
BOLETIN

del centro panamericano
de fiebre aftosa

Nº 7, julio-agosto-septiembre, 1972
No. 7, July-August-September, 1972

	contenido
	contents
	p.
Fiebre aftosa	1
<i>Howard L. Bachrach</i>	
Empleo de la etileneimina y la propileneimina como agentes inactivantes del virus de la fiebre aftosa	41
<i>Hans G. Bahnmann</i>	
Diferenciación entre una enfermedad vesicular de cerdos y la fiebre aftosa en Hong Kong	42
<i>Mowat, G.N., Darbyshire, J.H., Huntley, J.F.</i>	
Resúmenes • Abstracts	49
Bibliografía sobre enfermedades vesiculares Vesicular diseases bibliography	66
Informaciones • News	69

FIEBRE AFTOSA*

Howard L. Bachrach**

CONTENIDO

HISTORICO	2
DIAGNOSTICO	2
<i>Síntomas clínicos</i>	3
<i>Diagnóstico por inoculaciones de animales</i>	3
<i>Tipificación y subtipificación</i>	3
TRANSMISION	6
<i>Vectores</i>	6
<i>Transmisión indirecta</i>	6
<i>Latencia</i>	7
MEDIDAS DE CONTROL	8
<i>Rifle sanitario</i>	8
<i>Cuarentena y vacunación</i>	9
<i>Vacunación sistemática</i>	9
INMUNOLOGIA	10
<i>Inmunidad después de infección</i>	10
<i>Inmunidad pasiva</i>	10
<i>Vacunas inactivadas</i>	10
<i>Vacunas de virus vivo modificado</i>	12
EXPERIENCIAS SOBRE LAS RELACIONES VIRUS-HUESPED	14
<i>Infecciosidad y susceptibilidad</i>	14
<i>Ratones</i>	14
<i>Cultivos de tejido</i>	16
<i>Variabilidad</i>	17
<i>Interferón</i>	19
BIOQUIMICA DEL VIRUS AFTOSO	20
<i>Reactividad química y física</i>	20
<i>Estructura del virus</i>	26
<i>Ciclo biosintético</i>	30
<i>Antígenos y anticuerpos</i>	33
CONCLUSION	35
REFERENCIAS	35

* Este trabajo fue publicado en *Annual Review of Microbiology* 22: 201-244, 1968, y traducido por el CENTRO PANAMERICANO DE FIEBRE AFTOSA con la autorización de la ANNUAL REVIEWS INC. a la que pertenecen los derechos de autor.

** Dirección del autor: Plum Island Animal Disease Laboratory, Post Office Box 848, Greenport, Long Island, New York 11944, USA.

Esta reseña sobre la fiebre aftosa, aunque amplia en su ámbito, no pretende tratar ningún tema profundamente. Sin embargo, para proporcionar adecuada cobertura del problema, se han citado muchos trabajos ya clásicos, aunque el mayor énfasis ha sido puesto sobre los acontecimientos más recientes. La literatura revisada comprende hasta noviembre de 1967 inclusive, y también han sido incluidos algunos trabajos que todavía están en vías de publicación. De esta manera el autor se disculpa por cualquier omisión o error cometidos.

HISTORICO

En 1514 Fracastorius (1) describió la ocurrencia de un brote de una enfermedad en bovinos la cual era probablemente idéntica a la fiebre aftosa. Los animales rehusaban alimentarse y el interior de sus bocas se encontraba enrojecido y con pequeñas vesículas que posteriormente descendieron a las patas. La mayoría de los animales que mostraron tales síntomas se recuperó. Se pensó que el contagio difundido desde la provincia de Friaul hacia el distrito de Euganean y posteriormente hasta Verona fue diseminado primordialmente por el aire, aunque otros medios tales como el agua y fangales, no fueron excluidos. Esta descripción hecha hace más de 400 años, en latín, tiene una sorprendente semejanza con las efectuadas hoy día. Sin embargo, no fue sino hasta 1897 que Loeffler y Frosch lograron demostrar que la fiebre aftosa era causada por un virus filtrable (2).

La fiebre aftosa tiene la reputación de ser la enfermedad más temida del ganado doméstico, principalmente por causa de su amplia distribución, extrema contagiosidad, y efecto perjudicial en el ganado de pezuña hendida. Los mayores daños son provocados en bovinos y porcinos, y se deben más al deterioro que disminuye la productividad de los animales en un 25% aproximadamente, que a la mortalidad de los mismos (3). Esta última en bovinos, alcanza generalmente a menos de 5%, pero puede llegar hasta 50% cuando el virus invade el músculo cardíaco, como ocurre frecuentemente en animales jóvenes.

Desde la época de Fracastorius, la fiebre aftosa apareció prácticamente en todas partes del mundo, y en momentos de preparar este trabajo (diciembre de 1967), Inglaterra sufre una de las mayores epizootias: hasta la fecha más de 420 000 animales infectados o expuestos han sido sacrificados (4). Aunque la enfermedad es enzoótica en todos los continentes, con excepción de Australia y Norte América, nunca se presentó en Nueva Zelandia por causa de su aislamiento geográfico y una efectiva vigilancia. En Australia ocurrió por la última vez en 1872, en Canadá en 1952, y en México en 1953. En los Estados Unidos de Norteamérica ocurrieron 9 brotes, el primero en 1870 y el último en 1929; su ausencia desde aquella época parece estar correlacionada con el "Smoot-Hawley Tariff Act" de 1930 que impuso severas restricciones a la importación de ganado susceptible, carne fresca, y productos de origen animal de países en donde existe fiebre aftosa. Sin duda la enfermedad pudo haberse diseminado por Estados Unidos de Norteamérica durante la epizootia ocurrida de 1946-1953 en México, si no hubiera sido por la campaña de control y erradicación llevada a cabo conjuntamente por los gobiernos de México y E.U.A., en la cual solamente éste último país invirtió por lo menos 130 millones de dólares.

DIAGNOSTICO

La política de los Estados Unidos de sacrificar animales para erradicar la fiebre aftosa cuando ésta ocurre, torna más importante el diagnóstico rápido y preciso en este país que en

aquellos otros en donde la enfermedad es enzoótica. El diagnóstico se hace por los síntomas clínicos, por medio de huéspedes susceptibles al virus, y por métodos serológicos e inmunológicos.

Síntomas clínicos

La enfermedad es caracterizada por la formación de vesículas en las membranas mucosas de la boca, de la nariz, y de la piel entre las pezuñas y en el borde superior de estas (5). Bovinos, porcinos, ovinos y caprinos, en este orden, son las especies más frecuentemente afectadas, aunque todos los rumiantes y los animales de pezuña hendida son susceptibles. En bovinos se observan las vesículas más frecuentemente sobre la lengua y las patas; en las vacas lecheras o que amamantan, las vesículas pueden aparecer también sobre las ubres y pezones. Además, en la necropsia se observan con frecuencia lesiones en el rumen y en el corazón. En porcinos la mayoría de las lesiones se encuentran en las patas u hocicos. En ovinos, caprinos y ciervos, las lesiones de las patas son sintomáticas; mientras que las de la boca pueden ser pequeñas y pasar inadvertidas. En bovinos existe generalmente un fuerte babeo de saliva espumosa, y el epitelio elevado que cubre las vesículas linguales se rompe invariablemente y descama, dejando grandes áreas de tejido vivo al descubierto. El dolor de la boca dificulta severamente o impide la alimentación de los animales, y las lesiones en las patas, usualmente invadidas por bacterias, provocan cojera.

Diagnóstico por inoculaciones de animales

El diagnóstico basado sólo en síntomas clínicos es complicado por el hecho de que otras dos enfermedades virales del ganado, estomatitis vesicular y exantema vesicular porcina, producen lesiones muy difíciles de distinguir de aquellas de la fiebre aftosa; sin embargo, se puede hacer un diagnóstico exacto basándose en la susceptibilidad diferente de los caballos y de los bovinos frente a estas enfermedades (6). Caballos inoculados por vía intradermolingual (IDL) son resistentes a la fiebre aftosa, susceptibles a la estomatitis vesicular, y resistentes o sólo levemente afectados por el exantema vesicular porcino. Bovinos inoculados por la misma vía son susceptibles a la fiebre aftosa y estomatitis vesicular, pero no al exantema vesicular porcino; cuando el virus es introducido por vía intramuscular ellos adquieren la fiebre aftosa pero no ocurre lo mismo con los virus de la estomatitis vesicular o del exantema vesicular del cerdo. Cobayos inoculados en el cojinete plantar muestran frecuentemente el mismo tipo de susceptibilidad como los bovinos inoculados por vía IDL, dependiendo de las cepas de virus aftoso utilizadas; algunas cepas necesitan adaptación antes de producir lesiones significativas.

Tipificación y subtipificación

Antes de 1943, la tipificación del virus aftoso dependía de pruebas de inmunidad cruzada hechas en cobayos, o con menor frecuencia, en bovinos. La tipificación de virus aftoso se hace principalmente por métodos serológicos, que consisten en fijación de complemento y la neutralización de virus por anticuerpos. Las técnicas de inmunodifusión no son suficientemente cuantitativas para una tipificación rutinaria (7, 8) pero son preferibles para la clasificación de antígenos específicos y de anticuerpos en fiebre aftosa (9, 10). A este respecto, la detección de anticuerpos contra el antígeno asociado con la infección viral (VIA) sea por difusión en agar gel (11) o por inmunofluorescencia (12, 13), demuestra que el animal ha sufrido más bien los

efectos de una forma de replicación del virus aftoso que de una vacuna inactivada. Se conocen siete tipos inmunológicos del virus aftoso: los tipos llamados clásicos O, A y C (14, 15); los tipos sudafricanos SAT₁, SAT₂ y SAT₃ (16); y un tipo que se presenta en varios países asiáticos, denominado ASIA₁ (17, 18). Los tres tipos clásicos fueron identificados en Europa, pero uno, o más de uno de ellos, está presente ahora en la mayoría de las otras áreas afectadas.

La prueba de fijación de complemento, útil para diferenciar fiebre aftosa de estomatitis vesicular y exantema vesicular porcino, identificar tipos y subtipos del virus aftoso, y cuantificar antígenos y anticuerpos fijadores de complemento, es el principal método utilizado por el Laboratorio Mundial de Referencia en Pirbright, Inglaterra, para tipificar ocurrencias de virus. La prueba de fijación de complemento fue utilizada por la primera vez en 1929 por Ciuca (19) para tipificar antisueros y virus aftoso provenientes de cobayos. Virus de origen bovino fue tipificado con éxito por Traub y Möhlmann (20) en 1943, utilizando antisueros de cobayos, y por Marucci (21) en 1957 y por Savan (22) en 1959 con antisueros bovinos. En 1953 Race y Brooksby (23) informaron sobre una prueba indirecta de fijación de complemento con antisueros bovinos.

Los subtipos del virus aftoso descubiertos en 1926 por Waldmann y Trautwein (15) por medio de métodos inmunológicos, fueron definidos originalmente como cepas dentro de un tipo que, debido a diferencias antigénicas, no provocaron una inmunización cruzada completa. Actualmente, por conveniencia y economía, la agrupación de antígenos por subtipo se apoya más fuertemente en las diferencias existentes en la actividad fijadora de complemento, como fue demostrado por primera vez en 1946 por Traub y Möhlmann (24) para el virus de origen bovino. En general, las pruebas de fijación de complemento se efectúan a 37° C durante 30 minutos, utilizando todas las combinaciones homólogas y heterólogas entre cepas de virus implicados y antisueros de cobayos específicos para cada cepa. Los coeficientes de fijación cruzada son determinados en función del complemento fijado por suero heterólogo: complemento fijado por suero homólogo. Se considera que dos cepas poseen poca diferencia antigénica y se los coloca en el mismo grupo de subtipo, cuando el valor de sus coeficientes de fijación cruzada es de 0,5 o mayor (25); valores de 0,2 a 0,5 indican una diferencia significativa, y de 0,05 a 0,2 muestran una gran diferencia (26). Basándose en estas definiciones, 53 subtipos que abarcan grupos de: veintitres A, diez O, cuatro C, siete SAT₁, tres SAT₂, cuatro SAT₃ y dos ASIA₁ son reconocidos por el Laboratorio Mundial de Referencia (4, 25, 27, 28). Usualmente son identificados con un número colocado al pie de la letra correspondiente al tipo, o sea, A₁, A₂, A₃,—A_n.

Para confirmar los resultados de tipificación obtenidos por fijación de complemento se efectúan neutralizaciones cruzadas entre virus de varias cepas y antisueros específicos contra una cepa determinada. Animales y cultivos de tejido altamente sensibles a la infección viral son utilizados para ensayar las mezclas suero-virus. Brooksby (29) Skinner (en 18) hallaron que el título de neutralización de anticuerpos de sueros de bovinos convalecientes es 10 ó 100 veces menor cuando se inoculan mezclas de suero-virus en puntos múltiples sobre la lengua de bovinos, que cuando son ensayados en ratones lactantes. Esta discrepancia fue atribuida más a las diversas vías de inoculación que a cualquier diferencia entre las especies de animales; una diferencia adicional fue la relación de neutralización del virus que era curvilínea en bovinos y lineal en ratones. En consecuencia, los ratones son ampliamente utilizados en pruebas de neutralización de virus aftoso. En 1954, Brooksby y Wardle (30) diseñaron una prueba cuantitativa de neutralización dependiente del desarrollo del virus, en fragmentos de epitelio lingual bovino sobreviviente, o sea, cultivos tipo Frenkel. Suspensiones de tejido, contenidas en hileras de depresiones en forma de cubetas en placas de plexiglass, son inoculadas con mezclas de suero-virus e incubadas a 37° C durante tres días. Después de este período se investiga la presencia o ausencia de antígenos capaces de reaccionar con anticuerpos fijadores de complemento.

Van Bekkum *et al.* (31) utilizaron mucho esta prueba para determinar la presencia de anticuerpos neutralizantes en sueros bovinos. Los cultivos de tejido fueron utilizados en pruebas de neutralización de acuerdo con las técnicas publicadas en 1955 por Sellers (32) y Bachrach *et al.* (33) quienes describieron el efecto citopatogénico del virus de la fiebre aftosa en cultivos en estratos simples de células renales de porcinos y bovinos y la inhibición de dicho efecto por antisueros homólogos. Se utilizan tres variaciones de pruebas de neutralización en cultivos de tejido dependiendo de la precisión requerida y del número de las mismas a efectuar. Estas pruebas son en orden decreciente de precisión: la reducción del tamaño de la placa, inhibición de citopatogenicidad y pruebas colorimétricas de inhibición metabólica (34). La neutralización en esta última prueba, la cual es efectuada en cultivos de tejido de células dispersadas por tripsina contenidas en depresiones cóncavas de láminas plásticas blancas, provoca, después de tres días de cultivo, una acidificación del medio mucho más intensa que aquella observada cuando el virus se multiplica activamente. Este cambio es detectado por un indicador de pH.

Generalmente, se ha obtenido una buena correlación en la determinación de subtipos a través de pruebas de fijación (de complemento), neutralización, e inmunización cruzadas, como por ejemplo las descritas en los estudios de Galloway *et al.* (35) para dos subtipos del A (Pirbright 119 y México MP), como también para pares de cepas semejantes y no semejantes del virus SAT₁ (18). Hyslop *et al.* (36) también han encontrado correlaciones entre las tres pruebas para diversas cepas del SAT₁ cuando se efectuó una inmunización cruzada en un gran número de bovinos. Traub *et al.* (37) obtuvieron buena correlación entre fijación cruzada y neutralizaciones cruzadas en cultivos de tejidos para variantes de virus tipos A y O encontrados en Irán desde 1963 hasta 1966, confirmando estudios anteriores que establecieron que las variaciones en la capacidad de fijar el complemento entre los subtipos dependía de cada uno de ellos, por ejemplo: antisuero A-Turquía reaccionó con antígeno A-Teherán en diluciones más elevadas que antisuero A-Teherán con antígeno A-Turquía. Las fijaciones cortas durante 30 minutos a 37° C pusieron más claramente en evidencia las diferencias entre subtipos que las fijaciones en frío durante la noche, mientras que este último método es preferible para detectar los antígenos comunes que reaccionan con anticuerpos fijadores de complemento, los cuales son compartidos por todos los tipos de virus de la fiebre aftosa. En 1964, Wittmann (38) demostró que un antígeno común estaba presente en cantidades variables en los grupos de subtipos O. Este antígeno fue activo tanto en pruebas de neutralización como de inmunización, pero desaparecía completa o parcialmente cuando el virus era inactivado con formalina antes de la prueba. En 1966, el mismo investigador informó que cobayos inoculados con un virus de un subtipo A dado desarrollaron una inmunidad sólida contra otros subtipos del A y ocasionalmente para tipo C, pero no para los virus tipo O; las pruebas de neutralización cruzada en ratones lactantes fueron más específicas que las de inmunización cruzada.

Ahora está claro que muchas discrepancias, con respecto a la especificidad, entre fijación de complemento, neutralización, inmunización e infección son reales y se basan en el hecho de que varios antígenos y anticuerpos se encuentran en proporciones diferentes en estas pruebas (ver Antígenos y Anticuerpos). Por ejemplo, existirán diferencias cuantitativas en por lo menos dos antígenos (75 S y VIA) y un anticuerpo (anti-VIA) dependiendo del hecho, si el animal ha respondido contra una forma del virus inactivado o en replicación (atenuada o virulenta) (11, 39). Además, viriones 140 S parcialmente degradados en subunidades proteicas 12 S, pierden alguna especificidad, y anticuerpos 19 S tempranos no fijan complemento.

TRANSMISION

Vectores

La transmisión de la fiebre aftosa se hace principalmente por medio del animal infectado, especialmente durante la fase febril temprana cuando el virus está presente en la sangre y en todos los órganos, tejidos, secreciones (saliva, lágrima, leche y semen), y excreciones (sudor, orina, heces). La diseminación de la fiebre aftosa entre animales en estrecha proximidad probablemente ocurre principalmente a través de virus contenido en la saliva y en las lesiones podales, que permanecen infecciosas durante 9 a 11 días después de la infección (40). Hyslop (41) halló hasta 10^4 DI_{50} ratón/ml de virus en la saliva bovina 16 horas después de la infección y antes de la formación de vesículas. Después de aparecer las vesículas, hasta 10^6 dosis estaban presentes a las 24 horas y $10^{8,5}$ dosis a las 38 horas. Cottral *et al.* (42) demostraron la presencia de virus aftoso en el semen antes de la aparición de síntomas clínicos y durante un período tan prolongado como 10 días después de inoculación, y demostraron que la enfermedad puede ser transmitida con la inseminación artificial.

No se identificó ningún insecto que sea vector importante en la diseminación de la fiebre aftosa y tampoco es probable que exista alguno, por cuanto la transmisión no es dependiente de la estación o de la geografía, y las propiedades del virus son aquellas de un subgrupo picorna, más sensible a las enzimas y al pH que el grupo arbovirus. En garrapatas previamente alimentadas en animales infectados (43, 44) se observó una prolongada permanencia del virus y su pasaje transovariano. Sin embargo, existen pocos informes sobre la transmisión de la enfermedad de garrapatas para bovinos (43).

Transmisión indirecta

El virus excretado, el virus en sangre seca, en reses muertas, sobre heno, tierra, madera, ropas y otros objetos, persiste durante largos intervalos, sirviendo como reservorio de infección (5, 43). Si bien la saliva refrigerada pierde 99% de su infecciosidad dentro de 35 días, el 1% residual tiene una mayor resistencia a la inactivación [Scott *et al.* (40)]. En la maduración normal de la carne de los novillos a 4° C, el pH en el tejido muscular baja a 5,3 - 5,7 dentro de 72 horas (45), causando en pocos días, la inactivación de virus en el músculo (46). El congelamiento rápido de carne fresca, sin embargo, impide la producción de ácido, y el virus puede sobrevivir durante un período que puede prolongarse hasta seis meses. Los nódulos linfáticos, los coágulos de sangre en grandes vasos sanguíneos, y la médula ósea, aun estando muy próximos del músculo no se acidifican tanto: cuando el pH del músculo es 5,5, el pH en los nódulos linfáticos adyacentes puede ser 6,6 (45). Tal como había sido pronosticado, el virus fue encontrado en la médula ósea y nódulos linfáticos de carne bovina refrigerada durante un largo período como de seis meses (47), y en los coágulos sanguíneos de carne de cerdo almacenada por más de dos meses (48).

La fiebre aftosa puede ser diseminada de muchas maneras a partir de materiales contaminados: por medio de animales y pájaros silvestres, camiones, equipos agrícolas, barcos, ropas o personas. La importación de carne fresca y de productos de origen animal provenientes de países afectados por la fiebre aftosa y la descarga de basuras crudas de los barcos fueron considerados responsables de los brotes ocurridos en los Estados Unidos, Inglaterra y otros países que necesitan de tales importaciones. En Europa, los pájaros (5) y vientos (4, 49) han sido implicados en el transporte de virus a largas distancias sobre territorios y mares abiertos. Experimentalmente, Fogedby *et al.* (49) y McKercher *et al.* (50) demostraron que la infección

entre bovinos albergados separadamente podía ser transportada por medio del aire y del polvo. Hyslop (51) recuperó virus del aire alrededor de bovinos desde 14 días antes hasta 14 después de la aparición de síntomas clínicos, y también infectó bovinos con aerosoles prefiltrados a través de lana de vidrio o de almohadillas de fibras de amianto para retener el polvo y las gotas grandes.

Latencia

Aunque los bovinos pueden presentar una recuperación completa tras la infección de fiebre aftosa, un cierto número de ellos se tornan portadores de virus durante largos periodos y de acuerdo con la evidencia epidemiológica, ellos sirven como focos para nuevos brotes de la enfermedad. La existencia de portadores ha sido generalmente aceptada desde hace por lo menos 70 años (52). Primeramente se observó que con frecuencia y sin que exista la posibilidad de otra fuente de infección cualquiera, la fiebre aftosa se presenta en rebaños susceptibles poco tiempo después de la introducción de bovinos que la habían padecido y se habían recuperado mucho tiempo antes. En Suiza, entre 1919 y 1923, la transmisión cuya causa se atribuyó a bovinos portadores fue observada con más frecuencia en el período comprendido entre dos y ocho meses después de la recuperación, aunque hubo un brote, que fue atribuido a animales portadores que se habían recobrado desde hacía 29 meses. Después de estas observaciones, fue prohibida la repoblación de rebaños susceptibles con animales convalecientes hasta 8 meses después de su recuperación.

Se ha comprobado que el virus puede ser encontrado en la orina de bovinos durante los 8 meses subsiguientes a infecciones sucesivas con diversos tipos de virus aftoso [Waldmann *et al.* (53)]; sin embargo, el primer aislamiento confirmado del virus, a partir de animales portadores que se habían recuperado después de una infección primaria, fue publicada en 1959 por van Bekkum *et al.* (54). El líquido esófago-faríngeo obtenido de bovinos aún varios meses después de su recuperación produjo fiebre aftosa cuando fue inoculado en ratones lactantes y bovinos. Sin embargo no se ha podido demostrar el contagio de bovinos susceptibles producido por animales portadores. Sutmöller *et al.* (55) citaron un brote de enfermedad en Brasil después del cual aproximadamente el 50% de los bovinos se volvieron portadores por un período mínimo de 4 hasta 6 meses, siendo el virus aislado más infeccioso para cerdos que para bovinos. En otro ensayo en el campo, terneros de un año de edad provenientes de vacas inmunizadas con vacunas lapinizadas atenuadas se volvieron portadores, la mayoría de ellos carecían de anticuerpos demostrables. El virus presente en el líquido esófago-faríngeo de los portadores puede ser parcialmente enmascarado por anticuerpos (u otros inhibidores), por cuanto el tratamiento con fluorocarbono aumenta su infecciosidad de 10 a 100 veces (55). Los mismos investigadores (56) indujeron el estado de portador, en un alto porcentaje de bovinos susceptibles y de bovinos inmunizados con virus inactivado exponiéndolos por vía faríngea o nasal a un virus tipo A obtenido de un portador. Al final de una prueba de 28 días, muestras esófago-faríngeas, provenientes de bovinos vacunados contenían, respectivamente, hasta 500 y 3 000 UFP de virus por ml, antes y después de tratamiento con fluorocarbono. El porcentaje de portadores formado fue casi independiente del estado de inmunidad de los animales cuando estos fueron sometidos a exposiciones suficientemente elevadas; sin embargo, los animales inmunizados casi invariablemente se volvieron portadores sin mostrar síntomas clínicos. Concordando con observaciones anteriores, los animales portadores no transmitieron la enfermedad a bovinos susceptibles cuando éstos fueron expuestos a un contacto directo. Sin embargo, dos de seis cerdos sometidos a idéntico tratamiento desarrollaron anticuerpos neutralizantes y uno de ellos resistió a la infección cuando fue inoculado con virus. Cerdos susceptibles inoculados con líquido esófago-faríngeo se

enfermaron de una manera evidente. Según Burrows (57), el estado portador persiste unos 15 meses en bovinos y 4 meses en ovinos. En bovinos, se comprobó que el paladar duro y la faringe son los principales puntos de multiplicación del virus, mientras que en ovinos la mayor parte del virus fue encontrado en tejido tonsilar y faríngeo.

La falta de suceso, en las tentativas efectuadas para transmitir experimentalmente fiebre aftosa de portadores a bovinos susceptibles en estrecho contacto, indica que factores hasta hoy desconocidos, ya sea en los animales recipientes o en los dadores, influyen en el proceso de transmisión. Si los experimentos efectuados con ratones son aplicables al ganado bovino, es de esperar que los esfuerzos fisiológicos o físicos (stress) produzcan un aumento en la sensibilidad del ganado a la infección virósica. Waldmann *et al.* (53) aumentó la eliminación de virus de bovinos por medio de infecciones sucesivas con diversos tipos de virus aftoso, después de las cuales el virus pudo ser detectado en sangre y orina hasta 58 y 246 días, respectivamente. El tiempo marcadamente más prolongado de eliminación por orina señala al riñón como un punto de multiplicación del virus, lo que también es mencionado por Hess *et al.* (60), quienes observaron la replicación de virus en cultivos de riñones extraídos de terneros convalecientes dos días después de la aparición de anticuerpos neutralizantes en la sangre. La inaccesibilidad de los anticuerpos al virus *in vivo*, sugiere que este se encontraba protegido dentro de las células renales y se volvió patógeno sólo después que esas células fueron transplantadas a un ambiente *in vitro*.

Los bovinos portadores parecen imprimir cambios en la virulencia y antigenicidad del virus aftoso. Sutmöller *et al.* (55, 56) publicaron que el virus aislado de bovinos portadores fue más invasivo para cerdos que para bovinos, y Fagg y Hyslop (61) demostraron que el pasaje de virus O ó SAT₁ en bovinos inmunes o parcialmente inmunes, lleva a cambios antigénicos en el subtipo de virus. Una variante SAT₁ obtenida de esta manera fue distinta a todas las cepas de subtipos conocidas previamente; además, cambios semejantes fueron observados en la antigenicidad del virus tipo SAT₁ durante el pasaje del mismo por cultivos de células renales de cerdo, en presencia de dosis gradualmente aumentadas de antisuero específico para esa cepa. Estos trabajos demuestran como surgen nuevos subtipos en el campo en áreas donde la fiebre aftosa es enzoótica. Continuamente son aisladas nuevas variantes debido a que la tasa de mutación de algunas cepas del virus aftoso es aproximadamente 10^{-4} [Pringle (62)].

MEDIDAS DE CONTROL

{La complejidad del problema de controlar la fiebre aftosa deriva de muchos factores. Ya fueron discutidos la amplitud de la distribución geográfica, la variedad de huéspedes portadores de la enfermedad, la gran contagiosidad, la complejidad inmunológica, la variación antigénica del virus y la existencia de bovinos portadores sanos.} Otro problema es la duración relativamente corta de la inmunidad en bovinos y porcinos convalecientes y vacunados. El trato que se da a la fiebre aftosa en los diversos países es variable, debido a factores tales como el clima, el aislamiento geográfico, la producción ganadera, la tecnología, y las condiciones económicas y psicológicas.

Rifle sanitario

El rifle sanitario, o método de sacrificio, es practicado en los Estados Unidos (63). Granjeros, ganaderos y veterinarios son instruídos periódicamente para alertarlos de la necesidad de reconocer e informar tempranamente cualquier sospecha de fiebre aftosa, así como se mantiene

en todo momento un sistema apto para hacer un diagnóstico rápido. En caso de un brote, medidas de cuarentena supervisadas por el gobierno son impuestas tan rápidamente como posible dentro y alrededor de las áreas afectadas. Los animales infectados y todos los animales susceptibles expuestos al virus son sacrificados y enterrados en el lugar. Cuando todos los signos disponibles indican que el brote fue eliminado, la zona se limpia y desinfecta. Las áreas contaminadas son rociadas con álcali u otro desinfectante aprobado; los materiales que pueden ser deteriorados por tal tratamiento son embebidos o fumigados con formaldehído y aquellos de poco valor son enterrados o quemados. Treinta días después, el gobierno envía a la granja algunos animales susceptibles los cuales permanecen allí durante 30 días. Si terminado ese período no se observan síntomas de la enfermedad en esos animales, el ganadero comienza a adquirir gradualmente ganado nuevo. Si no ocurre fiebre aftosa durante los 90 días siguientes se eliminan todas las restricciones. El gobierno federal o estadual indemniza a los propietarios de los animales y de los bienes que fueron destruidos durante la erradicación de la enfermedad. En este país ocurrieron nueve brotes: los últimos seis fueron erradicados con rifle sanitario. Inglaterra utiliza también este método a pesar de que la enfermedad es frecuentemente reintroducida.

Cuarentena y vacunación

Muchos países en los cuales la enfermedad es enzoótica o que están expuestos repetidamente a contaminaciones provenientes desde el exterior, generalmente procuran controlar los brotes con medidas de cuarentena y de vacunación. Las áreas afectadas son puestas en cuarentena, procediéndose inmediatamente a la vacunación de todos los animales susceptibles en una ancha zona de protección. Un método que combina el sacrificio de animales infectados con la vacunación zonal alrededor del foco de infección es practicado en algunos países como por ejemplo Dinamarca, y también fue utilizado para suprimir el extenso brote que ocurrió en México de 1946 a 1953.

Vacunación sistemática

En algunos países europeos los bovinos son vacunados de acuerdo con un programa regular. En Holanda, desde 1953 todos los bovinos de más de 4 meses de edad han sido vacunados cada primavera con vacuna inactivada trivalente tipo Frenkel, preparada con virus aftoso tipos O, A y C, y cualquier ganado joven que sea retirado del lugar es vacunado en otoño. Este programa dió por resultado un marcado descenso en la incidencia de la fiebre aftosa en bovinos, aun cuando el país está expuesto continuamente a infecciones procedentes del exterior. En otros países europeos la declinación de la incidencia de la enfermedad en los bovinos fue también atribuída al uso sistemático de vacunas (3,31). Sin embargo, desde 1961 Europa experimentó un incremento muy considerable de fiebre aftosa en cerdos, causada por virus tipo C. Según van Bekkum *et al.* (64) y Ubertini *et al.* (65) brotes extensivos en porcinos fueron controlados ya sea con una sola dosis de vacuna monovalente Frenkel o de vacunas preparadas con células de riñón de ternero, que contenían de 4 a 10 veces la cantidad de antígeno requerido para los bovinos, o con dos dosis inyectadas con un intervalo de dos semanas, de vacuna Frenkel cuya concentración de virus era la empleada comúnmente.

INMUNOLOGIA

Inmunidad después de infección

Los bovinos que se han recuperado de una infección con un tipo dado de virus son generalmente inmunes por un período de 1 a 3 años a la exposición natural al mismo tipo de virus (5), pero si son inoculados por vía intradermolingual con virus homólogo, dentro de algunos meses subsiguientes a la recuperación, muchos de ellos desarrollan vesículas primarias en la boca pero que no progresan hasta una infección generalizada. Ocasionalmente un animal puede ser resistente a la inoculación intradermolingual por un período que puede llegar a 4 ó 5 años (66). La tasa de pérdida de inmunidad depende de un número de factores, incluyendo edad, nutrición, condición, y raza. Se conoce menos sobre la duración de la inmunidad en cerdos excepto que es menor que la de bovinos. Cunliffe (67) no pudo reinfectar cerdos inoculándolos 28 días después de la infección inicial, pero a los 128 días, uno de los cinco cerdos convalecientes desarrolló lesiones generalizadas cuando todos ellos fueron expuestos a cerdos infectados.

Inmunidad pasiva

Los terneros recién nacidos (68) y los lechones (69) provenientes de madres vacunadas están desprovistos de anticuerpos, pero ambas especies adquieren anticuerpos protectores pocas horas después de ingerir calostro. Los anticuerpos transferidos a través del calostro protegen a los terneros jóvenes tanto contra la vacunación como contra la infección hasta la edad de 2 a 4 meses (68, 70).

El suero hiperinmune o de convaleciente protege al ganado no expuesto, contra virus homólogo durante un período de 10 hasta 14 días (5), pero son necesarias grandes dosis, y consecuentemente su empleo es generalmente limitado a reproductores de valor, durante epizootias.

Vacunas inactivadas

En muchos países de Europa, América del Sur y Asia y más recientemente, en el sur oeste de Africa y en el Oriente Medio se emplean vacunas inactivadas en el control de la fiebre aftosa. La primera vacuna efectiva para bovinos, conocida como vacuna Schmidt-Waldmann, fue el resultado de los trabajos de Schmidt (71) en 1936 y de Waldmann y Kobe (72) en 1938. El virus fue obtenido de lesiones linguales de bovinos, pero esta fuente inconveniente y costosa fue reemplazada con gran ventaja en 1951 por Frenkel (73) mediante el cultivo *in vitro* de virus aftoso en fragmentos sobrevivientes de epitelio lingual bovino. La preparación de las vacunas de tipo Schmidt-Waldmann y Frenkel consiste en la adsorción en $Al(OH)_3$ coloidal, a pH 7,7 del virus, previamente filtrado a través de un filtro Seitz con la adición posterior de formalina a una concentración de 0,1% y calentamiento a 26° C durante 24 horas o más. La vacuna es normalmente estable a 4° C durante 1 a 2 años, pero es destruída cuando se la congela o se calienta. Antes de emplearlas se hace un control de su potencia inmunizante e inocuidad. La estabilidad de la vacuna aparentemente aumenta (74, 75) cuando es inactivada con 0,05% de formalina en buffer de glicocola a pH 9,1. De acuerdo con Wehmeyer (76), la estabilización se efectúa por la ligación de glicocola a la superficie de las partículas virales, aunque también puede intervenir la inestabilidad de los viriones en formalina (77, 78). En 1951, Pyl (79) encontró que la agitación con cloroformo puede reemplazar la filtración Seitz.

La producción en escala industrial del virus aftoso en cultivos primarios de células de riñón de ternero utilizando gran cantidad de frascos de Roux (80) empezó en 1960; más tarde se emplearon frascos rotativos (81-83). Este método fue empleado especialmente por Ubertini *et al.* (80, 81) para preparar vacunas inactivadas, pero está limitado por la dificultad de procesar riñones y la densidad relativamente baja de las células monoestratificadas. En 1962, Mowat y Chapman (84) introdujeron una línea de células estables de riñón de hamster recién nacido (BHK-21) para cultivar virus aftoso. Estas células forman estratos múltiples en frascos rotativos (85, 86) con una densidad aproximadamente 5 veces más elevada que las células monoestratificadas de riñón de ternero (86); también pueden ser cultivadas en volúmenes que varían desde 30 hasta 100 litros de cultivos sumergidos con control automático de pH y temperatura [Capstick *et al.* (87)]. Las vacunas preparadas con células BHK son tan potentes como cualesquiera otras (88, 89) y son aparentemente libres de oncogenicidad, por cuanto el producto final no contiene células BHK viables (89).

El control de inocuidad de vacunas inactivadas se efectúa en el substrato más sensible capaz de revelar virus vivo residual en presencia de un gran exceso de virus inactivado; por lo tanto para vacunas preparadas con virus derivado de bovinos o de células de origen bovino, el control es hecho por inoculación intradermolingual en bovinos susceptibles (90). Las inoculaciones subcutáneas en bovinos y las pruebas en cultivos de tejido o en ratones lactantes son menos sensibles, a pesar de que estos últimos son conocidos como altamente sensibles para determinar la dilución máxima del virus. La vía subcutánea tiene una sensibilidad reducida la cual se cree que se debe a la formación rápida de anticuerpos, mientras que en cultivo de tejidos la masa de viriones inactivados bloquea los puntos receptores de la célula (91).

El control de potencia consiste en inyectar una vacuna en bovinos y después de 21 o más días comprobar el grado de inmunidad desarrollado por medio de frotamiento o inoculación de sus lenguas con una cepa homóloga de virus virulento. El grado de protección se calcula arbitrariamente por el número de lesiones primarias linguales (92) y secundarias en las patas, que se han producido. Por ejemplo, la observación de lesiones en las patas indica viremia generalizada y débil inmunidad. En ensayos de evaluación más cuantitativos (93) se inoculan bovinos, divididos en grupos de 8, con dosis graduales de vacuna y después de comprobar el grado de inmunidad, se calcula la dosis protectora 50%. Se considera que hay protección si el animal presenta solamente lesiones primarias en la lengua pero no se observan lesiones secundarias en las patas. Las pruebas de control de potencia de vacunas para bovinos pueden también efectuarse en ratones adultos [Uhlmann y Traub (94)], en cobayos [Mackowiak *et al.* (95)], y en pollos de 3 semanas de edad [Davis *et al.* (96)], pero los resultados no siempre se prestan a interpretación en términos de protección de bovino. El método de Uhlmann y Traub (94) se basa en que la inoculación intraperitoneal de virus vivo produce viremia en ratones adultos normales mientras que los ratones vacunados neutralizan el virus inyectado de acuerdo con el grado de inmunidad que ellos poseen.

La eficacia de una vacuna puede a veces ser evaluada mediante la titulación de los anticuerpos neutralizantes de los sueros bovinos [van Bekkum *et al.* (31)]. Bovinos vacunados con vacuna Frenkel de tipo O e inoculados posteriormente con virus homólogo, presentaron sólo lesiones locales en aquellos casos en los cuales los sueros, en diluciones de 1:10 neutralizaron $10^{1.5}$ DI_{50} de virus; no se observaron lesiones cuando el título fue $10^{2.5}$ o mayor. Basándose en esto, en una experiencia en Holanda (31), se pudo predecir que algunos bovinos vacunados por primera vez, con vacuna trivalente Frenkel (tipos O, A y C), serían susceptibles a la inoculación del virus después de 3 a 6 meses, y que todos los animales presentarían una inmunidad sólida si fueran revacunados anualmente. Estas predicciones fueron confirmadas por

la rápida declinación de la fiebre aftosa en Holanda a partir de 1953 cuando se inició la vacunación anual de todos los bovinos mayores de 4 meses. Fogedby *et al.* (97) observaron una inmunidad similar, de corta duración, subsiguiente a una sola vacunación, y encontraron que el 40% de los bovinos tratados con una vacuna Schmidt-Waldmann monovalente tipo A, cepa MP, después de 4 a 6 meses eran susceptibles a la inoculación por vía IDL de virus homólogo virulento. Sin embargo, este método de inyección es más severo si se compara con la manera como el animal puede adquirir la enfermedad naturalmente. Estudios efectuados durante varios años indicaron que las vacunas inactivadas con acetiltileneimina (AEI) y emulsionadas en un adyuvante oleoso, son considerablemente más eficaces que las vacunas de hidróxido de aluminio-formaldehído. Se están desarrollando pruebas para establecer la efectividad de tales vacunas preparadas con virus desarrollado en células BHK-21. En 1959, Brown y colaboradores (77, 98) observaron alguna degradación del virus cuando éste fue inactivado con 0,02% de formaldehído, pero no la hubo con 0,05% de AEI, aun después de ser incubado durante 72 horas a 37° C. Como había sido pronosticado, las vacunas preparadas con AEI-hidróxido de aluminio fueron más eficientes que las vacunas con formol e hidróxido de aluminio tanto en cobayos como en bovinos. En 1963 Cunliffe y Graves (99) informaron que un virus tipo A, cepa 119, tratado con formalina y emulsionado en aceite, produjo títulos más elevados de anticuerpos neutralizantes y confirió una inmunidad de mayor duración en bovinos que cuando era absorbido con hidróxido de aluminio coloidal. Un alto porcentaje de bovinos todavía era resistente a la infección cuando 9 meses más tarde fueron inoculados con virus virulento por vía intradermolingual o expuestos a bovinos infectados. El adyuvante consistió de 9 partes de Bayol F y una parte de Arlacel A [Cartwright (100)]. McKercher y Giordano (101), utilizando glicilaldehído o acetiltileneimina en vez de formalina para inactivar virus tipo C₃ CANEFA cultivado en células BHK, demostraron que los novillos inoculados con vacunas oleosas estaban protegidos por un lapso de hasta 6 meses contra la exposición a bovinos infectados pero no lo estaban los inoculados con vacunas con Al(OH)₃. Se obtuvieron resultados semejantes en porcinos reinoculados después de 3 meses (102). Además, el porcentaje de porcinos protegidos por vacunas oleosas-AEI fue el doble que el de los animales que se habían recuperado de una infección inducida experimentalmente. Una vacuna oleosa-AEI conteniendo cerca de 10 µg de virus purificado tipo A, cepa 119, por dosis, protegió el 90% de los bovinos y el 80% de los porcinos, de 3 a 14 días después de vacunados (103), lo que muestra su valor potencial para emplearlo en las etapas tempranas de los brotes en el campo. Para que posea una eficacia óptima una vacuna debe ser preparada con la misma cepa del virus que está actuando en el campo o con una cepa del mismo subtipo. Por ejemplo, bovinos inoculados con vacuna Frenkel monovalente que contiene virus SAT₁/2 o SAT₁/5, fueron protegidos sólo contra la cepa homóloga del subtipo (104). Ocasionalmente, lo contrario resulta cierto, como el caso ocurrido en Africa, en donde una vacuna inactivada SAT₁/5 fue 95% efectiva contra un brote del virus SAT₁/6. Por ello se ha sugerido que una tal protección cruzada puede ocurrir solamente durante un período limitado, el cual oscilaría entre 14 y 40 días después de la vacunación, es decir, cuando la inmunidad inducida es suficiente como para proteger a los animales frente a una exposición a un virus virulento de un subtipo diferente sin que aparezcan síntomas clínicos de la enfermedad.

Vacunas de virus vivo modificado

La adaptación del virus aftoso en ratones lactantes [Skinner (105)], pollos de un día de edad [Gillespie (106); Skinner (107)], embriones de pollo [Skinner (107)], otros animales pequeños (5), y cultivos de tejido, facilitaron el desarrollo de las vacunas de virus vivo

modificado. Un virus virulento de origen bovino fue pasado por uno o más de estos huéspedes hasta que la virulencia para bovinos fue disminuída. El grado correcto de atenuación es generalmente alcanzado cuando los bovinos inoculados por vía IDL presentan pequeñas lesiones en la lengua y pocas lesiones podales, en caso que tenga algunas. Pero esto no es ninguna garantía de que el virus no sea virulento para los cerdos, para otras especies susceptibles, o para bovinos en situaciones de "stress". Además el virus lapinizado, atenuado, aunque parezca inócuo puede producir lesiones cardíacas en bovinos jóvenes (108).

Paraf *et al.* (109) hicieron estudios extensivos con virus atenuado en conejos. Virus tipo O o tipo A₅, después de sucesivos pasajes en conejos de edad gradualmente creciente y cultivados posteriormente en células de riñón de conejo, cobayo o cerdo, protegieron desde un 85 hasta 95% de los bovinos tratados, sin que se observaran síntomas de patogenicidad; sin embargo, una vacuna bivalente conteniendo ambos tipos de virus atenuado inmunizó solamente desde un 60 hasta 75% de los animales, indicando una interferencia en el establecimiento de la inmunidad. La eficacia del virus atenuado dependió fundamentalmente de su aptitud para multiplicarse en el animal vacunado. Asso (110) halló que sólo aquellos mutantes que se desarrollan a baja temperatura y que poseen marcadores rct₃₆+ (*reproducción a ciertas temperaturas* en cultivo de tejido) tienen el cápside bastante holgado como para permitir su reproducción en bovinos y porcinos hasta el grado requerido para inmunizarlos, sin ser patógenos o contagiosos.

Aun con experiencias de laboratorio promisorias, la inmunidad producida por las vacunas atenuadas en ratones parece haber sido ensayada en el campo sólo con virus virulento de subtipo heterólogo. Martin *et al.* (111) modificaron el virus SAT₂/1 por medio de pasajes sucesivos en ratones lactantes o mayores de raza P, hasta cuando fue levemente dermatrópico para bovinos de raza Devon. De 127 bovinos de esta raza que fueron vacunados con la cepa modificada en el laboratorio, y reinoculados 21 días después por vía IDL con virus virulento homólogo, 91% fueron completamente protegidos y 7% lo fueron sólo parcialmente. En dos ensayos de campo en Africa, la vacuna confirió protección al 70% de 3 400 bovinos de raza Afrikander cuya inmunidad fue comprobada por medio de inyecciones intramusculares de virus virulento heterólogo SAT₂/2, sólo al 63% de 2 000 bovinos de raza Kenia tipo cebú y al 26% de 50 bovinos de calidad inferior, cuya inmunidad fue comprobada por vía IDL con virus heterólogo SAT₂/3 (112). Con virus SAT₂/1 modificado en sucesivos pasajes en ratones (111), Uhlmann (113) produjo un nivel de inmunidad homóloga en seis bovinos de raza Kenia, tipo cebú, comparable con aquella inducida en bovinos Devon, pero este efecto se obtenía solamente cuando el virus modificado era extraído de músculos cardíaco y esquelético de ratones lactantes infectados. Brooksby (18) hizo una reseña de las investigaciones efectuadas antes de 1958 sobre vacunas modificadas por medio de pasajes en huevos embrionados y pollos de un día de edad. Desde aquella época, se ha adelantado mucho en lo que respecta a la preparación de las mismas y su empleo en el campo, especialmente en el Oriente Medio y América del Sur. Cinco tipos del virus aftoso modificado en huevos producidos en Israel: O, A, C, Asia₁ y SAT₁/7, en pruebas efectuadas para determinar su inocuidad en bovinos, provocaron solamente lesiones linguales locales abortivas [Komarov y Goldsmit (114); Goldsmit (115)]. Tres de estas vacunas, tipos A, C y SAT₁/7, inmunizan con una efectividad que varía desde el 95 hasta 100%, o sea, que este porcentaje de bovinos inmunes comprobados por vía IDL no desarrollaron lesiones secundarias. La importancia del subtipo en vacunas atenuadas parece haber sido demostrada en 1965 en Israel. La vacuna Kemron tipo A modificada en huevos fue ineficaz frente a un brote de un virus de subtipo diferente, A₂₂ (116). Además una patogenicidad residual de la vacuna, que no había sido observada previamente, produjo lesiones postvacunales en las tetas de algunas vacas Friesian de alto rendimiento, causando mastitis.

Palacios (117) revisó el empleo de vacunas de virus vivo modificado en el control de la fiebre aftosa en América del Sur. La mayoría de las vacunas son producidas por pasajes seriados en huevos embrionados y pollos de un día de edad; el virus lapinizado ha sido empleado en una escala menor. Observaciones efectuadas en Venezuela indicaron, en contraste con las experiencias llevadas a cabo en Israel, que una vacuna de virus vivo modificado de un subtipo puede a veces controlar una epizootia causada por virus virulento de un subtipo diferente. De este modo, en 1962, la cepa A Cruzeiro (A₂₄) avianizada protegió eficientemente al ganado frente a un brote de la cepa A Zulia (A₁₈) y provocó la total desaparición de la misma. Sin embargo, esta protección cruzada entre subtipos no pudo ser demostrada cuando bovinos vacunados con cepa O Lara (O₃) avianizada fueron inoculados con una nueva cepa de campo del subtipo O₁. Solamente la cepa O₁ Campos modificada por medio de 72 a 74 pasajes en huevos embrionados confirió una protección adecuada contra la nueva cepa de campo O₁. En Venezuela los bovinos son vacunados dos veces al año empleando virus avianizado A Cruzeiro (A₂₄) y O Lara (O₃). Vacunas bivalentes compuestas de virus modificados tipos A y C, no debilitaron la inmunidad ni provocaron cualquier aumento sinérgico en la patogenicidad. Esto es en contraste con los hallazgos arriba mencionados para la vacuna bivalente atenuada en conejos que disminuyó la respuesta inmunitaria para cada tipo de virus (109). La penicilina y la estreptomycin produjeron una severa anafilaxia en aproximadamente el 2% de los bovinos revacunados y no se las incluye más en las vacunas. Palacios concluye que las vacunas preparadas con virus vivo modificado son muy promisorias con respecto a su empleo en el campo, pero todavía hay muchos problemas para resolver como por ejemplo la vacunación de bovinos jóvenes y el papel de los virus vivos modificados en bovinos portadores.

EXPERIENCIAS SOBRE LAS RELACIONES VIRUS-HUESPED

La fiebre aftosa, como otras enfermedades virales, resulta básicamente de una competición entre los genomas del virus y del huésped por los sistemas sintetizantes de proteínas y ácidos nucleicos en las células huéspedes. El genoma del ARN del virus aftoso, si no es defectuoso, lleva toda la información requerida para su reproducción, pero su expresión depende de factores ambientales y de la penetración en una célula huésped apropiada. La susceptibilidad y resistencia de células *in vivo* y después de transplantadas para desarrollar *in vitro* son diferentes.

Las células *in vivo* son influenciadas por productos provenientes de otros tipos de células, algunos de los cuales, por ejemplo, células del sistema reticuloendotelial y fagocitos, se han diferenciado para la protección del organismo; las células *in vitro* carecen de estas defensas orgánicas pero pueden también diferenciarse de su forma *in vivo*. La principal defensa conocida de las células susceptibles *in vitro* contra un genoma viral es su producción de interferón, aunque también pueden existir cambios en los puntos receptores sobre las membranas celulares. La mayoría de las experiencias sobre las interacciones virus aftoso-huésped pueden ser interpretadas teniendo en cuenta estos conceptos.

Infecciosidad y susceptibilidad

Ratones - Un amplio estudio hecho por Subak-Sharpe (118, 119) sobre la susceptibilidad genética de diferentes razas de ratones lactantes frente al virus aftoso indicó que la no susceptibilidad y (o) su desarrollo con la edad es controlada por un único gen el cual no es

completamente dominante. Los ratones lactantes inyectados por vía intramuscular fueron $10^{1,3}$ veces más susceptibles que los inoculados por vía intraperitoneal. Las titulaciones de las diluciones máximas de virus fueron más precisas en las razas de ratones más susceptibles y el sexo no tuvo ninguna influencia sobre ellas. La sensibilidad máxima de los ratones recién nacidos de las razas P y G fue de 9 a 10 y 4 días respectivamente; también se observó un período de 4 días para los ratones suizos, tipo Lindholm (120). Cuando la sensibilidad máxima no es necesaria, pueden seleccionarse, de acuerdo con la edad, grupos que muestren la mínima variación en susceptibilidad: de 6 a 8 días de edad para el ratón Lindholm (120), de 5 a 14 días para la raza Rockefeller H (121).

Hasta hace poco tiempo, el ratón adulto normal era resistente frente a cepas bovinas de virus aftoso no adaptadas al ratón, excepto los adultos de la línea Tubingen II, que muestran una viremia transitoria de 24 a 36 horas después de la inoculación con virus bovino, pero no enferman (94). Esto también se observa con los ratones adultos de la línea Rockefeller H inoculados con virus adaptados en cultivos de riñón de ternero (122). Sin embargo, la infección clínica en ratones adultos puede ser ocasionada por "stress" fisiológico durante preñez o lactación (58), esfuerzo físico de natación (59), o tratamiento previo con sustancias biológicamente activas tales como la cortisona (123), el uretano y la fenilhidrazina (124). Un ratón adulto, denominado raza AX y desarrollado por Subak-Sharpe (119), enfermó clínicamente después de inoculado con una de las cepas menos adaptadas del virus aftoso. La infección se produjo solamente por una determinada vía, probablemente con variantes de virus seleccionadas de reservas de virus genéticamente impuro. El virus se multiplicó preferentemente en el páncreas y no fue miotrópico.

Los estudios de Campbell (125) han comenzado a explicar el mecanismo de la resistencia a la infección con virus aftoso vinculada con la edad de los ratones. La multiplicación de virus fue estudiada primeramente en tres tipos de preparados de riñón de ratones de 1 a 5 semanas de edad: suspensiones de tejido picado, suspensiones de células dispersas, y cultivos primarios en estratos simples. La multiplicación en tejidos y en suspensiones celulares, pero no en cultivos, fue relacionada con la susceptibilidad dependiente de la edad de los donadores en cuanto se refiere a su comienzo y a los títulos alcanzados.

La falta de dependencia entre la multiplicación y la edad en cultivos celulares primarios en estratos simples probablemente se debió a una selección o diferenciación de células durante su desarrollo *in vitro*. De acuerdo con estos resultados, hubo un alto grado de adsorción del virus aftoso, *in vitro*, por tejido muscular proveniente de ratones de 10 días de edad y muy poca por el tejido muscular o pancreático de ratones de 35 días de edad (126). Sin embargo, el músculo de ratón muy susceptible adsorbió más virus que el de una raza más resistente. Otros tejidos, como riñón, cerebro y pulmón, provenientes de ratones de cualquiera de las dos edades adsorbieron virus tanto antes como después de homogenizados. La adsorción por homogenizados de riñón libre de células, dependió de la temperatura: fue baja a 8° C, aumentó hasta un máximo a 37° C y fue suprimida después de 30 minutos a 56° C. Estos experimentos indican claramente la existencia de un mecanismo subcelular de adsorción, vinculado a la relación resistencia-edad de los ratones. La ausencia aparente de receptores en las células pancreáticas del ratón adulto está de acuerdo con Subak-Sharpe (119) quien observó que la infección de ratones lactantes y de ratones adultos es cualitativamente diferente. En aquellos el virus se multiplica en el músculo, mientras que en estos últimos, las células seleccionan en el punto de inoculación una variante del virus que se multiplica preferentemente en el páncreas. Falta todavía contestar algunas preguntas como ser: cual es la relación genética existente entre las progenies del virus en el músculo de ratones lactantes y en el páncreas de ratones adultos?; tiene el páncreas de ratón adulto receptores para virus de páncreas?

Cultivos de tejido - El virus aftoso fue cultivado en 1930 por primera vez *in vitro* por Hecke (127), utilizando cultivos de explantaciones de tejido en un medio de plasma coagulado y en 1931 por Maitland y Maitland (128) quienes emplearon suspensiones de embriones de cobayos desmenuzados. La primera propagación del virus aftoso *in vitro* para producción de vacunas en gran escala fue llevada a cabo por Frenkel (129) en 1947, utilizando fragmentos sobrevivientes de epitelio lingual bovino; este método fue utilizado más tarde (1954), en escala reducida, por Brooksby y Wardle (30) para la titulación de infecciosidad del virus aftoso. En 1949, Frenkel (130) observó la acción histopatogénica del virus aftoso en los fragmentos de epitelio bovino, pero no mencionó la posibilidad de aplicar esta observación en la titulación de infecciosidad. Sellers (32) y Bachrach *et al.* (33), en 1955, demostraron que el virus aftoso produce un efecto citopatogénico específico en cultivos, en estratos simples, de células de riñón de ternero y de porcino, y utilizaron este fenómeno para titular la infecciosidad empleando los métodos de formación de placas (32) y de dilución límite (33). En 1960, Ubertini *et al.* (80) emplearon cultivos primarios de riñón de ternero para la producción de vacuna antiaftosa en escala industrial, un proceso que ya está siendo reemplazado por una línea estable de células BHK-21 [Mowat y Chapman (84)] cultivada en estratos simples (85, 86) o en suspensiones voluminosas [Capstick *et al.* (87, 131); Ubertini *et al.* (89)].

La sensibilidad y la precisión de los ensayos en placas para virus aftoso dependen de factores ambientales, cepas de virus y células utilizadas. La capa sobreyacente debe ser libre de sustancias interferentes y debe ser aplicada inmediatamente antes de que aparezca la progenie extracelular. Tanto la capa sobreyacente como el diluyente deben contener suero y es necesario mantener reducido el volumen del cultivo (132). Cantidades iguales de virus cultivado en volúmenes de 0,1, 0,4 y 6,4 ml han desarrollado placas en las proporciones 60:30:10. La superaglomeración de placas conduce a una subestimación del recuento (132, 133). Cuando se alcanzan estos elementos esenciales, la precisión del recuento a un nivel de exactitud de 0,05 es de $\pm 25\%$, comparado con $\pm 240\%$ obtenidos en cultivos de tejidos para determinar puntos finales de dosis infecciosas₅₀ (DICT₅₀). Análisis de distribución de frecuencias y de dilución máxima de infecciosidad, muestran que las placas son iniciadas por partículas virales simples (132). Cuando se cubren los cultivos infectados con soluciones viscosas de metilcelulosa en vez de agar, las placas aumentan en tamaño con una velocidad mayor, posibilitando distinguir entre inhibidores intracelulares, como por ejemplo, *p*-fluorofenilalanina, e inhibidores extracelulares (134). Schwöbel (135) ha indicado que las placas derivadas de una cepa de virus aftoso clonada en cultivos de riñón de cerdo se desarrollan con velocidades iguales, y que la variabilidad en el tamaño de las placas es causada por diferencias en el tiempo de iniciación de las mismas. Bauer (136) informó que la progenie viral puede ser encontrada a una distancia de 1,5 cm del borde de una placa bajo agar y dos veces aquella distancia bajo metilcelulosa. Cualquier procedimiento subsiguiente empleado para teñir el medio disemina el virus sobre todo el cultivo.

Los cultivos de riñón de ternero sin una capa sobreyacente son considerablemente más sensibles que los cultivos cubiertos para detectar cantidades mínimas de virus suspendido en grandes volúmenes de líquidos (137, 138). De este modo, desde 1 hasta 5 unidades formadoras de placas del virus aftoso en un litro de líquido producen un efecto citopatogénico en células de riñón de ternero cultivadas en estratos simples en frascos Povitsky de 5 litros. Sin embargo, hasta 5 unidades formadoras de placas por ml pueden ser enmascaradas en cultivos de riñón de cerdo en presencia de un exceso de virus inactivado por formalina (91). La sensibilidad de los experimentos en placas está limitada por la aplicación de una capa de agar desde los 60 hasta los 90 minutos, la cual inmoviliza cualquier virus no adsorbido; consecuentemente, el empleo de un volumen pequeño de inóculo aumenta las probabilidades de colisiones inelásticas entre virus y célula.

Los siguientes cambios son necesarios para cultivar ARN en placas [Bachrach (139)]. se lavan los cultivos para dejarlos, al máximo posible, libres de ribonucleasa (RNasa), se adiciona para cada dilución de ARN sin suero una solución de dietilaminoetil-dextrano (1 mg/ml), y se añade la capa sobreyacente desde 30 a 60 minutos después (139, 140). El DEAE-dextrano actúa para proteger el ARN infeccioso contra la RNasa residual sobre la superficie del cultivo. De la misma manera como ocurre con el virus, hay una relación inversa entre la eficiencia del "plating" del ARN y el volumen conteniendo cantidades iguales de moléculas de ARN; moléculas individuales de ARN, más bien que grupos de moléculas parecen ser las unidades infecciosas. La sensibilidad de la prueba en placas del ARN en presencia del DEAE-dextrano es varias veces más alta que la de los otros métodos, y su precisión es próxima a la obtenida para el virus (139, 141).

Los substratos más utilizados *in vitro* para el desarrollo y prueba de virus aftoso fueron los cultivos de riñón de ternero, riñón de cerdo y células BHK-21. Estas y otras células varían en su sensibilidad relativa para las diferentes cepas del virus aftoso. Sellers *et al.* (142) publicaron que algunas cepas adaptadas del virus aftoso fueron menos patógenas en cultivos de riñón de ternero que en cultivos de riñón de cerdo, pero Dinter y Sibalín (143) demostraron que un número todavía mayor de cepas - 35 de tipos O, A y C -, produjeron placas de morfología variable en cultivos de riñón de ternero. Cottral *et al.* (144) compararon la sensibilidad de los cultivos de riñón de ternero, bovinos, ratones lactantes y cobayos para 16 cepas bovinas y una cepa adaptada en cultivos de tejido representando los 7 tipos de virus aftoso. Como podía preverse, los cobayos fueron muy insensibles para todas las cepas y la sensibilidad de los otros sistemas de prueba varió con la cepa de virus. Generalmente, los cultivos de riñón de ternero fueron más sensibles que los de bovinos o ratones, y las cepas de virus que produjeron grandes placas fueron las más infecciosas para bovinos por inoculación intradermolingual (145). Snowdon (146) informó recientemente que los cultivos de células de tiroide de ternero son $10^{1,4}$ hasta $10^{1,8}$ veces más sensibles para cinco tipos de virus bovino no modificados que los cultivos de riñón de cerdo, células BHK-21, bovinos o ratones lactantes.

Variabilidad

La característica más sobresaliente del virus aftoso es probablemente la facilidad con que varía en sus propiedades antigénicas y virulentas, tanto en huéspedes naturales como en aquellos a los cuales ha sido adaptado experimentalmente. La velocidad de mutación de algunas cepas con respecto a la resistencia térmica es tan elevada como 10^{-4} , indicando que continuamente se forman muchos mutantes nuevos [Pringle (62)]. Basándose en el hecho de que una célula de riñón de ternero libera aproximadamente 370 unidades formadoras de placas infecciosas (132), cada nueva célula infectada producirá un mutante. Algunos de estos mutantes poseerán ventajas selectivas para sobrevivir en diversos ambientes y huéspedes.

Los cultivos de tejido parecen ser el único sistema de ensayo por medio del cual se pueden estudiar cuantitativamente las formas mutantes en cuanto se refiere a su ocurrencia y aislamiento. Muchas presiones selectivas se han aplicado al virus y a cultivos de tejido para la separación de poblaciones virales con características alteradas. Un ejemplo ya discutido fue el pasaje sucesivo del virus en cultivo de tejido en presencia de anticuerpos (61). Otros incluyen un prolongado pasaje seriado del virus, permanencia del virus en cultivos crónicamente infectados (147), calentamiento del virus entre pasajes (148) y pasaje a temperaturas subóptimas (149, 153).

Algunos pasajes de virus aftoso en cultivos de tejido a temperatura óptima generalmente no alteran las características de la población en un grado significativo. De este modo, Bauer y Wittmann (154) hallaron que cepas puras de virus subtipos O₁, O₂ y O₃ purificadas por medio de 5 pasajes en placa no pueden ser diferenciadas de sus cepas maternas en pruebas de neutralización cruzada.

Dinter *et al.* (155), a través de prolongados pasajes seriados de virus bovinos en cultivos de riñón de ternero obtuvieron variantes de la cepa O-Bruselas que eran diferentes de su cepa materna en antigenicidad y en la morfología de las placas desarrolladas. Se aislaron también variantes (156) de cepas de virus A₄, C y O₃ con sensibilidad aumentada a la inactivación térmica y ácida y las últimas dos variantes, en pruebas en placas, fueron también sensibles al sulfato de dextrano. El pasaje en tubos de cultivos de células BHK-21 del virus virulento tipo C materno produjo una variante estable con afinidad elevada para células BHK-21 transformadas por polioma, un tamaño reducido de placas en cultivos de células de riñón de cerdo, y afinidad más baja para anticuerpos neutralizantes (157). Mowat (158) atenuó el virus aftoso tipo SAT₁ cepa H.P.43/62 por medio de pasajes seriados en células BHK-21 y examinó la patogenicidad en bovinos por inoculación IDL de los diferentes clones aislados a nivel de cada una de las etapas de los sucesivos pasajes en placas. En el cuarto pasaje en BHK todos los clones fueron patógenos en comparación con sólo 2 de los 60 provenientes del pasaje número 48. Después de varias centenas de pasajes en cultivos de riñón de ternero, los virus tipos O, A y C proporcionaron una buena protección a los bovinos pero mantuvieron su virulencia para los porcinos [Wittmann y Mayr (159)]. Las tentativas llevadas a cabo para seleccionar tanto cepas no virulentas como inmunogénicas para porcinos de estas poblaciones atenuadas, fueron más exitosas por métodos de dilución límite que por purificación en placas.

El virus es atenuado en cultivos crónicamente infectados de células de riñón de perro y de ternero que han padecido una infección virulenta, pero la población viral modificada es de poca o ninguna utilidad como vacuna (147). Este virus produce placas pequeñas o imperceptibles y es patógeno para porcinos cuando se inocula en pequeñas dosis en puntos sensibles, pero no en grandes dosis aplicadas por vía intramuscular. Esta y otras manifestaciones de interferencia en bovinos, en porcinos y en cultivos de tejidos indican un predominio de las partículas virales que son ineficientes en huéspedes diferentes de aquellos en los cuales se modifica el virus.

La separación de mutantes de virus aftoso en cultivos de tejidos frecuentemente ha sido lograda por modificación de la temperatura. Bachrach *et al.* (148) observaron que de una cepa de campo de virus aftoso tipo A₁₁₉, cultivada en riñón de ternero, algunos viriones termorresistentes produjeron poblaciones hijas que contenían proporciones aumentadas de partículas resistentes a la temperatura. Sin embargo, los viriones termosensibles tenían una ventaja selectiva en su replicación porque nuevamente tendían a predominar cuando se suspendía el calentamiento a 55° C entre pasajes. No obstante, Pringle (62) logró aislar mutantes genéticamente estables de los tipos de virus O-M11, SAT₂/1 y SAT₃/1 clonando el residuo del virus calentado a 54°-60° C. Para estos mutantes, los cultivos de riñón de cerdo constituyeron un medio de desventaja selectiva; lo contrario ocurrió con cultivos de células BHK-21. Por otra parte, Wittmann (160) aisló de ratones una variante del virus tipo O₂ resistente al calentamiento, la que mantuvo sus características a través de 20 pasajes en animales de la misma especie.

En 1964 Prunet (149) mostró que una mutante no patógena del virus aftoso puede ser obtenida por medio de pasajes en cultivos de tejido mantenidos a 25° C. Wittmann (150) y Bauer (151) determinaron la relación entre marcadores *rct* y virulencia en ratones y en cerdos para varias cepas del virus bovino - tipos O, A y C - desarrolladas en cultivos de riñón de ternero a temperaturas subóptimas. El método más rápido de separación de variantes *rct*₃₇- y *rct*₄₀- de virulencia reducida provenientes de estos virus madres fue el de pasajes seriados en placas

a 28° C, pero este procedimiento no funcionó para un tipo de virus C modificado que contenía al principio sólo una unidad infecciosa porcina por $10^{7,7}$ DICT₅₀. En este caso, 5 pasajes en diluciones infectivas límite produjeron una variante aparentemente avirulenta para cerdos, de virulencia disminuída para ratones y con marcador *rct*₃₇ alterado (161).

Sin embargo, ningún vínculo genético pudo ser demostrado entre marcadores *rct* y virulencia en ninguna de estas pruebas ni en las de Markushin y Ghendon (153), quienes concluyeron que lo que induce la mutación está en la célula y no en la baja temperatura. Un número de clones aislados por Gorhe *et al.* (152) a partir de virus aftoso lapinizado pasado por cultivos de células F a 29° C pueden dividirse en dos grupos de acuerdo con la sensibilidad a la temperatura y la virulencia para cerdos. Clones resistentes a 50° C durante 15 minutos y sensibles a 55° C mantuvieron la virulencia para cerdos, mientras que aquellos sensibles a 50° C fueron completamente inocuos pero no siempre inmunogénicos.

En un experimento clásico, Ahl (162) encontró que la infección mixta de cultivos de riñón de ternero a 40° C con cepas termosensibles (*ts*) y termorresistentes (*tr*) de virus aftoso tipos O, A y C produjo viriones híbridos con genomas *ts* y cápsides proteicos *tr*. La capacidad para formar estos híbridos no fue específica para los tipos O, A y C investigados. Los viriones híbridos poseen una resistencia térmica igual a las cepas *tr* recuperadas, por ejemplo el híbrido A₃ *ts* + O₃ *tr* es inactivado a 50° C a la misma velocidad que el *tr* O₃. Esta misma recuperación y enmascaramiento genómico se produjo en ratones lactantes inoculados simultáneamente con con los virus *ts* no virulento y *tr* virulento.

Pringle y Slade (163) demostraron cualitativamente la recombinación genética entre cepas del virus aftoso K₃ y Rho-1, tipo SAT₂, los cuales difieren en 6 marcadores. La selección a partir de la infección mixta de cultivos celulares produjo un número pequeño de progenies recombinantes en términos de marcadores no seleccionados. Datos de seroneutralización para progenitores y progenies de infección mixta indicaron que la recombinación ocurre más frecuentemente de lo que se observa por el intercambio de marcadores.

Interferón

La producción de interferón es un índice del grado de interacción en sistemas virus-célula (164). El interferón actúa impidiendo la diseminación de la infección a otras células de la misma especie animal y determina en gran medida la virulencia o la persistencia de infecciones víricas. La capacidad de las células para producir interferón varía ampliamente de la misma manera que varía la capacidad que tienen los virus para inducirlo. Los mixovirus y los arbovirus son los inductores más potentes, mientras que los enterovirus y ciertos ADN virus son los más débiles. Los interferones son proteínas que poseen una labilidad variable al calentamiento y a los álcalis, y cuyo peso molecular varía desde 30 000 a 100 000. Su génesis es bastante desconocida pero parece depender de la formación en la célula de ARN de cadenas múltiples específico del virus. El ARN de doble cadena de reovirus y los poliribonucleótidos sintéticos de doble cadena son inductores altamente activos (165).

La existencia del interferón en sistemas compuestos de células y virus aftoso fue observada por la primera vez por Dinter (166) en células de riñón de ternero tratadas con virus incompletamente neutralizado por anticuerpos. El efecto citopatogénico fue más débil que el del virus virulento, y las células sobrevivientes resistieron a la infección con cantidades de virus que

provocaron la destrucción de las células en cultivos normales o en cultivos que habían recibido el virus completamente neutralizado por anticuerpos. La inhibición del efecto citopatogénico fue también asociada con una infección persistente inducida por exposición temporaria de los cultivos infectados a anticuerpos homólogos. Después de retirar los anticuerpos, aproximadamente sólo una de cada 400 células estaba infectada y la tasa de crecimiento de las células excedió a la de la degeneración de las mismas. Los medios provenientes de cultivos persistentemente infectados interfirieron con la diseminación y la replicación en cultivos frescos de virus aftoso heterotípico (166) y también con parainfluenza, pseudorabia y enterovirus bovinos (167). Otros investigadores relataron que ciertas cepas del virus aftoso de baja virulencia (168) o de aquellas que producen muchas partículas defectivas de virus (169) son mejores inductores de interferón que las cepas altamente virulentas. En ratones, cobayos y bovinos infectados, que eran continuamente inoculados con ARN de levadura, Thely *et al.* (170) observaron manifestaciones clínicas demoradas de fiebre aftosa, presumiblemente causadas por interferón. Bögel (171) halló un inhibidor termoestable del virus aftoso en suero normal de cerdo que, más que interferón, parece ser una β -macroglobulina neutralizante.

BIOQUIMICA DEL VIRUS AFTOSO

El mecanismo de acción intracelular de los virus fue casi completamente desconocido hasta el descubrimiento del ácido ribonucleico (ARN) mensajero. Este y otros descubrimientos establecieron firmemente el hecho de que los genomas virales compiten directamente con el sistema sintetizador de proteínas de las células que invaden. El virus infectante también inhibe la síntesis normal del ARN celular y utiliza el conjunto de ribonucleótidos para la síntesis de su propio ARN por un mecanismo que es privativo de los virus. El ARN del virus aftoso es simplemente una molécula de ácido nucleico que debe replicarse para su propia supervivencia. Para comprender como ocurre este proceso es necesario estudiar separadamente y en conjunto, la química del virus y la biología molecular de las células que ataca.

Reactividad química y física

Es un hecho bien conocido que la estabilidad de los virus a pH 3,0 ha sido uno de los parámetros empleados para clasificarlos. El virus aftoso en solución isotónica parece ser único por su sensibilidad a la más ligera acidificación del medio [Bachrach *et al.* (172)]. El virus tipo A₁₁₉ obtenido de un cultivo de tejido a 4° C y pH 7,0-7,5 es estable durante varias semanas; sin embargo su estabilidad es menor a pH 8,0-9,0, y a pH 6,5 y 10,0 su infecciosidad disminuye 10 veces por cada 14 horas. La velocidad de inactivación aumenta bruscamente hasta 90% por minuto y segundo a pH 6,0 y 5,0, respectivamente, y disminuye cuando la sobrevivencia es de 10⁻⁶ a pH 5,0 ó 6,0, produciéndose un residuo infeccioso sumamente estable a una inactivación posterior. Mussgay (173) observó que la inactivación rápida del virus aftoso tipo O₂ a un pH 5,0 ocurre por el desdoblamiento de la ribonucleoproteína, con liberación de ARN; cuando se utilizó virus purificado, el ARN fue infeccioso para ratones inoculados por vía intracerebral. No obstante, Mussgay halló que la resistencia del virus tipo O₃ al medio ácido puede ser aumentada si se lo desarrolla en cultivos de riñón de cerdo y de ternero a pH 6,0. Asso *et al.* (174) informaron que la virulencia del virus aftoso para los cerdos está relacionada con la resistencia al medio ácido. Los clones del virus lapinizado tipo O, desarrollados en cultivo de tejido a 29° C y sensibles a pH 6,2-6,4 fueron inocuos, mientras que los más resistentes a estos pH produjeron

infecciones generalizadas. Bajo ciertas condiciones, la infecciosidad del virus aftoso puede ser bastante resistente a la acidificación, como por ejemplo, a pH 3,0 en linfa vesicular no purificada [Pyl (175)] en la cual el virus es probablemente protegido por un adsorbente coloidal. También, el ARN del virus aftoso tratado con fenol es mucho más estable a pH 4,0 que el ARN infeccioso obtenido de virus no purificado [Bachrach (140)]. La ribonucleasa (RNasa) presente en este último, inactiva el ARN liberado de los viriones por la acidificación. En contraste con esta sensibilidad del ARN libre, un complejo del ARN del virus aftoso con el polication DEAE-dextrano es bastante resistente a la RNasa (139).

Vande Woude (176) habría dilucidado el mecanismo de la degradación iónica del virus aftoso. El virus aftoso purificado, tipo A₁₁₉, se degrada en sus puntos isoelectricos los que son determinados tanto por la concentración iónica como por el pH. No obstante, el virus se estabiliza en medios cuyos pH tienen valores superiores en dos unidades a un punto isoelectrico dado debido a la interacción de los aniones del "buffer" con los grupos titulables del virus. Esta interacción puede predecirse de acuerdo con las isotermas de absorción de Langmuir. Aproximadamente, existe una relación inversa entre el pH y la concentración iónica necesaria para la estabilización. Por ejemplo, el virus es estable a pH 5,25 con fuerza iónica de NaCl de 2,8, y a pH 9,5 cuando la fuerza iónica es de 10⁻⁴.

Es conocido que los polianiones se combinan con algunos virus, más probablemente en los puntos de unión con las células, e inhiben la formación de placas (177). Los sulfatos de polisacáridos polianiónicos presentes en el agar esterilizado en autoclave inhiben la formación de placas de algunas cepas de los virus tipos O y A (178); consecuentemente Bengtsson *et al.* (156) aprovecharon esta propiedad, empleando sulfato de dextrano como un marcador para las cepas atenuadas de los virus tipos C y O₃.

Existe un gran número de reacciones posibles entre cationes metálicos y uniones primarias, secundarias y terciarias de las nucleoproteínas virales (177). Por lo tanto, no siempre es posible determinar los mecanismos exactos por medio de los cuales los cationes estabilizan, degradan, agregan o precipitan a los virus. Se ha observado que algunas cepas de los virus de ARN, sin lípidos y con simetría cúbica, son estabilizados contra la inactivación a 50° C en soluciones de MgCl₂ cuyas concentraciones varían desde 1 hasta 2 M, mientras que la inactivación de todos los otros virus de ARN o ADN es aumentada. La estabilización o el aumento de la inactivación del virus aftoso bajo tal tratamiento depende de la cepa del virus y de su origen. Fellowes (179) observó que el virus bovino, tipo C, cepa 149, después de su adaptación en cultivo de tejido, perdió la propiedad de ser estabilizado a 37° ó 50° C por soluciones de MgCl₂ de 1 a 2 M. Wittmann (180) halló que la propiedad del virus de adaptarse al cultivo de tejidos dependía de la cepa; algunas cepas de los virus tipo O, A y C fueron estabilizadas contra los efectos del calentamiento, por soluciones de MgCl₂ de 1 a 2 M o de NaCl 2 M, mientras que otras fueron inactivadas más fácilmente. Un conocimiento más detallado sobre el efecto de los cationes sobre el virus aftoso ha sido obtenido de los perfiles de los gráficos que representan la relación entre absorción y temperatura (A-T) de virus purificado tipo A₁₁₉ [Bachrach (181)]. Este virus, que fue pasado 150 veces en cultivos de riñón de ternero, no cambió su espectro de absorción en el ultravioleta hasta que el calentamiento lo descompuso en ARN y proteína. La temperatura de degradación estaba en función de la molaridad del Na⁺, aumentando de 52° hasta 58° C cuando la molaridad fue incrementada desde 0,01 hasta 1,08 (Figs. 1B y 1C respectivamente). La degradación isoelectrica del virus se produjo a 10° C con una solución 10⁻³ M de Na⁺. Sin embargo, una solución 10⁻³ M de MgCl₂ no tuvo el mismo efecto (78, 176). Después de esto el ARN liberado sufrió una desnaturalización térmica reversible, fundiéndose la mitad del mismo (T_m) a 59° C (Fig. 1A).

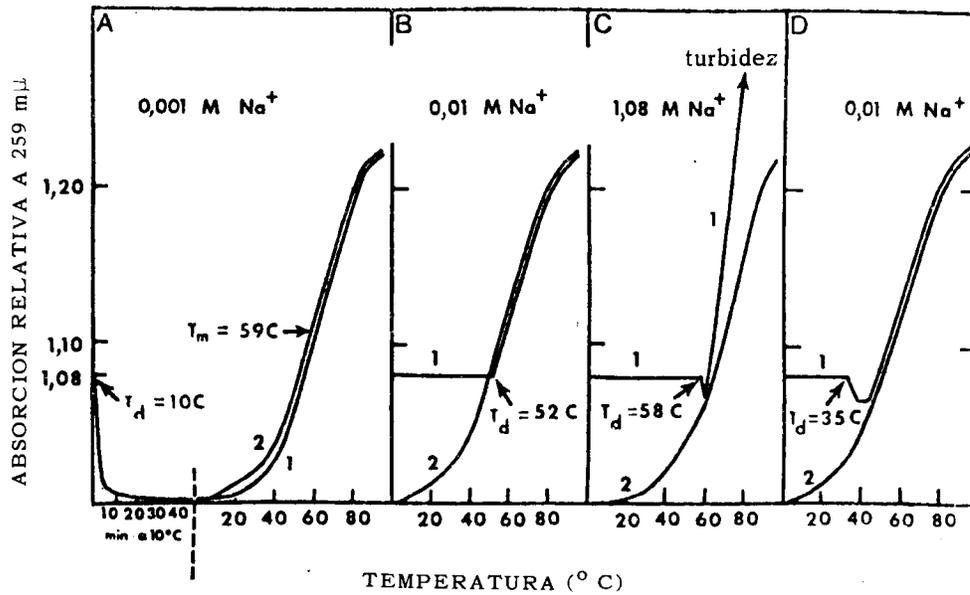


Fig. 1. Curvas de absorción de temperatura ($A-T$) para dos calentamientos sucesivos, 1 y 2, de virus aftoso puro, tipo A_{119} , a pH 7,5 en las molaridades de Na^+ indicadas. T_d es la temperatura de degradación del virus, y T_m es la temperatura a la cual funde la mitad del ARN liberado. A: Una curva que representa la relación tiempo absorción ($A-t$) para la degradación isoelectrica del virus a $10^\circ C$ en una solución $0,001 M$ de Na^+ precede a las curvas $A-T$ de la desnaturalización térmica reversible del ARN viral liberado. Los perfiles de las curvas del $A-t$ y $A-T$ están separados por líneas interrumpidas verticales. B-D: Plateaux con una absorción relativa (A^{rel}) de 1,08 durante los calentamientos iniciales en soluciones $0,01$ y $1,08 M$ de Na^+ indican un virus estable sin cambios en la conformación secundaria del ARN interno. Cambios en A^{rel} de 1,08 indican degradación del virus acompañada de desnaturalización (desviación hipercrómica) o renaturalización (desviación hipocrómica) de la estructura secundaria del ARN liberado. Antes de la segunda fusión es necesario retirar toda la proteína insoluble de la solución $1,08 M$ de Na^+ calentada anteriormente. A-C: Virus de cultivo de tejido de elevado pasaje. D: Virus de bajo pasaje. Ver en el texto las interpretaciones adicionales [adaptado de Bachrach (78, 181) y Matheka *et al.* (184)].

Muchas cepas de virus aftoso han sido caracterizadas por su resistencia a la inactivación térmica. Curvas de sobrevivencia a 55° y $61^\circ C$, para el virus tipo A_{119} , en líquido de cultivo de tejido han mostrado una inactivación inicial rápida, de primer orden, seguida por una prolongada inactivación residual, indicando la presencia de una pequeña fracción resistente al calentamiento que dio origen a poblaciones de virus también resistentes al calentamiento (148, 172) (ver Variabilidad). Las energías de activación para la pérdida de infecciosidad durante la inactivación inicial de primer orden fueron aproximadamente $2,7 \times 10^4$ y $1,2 \times 10^5$ calorías por mol, por debajo y por encima de $43^\circ C$, respectivamente, indicando que, arriba de $43^\circ C$ se produce una rápida desnaturalización de la proteína del cápside y a temperaturas más bajas, una inactivación más lenta del genoma viral (166, 172). Se ha demostrado que el virus inactivado por incubación prolongada a 25° ó $37^\circ C$ pierde su infecciosidad debido a la desorganización de su

ARN interno sin cambio aparente en su capa proteica (182, 183). Matheka *et al.* (184) informaron que después de 15 pasajes en cultivo de tejido el virus aftoso tipo A₁₁₉ posee una curva perfil A-T en 0,01 M de Na⁺ (Fig. 1D) distinta a la del virus de alto pasaje arriba mencionado. El virus de bajo pasaje tuvo una depresión hipocrómica en el perfil de su curva que comenzó a 35° C, indicando una temperatura de degradación mucho más baja que la del virus de alto pasaje. El análisis de los perfiles de las curvas A-T sugirió que el apareamiento de las bases *in situ* dentro del núcleo del ARN fue las dos terceras partes de su máximo, tanto en virus de pasaje alto como de pasaje bajo. Las curvas de sobrevivencia térmica presentadas por Ahl, para *tr* y *ts* de los virus híbridos, muestran que la estabilidad térmica del virión de la fiebre aftosa es determinada en primer lugar por la naturaleza del cápside proteico (162). El calentamiento del virus aftoso, tipo A₁₁₉, produce ARN infeccioso en ausencia de RNasa en el medio. De este modo, el ARN infeccioso puede ser extraído con fenol de virus no purificado sometido a 100° C durante 5 minutos (185), o de virus aftoso libre de RNasa por calentamiento a 61° u 85° C (186).

La estabilidad del virus aftoso con respecto a su congelamiento o liofilización, varía con el método de preparación del mismo. El virus obtenido del músculo de ratón resiste algunos ciclos de liofilización en soluciones "buffer" de glicocola, fosfato, o Tris, y sin la adición de soluciones "buffer", cuando se aumenta la viscosidad del medio con sacarosa (187). El virus sin purificar, mantenido en líquidos de cultivos de tejido que contienen suero, puede soportar ciclos repetidos de congelamiento y descongelamiento sin pérdida de infecciosidad (188). Puede ser liofilizado y almacenado a 4° C con una pérdida de cerca de 10^{0,8} DL₅₀ ratón/ml por año; por lo contrario se produce una rápida inactivación cuantitativa cuando es conservado a temperaturas de 23° a 37° C (189, 190). El virus de tipo A₁₁₉, altamente purificado y mantenido en soluciones "buffer" de fosfato 0,05M a pH 7,5, es inestable al congelamiento, a menos que sea protegido con 1% de etilenediaminotetracetato de sodio (191).

Algunos compuestos orgánicos reaccionan con los virus. Aldehidos y óxido de etileno o iminas reaccionan con ligaduras primarias, mientras que otros como los detergentes, urea, guanidina, fenol y solventes de lípidos afectan principalmente las uniones electrovalentes o ligaduras secundarias. El virus aftoso es bastante resistente a detergentes aniónicos, catiónicos y noniónicos a temperaturas de 25° a 28° C (192, 193), como por ejemplo dodecilsulfato de sodio, bromuro de cetiltrimetilamonio y Tween 80 (192); el dodecilsulfato de sodio no solamente ayuda a estabilizar el ARN infeccioso producido por degradación térmica del virus (185) sino que además mejora notablemente el rendimiento de ARN infeccioso del virus degradado por acidificación (194). Los solventes orgánicos no tienen ningún efecto sobre el virus aftoso, lo que indica que el mismo carece de lípidos. Por esta razón, para purificar el virus aftoso, se han utilizado extracciones con cloroformo, *n*-butanol, Octoil-S* y otros solventes, por la propiedad que ellos poseen de separar lípidos y proteínas de nucleoproteínas (79, 83, 195). Fluoruros de carbono, cloroformo y tolueno, en ausencia de *n*-butanol, son tan activos en este respecto que liberan virus aftoso infeccioso de complejos de virus aftoso-anticuerpos en los cuales aquellos se encuentran totalmente neutralizados (196, 197).

El fenol y el hexilresorcinol (177) son excelentes desnaturalizantes de proteínas y despojan al virus aftoso de este componente, liberando ARN infeccioso [Mussgay y Strohmaier (198); Brown *et al.* (199)] con un coeficiente de sedimentación de 37S [Strohmaier y Mussgay (200)]. Este ARN obtenido de virus no purificado, todavía contiene bastante RNasa la cual lo inactiva lentamente a menos que sea almacenado a -196° C (140) o en etanol al 70% a -20° C (201).

* Marca Registrada.

También ha sido usado el fenol para extraer ARN infeccioso, sensible a la RNasa, de tejidos infectados de animales y de cultivos de tejidos antes de la maduración de cantidades significantes de virus [Brown y Stewart (202)]. Cuando el virus purificado se extrae con fenol, la proteína del virus aftoso puede ser recuperada en forma pura de la fase fenólica por precipitación con metanol y resuspensión en fenol, ácido fórmico o dodecil-sulfato de sodio al 0,1% [Bachrach y Vande Woude (203)]. La insolubilidad en soluciones acuosas de la proteína extraída con fenol correspondería con una mediana hidrofobicidad, que puede ser calculada por su composición en aminoácidos (203) y se encuentra situada entre la de la queratina y la de la lana (Vande Woude y Bachrach, datos no publicados).

Los principales reactivos alquilantes que han sido utilizados para inactivar el virus aftoso son el formaldehído, el óxido de etileno, la acetiltileneimina y el glicilaldehído. El formaldehído, empleado desde hace mucho tiempo como el inactivante standard para virus aftoso, reacciona con los grupos amino, guanidil y amido de la proteína y con grupos amino no afectados por las uniones hidrógeno de las bases purina y pirimidina del ARN (177). Una reacción inicial rápida formadora de grupos aminometilol es probablemente reversible, mientras que una reacción secundaria más lenta resulta en la formación de puentes metilenos estables, ligados covalentemente, entre dos grupos reactivos. Ha sido demostrado que la cinética de inactivación del virus aftoso con formol se desvía considerablemente de una reacción de primer orden, dificultando la evaluación del momento en que la inactivación es esencialmente completa (204, 205). No obstante, el tiempo de inactivación pronosticado parece ser más largo que el generalmente utilizado en la producción de vacunas, lo cual indica que el gel de hidróxido de aluminio de las vacunas comerciales o participa en la inactivación del virus u oculta un residuo viral. Por ejemplo, se sabe que la interacción entre el virus aftoso y el gel de hidróxido de aluminio no está limitada a una adsorción física (206). Brown *et al.* (182) informaron que el grado de inactivación del virus aftoso tratado con formol fue proporcional al decrecimiento del ARN infeccioso extraíble, con un leve deterioro de las propiedades serológicas del virus o de su habilidad para fijarse en las células susceptibles. Resultados semejantes se hallaron después del tratamiento del virus con acetiltileneimina, irradiación ultravioleta, o calor a 25° ó 37° C. Bachrach (207) encontró que el ARN del virus aftoso no fue inactivado por formol al 0,24% a 1° C, indicando a la vez una estructura secundaria compacta para el ARN bajo estas condiciones, sin grupos amino disponibles para la reacción. El hecho de que el virus en solución isotónica fue inactivado rápidamente por el formol a 1° C está de acuerdo con la conocida hipercromicidad parcial del núcleo del ARN *in situ*. De las mediciones A-T (78), se observó que el formol quitaba el cápside proteico del virus aftoso puro a 10° C en soluciones de 0,02 M de Na⁺, mientras, en concentraciones 0,08 M de Na⁺ el cápside proteico fue liberado recién cuando la temperatura alcanzó 42° C.

Los otros reactivos alquilantes mencionados anteriormente están ganando una creciente atención como inactivantes del virus aftoso. El óxido de etileno en una atmósfera húmeda es un virulicida efectivo (208, 209), pero demasiado tóxico para considerarlo útil en la preparación de vacunas. Sin embargo, el glicilaldehído, que tiene los dos grupos funcionales, epóxido y aldehído, ha sido utilizado como inactivante para vacunas experimentales (101, 102, 138). Con esta misma finalidad se examinó la betapropiolactona, pero su curva de inactivación se desvía tan marcadamente de la cinética de primer orden que la inactivación no es segura, a menos que el virus sea también tratado con luz ultravioleta (210). De los más recientes inactivantes, la acetiltileneimina parece ser el más promisorio para la preparación de vacunas antiaftosas (77, 98, 210, 211). Al contrario de lo que ocurre con el formol, la curva cinética para la inactivación del virus aftoso a 37° C por la acetiltileneimina al 0,05% es esencialmente de primer orden, sin restos y la inactivación ocurre en un período de 24 a 48 horas sin destrucción del virus o de sus propiedades inmunizantes. El exceso de reactivo puede ser neutralizado con tiosulfato de sodio sin efectos perjudiciales.

El ácido nítrico y la hidroxilamina, los cuales provocan mutaciones en los virus *in vitro* a través de la producción de cambios en la composición básica de sus genomas, no han sido estudiados muy minuciosamente con respecto al virus aftoso. Ratones inoculados, con virus tipos A y C tratados con ácido nitroso produjeron una progenie del virus con la misma especificidad serológica de las cepas paternas [Ciaccio (212)]. Si se produjeron mutantes por tratamiento con ácido nitroso, es posible concluir que la mutación ocurrió en cistrones de ARN desprovistos de la capa proteica, o que los mutantes no fueron viables en ratones. Un trabajo preliminar muestra que soluciones 0,05 M de hidroxilamina a 26° C tienen un efecto inactivante sobre el virus aftoso con retención de la antigenicidad para ratones y cobayos (213); en concentraciones 0,25 M a 4° ó 23° C las cinéticas de inactivación son de primer orden y la antigenicidad para ratones y pollos es parcialmente conservada (214).

La irradiación electromagnética de onda corta es letal para las genomas virales. En la inactivación por medio de radiaciones X (215) o γ (216, 217) del virus aftoso proveniente de cultivo de tejido, las curvas de sobrevivencia del virus son de primer orden, y el diámetro sensible a la radiación es de 23 a 25 m μ (215, 216), valores muy próximos a los del virión (195). Empleando virus purificado, se demostró que la acción letal actúa sobre el mismo genoma viral provocado por la destrucción de la cadena fundamental ribosa-fosfato y de la aromaticidad de las bases purínicas y pirimídicas (216). La infecciosidad del virus no purificado muestra una mayor resistencia a la inactivación que el virus purificado. Una dosis de 2 a 4 millones rad de radiación γ es necesaria para inactivar virus aftoso en líquido de cultivo de tejido o en sangre, médula ósea y glándulas linfáticas de cerdo (216, 217).

Los virus que contienen ARN son inactivados por luz ultravioleta a través de cambios en sus residuos uracilos. El virus aftoso tratado con luz ultravioleta conserva su antigenicidad y su capacidad de fijarse en células susceptibles, mientras que la cantidad del ARN infeccioso extraíble está disminuída (182). La tasa máxima de inactivación ocurre a 265 m μ . La inactivación ocurre como una reacción cinética de primer orden por encima de 270 m μ , mientras que con longitudes de onda de 265 m μ o menores, se observan rastros (218).

La inactivación fotodinámica de los virus es provocada por la oxidación de genomas virales en complejos excitados por fotones constituídos por virus y colorantes absorbentes de luz. El virus aftoso, no purificado, obtenido de cultivo de tejido es bastante resistente a la inactivación fotodinámica a 4° C, pero después de haber sido clarificado se inactiva rápidamente por una reacción cinética de primer orden cuando es expuesto simultáneamente a la luz y al rojo neutro, azul de toluidina, o azul de metileno (219). Estos colorantes provocan también alguna inactivación en la obscuridad, pero a una velocidad más reducida. Virus fotodinamicamente inactivado con proflavina ha sido utilizado para inmunizar cobayos (220).

El virus aftoso puede servir tanto de substrato para enzimas degradativas extracelulares como de mensajero para la producción intracelular de su propia polimerasa del ARN (221) (ver Ciclo Biosintético). Ahora es evidente que el virus aftoso no es tan resistente a las proteasas y ribonucleasa como la mayoría de los otros picornavirus. Tratamientos con ficina, papaína y tripsina durante la purificación del virus aftoso, destruyen la infecciosidad viral (195). Esta sensibilidad para la tripsina es un marcado contraste con casi todos los otros virus pequeños de ARN, excepto el virus Coxsackie tipo A₉ y los virus de peste porcina [Matheka *et al.* (222)]. Esto sería debido a la hidrólisis, en las proteínas virales, de elementos esenciales tanto para la unión con células susceptibles, como para una máxima inmunogenicidad (182, 223), provocando consecuentemente una liberación de péptidos y un aumento en la densidad del virus. El tratamiento con tripsina no disminuye la cantidad de ARN infeccioso que puede ser extraído del virus. La sensibilidad a la quimotripsina del virus aftoso tipo A₁₁₉, purificado de múltiples pasajes, está indicada por cambios en la movilidad electroforética (224). El virus purificado es también sensible a la RNasa cuando el cápside proteico está suficientemente expandido en una

baja concentración iónica como para permitir la interacción ARN - RNasa, mientras que el ARN infeccioso de cadena única del virus aftoso, en su estado hipocrómico máximo a 1° C es parcialmente resistente a la RNasa (188). El ARN de doble cadena específico del virus aftoso, aislado de células infectadas, es también resistente a la RNasa bajo condiciones en las que el ARN viral de cadena única es sumamente sensible (225). Esta última forma fue utilizada para detectar cuantitativamente cantidades tan pequeñas como 0,1 m μ g de RNasa por ml y de 10⁻⁵ y 10⁻⁴ partes de RNasa en preparados comerciales de DNasa cristalina y tripsina, respectivamente (226).

Estructura del virus

El conocimiento de la estructura del virus aftoso es útil para predecir como reaccionará este en un determinado ambiente o huésped. Sobre la base de lo ya expresado, se puede presumir mucho sobre la estructura viral, pero algunas características sólo pueden ser determinadas a través del uso de virus purificado. Una pequeña cantidad de virus purificado fue suficiente para su identificación por microscopia electrónica [Bachrach y Breese (195)], mientras que fueron necesarias cantidades mucho mayores para la determinación de las propiedades químicas, físicas e inmunológicas del virus. El método para desarrollar el virus aftoso en cultivo de células BHK-21 en grandes botellas giratorias, descrito por Polatnick y Bachrach (86), en la actualidad está rindiendo aproximadamente 0,1 g de virus aftoso puro por semana (227). El método de purificación (83, 191, 228) consiste en precipitación con alcohol metílico, extracción con solventes orgánicos, centrifugación en gradiente de densidad de cloruro de cesio y diálisis frente a soluciones "buffer" 0,2 N de cloruro de sodio - 0,05 M de fosfato de sodio pH 7,5. Los preparados de virus resultantes, que contienen hasta 5 mg de viriones y 10¹² UFP por ml, son por lo menos 95% monodispersos de acuerdo con los métodos electroforético (184), de ultracentrifugación, espectrofotométrico y químico, como también según la relación entre viriones y unidades formadoras de placas (83). Las infectividades específicas son tan elevadas como 10¹⁴ UFP/g de virus, que es el valor teórico para el virus aftoso puro cuyo coeficiente virión: unidad formadora de placas es igual a 10³. Estos coeficientes, determinados experimentalmente, oscilaron de 10² a 10^{3,4}. La purificación puede ser obtenida también por precipitación con sulfato de amonio, centrifugación diferencial, tratamiento con deoxicolato de sodio y centrifugación en gradiente de sacarosa (229).

En la tabla 1 se pueden apreciar los parámetros químicos y físicos del virus aftoso purificado tipo A₁₁₉, de su ARN y de su proteína. Estas propiedades, junto con la morfología observada por microscopia electrónica (Fig. 2), indican que el virión de la fiebre aftosa tiene un diámetro de 23 \pm m μ (195, 230) y un peso molecular aproximado de 6,9 millones de daltons, del cual 69% es proteína y 31% ARN (83). Treinta y dos capsómeros parecen formar un cápside simétrico para el núcleo de ARN (231). Durante la morfogénesis del virus aftoso en cultivos de tejido, se pueden detectar formaciones citoplásmicas cristalinas del virus completo (Fig. 2A) y cápsides vacíos (Fig. 2C) [Breese y Graves (232); Breese (233)]. Curvas de absorción-temperatura de virus puro muestran claramente que el núcleo del ARN, que está rodeado por proteína, tiene consumido el equivalente de un tercio de sus bases potenciales de apareamiento, muy probablemente debido a uniones van der Waals, eléctricas e hidrofóbicas con la capa proteica. Esta mutua interacción estabiliza el virus de pasaje múltiples frente a la degradación térmica hasta 52° C en soluciones 0,01 M de Na⁺, pH 7,5 y hasta 58° C en soluciones 1,08 M de Na⁺ (Figs. 1B y 1C) (181). La historia de los pasajes del virus influye sobre la estabilidad térmica aún más fuertemente que la concentración iónica como ha sido puesto en evidencia por la degradación del virus de bajo pasaje, cepa A₁₁₉, a 35° C (Fig. 1D) (184). El descubrimiento de cápsides

TABLE 1
Propiedades físicoquímicas de los viriones, el ARN y las proteínas del virus de la fiebre aftosa^a

Parámetro ^d , unidades	Virión		ARN		Proteína ^b			ref.
	valor	ref.	valor	ref.	valor	ref.	ref.	
Velocidad de sedimentación	141 ± 7	277 259 258 278	37	200 194	12	75	39 260 265	
Configuración del diámetro	23 ± 2	195 230 279 215 216	cadena simple	83 181	7-8	ca 21	39 195 230 235	
Peso molecular	6,9 ± 0,6	279 ^c 228	ca 2, 2	279 228 83 ^c		ca 4,7	279 228 ^c 83 ^c	
Isodensidad CsCl	1,43	228	ca 1,7	228 83 ^c		1,31	39	
Movilidad electroforética: hp	2,84 x 10 ⁻⁵	184	11,65 x 10 ⁻⁵	280				
electroforética: lp	3,28 x 10 ⁻⁵							
Absorción: máxima y mínima	259, 239	83	258, 230	83			203	
E1% máx. m/l	76,0 ± 7,2	83	220	83			203	
Hipocromicidad	67% a T _d	181 184	100% a 1° C, 0% a 96° C	181				
T _d o T _m : hp, lp	52, 35	181 184	59	181				
Composición química	31% ARN 69% proteína	83	.22U/.28C/.26A/.24G	83		Secuencia conocida para aminoácidos y C terminal	203	
Estabilidad al pH	5,25-9,5	172 173 176	3,5-10	234 140 173			236	

^a La mayor parte de estos valores son para el virus aftoso purificado tipo A₁₁₉; la columna 75S es para el tipo A₁.

^b 75S: cápsula vacía; 12S partícula de subunidad intermedia; polipéptido: homogéneo extraído con fenol.

^c Calculado a partir de los datos obtenidos de las distintas referencias.

^d Movilidad electroforética en "buffer" veronal acetato pH 8,6, fuerza iónica 0,1; hp, lp: virus de alto y bajo pasaje;

T_d: temperatura de degradación; T_m: punto medio de fusión.

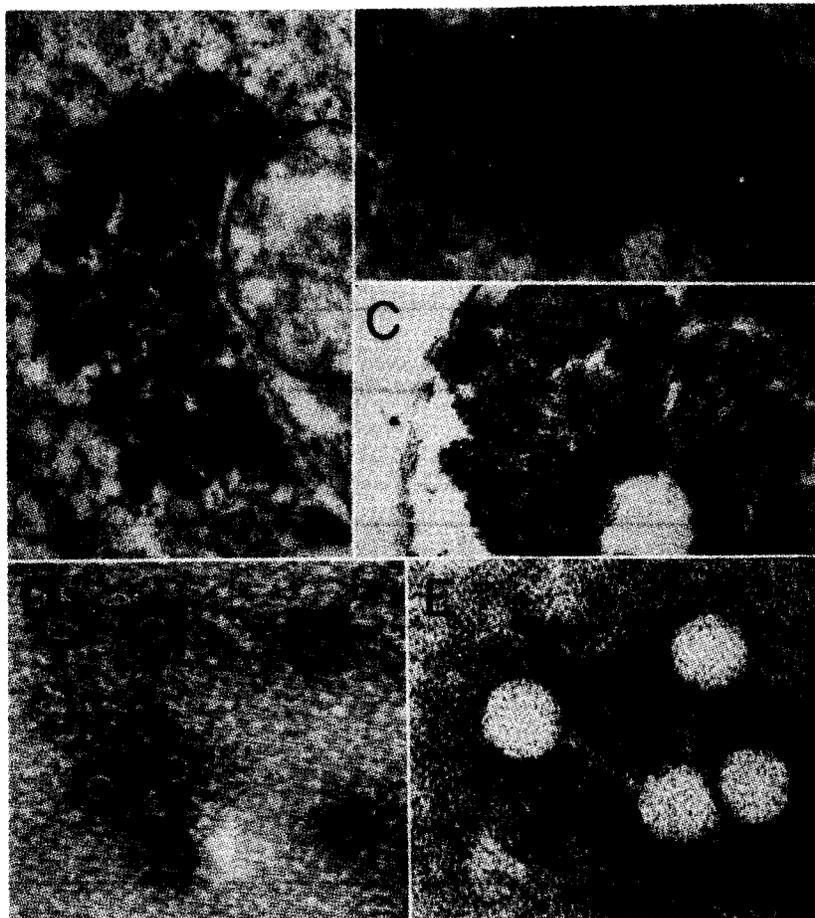


Fig. 2. Fotografías de cápsulas vacías y de virus de la fiebre aftosa obtenidas por medio del microscopio electrónico. A: viriones del tipo A_1 dispuestos regularmente en el citoplasma de células renales primarias de cerdo, cinco horas después de infectadas, x 44 100; B: viriones tipo A-119 purificados y teñidos con PTA, x 232 000; C: cápsulas vacías tipo A_1 en disposición cristalina en el citoplasma de células renales primarias de cerdo, cinco horas después de infectadas, x 41 500; D: cápsulas vacías tipo A_1 purificadas y teñidas con PTA, x 195 000; E: cuatro viriones tipo O_1 unidos por moléculas de anticuerpos 19S, x 400 000. Las fotografías desde A hasta D inclusive fueron obtenidas por cortesía de S.S. Breese, Jr. La fotografía E se debe a una cortesía de J.D. Almeida y sus colaboradores y ha sido reproducida con el permiso de los editores del *J. Immunol.*

estables sin núcleos de ARN (39) y de viriones híbridos con resistencia térmica correspondiente a la cepa que da origen al cápside (162), indica que la estabilización de viriones de la fiebre aftosa deriva principalmente de sus capas proteicas. Sin embargo, un factor que debe actuar sobre la estabilidad del virus aftoso, es la influencia de la fuerza catiónica sobre los cambios helicoidal-espiral de su núcleo del ARN (181). Una creciente evidencia sugiere que existe una

relación inversa entre la potencia del cápside de los virus vivos modificados y su habilidad de replicarse en el huésped (110). Aún el cápside fuerte del virus tipo A₁₁₉ de alto pasaje, no protege a su núcleo de ARN, parcialmente hipercrómico, contra la RNasa en concentraciones iónicas adecuadas (188). Probablemente la estructura relativamente flexible del virus aftoso también es responsable por la lenta desorganización del núcleo de ARN *in situ* que ocurre cuando se calienta virus en un intervalo entre 25° y 37° C. Bajo tales condiciones debe ocurrir una lenta hidrólisis del ARN, catalizada por cationes o enzimas, ya que la cantidad de ARN infeccioso extraíble de estos viriones se encuentra muy disminuída (182). Durante el almacenamiento a 4° C en soluciones 0,05 M de fosfato de sodio se produce un cambio incipiente en la estructura del virus purificado, sin pérdida de infecciosidad, el cual es manifestado por un aumento discreto en la movilidad electroforética del virus (184). El ARN, después de ser liberado de su cápside protector, mantiene alguna infecciosidad en la ausencia de RNasa aun a 100° C o en presencia de RNasa a 1° C cuando está completamente plegado. Es muy probable que el ARN del virus aftoso no se desdoble completamente ni a 100° C, por cuanto ocurre una renaturalización cuantitativa casi instantánea cuando se enfría (181). El apareamiento guanina-citosina en diversos puntos a lo largo de la cadena, permitiría este comportamiento, ya que la temperatura del punto medio de fusión de estos pares en una hélice doble es alrededor de 110° C. Igualmente, la hipocromicidad máxima a 1° C no implica un completo apareamiento de las bases por cuanto las espiras pueden proyectarse hacia afuera en las regiones donde se encuentran las bases dispares, ya que en el ARN de los dos tipos de virus, A₁₁₉ y O₁ examinados hasta la fecha, el uracilo, la citosina, la adenina y la guanidina están presentes en las proporciones molares 0,22:0,28:0,26:0,24, respectivamente (83, 234). Se calcula que en el virus aftoso el 64% de estas bases se aparean en el ARN libre a 8° C y el 43% lo hace en el núcleo de ARN *in situ* (181).

Los estudios de la composición de péptidos y aminoácidos del virus aftoso han sido posibles gracias a la producción de virus purificado en cantidades físicamente significantes. Datos obtenidos por medio de electroforesis, en gel de poliacrilamida de porosidad variable, indican que el polipéptido extraído con fenol del virus aftoso tipo A₁₁₉ es una especie molecular homogénea, que polimeriza formando pequeños agregados en la ausencia de dodecilsulfato de sodio, 8 M urea, y 4 M mercaptoetanol (235)*. Existen diferencias significativas en la composición individual de aminoácidos de los virus tipos O₉, A₁₁₉ y C₃ (236). La razón entre aminoácidos polares y no polares en cada tipo es, sin embargo, aproximadamente 53:47. Aminoácidos con cadenas laterales básicas, hidroxiladas, ácidas e hidrocarbonadas (incluyendo glicina y tirosina) comprenden respectivamente el 12, 17, 19 y 50% de la proteína. Metionina, triptofano y media cistina son encontrados en cantidades mínimas, o sea 1,5, 1,0 y 0,8% respectivamente. La última parece estar presente en el cápside del virus tipo A₁₁₉ principalmente como cisteína, de la cual habría alrededor de 5 residuos por cada polipéptido de peso molecular calculado en 66 000 daltons. El péptido tiene una secuencia C terminal seril-alanil-leucil-glutamina (203). Diferencias pequeñas pero significativas en tres aminoácidos de los virus A₁₁₉ de bajo y alto pasaje, tienen relación con las variaciones en su virulencia para bovinos, su movilidad electroforética y la temperatura de degradación (Figs. 1B y 1D y tabla 1). Una de las substituciones de aminoácido, triptofano por glicina, es más probable que las otras dos, por cuanto puede resultar de una mutación de bases.

* *Nota del autor.* Datos adicionales que corroboran la homogeneidad de la proteína del virus aftoso, han sido publicados después de la terminación de esta reseña. [Strohmaier, K., Schwöbel, W., Hindennach, I. *Z. Naturforsch* 22b, 1362-1364, 1967].

Ciclo biosintético

El ciclo biosintético del virus aftoso en células huéspedes ha sido estudiado detalladamente, empezando con el proceso de infección y finalizando con la liberación de la progenie virósica. Además, la etapa del ciclo correspondiente a la replicación del ARN viral fue realizada en un sistema desprovisto de células (221).

La infección de cultivos de riñón de cerdo parece que se produce en un proceso de dos fases que abarca la adsorción y la penetración [Thorne y Cartwright (237); Thorne (238)]. La adsorción de virus requiere iones calcio [Brown *et al.* (239)] y depende de la temperatura, necesitando una energía de activación de 6 000 cal/mole (238). Esto coincide con el hecho de que la unión está siendo determinada por la frecuencia de colisión entre virus y células. Estas últimas parecen tener de 30 a 100 o más receptores para virus. A temperaturas entre 2° y 4° C el virus persiste en los puntos de fijación y puede ser liberado por etilenediaminetetraacetato de sodio sin que se destruyan las células (239). Los virus adheridos pueden ser disociados mediante la adición de células previamente rotas por congelación y descongelación. A temperaturas más elevadas, el virus fijado penetra en la célula por una reacción de primer orden con una energía de activación de 24 000 cal/mole. El tiempo medio de penetración a 37° C es de 30 segundos y permite infectar 90% de las células en 3 minutos. A 20° C el tiempo medio es de 6 minutos, y debajo de 15° C la penetración es casi nula (238). El virus se fija en las células que fueron previamente muertas con mertiolato o yodoacetato (239) pero no las penetra. Estos hallazgos tienden a indicar que el proceso de penetración implica el englobamiento del virus adsorbido seguido por su fragmentación en ARN infeccioso y subunidades proteicas (182, 238, 239). La falta de pruebas de que la propagación de la enfermedad en el huésped es incrementada por la infección con ARN libre del virus aftoso, es también considerada una indicación del proceso de englobamiento.

En las infecciones con elevada relación virus-célula, el período latente, previo a la penetración de la progenie intracelular en células de riñón de ternero, es de 100 a 110 minutos [Polatnick y Bachrach (240)]. La liberación del virus, que se produce a una velocidad igual a la de la formación intracelular, empieza a los 150 minutos, coincidiendo con la cesación de la fase logarítmica de producción de virus (241). Posteriormente, la producción de virus continúa a una velocidad mucho más reducida, alcanzando un máximo entre 4,5 y 5 horas, momento en que comienza a cesar la respiración de las células. Subak-Sharpe (242) demostró que la producción de virus aftoso (O-M11 ó C-997) en cultivo de células de riñón de cerdo es completamente bloqueada a 42,6° C. El bloqueo afecta solo a una fase tardía de maduración del virus y es anulado bajando la temperatura del sistema a 39,6° C.

El contenido total de proteína celular, ARN y DNA se mantiene esencialmente inalterado durante la infección de cultivos de células de riñón de ternero, pero hay un aumento en el aprovechamiento de glucosa y en la producción de ácido láctico, lo que indica más bien un requerimiento esencial para la glucólisis anaerobia que un proceso oxidativo durante el crecimiento del virus [Polatnick y Bachrach (240)]. Como podía suponerse, la presencia de yodoacetato o de ión fluoruro, ambos inhibidores de la glucólisis, provocó una disminución concomitante en la producción de virus, mientras que la infección bajo nitrógeno solo no produjo el mismo efecto (243). Además, la producción de virus no disminuyó cuando se agregó dinitrofenol para bloquear la formación de uniones fosfato, de energía elevada, procedentes de procesos oxidativos aerobios (244). Planterose (245) informó que el proceso de oxidación involucrado en la multiplicación del virus aftoso en cultivos en suspensión de células de riñón de cerdo puede ser reemplazado por el de glucólisis en presencia de inhibidores de oxidaciones terminales.

La síntesis de proteínas específicas y ARN del virus aftoso en células BHK-21 ha recibido considerable atención. Según Brown *et al.* (246), la velocidad de síntesis de proteína celular disminuye 50% en los 30 minutos que siguen a la infección con virus aftoso SAT₁, Tur 43/62, y es seguido por la síntesis de la proteína específica del virus en un proceso desarrollado en tres tiempos. El primero, a los 60 minutos de la infección, fue inhibido por la guanidina y correspondió temporalmente con la síntesis esperada de polimerasa específica del ARN del virus aftoso. No se conoce la naturaleza del proceso que ocurre en el segundo tiempo, pero el tercero, ocurrido a los 120 minutos, coincidió con el tiempo de maduración del virus. En células tratadas previamente con actinomicina D, no se produjo una síntesis significativa de ARN durante la fase latente hasta poco antes de la maduración del virus, lo cual indicaría que la síntesis de la polimerasa depende de las cadenas de ARN de origen paterno que están entrando en las células (246). Ensayos recientes hechos por Vande Woude *et al.* (247) sugieren que la inhibición de la síntesis de la proteína de la célula huésped está relacionada con una inhibición de la metilación del ARN celular.

Brown y Cartwright (225) hallaron que el ARN específico de virus extraído de células infectadas con virus tipo O₁ podía ser separado por centrifugación en un gradiente de sacarosa, en tres picos cuyos coeficientes de sedimentación eran aproximadamente 37S, 20S y 16S (234); los componentes de estos dos últimos eran parcialmente resistentes a la RNasa. Todas estas formas, antes del tratamiento con RNasa, tenían composiciones básicas idénticas al ARN extraído de virus purificado [Cartwright y Martin (234)], y se demostró que el componente 37S obtenido por medio de la técnica "recycling" a partir de células infectadas contiene moléculas altamente heterogéneas con coeficiente *s* igual, mayor o menor que 37S. En contraste, el ARN 37S extraído de partículas virales fue muy homogéneo. El ARN de la célula, resistente a la RNasa tenía la composición básica prevista para el ARN de doble cadena antiparalela, y conservó los mismos valores de sedimentación antes y después de calentamiento a 110° C durante 5 minutos. Sin embargo, el duplex calentado fue parcialmente sensible a la RNasa, liberando fragmentos con velocidades de sedimentación muy pequeñas. Un modelo consistente en un largo polímero de ARN viral creciendo en una cadena circular negativa complementaria explicaría la variedad de moléculas de ARN específico del virus que fueron obtenidas de las células infectadas. La segmentación del extremo del polímero en varios puntos produciría un espectro heterogéneo de cadenas positivas con velocidades *s* distribuidas alrededor de 37S, y la apertura de cadena circular negativa produciría moléculas lineares de ARN de doble cadena resistentes a RNasa. Bishop *et al.* (248) afirman, sin embargo, que tanto el ARN recientemente formado por el fago Q β como las cadenas complementarias negativas son sintetizadas en la misma dirección lineal paternal o hay nueva formación de cadenas de ARN viral. Arlinghaus *et al.* (194) encontraron que células BHK-21 infectadas con virus aftoso tipo A₁₁₉, y tratadas con actinomicina D, produjeron por lo menos cuatro picos de ARN específico del virus. Uno de estos picos fue ARN viral infeccioso (37S), el segundo, (20S) fue parcialmente resistente a RNasa y los dos picos restantes - uno de ellos con valores intermedios de 37S y 20S y el otro más lento que el pico 20S - no fueron posteriormente caracterizados. El ARN resistente a RNasa fue sintetizado antes que el ARN viral y en cantidades semejantes a las de éste.

Un notable conocimiento se ha logrado en lo que se refiere a la función de la polimerasa de ARN específica del virus aftoso, la cual es sintetizada en una fase temprana en el período latente. En una experiencia clásica, Polatnick y Arlinghaus (221) aislaron una polimerasa específica del ARN del virus aftoso que transportaba un modelo de ARN formado previamente en células BHK-21 infectadas con virus tipo A₁₁₉ y demostraron su capacidad para catalizar la síntesis del ARN viral (37S) y del ARN específico del virus resistente a la RNasa, (20S) en un sistema desprovisto de células, que contenía solo cuatro trifosfatos de ribonucleósido,

fosfoenolpiruvato y Mg^{++} . Los perfiles obtenidos en un gradiente de densidad de sucrosa de los productos del ARN, libres de células, fueron idénticos a aquellos encontrados en la célula infectada *in vivo* (194), y contenían tanto los picos de velocidad intermedia como los de movimiento lento. La relación entre los picos de 37S y 20S fueron semejantes en los sistemas intra y extracelulares, lo que indica que ambos siguieron el mismo proceso de síntesis. No se pudo extraer la polimerasa de la célula en cantidades apreciables hasta 2 horas después del comienzo de la infección. Su actividad alcanzó un máximo a las 3,5 horas y decreció hasta la mitad de este valor a las 5 horas, siendo este último el tiempo de producción máxima de virus. Se pudo aislar muy poca polimerasa activa de las células que habían sido tratadas previamente con guanidina, poco antes de infectadas. El dodecilsulfato de sodio inhibió fuertemente la síntesis acelular de moléculas de ARN específico del virus, mientras que el deoxicolato de sodio (DOC) sólo cambió la proporción relativa entre las diversas especies de ARN y aumentó la sensibilidad del sistema a la RNasa. Sin embargo, esta mutación, debida a los efectos del DOC, puede prevenirse por medio de la adición de sulfato de dextrano el cual inhibe la RNasa (249). Continuando estos estudios, Polatnick *et al.* (250) hallaron que la actividad de la polimerasa del ARN específico del virus aftoso en presencia de DOC, en un medio libre de células fue inhibida por antisueros y γ -globulina provenientes de cobayos infectados y por antisueros de bovinos infectados. Los antisueros de animales vacunados con virus inactivado, que son diferentes de los obtenidos de animales convalecientes, por cuanto no poseen anticuerpos contra el antígeno asociado con la infección viral [Cowan y Graves (11)], no inhibieron la actividad de la polimerasa. El empleo en cantidades progresivas de antisueros cuyos anticuerpos contra antígeno VIA habían sido adsorbidos permitió un aumento correlativo de la actividad de la polimerasa. Además, se observó poca o ninguna especificidad de tipo por medio de la inhibición de polimerasa inducida por anticuerpos o por la precipitación del antígeno VIA. Aun cuando la actividad de la polimerasa no ha sido demostrada en los preparados de este último antígeno, toda la evidencia indica que antigénicamente es idéntica a la polimerasa de ARN específico del virus aftoso, correspondiendo ambas a los mismos cistrones ajenos a los cápsides del ARN del virus aftoso. El antígeno VIA fue aislado siempre en una fase tardía del ciclo infeccioso cuando era de esperar que la polimerasa de ARN estuviera inactiva. La biosíntesis del antígeno VIA y de los cápsides vacíos será discutida más adelante (ver Antígenos y Anticuerpos).

Se han investigado los efectos de la purina, pirimidina y otros aminoácidos semejantes así como de otros compuestos, sobre la multiplicación del virus aftoso en cultivo de tejido. No se ha observado ninguna inhibición provocada por los análogos de base, incluyendo la 5 yododeoxiuridina (251), la amantadina HCl (252) o por 2-(α hidroxibenzil) benzimidazol (253). Brown *et al.* (254, 255) concluyeron que la proflavina (255) previene el acoplamiento del ARN viral y las subunidades proteicas de 7 m μ , en partículas virales maduras, pero que el efecto fotodinámico inactivante de este compuesto debe ser tenido en cuenta por cuanto las subunidades 7 m μ parece que dejan de ser intermediarias en el montaje del virus (11). Por el contrario, *p*-fluorofenilalanina (FFA) (254) produce las correspondientes reducciones tanto en ARN infeccioso como en virus infeccioso, indicando un requerimiento para la síntesis continua de enzimas específicas durante todo el proceso de reproducción del virus. Polatnick (251) halló que la FFA inhibe sólo una fase tardía en la síntesis del virus, probablemente la formación de la capa proteica. La guanidina y la N-metil isatin β tiosemicarbazona (M-ITS) inhiben fuertemente la multiplicación viral cuando son adicionadas durante los primeros 120 minutos del proceso de desarrollo del virus con la condición de que no haya proteínas o aminoácidos en el medio. El compuesto M-ITS probablemente pueda tener alguna aplicación potencial en quimioterapia por cuanto, entre las sustancias químicas examinadas, fue la que poseyó el efecto inhibitorio más pronunciado y al mismo tiempo la que fue menos inhibida por proteínas y aminoácidos. La sensibilidad de la

multiplicación del virus aftoso a la guanidina y la resistencia al 2-(α hidroxibenzil) benzimidazol, sitúan al virus aftoso en la misma categoría de los virus Coxsackie A y de los rinovirus (251). Esta clasificación está de acuerdo con la sensibilidad a la tripsina del virus aftoso y del virus Coxsackie, tipo A₉ (222).

Antígenos y anticuerpos

El estudio detallado de los antígenos del virus aftoso debió esperar hasta que fue posible su separación física de animales infectados y de cultivos de tejido. Las primeras investigaciones [Traub y Pyl (256); Bachrach (257)] mostraron que cobayos infectados con virus aftoso y líquidos vesiculares de bovinos contenían dos antígenos capaces de inducir la formación de anticuerpos fijadores de complemento, los cuales poseían diferentes coeficientes de sedimentación (velocidades *s*). El mayor de los dos, el virión infeccioso, tiene un coeficiente *s* de 140S (257, 259) y un diámetro de $23 \pm 2 \text{ m}\mu$ (195); la partícula menor, cuya única actividad antigénica es inducir la formación de anticuerpos fijadores de complemento tiene un coeficiente de sedimentación de 12S (11, 260) y un diámetro de 7 a 8 $\text{m}\mu$ (195, 230), y parece ser una proteína derivada exclusivamente de la degradación del virus (11). Esta proteína posee las propiedades de una euglobulina y es bastante más estable al calor, ácidos y enzimas que el virión del cual deriva (261).

Recientemente, dos nuevos antígenos específicos del virus han sido identificados en tejidos y células infectadas, a saber, cápsides virales vacíos con coeficiente de sedimentación de 75S [Graves *et al.* (39); Breese (233)] y un antígeno asociado con la infección viral con un valor *s* menor que 4,5S [Cowan y Graves (11); Cowan (262)]. Los cápsides vacíos tienen una isodensidad en cloruro de cesio de 1,31 g/ml en comparación con 1,43 g/ml de los viriones y se distinguen de este último por su estabilidad en soluciones fosfato 0,04 M con un pH 6,0. En células BHK-21 infectadas con virus tipo A₁, hasta un 84% de las partículas que poseen un tamaño semejante al del virus pueden consistir de cápsides vacíos, mientras que los otros virus estudiados tipos O, A y C produjeron menos de un 5% de partículas vacías. Sin duda, los cápsides vacíos son las partículas de baja densidad antigénicamente idénticas a los viriones 140S, descritos anteriormente por Cowan (262) así como también al antígeno capaz de inducir la formación de anticuerpos fijadores de complemento, cuyo coeficiente de sedimentación es 65S, y que fue obtenido por Planterose y Ryan (263) de células de riñón de cerdo infectadas con el virus. Estos últimos investigadores postulan que el antígeno 65S no consiste de cápsides vacíos, basándose en el hecho de que la acidificación a pH 6,0 no los degrada en subunidades 12S. Anticuerpos que reaccionan específicamente con los viriones o con las subunidades 12S precipitan los cápsides vacíos y hay ciertas razones para admitir que estos cápsides resultan de una deficiencia en la producción de núcleos de ARN.

El antígeno VIA parece ser polimerasa del ARN enzimáticamente inactiva, específica del virus aftoso, por cuanto los anticuerpos homólogos de dicho antígeno inhiben la actividad de la polimerasa (221). Su antigenicidad es eliminada por calentamiento durante 30 minutos a 50° C o por tratamiento a pH 5,0. El antígeno ARN polimerasa-VIA es formado antes que los viriones y sólo cuando el virus se multiplica en células o animales, indicando que éste es transportado por cistrones del genome viral diferentes de los que gobiernan la producción de cápsides. Los animales vacunados con un virus inactivado no producen antígeno VIA o sus anticuerpos. Todos los antígenos VIA parecen ser inmunológicamente idénticos e independientes del tipo de virus que induce su formación. Consecuentemente, tanto el antígeno VIA como las subunidades proteicas 12S pueden interferir con la especificidad de las pruebas de fijación de complemento empleadas para la tipificación del virus aftoso (264). El efecto adverso de estos dos

antígenos puede ser reducido al mínimo usando una prueba rápida a mayor temperatura, o sea, de $\frac{1}{2}$ a $1\frac{1}{2}$ horas a 37° C, y altas diluciones del antisuero (37, 264).

Los cuatro antígenos del sistema de la fiebre aftosa, es decir, 140S, 75S, 12S y VIA, son activos en pruebas de fijación de complemento e inmuno precipitación en gel de agar (11, 265). Los antígenos 140S y 12S inducen la formación de anticuerpos específicos para cada uno de ellos con diferentes movilidades electroforéticas (266). Un segundo anticuerpo, capaz de neutralizar, precipitar y fijar complemento solamente con viriones 140S [Brown y Crick (265); Cartwright (100)] puede ser detectado en antisueros previamente adsorbidos con antígeno homólogo 12S. Los viriones 140S purificados poseen zonas capaces de combinarse con ambos tipos de anticuerpos (100).

Se conoce que solamente los anticuerpos contra virión 140S son completamente específicos de tipo. Se ha relatado que tanto los sueros homotípicos como los heterotípicos fijan aproximadamente la misma cantidad de complemento cuando reaccionan con el componente 12S pero este último, después de haber sido tratado con antisuero heterotípico, en pruebas de difusión en gel de agar, no forma una línea de precipitación con antisuero homotípico (265). Sin embargo, la reacción del antígeno 12S con anticuerpos heterotípicos no da lugar a la formación de un precipitado visible y las líneas de precipitación producidas por los componentes 12S de los virus tipos A y O no dan una reacción cruzada. En consecuencia, un considerable grado de especificidad de tipo es retenido por las subunidades 12S (265, 267). El cápside vacío 75S produce líneas de precipitación con anticuerpos para antígenos homólogos 140S y 12S (39), lo que indica que tiene zonas antigénicas para ambos anticuerpos. Un punto que todavía debe ser determinado es si los cápsides vacíos tienen o no sitios antigénicos que reaccionen con anticuerpos específicos para los antígenos heterólogos 12S.

Solamente los antígenos 140S y 75S parecen tener alguna importancia en la producción de anticuerpos neutralizantes y en inmunidad. Utilizando dosis graduadas de antígeno 140S de virus aftoso purificado, tipo A₁₁₉, inactivado por acetilileneimina y emulsionado en aceite, se produce en el cobayo un nivel mensurable de anticuerpos neutralizantes con una cantidad tan pequeña como 0,2 μ g de antígeno (268). La proteína 12S purificada no provoca la formación de anticuerpos neutralizantes del virus en los cobayos ni los inmuniza contra el virus aftoso (267). Para poder detener la enfermedad sería necesario que los anticuerpos contra el antígeno asociado con la infección viral funcionen intracelularmente. Aun cuando esto es improbable, podría tener la ventaja de actuar contra los siete tipos de virus. La potencia inmunogénica de los cápsides vacíos 75S todavía tiene que ser establecida. Sin embargo, se espera que sea comparable con aquella del virus y que el predominio de cápsides vacíos 75S en ciertos preparados de virus pueda explicar porqué Brown y Newman (269) fracasaron reiteradamente en sus intentos de relacionar la potencia de una vacuna con su contenido en viriones 140S.

La reacción de inmuno difusión en gel de agar con posterior tinción con naranja de acridina es útil para identificar los antígenos de la fiebre aftosa con la condición de que no se use meriolato como preservativo, por cuanto este último degrada parcialmente los viriones 140S en subunidades proteicas 12S y reduce en gran medida la precipitabilidad del antígeno VIA (262). La azida de sodio no tiene este efecto perjudicial. La coloración de las bandas de precipitación con naranja de acridina permite diferenciar el virión 140S de los antígenos libres de ARN, es decir los 75S, 12S y VIA. Solo el virión 140S emite fluorescencia bajo luz ultravioleta y esta fluorescencia es inhibida por tratamiento previo con RNasa (10). En contraste, la fluorescencia citoplásmica (270) inducida por anticuerpos marcados con fluoresceína en células de cultivo de tejido infectado, parece ser primariamente determinada por anticuerpos contra el antígeno VIA (12). La marcación no es específica de tipo y ocurre sólo con antisueros obtenidos de animales en los cuales se sabe que el virus se ha multiplicado.

Los anticuerpos contra virus aftoso, producidos en cobayos, porcinos y bovinos inmunizados (102, 271) o convalecientes, son de los tipos precoz y tardío [Brown y Graves (272)]. Ambos tienen actividad neutralizante, pero difieren marcadamente en cuanto a persistencia, especificidad de tipo, actividad fijadora de complemento y propiedades físico-químicas. Anticuerpos precoces son demostrables 7 días después de la infección o inmunización y persisten durante un período relativamente corto. Son macroglobulinas 19S β_2 - ó γ_1 fuertemente adsorbibles en DEAE-celulosa y sensibles al mercaptoetanol en concentraciones 2M. El anticuerpo 19S neutraliza y precipita virus aftoso homotípico y heterotípico (272, 273) pero tiene poca o ninguna actividad fijadora de complemento. El anticuerpo 19S que se combina con viriones de fiebre aftosa es el que se muestra en la Figura 2E [Almeida *et al.* (274)]. Los anticuerpos de aparición tardía son detectados de 10 a 14 días y persisten durante varios meses. Son globulinas 7S γ_2 de bajo peso molecular, débilmente adsorbibles por la DEAE-celulosa y resistentes al mercaptoetanol 2M. Los anticuerpos 7S tardíos poseen actividad neutralizante, precipitante y fijadora de complemento, las cuales son específicas de tipo (275, 276). Además, en sueros de bovinos convalecientes se observaron dos o tres clases de anticuerpos de aparición tardía, con movilidad electroforética más rápida que las globulinas γ_2 y de mediana adsorción con la DEAE-celulosa (276).

CONCLUSION

Debido a la importancia de la fiebre aftosa en el abastecimiento mundial de alimentos y a su amplia diseminación, es necesaria una cooperación internacional para proteger a los países libres de la enfermedad y asesorar a los otros en el control de ella. Entre las organizaciones más activas en la promoción de esta cooperación pueden citarse la Oficina Internacional de Epizootias, el Centro Panamericano de Fiebre Aftosa, la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación y su Comisión Europea para el Control de la Fiebre Aftosa. Además, laboratorios oficiales en varios países europeos, en el Cercano Oriente, en América del Sur y en los Estados Unidos de Norteamérica están desarrollando conocimientos básicos y prácticos sobre esta enfermedad altamente variable, contagiosa, de compleja inmunología, con una gama de huéspedes que incluye todos los animales de pezuña hendida, tanto los domésticos como los salvajes, y en los cuales existe, además, un estado de portador insidioso. Estas nuevas adquisiciones ya están siendo aplicadas en el mejoramiento de los métodos de diagnóstico y en la producción de vacunas más eficientes.

REFERENCIAS

1. Fracastorius, H., *De Contagione et Contagiosis Morbis et Curatione* Bk. 1, Chap. 12. (Venecia, 1546)
2. Loeffler, F., Frosch, P., *Zentr. Bakteriolog. Parasitenk. Abt. I, Orig.*, 22, 257-59 (1897)
3. Brooksby, J. B., *Nature*, 213, 120-22 (1967)
4. Brooksby, J. B. (Personal communication)
5. Shahan, M. S., *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 101, 444-54 (1962)
6. Traum, J., *J. Am. Med. Assoc.*, 88, 316-27 (1936)
7. Graves, J. H., *Am. J. Vet. Res.*, 21, 691-93 (1960)
8. Oliinik, M. K., Dudnykov, A. I., *Veterinariya (Kiev)*, 5, 3-9 (1965)
9. Brown, F., Crick, J., *Virology*, 5, 133-44 (1958)
10. Cowan, K. M., Graves, J. H., *Virology* (In press)
11. Cowan, K. M., Graves, J. H., *Ibid.*, 30, 528-40 (1966)
12. Seibold, H. R., Gailunas, P., Cottral, G. E., Campbell, C. H., *Proc. U. S. Livestock Sanit. Assoc.* 370-79 (66th Ann. Mtg., Nov., 1962)

13. Cottral, G. E., Gailiunas, P., Seibold, H. R., Campion, R., *Proc. U. S. Livestock Sanit. Assoc.*, 360-74 (68th Ann. Mtg., Oct., 1964)
14. Vallée, H., Carré, H., *Compt. Rend. Acad. Sci.*, 174, 1498-1500 (1922)
15. Waldmann, O., Trautwein, K., *Berlin. tierärztl. Wochschr.*, 42, 569-71 (1926)
16. Research Institute, Pirbright, Surrey, England, *Report for the years 1937-1953*. (W. Heffer Sons, Ltd., Cambridge, England)
17. Research Institute, Pirbright, Surrey, England, *Ibid.*, 1954-1955
18. Brooksby, J. B., *Advan. Virus Res.*, 5, 1-37 (1958)
19. Ciuca, A., *J. Hyg.*, 28, 325-39 (1929)
20. Traub, E., Möhlmann, H., *Zentr. Bakteriolog. Parasitenk. Orig., Abt. I*, 150, 289-300 (1943)
21. Marucci, A. A., *Am. J. Vet. Res.*, 18, 785-91 (1957)
22. Savan, M., *Am. J. Vet. Res.*, 20, 996-1001 (1959)
23. Rice, C. E., Brooksby, J. B., *J. Immunol.*, 71, 300-10 (1953)
24. Traub, E., Möhlmann, H., *Berlin. Münch. tierärztl. Wochschr.*, 1, 1-5 (1946)
25. Davie, J., *J. Hyg.*, 62, 401-11 (1964)
26. Davie, J., *Rept. Mtg. Res. Group Standing Tech. Comm. European Commis. Control FMD, FAO, Rome, Italy*, 123-29 (1967)
27. Hedger, R. S., Hernimar, K. A., *Bull. Office Intern. Epizoot.*, 65, 303-12 (1966)
28. World Reference Lab., *Bull. Office Intern. Epizoot.*, 63, 1655-57 (1965)
29. Brooksby, J. B., *Agr. Res. Council Rept. 9*. (Her Majesty's Stationery Office, London, 1949)
30. Brooksby, J. B., Wardle, E., *J. Hyg.*, 52, 87-99 (1954)
31. van Bekkum, J. G., Fish, R. C., Dale C. N., *Am. J. Vet. Res.*, 93, 77-82 (1963)
32. Sellers, R. F., *Nature*, 176, 547-49 (1955)
33. Bachrach, H. L., Hess, W. R., Callis, J. J., *Science*, 122, 1269-70 (1955)
34. Martin, W. B., Chapman, W. G., *Res. Vet. Sci.*, 2, 53-61 (1961)
35. Galloway, I. A., Henderson, W. M., Brooksby, J. B., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 69, 77-84 (1948)
36. Hyslop, N. St. G., Davie, J., Carter, S. P., *J. Hyg.*, 61, 217-30 (1963)
37. Traub, E., Shafy, A., Kesting, F., Ewaldsson, B., *Bull. Office Intern. Epizoot.*, 65, 2035-50 (1966)
38. Wittmann, G., *Zentr. Bakteriolog. Parasitenk. Abt. I, Orig.*, 194, 1-25 (1964)
39. Graves, J. H., Cowan, K., Trautman, R., *Virology*, 34, 269-74 (1968)
40. Scott, F. W., Cottral, G. E., Gailiunas, P., *Am. J. Vet. Res.*, 27, 1531-36 (1966)
41. Hyslop, N. St. G., *J. Comp. Pathol. Therap.*, 75, 111-17 (1965)
42. Cottral, G. E., Gailiunas, P., Cox, B. F., *Arch. Ges. Virusforsch.* (In press)
43. Mohler, J. R., Traum, J., *Yearbook Agr., U. S. Dept. Agr.*, 263-75 (1942)
44. Kuznetsova, G. M., Ikovataya, G. M., Onufriev, V. P., *Vet. Bull.*, 36, 790 (1966)
45. Cottral, G. E., Cox, B. F., Baldwin, D. E., *Am. J. Vet. Res.*, 21, 288-97 (1960)
46. Henderson, W. M., Brooksby, J. B., *J. Hyg.*, 46, 394-402 (1943)
47. Cox, B. F., Cottral, G. E., Baldwin, D. E., *Am. J. Vet. Res.*, 22, 224-26 (1961)
48. Wittmann, G., *Monatsh. Tierheilk.*, 9, 215-30 (1957)
49. Fogedby, E. G., Malmquist, W. A., Osteen, O. L., Johnson, M. L., *Nord. Veterinmed.*, 12, 490-98 (1960)
50. Mc Kercher, P. D., Dellers, R. W., Giordano, A. R., *Cornell Vet.*, 56, 395-401 (1966)
51. Hyslop, N. St. G., *J. Comp. Pathol. Therap.*, 75, 119-26 (1965)
52. Olitsky, P. K., Traum, J., Schoening, H. W., *U. S. Dept. Agr. Tech. Bull.*, 76, (1928)
53. Waldmann, O., Trautwein, K., Pyl, G., *Zentr. Bakteriolog. Parasitenk. Abt. I, Orig.*, 121, 19-32 (1931)
54. van Bekkum, J. G., Frenkel, H. S., Fredericks, H. H. J., Frenkel, S., *Tijdschr. Diergeneesk.*, 84, 1159-64 (1959)
55. Suttmöller, P., Cottral, G. E., McVicar, J. W., *Proc. U. S. Livestock Sanit. Assoc.* (Paper presented at meeting, Phoenix, Ariz., 1967)
56. Suttmöller, P., McVicar, J. W., Cottral, G. E., *Arch. Ges. Virusforsch.*, 23, 227-35 (1968)
57. Burrows, R., *Rept. Mtg. Res. Group Standing Tech. Comm. European Commis. Control FMD, FAO, Rome, Italy*, 143-54 (1966)
58. Campbell, C. H., *J. Immunol.*, 84, 469-74 (1960)
59. Lübke, A., *Monatsh. Tierheilk.*, 11, 314-20 (1959)
60. Hess, W. R., Bachrach, H. L., Callis, J. J., *Am. J. Vet. Res.*, 21, 1104-8 (1960)
61. Fagg, R. H., Hyslop, N. St. G., *J. Hyg.*, 64, 397-404 (1966)
62. Pringle, C. R., *Bull. Office Intern. Epizoot.*, 61, 619-28 (1964)
63. Bruner, D. W., Gillespie, J. H., *Hagen's Infectious Diseases of Domestic Animals, Chap. 44*, 791-809. (Cornell Univ. Press, Ithaca, N. Y., 1966)

64. van Bekkum, J. G., Bool, P. H., Verneulen, G. J., *Tijdschr. Diergeneesk.*, **92**, 87-97 (1967)
65. Ubertini, B., Nardelli, L., Barei, S., Gualandi, G. L., Panina, G. F., Bagini, C., *Bull. Office Intern. Epizoot.*, **61**, 1311-49 (1964)
66. Cunliffe, H. R., *Cornell Vet.*, **54**, 501-10 (1964)
67. Cunliffe, H. R., *Can. J. Comp. Med. Vet. Sci.*, **26**, 182-85 (1962)
68. Graves, J. H., *J. Immunol.*, **91**, 251-56 (1963)
69. van Bekkum, J. G., *Bull. Office Intern. Epizoot.*, **65**, 439-42 (1966)
70. Srubar, B., *Vet. Med. Prague*, **11**, 551-58 (1966)
71. Schmidt, S., *Z. Immunitätforsch.*, **88**, 91-103 (1936)
72. Waldmann, O., Kobe, K., *Berlin. tierärztl. Wochschr.*, **22**, 317-20 (1938)
73. Frenkel, H. S., *Am. J. Vet. Res.*, **12**, 187-90 (1951)
74. Waldmann, O., Pyl, G., Hobohm, K. O., Möhlmann, H., *Zentr. Bakteriolog. Parasitenk. Abt. I, Orig.*, **148**, 1-15 (1941)
75. Morrow, A. W., Hyslop, N. St. G., Buckley, L. S., *Vet. Record*, **78**, 2-7 (1966)
76. Wehmeyer, P., *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, **40**, 143-50 (1957)
77. Brown, F., Crick, J., *J. Immunol.*, **82**, 444-47 (1959)
78. Bachrach, H. L., *Virology*, **25**, 532-40 (1965)
79. Pyl, G., *Exptl. Veterinaermed.*, **5**, 1-5 (1951)
80. Ubertini, B., Nardelli, L., Panina, G., *J. Biochem. Microbiol. Technol. Eng.*, **2**, 327-38 (1960)
81. Ubertini, B., Nardelli, L., Dal Prato, A., Panina, G., Santero, G., *Zentr. Veterinaermed.*, **10**, 93-101 (1963)
82. Leunen, J., Strobbe, R., Mammerickx, M., *Bull. Office Intern. Epizoot.*, **57**, 615-17 (1962)
83. Bachrach, H. L., Trautman, R., Breese, S. S., Jr., *Am. J. Vet. Res.*, **25**, 333-42 (1964)
84. Mowat, G. N., Chapman, W. G., *Nature*, **194**, 253-55 (1962)
85. Rivenson, S., Segura, M., *Rev. Invest. Gand.*, No. 18, 293-99 (1963)
86. Polatnick, J., Bachrach, H. L., *Appl. Microbiol.*, **12**, 368-73 (1964)
87. Capstick, P. B., Telling, R. C., Chapman, W. G., Stewart, D. L., *Nature*, **195**, 1163-64 (1962)
88. Capstick, P. B., Telling, R. C., *Rept. Mtg. Res. Group Standing Tech. Comm. European Commis. Control FMD, FAO, Rome, Italy*, 108-13 (1966)
89. Ubertini, B., Nardelli, L., Dal Prato, A., Panina, G., Barei, S., *Zentr. Veterinaermed.*, **14**, 432-41 (1967)
90. Brooksby, J. B., *Bull. Office Intern. Epizoot.*, **65**, 419-26 (1966)
91. Wittmann, G., *Zentr. Veterinaermed.*, **11**, 135-42 (1964)
92. Lucam, F., Fedida, M., *Arch. Exptl. Veterinaermed.*, **15**, 305-12 (1961)
93. Henderson, W. M., Galloway, I. A., *J. Hyg.*, **51**, 546-58 (1953)
94. Uhlmann, W., Traub, E., *Monatsh. Tierheilk.*, **10**, 105-12 (1958)
95. Mackowiak, C., Fontaine, J., Terré, J., Stellmann, C., Roumiantzeff, M., Petermann, H. G., *Rept. Mtg. Res. Group Standing Tech. Comm., European Commis. Control FMD, FAO, Rome, Italy*, 65-105 (1965)
96. Davies, E. B., Martin, W. B., Peto, S., *Res. Vet. Sci.*, **4**, 413-22 (1963)
97. Fogedby, E. G., Malmquist, W. A., Osteen, O. L., Johnson, M. L., *Nord. Veterinmed.*, **4**, 745-54 (1952)
98. Brown, F., Hyslop, N. St. G., Crick, J., Morrow, A. W., *J. Hyg.*, **61**, 337-44 (1963)
99. Cunliffe, H. R., Graves, J. H., *Can. J. Comp. Med. Vet. Sci.*, **27**, 193-97 (1963)
100. Cartwright, B., *J. Immunol.*, **88**, 128-33 (1962)
101. McKercher, P. D., Giordano, A. R., *Arch. Ges. Virusforsch.*, **20**, 190-97 (1967)
102. McKercher, P. D., Giordano, A. R., *Ibid.*, 39-53 (1967)
103. Graves, J. H., McKercher, P. D., Farris, H. E., Jr., Cowan, K. M., *Res. Vet. Sci.*, **9**, 35-40 (1968)
104. Hyslop, N. St. G., Carter, S. P., *J. Hyg.*, **61**, 217-30 (1963)
105. Skinner, H. H., *Nature*, **169**, 794-95 (1952)
106. Gillespie, J. H., *Cornell Vet.*, **44**, 425-33 (1954)
107. Skinner, H. H., *Nature*, **174**, 1052-53 (1954)
108. Paraf, A. (Personal communication)
109. Paraf, A., Asso, J., Fougereau, M., Verge, J., Dhennin, (L)ouis, Dhennin, (L)éone, *Compt. Rend.*, **254**, 3924-26 (1962)
110. Asso, J., *Etude de Quelques Mutants du Virus de la Fievre Aphteuse Obtention d'une Souche Vaccinale Utilisable chez le Boeuf et chez le Boeuf et chez le Porc.* (Thèse de Doctorat ès Sciences Naturelles. Fac. des Sci., Paris, 1967)
111. Martin, W. B., Davies, E. B., Smith, I. M., *Res. Vet. Sci.*, **3**, 357-67 (1962)
112. Mowat, G. N., Prydie, J., *Res. Vet. Sci.*, **3**, 368-81 (1962)
113. Uhlmann, W., *Zentr. Veterinaermed.*, **11**, 657-73 (1964)
114. Komarov, A., Goldsmit, L., *Bull. Res. Council Israel, Sect. E*, **7**, 217-36 (1958)
115. Goldsmit, L., *Bull. Office Intern. Epizoot.*, **61**, 1177-82 (1964)

116. Pay, T. W. F., Bracewell, C. D., *Bull. Office Intern. Epizoot.* 65, 313-32 (1966)
117. Palacios, C. A., *Rept. Mtg. Res. Group Standing Tech. Comm., European Commis. Control FMD, FAO, Rome, Italy, Paper No. 8* (1967)
118. Subak-Sharpe, H., *Arch. Ges. Virusforsch.*, 11, 39-63 (1961)
119. Subak-Sharpe, H., *Ibid.*, 12, 600-19 (1963)
120. Gierloff, B. C. H., *Acta Vet. Scand.*, 2, 120-28 (1961)
121. Graves, J. H., Poppensiek, G. C., *Am. J. Vet. Res.*, 21, 67-96 (1960)
122. DeBoer, C. J., Bachrach, H. L., *J. Immunol.*, 86, 282-91 (1961)
123. Cunha, R. G., Eichhorn, A., *Am. J. Vet. Res.*, 15, 149-51 (1954)
124. Lübke, A., *Zentr. Veterinaarmed.*, 7, 656-63 (1960)
125. Campbell, C. H., *J. Exptl. Med.*, 121, 69-83 (1965)
126. Campbell, C. H., *Rept. Mtg. Res. Group Standing Tech. Comm., European Commis. Control FMD, FAO, Rome, Italy, Paper No. 2* (1967)
127. Hecke, F., *Zentr. Bakteriolog. Parasitenk. Abt. I, Orig.*, 116, 386-414 (1930)
128. Maitland, M. C., Maitland, H. B., *J. Comp. Pathol. Therap.*, 44, 106-13 (1931)
129. Frenkel, H. S., *Bull. Office Intern. Epizoot.*, 28, 155-62 (1947)
130. Frenkel, H. S., *Am. J. Vet. Med.*, 10, 142-45 (1949)
131. Capstick, P. B., Garland, A. J., Chapman, W. G., Masters, R. C., *Nature*, 205, 1135-36 (1965)
132. Bachrach, H. L., Callis, J. J., Hess, W. R., Patty, R. E., *Virology*, 4, 224-36 (1957)
133. Lorenz, R. J., Zoeth, B., *Virology*, 28, 379-85 (1966)
134. Schwöbel, W., *Arch. Ges. Virusforsch.*, 14, 99-112 (1964)
135. Schwöbel, W., *Ibid.*, 17, 73-88 (1965)
136. Bauer, K., *Zentr. Bakteriolog. Parasitenk., Abt. I, Orig.*, 199, 349-56 (1966)
137. Gailiunas, P., *Appl. Microbiol.*, 13, 872-75 (1965)
138. Martinsen, J. S., *Am. J. Vet. Res.*, 25, 1417-23 (1964)
139. Bachrach, H. L., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 123, 939-45 (1965)
140. Bachrach, H. L., *Virology*, 12, 258-71 (1960)
141. Fayet, M.-T., Vallee, J., *Bull. Office Intern. Epizoot.*, 65, 2005-16 (1966)
142. Sellers, R. F., Burt, L. M., Cumming, A., Stewart, D. L., *Arch. Ges. Virusforsch.*, 9, 637-46 (1959)
143. Dinter, Z., Sibalin, M., *Arch. Ges. Virusforsch.*, 8, 385-96 (1958)
144. Cottral, G. E., Patty, R. E., Gailiunas, P., Scott, F. W., *Bull. Office Intern. Epizoot.*, 63, 1607-25 (1965)
145. Cottral, G. E., Patty, R. E., Gailiunas, P., Scott, F. W., *Arch. Ges. Virusforsch.*, 18, 276-93 (1966)
146. Snowdon, W. A., *Nature*, 210, 1079-80 (1966)
147. Siebold, H. R., *Bull. Office Intern. Epizoot.*, 65, 2017-22 (1966)
148. Bachrach, H. L., Patty, R. E., Pledger, R. A., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 103, 540-42 (1960)
149. Prunet, P., *Ann. Inst. Pasteur*, 106, 18-28 (1964)
150. Wittmann, G., *Zentr. Bakteriolog. Parasitenk. Abt. I, Orig.*, 196, 400-14 (1965)
151. Bauer, K., *Zentr. Veterinaarmed.*, 14, 193-212 (1966)
152. Gorhe, D. S., Asso, J., Aynaud, J. M., *Indian Vet. J.*, 43, 935-48 (1966)
153. Markushin, S. G., Ghendon, Yu. Z., *Acta Virol.*, 11, 100-7 (1967)
154. Bauer, K., Wittmann, G., *Zentr. Veterinaarmed.*, 13, 25-30 (1966)
155. Dinter, Z., Philipson, L., Wesslén, T., *Arch. Ges. Virusforsch.*, 9, 411-27 (1959)
156. Bengtsson, S., Dinter, Z., Philipson, L., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 113, 1019-22 (1963)
157. Diderholm, H., Dinter, Z., *Arch. Ges. Virusforsch.*, 20, 246-50 (1967)
158. Mowat, G. N., *Bull. Office Intern. Epizoot.*, 61, 639-49 (1964)
159. Wittmann, G., Mayr, A., *Zentr. Veterinaarmed.*, 13, 539-57 (1966)
160. Wittmann, G., *Zentr. Veterinaarmed.*, 11, 1-7 (1959)
161. Wittmann, G., *Arch. Ges. Virusforsch.*, 20, 119-32 (1967)
162. Ahl, R., *Arch. Ges. Virusforsch.*, 21, 217-33 (1967)
163. Pringle, C. R., Slade, W. R., *Heredity*, 21, 341 (1966)
164. Baron, S., in *Frontiers of Biology*, 2, 284-93. (Neuberger, A., Tatum, E. L., Eds., North-Holland Publ. Co., Amsterdam, 1966)
165. Field, A. K., Tytell, A. A., Lampson, G. P., Hilleman, M. R., *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.*, 58, 1004-10 (1967)
166. Dinter, Z., *Conf. Comm. Perm. Fièvre Apht., 9th, OIE, Paris, Rept. 110.* (1960)
167. Dinter, Z., Philipson, L., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 109, 893-97 (1962)
168. Sellers, R. F., *Nature*, 198, 1228-29 (1963)
169. Zygraich, N., Willems, R., *Bull. Office Intern. Epizoot.*, 67, 731-34 (1967)

170. Thely, M., Choay, J., Dhennin, (L)ouis, Dhennin, (L)éone, *Compt. Rend.*, **256**, 1048-50 (1963)
171. Bögel, K., *Zentr. Veterinaermed.*, **14**, 79-92 (1966)
172. Bachrach, H. L., Breese, S. S., Jr., Callis, J. J., Hess, W. R., Patty, R. E., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **95**, 147-52 (1957)
173. Mussgay, M., *Monatsh. Tierheilk.*, **11**, 185-90 (1959)
174. Asso, J., Aynaud, J.-M., Portalier, R., *Compt. Rend.*, **262**, 585-88 (1966)
175. Pyl, G., *Z. Physiol. Chem.*, **218**, 249-62 (1933)
176. Vande Woude, G. F., *Virology*, **31**, 436-41 (1967)
177. Bachrach, H. L., in *Progress in Medical Virology*, **8**, 214-313. (Melnick, J. L., Ed., S. Karger, Basel, 1966)
178. Wittmann, G., *Zentr. Bakteriolog. Parasitenk. Abt. I, Orig.*, **199**, 412-26 (1966)
179. Fellowes, O. N., *Appl. Microbiol.*, **14**, 206-11 (1967)
180. Wittmann, G., *Zentr. Bakteriolog. Parasitenk. Abt. I, Orig.*, **202**, 133-34 (1967)
181. Bachrach, H. L., *J. Mol. Biol.*, **8**, 348-58 (1964)
182. Brown, F., Cartwright, B., Stewart, D. L., *J. Gen. Microbiol.*, **31**, 179-86 (1963)
183. Brown, F., Wild, T. F., *Biochim. Biophys. Acta*, **119**, 301-8 (1966)
184. Matheka, H. D., Bachrach, H. L., Trautman, R., *Z. Naturforsch.*, **21b**, 774-82 (1966)
185. Bachrach, H. L., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **1**, 358-60 (1959)
186. Bachrach, H. L., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **107**, 610-13 (1961)
187. Storz, H., *Zentr. Veterinaermed.*, **5**, 405-30 (1958)
188. Bachrach, H. L. (In preparation)
189. Fellowes, O. N., *Appl. Microbiol.*, **13**, 496-99 (1965)
190. Ramyar, H., Traub, E., *Am. J. Vet. Res.*, **28**, 1605-8 (1967)
191. Trautman, R., Breese, S. S., Jr., Bachrach, H. L., *J. Phys. Chem.*, **66**, 1976-83 (1962)
192. Cartwright, S. F., Thorne, H. V., *J. Gen. Microbiol.*, **20**, 61-77 (1959)
193. Fellowes, O. N., *Appl. Microbiol.*, **13**, 694-97 (1965)
194. Arlinghaus, R. B., Polatnick, J., Vande Woude, G. F., *Virology*, **30**, 541-50 (1966)
195. Bachrach, H. L., Breese, S. S., Jr., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **97**, 659-65 (1958)
196. Brown, F., Cartwright, B., *J. Immunol.*, **85**, 309-13 (1960)
197. Tessler, J., *Am. J. Vet. Res.*, **27**, 912-22 (1966)
198. Mussgay, M., Strohmaier, K., *Zentr. Bakteriolog. Parasitenk. Abt. I, Orig.*, **173**, 163-74 (1958)
199. Brown, F., Sellers, R. F., Stewart, D. L., *Nature*, **182**, 535-36 (1958)
200. Strohmaier, K., Mussgay, M., *Z. Naturforsch.*, **14b**, 171-78 (1959)
201. Crick, J., Lebedev, A. I., Stewart, D. L., Brown, F., *J. Gen. Microbiol.*, **43**, 59-70 (1966)
202. Brown, F., Stewart, D. L., *Virology*, **7**, 408-18 (1959)
203. Bachrach, H. L., Vande Woude, G. F., *Virology*, **34**, 282-89 (1968)
204. Wesslén, T., Dinter, Z., *Arch. Ges. Virusforsch.*, **7**, 394-402 (1957)
205. Graves, J. H., *Am. J. Vet. Res.*, **24**, 1131-36 (1963)
206. Matheka, H. D., *Zentr. Bakteriolog. Parasitenk. Abt. I, Orig.*, **174**, 493-505 (1959)
207. Bachrach, H. L., *Proc. Intern. Congr. Biochem., 5th, Moscow, 1961* Abst. Commun., 238
208. Savan, M., *Am. J. Vet. Res.*, **16**, 158-59 (1955)
209. Tessler, J., Fellowes, O. N., *Am. J. Vet. Res.*, **22**, 779-82 (1961)
210. Fellowes, O. N., *J. Immunol.*, **95**, 1100-6 (1966)
211. Graves, J. H., Arlinghaus, R. B., *Proc. U.S. Livestock Sanit. Assoc.* (Paper presented at meeting, Phoenix, Ariz., 1967)
212. Ciaccio, G., *Ann. Inst. Pasteur*, **106**, 485-92 (1964)
213. Rivenson, S., Zuloaga, G. G., *Bull. Office Intern. Epizoot.*, **61**, 1123-42 (1964)
214. Fellowes, O. N., *J. Immunol.*, **96**, 772-76 (1966)
215. Johnson, C. D., *Nature*, **207**, 37-39 (1965)
216. Polatnick, J., Bachrach, H. L., *Arch. Ges. Virusforsch.*, **23**, 96-104 (1968)
217. Massa, D., in *Proc. Intern. Symp. Food Irrad.* (Intern. Atomic Energy Agency, and Food and Agr. Organ., Vienna, 1966)
218. Strohmaier, K., Geiss, E., *Zentr. Bakteriolog. Parasitenk. Abt. I, Orig.*, **180**, 166-75 (1960)
219. Fellowes, O. N., *Appl. Microbiol.*, **14**, 86-91 (1966)
220. Espenson, L., *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, **68**, 585-91 (1966)
221. Polatnick, J., Arlinghaus, R. B., *Virology*, **31**, 601-8 (1967)
222. Matheka, H. D., Mayr, A., Bögel, K., *Zentr. Bakteriolog. Parasitenk. Abt. I, Orig.*, **187**, 137-43 (1962)
223. Wild, T. F., Brown, F., *J. Gen. Virol.*, **1**, 247-50 (1967)
224. Vande Woude, G. F., Trautman, R., Bachrach, H. L., *Arch. Ges. Virusforsch.*, **20**, 71-80 (1966)
225. Brown, F., Cartwright, B., *Nature*, **204**, 855-56 (1964)

226. Polatnick, J., Bachrach, H. L., *Analyt. Biochem.*, **2**, 161-68 (1961)
227. Bachrach, H. L., Polatnick, J., *Abst. Q48, Am. Chem. Soc., 154th meeting, Chicago, Sept., 1967.*
228. Trautman, R., Breese, S. S., Jr., *J. Gen. Microbiol.*, **27**, 231-39 (1962)
229. Brown, F., Cartwright, B., *Nature*, **199**, 1168-70 (1963)
230. Bradish, C. J., Henderson, W. M., Kirkham, J. B., *J. Gen. Microbiol.*, **22**, 379-91 (1960)
231. Breese, S. S., Jr., Trautman, R., Bachrach, H. L., *Science*, **150**, 1303-5 (1965)
232. Breese, S. S., Jr., Graves, J. H., *J. Bacteriol.*, **92**, 1835-37 (1966)
233. Breese, S. S., Jr., *J. Gen. Virol.* (In press)
234. Brown, F., Martin, S. J., *Nature*, **208**, 861-63 (1965)
235. Vande Woude, G. F., Bachrach, H. L., *Arch. Ges. Virusforsch.* (In press)
236. Bachrach, H. L., Polatnick, J., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **124**, 465-69 (1967)
237. Thorne, H. V., Cartwright, S. F., *Virology*, **15**, 245-47 (1961)
238. Thorne, H. V., *J. Bacteriol.*, **84**, 929-42 (1962)
239. Brown, F., Cartwright, B., Stewart, D. L., *Biochim. Biophys. Acta*, **55**, 768-74 (1962)
240. Polatnick, J., Bachrach, H. L., *Virology*, **12**, 450-62 (1960)
241. Pledger, R. A., *Virology*, **13**, 366-67 (1961)
242. Subak-Sharpe, H., *Nature*, **182**, 1803-5 (1958)
243. Polatnick, J., Bachrach, H. L., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **105**, 601-5 (1960)
244. Polatnick, J., *Arch. Biochem. Biophys.*, **93**, 316-20 (1961)
245. Planterose, D. N., *Biochim. Biophys. Acta*, **53**, 186-94 (1961)
246. Brown, F., Martin, S. J., Underwood, B., *Biochim. Biophys. Acta*, **129**, 166-77 (1966)
247. Vande Woude, G. F., Arlinghaus, R. B., Polatnick, J., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **29**, 483-89 (1967)
248. Bishop, D. H. L., Pace, N. R., Spiegelman, S., *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A.*, **58**, 1790-97 (1967)
249. Arlinghaus, R. B., Polatnick, J., *Science*, **158**, 1320-22 (1967)
250. Polatnick, J., Arlinghaus, R. B., Graves, J. H., Cowan, K. M., *Virology*, **31**, 609-15 (1967)
251. Polatnick, J., *Am. J. Vet. Res.*, **26**, 1051-55 (1965)
252. Polatnick, J., *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **130**, 312-15 (1965)
253. Dardiri, A. H., DeLay, P. D., Bachrach, H. L., *Can. J. Comp. Med. Vet. Sci.*, **28**, 161-68 (1964)
254. Brown, F., Planterose, D. N., Stewart, D. L., *Nature*, **191**, 414-15 (1961)
255. Brown, F., Stewart, D. L., *J. Gen. Microbiol.*, **23**, 369-70 (1960)
256. Traub, E., Pyl, G., *Z. Immunitätsforsch.*, **104**, 158-65 (1943)
257. Bachrach, H. L., *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, **27**, 902-6 (1950)
258. Randrup, A., *Physico-Chemical and Immunological Studies of the Virus of FMD and its Host Tissue Microsomes.* (E. Munksgaard, Copenhagen, 1957)
259. Pyl, G., *Arch. Exptl. Veterinaarmed.*, **10**, 358-64 (1956)
260. Trautman, R., Savan, M., Breese, S. S., Jr., *J. Am. Chem. Soc.*, **81**, 4040-44 (1959)
261. Polatnick, J., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **103**, 27-31 (1960)
262. Cowan, K. M., *J. Immunol.*, **97**, 647-53 (1966)
263. Planterose, D. N., Ryan, J. R. C., *Virology*, **26**, 372-74 (1965)
264. Cowan, K. M., Trautman, R., *J. Immunol.*, **99**, 729-36 (1967)
265. Brown, F., Crick, J., *Virology*, **5**, 133-44 (1958)
266. Brown, F., *Nature*, **181**, 1130-31 (1958)
267. Ceglowski, W. S., *Virology*, **25**, 328-30 (1965)
268. Morgan, D., Bachrach, H. L., McKercher, P. D. (In preparation)
269. Brown, F., Newman, J. F. E., *J. Hyg.*, **61**, 345-51 (1963)
270. Mussgay, M., *Zentr. Bakteriell. Parasitenk. Abt. I, Orig.*, **171**, 413-23 (1958)
271. Graves, J. H., Cowan, K. M., Trautman, R., *J. Immunol.*, **92**, 501-6 (1964)
272. Brown, F., Graves, J. H., *Nature*, **183**, 1688-89 (1959)
273. Brown, F., Cartwright, B., Newman, J. F. E., *J. Immunol.*, **92**, 397-402 (1964)
274. Almeida, J. D., Brown, F., Waterson, A. P., *J. Immunol.*, **98**, 186-93 (1967)
275. Cowan, K. M., Trautman, R., *J. Immunol.*, **94**, 858-67 (1965)
276. Cowan, K. M., *Am. J. Vet. Res.*, **27**, 1217-27 (1966)
277. Bachrach, H. L., *Am. J. Vet. Res.*, **13**, 13-16 (1952)
278. Breese, S. S., Jr., Trautman, R., Bachrach, H. L., *Arch. Biochem. Biophys.*, **87**, 1-8 (1960)
279. Breese, S. S., Jr., Trautman, R., *Analyt. Biochem.*, **1**, 307-16 (1960)
280. Matheka, H. D., Trautman, R., Bachrach, H. L., *Arch. Biochem. Biophys.*, **121**, 325-30 (1967)

EMPLEO DE LA ETILENEIMINA Y LA PROPILENIMINA
COMO AGENTES INACTIVANTES DEL VIRUS DE LA FIEBRE AFTOSA*

THE INACTIVATION OF FOOT-AND-MOUTH DISEASE VIRUS
BY ETHYLENIMINE AND PROPYLENIMINE*

Hans G. Bahnemann**

NOTA PREVIA

El formaldehído, a pesar de ser ampliamente aceptado que no es el agente inactivante ideal en la preparaci3n de vacunas del virus de la fiebre aftosa, continúa siendo la substancia m3s comúmente utilizada con este prop3sito. Recientemente, dos derivados de la etileneimina, la N-acetiletileneimina (AEI) y la 2-etiletileneimina (2-EEI) han sido descriptos como buenos inactivantes para este virus; sin embargo, su uso no se ha generalizado en la preparaci3n de vacunas.

Posteriormente, [estudios efectuados en nuestros laboratorios con la etileneimina (aziridina) y la propileneimina (2-metiletileneimina) demostraron que estas substancias inactivan el virus aftoso de una manera similar a la de la AEI.] Se verific3 que la etileneimina tiene una velocidad de inactivaci3n 3 veces m3s r3pida que la AEI, mientras la velocidad de inactivaci3n de la propileneimina es igual a la de AEI, y que la etileneimina y la propileneimina carecen de efectos perjudiciales sobre el ant3geno fijador del complemento. [Por otra parte, la etileneimina es muy estable, aun conservada a temperatura ambiente durante per3odos prolongados, siendo ésta una ventaja importante sobre la AEI por cuanto esta última pierde actividad en condiciones semejantes. La etileneimina se caracteriza por una elevada velocidad de inactivaci3n y mayor estabilidad a la temperatura, por lo que resulta ser mejor inactivante que la AEI para el virus aftoso.]

ADVANCED NOTICE

The most widely used inactivant for the preparation of foot-and-mouth disease vaccines is formaldehyde, though it is known not to be an ideal substance for the inactivation of foot-and-mouth disease virus. Recently two ethylenimine derivatives, N-acetylethylenimine (AEI) and 2-ethylethylenimine (2-EEI) have been described as good inactivants for this virus, but have not generally been applied for the preparation of vaccines.

Studies performed in our laboratories have shown that two other substances, ethylenimine or aziridine and propylenimine or 2-methylethylenimine, inactivate foot-and-mouth disease virus in a manner similar to AEI. Ethylenimine has an inactivation rate 3 times higher than AEI, while the inactivation rate of propylenimine is equal to that of AEI. Ethylenimine and propylenimine have no deleterious effect on the complement fixing antigen. Ethylenimine is stable upon storage at room temperature for extended periods of time, in contrast to AEI which loses its activity under these conditions. A higher inactivation rate and better temperature stability characterize ethylenimine as a more desirable inactivant for foot-and-mouth disease virus than AEI.

* Un trabajo que presenta los resultados en detalle ser3 publicado en breve.
A paper presenting the detailed results will soon be published.

** Jefe de las Actividades de Investigaci3n del Centro Panamericano de Fiebre Aftosa, Caixa Postal 589, ZC-00, Rio de Janeiro, Brasil.
Chief of Research Activities, Pan American Foot-and-Mouth Disease Center, Caixa Postal 589, ZC-00, Rio de Janeiro, Brazil.

DIFERENCIACION ENTRE UNA ENFERMEDAD VESICULAR DE CERDOS
Y LA FIEBRE AFTOSA EN HONG KONG*

Mowat, G.N., Darbyshire, J.H., Huntley, J.F.**

INTRODUCCION

Nardelli *et al.* (1968) informaron sobre un síndrome parecido a la fiebre aftosa (FA) en cerdos de Lombardía, Italia. La enfermedad observada era de baja morbilidad y corta duración, pero, el cuadro clínico coincidía con el de una infección suave de fiebre aftosa. Pruebas repetidas con material de lesiones fracasaron en detectar la presencia de antígeno aftoso, mientras que investigaciones subsecuentes en el laboratorio revelaron que el agente responsable era probablemente, un enterovirus porcino.

Recientemente se registró una enfermedad similar en cerdos de fincas en los Nuevos Territorios, Hong Kong, durante el curso de una prueba de campo con vacunas de FA. El fenómeno se observó tanto en cerdos vacunados como sin vacunar. El agente causal se parece mucho al del brote de Italia. El propósito de esta publicación es llamar la atención sobre las circunstancias en que este síndrome puede presentarse y la dificultad de diferenciarlo de la fiebre aftosa.

HISTORIA DE LA ENFERMEDAD EN EL CAMPO

Durante noviembre y diciembre de 1970 se aplicó vacuna antiaftosa inactivada, preparada con una cepa del tipo O obtenida de Hong Kong, a alrededor de 2 000 cerdos de fincas particulares y del Gobierno, en los Nuevos Territorios. El objetivo era la comparación del efecto de diferentes tipos de adyuvantes en vacunas preparadas especialmente para ser empleadas en cerdos.

En abril de 1971 fue notificada una enfermedad en cerdos vacunados y en cerdos de fincas vecinas que no participaron en la prueba. En esta área la fiebre aftosa se caracteriza por una elevada morbilidad en cerdos de cualquier edad y por una mortalidad alta especialmente en lechones. En cambio la enfermedad informada era de menor morbilidad que los casos de FA, las lesiones eran más benignas y afectaban principalmente cerdos de 3 meses a 6 años de edad. No se registró muertes asociadas con la enfermedad. Sin embargo, se pensó en FA y se mandaron al laboratorio de Pirbright muestras de tejidos de 6 fincas para su confirmación.

La enfermedad apareció primero en una finca donde no se vacunó, cercana al centro de la región de crianza más intensiva de cerdos. En enero de 1971 había habido FA en esta finca.

* Este trabajo fue publicado en *The Veterinary Record* 90 (22): 618-621. 1972, y traducido y publicado por el CENTRO PANAMERICANO DE FIEBRE AFTOSA con la autorización de su autor y de THE BRITISH VETERINARY ASSOCIATION.

** Dirección del autor: Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England.

ocasión en que Pirbright identificó un virus del tipo O y en realidad, una de las muestras enviada en el segundo brote se tomó de un cerdo que se había recuperado de FA aproximadamente 3 meses antes. Posteriormente la enfermedad apareció en fincas vecinas y en otros lugares hasta una distancia de 7 millas (11.2 km). Pruebas repetidas con extractos de tejidos y de líquidos de dos lotes de muestras nunca demostraron la presencia de antígeno fijador del complemento para cualquiera de los siete serotipos de fiebre aftosa conocidos. Teniendo en cuenta la evidencia clínica y la ocurrencia de la enfermedad en un área donde es frecuente la FA, tuvo que considerarse la posibilidad de que fuera debida a un nuevo tipo del virus de la fiebre aftosa.

INVESTIGACIONES DE LABORATORIO

Clínica

Con el conjunto de varias muestras se preparó una suspensión de tejidos, que se inoculó por vía subcutánea e intradérmica en el talón y en el rodete coronario de 4 cerdos (Large White de 32 a 40 kilos de peso), y por vía intradérmica en la lengua de dos novillos adultos. Los cerdos desarrollaron lesiones entre 2 y 4 días, acompañadas por fiebre (hasta de 41° C). Tres de los cerdos tuvieron grandes vesículas en los puntos de inoculación, que se extendieron a la región interdigital. El cuarto cerdo sólo presentó pequeñas vesículas en una pata. Según aparece en la Tabla 1, ninguno de los novillos desarrolló signos clínicos y subsecuentemente las respuestas de anticuerpos fueron muy débiles. Se utilizó el material de uno de los cerdos para efectuar dos pasajes adicionales del virus en cerdos. Con el tercer pasaje, inyectando el virus en un talón se obtuvo la generalización de la infección en tres días y se demostró también la transmisión a cerdos sanos en contacto.

El virus de una muestra (HKN 36/71), de una propiedad donde no se aplicó vacuna, se pasó 5 veces en cultivos de tejidos de células renales de cerdo IB-RS-2 (título final de $10^{8.2}$ DICT₅₀ por ml), para usarlos en experimentos destinados a caracterizar el agente causal de la enfermedad. Además, para confirmar su patogenicidad se inoculó en un grupo de 4 cerdos. Como puede observarse en las Figuras 1 y 2, produjo lesiones severas, incluyendo la formación de vesículas extendidas por los talones, espacios interdigitales y rodetes coronarios. En la nariz y en los labios se registraron vesículas hasta de 2 cm de diámetro, y de menor tamaño en el dorso y en la punta de la lengua. La infección también se transmitió a dos cerdos susceptibles puestos en contacto notándose lesiones después de 7 y 8 días, respectivamente. En opinión de varios observadores, la enfermedad es muy parecida a una aftosa benigna. Las muestras tomadas en diversas fases de la investigación nunca revelaron la presencia del virus de la fiebre aftosa.

Identificación del virus

1) *Efecto citopatógeno en cultivos de tejidos.* Extractos de muestras epiteliales del campo y de cerdos infectados experimentalmente en Pirbright, produjeron un efecto citopático, fácilmente reconocible, en cultivos de monocamadas de células primarias y secundarias de riñón porcino y asimismo, en cultivos de células renales porcinas de la línea IB-RS-2. Focos de células infectadas se observaron en alrededor de 20 horas. Las células estaban redondeadas, granulares y reunidas en pequeños grupos o "microplacas". La extensión de estas placas provocaba la destrucción completa de la camada celular alrededor de 48 horas después de la infección

inicial. No hubo evidencia de infección en cultivos de células BHK-21 o en cultivos primarios de células de tiroides bovino. A este respecto, el virus de Hong Kong era similar al virus de Italia.

Otros experimentos se orientaron para examinar algunas características químicas y físicas del virus, en comparación con el virus de la fiebre aftosa y el virus de Italia.

2) *Efecto del pH.* La Tabla 2 muestra el efecto del buffer pH 4,0 sobre los tres virus. Se observa que tanto el virus de Hong Kong como

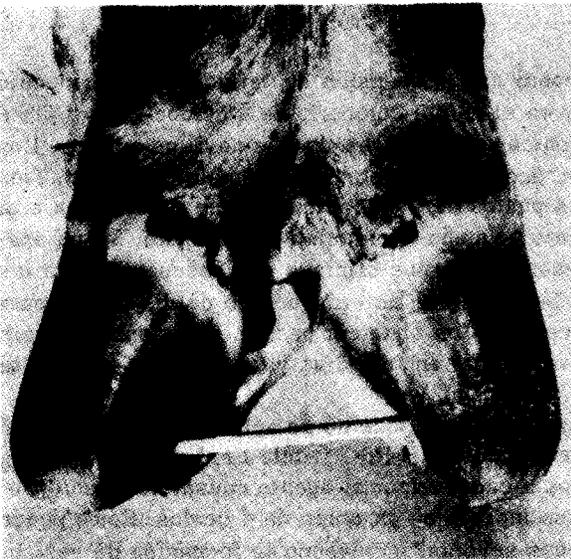


Fig. 1 - Lesiones vesiculares abiertas en el espacio interdigital de un cerdo infectado experimentalmente con virus de Hong Kong.

el de Italia son muy resistentes a temperatura del ambiente por 30 minutos, mientras el virus de la fiebre aftosa se inactiva totalmente en esas condiciones.

3) *Estabilidad térmica.* En la Tabla 3 se aprecia que los virus Hong Kong e Italia fueron más resistentes a la inactivación térmica a 50° C durante 1 hora, que el virus de la fiebre aftosa, y que ambos se estabilizaron bajo



Fig. 2 - Vesículas abiertas en la lengua de un cerdo infectado experimentalmente con virus de Hong Kong.

estas condiciones con el agregado de cloruro de magnesio 1 M. Este agregado, en cambio, pareció acelerar la inactivación del virus de la fiebre aftosa.

Los resultados de estos dos experimentos revelan que el virus Hong Kong era similar al virus Italia y diferente del virus aftoso.

4) *Densidad boyante.* La densidad boyante del virus aftoso es 1,43 g por ml y la del virus Italia 1,34 g por ml. Estos valores son característicos de cada virus y la magnitud de la diferencia es muy significativa y reproducible. La estimación de la densidad boyante del virus Hong Kong se hizo por centrifugación isopícnica en gradientes preparados con soluciones de cloruro de cesio (1,475 a 1,338 g por ml). La infectividad de fracciones de estos gradientes se probó en cultivos de tejidos de células IB-RS-2. Cada uno de estos experimentos demostró una densidad boyante para el virus Hong Kong de 1,34 g por ml. Ello se tomó como evidencia clara de que el agente aislado de las muestras de Hong Kong no era virus aftoso y agregó mayor apoyo a la idea de la similitud entre los virus de Hong Kong y de Italia.

5) *Microscopía electrónica.* En la primera ocasión, las muestras de virus Hong Kong de cultivo de tejido fueron examinadas por microscopía electrónica. Se observaron partículas esféricas del virus, ligeramente más grandes que el virus aftoso. Una estimación de la dimensión por comparación con la catalasa indicó que las partículas medían aproximadamente 28 nm. Otra evidencia más de su semejanza con el virus Italia y no con el de la fiebre aftosa.

6) *Serología.* Se hicieron pruebas comparativas de neutralización entre sueros de cerdos convalecientes de virus Hong Kong o Italia, tomados 21 días después de la infección. En la Tabla 4 se dan los resultados típicos de varios experimentos. Los títulos de los sueros se expresan como el valor recíproco de la dilución de suero que reduce el número de placas en un 90%, en cultivos IB-RS-2, en placas Petri. Se comprobará que, en tanto las mezclas de virus - suero homólogo presentaban los valores más elevados, el virus Hong Kong fue neutralizado por el antisuero casi al mismo nivel que el virus italiano, lo que indica la estrecha relación serológica entre los dos virus.

DISCUSION

Hasta ahora se han reconocido 7 tipos del virus de la fiebre aftosa. Cada uno comprende varios subtipos relacionados entre sí, pero no con los de otros tipos. Uno de estos tipos se identificó por primera vez en material procedente de Asia y todavía sólo se ha identificado en ese continente, extendiéndose hacia el oeste hasta países del Medio Oriente. Siempre hay que tener presente la posibilidad de la existencia de más de los tipos conocidos o la aparición de uno nuevo a partir de las cepas de virus actuales en el campo. El sudeste asiático y Hong Kong en particular, son áreas en que es probable este fenómeno, ya que poseen un movimiento frecuente y extensivo de animales, que vienen de la gran masa terrestre de Asia.

Esta descripción del síndrome vesicular ocurrido en cerdos de Hong Kong se hace con el propósito de llamar la atención al problema del diagnóstico diferencial. Puesto que los signos clínicos de esta enfermedad eran muy semejantes a los de la fiebre aftosa, en circunstancias en que el agente causal no podía identificarse utilizando cualquiera de los serotipos conocidos, el problema consistía en decidir si el brote era debido a un nuevo tipo de virus de la fiebre aftosa o a un agente sin relación alguna con esa enfermedad. El hecho que bovinos y cultivos

de tejidos bovinos no mostrasen signos de infección sugería que no se trataba de virus de fiebre aftosa, pero sin permitir una conclusión, por cuanto conocemos la existencia de cepas con un grado de adaptación natural al cerdo (Brooksby, 1950).

Por lo tanto, era necesario recurrir a otros métodos para demostrar que el agente tenía propiedades físicas y químicas diferentes a las del virus aftoso. Felizmente, disponíamos del informe del brote de Italia y de materiales para comparación. Los resultados de nuestras investigaciones indican una similitud estrecha entre el virus Hong Kong y el virus Italia, el cual fue clasificado tentativamente, pero en forma bastante concluyente, como un enterovirus porcino, en base a la resistencia al pH 5, estabilidad a 50° C en presencia de 1M de cloruro de magnesio, coeficiente de sedimentación en gradientes de densidad de sacarosa y densidad boyante en cloruro de cesio (Nardelli *et al.*, 1968). Parecería, por lo tanto, que el síndrome vesicular de Hong Kong también fue causado por un enterovirus porcino.

Si bien no es usual la producción de exantema por un enterovirus, tampoco es inesperada, ya que también se han encontrado otros enterovirus que actúan en sitios anormales, como por ejemplo, los efectos patógenos del poliovirus sobre el sistema nervioso central. Del cerdo se han aislado muchos enterovirus y se sabe que su distribución es amplia (Kalter, 1960). Algunas cepas bien pueden tener la capacidad de provocar lesiones vesiculares. Consecuentemente, en futuros brotes de enfermedades vesiculares en cerdos, será bueno considerar los enterovirus porcinos en el diagnóstico diferencial de la causa, junto a los virus de la fiebre aftosa, del exantema vesicular y de la estomatitis vesicular.

SUMARIO

Se describe una enfermedad vesicular de cerdos en los Nuevos Territorios, Hong Kong, y se pone de relieve la dificultad de diferenciarla de la fiebre aftosa. El agente responsable puede ser desarrollado en cultivos de tejido de células de cerdo, pero no en células de bovino o células BHK-21. Es muy resistente a la inactivación ácida y puede ser estabilizado contra la inactivación térmica a 50° C por la adición de 1M MgCl₂. Su densidad boyante es de 1,34 g/ml, o sea claramente inferior a la del virus aftoso. Un estudio comparativo mediante pruebas de seroneutralización cruzada indica que es serológicamente semejante al enterovirus porcino recuperado en Italia de cerdos que presentaron un síndrome de tipo vesicular semejante.

SUMMARY

DIFFERENTIATION OF A VESICULAR DISEASE OF PIGS IN HONG KONG FROM FOOT-AND-MOUTH DISEASE

A vesicular disease of pigs in the New Territories, Hong Kong, is described and attention drawn to the difficulty in differentiating it from foot-and-mouth disease. The causal agent can be grown in tissue cultures of pig cells, but not in bovine cells or BHK-21 cells. It is highly resistant to acid inactivation and it can be stabilised against thermal inactivation at 50° C by the addition of 1M MgCl₂. Its buoyant density is 1.34 g per ml, significantly less than that of foot-and-mouth disease virus. Comparison by cross-neutralization tests indicate that it is serologically similar to a porcine enterovirus recovered from pigs in Italy showing a similar type of vesicular syndrome.

TABLA 1

Respuesta en cerdos y bovinos a la inoculación con virus del síndrome vesicular porcino de Hong Kong

	Títulos de anticuerpos neutralizantes*		Presencia de lesiones**
	0 día	28 días postinfección	
Cerdos			
JG 70	<5	1.350	+
JG 71	<5	2.679	+++
JG 72	<5	1.857	++++
JG 73	<5	857	+
Bovinos			
JG 66	6,7	56	Neg.
JG 67	<5	48	Neg.

* Expresando como valor recíproco de la dilución de suero que causa una reducción de 90% en el número de placas.

**+ = lesiones benignas ++++ = infección generalizada severa

TABLA 2

Comparación entre los virus Hong Kong, Italia y de la fiebre aftosa, tipo A, por sensibilidad ácida

Virus	Título (u.f.p.* por ml)	
	Control (pH 7,6)	pH 4,0 por 30 minutos
Hong Kong 36/71	$1,17 \times 10^8$	$1,0 \times 10^8$
Italia 1/66	$1,1 \times 10^9$	$9,0 \times 10^8$
Fiebre aftosa A ₂₂ URSS 1/66	$1,2 \times 10^8$	$< 10^1$

* u.f.p. = unidades formadoras de placas

TABLA 3

Comparación entre los virus Hong Kong, Italia y de la fiebre aftosa, tipo SAT₁, por labilidad térmica y efecto estabilizante de 1M de cloruro de magnesio

Virus	Título (u.f.p.) por ml		
	Control (4° C)	50° C por 1 hr.	x 1M MgCl ₂ , 50° C por 1 hora
Hong Kong 36/71	6,0 x 10 ⁷	5,0 x 10 ⁶	3,5 x 10 ⁷
Italia 1/66	6,5 x 10 ⁸	1,9 x 10 ⁷	7,2 x 10 ⁸
Fiebre aftosa Tan 5/68	1,2 x 10 ⁷	9,0 x 10 ³	1,4 x 10 ³

TABLA 4

Resultados de una prueba de neutralización cruzada para comparar el virus Hong Kong con el virus Italia

Suero	Virus	
	Hong Kong 36/71	Italia 1/66
Hong Kong 36/71	1572*	701
Italia 1/66	1415	6637

* Valor recíproco de la dilución de suero que causa una reducción de 90% en el número de placas.

AGRADECIMIENTOS

Mucho agradecemos la ayuda y colaboración del Departamento de Agricultura y Pesca del Gobierno de Hong Kong. Asimismo, deseamos agradecer al Dr. D. Rowlands por las determinaciones de la densidad de flotación; al Sr. C. Smale por las fotografías y la microscopía electrónico, y al Sr. R. Burrows por facilitarnos muestras del virus Italia 1/66 y su antisuero.

REFERENCIAS

- BROOKSBY, J.B. *J. Hyg., Camb.* 47: 184, 1950.
- KALTER, S.S. *Bull. Wld Hlth Org.* 22: 319, 1960.
- NARDELLI, L., LODETTI, E., GUALANDI, G., BURROWS, R., GOODRIDGE, D., BROWN, F., y CARTWRIGHT, B. *Nature, Lond.* 219 (5160): 1275-1276, 1968.

r e s ú m e n e s
a b s t r a c t s

ANTONYUK, V.P. *et al.*

Texto en ruso. *Veterinariya* (Moscow) 9: 46-48, 1971. (*Vet. Bull.*, Weybridge 42 (9): 5188, 1972). [GNKI, Zvenigorodskoe Shosse 5, Moscow D-22, URSS]

El papel de la profilaxis en la fiebre aftosa

El número de animales vacunados en URSS aumentó de 12,6 millones en 1954 a 132 millones en 1969. Se mejoró la acción inmunogénica de la vacuna mediante la adición de adyuvante (saponina). En las áreas donde se llevó a cabo la vacunación sistemática de toda la población susceptible, juntamente con medidas sanitarias, hubo una considerable reducción en la morbilidad. Por otro lado, no se alcanzaron resultados satisfactorios en las áreas en donde fue vacunada sólo una parte de la población animal. Aun cuando los síntomas clínicos son raros en ovinos, la presencia de altos títulos de anticuerpos es considerada como indicativa de infección en el pasado. Se sugiere un esquema de vacunación anual de toda la población animal susceptible.

Role of specific prophylaxis in foot and mouth disease

The number of vaccinated animals in the U.S.S.R. increased from 12.6 million in 1954 to 132 million in 1969. Vaccinal immunogenic activity was improved by the addition of adjuvant (saponin). In areas where prophylactic vaccination of the entire susceptible animals population was carried out, along with sanitary measures, there was a considerable reduction of morbidity. On the other hand, good results were not achieved in areas where only a part of the animal population was vaccinated. Although clinical symptoms in sheep are rare, the presence of antibodies at high titre is considered indicative of past infection. A scheme of annual vaccination of the entire susceptible animal population is suggested.

BACHRACH, H.L., McKERCHER, P.D.

Texto en inglés. *J. Am. vet. med. Ass.* 160 (4 part 2): 521-526, 1972. [Plum Island Animal Disease Laboratory, Post Office Box 848, Greenport, Long Island, New York 11944, USA]

Inmunología de la fiebre aftosa en porcinos: vacunas experimentales de virus inactivado

Se describen vacunas experimentales de virus aftoso inactivado que inmunizaron porcinos bastante rápidamente y por períodos suficientes para posibilitar su uso en epizootias y en programas de vacunación sistemática. El virus puede ser desarrollado en grandes cantidades en células BHK y es fácilmente concentrado y purificado. Se puede ajustar el contenido de virus en la vacuna con el número de microgramas indicado para curvas dosis-respuesta. Sustancias químicas (p. ej. etileneiminas sustituidas) están empleadas e

Immunology of foot-and-mouth disease in swine: experimental inactivated-virus vaccines

Experimental inactivated foot-and-mouth disease (FMD) viral vaccines are described which immunize swine rapidly enough and for sufficient periods to have possible application in epizootics and in systematic vaccination programs. The virus can be grown in large quantities in a BHK cell line and readily concentrated or purified. The virus content of the vaccine can be adjusted to the number of micrograms indicated by dose-response curves. Chemicals (e.g., substituted ethyleneimines) are used which inactivate the virus according

inactivan el virus de acuerdo con cinética de primer orden. Adyuvantes efectivos, tales como aceites de hidrocarburos o dietilaminoetil-dextrano, pueden ser usados en pequeñas cantidades y concentrar las vacunas que se inoculan, para reducir al mínimo cualquier reacción residual de tejido.

to first-order kinetics. Effective adjuvants, such as hydrocarbon oils or diethylaminoethyl dextran, can be used in small amounts and the concentrated vaccine inoculated so as to minimize any residual tissue reaction.

BALLARINI, G. *et al.*

Texto en italiano e inglés. *Folia Veterinaria Latina 1* (2): 283-314, 1971. (*Vet. Bull.*, Weybridge 42 (7): 3787, 1972). [Ist. Clinica Med. Vet. Univ. Parma, Italy]

La prueba intradérmica en el estudio de la sensibilidad de bovinos frente a la vacuna antiaftosa

La anafilaxia causada por la inoculación de vacuna antiaftosa provoca un problema en ciertos distritos del norte de Italia. Los autores informan resultados de 4 años de estudios de: 1) tipo de respuesta a la inoculación por vía intradérmica de la vacuna antiaftosa (tipo Waldmann) en relación con la edad del animal y el número de vacunaciones previas; 2) la persistencia del tipo y la intensidad de la respuesta individual a la inoculación intradérmica (reacción temprana, diferida o normal); 3) la respuesta a la vacuna antiaftosa en animales ya conocidos como hipersensibles, y 4) vacunación en animales con respuesta normal a la prueba cutánea. Los autores consideran que las reacciones cutáneas precoces denotan sensibilización para una vacuna en particular y que el porcentaje de respuestas positivas aumenta mucho en ciertos distritos del norte de Italia, como resultado de la campaña de vacunación de 1965. La sensibilización persiste en el animal por períodos de varios años y no tiene la tendencia a desaparecer espontáneamente. Todos los rebaños con una historia de incidentes anafilácticos muestran intensas reacciones cutáneas precoces. Solo una vaca con prueba cutánea normal tuvo una reacción anafiláctica débil (urticaria) a la vacunación; en años subsiguientes esta vaca fue

Intradermal test in the study of sensitization of cattle to foot and mouth disease vaccine

Anaphylaxis due to the injection of FMD vaccine is a problem in certain districts of northern Italy. The authors report the results of a four-year study of (1) the type of response to intradermal injection of FMD vaccine (Waldmann type) in relation to age of animal and number of previous vaccinations, 2) the persistence of the type and intensity of the response to intradermal injection (early, late or normal reaction) in individual animals, 3) the response to FMD vaccine in animals already known to be hypersensitive, and 4) vaccination in animals with normal response to the skin test. The authors consider that precocious skin reactions denote sensitization to a particular vaccine and that the percentage of positive responses greatly increased in certain districts of northern Italy as a result of the 1965 vaccination campaign. Sensitization persists for several years in the individual animal and does not tend to disappear spontaneously. All herds of cattle with a history of anaphylactic incidents exhibited intense precocious skin reactions. Only one cow with a normal skin test had a very mild anaphylactic response (urticaria) to vaccination; in subsequent years this cow showed a positive skin test. The practicability of the skin test in screening animals for hypersensitivity

positiva a la prueba cutánea. Se pone en evidencia la practicidad de la prueba cutánea para seleccionar animales hipersensibles e identificar vacunas con un potencial altamente alergénico. Se discute la relación entre la hipersensibilidad para la vacuna y para otras drogas.

and in identifying vaccines with a high allergic potential is pointed out. The relationship between hypersensitivity to vaccine and that to other drugs is discussed.

BARLOW, D.F.

Texto en inglés. *J. gen. Virol.* 15 (1): 17-24, 1972. [Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England]

Estabilidad en aerosol de una cepa de virus aftoso y efectos de la precipitación con sulfato de amonio, metanol y polietilenglicol sobre la estabilidad

Se halló que la cepa de virus aftoso (O₁ BFS 1860) fue comparativamente estable en aerosoles a humedades relativas mayores de 55%: la tasa de inactivación fue mayor a humedad relativa más baja. El virus precipitado con sulfato de amonio o con metanol fue considerado más inestable que el virus no tratado a humedad relativa menor de 55%: esta inestabilidad no fue debida a precipitante residual que no fue removido por diálisis. El virus precipitado por polietilenglicol o centrifugado a velocidad elevada fue estable como el virus no tratado. Se discuten las probables razones para la inestabilidad del virus precipitado por sulfato de amonio o metanol.

The aerosol stability of a strain of foot-and-mouth disease virus and the effects on stability of precipitation with ammonium sulphate, methanol or polyethylene glycol

A strain of foot-and-mouth disease virus (O₁ BFS 1860) was found to be comparatively stable in aerosols at relative humidities above 55%: the inactivation rate was greater at lower relative humidities. Virus precipitated with ammonium sulphate or methanol was considerably more unstable than untreated virus at relative humidities below 55%: this instability was not due to residual precipitant not removed by dialysis. Virus precipitated by polyethylene glycol or centrifuged at high speed was as stable as untreated virus. Possible reasons for the instability of virus precipitated by ammonium sulphate or methanol are discussed.

BUSSEREAU, F.

Texto en francés. *Ann. Inst. Pasteur (Paris)* 122 (5): 1029-1058, 1972. [Laboratoire de Génétique des Virus, CNRS, Gif-sur-Yvette, France]

Estudio sobre la sensibilidad a CO₂ producida por el virus de la estomatitis vesicular en "Drosophila melanogaster". II. Virus de estomatitis vesicular serotipo Indiana

El virus de la estomatitis vesicular (VEV) serotipo Indiana provoca una sensibilidad a CO₂ desde el primer pasaje en *Drosophila*

Studies on CO₂ sensitivity in "Drosophila melanogaster" after infection with vesicular stomatitis virus. II. VSV Indiana serotype

Vesicular stomatitis virus (VSV) type Indiana induces CO₂ sensitivity after a single passage on *Drosophila melanogaster*. This

melanogaster. Esta sensibilidad puede presentarse como una parálisis (sensibilidad inmediata o por muerte a los 3 días después de exposición (sensibilidad retardada).

Cuando la invasión del sistema nervioso es completa, la probabilidad de revelar sensibilidad después de una sola exposición a CO₂ no es igual a 1 pero, sin embargo es constante.

La temperatura de incubación tiene una gran influencia sobre la probabilidad de infección exitosa con una partícula viral en un *Drosophila* así como la probabilidad de manifestar sensibilidad inmediata después de exposición. Estos dos parámetros están aumentando con la elevación de temperatura de 20° a 30° C.

La población viral de VEV no adaptada parece ser homogénea, pero es claro que hay una heterogeneidad después del 9° pasaje en *Drosophila melanogaster*. Esta variación afecta la relación de probabilidad de infección de *Drosophila* y de cultivos celulares de vertebrados y también el número mediano de pruebas con CO₂ necesario para detectar la sensibilidad.

sensitivity may appear either as a paralysis (immediate sensitivity) or as death within 3 days of exposure (delayed sensitivity).

When the nervous system is totally infected, the probability of revealing CO₂ sensitivity after only one exposure is not 1, but nevertheless remains constant.

The incubation temperature has a marked effect on the probability of one viral particle successfully infecting *Drosophila* and also on the probability of revealing immediate CO₂ sensitivity after exposure. These 2 parameters increase with increasing temperature from 20 30° C.

The viral population of non adapted VSV appears to be homogenous, but it is clear, that there is an heterogeneity in the suspension after the 9th passage on *Drosophila*. This variation concerns the infection probability ratio on *Drosophila* and on vertebrate cell cultures, and the average number of CO₂ tests required for the detection of sensitivity.

CAMPBELL, C.H.

Texto en inglés. *Infect. Immun.* 5 (1): 65-69, 1972. [Plum Island Animal Disease Laboratory, Post Office Box 848, Greenport, Long Island, New York 11944, USA]

Virus aftoso: selección por adsorción en riñón de ternero homogeneizado y por pasajes en cultivos celulares

Se hicieron pasajes de virus aftoso 20 veces por adsorción de virus con riñón de ternero homogeneizado y por propagación de fracciones de virus resistentes a adsorción en cultivos celulares. El pasaje del virus fue acompañado por una marcada disminución de la patogenicidad para ratones de 35 días de edad y una reducción en su aptitud para adsorber riñón homogeneizado de estos ratones. Con los pasajes se disminuyó también la adsorción en riñón homogeneizado de ternero y de ratones jóvenes, pero la patogenicidad para bovinos y ratones jóvenes continúa siendo alta. Antigénicamente el virus de pasaje parece que no

Foot-and-mouth disease virus: selection by homogenized calf kidney adsorption and cell culture passage

Foot-and-mouth disease virus was passaged 20 times by alternately adsorbing the virus with homogenized calf kidney and propagating the adsorption-resistant fraction of virus in cell cultures. Passage of the virus was accompanied by a marked decrease in pathogenicity for 35-day-old mice and a reduction in its ability to adsorb to homogenized kidney from such mice. Adsorption by homogenized calf kidney and infant mouse kidney also decreased with passage, but pathogenicity for cattle and infant mice remained high. The passaged virus did not seem to change antigenically. When the 20th-passage virus was serially passaged

cambió. Cuando el virus del 20° pasaje fue pasado en serie 10 veces en cultivos celulares, no se observó patogenicidad para ratones de 35 días de edad.

10 times in cell cultures, no reversion in pathogenicity for 35-day-old mice was observed.

DARBYSHIRE, J.H. *et al.*

Texto en inglés. *J. Hyg., Camb.*, 70 (1): 171-180, 1972. [Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England]

Estudios comparativos de fijación de complemento con cepas de subtipos de virus aftoso

Se hizo una comparación entre una prueba de fijación de complemento por macrotécnica en tubos, con otra prueba por microtécnica en placas de material plástico, utilizando cepas de tres subtipos de virus aftoso tipo Asia 1. Los resultados obtenidos con ambas técnicas son comparables e indican las relaciones antigénicas de las tres cepas empleadas. Se consideró que la microtécnica es económica en lo que se refiere a reactivos y de una exactitud y reproductibilidad semejantes a las del método standard en tubos. Se concluyó que el análisis antigénico de cepas de subtipo de virus aftoso puede ser ejecutado mediante la microtécnica descrita.

Comparative complement-fixation studies with subtype strains of foot-and-mouth disease virus

A comparison was made between a macro-technique in tubes and a microtechnique in plastic plates for complement-fixation tests, using strains of three subtypes of the Asia 1 type of foot-and-mouth disease (FMD) virus. The results obtained with these techniques were found to be comparable and delineated the antigenic relationships of the three strains employed. The microtechnique was considered to be both economical with reagents and capable of similar accuracy and reproducibility to that of the standard method in tubes. It was concluded that the antigenic analysis of subtype strains of FMD virus can be conveniently carried out by the use of the microtechnique as described.

DONALDSON, A.I.

Texto en inglés. *J. gen. Virol.* 15 (1): 25-33, 1972. [Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England]

La influencia de la humedad relativa sobre la estabilidad en aerosol de diversas cepas de virus aftoso suspendidas en saliva

Se comparó la estabilidad de 8 cepas de virus aftoso suspendidas en el líquido salival de bovino. Las cepas utilizadas fueron: O₁ BFS 1860, O₁ Pacheco, O₁ Lombardía, O₂ Brescia, A₅ Eystrup (Tübingen), A₂₂ Iraq 24/64, C Noville y C Líbano 3/69. Las cepas se compararon en nubes de aerosol de 1 seg. de duración a diversas humedades relativas y mantenidas hasta 60 min. a 70% y 55% de humedad

The influence of relative humidity on the aerosol stability of different strains of foot-and-mouth disease virus suspended in saliva

Comparisons were made of the aerosol stabilities of eight strains of foot-and-mouth disease virus suspended in bovine salivary fluid. The strains used were O₁ BFS 1860, O₁ Pacheco, O₁ Lombardy, O₂ Brescia, A₅ Eystrup (Tübingen), A₂₂ Iraq 24/64, C Noville and C Lebanon 3/69. The strains were compared as aerosol clouds 1 sec old at different relative humidities and during storage for up to 60

relativa (HR). En menos de 1 seg. todas las cepas de virus mostraron supervivencia máxima de infecciosidad a 60% HR y mayor. Por debajo de 60% HR la infecciosidad fue reducida y se detectó poca infecciosidad debajo de 20% HR. Con HR baja, la supervivencia de cepas de tipo A fue 10 veces mayor que de las cepas tipo O y C. Hubo diferencia significativa entre las cepas, en lo que se refiere a su estabilidad durante el mantenimiento de aerosoles a 70% ó 55% HR. Las tasas de decrecimiento oscilaron de 1,1 log/hr (O₁ Pacheco) a 3,2 log/hr (O₁ BFS 1860) a 70% HR y de 2,1 log/hr (O₁ Pacheco) a 3,3 log/hr (A₂₂ Iraq) a 55% HR. La recuperación de infecciosidad de algunas cepas fue demasíadamente baja a 55% HR para permitir la determinación de tasas de decrecimiento.

min at 70% and 55% relative humidity (RH). In aerosol clouds 1 sec old all virus strains showed maximum survival of infectivity at 60% RH and above. Below 60% RH, infectivity was reduced and little infectivity was detected below 20% RH. At low RH the aerosol survival of the A strains was about 10-fold higher than that for the O and C strains. The strains differed significantly in stability during storage of aerosols at 70% or 55% RH. Decay rates ranged from 1.1 log/hr (O₁ Pacheco) to 3.2 log/hr (O₁ BFS 1860) at 70% RH and from 2.1 log/hr (O₁ Pacheco) to 3.3 log/hr (A₂₂ Iraq) at 55% RH. At 55% RH the infectivity recoveries of some strains were too low for decay rates to be determined.

GRAVES, J.H. *et al.*

Texto en inglés. *Am. J. Vet. Res.* 33 (4): 765-768, 1972. [Plum Island Animal Disease Laboratory, Post Office Box 848, Greenport, Long Island, New York 11944, USA]

Vacuna antiaftosa: influencia del subtipo de virus utilizado en la preparación de la vacuna sobre los anticuerpos neutralizantes y la resistencia frente a la enfermedad

Se halló un nivel elevado de correlación entre la infección generalizada de bovinos vacunados contra la fiebre aftosa en el momento de exposición a virus, y el título de anticuerpos circulantes neutralizantes de virus. La inmunidad fue fuertemente dependiente de la relación del subtipo de virus empleado en contacto con aquel utilizado en la preparación de vacuna.

Foot-and-mouth disease vaccine: influence of the vaccine virus subtype on neutralizing antibody and resistance to disease

A high level of correlation was found between generalized infection at the time of viral exposure of cattle vaccinated against foot-and-mouth disease and the circulating virus-neutralizing antibody titer. The immunity was highly dependent on the relatedness of the subtype of the virus used for the exposure to that used to prepare the vaccine.

HEDGER, R.S.

Texto en inglés. *J. Comp. Path.* 82 (1): 19-28, 1972. [Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England]

Fiebre aftosa en el búfalo africano (Syncerus caffer)

Se describen las técnicas de inmovilización para captura, muestreo y liberación del

Foot-and-mouth disease and the African buffalo (Syncerus caffer)

Immobilization techniques for the capture, sampling and release of wild African buffalo

búfalo africano. De 62 búfalos verificados se aisló virus aftoso de 35 de ellos, y se recuperaron 3 tipos de virus de una población. Varios tipos de virus se aislaron de algunos individuos. No se observó enfermedad clínica ni en los búfalos ni en otros animales de caza susceptibles que estaban en contacto con ellos, pero los altos títulos de virus hallados en muchos individuos y la demostración de viremia en un animal, indicaron la existencia corriente de la infección.

Los resultados muestran que los búfalos representan un reservorio natural de infección de varias cepas del virus aftoso y, aun cuando es posible que algunas de estas cepas fueran modificadas por el búfalo, la patogenicidad para los bovinos se mantiene. Se sugiere un posible mecanismo de perpetuación del virus en el búfalo, en la ausencia de la enfermedad clínica.

Se pone de relieve que la transferencia de virus de búfalo para la población de animales domésticos puede ocurrir solo raramente, debido en parte a la naturaleza transitoria de contacto búfalo/bovino y en parte, en el norte de Botswana, a la vacunación antiaftosa que abarca a todo el ganado doméstico.

are described. Foot-and-mouth disease (FMD) virus was isolated from 35 out of the 62 buffalo sampled and strains of 3 virus types were recovered from the one population. Multiple virus types were isolated from some individuals. No signs of clinical disease were seen either in the buffalo or in other susceptible game species with which they were in contact, but high titres of virus in many individuals and the demonstration of viraemia in one animal indicated current infection.

The results show that buffalo present a true reservoir of infection of a number of FMD virus strains and, while it is possible that some of the strains have been modified for buffalo, pathogenicity for cattle remains. A possible mechanism for the perpetuation of virus in the buffalo in the absence of clinical disease is suggested.

It is stressed that transference of virus from buffalo to the domestic animal population may occur only rarely, due partly to the transient nature of cattle/buffalo contact and partly, in northern Botswana, to the FMD vaccination which covers all domestic stock.

HERNIMAN, K.A.J., SELLERS, R.F.

Texto en inglés. *Arch. ges. Virusforsch.* 37 (1): 97-103, 1972. [Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England]

Protección antiaftosa conferida en cobayos por inoculación simultánea de virus Sendai y de vacuna antiaftosa inactivada

Se mostró que el virus Sendai inoculado en el corazón de cobayos produce interferón que alcanza un pico después de 5 horas. Fue conferida protección frente al virus aftoso desde 24 horas antes hasta 24 horas después de la comprobación. No fue posible demostrar la inhibición de interferón o de producción de anticuerpos cuando se administró virus Sendai al mismo tiempo con vacuna antiaftosa inactivada y no se halló ningún efecto significativo en la

Protection of guinea-pigs against foot-and-mouth disease by simultaneous inoculation of Sendai virus and inactivated foot-and-mouth disease vaccine

Sendai virus inoculated into the heart of guinea-pigs was demonstrated to produce interferon, which reached a peak at 5 hours. Protection was afforded against foot-and-mouth disease virus from 24 hours before to 24 hours after challenge. No inhibition of interferon or antibody production was demonstrated when Sendai virus was administered at the same time as inactivated foot-and-mouth disease vaccine and no significant effect on the 50%

dosis protectora 50% de vacuna. Los cobayos que recibieron simultáneamente virus Sendai y vacuna inactivada fueron protegidos frente al desarrollo de lesiones secundarias de fiebre aftosa 5 horas después de la inoculación, no obstante, no se detectaron ni interferón ni anticuerpos en el segundo o tercer día.

protection dose of vaccine was found. Guinea-pigs given Sendai virus and inactivated vaccines simultaneously were protected from development of foot-and-mouth disease secondary lesions from 5 hours after the time of inoculation, although interferon and antibody were not detected on the second and third days.

KALRA, D.S. *et al.*

Texto en inglés. *Journal of Research* (Ludhiana) 8 (2): 275-281, 1971. (*Vet. Bull.*, Weybridge 42 (6): 3304, 1972). [Coll. Vet. Med., Hissar, Haryana, India]

Algunas observaciones sobre la incidencia y la epizootiología de la fiebre aftosa en porcinos

Entre 1957-58 y 1966-67 fue registrado por el "Government Livestock Farm, Hissar" un total de siete brotes de fiebre aftosa abarcando 608 porcinos. De estos cerdos fueron afectados entre el 19 y el 87%; la mortalidad varió de 0 a 38%. De las seis tipificaciones exitosas de virus, cuatro fueron tipo O, uno fue una variante de tipo A y uno Asia₁.

Some observations on the incidence and epizootiology of foot-and-mouth disease in pigs

Between the years 1957-58 and 1966-67 a total of seven outbreaks of FMD were recorded at the Government Livestock Farm, Hissar, involving 608 pigs. Between 19 and 87% of the pigs were affected; mortality varied from 0 to 38%. Of the six successful virus typings, four were type O, one was a type A variant and one Asia-1.

KUCSERA, G.

Texto en inglés. *Acta Vet. Sci. Hung.* 21 (2-3): 175-176, 1971. (*Virol. Abstr.* 5 (5): V2298, 1972). [Budapest X., Szállás U. 8, Hungary]

Experimentos sobre la inmunización activa de cerdos contra la fiebre aftosa

Se inocularon cerdos de 3 a 4 meses de edad por vía subcutánea en la región abdominal inferior con uno de los tres tipos de vacuna antiaftosa en experiencia. Se aplicaron dosis diferentes, una o dos veces en un lapso de dos semanas. La comprobación de estos cerdos fue hecha mediante exposición en establos recién contaminados. Los resultados indican que 1) es posible alcanzar protección en cerdos frente a la infección por contacto, mediante inoculación de dosis 3 veces mayor

Experiments on active immunization of pigs against foot-and-mouth disease

Three to four-month-old white pigs were injected subcutaneously in the lower abdominal region with 1 of the 3 types of foot-and-mouth disease vaccine tested. Varying doses were given, either once only, or twice at an interval of 2 weeks. The pigs were challenged by housing them in a recently contaminated stable. The results indicated that (1) protection of swine against contact infection could be achieved by using 3 times the dose of vaccine indicated for cattle, (2) the use of lower doses

que la indicada para bovino; 2) el empleo de dosis menores proporciona sólida inmunidad sólo después de la segunda vacunación, y 3) se obtuvieron mejores resultados con vacunas que contenían 0,2-0,3% de saponina.

gave solid immunity only after the second vaccination, and (3) better results were obtained when the vaccine contained 0.2-0.3% saponin.

MAES, R.F.

Texto en inglés. *Arch. ges. Virusforsch.* 37 (1): 19-33, 1972. [Centro Panamericano de Fiebre Aftosa, Caixa Postal 589, ZC-00, Rio de Janeiro, Brasil]

Investigaciones sobre la atenuación inducida en el virus aftoso por un mutágeno químico

Investigations of the attenuation induced in foot-and-mouth disease virus by a chemical mutagen

Virus aftoso adaptado a ratones adultos fue clonado y comparado con el mismo virus después de ser tratado con un mutágeno *in vitro*. Después de tratado, se aisló un clon viral que fue parcialmente atenuado para ratones adultos. Los dos clones de virus fueron indistinguibles en lo que se refiere a sus tasas de inactivación con antisuero, urea y yodo, así como en su susceptibilidad para urea y guanidina incorporadas en el medio de cultivo.

Foot-and-mouth disease virus adapted to adult mice was cloned and compared to the same virus after its treatment with a mutagen *in vitro*. After treatment, a viral clone was isolated that was partially attenuated for adult mice. The two viral clones were indistinguishable in their inactivation rates with antiserum, urea and iodine, as well as in their susceptibility to urea and guanidine incorporated in the growth medium.

Ambos clones fueron igualmente inhibidos en su multiplicación en células primarias de riñón de bovino en la presencia de un inductor de interferón. El tamaño de las placas formadas bajo agar 1% en células BHK-21/13 no tenía relación con la patogenicidad del virus para ratones adultos. El tamaño de placas del clon atenuado fue menor que el producido por el clon original cuando fue probado en una línea de células de riñón de cerdo.

Both clones were equally inhibited in their multiplication on primary bovine kidney cells in the presence of an interferon inducer. The size of the plaques formed under 1% agar on BHK 21/13 cells was unrelated to the pathogenicity of the virus for adult mice. The plaque size of the attenuated clone was smaller than that produced by the original clone when tested on a cell line of swine kidney origin.

MARTISEN, J.S.

Texto en inglés. *Res. vet. Sci.* 13 (1): 97-99, 1972. [Plum Island Animal Disease Laboratory, Post Office Box 848, Greenport, Long Island, New York 11944, USA]

Actividad neutralizante de sueros provenientes de cobayos inoculados con variantes del virus aftoso

Neutralizing activity of sera from guinea-pigs inoculated with foot-and-mouth disease virus variants

Se estudió la actividad neutralizante de sueros provenientes de cobayos inoculados con variantes de virus aftoso formadores de placas pequeñas (PP) y de placas grandes

The neutralizing activity of sera from guinea-pigs inoculated with small-plaque (SP) and large-plaque (LP) variants of foot-and-mouth disease virus was studied. Virus

(PG). Se hicieron pruebas de neutralización del virus en ratones lactantes usando variantes formadores de PP y de PG así como virus de bajo pasaje del mismo tipo y cepa. Se obtuvieron títulos más altos con virus homólogo que con virus de bajo pasaje en cultivo de tejido. La actividad neutralizante no fue demostrable en algunos sueros de cobayos con virus de bajo pasaje, mientras que se detectaron niveles significantes de actividad neutralizante cuando se probaron mezclas de virus homólogo-suero.

neutralization tests were performed in suckling mice using the SP and LP variants as well as a low passage virus of the same type and strain. Higher titres were obtained with homologous virus than when a virus of low passage in tissue culture was used. Neutralizing activity was not demonstrable in some guinea-pig sera with a low passage virus, whereas a significant level of neutralizing activity was detected when homologous virus-serum mixtures were tested.

MIYOSHI, K. *et al.*

Texto en inglés. *J. Neuropath. exp. Neurol.* 30 (2): 266-275, 1971. (*Vet. Bull.*, Weybridge 42 (6): 3308, 1972). [Dep. Neurology, Coll. Physicians, Columbia University, New York, N.Y. 10032, USA]

Estudios neuropatológicos y de inmunofluorescencia en encefalitis provocada por el virus de la estomatitis vesicular en ratones experimentalmente infectados

Se inocularon ratones por vía intracerebral e intranasal con virus de estomatitis vesicular (VEV). La inoculación intracerebral produjo sólo cambios neuropatológicos mínimos a pesar de la amplia distribución de antígeno viral y de la infección cerebral. El antígeno de VEV fue encontrado inicialmente en el sistema ventricular y después se diseminó en todo el cerebro. La inoculación intranasal produjo lesiones necróticas. El antígeno de VEV apareció primero en los bulbos olfatorios, lóbulo piriforme e hipocampo, y más tarde se diseminó hacia el sistema ventricular. Parece que la reproducción del VEV se produce primariamente en el citoplasma de la neurona.

Neuropathological and immunofluorescence studies of experimental vesicular stomatitis virus encephalitis in mice

Mice were inoculated intracerebrally and intranasally with vesicular stomatitis virus (VSV). Intracerebral inoculation produced only minimal neuropathological changes despite widespread distribution of viral antigen and brain infection. Vesicular stomatitis virus antigen was found initially in the ventricular system and later spread throughout the brain. Intranasal inoculation produced necrotic lesions. The VSV antigen first appeared in the olfactory bulbs, pyriform lobe and hippocampus and later spread to the ventricular system. Vesicular stomatitis virus appeared to replicate primarily in neuron cytoplasm.

RAO, B.U. *et al.*

Texto en inglés. *Indian J. Anim. Sci.* 41: 199-206, 1971. (*Viol. Abstr.* 5 (4): V1802, 1972). [Indian Vet. Res. Inst., Mukteswar-Kumaon, Uttar Pradesh, India]

Evaluación de inmunogenicidad conferida por cepas de virus aftoso modificadas por pasajes en ratones

Virus aftoso de tipos O y A, después de 84

Assessment of the immunogenicity of the mice-modified strains of foot-and-mouth disease virus

Foot-and-mouth disease virus types O and A

y 63 pasajes en ratones, respectivamente, se mostraron suficientemente atenuados para garantizar su inocuidad e inmunogenicidad en un número limitado de bovinos, ovinos, caprinos y cobayos. Las cepas atenuadas fueron inocuas y ningún animal inoculado mostró fiebre o lesiones. La respuesta de anticuerpos para la cepa del virus O, medida mediante pruebas de seroneutralización, fue débil en bovinos, discreta en ovinos y caprinos, y buena en cobayos y conejos. La respuesta de anticuerpos para la cepa del tipo A fue uniformemente buena en todas las especies de animales. Los resultados fueron confirmados por pruebas con descarga de virus.

appeared sufficiently attenuated after 84 and 63 passages, respectively, in mice, to warrant the testing of their safety and immunogenicity in a limited number of cattle, sheep, goats and guinea-pigs. The attenuated strains proved to be safe and none of the inoculated animals showed pyrexia or lesions. The antibody response to the O strain as measured by neutralization tests was poor in cattle, fairly good in sheep and goats and good in rabbits and guinea-pigs. The antibody response to the A strain was uniformly good in all species of animals. The results were confirmed by challenge tests.

RAO, V.J., VENKATASWAMI, V.

Texto en inglés. *Indian vet. J.* 48 (11): 1101-1103, 1971. (*FMD Bull. Wellcome* 11 (7): 127, 1972). [Madras Vet. College, Madras, India]

Histopatología del tejido testicular de toros de cruce vacunados contra la fiebre aftosa - II.

Se hizo la castración unilateral a uno de dos toros, 35 días después de la vacunación antiaftosa, en el momento que el porcentaje de anormalidades espermatozoicas fue elevado. A 65 días, cuando este porcentaje volvió hasta el nivel prevacunal, se hizo una castración similar al segundo toro. El tejido testicular obtenido fue fijado, teñido, cortado y examinado microscópicamente para observar cambios histopatológicos. El aspecto celular en los tubos seminíferos fue atípico e indicó la ausencia de actividad espermatogénica normal en el primer toro castrado. Las espermatogonias persistieron aglutinadas en placas y algunos tubos estaban retorcidos o rotos. Las células intersticiales no fueron afectadas. En el tejido testicular obtenido a los 65 días después de la vacunación se pudo observar el proceso de regeneración del epitelio germinal y la actividad espermatogénica normal restablecida.

Histopathology of testicular tissue of cross-bred bulls in foot and mouth disease vaccination - II.

One of two bulls was unilaterally castrated on the 35th day after vaccination against foot and mouth disease at a time when the percentage of spermatozoan abnormalities was high. When this percentage had returned to its prevaccinal level (65 days) the other bull was similarly castrated. The testicular tissue obtained was fixed, stained, sectioned and examined under the microscope for histopathological changes. The cellular pattern in the seminiferous tubules was atypical and indicated an absence of normal spermatogenic activity in the first bull to be castrated. Spermatogonial cells persisted in patches and some of the tubules were distorted or disrupted. Interstitial cells were unaffected. In the testicular tissue obtained at 65 days post-vaccination, the process of regeneration of germinal epithelium could be detected and normal spermatogenic activity was restored.

RAY, S.

Texto en inglés. *Indian J. Exp. Biol.* 9: 116-117, 1971. (*Viol. Abstr.* 5 (7): V3498, 1972). [Dir. Gen. Health Serv., Nirman Bhavan, New Delhi 11, India]

Protección cruzada en infección con virus no relacionados *Cross protection in unrelated virus infection*

Se informa sobre protección cruzada entre el virus aftoso y el virus vaccinia en terneros. El mecanismo de protección cruzada es oscuro. Los resultados indican que los anticuerpos humorales no desempeñan un papel apreciable. No hay conformidad antigénica entre los dos virus. Se postuló que la protección cruzada puede ser relacionada con la inducción de interferón por el virus aftoso.

Cross protection between foot-and-mouth disease virus (FMDV) and vaccinia virus in calves is reported. The mechanism of cross protection is obscure. The results indicate that humoral antibody has no perceptible role. There is no antigenic overlap between the 2 viruses. It is postulated that the cross protection may be related to the induction of interferon by FMDV.

SALAZHOV, E.L. *et al.*

Texto en ruso. *Zh. Mikrobiol. Epid. Immunobiol.* 6: 87-90, 1970. (*Vet. Bull., Weybridge* 41 (5): 2261, 1971). [VIEV, Moscow Zh-472, URSS]

Fiebre aftosa en el hombre

En los dos casos descritos se confirmó el diagnóstico clínico por aislamiento del virus y por pruebas inmunológicas. Uno de los pacientes bebió leche cruda proveniente de una vaca infectada y el otro ordeñó una vaca infectada. En ambos casos se tipificó virus A₂₂ tanto en los animales como en los pacientes humanos.

Foot-and-mouth disease in man

In both cases described clinical diagnosis was confirmed by the isolation of the virus and immunological tests. One patient had drunk raw milk from an infected cow and the other had milked an infected cow. In both cases virus type A₂₂ was established in the animals and the human patients.

SCHAFER, T.W. *et al.*

Texto en inglés. *Appl. Microbiol.* 23 (3): 565-570, 1972. [Department of Virology, Schering Corporation, Bloomfield, New Jersey 07003, USA]

Evaluación de la gentamicina para empleo en virología y cultivo de tejido

Se presentan datos sobre la comparación de la gentamicina con la penicilina y estreptomycin (Pen-Strep), en medio de cultivo de tejido, con respecto a un número de parámetros asociados con virología y cultivo de tejido. A diferencia de Pen-strep, la gentamicina se presentó estable a pH 2 - 10 durante 15 días

Evaluation of gentamicin for use in virology and tissue culture

Data are presented comparing gentamicin to penicillin and streptomycin (Pen-Strep) in tissue culture medium with respect to a number of parameters associated with virology and tissue culture. Unlike Pen-Strep, gentamicin was stable at pH 2 to 10 for 15 days at 37° C in tissue culture medium, and its activity was

a 37° C en medio de cultivo de tejido, y su actividad no fue afectada por la presencia de suero. Además, fue estable en autoclave. Veinte tipos de células se replicaron normalmente en la concentración sugerida de 50 µg/ml, y una concentración 20 veces mayor tampoco afectó todas las células. Se demostró su aplicación práctica en ensayos de virus por: i) no ser virucida para los virus de ARN y ADN, a 37° C y en una concentración 40 veces mayor que la sugerida; ii) el tamaño y el número de placas no fueron afectados por una concentración 20 veces mayor que la concentración sugerida; iii) los ensayos y la producción de interferón no fueron afectados por una concentración 20 veces mayor que la sugerida. La gentamicina puede ser especialmente útil para envío de muestras clínicas y para estudios de larga duración de cultivos de tejido y de virus.

unaffected by the presence of serum. Moreover, it was stable to autoclaving. Twenty cell types replicated normally at the suggested concentration of 50 µg/ml, and all cells were unaffected by 20 times this concentration. Evidence for its practical use in virus studies was demonstrated in that: (i) it was not virucidal to ribonucleic acid or deoxyribonucleic acid viruses at 40 times the suggested concentration at 37° C; (ii) the size and number of plaques were not affected by 20 times the suggested concentration; (iii) interferon assays and production were unaffected by 20 times the suggested concentrations. Gentamicin may be uniquely useful for shipment of clinical specimens and long-term tissue culture and virus studies.

STELLMANN, C., BORNAREL, P.

Texto en inglés. *Arch. ges. Virusforsch.* 36 (3-4): 205-217, 1972. [Institut Français de la Fièvre Aphteuse, Lyon, 254, rue Marcel Mérieux, France]

Titulaciones de los virus en cultivos celulares

Las titulaciones de los virus de fiebre aftosa y de poliomiелitis en células de cerdo y de mono se analizaron mediante la hipótesis de partícula única (distribución de Poisson) y la hipótesis farmacodinámica (distribución de Gauss). Estas titulaciones efectuadas sobre un gran número de tubos de cultivo celular indicaron:

- que la relación dosis-efecto para el efecto citopatogénico sigue la distribución de Poisson;
- que la distribución de Poisson puede ser perturbada por ciertos factores tales como errores de pipetaje y la agregación de partículas virales en los líquidos.

Prácticamente, para el cálculo de títulos de infecciosidad de las suspensiones virales en cultivos celulares, conviene emplear los

Titration of viruses on cell cultures

Titration of foot-and-mouth disease and poliomyelitis viruses on pig and monkey cells have been analyzed by means of the single-particle (Poisson distribution) and the pharmacology (Gauss distribution) hypothesis. These titrations, carried out on a large number of cell culture tubes, have shown:

- that the dosage-effect relationship for the cytopathogenic effect of the virus is a Poisson distribution;
- that the Poisson distribution can be disturbed by some factors such as pipetting errors and aggregation of virus particles in the fluids.

Practically, methods based on the Poisson distribution, such as the Maximum of Likelihood transformation or the Fisher method, should be used to determine the infectious titers of

métodos basados en la distribución de Poisson, tales como transformación de la Máxima Verosimilitud o el método de Fisher, para evitar cualquier sesgo de los resultados.

viral suspensions on cell cultures, in order to avoid any bias in the results.

STRAVER, P.J., VAN BEKKUM, J.G.

Texto en inglés. *Arch. ges. Virusforsch.* 37 (1): 12-18, 1972. [Centraal Diergeneeskundig Instituut, Grote Kattenburgerstraat 7, Amsterdam, The Netherlands]

Producción de placas en monocamadas de células BHK incubadas a diversas temperaturas por cepas de virus aftoso de portadores

Aislados de virus tipo C provenientes de vesículas y de portadores, de dos haciendas, fueron comparados en lo que se refiere a formación de placas en monocamadas de células BHK incubadas a diversas temperaturas. A temperaturas menores de 37° C las diferencias entre las dos categorías fueron mínimas. Cuando fueron incubadas a temperaturas más elevadas, especialmente a 41° C, los aislados más tardíos de portadores produjeron un número menor de placas que los aislados más tempranos o el virus de vesículas. Las placas formadas por aislados de vesículas alcanzaron diámetros máximos cuando fueron incubados a 40° C, mientras que todos los virus de portadores desarrollaron las mayores placas a temperatura de 37° C.

Plaque production by carrier strains of foot-and-mouth disease virus in BHK-monolayers incubated at different temperatures

Type C vesicular and carrier virus isolates from two farms were compared with regard to plaque formation in BHK-monolayers incubated at different temperatures. At temperatures below 37° C differences between the two categories were only slight. When incubated at higher temperatures, especially at 41° C late carrier isolates produced a smaller number of plaques than early ones or vesicular virus. Plaques formed by vesicular isolates reached maximal diameters when incubated at 40° C, whereas all carrier viruses developed the largest plaques at temperatures of 37° C.

SUTMOLLER, P., McVICAR, J.W.

Texto en inglés. *Arch. ges. Virusforsch.* 37 (1): 78-84, 1972. [Plum Island Animal Disease Laboratory, Post Office Box 848, Greenport, Long Island, New York 11944, USA]

La importancia epizootiológica de portadores fiebre aftosa

No fue posible demostrar la transmisión del virus aftoso de bovinos portadores a cerdos susceptibles en contacto, no obstante las patas de algunos de los cerdos fueran previamente traumatizadas para producir abrasiones, y otros cerdos recibieron dosis masivas de huevos embrionados de ascaris. La inducción

The epizootiological importance of foot-and-mouth disease carriers

Foot-and-mouth disease virus transmission could not be demonstrated from carrier cattle to susceptible contact pigs, even though the feet of some contact pigs were traumatized to produce skin abrasions and others were given massive doses of embryonated ascaris eggs. Stress by steroid injections did not enhance

de "stress" por inoculación de esteroides no aumentó la actividad vírica en la faringe de los bovinos portadores. the virus activity in the pharynx of carrier cattle.

TESH, R.B., *et al.*

Texto en inglés. *Science* 175 (4029): 1477-1479, 1972. [U.S. Public Health Service, National Institute of Allergy and Infectious Diseases, Middle America Research Unit, Balboa Heights, Canal Zone, Panama]

Virus de estomatitis vesicular (serotipo Indiana): transmisión transovárica en flebótomos

La transmisión transovárica del virus de estomatitis vesicular (serotipo Indiana) hacia sus proles se demostró en *Lutzomyia trapidoi* y *Lutzomyia ylephiletrix* experimentalmente infectadas. Se recuperó virus de todas las fases de desarrollo; títulos medianos de virus en huevos hasta adultos de la primera generación mostraron un aumento de cuatro log, indicando que la multiplicación del virus ocurrió durante el desarrollo de los flebótomos. Los títulos de virus en la primera generación de hembras adultas fueron comparables con los de sus predecesores. Estos flebótomos hembras transmitieron el virus de estomatitis vesicular Indiana por picadura en animales susceptibles y por vía transovárica a sus proles (segunda generación). Los resultados indican un posible mecanismo de transmisión y mantenimiento de este virus en la naturaleza, sin necesidad de huésped vertebrado (caliente), como reservorio.

Vesicular stomatitis virus (Indiana serotype): transovarial transmission by phlebotomine sandflies

Transovarial transmission of vesicular stomatitis virus (Indiana serotype) by experimentally infected *Lutzomyia trapidoi* and *Lutzomyia ylephiletrix* to their progeny was demonstrated. Virus was recovered from all developmental stages; mean virus titers from egg to first generation adult showed a four-log increase, indicating that virus multiplication occurred during development of the sandflies. Virus titers in first generation adult females were comparable to those found in their parents. These infected female sandflies transmitted vesicular stomatitis virus Indiana by bite to susceptible animals and transmitted the virus transovarially to their offspring (second generation). Results demonstrate a possible mechanism for transmission and maintenance of this virus in nature without a vertebrate (heat) host reservoir.

WAGNER, G.G. *et al.*

Texto en inglés. *Infect. Immun.* 5 (2): 227-231, 1972. [East African Veterinary Research Organization, Muguga, P.O. Kabete, Kenya, East Africa]

Selección de sueros para anticuerpos contra los antígenos virales de la fiebre aftosa por inmunodifusión radial

Se desarrollaron procedimientos de inmunodifusión radial para comprobar, en sueros de bovinos, la presencia de anticuerpos contra

Screening of sera for antibodies to foot-and-mouth disease viral antigens by radial immunodiffusion

Radial immunodiffusion procedures have been developed for testing bovine sera for the presence of antibody activity against three

tres tipos de virus aftoso y un antígeno ligado a la infección viral. Se obtuvieron reacciones con antígenos virales ya a los 4 días después de la infección, y se identificó el tipo de virus que causó la respuesta. El procedimiento tiene las ventajas de gran sensibilidad para la detección de anticuerpos y la facilidad con la cual se pueden detectar anticuerpos contra una variedad de antígenos.

foot-and-mouth disease virus types and a virus infection-associated antigen. Reactions with virus antigens were obtained as early as 4 days after infection, and the virus type causing the response was identified. The procedure had the advantages of great sensitivity for the detection of antibody and the ease with which antibodies to a variety of antigens could be detected.

WARRINGTON, R.E., KAWAKAMI, Y.

Texto en inglés. *Appl. Microbiol.* 23 (1): 98-103, 1972. [Plum Island Animal Disease Laboratory, Post Office Box 848, Greenport, Long Island, New York 11944, USA]

Prueba de inhibición de hemaglutinación pasiva para tipificación de virus aftoso

En adición a las pruebas serológicas de uso corriente para el virus aftoso, se desarrolló una prueba de inhibición de la hemaglutinación (IHA) "pasiva" como suplemento. Diluciones seriadas de base dos, de los antiseros (0,05 ml) se mezclaron con 0,05 ml de una concentración constante (fija) de virus aftoso. Después de 30 minutos de incubación a 37° C, se determinaron los anticuerpos aglutinantes con la adición de 0,1 ml de 2,5% eritrocitos sensibilizados para el virus. La concentración mínima de antisuero requerida para aglutinar los eritrocitos definió la inhibición en la prueba de IHA. De la misma forma se hicieron pruebas semejantes empleando diversas concentraciones de virus para inhibir los anticuerpos. La relación entre el logaritmo del título de IHA y la concentración de virus inhibidor fue casi de primer orden ($P > 0,25$). La pendiente fue empleada como una medida de la especificidad relativa de la interacción antígeno-anticuerpo y fue independiente de la concentración. La prueba de IHA fue específica para tipo, subtipo, cepa y variante con los antígenos virales empleados. En particular, la tipificación fue hecha directamente en antisuero bovino.

Passive hemagglutination-inhibition test for typing foot-and-mouth disease virus

In addition to currently used serological tests for the occurrence of foot-and-mouth disease virus (FMDV), a specific "passive" hemagglutination-inhibition (HAI) test has been developed as a supplement. Serial twofold dilutions of antiserum (0.05 ml) were mixed with 0.05 ml of a constant concentration of FMDV. After incubating for 30 min at 37° C, agglutinating antibodies were determined by adding 0.1 ml of 2.5% virus-sensitized erythrocytes. The minimum concentration of antiserum required to agglutinate the erythrocytes defined the inhibition in the HAI test. Similar tests using different concentrations of virus to inhibit antibodies were carried out in parallel fashion. The relationship between the logarithm of the HAI titer and the concentration of inhibiting virus was nearly first order ($P > 0.25$). The slope was used as a measure of the relative specificities of the antigen-antibody interaction and was independent of concentration. The HAI test was type-, subtype-, strain-, and variant-specific with the viral antigens used. In particular, typing was performed directly on bovine antiserum.

WITTMANN, G.

Texto en alemán. *Zentbl. VetMed.* 19B (1): 45-54, 1972. [Bundesforschungsanstalt für Viruskkrankheiten der Tiere, Postfach 1149, BRD-74, Tübingen, West Germany]

Ensayos sobre la revacunación de cerdos con una vacuna antiaftosa de virus subtipo O₁ conteniendo etiltileneimina (EEI)/DEAE dextrano

Se pudo prolongar de 12 a 16 semanas la inmunidad de cerdos frente al virus aftoso subtipo O₁ mediante revacunación con una vacuna conteniendo EEI/DEAE dextrano. Sin embargo, 20 semanas después de la revacunación ya se había producido una considerable caída en el nivel de inmunidad (30% de animales inmunes). Considerando que la primera vacunación confiere inmunidad en 75% de los vacunados de 12 semanas de duración, se puede cubrir con facilidad el período de engorde de medio año mediante una revacunación. En contraste con el ganado vacuno, en el que la revacunación resulta en una verdadera potenciación de la inmunidad, parece ser que en los cerdos la primera y segunda vacunación son simplemente aditivas en sus efectos. Por lo tanto, los cerdos reaccionan inmunológicamente con menor intensidad que los bovinos. Como en estudios anteriores no hubo correlación general entre anticuerpos neutralizantes e inmunidad en los cerdos vacunados. Parece que en algunas piaras pueden presentarse con frecuencia cerdos difíciles de inmunizar.

Studies on revaccination of pigs with an ethylenimine (EEI)/DEAE-dextran vaccine against foot-and-mouth disease subtype O₁

Immunity of pigs against foot-and-mouth disease virus subtype O₁ can be extended by 12-16 weeks by using a revaccination with EEI/DEAE-dextran vaccine. However, 20 weeks after the revaccination the level of immunity decreased considerably (30% of pigs immune). Considering that the first vaccination protects 75% of the animals for 12 weeks, it will be seen that to cover the 6 months fattening period by a revaccination is readily possible. In contrast to cattle in which revaccination results in a true potentiation of immunity, it seems that in pigs the first and the second vaccinations are merely additive in their effect. Pigs thus react immunologically appreciably less strongly than cattle. As in earlier studies, there was no general correlation between neutralizing antibodies and immunity among the vaccinated pigs. It seems that individual animals difficult to immunize are likely to occur frequently in some pig herds.

bibliografía sobre enfermedades vesiculares**vesicular diseases bibliography**

ASTUDILLO, V., MOSCOSO, V.H.

Estudio preliminar de los recursos humanos médico-veterinarios en las Américas. *Texto en español*. (Preliminary study of veterinary manpower in the Americas). *Educación Médica y Salud* 6 (1): 66-85, 1972. [Centro Panamericano de Fiebre Aftosa, Caixa Postal 589 ZC-00, Rio de Janeiro, Brasil]

BROWN, F.

Observaciones sobre la inmunología de la fiebre aftosa en porcinos. *Texto en inglés*. (Comments on immunology of foot-and-mouth disease in swine). *J. Am. med. vet. Ass.* 160 (4 part 2): 526-527, 1972. [Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England]

DIETZSCHOLD, B. *et al.*

Estudios de hibridación con subtipos y mutantes del virus aftoso tipo O. *Texto en inglés*. (Hybridization studies with subtypes and mutants of foot-and-mouth disease virus type O). *J. gen. Virol.* 15 (2): 171-174, 1972. [Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere, Postfach 1149, Tübingen, West Germany]

DUJIN, T.Z.

Contribución al conocimiento de la producción inmunobiológica de los lechones frente la fiebre aftosa. *Texto en inglés*. (Contribution to the knowledge of immunobiological protection of piglets against foot and mouth disease). *Acta Vet. (Beograd)* 21: 111-119, 1971. (*FMD Bull. Wellcome* 11 (10): 185, 1972). [Department and Clinic of Infectious Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, Beograd, Yugoslavia]

FEDIDA, M. *et al.*

Estimación de la inmunidad en cerdos vacunados contra la fiebre aftosa por titulación de anticuerpos séricos. *Texto en francés*. (Estimating post-vaccinal immunity to foot-and-mouth disease in pigs by serum antibody titration). *Rec. Med. Vet.* 148 (6): 757-771, 1972. [Laboratoire de virologie animale de la Direction des Services Vétérinaires du Ministère de l'Agriculture, 250, rue Marcel Mérieux, 69 Lyon 7^e, France]

GALVÃO, C. de L. *et al.*

Estudios sobre la incidencia del virus aftoso en el Estado de Bahia. *Texto en portugués*. (Studies on the incidence of foot-and-mouth disease virus in the State of Bahia). *Bol. Inst. Biol. (Bahia)* 9 (1): 34-42, 1970. [Instituto Biológico da Bahia, Caixa Postal 553, Salvador, Bahia, Brasil]

GORET, P., FAVRE, H.

Fiebre aftosa en el cerdo. *Texto en francés*. (Foot-and-mouth disease in the pig). *Tech. Lait.* 695: 37-40, 1971. (*FMD Bull. Wellcome* 11 (10): 182, 1972). [Ecole Nationale Veterinaire d'Alfort, France]

HENDERSON, W.M.

El componente veterinario de la producción animal. *Texto en inglés*. (The veterinary component of animal production). *Br. vet. J.* 127 (10): 453-459, 1971. (*Vet. Bull., Weybridge* 42 (4): 2242, 1972). [Institute of Research of Animal Diseases, Compton, Newbury, Berks, England]

MAJSTOROVIC, G. *et al.*

Efecto del suero de cordero sobre la multiplicación del virus aftoso en cultivo de tejido. *Texto en servio-croata*. (Effect of lamb serum on the multiplication of foot-and-mouth disease virus in tissue culture). *Acta Vet.* (Beograd) 20: 245-248, 1970. (*FMD Bull. Wellcome* 11 (6): 117, 1972). [Veterinarski Fakultet, Beograd, Yugoslavia]

MANSO, M.R.

Las células BHK para el cultivo del virus aftoso con vistas a la preparación de antígeno para la fijación del complemento. *Texto en español*. (Use of BHK cells for the culture of foot-and-mouth disease virus to be used as antigen in the complement fixation test. *Revta Patron. Biol. Anim.* 15 (1): 99-108, 1971. (*FMD Bull. Wellcome* 11 (9): 179, 1972). [Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, Spain]

MARTINSEN, J.S.

Heterogeneidad del virus aftoso: estudios adicionales sobre la formación de placas por dos variantes de diferente tamaño de placas. *Texto en inglés*. (Heterogeneity of foot-and-mouth disease virus: further studies on plaque formation by two plaque-size variants). *Can. J. comp. Med.* 36 (1): 26-33, 1972. [Plum Island Animal Disease Laboratory, P.O. Box 848, Greenport, Long Island, New York 11944, USA]

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. II Simposio sobre aspectos de salud del movimiento internacional de animales. *Texto en inglés*. (II International symposium on health aspects of the international movement of animals). (Mexico, D.F., Mexico, 11-13 August, 1971). [Pan American Health Organization, 525 23rd Street, N.W., Washington, D.C. 20037, USA. Sci. Publ. No. 235, 1972]

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. III Reunión interamericana sobre el control de la fiebre aftosa y otras zoonosis. *Texto en inglés y español*. (III Inter-American meeting on foot-and-mouth disease and zoonoses control). (Buenos Aires, Argentina, 14-17 April, 1970). [Pan American Health Organization, 525 23rd Street, N.W., Washington, D.C. 20037, USA. Sci. Publ. No. 218, 1971]

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. IV Reunión interamericana sobre el control de la fiebre aftosa y otras zoonosis. *Texto en inglés y español*. (IV Inter-American meeting on foot-and-mouth disease and zoonoses control). (Lima, Perú, 5-7 April, 1971). Pan American Health Organization, 525 23rd Street, N.W., Washington, D.C. 20037, USA. Sci. Publ. No. 236, 1972.

PELEG, B.A. *et al.*

Producción y liberación de virus aftoso en cultivos en suspensión de librillo y redcilla de bovino. *Texto en inglés*. (Production and release of foot-and-mouth disease virus in suspended cultures of bovine omasum and reticulum). *Refuah vet.* 28 (4): 133-143, 1971. (*FMD Bull. Wellcome* 11 (6): 114, 1972). [Kimron Veterinary Institute, Bet Dagan, Israel]

PETR, G., LAZNICKA, F.

Una microprueba cuantitativa simple para determinar la actividad fijadora de complemento del virus aftoso. *Texto en inglés*. (A simple quantitative microtest for determination of the complement fixing activity of foot-and-mouth disease virus). *Acta virol.* 16 (2): 133-140, 1972. [Bioveta, Terezin, Czechoslovakia]

REICHMANN, M.E. *et al.*

Partículas defectivas en células BHK infectadas con mutantes termosensibles del virus de la estomatitis vesicular. *Texto en inglés.* (Defective particles in BHK cells infected with temperature-sensitive mutants of vesicular stomatitis virus). *J. Virol.* 8 (2): 154-160, 1971. [Medical Research Council, Virology Unit, Institute of Virology, Glasgow, W.L., Scotland]

RICE, J.M., MADISON, R.M.

La inoculación subcutánea en ratones de adyuvante de vacuna DEAE dextrano induce sarcomas locales. *Texto en inglés.* (Subcutaneous injections of vaccine adjuvant DEAE-Dextran induce local sarcomas in mice). *Nature (New Biology)* 236 (62): 28, 1972. [National Cancer Institute, Bethesda, Maryland 20014, USA]

SAULMON, E.E.

Cuando la fiebre aftosa ataca: un plano de preparación para los Estados Unidos. *Texto en inglés.* (When FMD strikes: a preparedness plan for the United States). *Agric. Sci. Rev.* 9 (3): 14-16, 1971. (*Viol. Abstr.* 5 (6): V3102, 1972). [U.S. Department of Agriculture, Washington D.C. 20250, USA]

SCHROEDER, W.F., *et al.*

Estudios sobre premunición: interferencia en la premunición por una vacuna antiaftosa de virus vivo modificado. *Texto en inglés.* (Studies in premunition: interference with premunition by a live modified foot-and-mouth disease virus vaccine). *Proc. 4th Int. Conf. Wild Assoc. Adv. Vet. Parasit.*, Glasgow, (1969): 45-56, 1971. (*FMD Bull. Wellcome* 11 (6): 122, 1972). [Centro de Investigaciones Veterinarias, Maracay, Venezuela]

SHIMIZU, Y. *et al.*

Efecto de la cloroquina sobre el crecimiento de los virus de animales. *Texto en inglés.* (Effect of chloroquine on the growth of animal viruses). *Arch. ges. Virusforsch.* 36 (1-2): 93-104, 1972. [Department of Bacteriology, Tohoku University School of Medicine, Seiryomachi, Sendai, Japan]

TALBOT, P., BROWN, F.

Un modelo para el virus aftoso. *Texto en inglés.* (A model for foot-and-mouth disease virus). *J. gen. Virol.* 15 (2): 163-170, 1972. [The Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England]

WISNIEWSKI, J.

Comparación del efecto virulicida de preparados desinfectantes sobre el virus aftoso. *Texto en polaco.* (Comparison of viricidal effect of disinfectant preparations on foot and mouth disease virus). *Bull. vet. Inst. Pulawy* 15 (1-2): 57-61, 1971. (*FMD Bull. Wellcome* 11 (7): 145, 1972). [Veterinary Research Institute, Pulawy, Poland]

WISNIEWSKI, J., JANKOWSKA, J.

Efecto de la inmunidad pasiva de los terneros adquirida mediante el calostro, sobre los resultados de la vacunación contra la fiebre aftosa. *Texto en polaco.* (Effect of passive immunity in calves acquired through colostrum on results of vaccination against foot and mouth disease). *Med. Wet.* 27 (12): 726-729, 1971. [Zdunska Wola, ul. Wodna 7, Poland]

informaciones

n e w s

Seminario sobre diagnóstico de enfermedades vesiculares. Rio de Janeiro (Brasil)

Del 3 al 14 de julio de 1972 tuvo lugar en la sede del Centro el XXX Seminario organizado por el CPFA que versó sobre los últimos adelantos en el campo de diagnóstico, mantenimiento de una uniformidad en las técnicas y procedimientos relacionados con el diagnóstico de enfermedades vesiculares, en uso en los diferentes países. Este fue el segundo seminario de este tipo realizado y reunió a 12 serólogos jefes de laboratorios nacionales de diagnóstico de 10 países del área afectada de fiebre aftosa. La primera reunión fue efectuada en 1969 y se prevé la realización de la tercera para 1975.

Seminar on diagnosis of vesicular diseases. Rio de Janeiro (Brazil)

From the 3rd to the 14th of July 1972 took place at the Headquarters of the Center the XXX Seminar organized by the PAFMDC which dealt with the latest advances in the field of diagnosis, maintenance of a uniformity of techniques and methods in use in the different countries, in relation to the diagnosis of vesicular diseases. This was the second seminar of its kind and brought together 12 chief serologists of the national diagnosis laboratories from 10 countries of the foot-and-mouth disease affected area. The first seminar was held in 1969 and a third is planned for 1975.

Unidad de adiestramiento en fiebre aftosa. Rio Grande do Sul (Brazil)

Fueron completados los trabajos preparatorios para la puesta en marcha de esta Unidad, creada por convenio entre el Ministerio de Agricultura de Brasil, la Secretaría de Agricultura de Rio Grande do Sul y la Organización Panamericana de la Salud.

Su objetivo es mejorar la capacitación de veterinarios sobre todo en la parte práctica de las tareas de campo: actuación en un foco, toma de muestras, investigación epidemiológica sobre el terreno y demás medidas sanitarias de control.

Para 1972 se han programado dos cursos de seis semanas de duración cada uno, el primero de los cuales se llevó a cabo del 17 de julio al 25 de agosto y del que participaron 28 veterinarios de los servicios oficiales de Brasil. El segundo se desarrollará del 2 de octubre al 4 de noviembre.

Foot-and-mouth disease training Unit. Rio Grande do Sul (Brazil)

The setup of this Unit which was created through an agreement among the Brazilian Agriculture Ministry, the Agricultural Secretary of Rio Grande do Sul and the Pan American Health Organization, was completed.

The objective of this Unit is to improve training of veterinarians mainly in the field duties: measures to be taken in case of an outbreak, samples collection, epidemiological survey in the field and additional sanitary control measures.

For 1972 two courses, each of six weeks, were planned. The first one took place from July 17 until August 25 with the participation of 28 veterinarians from Brazilian official services. The second course will take place from October 2 until November 4.

II Curso de especialización en epidemiología y profilaxis de la fiebre aftosa. São Paulo (Brasil)

Se llevó a cabo del 31 de julio al 1º de septiembre el curso del epígrafe, realizado por convenio entre el Ministerio de Agricultura de Brasil, la Universidad de São Paulo y la Organización Panamericana de la Salud, para este tipo de entrenamiento. Varios profesionales del Centro tuvieron a su cargo las exposiciones sobre virología, epidemiología e inmunización contra la fiebre aftosa. Participaron de este curso 17 veterinarios de los servicios oficiales de Brasil.

XVI Reunión de la Comisión Técnica Regional de Sanidad Animal (COTERSA). Montevideo (Uruguay)

La XVI Reunión de COTERSA se celebrará del 18 al 20 de octubre del presente año. En esta reunión cada país participante presentará un informe sobre la situación sanitaria y sobre la campaña en ejecución.

Se establecerá en forma precisa la actitud que deben adoptar los países miembros de COTERSA y por extensión los integrantes de otros países y grupos de países en relación a la presunta importación de animales procedentes de países donde existan enfermedades exóticas.

Seminario sobre prevención de la fiebre aftosa en América Central. Guatemala (Guatemala)

Se está organizando un seminario sobre prevención de la fiebre aftosa para veterinarios de Centroamérica, Panamá y México, que se desarrollará en Guatemala de 24-27 de octubre de 1972.

El programa incluye: nociones de epidemiología general y de la fiebre aftosa, un ejercicio de terreno - investigación de una denuncia de brote vesicular, formulación de un plan de erradicación del brote positivo de fiebre aftosa y análisis de investigación y del plan de erradicación.

II Course on the epidemiology and control of foot-and-mouth disease. São Paulo (Brazil)

The above mentioned course took place from the 31st of July until the 1st of September, as part of an agreement signed among the Agriculture Ministry of Brazil, the University of São Paulo and the Pan American Health Organization for this type of training. At this course several members of the Center's professional staff lectured on virology, epidemiology and immunization against FMD. A total of 17 veterinarians from the Brazilian official services participated.

XVI Meeting of the Regional Animal Health Technical Committee (COTERSA). Montevideo (Uruguay).

The XVI Meeting of COTERSA will be held this year from the 18-20 of October. At this meeting each participant country will present a report about the animal health situation and current campaign.

In a precise form will be established the attitude to be adopted by the member countries of COTERSA and also by the participants of other countries and groups of countries with regards to a possible import of animals from the countries where exotic diseases are present.

Seminar on Foot-and-Mouth Disease Prevention in Central America. Guatemala (Guatemala)

A seminar on Foot-and-Mouth Disease Prevention has been organized for veterinarians from Central America, Panama and Mexico, and will take place in Guatemala from the 24th - 27th October, 1972.

The program includes: elements of general and foot-and-mouth disease epidemiology, a field exercise-investigation of a reported vesicular outbreak, preparation of an eradication plan for a positive outbreak of foot-and-mouth disease and analysis of the investigation and eradication plan.

La finalidad que se persigue es de mantener en el mejor nivel posible el adiestramiento de veterinarios responsables de mantener la indemnidad de fiebre aftosa en los países del área.

The goal is to maintain at the highest level possible the training of veterinarians responsible for maintaining the indemnity of FMD in the countries of the area.

Curso de sistemas de estadísticas para fiebre aftosa. Rio de Janeiro (Brasil)

El Centro Panamericano de Fiebre Aftosa a petición de las autoridades del Ministerio de Agricultura de Brasil está organizando un curso de sistemas de estadísticas para entrenar veterinarios a cargo de los servicios de estadística en los estados con programas de combate a la fiebre aftosa en ejecución.

La duración del curso será de 6 semanas comenzando en el principio de noviembre de 1972 en la sede del Centro, bajo la dirección del Dr. Vicente Astudillo, bioestadístico del CPFPA y con la colaboración de tres profesionales de la Zona V de la Organización Panamericana de la Salud.

El programa contiene: nociones elementares de estadística descriptiva, sistemas de estadísticas, estadística de salud animal, indicadores en salud animal.

Las últimas dos semanas serán dedicadas a ejercicios de terreno en la Unidad de Adiestramiento en Rio Grande do Sul (Brasil).

Course on foot-and-mouth disease statistical systems. Rio de Janeiro (Brazil)

Upon the request of the authorities of the Brazilian Ministry of Agriculture, the Pan American Foot-and-Mouth Disease Center is organizing a course on statistical systems in order to train veterinarians in charge of the statistical services in the States with current FMD combat programs.

This course will have a duration of six weeks, starting in the first part of November 1972 at the Headquarters of the Center and will be directed by Dr. Vicente Astudillo, the Biostatistician of the PAFMDC and with the collaboration of three professionals from Zone V of the Pan American Health Organization.

The program contains: elementary knowledge of descriptive statistics, statistical systems, animal health statistics and indicators in animal health.

The last two weeks will be dedicated to field exercises at the Training Unit in Rio Grande do Sul (Brazil).

★ ★ ★