ejemplos en los animales A y D, cuadro 2), indica que los anticuerpos contra los antígenos de replicación persisten por más tiempo que el virus en la región EF, por lo menos cuando se aplican los métodos actualmente en uso. Por lo tanto, la prueba EITB permite la detección de animales con previa exposición al VFA con mayor sensibilidad. En contraposición, la prueba VIAA ya se torna negativa, aun en tiempos en que el virus todavía puede ser recuperado frecuentemente de fluidos EF (cuadro 2).

Se evaluó la especificidad en un grupo de sueros de bovinos de regiones libres de FA, como El Salvador, Panamá, Chile, la Patagonia argentina y Uruguay, así como en sueros de bovinos seleccionados para las pruebas de potencia de vacunas. Los resultados de este estudio se presentan en el cuadro 3 y muestran que no se observaron sueros positivos por EITB. Sin embar-

CUADRO 1. Resultados del EITB y de la prueba VIAA en bovinos positivos al VFA

Animales positivos al VFA	Total sueros	Prueba VIAA		EITB	
		(+)	(-)	(+)	(-)
Naturalmente infectados	110	88	22	110	0
Experimentalmente infectados (vacunados)	10	10	0	10	0
Experimentalmente infectados (sin vacunar)	15	15	0	15	0

CUADRO 2. Frecuencia de determinaciones positivas por recuperación de virus (EF), pruebas VIAA y EITB durante el curso de infecciones persistentes

Bovino	Días posinfección														
	Hasta 150			150-300			300-450			450-600			600-750		
	EF	VIAA	EITB	EF	VIAA	EITB	EF	VIAA	EITB	EF	VIAA	EITB	EF	VIAA	EITB
A	4/11*	10/11	11/11	3/10	10/10	10/10	1/5	0/5	5/5	0/5	0/5	5/5	0/5	0/5	5/5
B	10/11	10/11	11/11	5/10	10/10	10/10	2/5	0/5	5/5	1/5	0/5	5/5	1/6	0/6	6/6
C	8/11	10/11	11/11	2/10	9/10	10/10	1/5	0/5	5/5	1/5	0/5	5/5	2/5	0/5	5/5
D	7/11	10/11	11/11	4/10	8/10	10/10	2/5	0/5	5/5	1/5	0/5	5/5	0/5	0/5	5/5

* Número de positivos/Número de determinaciones totales.

CUADRO 3. Especificidad del EITB y de la prueba VIAA

Región libre de FA	Total sueros	Interpretación de EITB			Prueba VIAA	
		Positivo	Indeterminante	Negativo	Positivo	Negativo
Sin vacunación	841	0	2	839	0	841
Con vacunación (< 2 años)	517	0	2	515	21	496
Con vacunación (> 2 años)	541	0	6	535	36	505

go, algunos de estos sueros dieron reactividad indeterminada, aunque débil. Los valores de especificidad por EITB fueron 99,8% en las áreas libres sin vacunación, 99,6% y 98,9% para los animales con menos o más de dos años de edad, respectivamente, en las áreas libres con vacunación. Al contrario, la prueba VIAA dio una especificidad mucho más baja, especialmente en las regiones con vacunación sistemática (95,9% y 93,3% en animales con menos o más de dos años de edad, respectivamente). Esto probablemente resulta de la interferencia de las vacunas, que bajo los programas actuales de inmunización utilizan antígenos concentrados.

Además, como ya se informó (4), la respuesta de sueros de animales infectados con virus bovinos a ARN (diarrea viral bovina, lengua azul, coronavirus bovino, peste bovina, estomatitis vesicular, fiebre esimera del bovino) o virus a ADN (estomatitis papular bovina, rinotraqueitis infecciosa bovina, herpes bovino tipo 2, fiebre catarral maligna) indicaron falta de reactividad cruzada.

Se obtuvieron resultados satisfactorios de variabilidad inter e intraensayo cuando se evaluó la reproducibilidad de la prueba utilizando muestras débilmente positivas.

La alta especificidad y sensibilidad del método, así como su simple y rápida ejecución, bajo costo, y fácil implementación, que permite el estudio de varias muestras, lo hace adecuado para seleccionar animales durante las pruebas para importación y exportación así como para la realización de encuestas seroepidemiológicas en gran escala. En regiones con vacunación sistemática es especialmente importante, pues la evaluación precisa de la actividad viral es una contribución esencial para la decisión de continuar o suspender la vacunación.

REFERENCIAS

1. ALONSO FERNÁNDEZ, A., AUGÉ DE MELLO, P., GOMES, I., ROSENBERG, F. El uso del antígeno asociado a la infección viral (VIA) en la detección de ganado expuesto al virus de la fiebre aftosa./The use of virus-infection-associated antigen (VIA) in the detection of cattle exposed to foot-and-mouth disease virus. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa*, 17-18:17-22, 1975.
2. ALONSO, A., GOMES, I., BAHNEMANN, H.G. La inducción de anticuerpos anti-VIAA en bovinos vacunados y revacunados con vacuna inactivada antiaftosa./The induction of antibodies against VIAA in cattle vaccinated and revaccinated with inactivated foot-and-mouth disease vaccine. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa*, 54:51-54, 1988.
3. AUGÉ DE MELLO, P., HONIGMAN, M.N., FERNÁNDEZ, M.V., GOMES, I. Further information on the survival of modified foot-and-mouth disease virus in cattle. *Bull. Off. Int. Epiz.*, 73:489-505, 1970.
4. BERGMANN, I.E., AUGÉ DE MELLO, P., NEITZERT, E., BECK, E., GOMES, I. Diagnosis of persistent aphthovirus infection and its differentiation from vaccination response in cattle by use of enzyme-linked immunoelectrotransfer blot analysis with bioengineered nonstructural viral antigens. *Am. J. Vet. Res.*, 54(6):825-831, 1993.
5. BERGMANN, I.E., MALIRAT, V. Enfoques moleculares para el diagnóstico en laboratorio de la infección persistente con el virus de la fiebre aftosa: Revisión./Molecular approaches to laboratory diagnosis of persistent foot-and-mouth disease virus infection. A review. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa*, 59:153-177, 1993.
6. BURROWS, R. Studies on the carrier state of cattle exposed to foot-and-mouth disease virus. *J. Hyg.*, 64:81-90, 1966.
7. COWAN, K.M., GRAVES, J.H. A third antigenic component associated with FMD infection. *Virology*, 30:528-540, 1966.
8. DAWIE, P.S., PINTO, A.A. Antibody response to type specific and "virus infection associated" (VIA) antigens in cattle vaccinated with inactivated polyvalent FMD virus in northern Malawi. *Br. Vet. J.*, 134:504-511, 1978.
9. HEDGER, R.S. The isolation and characterization of foot-and-mouth disease virus from clinically normal herds of cattle in Botswana. *J. Hyg.*, 66:27-36, 1968.
10. KAADEN, O.R., EISSNER, G., BOHM, H.O. Untersuchungen über Maul- und Klauenseuche (MKS)-Virusdauerträger bei vakzinierter und experimentell infizierten Rindern. *Zbl. Vet. Med. B*, 17:485-496, 1970.
11. LOBO, C.A., HANSON, R.P., GUTIÉRREZ, A., BELTRÁN, L.E. Serological detection of natural FMD infection in cattle and pigs. *Bull. Off. Int. Epiz.*, 85:1075-1104, 1976.
12. McVICAR, J.W., SUTMÖLLER, P. FMD: The agar gel diffusion precipitin test for antibody to

- virus-infection associated (VIA) antigen as a tool for epizootiologic surveys. *Am. J. Epidemiol.*, 92: 273-278, 1970.
13. NEITZERT, E., BECK, E., AUGÉ DE MELLO, P., GOMES, I., BERGMANN, I.E. Expression of the aphthovirus RNA polymerase gene in *Escherichia coli* and its use together with other bioengineered nonstructural antigens in detection of late persistent infections. *Virology*, 184:799-804, 1991.
 14. PINTO, A.A., GARLAND, A.J.M. Immune response to virus-infection-associated (VIA) antigen in cattle repeatedly vaccinated with foot-and-mouth disease virus inactivated by formalin or acetylthielenimine. *J. Hyg.*, 82:41-50, 1979.
 15. SUTMÖLLER, P., GAGGERO, A. Foot-and-mouth disease carriers. *Vet. Rec.*, 77:968-969, 1965.
 16. SUTMÖLLER, P., McVICAR, J.W., COTTRAL, G.E. The epizootiological importance of foot-and-mouth disease carriers. I. Experimentally produced foot-and-mouth disease carriers in susceptible and immune cattle. *Arch. Ges. Virusforsch.*, 23:227-235, 1968.
 17. VAN BEKKUM, J.G., FRENKEL, H.S., FREDERIKS, H.H.J., FRENKEL, S. Observation on the carrier state of cattle exposed to foot-and-mouth disease virus. *Tijdschr. Diergeneeskd.*, 84:1159-1164, 1959.
-

RESUMO

Desempenho de um ensaio imunoenzimático de electrotransferência rápido para a detecção de bovinos expostos ao vírus da febre aftosa

Evaluou-se a efetividade de um ensaio imunoenzimático de electrotransferência (EITB) para a detecção de anticorpos contra antígenos de replicação do vírus da febre aftosa (VFA) em bovinos expostos ao mesmo. O ensaio EITB, que utiliza como sondas sorológicas antígenos virais não estruturais produzidos por bioengenharia e altamente purificados, comparou-se com a prova tradicional de imunodifusão em gel de agar (VIAA

teste), que utiliza um antígeno associado à infecção viral, parcialmente purificado. Evaluou-se a sensibilidade e especificidade de ambas provas mediante o estudo de 110 soros de bovinos naturalmente expostos e comprovado estado de infecção, bem como de sangrias seriadas de 25 animais infectados experimentalmente, e de 1.899 soros de animais de regiões livres de FA (1.058 dos quais eram de bovinos vacinados sistematicamente). Também realizaram-se estudos em 43 bovinos para avaliar a sensibilidade destas provas para reconhecer animais persistentemente infectados. Os resultados indicaram que, comparado com a prova VIAA, o ensaio EITB é mais sensível e específico para detectar bovinos expostos ao VFA mesmo durante a infecção persistente, especialmente em regiões com vacinação sistemática. Portanto, recomenda-se o uso do EITB como uma prova sensível, segura, rápida e econômica para a detecção específica de exposição viral no campo.

Short Report

PERFORMANCE OF A RAPID ENZYME-LINKED IMMUNOELECTROTRANSFER BLOT ASSAY FOR DETECTION OF CATTLE EXPOSED TO FOOT-AND-MOUTH DISEASE VIRUS

Ingrid E. Bergmann, Viviana Malirat

Pan American Foot-and-Mouth Disease Center (PAHO/WHO)
Caixa Postal 589, 20001-970 Rio de Janeiro, RJ, Brazil

The effectiveness of an enzyme-linked immunoelectrotransfer blot (EITB) assay for detection of antibodies against foot-and-mouth disease virus (FMDV) replicating antigens in exposed cattle was evaluated. The EITB assay, that uses a set of highly purified bioengineered nonstructural viral antigens as serologic probes was compared with the traditionally used immunodiffusion in agarose gel test (VIAA test), which employs a partially purified virus-infection-associated antigen. Sensitivity and specificity of both tests were evaluated by assessing 110 sera from naturally infected cattle of proven disease status as well as serial bleedings from 25 experimentally infected animals, and 1,899 sera from animals in FMD-free regions (1,058 of which were derived from systematically vaccinated cattle). Studies were also conducted in 43 cattle to evaluate the sensitivity of these tests to recognize persistently infected animals. The results indicated that compared to the VIAA test, the EITB assay is more sensitive and specific to detect cattle exposed to FMDV, even during persistent infection, and particularly in regions subjected to systematic vaccination. Thus, use of the EITB assay is recommended as a sensitive, safe, rapid and economic field test for specific detection of previous viral exposure.

Considering the ability of foot-and-mouth disease virus (FMDV) to establish subclinical infection in cattle and other ruminants (3,6,9,10, 15, 16, 17), the development of reliable methods for detection of asymptomatic viral activity in an animal population should be an important contribution with respect to both eradication programs in progress in South American countries and international trade of livestock and livestock products.

In endemic regions with ongoing vaccination programs, identification of infected cattle should be based on assays capable of differentiating infected animals from those that have merely been

vaccinated. While vaccines induce antibodies mainly to the structural antigens, viral replication in the host elicits antibodies against structural as well as nonstructural proteins. Therefore, infected animals can be identified with certainty by detecting antibodies specifically raised against nonstructural antigens and thus, against replicating virus.

In this regard, the use of the virus-infection associated antigen(s) (VIAA), composed of a complex mixture of proteins of which the polymerase 3D is a major component, as a serologic probe in an immunodiffusion in agarose gel method (VIAA test) (1,7,11,12) constituted a valuable tool for the evaluation of the infection status in vaccinated cattle.

Due to the low sensitivity of the VIAA test, a considerable portion of exposed animals may

Reprint requests to:
Pan American Foot-and-Mouth Disease Center (PAHO/WHO)

yield false-negative results, particularly at late stages of persistent infection, during which there is a significant decrease in the levels of infectious-specific antibodies (4). This is especially relevant for import/export testing and for evaluating residual viral activity in regions with advanced eradication programs. Furthermore, VIAA-positive results can be induced by currently in use vaccines containing a high concentration of nonpurified FMDV antigens, especially after repeated vaccinations (2,4,8,14). This may lead to an unacceptably high percentage of false-positive results which can interfere in the evaluation of surveys, particularly in populations with a low prevalence of FMD.

In order to overcome the above-mentioned limitations, a safe, rapid, inexpensive, simple-to-perform enzyme-linked immunoelectrotransfer blot (EITB) assay capable of identifying animals with persistent infection, regardless of their vaccination condition, has been developed at the Pan American Foot-and-Mouth Disease Center (4,13). Using only a minute amount of serum, the assay detects antibodies against polypeptides 3A, 3B, 2C, 3D and 3ABC, produced by the virus while it replicates in the host. By utilizing this approach, elimination of false-negative VIAA test results in low titer sera, as well as of false-positive VIAA test results, caused by reactivity of sera from vaccinated animals, was demonstrated (4).

The objective of this study was to extend prior studies on the sensitivity, specificity and consistency of the EITB test for detecting FMDV-positive animals, including those subclinically infected, regardless of their vaccination status.

The assay uses a set of recombinant DNA-derived nonstructural viral antigens, purified to electrophoretic homogeneity, as serologic probes (13). A mixture of 20 ng/μl of each of the FMDV nonstructural proteins 3A, 3B, 2C, 3D and 3ABC, are resolved on 12.5% polyacrylamide gel electrophoresis, and transblotted to nitrocellulose membrane filters. Immunoenzymatic reactions are carried out as described (13). The assay is used as a single dilution screening test. Alternatively, semi-quantitative information can be obtained through titration of reactive sera.

A set of two replicates of control sera must be assayed for each nitrocellulose sheet, which

defines one transferred gel. These primary reference standards include: (a) a positive control derived from a pool of sera from infected animals of proven disease status; (b) a weakly positive control derived from a pool of sera from animals which showed the highest EITB antibody levels in regions with very low epidemiological risk (three years after the last outbreak); (c) a cut-off control derived from a pool of sera with maximal EITB background reactivity observed in animals from FMD-free regions, with no vaccination; (d) a negative control derived from a pool of sera from animals in FMD-free regions, with no vaccination.

For the test system to be valid, the positive, weakly positive, as well as the cut-off control strips, must show reaction with all the antigens, while the negative control strip must not show reactivity. A sample is considered EITB negative if all viral protein bands are below the reactivity of the cut-off control or if a maximum of two antigen lines are above the cut-off control level. A sample is considered EITB positive if all five antigens show reactivity equal or higher than the cut-off control level. A sample is indeterminate if the above-mentioned criteria for positive or negative reactivity are not met.

Sensitivity was evaluated by assessing 110 sera from animals involved in field outbreaks, and of proven disease status, collected 20 days after detection of the disease. As can be seen in table 1, the EITB assay correctly identified all sera from infected cattle as positive. A comparison with the results obtained by the alternative VIAA test is also shown. Of those sera, only 88 were positive by the VIAA test method. The FMDV-positive population also included 10 vaccinated and 15 nonvaccinated cattle which were inoculated with FMDV. Sera before inoculation were VIAA test and EITB negative, but at 14 days post-inoculation all sera gave EITB positive results, regardless of their vaccination condition. In this case, all samples were positive by the VIAA test, although with titers ranging from 10 to several thousand times lower than those detected by the EITB method. These results indicate that sensitivity of the EITB using the mentioned cut-off level is 100%.

The question still remains as to the sensitivity of the EITB test to recognize FMDV persistently

Table 1. EITB and VIAA test results of FMDV-positive cattle

FMDV-Positive animals	Total sera	VIAA test		EITB	
		(+)	(-)	(+)	(-)
Naturally infected	110	88	22	110	0
Experimentally infected (vaccinated)	10	10	0	10	0
Experimentally infected (nonvaccinated)	15	15	0	15	0

infected animals at late stages of the infection during which sera titers may be quite low, and the infection status of the animal is difficult to assess with certainty (4) by the currently available procedures (5). To this aim, studies were conducted on a group which involved 15 nonvaccinated experimentally infected animals kept in isolation for two years. Samples were taken serially at 15- or 30-day intervals from oesophagel-pharyngeal (OP) fluids and from the blood. Results indicate that the EITB test is suitable for detecting, consistently, FMDV antibodies persisting at late stages of infection, during which VIAA test results were no longer positive, and virus was not recovered from the OP fluids, or was only occasionally recovered. Table 2 shows data from 4 of the 15 animals studied. Comparable conclusions were drawn with a group of eight experimentally infected vaccinated cattle as well as with 20 naturally infected animals under systematic vaccination (data not shown).

The fact that several of the studied animals retained EITB seropositivity even up to 350 days after the last FMDV isolation, (examples in animals A and D, table 2) indicates that antibodies against replicating antigens persist longer than the virus in the OP region, at least as assessed by current methods. Therefore, the EITB test allows for detection of animals with prior exposure to FMDV with high sensitivity. In contrast, seropositivity detected by the VIAA test became negative,

even at times when virus was still frequently recovered from OP fluids (table 2).

Specificity was evaluated in a group of cattle sera in FMD-free regions such as El Salvador, Panama, Chile, Argentine Patagonia and Uruguay, as well as in sera from cattle designated for vaccine potency tests. Results are presented in table 3. As can be seen, no EITB-positive results were observed. However, although weak, some of these sera gave indeterminate reactivity. EITB specificity values were 99.8% in free areas without vaccination, 99.6% and 98.9% for animals under and over two years of age, respectively, in free areas with vaccination. In contrast, the VIAA test yielded a considerable lower specificity, particularly in regions under systematic vaccination (95.9% and 93.3% in animals under and over two years of age, respectively). This is probably the result of vaccine interference under current immunization programs with vaccines using concentrated antigens.

Moreover, as reported previously (4), the response of sera from animals infected with a variety of bovine RNA viruses (bovine diarrhea virus, bluetongue virus, bovine coronavirus, rinderpest virus, vesicular stomatitis virus, bovine ephemeral fever virus) or DNA viruses (bovine papular stomatitis virus, infectious bovine rhinotracheitis virus, bovine herpesvirus type 2, and malignant catarrhal fever virus) indicated lack of cross-reactivity.

Table 2. Frequency of positive determinations by virus recovery (OP), VIAA test (VIAA) and EITB during the course of persistent infections

Cattle	Days post-infection														
	Up to 150			150-300			300-450			450-600			600-750		
	OP	VIAA	EITB	OP	VIAA	EITB	OP	VIAA	EITB	OP	VIAA	EITB	OP	VIAA	EITB
A	4/11*	10/11	11/11	3/10	10/10	10/10	1/5	0/5	5/5	0/5	0/5	5/5	0/5	0/5	5/5
B	10/11	10/11	11/11	5/10	10/10	10/10	2/5	0/5	5/5	1/5	0/5	5/5	1/6	0/6	6/6
C	8/11	10/11	11/11	2/10	9/10	10/10	1/5	0/5	5/5	1/5	0/5	5/5	2/5	0/5	5/5
D	7/11	10/11	11/11	4/10	8/10	10/10	2/5	0/5	5/5	1/5	0/5	5/5	0/5	0/5	5/5

* Number of positive/Number of total determinations.

Table 3: EITB and VIAA test specificity

FMD-free region	Total sera	EITB Interpretation			VIAA test	
		Positive	Indeterminate	Negative	Positive	Negative
Without vaccination	841	0	2	839	0	841
With vaccination (< 2 years old)	517	0	2	515	21	496
With vaccination (> 2 years old)	541	0	6	535	36	505

Satisfactory results were obtained when weakly positive samples were assessed for inter- and intra-assay variability.

The high specificity and sensitivity of the method, as well as its simple and rapid performance, low cost, and easy throughput, which enables the processing of many samples, make it adequate for selection of animals during import/export testing as well as for large-scale seroepidemiological surveys. This is particularly relevant in regions under systematic vaccination, where a precise evaluation of viral activity is an essential contribution to the decision of continuation or suspension of vaccination.

REFERENCES

1. ALONSO FERNÁNDEZ, A., AUGÉ DE MELLO, P., GOMES, I., ROSENBERG, F. El uso del antigeno asociado a la infección viral (VIA) en la detección de ganado expuesto al virus de la fiebre aftosa./The use of virus-infection-associated antigen (VIA) in the detection of cattle exposed to foot-and-mouth disease virus. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa*, 17-18:17-22, 1975.
2. ALONSO, A., GOMES, I., BAHNEMANN, H.G. La inducción de anticuerpos anti-VIAA en bovinos vacunados y revacunados con vacuna inactivada antiaftosa./The induction of antibodies against VIAA in cattle vaccinated and revaccinated with inactivated foot-and-mouth disease vaccine. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa*, 54:51-54, 1988.
3. AUGÉ DE MELLO, P., HONIGMAN, M.N., FERNÁNDEZ, M.V., GOMES, I. Further information on the survival of modified foot-and-mouth disease virus in cattle. *Bull. Off. Int. Epiz.*, 73:489-505, 1970.
4. BERGMANN, I.E., AUGÉ DE MELLO, P., NEITZERT, E., BECK, E., GOMES, I. Diagnosis of persistent aphthovirus infection and its differentiation from vaccination response in cattle by use of enzyme-linked immunoelectrotransfer blot analysis with bioengineered nonstructural viral antigens. *Am. J. Vet. Res.*, 54(6):825-831, 1993.
5. BERGMANN, I.E., MALIRAT, V. Enfoques moleculares para el diagnóstico en laboratorio de la infección persistente con el virus de la fiebre aftosa: Revisión./Molecular approaches to laboratory diagnosis of persistent foot-and-mouth disease virus infection. A review. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa*, 59:153-177, 1993.
6. BURROWS, R. Studies on the carrier state of cattle exposed to foot-and-mouth disease virus. *J. Hyg.*, 64:81-90, 1966.
7. COWAN, K.M., GRAVES, J.H. A third antigenic component associated with FMD infection. *Virology*, 30:528-540, 1966.
8. DAWE, P.S., PINTO, A.A. Antibody response to type specific and "virus infection associated" (VIA) antigens in cattle vaccinated with inactivated polyvalent FMD virus in northern Malawi. *Br. Vet. J.*, 134:504-511, 1978.
9. HEDGER, R.S. The isolation and characterization of foot-and-mouth disease virus from clinically normal herds of cattle in Botswana. *J. Hyg.*, 66:27-36, 1968.
10. KAADEN, O.R., EISSNER, G., BOHM, H.O. Untersuchungen über Maul- und Klauenseuche (MKS)-Virusdauerausscheider bei vakzinierten und experimentell infizierten Rindern. *Zbl. Vet. Med. B.*, 17:485-496, 1970.
11. LOBO, C.A., HANSON, R.P., GUTIÉRREZ, A., BELTRÁN, L.E. Serological detection of natural FMD infection in cattle and pigs. *Bull. Off. Int. Epiz.*, 85:1075-1104, 1976.
12. McVICAR, J.W., SUTMÖLLER, P. FMD: The agar gel diffusion precipitin test for antibody to virus-infection associated (VIA) antigen as a tool for epizootiologic surveys. *Am. J. Epidemiol.*, 92:273-278, 1970.
13. NEITZERT, E., BECK, E., AUGÉ DE MELLO, P., GOMES, I., BERGMANN, I.E. Expression of the aphthovirus RNA polymerase gene in *Escherichia coli* and its use together with other bioengineered nonstructural antigens in detection of late persistent infections. *Virology*, 184:799-804, 1991.
14. PINTO, A.A., GARLAND, A.J.M. Immune response to virus-infection-associated (VIA) antigen in cattle repeatedly vaccinated with foot-and-mouth disease virus inactivated by formalin or acetylthienimine. *J. Hyg.*, 82:41-50, 1979.
15. SUTMÖLLER, P., GAGGERO, A. Foot-and-mouth disease carriers. *Vet. Rec.*, 77:968-969, 1965.
16. SUTMÖLLER, P., McVICAR, J.W., COTTRAL, G.E. The epizootiological importance of foot-and-mouth disease carriers. I. Experimentally produced foot-and-mouth disease carriers in susceptible and immune cattle. *Arch. Ges. Virusforsch.*, 23:227-235, 1968.
17. VAN BEKKUM, J.G., FRENKEL, H.S., FREDERIKS, H.H.J., FRENKEL, S. Observation on the carrier state of cattle exposed to foot-and-mouth disease virus. *Tijdschr. Diergeneeskdl.*, 84:1159-1164, 1959.

Comunicación Breve

MICROCARACTERIZACIÓN DE RIESGO EN FIEBRE AFTOSA

L.E. Díaz, E. Vitale, F. Etchegaray

Dirección de Sanidad Animal, Ministerio de Ganadería,
Agricultura y Pesca
Colonia 892, Montevideo, Uruguay

En ecosistemas libres de fiebre aftosa, la "gestión de riesgo" es una actividad prioritaria para mantener el estado logrado. Este logro debe estar sustentado por una sólida estructura de prevención que tenga la participación activa de todos los actores sociales. En ese marco, en el Uruguay se realizó un trabajo de microcaracterización para identificar áreas de riesgo de introducción de la fiebre aftosa, utilizando la estructura político-administrativa y el sistema de referencia nacional, para aportar a los servicios veterinarios un diagnóstico de situación para la prevención de la enfermedad. Se realizó una encuesta en cada seccional policial y se mapeó el país de acuerdo con el análisis de conglomerados, identificándose áreas de alto, medio y bajo riesgo. Esta metodología puede ser utilizada en zonas que se encuentren en estado avanzado de erradicación de la fiebre aftosa.

Uruguay fue reconocido libre de la fiebre aftosa con vacunación por la Oficina Internacional de Epizootias (OIE) en mayo de 1993. A partir del 16 de junio de 1994 se ingresó a la segunda etapa del programa de erradicación (8), lo que implicó la supresión de la vacunación antiastosa, la aplicación del "rifle sanitario" ante la aparición de un foco de la enfermedad, la inactivación y destrucción de los virus manejados por los laboratorios particulares y oficiales, la no introducción de animales vacunados al territorio nacional y la aplicación de normas especiales ante la eventual introducción del virus de la fiebre aftosa al país.

Esto genera un cambio en la estrategia del sistema de información y vigilancia epidemiológica orientándose hacia la prevención de la enfermedad (1). Este sistema debe manejar en forma oportuna y sistemática "indicadores de riesgo", como instrumentos para prevenir la introducción del agente y evitar contactos con huéspedes susceptibles (2).

La figura 1, elaborada en ocasión de la consultoría del Dr. J. Benavídez (OPS/OMS, 1993), muestra los componentes del sistema de prevención de introducción de fiebre aftosa luego de suprimida la vacunación. Estos componentes deben de estar debidamente coordinados para disminuir la probabilidad de un insuceso y, aun de provocarse el mismo, ser un sistema eficiente de emergencia que evite la difusión de la enfermedad y conduzca a su control y erradicación.

En ecosistemas libres del agente, la gestión del "riesgo" es importante para que permanezca como tal. La creación de una sólida estructura, en donde todos los actores sociales participen activamente, conociendo y manejando estos "indicadores de riesgo", disminuirá la probabilidad de introducción de la fiebre aftosa al territorio o región (4,5,6).

El riesgo se define como la probabilidad de que un suceso no deseado ocurra, en este caso fiebre aftosa, en un lugar y tiempo determinados. Para disminuir dicha probabilidad es necesario determinar las variables que implica dicho riesgo y cuantificarlas. Identificados y medidos los riesgos, se deben adoptar medidas sanitarias tendientes a llevar el mismo a cero (7).

Solicitar separatas al:
Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (OPS/OMS).

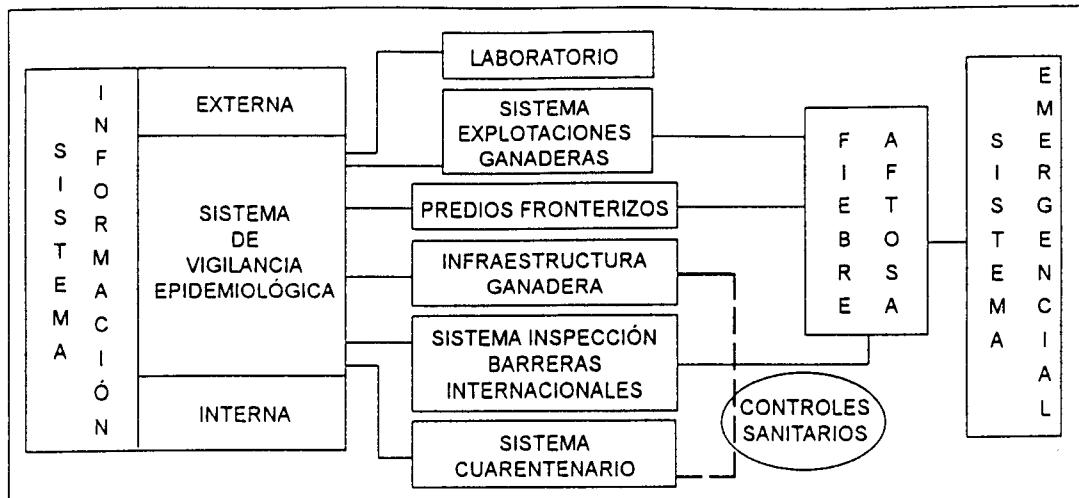


Figura 1. Organigrama del sistema de prevención de la fiebre aftosa

En este marco se realizó el trabajo de microcaracterización de riesgo con el propósito de identificar áreas de riesgo de introducción del agente, utilizando la actual organización político-administrativa del país y el sistema nacional geográfico de referencia, y aportar a los servicios veterinarios un diagnóstico de situación, descentralización y fortalecimiento de las unidades locales de los servicios oficiales de sanidad animal para la prevención de la fiebre aftosa (3).

Los objetivos son caracterizar los factores locales de riesgo de introducción para fiebre aftosa considerados en el modelo, cuantificar los niveles de riesgo de introducción de la enfermedad en las seccionales policiales, y desarrollar medidas de prevención para ser ejecutadas a nivel local, de acuerdo con los riesgos percibidos.

Por ser el primer trabajo de "microcaracterización de riesgo" que se realiza en el país, se seleccionaron las variables a ser evaluadas de acuerdo con el conocimiento de riesgo de cada una de ellas con respecto a la fiebre aftosa, para la situación actual. Fueron divididas en variables de introducción y variables de la enfermedad, como se muestra en el cuadro 1.

A cada una de las variables se atribuyó un valor de acuerdo con diferentes riesgos percibidos en la situación actual por técnicos especializados en fiebre aftosa, de tal forma que la suma de los puntajes máximos no fuera mayor que 1.

Se confeccionó un formulario (figura 2) para recabar la información en cada una de las secciones policiales de todos los departamentos del país (cuadro 2). Una vez recabados los datos se realizó un mapa de las distintas variables por cuadrante y subcuadrante, utilizando el mapa del sistema de referencia nacional.

El riesgo fue calificado en bajo, medio y alto, de acuerdo con el valor total para cada una de las seccionales policiales (figura 3), tomando en cuenta la distribución de los valores de la variable resultante (bajo 0-0,24, medio 0,25-0,39 y alto 0,40-1). Para un modelo aditivo se determinó el valor total de riesgo de introducción y se confeccionó un conglomerado.

La media de los resultados de riesgo fue de 0,4835 para el riesgo alto, 0,2902 para el riesgo medio y 0,0810 para el riesgo bajo, con intervalos de 0,0185, 0,0070 y 0,0051, respectivamente. Los tres grupos son significativamente diferentes entre sí por un análisis de varianza ($p < 0,05$). La microcaracterización del riesgo de introducción de la fiebre aftosa se observa en la figura 3.

Tanto el formulario de la figura 2 como los resultados obtenidos se validaron en reuniones mantenidas con los técnicos de campo de la Dirección Sanidad Animal encargados de cada zona.

El modelo utilizado se basa en la inexistencia de actividad viral en el campo en todo el

Cuadro 1. Microcaracterización de riesgo. Variables de introducción y difusión

Variables de introducción	Variables de difusión
Sección de policía de frontera	Remates-feria
Presencia de basurales	Presencia de establecimientos de faena
Presencia de aeropuertos, puertos y pasos de frontera	Presencia de usinas lácticas
Presencia de rutas internacionales	Presencia de campos de recria
Criaderos de cerdo	Porcentaje de las seccionales policiales con difícil acceso
Presencia de acopiadores de ganado	Sistema productivo predominante
Predios de extranjeros	

Cuadro 2. Número de seccionales policiales por departamento

Departamento	Nº de seccionales policiales
Artigas	12
Canelones	25
Cerro Largo	14
Colonia	17
Durazno	13
Flores	9
Florida	15
Lavalleja	12
Maldonado	11
Paysandú	11
Río Negro	12
Rivera	9
Rocha	9
Salto	5
San José	10
Soriano	12
Tacuarembó	14
Treinta y Tres	10
Total	230

país, comprobada y avalada por la ausencia clínica de la fiebre aftosa en un período de más de cuatro años y por los sucesivos muestrados serológicos negativos realizados sobre especies susceptibles.

La introducción de la enfermedad, en el modelo solo puede provenir del exterior, tanto en las fronteras terrestres como aéreas y fluviales. La forma de introducción del virus estaría dada por animales susceptibles infectados, material genético, productos y subproductos que

puedan vehiculizar el virus de la fiebre aftosa y medios mecánicos contaminados.

El modelo considera como introducción la entrada del agente que toma contacto con porcinos (especie multiplicadora) a través de residuos orgánicos que no han tenido un proceso que asegure la destrucción del virus. También se consideró la posibilidad de que la entrada del virus esté asociada a predios relacionados con establecimientos de países donde existe la fiebre aftosa, principalmente áreas de países limítrofes. Una última posibilidad fue la del contrabando de ganado, rumiantes y porcinos, considerando en la variable la presencia de acopiadores de ganado.

En la cuantificación se le dio un peso mayor al riesgo de introducción de la enfermedad a partir de la frontera con Brasil que con Argentina, por la situación epidemiológica actual en ambas regiones. El conocimiento de la situación regional se basa en el funcionamiento del sistema de información y vigilancia epidemiológica utilizado por los países integrantes del Convenio de la Cuenca del Río de la Plata (8).

Los conglomerados muestran la existencia en el país de áreas que presentan distinto peso en el riesgo de introducción de fiebre aftosa. Esto se debe a la potenciación de los factores de riesgo en cada una de las zonas por la coexistencia en ellas de las variables seleccionadas.

Los resultados coinciden con la introducción de la enfermedad en las epidemias en los años 1970-1971, 1976-1977, 1980 y 1987.

M.G.A.P.
DIRECCIÓN DE SANIDAD ANIMAL
FORMULARIO DE ENCUESTA

**MICROCARACTERIZACIÓN DE
RIESGO EN FIEBRE AFTOSA**

DEPARTAMENTO.....

<p>1. SECCIONAL POLICIAL DE FRONTERA ÁREA APROXIMADA EM KM²</p> <p><input type="checkbox"/> NÚMERO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/></p>	<p>2. REMATE FERIAS</p> <table border="0" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/> SI</td> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/> NO</td> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/> NÚMERO</td> <td style="width: 33%;"><input type="radio"/> REFERENCIA</td> <td style="width: 33%;"><input type="radio"/> CATEGORÍA Y REFERENCIA</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> </table>	<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> NÚMERO	<input type="radio"/> REFERENCIA	<input type="radio"/> CATEGORÍA Y REFERENCIA	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<p>3. MATADEROS Y/O FRIGORÍFICOS</p> <table border="0" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/> SI</td> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/> NO</td> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/> NÚMERO</td> <td style="width: 33%;"><input type="radio"/> REFERENCIA</td> <td style="width: 33%;"><input type="radio"/> CATEGORÍA Y REFERENCIA</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> </table>	<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> NÚMERO	<input type="radio"/> REFERENCIA	<input type="radio"/> CATEGORÍA Y REFERENCIA	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> NÚMERO	<input type="radio"/> REFERENCIA	<input type="radio"/> CATEGORÍA Y REFERENCIA																												
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																												
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																												
<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> NÚMERO	<input type="radio"/> REFERENCIA	<input type="radio"/> CATEGORÍA Y REFERENCIA																												
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																												
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																												
<p>4. BASURALES</p> <table border="0" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/> SI</td> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/> NO</td> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/> NÚMERO</td> <td style="width: 33%;"><input type="radio"/> REFERENCIA</td> <td style="width: 33%;"><input type="radio"/> CATEGORÍA Y REFERENCIA</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> </table>		<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> NÚMERO	<input type="radio"/> REFERENCIA	<input type="radio"/> CATEGORÍA Y REFERENCIA	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<p>9. PREDIOS DE EXTRANJEROS</p> <table border="0" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/> PROV. BUENOS AIRES</td> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/> RESTO ARGENTINA</td> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/> RIO GRANDE DO SUL</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/> NÚMERO</td> <td><input type="checkbox"/> NÚMERO</td> <td><input type="checkbox"/> NÚMERO</td> </tr> </table> <p>RESTO BRASIL OTROS PAÍSES</p> <table border="0" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/></td> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/></td> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/> NÚMERO</td> <td><input type="checkbox"/> NÚMERO</td> <td><input type="checkbox"/> NÚMERO</td> </tr> </table>	<input type="checkbox"/> PROV. BUENOS AIRES	<input type="checkbox"/> RESTO ARGENTINA	<input type="checkbox"/> RIO GRANDE DO SUL	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> NÚMERO	<input type="checkbox"/> NÚMERO	<input type="checkbox"/> NÚMERO	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> NÚMERO	<input type="checkbox"/> NÚMERO	<input type="checkbox"/> NÚMERO
<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> NÚMERO	<input type="radio"/> REFERENCIA	<input type="radio"/> CATEGORÍA Y REFERENCIA																												
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																												
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																												
<input type="checkbox"/> PROV. BUENOS AIRES	<input type="checkbox"/> RESTO ARGENTINA	<input type="checkbox"/> RIO GRANDE DO SUL																														
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																														
<input type="checkbox"/> NÚMERO	<input type="checkbox"/> NÚMERO	<input type="checkbox"/> NÚMERO																														
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																														
<input type="checkbox"/> NÚMERO	<input type="checkbox"/> NÚMERO	<input type="checkbox"/> NÚMERO																														
<p>5. PRESENCIA DE CRIADEROS DE CERDOS</p> <table border="0" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/> SI</td> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/> NO</td> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/> NÚMERO</td> <td style="width: 33%;"><input type="radio"/> REFERENCIA</td> <td style="width: 33%;"><input type="radio"/> CATEGORÍA Y REFERENCIA</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> </table>			<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> NÚMERO	<input type="radio"/> REFERENCIA	<input type="radio"/> CATEGORÍA Y REFERENCIA	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>										
<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> NÚMERO	<input type="radio"/> REFERENCIA	<input type="radio"/> CATEGORÍA Y REFERENCIA																												
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																												
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																												
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																												
<p>6. ACOPIADORES</p> <table border="0" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/> SI</td> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/> NO</td> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/> NÚMERO</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> </table>			<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> NÚMERO	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																								
<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> NÚMERO																														
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																														
<p>7. CAMPOS DE RECRÍA</p> <table border="0" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/> SI</td> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/> NO</td> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/> NÚMERO</td> <td style="width: 33%;"><input type="radio"/> REFERENCIA</td> <td style="width: 33%;"><input type="radio"/> PREFERENCIAS</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> </table>			<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> NÚMERO	<input type="radio"/> REFERENCIA	<input type="radio"/> PREFERENCIAS	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>															
<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> NÚMERO	<input type="radio"/> REFERENCIA	<input type="radio"/> PREFERENCIAS																												
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																												
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																												
<p>8. USINAS LÁCTEAS</p> <table border="0" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/> SI</td> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/> NO</td> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/> NÚMERO</td> <td style="width: 33%;"><input type="radio"/> REFERENCIA</td> <td style="width: 33%;"><input type="radio"/> PREFERENCIAS</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> </table>			<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> NÚMERO	<input type="radio"/> REFERENCIA	<input type="radio"/> PREFERENCIAS	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>															
<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> NÚMERO	<input type="radio"/> REFERENCIA	<input type="radio"/> PREFERENCIAS																												
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																												
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																												
<p>10. AEROPUERTOS</p> <table border="0" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/> SI</td> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/> NO</td> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/> SI</td> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/> NO</td> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/> SI</td> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/> NO</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> </table> <p>INTERNA- CIONALES</p>		<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<p>PUERTOS INTERNA- CIONALES</p> <table border="0" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/></td> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/></td> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/> SI</td> <td><input type="checkbox"/> NO</td> <td><input type="checkbox"/> SI</td> <td><input type="checkbox"/> NO</td> </tr> </table> <p>PASO FRONTERA</p>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO											
<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO																											
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																											
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																														
<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO																													
<p>11. AYUDANTES</p> <table border="0" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/></td> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/> NÚMERO</td> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/> NÚMERO</td> </tr> </table> <p>TÉCNICOS</p>			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> NÚMERO	<input type="checkbox"/> NÚMERO																											
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> NÚMERO	<input type="checkbox"/> NÚMERO																														
<p>12. % DE LA SECCIONAL POLIC. CON DIFÍCIL ACCESO</p> <table border="0" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/> 5%</td> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/> 10%</td> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/> > 25%</td> </tr> </table>			<input type="checkbox"/> 5%	<input type="checkbox"/> 10%	<input type="checkbox"/> > 25%																											
<input type="checkbox"/> 5%	<input type="checkbox"/> 10%	<input type="checkbox"/> > 25%																														
<p>13. RUTAS NACIONALES</p> <table border="0" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/></td> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/></td> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/> SI</td> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/> NO</td> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/> CANTIDAD</td> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/> DENOMINACIÓN DEL N° DE RUTAS</td> </tr> </table>			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> CANTIDAD	<input type="checkbox"/> DENOMINACIÓN DEL N° DE RUTAS																								
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> CANTIDAD	<input type="checkbox"/> DENOMINACIÓN DEL N° DE RUTAS																											
<p>OBSERVACIONES:</p> <hr/> <hr/> <hr/>																																
<p>NOMBRE Y FIRMA DEL TÉCNICO RESPONSABLE</p>																																
<p>FECHA <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/></p>																																

Figura 2. Formulario de encuesta

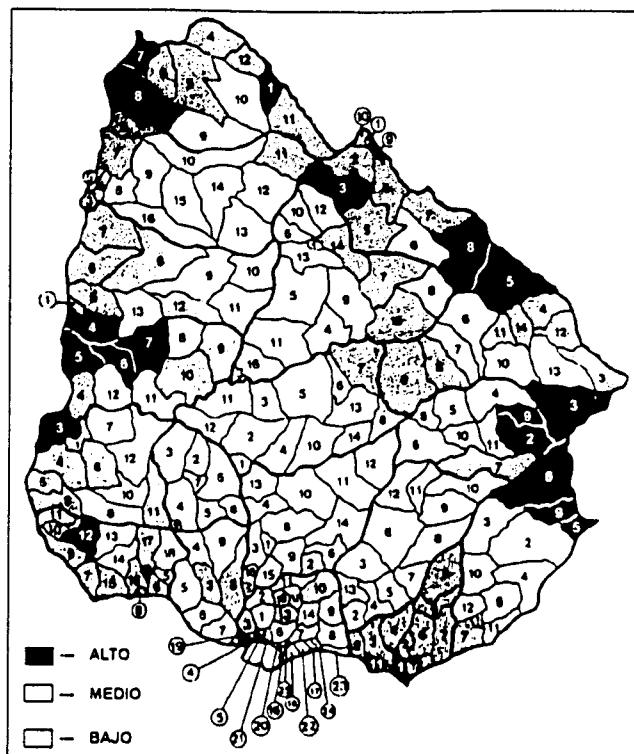


Figura 3. Microcaracterización del riesgo de introducción de la fiebre aftosa en Uruguay y división de las seccionales policiales, 1994

Se recomienda mantener actualizado el conocimiento de las variables manejadas y otras que se puedan identificar, incluyéndolas en el modelo.

REFERENCIAS

1. DÍAS, L., MUZIO, F. El programa de la fiebre aftosa en el Uruguay. *Veterinaria*, 27 (113): 15-24, 1991.
2. DÍAS, L., MUZIO, F., TAPIÉ, H. Conceptos de zonas libres de enfermedades con referencia a fiebre aftosa en el continente americano. *Rev. Asoc. Rural*, 118 (11): 22-25, 1990.
3. DÍAS, L.E., VITALE, E., ETCHEGARAY, F. Microcaracterización de Fiebre Aftosa en Uruguay. *Veterinaria*, 29 (124):20-24, 1994.
4. McDIARMID, S.C. The importation into New Zealand of meat and meat products. A review of the risk to animal health. National adviser (Animal Health) MAF Policy, New Zealand, pp 22-29, 1991.
5. MGAP, Dirección General de los Servicios Veterinarios. Informe Nacional presentado a la Oficina Internacional de Epizootias para el reconocimiento de país libre con vacunación. Mayo de 1993.
6. MGAP, Dirección General de los Servicios Veterinarios. Informe Nacional presentado a la Oficina Internacional de Epizootias para el reconocimiento de país libre con vacunación. Mayo de 1994.
7. OIE. Código Zoosanitario Internacional de Epizootias, Francia. Pág. 33, 1993.
8. PROYECTO CUENCA DEL PLATA, II etapa, Acta XV, Reunión Ordinaria del Comité, Paraguay, Asunción, 19 de marzo de 1994.

ABSTRACT

Microcharacterization of foot-and-mouth disease risk

In ecosystems free of foot-and-mouth disease the "risk action" is a priority activity in order to maintain the attained status. This should be sustained by a solid structure of prevention with the active participation of all social groups. To this effect, Uruguay undertook a micro-

characterization work to identify risk areas for foot-and-mouth disease introduction with the participation of the administrative political structure and the national reference system, in order to give the veterinary services a situation diagnosis for the prevention of the disease. A survey was undertaken in each police sector and the country was outlined according with the conglomerated analysis, identifying high, medium and low risk areas. This methodology may be used in places which are almost free of foot-and-mouth disease.

RESUMO

Microcaracterização de risco em febre aftosa

Nos ecossistemas livres de febre aftosa, a "gestão de risco" é uma atividade prioritária na manutenção do estado obtido. Este logro deve estar sustentado por uma sólida estrutura de prevenção com a participação ativa de todos os atores sociais. Nesse contexto, no Uruguai realizou-se

um trabalho de microcaracterização para identificar áreas de risco de introdução da febre aftosa, utilizando a estrutura político-administrativa e o sistema de referência nacional, para prover aos serviços veterinários um diagnóstico de situação da enfermidade. Realizou-se um levantamento em cada seção policial e mapeou-se o país de acordo com a análise de conglomerados, identificando-se áreas de alto, médio e baixo risco. Esta metodologia pode ser utilizada em zonas que estejam em avançado estágio de erradicação da febre aftosa.

Short Report

FOOT-AND-MOUTH DISEASE IN THE EUROPEAN UNION

R.P. Kitching

*Institute for Animal Health - Pirbright Laboratory
Ash Road, Pirbright, Surrey GU24 0NF, United Kingdom*

Since the cessation of routine prophylactic vaccination against foot-and-mouth disease (FMD) in Europe, there have been two episodes of FMD in the European Union (EU), in Italy and Greece. Both were the consequence of illegal importation (animals entered Italy with false certificates) of live animals, and both were due to strains of type O virus which had previously been identified circulating in the Middle East. The artificially large differences in the price of farm livestock between the EU and surrounding countries has encouraged the trade in live animals. Existing EU legislation aims at preventing the importation of FMD infected animals, but it is the animals being moved illegally that pose the greatest threat to the health status of the EU livestock.

Routine vaccination against foot-and-mouth disease (FMD) has now stopped in all European countries including the former communist countries, except for certain areas in Russia such as around Moscow because of the international airport, Vladimir where Russian FMD vaccine is made, and Russia's southern borders with the republics of the Former Soviet Union. Consequently Europe contains a population of highly productive cattle, sheep, goats and pigs fully susceptible to FMD. However, FMD is present in many of the countries to the south and east of Europe.

The agricultural industry in the European Union (EU) has been a victim of its own success. The large and rich market within the EU, subsidies

and guaranteed prices has supported the development of a highly productive but generally high cost industry which for many items, such as wheat, dairy products and meat has resulted in over production and accusations of dumping on the world market. This has lead to a policy of paying farmers in many sectors of production to reduce their output. Superimposed on this situation has been the opening of trade with the countries of Eastern Europe which are members of the European Free Trade Association (EFTA), and the previously existing trade agreements with countries in South America and Southern Africa. In the future, the newly negotiated GATT will create further pressure for the EU to relax restrictions on imports of livestock products.

Within the EU there is free movement of industrial and agricultural merchandise, including live animals. A computer network links EU border posts and member countries which monitors the movement of animals and animal products

Reprint requests to:
Pan American Foot-and-Mouth Disease Center (PAHO/WHO)

as they enter the EU (SHIFT) and their movement between member countries (ANIMO). This relies on proper certification and identification of all live animals being moved. However, it cannot accommodate illegal movements, false certification and counterfeit identification. In February 1993 there was an outbreak of FMD in Potenza province of Southern Italy, and in July 1994 there was an outbreak of FMD in the prefecture of Xanthi in Greece (although the first outbreak in Greece was possibly as early as April). Both introductions of disease were the result of illegal importation of live animals.

ITALY 1993

An outbreak of type O FMD was identified in Southern Italy at the end of February 1993. Cattle had been imported across the border at Trieste with certification indicating their origin as Croatia (part of former Yugoslavia). These cattle were taken to a slaughter house near Potenza where prior to slaughter they were mixed with four young cattle; these were then sold to a nearby farmer on whose premises the first outbreak was reported, affecting these four cattle. The disease was first suspected by a private practitioner carrying out artificial insemination; having reported his suspicion to the veterinary authorities, he continued his visits to other farms, some of which subsequently became infected. Some further local spread of disease was reported, but two unrecorded movements of cattle from the premises of the original importer resulted in outbreaks 120 km north of Potenza, in Avellino (figure 1).

A secondary focus of FMD was found on 11 March on the premises of an importer in Policoro, on the South East coast of Italy. 175 Croatian cattle had been imported via Greece and had entered Italy through the port of Bari. They had then been distributed to 11 different locations, six of which reported disease. One of these was in the north of Italy, in Verona. It is not clear whether this represented a new introduction of disease, as a contact



Figure 1. Italy 1993. Areas in which foot-and-mouth disease was identified

was suspected but not proven between this importer and the dealer in Potenza. No FMD was reported from Greece or Croatia during 1993.

The outbreaks of FMD in Italy affected mainly cattle and sheep, although one herd of buffalo was also affected in the Campania region to the north of Naples. Control was complicated by difficulties in tracing animal movements, the mild clinical signs in the affected sheep, and the prevalence in Italy of swine vesicular disease, which is clinically indistinguishable from FMD, and which accounted for one of the reported FMD outbreaks. In all 57 outbreaks were reported, but subsequent serological investigations indicated that disease had been more widespread than realized. There was also evidence for the illegal use of FMD vaccine, imported by the owners of the buffalo herds around Naples, in an attempt to protect their buffalo from slaughter should they have become infected. The EU has a policy of FMD control based on slaughter of affected and in-contact susceptible animals, and strict cleansing and movement controls. It is prohibited for individuals to use FMD vaccine in their animals without Government permission, as this

could interfere with the clinical recognition of FMD, with subsequent serological investigations and future trading arrangements.

The certificates that accompanied the cattle imported through Trieste were shown to be false, and the true origin of all the cattle is still not known. The majority of them originated in Czechoslovakia, but it is thought that these were then joined by an additional group, before entering Italy. The virus causing the outbreaks was characterised in the OIE/FAO World and Community Reference Laboratory for FMD, Pirbright (WRL). By comparing the nucleotide sequence of the ID gene of the outbreak strain with that of other strains within the WRL library of field isolates, it was possible to show that the strain had previously been circulating in the Middle East, first appearing in the Sultanate of Oman in 1991 (figure 2). Only one strain was identified in the Italian outbreaks, suggesting that there had been only one introduction of disease. Although vaccination was not used to help control the outbreak, except unofficially, the option to vaccinate was considered, and O Manisa was identified as a suitable vaccine strain.

GREECE 1994

At the end of July 1994, samples sent to the WRL from Greece for diagnosis of suspect FMD were shown to contain FMD virus type O. FMD had been suspected for over a month, and although samples processed in the laboratory in Athens had been negative, epizootiological investigations had been started a week before the confirmation of disease from Pirbright. The disease was first suspected in sheep on the Island of Lesbos in May. However, because of the failure of the laboratory to confirm FMD, no action was taken, and in June sheep were sent by boat to the mainland of Greece, in particular to the prefecture of Xanthi, but also to a number of other sites in Greece. The positive samples had been submitted from Xanthi, but the presence of FMD on Lesbos was soon after also confirmed.

Within the EU, sheep farmers are given subsidies according to the number of sheep they have on their premises on a specific date during the

year. This is an important source of income to farmers in many parts of the EU, where farming would otherwise be uneconomic. Greece possesses a large number of islands within the Aegean Sea on which sheep are kept; some of these are geographically very close to Turkey. It is considered likely that sheep were imported illegally from Turkey onto the Island of Lesbos prior to the subsidy assessments at the end of May, and that these sheep were infected with FMD virus. Sheep were then traded in June and July from Lesbos, and introduced FMD into Xanthi. The mild clinical signs of FMD in adult sheep, and the delay in laboratory diagnosis allowed the disease to become well established before effective control measures were introduced. However, even then, because of the decentralised veterinary infrastructure in Greece, it was difficult to establish a consistent policy in all the affected areas.

By the end of October, 91 infected premises had been identified in the prefectures of Lesbos, Xanthi, Rodopi, Chalkidiki, Evros and Serres (figure 3), involving almost entirely cattle, sheep and goats; pigs are not common in the region of these prefectures, and on only two farms were pigs present. Spread of disease was due to the movement of infected animals or direct contact between animals on neighbouring premises.

The virus causing the outbreak was characterised in the WRL, and shown to be indistinguishable from a strain circulating in Turkey and other Middle Eastern countries (figure 3). This was consistent with the supposition that it had been introduced with illegally imported sheep. Although vaccination was not used to control the outbreak, the WRL recommended the use of the O Manisa vaccine strain should vaccination have been required.

Because animal movement records were not always kept, and because of the interval of time between introduction of FMD and the start of the control programme, the Commission of the EU recommended an extensive serological survey within Greece, concentrating on the affected prefectures on the mainland. At the time of writing (December, 1994) almost 20,000 sera have been tested by the WRL and the ID-DLO, Lelystad in the Netherlands, in an effort to define the extent of the outbreak.

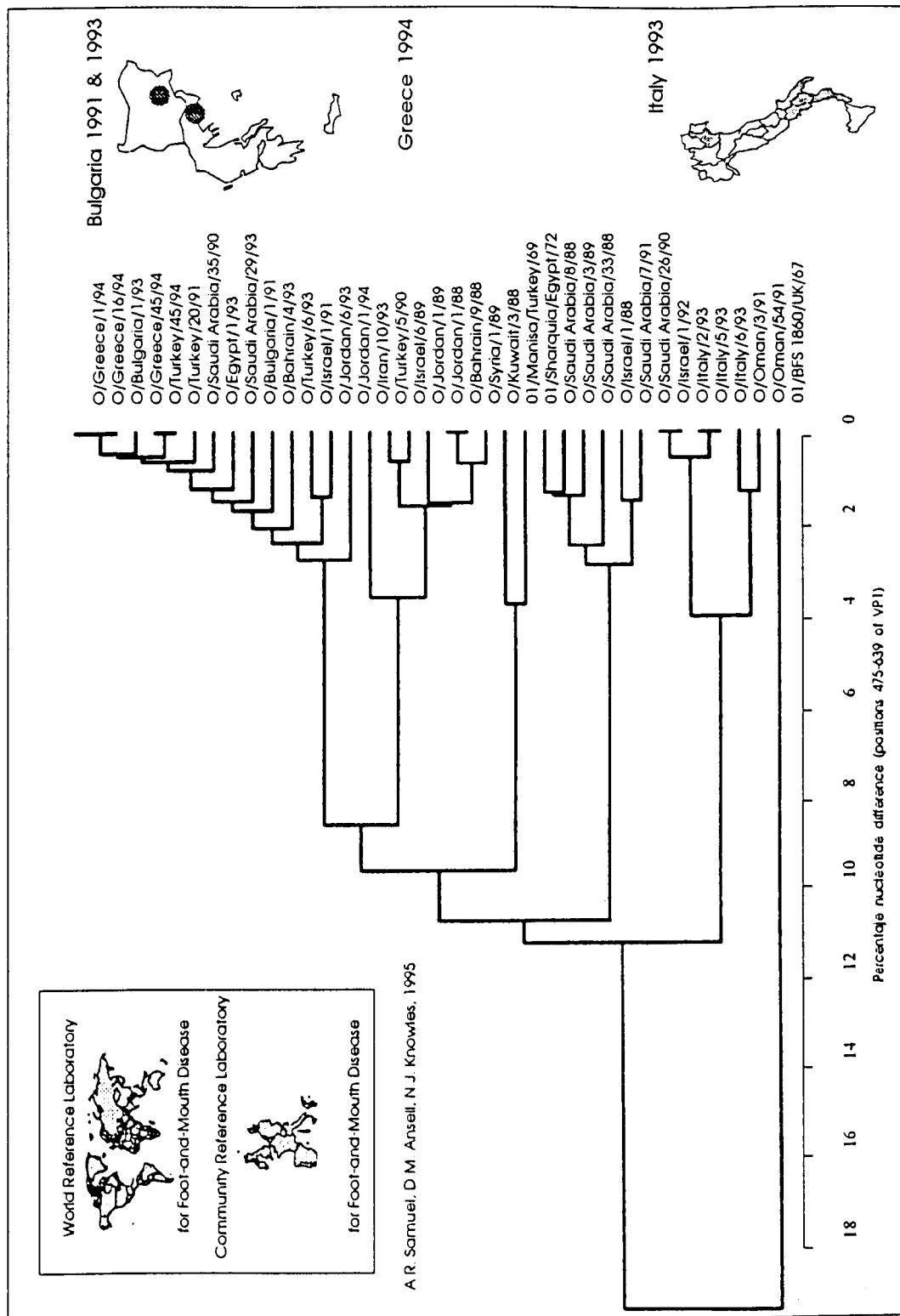


Figure 2. Dendrogram showing percentage nucleotide relationship between isolates of serotype O FMD virus received from Italy and Greece with reference strains and strains circulating in the Middle East (Knowles, Ansell and Samuel, 1995)



Figure 3. Greece 1994. Prefectures affected with foot-and-mouth disease

DISCUSSION

The occurrence of two extensive outbreaks of FMD within the EU in the last two years has highlighted the vulnerability of the EU to FMD. It is possible that these introductions were not exceptional, but that when the livestock was vaccinated, disease did not become established. In addition, the policy of free movement within the EU makes the possibility of even more damaging outbreaks involving the large pig populations of Northern Europe now more likely. These two outbreaks fortunately were controlled, in spite of early organizational difficulties. However, they have served to help formulate future EU policy and identify certain deficiencies. In addition, they have kept FMD in high profile which will ensure that the

veterinary services will remain alert for future outbreaks. The WRL has also been encouraged to concentrate on the application and quality control of the existing and newer diagnostic tests, such as the polymerase chain reaction using nested primers.

The episodes have again confirmed that the movement of infected animals is the most common means by which FMD spreads. The large differential between the price of animals within and outside the EU predisposes to this movement. Although there are adequate regulations which would prevent the legal movement of infected animals, it is the illegal importation of animals or their movement with false veterinary certification which pose the major threats.

RESUMEN

Fiebre aftosa en la Unión Europea

Desde el término de la vacunación profiláctica de rutina contra la fiebre aftosa en Europa han ocurrido dos episodios de la enfermedad en la Unión Europea (UE), en Italia y en Grecia. Ambos fueron consecuencia de la importación ilegal (animales entraron en Italia con certificados

falsos) de animales vivos, y la cepa de virus tipo O diagnosticada había sido identificada previamente en Oriente Medio. Las grandes diferencias de precio del ganado entre la UE y los países vecinos ha estimulado el comercio de animales vivos. La legislación existente en la UE propone la prevención de la importación de animales infectados por fiebre aftosa, pero son los animales transportados ilegalmente los que representan la mayor amenaza al estado sanitario de los rebaños de la UE.

RESUMO

Febre aftosa na União Européia

Desde o fim da vacinação profiláctica de rotina contra a febre aftosa na Europa ocorreram dois episódios da doença na União Européia (UE), na Itália e na Grécia. Ambos foram consequência da importação ilegal (animais entraram na Itália

com certificados falsos) de animais vivos, e a cepa do vírus O identificada foi a diagnosticada previamente no Oriente Médio. As grandes diferenças de preço do gado entre a UE e os países vizinhos estimularam o comércio de animais vivos. A legislação existente na UE está dirigida a prevenir a importação de animais infectados por febre aftosa, mas são os animais transportados ilegalmente os que causam a maior ameaça ao estado sanitário dos rebanhos da UE.

Resúmenes Abstracts

BENITO, A., MATEU, M.G., VILLAVERDE, A.

Biotechnology, 13: 801-804, 1995. Institut de Biologia Fonamental, Departament de Genètica i Microbiologia, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, 08193 Barcelona, España.

Mejorada emulación de un lugar antigénico del virus de la fiebre aftosa por la exposición de un péptido viral sobre la superficie de β galactosidasa

El lugar antigénico principal (sitio A) del virus de la fiebre aftosa (VFA) incluye múltiples epítopes superpuestos ubicados en el ojal flexible G-H de la proteína capsídica VP1. Se estudió la antigenicidad de varias β galactosidasas recombinantes de *E. coli* mostrando el sitio A de un serotípico del virus C en la superficie de diferentes regiones de la enzima bacterial. En cada uno de los sitios de las inserciones, el péptido recombinante muestra diferente especificidad con un conjunto de anticuerpos monoclonales antivirales dirigidos al sitio A. En algunos de ellos, el trecho introducido emula mejor la antigenicidad del sitio A en el virus intacto que el péptido libre o conjugado con hemocianina. Especialmente, una inserción en una vuelta expuesta involucrada en la superficie activante de la β galactosidasa (aminoácidos 272 a 287) indujo a una mejora significativa en el conjunto de la reactividad. Puesto que, las inserciones en este sitio dan proteínas enzimáticamente activas, la superficie activante podría ser un lugar adecuado para la presentación de antígenos foráneos en tetrameros correctamente ensamblados de β galactosidasa. Estos resultados también sugieren que anticuerpos antivirales dirigidos contra el lugar antigénico principal del VFA reconocen diferentes conformaciones del ojal G-H que son mejor reproducidas en algunas de las proteínas recombinantes debido a las restricciones diferentes impuestas por cada lugar de inserción particular.

Improved mimicry of a foot-and-mouth disease virus antigenic site by a viral peptide displayed on β -galactosidase surface

A major antigenic site (site A) of foot-and-mouth disease virus includes multiple overlapping epitopes located within the flexible G-H loop of capsid protein VP1. We have studied the antigenicity of several recombinant *E. coli* β -galactosidases displaying the site A from a serotype C virus in different surface regions of the bacterial enzyme. In each one of the explored insertion sites, the recombinant peptide shows different specificity with a set of anti-virus monoclonal antibodies directed to site A. In some of them, the inserted stretch mimics better than free or haemocyanin-coupled peptide the antigenicity of site A in the intact virus. In particular, an insertion within an exposed loop involved in the activating interface of β -galactosidase (amino acids 272 to 287) led to a significant improvement of the overall reactivity. Since insertions at this site renders proteins enzymatically active, the activating interface could be an adequate place for the presentation of foreign antigens in correctly assembled β -galactosidase tetramers. These results also suggest that anti-virus antibodies directed against the major antigenic site of FMDV recognize different conformations of the G-H loop, which are better reproduced in some of the recombinant proteins because of the dissimilar restrictions imposed by each particular insertion site.

BERINSTEIN, A., ROIVAINEN, M., HOVI, T., MASON, P.W., BAXT, B.

Virol., 69 (4): 2664-2666, 1995. Foot-and-Mouth Disease Virus Research Unit, USDA, ARS, Plum Island Animal Disease Center, P.O. Box 848, Greenport, NY 11944-0848, USA.

Anticuerpos al receptor vitronectina (integrina $\alpha_v\beta_3$) inhiben el acoplamiento e infección del virus de la fiebre aftosa en cultivos celulares

La secuencia del aminoácido Arg-Gly-Asp (RGD) es altamente conservada en las proteínas VP1 de diferentes serotipos y subtipos del virus de la fiebre aftosa (VFA) y es esencial para su acoplamiento a la célula. Esta secuencia también se encuentra en algunas matrices extracelulares de proteínas que se acoplan a la superficie receptora de una familia de células denominadas integrinas. De la familia de *Picornaviridae*, el enterovirus humano coxsackievirus A9 también tiene el modelo RGD en la proteína capsídica VP1 y recientemente se ha demostrado que utiliza el receptor vitronectina integrina $\alpha_v\beta_3$, como un receptor de células de riñón de mono. En experimentos de competencia, usando células BHK-21 y LLC-MK2 de acoplamiento entre el tipo A₁₂ del VFA y el virus coxsackie A9 se mostró la especificidad receptora compartida entre estos dos virus. Anticuerpos polyclonales al receptor vitronectina y anticuerpos monoclonales a la subunidad α_v inhibieron el acoplamiento del VFA y la formación de placas, mientras que un anticuerpo monoclonal a la subunidad β_3 solo inhibió el acoplamiento del virus. Por otro lado, anticuerpos al receptor fibronectina ($\alpha_v\beta_1$) o a la integrina ($\alpha_v\beta_5$) no tienen efecto sobre el acoplamiento o la formación de placas. Estos datos demuestran que el receptor vitronectina $\alpha_v\beta_3$ puede funcionar como un receptor del VFA.

Antibodies to the vitronectin receptor (integrin $\alpha_v\beta_3$) inhibit binding and infection of foot-and-mouth disease virus to cultured cells

The amino acid sequence Arg-Gly-Asp (RGD) is highly conserved on the VP1 proteins of different serotypes and subtypes of foot-and-mouth disease virus (FMDV) and is essential for cell attachment. This sequence is also found in certain extracellular matrix proteins that bind to a family of cell surface receptors called integrins. Within the *Picornaviridae* family, human enterovirus coxsackievirus A9 also has an RGD motif on its VP1 capsid protein and has recently been shown to utilize the vitronectin receptor integrin $\alpha_v\beta_3$ as a receptor on monkey kidney cells. Competition binding experiments between type A₁₂ FMDV and coxsackievirus A9 using BHK-21 and LLC-MK2 cells revealed shared receptor specificity between these two viruses. Polyclonal antiserum to the vitronectin receptor and a monoclonal antibody to the α_v subunit inhibited both FMDV binding and plaque formation, while a monoclonal antibody to the β_3 subunit inhibited virus binding. In contrast, antibodies to the fibronectin receptor ($\alpha_v\beta_1$) or to the integrin ($\alpha_v\beta_5$) had no effect on either binding or plaque formation. These data demonstrate that the $\alpha_v\beta_3$ vitronectin receptor can function as a receptor for FMDV.

BROWN, F.

Virology, 6: 243-248, 1995. Plum Island Animal Disease Center, P.O. Box 848, Greenport, NY 11944, USA.

Reconocimiento de anticuerpo y neutralización del virus de la fiebre aftosa

El virus de la fiebre aftosa se presenta como siete serotipos distintos que no muestran ninguna neutralización cruzada. También existe una variación antigenica considerable en cada serotipo. Esta variación es sorprendente, debido a que en

Antibody recognition and neutralization of foot-and-mouth disease virus

Foot-and-mouth disease virus occurs as seven distinct serotypes which do not display any cross neutralization. There is also considerable antigenic variation within each serotype. This variation is surprising because, in all of the many

todos de los muchos aislamientos del virus que han sido secuenciados, el trío Arg Gli Asp, que es importante en el acoplamiento a la célula, se encuentra en los residuos 145, 146 y 147 en un ojal prominente de la superficie de la VP1, una de las cuatro proteínas de la cápside. Sin embargo, este trío está rodeado por aminoácidos que varían considerablemente entre los aislamientos. Además, solo una sustitución de aminoácido en la vecindad inmediata del trío Arg Gli Asp, en las posiciones 148 ó 153, es suficiente para producir especificidad. Esta variación tiene considerables implicaciones en la interacción virus-anticuerpo para el control de la enfermedad por vacunación.

isolates of the virus that have been sequenced, the triplet Arg Gly Asp, which is important in cell attachment, is present as residues 145, 146, 147 on a prominent surface loop of VP1, one of the four capsid proteins. However, this triplet is surrounded by amino acids which vary considerably between isolates. Moreover, a single amino acid substitution in the immediate vicinity of the Arg Gly Asp triplet, at positions 148 or 153, is sufficient to confer specificity. This variation has considerable implications for virus-antibody interaction for the control of the disease by vaccination.

BROWN, C.C., OLANDER, H.J., MEYER, R.F.

Comp. Path., 113: 51-58, 1995. Foreign Animal Disease Diagnostic Laboratory, NVSL-VS-APHIS-USDA, P.O. Box 848, Greenport, NY 11944, USA.

Patogenesia de la fiebre aftosa en porcinos, estudiada por hibridización in situ

Ocho cerdos de 7 meses de edad fueron inoculados por vía intradérmica con 10^3 unidades formadoras de placas del virus de la fiebre aftosa tipo O, y sacrificados a las 24, 48, 72 ó 96 h después. Se recolectaron varios tejidos de cada animal y se hicieron exámenes histopatológicos y de hibridización in situ para determinar la presencia de virus y su correlación con el desarrollo de lesiones. La sonda para hibridización in situ fue un producto de transcripción biotinilado de 500 bases de cadena negativa, correspondiendo a una parte del gen que codifica la polimerasa. Con esta técnica, el virus mostró estar ampliamente diseminado en todos los tejidos epidérmicos, independiente de que si la ruptura celular fuese aparente histológicamente.

Pathogenesis of foot-and-mouth disease in swine, studied by in-situ hybridization

Eight 7-month-old pigs were inoculated intradermally with 10^3 plaque-forming units of foot-and-mouth disease virus, type O, and killed 24, 48, 72, or 96 h later. Numerous tissues from each animal were collected and examined histopathologically and by in-situ hybridization to determine the presence of virus and its correlation with lesion development. The probe for in-situ hybridization was a biotinylated 500-base negative-sense transcription product corresponding to a portion of the gene encoding polymerase. With this technique, virus was shown to be widely disseminated in all epidermal tissues, regardless of histologically apparent cellular disruption.

CAO, X., BERGMANN, I.E., FÜLLKRUG, R., BECK, E.

J. Virol., 69 (1): 560-563, 1995. Department of Microbiology, Health Sciences Center, State University at Stony Brook, Stony Brook, NY 11794-8621, USA.

Análisis de las funciones de dos sitios alternativos de inicio de traducción del virus de la fiebre aftosa

Se analizó el efecto de la anulación de cada uno de los dos sitios auténticos de inicio de traducción de la poliproteína del virus de la fiebre aftosa sobre la síntesis de la proteína viral y la

Functional analysis of the two alternative translation initiation sites of foot-and-mouth disease virus

The effect of deletion of each of the two authentic polyprotein initiation sites of foot-and-mouth disease virus on viral protein synthesis and replication was analyzed. Deletion of either the

replicación. La supresión del primer o del segundo sitio de inicio condujo a la expresión de solo una forma de la proteína líder, L o L' respectivamente, pero el procesamiento in vitro de la poliproteína viral y elF-4 μ partido no fueron afectados por cualquiera de las dos anulaciones. Mientras que el ARN en el cual el sitio del inicio de la primera traducción había sido anulado condujo a la producción de virus en células BHK infectadas, la supresión del sitio del inicio de la segunda traducción abolió la replicación viral.

first or the second initiation site led to the expression of only one form of the leader protein, L or L', respectively, but in vitro processing of the viral polyprotein and cleavage of elF-4 μ were not affected by either deletion. Whereas RNA in which the first translation initiation site had been deleted led to the production of viruses in transfected BHK cells, deletion of the second translation initiation site abolished virus replication.

CROWTHER, J.R., RECKSIEGEL, P.O., PRADO, J.A.

Vaccine, 13 (12): 1064-1075, 1995. BBSRC Institute for Animal Health, Pirbright Laboratory, Pirbright, Near Woking, Surrey GU24 0NF, UK.

Cuantificación de partículas de virus enteras (146S) del virus de la fiebre aftosa en presencia de subunidades de virus (12S), usando anticuerpos monoclonales en una prueba ELISA tipo "sandwich"

Se describe un método para la cuantificación específica de viriones enteros del virus de la fiebre aftosa (146S) en presencia de subunidades de virus (12S). El método involucra el uso de anticuerpos monoclonales de virus neutralizante dirigidos contra un epitope linear del ojal de la región VP1 de un virus de tipo O. Se usaron anticuerpos monoclonales como reactivos para captura y detección (marcados con peroxidasa de rábano picante) en una prueba ELISA tipo "sandwich". Esos anticuerpos monoclonales también tienen la ventaja de que no detectan VP1 viral proteolíticamente partido, siendo el ensayo ideal para estimar partículas enteras en la preparación de la vacuna donde su inmunogenicidad depende de la integridad del virus (encontrándose en viriones enteros) y de la proteína VP1 de la cápside sin partir. También se examinaron otras combinaciones de anticuerpos monoclonales contra el tipo O del virus de la fiebre aftosa como reactivos de captura y de detección. El método puede ser adaptado para pruebas continuas durante la producción de virus [para vacunas], permitiendo la maximización de la cosecha viral y control de calidad.

Quantification of whole virus particles (146S) of foot-and-mouth disease virus in the presence of virus subunits (12S), using monoclonal antibodies in a sandwich ELISA

This paper describes a method for the specific quantification of whole virions of foot-and-mouth disease (146S) in the presence of virus subunits (12S). The method involves the use of virus neutralising monoclonal antibodies directed against a linear epitope of the VP1 loop region of a type O virus. The monoclonal antibodies were used as both capture and detecting reagents (labelled with horse radish peroxidase) in a sandwich ELISA. Such monoclonal antibodies also have the advantage that they do not detect viruses containing proteolytically cleaved VP1, thus the assay system is ideal for estimation of whole particles in vaccine manufacture where the immunogenicity of the vaccine depends on virus integrity (whole virions being present) and uncleaved capsid protein VP1. Other combinations of different anti-type O FMD virus monoclonal antibodies used as capture and detecting reagents were also examined. The system could be adapted to on-line continuous testing of virus being produced during a manufacturing run allowing maximisation of virus yield and quality control.

DAVID, D., STRAM, Y., YADIN, H., TRAININ, Z., BECKER, Y.

Virus Genes, 10 (1): 5-13, 1995. Department of Molecular Virology, Faculty of Medicine, The Hebrew University of Jerusalem, Jerusalem, Israel.

Producción in vitro del virus de la fiebre aftosa en células Langerhans de piel bovina detectadas por RT-PCR

La replicación del virus de la fiebre aftosa (VFA) fue estudiada en células Langerhans (LC) aisladas de piel bovina, en queratinocitos obtenidos de suspensiones de células de epidermis y en LC migratorias obtenidas de camadas cultivadas in vitro de epidermis bovina. La producción de ARN viral en células infectadas fue determinada por transcriptasa reversa-reacción en cadena de polimerasa (RT-PCR) de la cadena negativa del ARN del VFA y por el ensayo de formación de placas. Se estableció que en LC de piel bovina, los queratinocitos y la LC migratoria bovina infectada con la cepa del VFA O1 Gesher sostuvo la replicación del virus. El método RT-PCR para detectar la cadena negativa del ARN del VFA en la LC migratoria de piel bovina puede ser útil para determinar la producción de VFA en células de tejidos.

Foot and mouth disease virus replication in bovine skin Langerhans cells under in vitro conditions detected by RT-PCR

The replication of foot and mouth disease virus (FMDV) was studied in isolated bovine skin Langerhans cells (LC), in keratinocytes from epidermal cell suspension, and in migrating LC obtained from cultured bovine epidermal sheets in vitro. Viral RNA replication in infected cells was determined by the reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) of the negative FMDV RNA strand and by the plaque forming assay of FMDV. It was established that bovine skin LC, keratinocytes, and migratory bovine LC infected with FMDV strain O1 Gesher supported virus replication. This RT-PCR method to detect the negative strand of FMDV RNA in migratory bovine skin LC may be useful for determining FMD virus replication in tissue cells.

FERRIS, N.P., OXTOBY, J.M., HUGHES, J.F.

Rev. sci. tech. Off. int. Epiz., 14 (3): 557-565, 1995. Biotechnology and Biological Sciences Research Council, Institute for Animal Health, Pirbright Laboratory, Ash Road, Pirbright, Woking, Surrey GU24 0NF, UK.

Especímenes de diagnóstico multi-infectados procedentes de regiones endémicas de la fiebre aftosa

Los actuales procedimientos de diagnóstico aplicados de forma rutinaria en la detección del antígeno del virus de la fiebre aftosa (VFA) combinan la utilización de un ensayo inmunoenzimático (ELISA) tipo "sandwich" indirecto con el aislamiento viral y amplificación por cultivo celular. El Laboratorio Mundial de Referencia para la Fiebre Aftosa ha recibido recientemente varias muestras de campo cuyo diagnóstico indicaba en un principio que contenían un solo tipo de virus, pero en la actualidad se ha detectado la presencia de un tipo adicional de virus. Se dan ejemplos de los resultados de las pruebas por ELISA practicadas sobre ciertas muestras de Arabia Saudita. Estos ejemplos ilustran el problema que tales muestras multi-infectadas plantean para el laboratorio de diagnóstico.

Multiple-infected diagnostic specimens from foot and mouth disease endemic regions

The current routine diagnostic procedures for foot and mouth disease (FMD) virus antigen detection combine the use of an indirect sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) with virus isolation and amplification on cell culture. Several field samples recently received by the World Reference Laboratory for Foot and Mouth Disease which were initially diagnosed as containing a single virus type have subsequently been found to contain an additional virus type. Examples are given of the results of ELISAs performed on certain Saudi Arabian samples; these examples illustrate the problem which such multiple-infected samples present for laboratory diagnosis.

GREGG, D.A., MEBUS, C.A., SCHLAFFER, D.H.

J. Vet. Diagn. Invest., 7: 31-43, 1995. Foreign Animal Disease Diagnostic Laboratory, National Veterinary Services Laboratories, APHIS, USDA, Greenport, NY 11944, USA.

Interferencia de la peste porcina africana con la infección por fiebre aftosa y seroconversión en cerdos

La infección oral inicial de cerdos con virus de la peste porcina africana (VPPA) altamente virulento (L-60) o moderadamente virulento (DR-2), seguida tres días después por la exposición al virus de la fiebre aftosa (VFA) (inoculación en la lengua y por contacto), no ocasionó infección por VFA o seroconversión en 18 de 22 y 13 de 34 cerdos infectados con L-60 y DR-2, respectivamente. De los 13 cerdos infectados con DR-2 que permanecieron clínicamente sanos de fiebre aftosa (FA), dos sobrevivieron hasta los 24 días sin anticuerpos, a pesar del contacto constante con cerdos clínicamente infectados por FA. Otros tres cerdos infectados con DR-2 nunca mostraron lesiones pero sí desarrollaron bajos niveles de anticuerpos al VFA para el 17º día. Un grupo de cerdos más grandes (en los cuales el DR-2 es menos virulento) infectados con DR-2 y luego VFA tuvieron una rápida pero reprimida respuesta inmunitaria al VFA. Cerdos de contacto introducidos a los tres días posinoculación e inoculados solo con el VFA, adquirieron el VPPA por contacto y murieron. Esta notable interferencia de larga duración de una vía con la infección por FA durante la PPA aguda y subaguda no fue anticipada. La infección con VPPA pudo haber bloqueado las células blanco iniciales en cuestión (posiblemente células dendríticas) necesarias para el establecimiento de la infección por el VFA.

African swine fever interference with foot-and-mouth disease infection and seroconversion in pigs

Initial oral infection of pigs with either highly virulent (L-60) or moderately virulent (DR-2) African swine fever virus (ASFV), followed in 3 days with exposure to foot-and-mouth disease virus (FMDV) (tongue inoculation and contact), failed to cause FMDV infection or seroconversion in 18 of 22 L-60-infected pigs and 13 of 34 DR-2-infected pigs. Of the 13 DR-2-infected pigs remaining free of foot-and-mouth disease (FMD), 2 pigs survived to 24 days without antibody to FMDV, despite constant contact with clinically infected pigs with FMD. Three other DR-2-infected pigs never developed FMD lesions but did develop low levels of antibody to FMDV by day 17. A group of larger pigs (in which DR-2 is less virulent) infected with DR-2 and then FMDV had a rapid but suppressed immune response to FMDV. Contact pigs introduced 3 days postinoculation and inoculated with FMDV only all became infected with ASFV by contact and died. This remarkably long lasting 1-way interference with FMD infection during acute and subacute African swine fever was not anticipated. Infection with ASFV may have blocked the initial target cells (possibly dendritic cells) necessary for establishment of FMDV infection.

KITCHING, R.P., SALT, J.S.

Br. vet. J., 151 (4): 379-389, 1995. Institute for Animal Health Laboratory, Pirbright Laboratory, Ash Road, Pirbright, Woking, Surrey GU24 0NF, UK.

La interferencia de anticuerpos de origen materno en la inmunización activa contra la fiebre aftosa de animales de establecimientos

La fiebre aftosa (FA) es una enfermedad altamente contagiosa que afecta rumiantes y cerdos. En los países en los cuales la FA se controla predominantemente por la vacunación, las

The interference by maternally-derived antibody with active immunization of farm animals against foot-and-mouth disease

Foot-and-mouth disease (FMD) is a highly contagious disease affecting ruminants and pigs. In countries in which control of FMD relies predominantly on vaccination, young stock ingest specific anti-FMD virus antibodies in the

crías ingieren anticuerpos anti-VFA a través del calostro. Estos anticuerpos de origen materno (AOM) proveen una protección inmediata contra la infección por VFA pero también interfieren en el desarrollo de inmunidad activa tras la vacunación. Sin embargo, la susceptibilidad a la infección precede la habilidad de responder a la vacunación en presencia de AOM. Vacunas comúnmente disponibles no pueden superar el efecto inhibitorio de los AOM y la protección de la cría joven solo será provista por su aislamiento del VFA.

colostrum. This maternally-derived antibody (MDA) provides immediate protection against infection with FMD virus, but also interferes with the development of active immunity following vaccination. However, susceptibility to infection precedes the ability to respond to vaccination in the presence of MDA. Currently available vaccines cannot overcome this inhibitory effect of MDA, and protection of young stock can only be provided by their isolation from FMD virus.

LUBROTH, J., BROWN, F.

Res. Vet. Sci., 59: 70-78, 1995. USDA, APHIS, ARS, Plum Island Animal Disease Center, P.O. Box 848, NY 11944, USA.

Identificación de la proteína nativa no estructural 2C del virus de la fiebre aftosa como indicador serológico para diferenciar el ganado infectado del vacunado

Bovinos y cerdos que fueron vacunados contra la fiebre aftosa pueden ser diferenciados de animales convalecientes por radioinmuno-precipitación y electroforesis en gel de poliacrilamida con sulfato dodecil de sodio de las proteínas virales inducidas reaccionando con los sueros respectivos. Células de riñón de hamster infectadas con virus de la fiebre aftosa (VFA) serotipo A₂₄ fueron marcadas con ³⁵S-metionina y las proteínas virales inducidas fueron precipitadas con sueros de animales vacunados y posteriormente desafiadados, animales convalecientes mantenidos por más de 300 días, animales vacunados o infectados con virus pertenecientes a todos los serotipos del VFA, y animales infectados con virus de encefalomielitis (EMC) o enterovirus porcino o bovino. Además de las proteínas estructurales del virus, las proteínas no estructurales 2C, 3ABC, 3C, 3CD y 3D fueron precipitadas en sueros convalecientes, pero solo la 3D fue precipitada por suero de animales vacunados. Las proteínas L, 2C y 3C fueron precipitadas solo después del desafío con un virus heterotípico (serotipo O₁Tunisia), indicando que la replicación viral del virus de desafío había ocurrido. No se detectó precipitación con sueros de EMC o de animales infectados con enterovirus. Los resultados indican

Identification of native foot-and-mouth disease virus non-structural protein 2C as a serological indicator to differentiate infected from vaccinated livestock

Cattle and pigs which have been vaccinated against foot-and-mouth disease can be distinguished from convalescent animals by radioimmunoprecipitation and sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis of the virus-induced proteins reacting with the respective sera. Baby hamster kidney cells infected with foot-and-mouth disease virus (FMDV) (serotype A₂₄) were labelled with ³⁵S-methionine and the virus-induced proteins were precipitated with sera from vaccinated and subsequently challenged animals, convalescent animals retained for over 300 days, animals vaccinated or infected with viruses belonging to all serotypes of FMDV, and animals infected with encephalomyocarditis (EMC) or porcine or bovine enteroviruses. In addition to the structural proteins of the virus, the non-structural proteins 2C, 3ABC, 3C, 3CD and 3D were precipitated by convalescent sera, but only 3D was precipitated by serum from vaccinated animals. Proteins L, 2C and 3C were precipitated only after challenge with a heterotypic virus (serotype O₁Tunisia), indicating that virus replication of the challenge virus had taken place. No precipitation was detected with sera from EMC or enterovirus-infected animals. The results indicate that protein 2C, and to a lesser extent the polypeptide 3ABC,

que la proteína 2C, y en menor grado el polipéptido 3ABC, podría ser utilizada para diferenciar animales convalecientes potencialmente portadores de ganado vacunado.

MARQUARDT, O., STRAUB, O.C., AHL, R., HAAS, B.

J. Virol. Methods, 53: 255-261, 1995. Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere, P.O. Box 1149, Tübingen, D-72001, Germany.

Detección por RT-PCR de virus de la fiebre aftosa en hisopos nasales de bovinos asintomáticos dentro de 24 horas

Se describe un método para extraer ARN usando el modelo del virus de la fiebre aftosa (VFA) derivado de material de animales adecuado para la síntesis de la polimerasa dependiente T del ADNc y subsecuente reacción en cadena de polimerasa (PCR). Se detectó genomas virales en menos de 24 h. Hisopos nasales que pueden ser fácil y repetidamente recolectados fueron adecuados para la detección de virus por PCR, mismo durante las etapas asintomáticas de la infección.

could be used to differentiate potential carrier convalescent animals from vaccinated livestock.

Detection of foot-and-mouth disease virus in nasal swabs of asymptomatic cattle by RT-PCR within 24 hours

A method for extracting RNA from animal-derived materials that provides foot-and-mouth disease viral template suitable for Tth polymerase-dependent synthesis of cDNA and subsequent PCR is described. Viral genomes were detected in less than 24 h. Nasal swabs that can be easily and repeatedly collected, proved suitable for virus detection by PCR, even during the asymptomatic stages of infection.

MATEU, M.G., ANDREU, D., DOMINGO E.

Virology, 210: 120-127, 1995. Centro de Biología Molecular, Severo Ochoa, (CSIC-UAM), Universidad Autónoma de Madrid, 28049 Madrid, España.

Producción de anticuerpos en un hospedero natural y anticuerpos monoclonales reconocen patrones antigenicos similares del virus de la fiebre aftosa

Anticuerpos policlonales de cerdos contra el lugar antigenico principal (sitio A) del virus de la fiebre aftosa (VFA) de serotipo C, y anticuerpos monoclonales (AcMs) que reconocen diferentes epitopes de este sitio fueron comparados con referencia a la reactividad con un panel de péptidos sintéticos. Los péptidos usados representan diferentes segmentos o secuencias de variantes del sitio A, y sus reacciones reflejan diferencias en especificidad antigenica. Los resultados indican una gran semejanza inmunoquímica entre el sitio A de epitopes definidos por AcMs de ratón y aquellos reconocidos por anticuerpos producidos en un hospedero natural de VFA. Esta similitud corrobora conclusiones previas, basadas en el análisis con AcMs, sobre la importancia de sustituciones de aminoácidos en algunas posi-

Antibodies raised in a natural host and monoclonal antibodies recognize similar antigenic features of foot-and-mouth disease virus

Swine polyclonal antibodies directed against a major antigenic site (site A) of foot-and-mouth disease virus (FMDV) of serotype C, and monoclonal antibodies (MAbs) which recognize different epitopes within this site, have been compared with regard to reactivity with a panel of synthetic peptides. The peptides used represent different segments or variant sequences of site A, and their reactivities reflect differences in antigenic specificity. The results indicate a remarkable immunochemical similarity between the site A epitopes defined by murine MAbs and those recognized by antibodies elicited in a natural host of FMDV. This similarity further validates previous conclusions, based on analyses with MAbs, on the relevance of amino acid substitutions at a few critical positions on the

ciones críticas sobre la variación antigenica intratípica del VFA en el campo. También dan más apoyo a la doble función del modelo Arg-Gly-Asp del ojal G-H en el acoplamiento celular y en el reconocimiento de anticuerpos hospederos, recientemente documentado con la elucidación de la estructura tridimensional de un complejo antígeno-anticuerpo de VFA. Además, los resultados estimulan el uso de paneles extensivos de AcMs bien caracterizados para un análisis molecular preciso de la variación antigenica del VFA, y de otros virus, en el campo.

intratypic antigenic variation of FMDV in the field. They also give further support to a dual function of the Arg-Gly-Asp motif of the G-H loop in cell attachment and in the recognition by host antibodies, as recently documented with the elucidation of the three-dimensional structure of an antigen-antibody complex of FMDV. In addition, the results encourage the use of extended panels of well-characterized MAbs for a precise molecular analysis of the antigenic variation of FMDV, and of other viruses, in the field.

MATEU, M.G., CAMARERO, J.A., GIRALT, E., ANDREU, D., DOMINGO, E.

Virology, 206: 298-306, 1995. Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa", Universidad Autónoma de Madrid, 28049-Cantoblanco, Madrid, España.

Evaluación directa de inmunodominancia de un lugar antigenico principal del virus de la fiebre aftosa en un hospedero natural

La inmunodominancia de un lugar antigenico principal del virus de la fiebre aftosa (VFA) (serotipo C, clon C-S8c1) en un hospedero natural ha sido evaluada por fraccionamiento de inmunoglobulina sérica. Diecinueve sueros de cerdos convalecientes o vacunados fueron fraccionados por cromatografía usando un péptido sintético que representa el sitio antigenico A (en el ojal G-H de la proteína capsídica VP1) unido a una matriz de sefarosa. Las actividades de acoplamiento del antigeno y neutralización de fracciones de sueros fueron cuantificadas. En promedio, cerca de 57 ó 27% de la actividad de virusneutralización (y cerca de 35 ó 12% de la actividad de acoplamiento de virus) de cerdos convalecientes o vacunados, respectivamente, correspondió a anticuerpos contra el sitio A. Los resultados proveen evidencia directa de la importante contribución del sitio A, y también de lugares adicionales no relacionados al sitio A, en la producción de anticuerpos neutralizantes por VFA un hospedero natural. La proporción de anticuerpos dirigidos al sitio A varió mucho entre los cerdos individuales. Algunos animales produjeron muy bajos niveles de anticuerpos específicos para

Direct evaluation of the immunodominance of a major antigenic site of foot-and-mouth disease virus in a natural host

The immunodominance of a major antigenic site of foot-and-mouth disease virus (FMDV) (serotype C; clone C-S8c1) in a natural host has been evaluated by serum immunoglobulin fractionation. Nineteen sera from either convalescent or vaccinated swine were fractionated by affinity chromatography using a synthetic peptide representing antigenic site A (the G-H loop of capsid protein VP1) coupled to a Sepharose matrix. Antigen-binding and neutralizing activities of serum fractions were quantitated. On average, about 57 or 27% of the virus-neutralizing activity (and about 35 or 12% of the virus-binding activity) from convalescent or vaccinated swine, respectively, corresponded to antibodies against site A. The results provide direct evidence of the important contribution of site A, and also of additional sites unrelated to site A, in the evoking of neutralizing antibodies by FMDV in a natural host. The proportion of antibodies directed to site A varied greatly among individual swine. Some animals evoked remarkably low levels of antibodies specific for site A although they were competent to raise antibodies against other antigenic sites of FMDV. Thus, the major antigenic site of FMDV shows heterogeneous

el sitio A, aunque fueron competentes en producir anticuerpos contra otros lugares antigenicos del VFA. Por lo tanto, el lugar antigenico principal del VFA muestra dominio heterogeneo en un hospedero natural. Se discuten posibles implicaciones en la evolucion de las cuasiespecies virales.

MULLER, S., GUICHARD, G., BENKIRANE, N., BROWN, F., VAN REGENMORTEL, M.H.V., BRIAND, J.-P.

Peptide Research, 8 (3): 138-144, 1995. Institut de Biologie Moléculaire et Cellulaire, UPR 9021 CNRS, Strasbourg, France.

Inmunogenicidad acentuada y reacción cruzada de peptidomiméticos retroinversos del lugar antigenico principal del virus de la fiebre aftosa

Retroinversos análogos de péptidos correspondientes al lugar antigenico principal 141-159 del VP1 de dos variantes del virus de la fiebre aftosa fueron sintetizados y ensayados para sus propiedades antigenicas e inmunogenicas. Anticuerpos para péptidos L y retroinversos fueron producidos por inoculación de conejos con péptidos unidos covalentemente a pequeños liposomas unilamelares conteniendo el lípido monofosforil A como adyuvante. Cuando comparado con la respuesta de anticuerpo producida por péptidos L, la duración de la respuesta de IgG que fue producida por los péptidos retroinversos fue significativamente mayor y el título de antisueros antipéptidos fue mucho más elevado. Anticuerpos para péptidos retroinversos tuvieron reacción cruzada igualmente buena con los respectivos péptidos L matrices. Estos resultados, obtenidos con una secuencia viral que previamente había sido identificada y que representaba un buen candidato para posible vacunación, mostró que peptidomiméticos retroinversos podían ser útiles para acentuar la inmunogenicidad de péptidos.

PIATTI, P., HASSARD, S., NEWMAN, J.F.E., BROWN, F.

Vaccine, 13 (8): 781-784, 1995. USDA, ARS, Plum Island Animal Disease Center, P.O. Box 848, Greenport, NY 11944, USA.

Variantes antigenicas en un aislamiento de placa del virus de la fiebre aftosa: implicaciones en la producción de vacuna

La ocurrencia de muchos subtipos de un serotipo del virus de la fiebre aftosa (VFA) dificulta-

dominance in a natural host. Possible implications for evolution of viral quasispecies are discussed.

Enhanced immunogenicity and cross-reactivity of retro-inverso peptidomimetics of the major antigenic site of foot-and-mouth disease virus

Retro-inverso analogues of peptides corresponding to the major antigenic site 141-159 of VP1 from two foot-and-mouth disease virus variants have been synthesized and tested for their antigenic and immunogenic properties. Antibodies to the L- and retro-inverso peptides were produced by injecting rabbits with peptides covalently coupled to small unilamellar liposomes containing monophosphoryl lipid A as adjuvant. When compared to the antibody response raised against the L-peptides, the duration of the IgG response that was induced by the retro-inverso peptides was significantly longer and the titer of anti-peptide antisera was much higher. Antibodies to retro-inverso peptides cross-reacted equally well with the respective parent L-peptides. These results, obtained with a viral sequence which was found previously to represent a good candidate for possible vaccination, show that retro-inverso peptidomimetics could be useful for enhancing the immunogenicity of peptides.

Antigenic variants in a plaque-isolate of foot-and-mouth disease virus: implications for vaccine production

The occurrence of many subtypes within a serotype of foot-and-mouth disease virus (FMDV)

ta el control de la enfermedad por la vacunación. Aunque las vacunas inactivadas son usadas con éxito en muchos países, el aparecimiento en el campo de variantes antigenicas contra las cuales las vacunas no confieren protección es un problema constante en la elaboración de la vacuna. Previamente habíamos encontrado una mezcla de variantes antigenicas en un solo aislamiento de campo del serotipo A12. En este informe demostramos la presencia de dos variantes en el aislamiento de una sola placa de esta mezcla. La segunda variante fue detectada solo cuando las condiciones del crecimiento fueron alteradas. Nuestra observación se dirige a los problemas que pueden ser encontrados en la producción en larga escala de un virus para la elaboración de vacuna.

ROBIOLO, B., GRIGUERA, P.R., PERIOLI, O.H., SEKI, C., BIANCHI, T., MARADEI, E., LA TORRE, J.L.

Vaccine, 13 (14): 1346-1352, 1995. Centro de Virología Animal (CEVAN), Serrano 669-1414-Capital Federal, Argentina.

Evaluación de la potencia de vacuna contra la fiebre aftosa por ELISA de bloqueo en fase líquida: propuesta para una alternativa al procedimiento de desafío en la Argentina

La expectativa de protección más baja (EPB) a un 95% de confianza de 245 vacunas comerciales contra la fiebre aftosa fue calculada de los títulos de la prueba ELISA "sandwich" de bloqueo en fase líquida (ELISA_{LI}) de sueros bovinos obtenidos de 3920 animales a los 60 días posvacunación (DPV) y desafiados con virus vivo a los 90 DPV. Se encontró que la evaluación de la EPB es altamente específica (i.e., puede predecir una falla en 100% de los casos) aunque su habilidad para predecir la aprobación al desafío (prueba GP) (i.e., sensibilidad) comprendió solo el 65% de las vacunas que pasaron la prueba. Sin embargo fue posible mejorar la sensibilidad de la evaluación usando un coeficiente alternativo (Ro), dependiente exclusivamente del número de animales que mostraban los títulos más altos y más bajos en ELISA_{LI} en una prueba de una vacuna determinada. Este coeficiente fue capaz de predecir la aprobación de la prueba GP en un 90% de las vacunas, manteniendo aceptable la protección (87% de especificidad). Basado en estos resulta-

makes it difficult to control the disease by vaccination. Although inactivated vaccines are used successfully in many countries, the appearance in the field of antigenic variants against which the vaccines do not confer protection is a constant problem in vaccine manufacture. We had found previously a mixture of antigenic variants in a field isolate of serotype A12. In this report we demonstrate the presence of two variants in a plaque-isolate from this mixture. The second variant was detected only when the growth conditions were altered. Our observation points to the problems which may be encountered in the large scale growth of a virus for vaccine production.

Assessment of foot and mouth disease vaccine potency by liquid-phase blocking ELISA: a proposal for an alternative to the challenge procedure in Argentina

The lowest expected protection (LEP) at a 95% confidence of 245 foot and mouth disease (FMD) commercial vaccines was calculated from the titres of liquid-phase blocking sandwich ELISA (lpELISA) of cattle sera obtained from 3920 animals at 60 days post-vaccination (d.p.v.) and challenged with live virus at 90 d.p.v. It was found that LEP evaluation is highly specific (i.e., it is able to predict the failure in 100% of the cases) although its ability to predict the challenge (PG test) approval (i.e., sensitivity) comprised only 65% of the vaccines that passed the trial. It was possible, nevertheless, to improve the sensitivity of the evaluation by using an alternative coefficient (Ro), exclusively dependent on the number of animals exhibiting the highest and lowest lpELISA titres in a particular vaccine trial. This coefficient was capable of predicting the PG approval of 90% of the vaccines, yet maintaining acceptable levels of safety (87% of specificity). Based on these results and as a first step towards the replacement of the challenge protocol in Argentina, we propose

dos y como un primer paso hacia el reemplazo del protocolo de desafío en Argentina, proponemos una aprobación rápida para la comercialización de vacunas antiaftosa, capaces de alcanzar un 82% como la marca más restrictiva, y el rechazo de las que no alcancen el límite del 50% de EPB. Experiencias más extensas con este nuevo protocolo permitirán un ajuste refinado de los valores de la EPB y Ro y establecer con más precisión los puntos para aprobación directa o desaprobación de vacunas por ELISAfI, eliminando el uso de VFA vivo en el campo.

a swift approval for commercialization of FMD vaccines which are able to reach the highly restricting LEP passmark of 82%, and the rejection of those not reaching the 50% LEP limit. More extensive experience with this new protocol will allow a finer adjustment of the LEP and Ro values and to set more precisely the cutt-off points for direct approval or disapproval of vaccines by IgELISA, eliminating the use of live FMDV in the field.

STRAM, Y., CHAI, D., FAWZY, H.E.-D., MOLAD, T., MEIRI, N., VAN-HAM, M., EL KILANI, S., FAHAMY, F., MOUSSA, A.A.M., YADIN, H.

Arch. Virol., 140 (10): 1791-1797, 1995. Division of Virology, Kimron Veterinary Institute, Beit-Dagan, Israel.

Epidemiología molecular de la fiebre aftosa en Israel en 1994 y en otros países de Oriente Medio en los años de 1992-1994

Se utilizaron las pruebas de transcriptasa inversa-reacción en cadena de polimerasa (RT-PCR) y de secuenciamiento directo en el diagnóstico y tipificación del virus de la fiebre aftosa en muestras tomadas durante el brote de fiebre aftosa ocurrido en 1994 en Israel. Usando métodos de PCR, aislamiento viral y serológicos se mostró que el brote de 1994 en Israel y en otros países de Oriente Medio fue ocasionado por el virus tipo O1. El secuenciamiento directo de la PCR de genes VP1 y el análisis homólogo de los aislamientos de virus revelaron que en Israel ocurrieron dos brotes distintos. El primero se originó en Jordania, se extendió por el territorio del Banco Oeste y luego a la baja Galilea. El segundo brote, causado por otro virus fue responsable por los brotes en el sur de Líbano, la alta Galilea y los Altos del Golán. Cuando en el análisis se incluyeron secuencias virales de los aislamientos de brotes ocurridos en Egipto y Líbano en 1993, estas mostraron un alto grado de homología de la secuencia VP1 entre ellos, sugiriendo un origen común.

Molecular epidemiology of foot-and-mouth disease (FMD) in Israel in 1994 and in other Middle-Eastern countries in the years 1992-1994

The reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) and direct sequencing were employed in the diagnosis and typing of foot-and-mouth disease virus (FMDV) in samples taken during the 1994 disease outbreak in Israel. Using PCR, virus isolation and serological methods it was shown that the 1994 disease outbreak in Israel and other Middle-Eastern countries was caused by O1 type virus. Direct PCR sequencing of VP1 genes and homology analysis of the virus isolates revealed that there were two distinct outbreaks in Israel. The first originated in Jordan, moved to the West Bank territory and then to the Lower Galilee. The second outbreak, caused by another virus, was responsible for disease outbreaks in South Lebanon, Upper Galilee and the Golan Heights. When viral sequences of isolates from the 1993 outbreaks in Egypt and Lebanon were included in the analysis, they showed a high degree of VP1 sequence homology between themselves, suggesting a common origin.

VERDAGUER, N., MATEU, M.G., ANDREU, D., GIRALT, E., DOMINGO, E., FITA, I.

EMBO J., 14 (8): 1690-1696, 1995. Department d'Enginyeria Química, Universitat Politècnica de Catalunya, 08028 Barcelona, España.

Estructura del ojal antigenico principal del virus de la fiebre aftosa combinada con un anticuerpo neutralizante: implicación directa del modelo Arg-Gly-Asp en la interacción

La estructura cristalina de un péptido sintético representando la curva antigenica principal del virus de la fiebre aftosa (VFA), combinada con el fragmento Fab de un anticuerpo monoclonal neutralizante producido contra el virus ha sido determinada a una resolución de 2,8 Å. El péptido muestra un alto grado de estructura interna con una conformación casi cíclica. El modelo Arg-Gly-Asp conservado, involucrado en el acoplamiento viral del VFA a las células, participa directamente en la interacción con varias regiones complementarias determinantes de la molécula del anticuerpo. El trío Arg-Gly-Asp muestra la misma conformación de una vuelta abierta encontrada en la forma reducida de otro serotipo del VFA y de proteínas integrinas de acoplamiento. Las interacciones observadas proporcionan una interpretación molecular de los reemplazos de aminoácidos observados en mutantes resistentes a la neutralización de este anticuerpo. La estructura además sugiere un número de restricciones a la variación dentro del epítope que son impuestas para mantener el modelo Arg-Gly-Asp en su conformación funcional.

Structure of the major antigenic loop of foot-and-mouth disease virus complexed with a neutralizing antibody: direct involvement of the Arg-Gly-Asp motif in the interaction

The crystal structure of a synthetic peptide representing the major antigenic loop of foot-and-mouth disease virus (FMDV), complexed with the Fab fragment of a neutralizing monoclonal antibody raised against the virus, has been determined at 2.8 Å resolution. The peptide shows a high degree of internal structure with a nearly cyclic conformation. The conserved Arg-Gly-Asp motif, involved in the viral attachment of aphtoviruses to cells, participates directly in the interaction with several complementarity determining regions of the antibody molecule. The Arg-Gly-Asp triplet shows the same open turn conformation found in the reduced form of FMDV of another serotype and also in integrin binding proteins. The observed interactions provide a molecular interpretation of the amino acid replacements observed to occur in mutants resistant to neutralization by this antibody. The structure also suggests a number of restrictions to variation within the epitope which are imposed to keep the Arg-Gly-Asp motif in its functional conformation.

Bibliografía sobre enfermedades vesiculares

Bibliography on vesicular diseases

- ABRAMS, C.C., KING, A.M.Q., BELSHAM, G.J. Assembly of foot-and-mouth disease virus empty capsids synthesized by vaccinia virus expression system. *J. Gen. Virol.*, 76 (12): 3089-3098, 1995. BBSRC Institute for Animal Health, Pirbright Laboratory, Ash Road, Pirbright, Woking, Surrey GU24 0NF, UK.
- AHMED, N., HASAN, A.F.M.R. Bangladesh. In: COPLAND, J.W., GLEESON, L.J., CHAMNANPOOD, C. (Eds.) *Diagnosis and epidemiology of foot-and-mouth disease in Southeast Asia*, Proc. of an international workshop, Lampang, Thailand, 6-9 September 1993. Canberra, Australia, Australian Centre for International Agriculture (ACIAR), 1994. pp.129-134.
- AKHTAR, S., HAQ, M.Z. Pakistan. In: COPLAND, J.W., GLEESON, L.J., CHAMNANPOOD, C. (Eds.) *Diagnosis and epidemiology of foot-and-mouth disease in Southeast Asia*, Proc. of an international workshop, Lampang, Thailand, 6-9 September 1993. Canberra, Australia, Australian Centre for International Agriculture (ACIAR), 1994. pp.173-180.
- ANDERSON, E.C. The current role of the carrier buffalo (*Syncerus caffer*) in the maintenance of foot and mouth disease in South Africa. In: *Foot and mouth disease, African horse sickness and contagious bovine pleuropneumonia*, OIE Scientific Conference, Gaborone, Botswana, 20-23 April 1994, summaries and conclusions. Paris, France, Office International des Epizootics, 1994. p.6. In: *Index Vet.*, 64 (1), 1996.
- ASTUDILLO, V., SARAIVA, V. Foot and mouth disease-free areas in South America. In: *Foot and mouth disease, African horse sickness and contagious bovine pleuropneumonia*, OIE Scientific Conference, Gaborone, Botswana, 20-23 April 1994, summaries and conclusions. Paris, France, Office International des Epizootics, 1994. pp.20-21. In: *Index Vet.*, 64 (1), 1996.
- AZAD, H.M., SRINIVASAN, V.A., CROWTHER, J.R. Serological study of type A Indian foot-and-mouth disease virus isolates. *Acta Virol.*, 39 (4): 193-196, 1995. In: *Vet. Bull.*, 66 (8): 5248, 1996. Indian Immunologicals, Gachibowli, Hyderabad 500133, India.
- BAXT, B., MASON, P.W. Foot-and-mouth disease virus undergoes restricted replication in macrophage cell cultures following Fc receptor-mediated adsorption. *Virology*, 207 (2): 503-509, 1995. United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Plum Island Animal Disease Center, Greenport, New York 11944, USA.

- BENGIS, R.G., THOMPSON, G.R., KEET, D.F. Foot and mouth disease in impala (*Aepyceros melampus*). In: *Foot and mouth disease, African horse sickness and contagious bovine pleuropneumonia*, OIE Scientific Conference, Gaborone, Botswana, 20-23 April 1994, summaries and conclusions. Paris, France, Office International des Epizooties, 1994. pp.8-9. In: *Index Vét.*, 64 (1), 1996.
- BENITO, A., VIAPLANA, E., CORCHERO, J.L., CARBONELL, X., VILLAVERDE, A. A recombinant foot-and-mouth disease virus antigen inhibits DNA replication and triggers the SOS response in *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol. Letters*, 129: 157-162, 1995. Institut de Biología Fonamental and Department de Genètica i Microbiologia, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, 08193 Barcelona, España.
- BLANCO VIERA, J., MARCOVECCHIO, F., FONDEVILA, N., CARRILLO, B., SCHUDEL, A., DAVID, M., TORRES, A., MEBUS, C. [Epidemiology of foot and mouth disease in the llama (*Lama glama*).] Epidemiología de la fiebre aftosa en la llama (*Lama glama*). *Veterinaria Argentina*, 12 (119): 620-627, 1995. In: *Vet. Bull.*, 66 (4): 2225, 1996. Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias, INTA-Castelar, C.C. 77, 1708 Morón, Argentina.
- BROWN, F. Antibody recognition and neutralization of foot-and-mouth disease virus. *Virology*, 6: 243-248, 1995. Plum Island Animal Disease Center, P.O. Box 848, Greenport, 11944 NY, USA.
- CALLIS, J. Vaccine banks: present status and future development.(En esp-ing-fra). In: *Comprehensive reports on technical items presented to the International Committee or to Regional Commissions*, 1994. Paris, France, Office International des Epizooties, 1994. pp.1-18. In: *Index Vét.*, 64 (2), 1996. 2350 Paradise Point Road, P.O. Box 537, Southland, New York 11971, USA.
- CANÉ, B.G. [The concept of regionalisation in establishing disease-free areas.] (En esp-ing). In: *Comprehensive reports on technical items presented to the International Committee or to Regional Commissions*, 1994. Paris, France, Office International des Epizooties, 1994. pp.79-94. In: *Index Vét.*, 64 (2), 1996. Servicio Nacional de Sanidad Animal (SENASA), Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca, Ministerio de Economía y Obras y Servicios Públicos, Pasco Colón 367, 5º Piso, Buenos Aires, Argentina.
- CANÉ, B.G., TOLEDO, J.R., FALCZUK, A., LEANES, L.F., MANETTI, J.C., MARADEI, E., VERDE, P. [Quantitative risk analysis applied to innocuity and potency tests on the oil-adjuvanted vaccine against foot-and-mouth disease in Argentina.] Análisis cuantitativo de riesgo aplicado a las pruebas de inocuidad y potencia de la vacuna antiaftosa oleosa en Argentina. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 14 (4): 1097-1119, 1995. [English version on p. 1109] In: *Index Vét.*, 64 (6), 1996. Servicio Nacional de Sanidad Animal (SENASA), Ministerio de Economía y Obras y Servicios Públicos, Pasco Colón 367, 5º Piso, C.P. 1063, Buenos Aires, Argentina.
- CHAMNANPOOD, P., CLELAND, P.C., BALDOCK, F.C., GLEESON, L.J. Epidemiological investigations of foot-and-mouth disease outbreaks in Northern Thai villages. In: COPLAND, J.W., GLEESON, L.J., CHAMNANPOOD, C. (Eds.) *Diagnosis and epidemiology of foot-and-mouth disease in Southeast Asia*, Proc. of an international workshop, Lampang, Thailand, 6-9 September 1993. Canberra, Australia, Australian Centre for International Agricultural Research, 1994. pp.33-37. In: *Vet. Bull.*, 66 (1): 128, 1996. Northern Veterinary Research and Diagnostic Center, Hang Chat, Lampang 52190, Thailand.

- CHAMNANPOOD, P., CLELAND, P.C., BALDOCK, F.C., GLEESON, L.J. The minor role of pigs in outbreaks of foot-and-mouth disease of northern Thailand. *Australian Vet. J.*, 72 (4): 142-144, 1995. Northern Veterinary Research and Diagnostic Centre, Hank Chat, Lampang 52195, Thailand.
- CLELAND, P.C., BALDOCK, F.C., GLEESON, L.J., CHAMNANPOOD, P. A modelling approach to the investigation of vaccination strategies for foot-and-mouth disease. In: COPLAND, J.W., GLEESON, L.J., CHAMNANPOOD, C. (Eds.) *Diagnosis and epidemiology of foot-and-mouth disease in Southeast Asia*, Proc. of an international workshop, Lampang, Thailand, 6-9 September 1993. Canberra, Australia, Australian Centre for International Agriculture (ACIAR), 1994. pp.49-53.
- CLELAND, P.C., CHAMNANPOOD, P., BALDOCK, F.C., GLEESON, L.J. Questionnaire survey of foot and mouth disease (FMD) and of FMD control by vaccination in villages in northern Thailand. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 14 (3): 567-575, 1995. In: *Vet. Bull.*, 66 (4): 2227, 1996. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, Australian Animal Health Laboratory, P.O. Bag 24, Geelong, Victoria 3220, Australia.
- CURRY, S., ABRAMS, C.C., FRY, E., CROWTHER, J.C., BELSHAM, G.J., STUART, D.I., KING, A.M.Q. Viral RNA modulates the acid sensitivity of foot-and-mouth disease virus capsids. *J. Virol.*, 69 (1): 430-438, 1995. Pirbright Laboratory, Institute for Animal Health, Pirbright, Surrey GU24 0NF, UK.
- DAVIDSON, F., CROWTHER, J.R., RENDLE, T., KNOWLES, N.J., THEVASAGAYAM, S.J., VUUREN, C.J. van. Antigenic evaluation of serotype SAT 2 foot-and-mouth disease viruses. In: SCHWYZER, M., ACKERMANN, M. (Eds.) *Immunobiology of viral infections*, Proc. 3rd Congress European Society for Veterinary Virology Interlaken, Switzerland, 4-7 September 1994. Lyon, France, Foundation Marcel Merieux, 1995. pp.470-474. In: *Vet. Bull.*, 66 (7): 4443, 1996. Institute for Animal Health, Pirbright Laboratory, Pirbright, Woking, Surrey GU24 0NF, UK.
- DAVIES, G. Foot and mouth disease (FMD) in Europe. *Cattle Practice*, 3 (1): 21-32, 1995. In: *Index Vet.*, 64 (4), 1996.
- DÍAS, L.E., VITALE, E., ETCHEGARAY, F. Microcaracterización de riesgo de fiebre aftosa en Uruguay. *Veterinaria*, 29 (124): 20-24, 1994.
- DONALDSON, A. Control of foot-and-mouth disease in Europe. In: COPLAND, J.W., GLEESON, L.J., CHAMNANPOOD, C. (Eds.) *Diagnosis and epidemiology of foot-and-mouth disease in Southeast Asia*, Proc. of an international workshop, Lampang, Thailand, 6-9 September 1993. Canberra, Australia, Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR), 1994. pp.70-74.
- DONALDSON, A.I. Role of reference laboratories in foot-and-mouth disease control programs. In: COPLAND, J.W., GLEESON, L.J., CHAMNANPOOD, C. (Eds.) *Diagnosis and epidemiology of foot-and-mouth disease in Southeast Asia*, Proc. of an international workshop, Lampang, Thailand, 6-9 September 1993. Canberra, Australia, Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR), 1994. pp.100-103.
- DONALDSON, A.I. Foot-and-mouth disease: European control strategies since 1991. In: TRENTI, F. (Ed.) *Proc. 18th World Buiatrics Congress, 26th Congress of the Italian Association of Buiatrics*, Bologna, Italy, 29 August-2 September 1994. Bologna, Italy, Società Italiana di Buiatria, 1994. pp.69-77. In: *Vet. Bull.*, 66 (3): 1417, 1996. AFRC Institute for Animal Health, Pirbright Laboratory, Surrey, UK.

- DONN, A., CASTAGNARO, M., DONALDSON, A.I. Ultrastructural and replicative features of foot-and-mouth disease virus in persistently infected BHK-21 cells. *Arch. Virol.*, 140 (1): 13-25, 1995. Institute for Animal Health, Pirbright Laboratory, Woking, UK.
- DONN, A., MARTIN, L.A., DONALDSON, A.I. [A method using the polymerase chain reaction (PCR) for the demonstration of chronic infection of foot and mouth disease in experimentally infected cattle.] (En italiano). In: TRENTI, F. (Ed.) *Proc. 18th World Buiatrics Congress, 26th Congress of the Italian Association of Buiatrics*, 29 August-2 September, 1994. Bologna, Italy, Società Italiana di Buiatria, 1994. pp.805-808. In: *Vet. Bull.*, 66 (3): 1420, 1996. Università degli Studi di Torino, Facoltà di Medicina Veterinaria, via Nizza 52, 10126 Torino, Italia.
- DOUGHTY, W.J., GLEESON, L.J., PRASATSUWAN, K., KONGTHON, A. Serological comparison of type Asia 1 foot and mouth disease virus isolates from Thailand. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 14 (3): 539-546, 1995. In: *Vet. Bull.*, 66 (4): 2232, 1996. Department of Livestock Development, Foot and Mouth Disease Centre, Pak Chong, Nakhon Ratchasima 30130, Thailand.
- DOUGHTY, W.J., LUNT, R.A., LINGCHONGSUBONKOCH, W., GLEESON, L.J., KONGTHON, A. Serological comparison of type A foot and mouth disease virus isolates from Thailand. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 14 (3): 547-555, 1995. In: *Vet. Bull.*, 66 (4): 2233, 1996. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation, Australian Animal Health Laboratory, P.O. Box 24, Geelong, Victoria 3220, Australia.
- DUBARRY, J.R., ÁLVAREZ, A.R., VERA, O.A., KENNY, O.G., MUSITANI, J.C. [Post vaccinal reactions with oil-based foot-and-mouth disease vaccine.] Estudio de reacciones postvacunales con vacuna antiaftosa oleosa. *Rev. Med. Vet. (Buenos Aires)*, 76 (1): 11...16, 1995. In: *Vet. Bull.*, 66 (1): 13+, 1996. Cátedra de Patología General, FCV-UBLa Pampa, Argentina.
- DUH, V. Myanmar. In: COPLAND, J.W., GLEESON, L.J., CHAMNANPOOD, C. (Eds.) *Diagnosis and epidemiology of foot-and-mouth disease in Southeast Asia*, Proc. of an international workshop, Lampang, Thailand, 6-9 September 1993. Canberra, Australia, Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR), 1994. pp.166-172.
- ELLIS, P.R. Information systems in disease control programs. In: COPLAND, J.W., GLEESON, L.J., CHAMNANPOOD, C. (Eds.) *Diagnosis and epidemiology of foot-and-mouth disease in Southeast Asia*, Proc. of an international workshop, Lampang, Thailand, 6-9 September 1993. Canberra, Australia, Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR), 1994. pp.111-115.
- ELLIS, P.R. The economics of foot-and-mouth disease control. In: COPLAND, J.W., GLEESON, L.J., CHAMNANPOOD, C. (Eds.) *Diagnosis and epidemiology of foot-and-mouth disease in Southeast Asia*, Proc. of an international workshop, Lampang, Thailand, 6-9 September 1993. Canberra, Australia, Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR), 1994. pp.57-63.
- EL-SHERRY, M.I., MOUSSA, A.A., BAYOUMI, A.H., AFIFI, S.M. Immunohistochemical study of experimental foot and mouth disease in calves. In: *Proc. Second Scientific Congress Egyptian Society for Cattle Diseases*, 5-7 December 1993. Assiut, Egypt, Faculty of Veterinary Medicine, Assiut University, 1993. pp.407-408. In: *Index Vet.*, 64 (2). 1996. Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Assiut University, Assiut, Egypt.

- EL-SHERRY, M.I., MOUSSA, A.A., BAYOUMI, A.H., AFIFI, S.H. Immunohistochemical and pathological study of experimental foot and mouth disease in calves. In: TRENTY, F. (Ed.) *Proc. 18th World Buiatrics Congress, 26th Congress of the Italian Association of Buiatrics*, 29 August-2 September, 1994. Bologna, Italy, Società Italiana di Buiatria, 1994. pp. 785-788. In: *Vet. Bull.*, 66 (3): 1418, 1996. Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Assiut University, Egypt.
- ESCARMÍS, C., DOPAZO, J., DÁVILA, M., PALMA, E.L., DOMINGO, E. Large deletions in the 5'-untranslated region of foot-and-mouth disease virus of serotype C. *Virus Res.*, 35 (2): 155-167, 1995. In: *Vet. Bull.*, 66 (4): 2228, 1996. Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa" (CSIC-UAM), Universidad Autónoma de Madrid, 28049-Cantoblanco, Madrid, España.
- ESPINOZA, A.M., AMEGHINO, E. Identification of VIA antigen antibodies to foot-and-mouth disease virus in Peruvian livestock. In: COPLAND, J.W., GLEESON, L.J., CHAMNANPOOD, C. (Eds.) *Diagnosis and epidemiology of foot-and-mouth disease in Southeast Asia*, Proc. of an international workshop, Lampang, Thailand, 6-9 September 1993. Canberra, Australia, Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR), 1994. pp.104-108. National Institute of Health, Centro de Producción de Insumos, Capac Yupanqui 1400, Lima 11, Perú.
- ESTERHUYSEN, J.J. Subtypes of SAT types of foot and mouth disease virus currently present in South Africa. In: *Foot and mouth disease, African horse sickness and contagious bovine pleuropneumonia*, OIE Scientific Conference, Gaborone, Botswana, 10-23 April 1994, summaries and conclusions. Paris, France, Office International des Epizootics, 1994. p.14. In: *Index Vet.*, 64 (1), 1996.
- FARGEAUD, D. Selection of vaccine strains of foot and mouth disease virus for use in Southern Africa. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 14 (3): 521-538, 1995. Botswana Vaccine Institute, Broadhurst Industrial Estate, Private Bag 0031, Gaborone, Botswana.
- FERNÁNDEZ, F.M., SMITSAART, E., BARRANDEGUY, M., SAN ROMAN, A., SADIR, A., ZABAL, O., MARCOVECCHIO, F., SCHUDEL, A. [Study of the immune response in cattle vaccinated with foot and mouth disease vaccine combined with bovine herpesvirus 1 and foot and mouth disease vaccine combined with rotavirus/enteropathogenic *Escherichia coli*.] Estudio de la respuesta inmune en bovinos vacunados con vacuna antialfosa combinada con herpes virus bovino-1 y vacuna antialfosa combinada con rotavirus/*Escherichia coli* enteropatógena. *RLA, Rev. Investig. Agropec.*, 25 (3): 111-119, 1994. In: *Vet. Bull.*, 66 (1): 129, 1996. Área Vacunas Experimentales, Instituto de Virología, CICV-INTA, Castelar, C.C. 77, (1708) Morón, Argentina.
- FERRIS, N.P., OXTOBY, J.M., HUGHES, J.E. Multiple-infected diagnostic specimens from foot and mouth disease endemic regions. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 14 (3): 557-565, 1995. Biotechnology and Biological Sciences Research Council, Institute for Animal Health, Pirbright Laboratory, Ash Road, Pirbright, Woking, Surrey GU24 0NF, UK.
- FONDEVILA, N.A., MARCOVECCIO, F.J., BLANCO VIERA, J., O'DONNELL, V.K., CARRILLO, B.J., SCHUDEL, A.A., DAVID, M., TORRES, A., MEBUS, C.A. Susceptibility of llamas (*Lama glama*) to infection with foot-and-mouth-disease virus. *J. Vét. Med., Series B*, 42 (10): 595-599, 1995. In: *Vet. Bull.*, 66 (5): 2949, 1996. Instituto de Virología y Patobiología, Centro de Investigaciones en Ciencias Veterinarias (CICV), Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Castelar, CC 77, 1708 Morón, Argentina.

- GLASS, E.J., MILLAR, P. Bovine T cells preferentially recognize non-viral spacer epitopes in a putative FMDV vaccinal peptide. *Vaccine*, 13 (2): 225-229, 1995. In: *Vet. Bull.*, 66 (6): 2948, 1996. Roslin Institute, Roslin, Midlothian, EH25 9PS, UK.
- GLEESON, L.J., DOUGHTY, W.J., LUNT, R.A., LINCHONG-SUBONGKOCH, W., BLACKSELL, S.D. A review of strain differentiation studies in Thailand: implications for vaccination programs. In: COPLAND, J.W., GLEESON, L.J., CHAMNANPOOD, C. (Eds.) *Diagnosis and epidemiology of foot-and-mouth disease in Southeast Asia*, Proc. of an international workshop, Lampang, Thailand, 6-9 September 1993. Canberra, Australia, Australian Centre for International Agricultural Research, 1994. pp.91-99. In: *Vet. Bull.*, 66 (1): 126, 1996. CSIRO, Australian Animal Health Laboratory, P.O. Bag 24, Geelong 3220, Australia.
- GONÇALVES, E.I., PINTO, A.A. Efficiency test for foot and mouth disease vaccine. II. Relationship between the C index in guinea pigs and the mouse protection index. *Brazilian J. Vet. Res. Anim. Sci.*, 31 (1): 31-34, 1994. In: *Vet. Bull.*, 66 (2): 764, 1996. Faculty of Agrarian and Veterinary Sciences, UNESP, Jaboticabal, São Paulo, Brasil.
- GRUBMAN, M.J., ZELLNER, M., BABLANIAN, G., MASON, P.W., PICCONE, M.E. Identification of the active-site residues of the 3C proteinase of foot-and-mouth disease virus. *Virology*, 213 (2): 581-589, 1995. USDA, ARS, NAA, Plum Island Animal Disease Center, P.O. Box 848, Greenport, NY 11944, USA.
- GUTIÉRREZ, A., PINTADO, B., SOBRINO, F. [Inhibition of in vitro translation of foot-and-mouth disease virus mediated by antisense oligonucleotides.] Inhibición de la traducción in vitro del virus de la fiebre aftosa mediada por oligonucleótidos antisentidos. *Invest. Agraria, Producción y Sanidad Animales*, 9 (1): 45-55, 1994. In: *Index Vét.*, 64 (1), 1996. Dpto. de Producción Animal, CIT-INIA, Ctra. de La Coruña, km 5, 900, 28040 Madrid, España.
- HANYANUM, W., AWAIYAWANON, K., WONGDEE, R., MUSIKUI, P. Thailand. In: COPLAND, J.W., GLEESON, L.J., CHAMNANPOOD, C. (Eds.) *Diagnosis and epidemiology of foot-and-mouth disease in Southeast Asia*, Proc. of an international workshop, Lampang, Thailand, 6-9 September 1993. Canberra, Australia, Australian Centre for International Agriculture (ACIAR), 1994. pp.191-196.
- HARGREAVES, S.K. The control of foot and mouth disease in Zimbabwe. In: *Foot and mouth disease, African horse sickness and contagious bovine pleuropneumonia*, OIE Scientific Conference, Gaborone, Botswana, 20-23 April 1994, summaries and conclusions. Paris, France, Office International des Epizootics, 1994. p.5. In: *Index Vét.*, 64 (1), 1996. Department of Veterinary Services, P.O. Box 8012, Causeway, Harare, Zimbabwe.
- HIONG, G.C. Malaysia. In: COPLAND, J.W., GLEESON, L.J., CHAMNANPOOD, C. (Eds.) *Diagnosis and epidemiology of foot-and-mouth disease in Southeast Asia*, Proc. of an international workshop, Lampang, Thailand, 6-9 September 1993. Canberra, Australia, Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR), 1994. pp.155-165.
- HORZINEK, M.C. The beginnings of animal virology in Germany. *Arch. Virol.*, 140: 1157-1162, 1995. Department of Infectious Diseases and Immunology, State University of Utrecht, Utrecht, The Netherlands.

- HUNTER, P. The performance of oil adjuvants prepared with SAT types of foot and mouth disease virus. In: *Foot and mouth disease, African horse sickness and contagious bovine pleuropneumonia*, OIE Scientific Conference, Gaborone, Botswana, 20-23 April 1994, summaries and conclusions. Paris, France, Office International des Epizooties, 1994. p.17. In: *Index Vet.*, 64 (1), 1996.
- ISTANBULLUOGLU, E. Foot and mouth disease: surveillance and control in the Middle East. In: *Rapports de synthese sur les themes techniques présentés au Comité international ou aux Commissions régionales*, 1993. Paris, France, Office International des Epizooties, 1994. pp.137-142. In: *Index Vet.*, 64 (2), 1996. Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Akay Cad. No. 3, Bankanlilar-Ankara, Turkey.
- JALVINGH, A.W., NIELEN, M., DIJKHUIZEN, A.A., MORRIS, R.S. A computerized decision support system for contagious animal disease control. *Pig News and Information*, 16 (1): 9N-12N, 1995. Department of Farm Management, Wageningen Agricultural University, Hollandseweg 1, 6706 KN Wageningen, The Netherlands.
- KITCHING, R.P. Foot and mouth disease and bluetongue. *Cattle Practice*, 3 (2): 3-7, 1995. In: *Index Vet.*, 64 (4), 1996.
- KITCHING, R.P., MACKAY, D.K.J. New developments in foot and mouth diagnosis. In: *Foot and mouth disease, African horse sickness and contagious bovine pleuropneumonia*, OIE Scientific Conference, Gaborone, Botswana, 20-23 April 1994, summaries and conclusions. Paris, France, Office International des Epizooties, 1994. pp.18-19. In: *Index Vet.*, 64 (1), 1996.
- KITCHING, R.P., SALT, J.S. The interference by maternally-derived antibody with active immunization of farm animals against foot-and-mouth disease. *British Vet. J.*, 151 (4): 379-389, 1995. In: *Index Vet.*, 64 (2), 1996. Institute for Animal Health, Pirbright Laboratory, Ash Road, Pirbright, Woking, Surrey GU24 0NF, UK.
- KNOWLES, N.J. Phylogenetic analysis of SAT strains of foot and mouth disease virus. In: *Foot and mouth disease, African horse sickness and contagious bovine pleuropneumonia*, OIE Scientific Conference, Gaborone, Botswana, 20-23 April 1994, summaries and conclusions. Paris, France. Office International des Epizooties, 1994. pp.12-13. In: *Index Vet.*, 64 (1), 1996.
- KODITUWAKKU, S.N. Sri Lanka. In: COPLAND, J.W., GLEESON, L.J., CHAMNANPOOD, C. (Eds.) *Diagnosis and epidemiology of foot-and-mouth disease in Southeast Asia*, Proc. of an international workshop, Lampang, Thailand, 6-9 September 1993. Canberra, Australia, Australian Centre for International Agriculture (ACIAR), 1994. pp.186-190.
- KONGTHON, A. Development of laboratory diagnosis of foot-and-mouth disease in Thailand. In: COPLAND, J.W., GLEESON, L.J., CHAMNANPOOD, C. (Eds.) *Diagnosis and epidemiology of foot-and-mouth disease in Southeast Asia*, Proc. of an international workshop, Lampang, Thailand, 6-9 September 1993. Canberra, Australia, Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR), 1994. pp.87-90.
- LEA, S. Deconvolution of fully overlapped reflections from crystals of foot-and-mouth disease virus O₁ G67. *Acta Cryst.*, D51: 160-167, 1995. Laboratory of Molecular Biophysics, Rex Richards Building, University of Oxford, South Parks Road, Oxford OX1 3QU, England.

- LEA, S., ABU-GHAZALEH, R., BLAKEMORE, W., CURRY, S., FRY, E., JACKSON, T., KING, A., LOGAN, D., NEWMAN, J., STUART, D. Structural comparison of two strains of foot-and-mouth disease virus subtype O₁ and a laboratory antigenic variant, G67. *Structure*, 3 (6): 571-580, 1995. Laboratory of Molecular Biophysics, Rex Richards Building, South Parks Road, Oxford OX1 3QU, UK.
- LEA, S., STUART, D. Analysis of antigenic surfaces of proteins. *The FASEB J.*, 9: 87-93, 1995. Laboratory of Molecular Biophysics, University of Oxford, South Parks Road, Oxford OX1 3QU, UK.
- LOCHER, F., SURYANARAYANA, V.V.S., TRATSCHIN, J.-D. Rapid detection and characterization of foot-and-mouth disease virus by restriction enzyme and nucleotide sequence analysis of PCR products. *J. Clinical Microbiol.*, 33 (2): 440-444, 1995. Institute of Virology and Immunoprophylaxis, CH-3147, Switzerland.
- MALIK, H.U., ASHRAF PAUL, M. Outbreak of foot-and-mouth disease in regularly vaccinated dairy cattle with initial teat lesion. *Indian J. Anim. Health*, 34 (1): 77, 1995. In: *Index Vet.*, 64 (1), 1996. Cattle Breeding Farm, SKUAST, Mansbal, Kashmir, India.
- MARTÍN HERNÁNDEZ, A.M., CARRILLO, E.C., SEVILLA, N., DOMINGO E. Rapid cell variation can determine the establishment of a persistent viral infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 91 (9): 3705-3709, 1994. In: *Vet. Bull.*, 66 (8): 5250, 1996. Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa", Consejo Superior de Investigaciones Científicas-UAM, Universidad Autónoma de Madrid, 28049-Cantoblanco, Madrid, España.
- MARTÍNEZ-SALAS, E., DOMINGO, E. Effect of expression of the aphthovirus protease 3C on viral infection and gene expression. *Virology*, 212 (1): 111-120, 1995. Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa" (CSIC, UAM), Universidad Autónoma de Madrid, Cantoblanco, 28049 Madrid, España.
- MASANA, M.O., EISENSCHLOS, C.D., RODRÍGUEZ, H.R., LASTA, J.A., FONDEVILA, N.A. Foot-and-mouth disease virus inactivation in beef frankfurters using a biphasic cooking system. *Food Microbiol.*, 12: 373-380, 1995. Instituto de Tecnología de Carnes e Instituto de Virología (CICV), INTA, C.C. 77, 1708 Morón, Buenos Aires, Argentina.
- MASANA, M.O., FONDEVILA, N.A., GALLINGER, M.M., LASTA, J.A., RODRÍGUEZ, H.R., GONZÁLEZ, B. Effect of low-temperature long-time thermal processing of beef-cuts on the survival of foot-and-mouth disease virus. *J. Food Prot.*, 58 (2): 165-169, 1995. Instituto de Tecnología de Carnes e Instituto de Virología, CICV, INTA, C.C. 77, 1708 Morón, Buenos Aires, Argentina.
- MATEU, M.G. Antibody recognition of picornaviruses and escape from neutralization: a structural view. *Virus Res.*, 38: 1-24, 1995. Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa" (CSIC-UAM), Universidad Autónoma de Madrid, Cantoblanco, 28049, Madrid, España.
- MCOLL, K.A., WESTBURY, H.A., KITCHING, R.P., LEWIS, V.M. The persistence of foot-and-mouth disease virus on wool. *Australian Vet. J.*, 72 (8): 286-292, 1995. In: *Vet. Bull.*, 66 (4): 2235, 1996. CSIRO-Australian Animal Health Laboratory, P.O. Bag 24, Geelong, Victoria 3220, Australia.

- MCKENNA, T.S.C., LUBROTH, J., RIEDER, E., BAXT, B., MASON, P.W. Receptor binding site-deleted foot-and-mouth disease (FMD) virus protects cattle from FMD. *J. Virol.*, 69 (9): 5787-5790, 1995. In: *Vet. Bull.*, 66 (1): 136, 1996. Plum Island Animal Disease Center, U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, North Atlantic Area, Greenport, NY 11944, USA.
- MEEPHUCH, Y. An information system developed for monitoring foot-and-mouth disease control in Thailand. In: COPLAND, J.W., GLEESON, L.J., CHAMNANPOOD, C. (Eds.) *Diagnosis and epidemiology of foot-and-mouth disease in Southeast Asia*, Proc. of an international workshop, Lampang, Thailand, 6-9 September 1993. Canberra, Australia, Australian Centre for International Agriculture (ACIAR), 1994. pp.116-118.
- MEKHAGNOMDARA, S., VONGTHILATH, S. Laos. In: COPLAND, J.W., GLEESON, L.J., CHAMNANPOOD, C. (Eds.) *Diagnosis and epidemiology of foot-and-mouth disease in Southeast Asia*, Proc. of an international workshop, Lampang, Thailand, 6-9 September 1993. Canberra, Australia, Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR), 1994. pp.150-154.
- MELOEN, R.H., CASAL, J.I., DALSGAARD, K., LANGEVELD, J.P.M. Synthetic peptide vaccines: success at last. *Vaccine*, 13 (10): 885-886, 1995. ID-DLO, Department of Molecular Recognition, P.O. Box 65, 8200 AB Lelystad, The Netherlands.
- MEYER, R.F., BROWN, F. Sequence identification of antigenic variants in plaque isolates of foot-and-mouth disease virus. *J. Virol. Methods*, 55 (2): 281-283, 1995. USDA, Plum Island Animal Disease Center, P.O. Box 848, Greenport, NY 11944, USA.
- MISRA, L.D., LAL, S.M. A note on shelf life of bentonite gel adjuvanted foot and mouth disease (FMD) vaccine. *Indian J. Comp. Microbiol. Immunol. Infect. Dis.*, 16 (1/2): 66-67, 1995. In: *Vet. Bull.*, 66 (5): 2945, 1996. Indian Veterinary Research Institute, Hebbal, Bangalore-160 014, India.
- NAIR, S.P. Studies on the immune response to type 'O' foot and mouth disease vaccine in pregnant ewes and lambs born out of them. *Indian Vet. J.*, 72 (8): 798-803, 1995. In: *Vet. Bull.*, 66 (1): 133, 1996. Indian Veterinary Research Institute, Hebbal, Bangalore 560 024, India.
- NANDI, S., SEN, A.K. Comparative yield of particles of foot-and-mouth disease virus subtypes A₁₀ and A₂₂ in sucrose density gradient centrifugation. *Indian J. Anim. Health*, 34 (1): 11-14, 1995. In: *Vet. Bull.*, 66 (2): 763, 1996. FMD Research Centre, Indian Veterinary Research Institute, Hebbal, Bangalore-560024, India.
- NATARAJAN, C., MUKHOPADHAYAY, A.K., SHARMA, G.K., SRINIVASAN, V.A. India. In: COPLAND, J.W., GLEESON, L.J., CHAMNANPOOD, C. (Eds.) *Diagnosis and epidemiology of foot-and-mouth disease in Southeast Asia*, Proc. of an international workshop, Lampang, Thailand, 6-9 September 1993. Canberra, Australia, Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR), 1994. pp.142-149.
- NEWMAN, J.F.E., PIATTI, P.G., RYAN, M.D., BROWN, F. Function of minor polypeptides in foot-and-mouth disease virus and poliovirus. *Trends Microbiol.*, 2 (12): 494-497, 1994 In: *Index Vet.*, 64 (3), 1996.

- OHLMANN, T., RAU, M., MORLEY, S.J., PAIN, V.M. Proteolytic cleavage of initiation factor eIF-4 μ in the reticulocyte lysate inhibits translation of capped mRNAs but enhances that of uncapped mRNAs. *Nucleic Acids Research*, 23 (3): 334-340, 1995. School of Biological Sciences, University of Sussex, Brighton BN1 9QG, UK.
- OKETANI, Y., INOUE, T. [Foot and mouth disease control in Uruguay.] (En japonés). *Bull. Natl Inst. Anim. Health*, 101: 47-58, 1995. In: *Index Vet.*, 64 (5), 1996.
- OWEN, J. Epidemiology: control of vesicular diseases. *Pig J.*, 35: 79-82, 1995. In: *Index Vet.*, 64 (5), 1996. MAFF, St. Mary's House, Beverley, North Humberside.
- OZAWA, Y. Strategy options for the control of foot-and-mouth disease in Southeast Asia. In: COPLAND, J.W., GLEESON, L.J., CHAMNANPOOD, C. (Eds.) *Diagnosis and epidemiology of foot-and-mouth disease in Southeast Asia*, Proc. of an international workshop, Lampang, Thailand, 6-9 September 1993. Canberra, Australia, Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR), 1994. pp.79-84.
- PANETTA, J.C. [Survival of foot and mouth disease virus in milk and milk products.] Resistência do vírus da febre aftosa no leite e em produtos derivados. *Higiene Alimentar*, 9 (35): 14-18, 1995. In: *Index Vet.*, 64 (1), 1996.
- PATTNAIK, B., VENKATARAMANAN, R. Comparison of liquid-phase and Mab-blocking ELISA for assessment of the reactivity of monoclonal antibodies to foot-and-mouth disease virus [Correspondence]. *J. Immunol. Methods*, 172 (2): 265-267, 1994. In: *Vet. Bull.*, 66 (1): 139, 1996. Central Foot-and-Mouth Disease Virus Typing Laboratory, Indian Veterinary Research Institute, Mukteswar-Kumaon, Nainital 263138, India.
- PÉREZ FIGUEIRA, D.M., BERINSTEIN, A., SNUTSAART, E., BORCA, M.V., SADIR, A.M. Isotype profiles induced in Balb/c mice during foot and mouth disease (FMD) virus infection or immunization with different FMD vaccine formulations. *Vaccine*, 13 (10): 953-960, 1995. Instituto de Virología, Centro de Investigaciones en Ciencias Veterinarias, INTA-Castelar, CC77, Morón, Pcia. Buenos Aires, Argentina.
- PHUNC, N.X. Vietnam. In: COPLAND, J.W., GLEESON, L.J., CHAMNANPOOD, C. (Eds.) *Diagnosis and epidemiology of foot-and-mouth disease in Southeast Asia*, Proc. of an international workshop, Lampang, Thailand, 6-9 September 1993. Canberra, Australia, Australian Centre for International Agriculture (ACIAR), 1994. pp.197-199.
- PICCONE, M.E., RIEDER, E., MASON, P.W., GRUBMAN, M.J. The foot-and-mouth disease virus leader proteinase gene is not required for viral replication. *J. Virol.*, 69 (9): 5376-5382, 1995. Plum Island Animal Disease Center, North Atlantic Area, Agricultural Research Service, USDA, Greenport, NY 11944, USA.
- PICCONE, M.E., SIRA, S., ZELLNER, M., GRUBMAN, M.J. Expression in *Escherichia coli* and purification of biologically active L proteinase of foot-and-mouth disease virus. *Virus Res.*, 35 (3): 263-275, 1995. Plum Island Animal Disease Center, P.O. Box 848, Greenport, NY 11944, USA.

- PICCONE, M.E., ZELLNER, M., KUMOSINSKI, T.F., MASON, P.W., GRUBMAN, M.J. Identification of the active-site residues of the L proteinase of foot-and-mouth disease virus. *J. Virol.*, 69 (8): 4950-4956, 1995. USDA, ARS, North Atlantic Area, Plum Island Animal Disease Center, Greenport, NY 11944, USA.
- PORTIANSKY, E.L., GONZÁLEZ, P.H. Protective effect of lidocaine in the experimental foot-and-mouth disease pancreatitis. *Experientia*, 51 (11): 1060-1062, 1995. In: *Vet. Bull.*, 66 (6): 3595, 1996. Cátedra de Patología General Veterinaria, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, 60 y 118, 1900 La Plata, Argentina.
- PRATO MURPHY, M.L., RODRÍGUEZ, M., SCHUDEL, A.A., MEYER, R.F. Localization of foot and mouth disease virus RNA in tissue culture infected cells via in situ polymerase chain reaction. *J. Virol. Methods*, 54 (2/3): 173-178, 1995. Instituto de Virología, CICV-INTA, Morón, Argentina.
- RAMARAO, D., RATHORE, B.S. Analysis of reported incidence of foot and mouth disease in Uttar Pradesh during 1980-81 through 1990-91. *Indian J. Comp. Microbiol. Immunol. Infect. Dis.*, 16 (1/2): 14-19, 1995. In: *Index Vet.*, 64 (4), 1996. Indian Veterinary Research Institute, Izatnagar-243 122 (U.P.), India.
- RANA, S.K., NAG, N.C. A study on the antibody response of foot and mouth disease vaccination in cattle. *Indian J. Anim. Health*, 33 (2): 101-104, 1994. In: *Index Vet.*, 64 (2), 1996. Department of Veterinary Microbiology, Bidhan Chandra Krishi Viswavidyalaya, Mohanpur, Nadia, West Bengal, India.
- ROBERTS, P.J., BELSHAM, G.J. Identification of critical amino acids within the foot-and-mouth disease virus leader protein, a cysteine protease. *Virology*, 213 (1): 140-146, 1995. BBSRC Institute for Animal Health, Pirbright, Woking, Surrey, GU24 0NF, UK.
- RODRIGO, M.J., DOPAZO, J. Evolutionary analysis of the picornavirus family. *J. Molecular Evolution*, 40: 362-371, 1995. Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas, CSIC-UPV, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia, España.
- RODRÍGUEZ, A., MARTÍNEZ-SALAS, E., DOPAZO, J., DÁVILA, M., BIGERIEGO, P., SÁIZ, J., SOBRINO, F. Specific diagnosis by PCR of highly variable RNA viruses: typing of foot-and-mouth disease virus. In: BECKER, Y., DARAI, G. (Eds.) *PCR: protocols for diagnosis of human and animal virus diseases*, Berlin, Germany. Springer-Verlag, 1995. pp.453-460. In: *Index. Vet.*, 64 (5), 1996.
- RODRÍGUEZ, A., SÁIZ, J.C., SOBRINO, F. In vitro synthesis of foot-and-mouth disease virus specific antibodies by porcine leukocytes. *Arch. Virol.*, 140 (9): 1645-1652, 1995. Centro de Investigación en Sanidad Animal, INIA, Valdeolmos, Madrid, España.
- RODRÍGUEZ, M., SÁNCHEZ, A., SMITSAART, E., SCHUDEL, A. [Inapparent and persistent infections as a means of natural transmission of aphthovirus.] *Infecciones inaparentes y persistentes como medio de circulación del virus de la fiebre aftosa en la naturaleza. RL4, Rev. Invest. Agropec.*, 25 (3): 103-110, 1994. In: *Vet. Bull.* 66 (2): 761, 1996. Instituto de Virología, CICV, INTA, C.C. 77, Morón (1708), Argentina.

- ROY, P., GANGULY, P., DEBNATH, J., MITRA, A.K. Foot and mouth disease in regularly vaccinated farm cattle with atypical lesions in ears and allergic reaction. *Indian J. Anim. Health*, 33 (2): 135-136, 1994. In: *Index Vet.*, 64 (2), 1996. Haringhata Farm, Mohanpur, Nadia, West Bengal, India.
- RYAN, P. (Ed.). Notifiable diseases. *State Vet. J.*, 5 (3): 1-22, 1995. In: *Vet. Bull.*, 66 (1): 132, 1996. ADVFS, Government Offices, Coley Park, Reading RG1 6DT, UK.
- SAHAL, M., ÖZLEM, M.B., İMREN, H.Y., TANYEL, B. [Relationship between diabetes mellitus and foot and mouth disease in dairy cattle]. (En turco). *Veteriner Fakültesi Dergisi, Ankara Üniversitesi*, 41 (2): 169-181, 1994. In: *Vet. Bull.*, 66 (6): 3592, 1996. Veteriner Fakültesi, Ankara Üniversitesi, Ankara, Turkey.
- SALT, J., SAMUEL, A., KITCHING, P. Observations on phenotype and local cellular immune responses in cattle persistently infected with foot and mouth disease virus. In: SCHWYZER, M., ACKERMANN, M. (Eds.) *Immunobiology of viral infections*, Proc. 3rd Congress of the European Society for Veterinary Virology Interlake, Switzerland, 4-7 September 1994. Lyon, France, Foundation Marcel Merieux, 1995. pp.205-210. BBSRC Institute for Animal Health, Ash Road, Pirbright, Surrey GU24 0NF, UK.
- SANSON, R. EpiMAN - a decision support system for managing a foot and mouth disease epidemic. *Surveillance (Wellington)*, 21 (1): 22,24, 1994. In: *Index Vet.*, 64 (1), 1996.
- SASAKI, M. Patterns of national and international livestock movement in Southeast Asia: implication for a regional foot-and-mouth disease control program. In: COPLAND, J.W., GLEESON, L.J., CHAMNANPOOD, C. (Eds.) *Diagnosis and epidemiology of foot-and-mouth disease in Southeast Asia*, Proc. of an international workshop, Lampang, Thailand, 6-9 September 1993. Canberra, Australia, Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR), 1994. pp.75-78.
- SCHIAPPACASSI, M., RIEDER ROJAS, E., CARILLO, E., CAMPOS, R. Response of foot-and-mouth disease virus C, Resende to immunological pressure exerted in vitro by antiviral polyclonal sera. *Virus Res.*, 36 (1): 77-85, 1995. Cátedra de Virología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Junín 956, 1113 Capital Federal, Argentina.
- SCICLUNA, L., SCHAFFNER, R., BRUCKNER, L., McCULLOUGH, K.C. Analysis of parameters of immunological importance in protected and unprotected cattle following foot and mouth disease virus (FMDV) infection. In: SCHWYZER, M., ACKERMANN, M. (Eds.) *Immunobiology of viral infections*, Proc. 3rd Congress of the European Society for Veterinary Virology Interlake, Switzerland, 4-7 September 1994. Lyon, France, Foundation Marcel Merieux, 1995. pp.192-196. In: *Vet. Bull.*, 66 (6): 3596, 1996. Institute of Virology and Immunoprophylaxis, Mittelhäusern, Switzerland.
- SHARMA, P. Use of geographic information systems in animal health information programs. In: COPLAND, J.W., GLEESON, L.J., CHAMNANPOOD, C. (Eds.) *Diagnosis and epidemiology of foot-and-mouth disease in Southeast Asia*, Proc. of an international workshop, Lampang, Thailand, 6-9 September 1993. Canberra, Australia, Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR), 1994. pp.119-125.
- SILVESTRI, A. [Foot and mouth disease. The problem of compensation in world trade.] (En italiano). *Atti della Società Italiana di Buitraria* 27: 125-130, 1995. In: *Index Vet.*, 64 (1), 1996.

- SINGH, S.V., SHANKAR, H., SINGH, N., SHARMA, S.K., SINHA, N.K. Outbreak of foot and mouth disease causing heavy mortality in small ruminants. *Indian J. Comp. Microbiol. Immunol. Infect. Dis.*, 15 (1/2): 26-30, 1994. In: *Index Vet.*, 64 (2), 1996. Central Institute for Research on Goats, Makhdoom, P.O. Farah-281122, Mathura, Uttar, Pradesh, India.
- SOEHADJI, MALOLE, M., SETYANINGSIH, H. The experience of Indonesia in the control and eradication of foot-and-mouth disease. In: COPLAND, J.W., GLEESON, L.J., CHAMNANPOOD, C (Eds.) *Diagnosis and epidemiology of foot-and-mouth disease in Southeast Asia*, Proc. of an international workshop, Lampang, Thailand, 6-9 September 1993. Canberra, Australia, Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR), 1994. pp.64-69.
- SPÄTH, E.J.A., SMITSAART, E., CASARO, A.P.E., FONDEVILA, N., FERNÁNDEZ, F., LEUNDA, M.R., COMPAIRED, D., BUFFARINI, M., PESSI, H. Immune response of calves to foot-and-mouth disease virus emulsified with oil adjuvant. Strategies of vaccination. *Vaccine*, 13 (10): 909-914, 1995. Instituto de Virología, Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias, INTA, Castelar, CC 77 (1708) Morón, Provincia de Buenos Aires, Argentina.
- STRAM, Y., CHAI, D., FAWZY, H.E.D., MOLAD, T., MEIRI, N., VAN-HAM, M., EL-KILANI, S., FAHAMY, F., MOUSSA, A.A.M., YADIN, H. Molecular epidemiology of foot-and-mouth disease in Israel in 1994 and in other Middle-Eastern countries in the years 1992-1994. *Arch. Virol.*, 140 (10): 1791-1797, 1995. In: *Vet. Bull.*, 66 (2): 762, 1996. Division of Virology, Kimron Veterinary Institute, P.O. Box 12, Beit-Dagan 50150, Israel.
- STRAM, Y., MOLAD, T., CHAI, D., GELMAN, B., YADIN, H. Detection and subtyping of foot-and-mouth disease virus in infected cattle by polymerase chain reaction and amplified VP1 sequencing. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 7: 52-55, 1995. Immunology and Virology Division, Kimron Veterinary Institute, P.O. Box 12, Beit-Dagan 50250, Israel.
- STRAUB, O.C. Foot and mouth disease. Challenge of cattle after multiple vaccinations. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 18 (4): 253-257, 1995. In: *Vet. Bull.*, 66 (1): 131, 1996. BFAV, P.O. Box 1149, D-72001 Tübingen, Germany.
- STROHMAIER, K., STRAUB, O.D. [What will be the consequences of stopping general vaccination against foot and mouth disease? II. Outcome of general vaccination.] (En alemán). *Tierärztliche Umschau*, 50 (2): 93-96, 101-102, 1995. In: *Index Vet.*, 64 (6), 1996.
- STROHMAIER, K., STRAUB, O.C. [What will be the consequences of stopping general vaccination against foot and mouth disease? III. The change in control strategy.] (En alemán). *Tierärztliche Umschau*, 50 (3): 147-152, 1995. In: *Index Vet.*, 64 (6), 1996.
- SUAN, S., SIVETH, S. Cambodia. In: COPLAND, J.W., GLEESON, L.J., CHAMNANPOOD, C. (Eds.) *Diagnosis and epidemiology of foot-and-mouth disease in Southeast Asia*, Proc. of an international workshop, Lampang, Thailand, 6-9 September 1993. Canberra, Australia, Australian Centre for International Agriculture (ACIAR), 1994. pp.135-141.
- TEKERLEKOV, P., IVANOV, Y., LIKOV, B. Epidemiological analysis of the last two foot-and-mouth disease outbreaks in Bulgaria in 1991 and in 1993. In: SCHWYZER, M., ACKERMANN, M. (Eds.) *Immunobiology of viral infections*, Proc. 3rd Congress of the European Society for Veterinary Virology Interlaken, Switzerland, 4-7 September 1994. Lyon, France, Foundation Marcel Merieux, 1995. pp.446-450. In: *Vet. Bull.*, 66 (7): 4441, 1996. Institute for Control of Veterinary Preparations, 1 Rabotnicheska clasa Str, 1342 Sofia, Bulgaria.

- TERPSTRA, C., DEKKER, A., BARTELING, S.J., MANNEN, C. van. Antibody kinetics and protection of pigs vaccinated with oil emulsion adjuvanted foot and mouth disease vaccines. In: POOMVISES, P., INGKANINUN, P. (Eds.) *Proc. 13th International Pig Veterinary Society Congress*, Bangkok, Thailand, 26-30 June 1994. Bangkok, Thailand, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, 1994. p.38. In: *Index Vet.*, 64 (2), 1996.
- THOMPSON, G.R. Overview of foot and mouth disease in Southern Africa. In: *Foot and mouth disease, African horse sickness and contagious bovine pleuropneumonia*, OIE Scientific Conference, Gaborone, Botswana, 20-23 April 1994, summaries and conclusions. Paris, France, Office International des Epizooties, 1994. pp.3-4. In: *Index Vet.*, 64 (1), 1996.
- THOMPSON, G.R. Overview of foot and mouth disease in southern Africa. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 14 (3): 503-520, 1995. Institute for Exotic Diseases, Private Bag X6, 0110 Onderstepoort, South Africa.
- TORRES, P., ANTOGNOLI, M., MOREIRA, A.R., KANTOR, I.N. de. [The national foot and mouth disease eradication programme and the diagnosis of tuberculosis in cattle.] El plan nacional de control y erradicación de fiebre aftosa y el diagnóstico de la tuberculosis en bovinos. *Rev. Med. Vet. (Buenos Aires)*, 76 (3): 147-149, 1995. In: *Vet. Bull.*, 66 (1): 130, 1996. Servicio Nacional de Sanidad Animal, Gerencia de Luchas Sanitarias, GELSA-SENASA, Av. Paseo Colón 367, (1330) Buenos Aires, Argentina.
- TWOMEY, T., FRANCE, L.L., HASSARD, S., BURRAGE, T.G., NEWMAN, J.F.E., BROWN, F. Characterization of an acid-resistant mutant of foot-and-mouth disease virus. *Virology*, 206 (1): 69-75, 1995. USDA, Plum Island Animal Disease Center, Greenport, NY 11944, USA.
- TWOMEY, T., NEWMAN, J., BURRAGE, T., PIATTI, P., LUBROTH, J., BROWN, F. Structure and immunogenicity of experimental foot-and-mouth disease and poliomyelitis vaccines. *Vaccine*, 13 (16): 1603-1610, 1995. USDA, Plum Island Animal Disease Center, Greenport, NY 11944, USA.
- VINAS, Y.G., MONDIA. Philipines. In: COPLAND, J.W., GLEESON, L.J., CHAMNANPOOD, C. (Eds.) *Diagnosis and epidemiology of foot-and-mouth disease in Southeast Asia*, Proc. of an international workshop, Lampang, Thailand, 6-9 September 1993. Canberra, Australia, Australian Centre for International Agriculture (ACIAR), 1994. pp.181-188.
- VOSLOO, W. Molecular epidemiology of SAT type foot and mouth disease viruses in buffalo (*Syncerus caffer*) in South Africa. In: *Foot and mouth disease, African horse sickness and contagious bovine pleuropneumonia*, OIE Scientific Conference, Gaborone, Botswana, 20-23 April 1994, summaries and conclusions. Paris, France, Office International des Epizooties, 1994. p.7. In: *Index Vet.*, 64 (1), 1996.
- VOSLOO, W., KIRKBRIDE, E., BENGIS, R.G., KEET, D.F., THOMSON, G.R. Genome variation in the SAT types of foot-and-mouth disease viruses prevalent in buffalo (*Syncerus caffer*) in the Kruger National Park and other regions of southern Africa, 1986-93. *Epidem. Infect.*, 114: 203-218, 1995. Foot-and-Mouth Disease Laboratory, Private Bag X6, Onderstepoort 0110, South Africa.

WALT, N.T. van der, THOMSON, G.R. Survival of foot and mouth disease virus in impala (*Aepyceros melampus*) tissues. In: *Foot and mouth disease, African horse sickness and contagious bovine pleuropneumonia*, OIE Scientific Conference, Gaborone, Botswana, 10-23 April 1994, summaries and conclusions. Paris, France, Office International des Epizooties, 1994. pp.10-11. In: *Index Vet.*, 64 (1), 1996.

WOODBURY, E.L. A review of the possible mechanisms for the persistence of foot-and-mouth disease virus. *Epidemiol. Infect.*, 114: 1-13, 1995. World Reference Laboratory for FMD, Institute for Animal Health, Pirbright Laboratory, Ash Road, Pirbright, Surrey GU24 0NF, UK.

WOODBURY, E.L., IIOTT, M.C., BROWN, C.C., SALT, J.S. Optimization of an in situ hybridization technique for the detection of foot-and-mouth disease virus in bovine tissues using the digoxigenin system. *J. Virol. Methods*, 51 (1): 89-., 1995. World Reference Laboratory for FMD, Institute for Animal Health, Pirbright Laboratory, Ash Road, Pirbright, Surrey GU24 0NF, UK.

WOODBURY, E.L., SAMUEL, A.R., KNOWLES, N.J. Serial passage in tissue culture of mixed foot-and-mouth disease virus serotypes. *Arch. Virol.*, 140 (4): 783-787, 1955. Institute for Animal Health, Pirbright Laboratory, Pirbright, UK.

ZIEGLER, E., BORMAN, A.M., KIRCHWEGER, R., SKERN, T., KEAN, K.M. Foot-and-mouth disease virus Lb proteinase can stimulate rhinovirus and enterovirus IRES-driven translation and cleave several proteins of cellular and viral origin. *J. Virol.*, 69 (6): 3465-3474, 1995. Unité de Virologie Moléculaire (CNRS URA 1966), Institut Pasteur, 25 rue du Dr. Roux, 75724 Paris cedex 15, France.

Boletín del Centro Panamericano de Fiebre Aftosa

Invitación a los autores

El BOLETÍN del Centro Panamericano de Fiebre Aftosa es una revista del Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (OPS/OMS). En ella se publican trabajos que se juzgan de interés para las actividades relacionadas con los programas de prevención o de lucha contra la fiebre aftosa y otras enfermedades virales de los animales. Los autores que deseen publicar sus trabajos en esta revista deberán someterlos a la consideración del Comité Editorial, en cualquiera de los siguientes formatos o presentaciones:

Trabajo: Investigación original, presentada en forma completa, con las divisiones tradicionales: Introducción; Material y Métodos; Resultados; Discusión; Conclusiones; Referencias y Agradecimientos. Además, debe tener un Resumen de no más de 250 palabras.

Comunicación breve: Trabajo científico completo, de no más de 6 ó 7 páginas. Los resultados y discusiones pueden presentarse juntamente con los datos y 1 ó 2 cuadros como máximo.

Comunicación preliminar: Pequeño resumen de un trabajo que está en ejecución; de 3 ó 4 páginas de extensión y con no más de 2 cuadros.

Trabajo de revisión: Formato flexible.

Idiomas: Los artículos pueden ser en español, inglés o portugués y se publicarán solamente en el idioma original entregado por los autores. Los resúmenes serán traducidos y publicados en los otros dos idiomas. La versión en inglés de los artículos en español o portugués se publicará solamente cuando sea entregada por los autores.

Instrucciones a los autores

1. Todos los trabajos que se presenten para su publicación en el BOLETÍN deben estar escritos a máquina, a doble espacio, en un sola cara de papel, tamaño carta (28 x 22cm).
2. En una hoja separada se detallarán: Apellido y nombre o iniciales del autor (o autores), cargo oficial y nombre de la institución (si pertenece a alguna) y dirección.
3. Las ilustraciones y cuadros, numerados con números arábigos, con sus respectivas leyendas y títulos, se incluirán en páginas aparte, numerados en forma consecutiva y agrupados al final del trabajo, con indicación del lugar donde deben ser incluidos.
4. Las referencias citadas deben presentarse en lista separada, por orden alfabético y con los números que les corresponden en el texto.
5. El Editor responsable se reserva el derecho de aceptar o rechazar la publicación de un trabajo, así como de realizar cualquier modificación editorial, como ser: la condensación u omisión de parte del texto, cuadros, ilustraciones o anexos. Los originales no se devuelven en ningún caso.
6. Publicado el trabajo, cada autor recibirá gratuitamente un ejemplar del volumen correspondiente del Boletín.

Editor responsable: Dr. Vicente Astudillo, Director

Pan American Foot-and-Mouth Disease Center Bulletin

Invitation to Contributors

The BOLETIN is a journal of the Pan-American Foot-and-Mouth Disease Center (PAHO/WHO). It publishes articles relating to all aspects of work in laboratory, field and program activities of foot-and-mouth disease and other viral diseases in animals. The Director invites contributors to submit their work to the Editorial Committee in the most appropriate of the following formats:

Article: full-length scientific work, reporting on original research, with traditional divisions of Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Conclusions, References and Acknowledgments. An abstract of no more than 250 words should accompany the article.

Brief Report: short (6-7 typewritten pages) complete scientific work: results and discussion can be presented with the data, which should be limited to 2 tables.

Preliminary Communication: short summary of work in progress; 3-4 pages; maximum of 2 tables.

Review Article: on both general and specific topics, flexible format.

Languages: Articles may be in Spanish, English or Portuguese and will be published only in the original language submitted by the authors. Summaries will be translated and published in the other two languages. The English version of articles in Spanish or Portuguese will be published only when submitted by the authors.

Instructions to Authors

1. All manuscripts presented to the BOLETIN should be typewritten and double-spaced on one side of 28 x 22 cm paper.
2. Author's name, title, institution and address should be given on a separate sheet.
3. Figures and tables (arabic numbers) with appropriate captions and titles should be included on separate pages, numbered consecutively and attached at the end of the text with an indication of where they belong.
4. References cited should be listed separately in alphabetical order with appropriate reference numbers in the text.
5. The Editor reserves the right to accept or reject any Manuscript which is submitted, with the understanding that it is subject to editorial revision, including, where necessary, condensation of the text and omission of tabular and illustrative material, etc.
6. Authors will receive the corresponding Boletin.

Editor: Dr. Vicente Astudillo, Director