

ISSN 0009-0131

BOLETÍN

del
Centro Panamericano de
Fiebre Aftosa

62-63



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

BOLETÍN

del

Centro Panamericano de Fiebre Aftosa

Nº 62-63, 1996-1997

Contenido

Sistema de información y vigilancia epidemiológica a nivel local.....	3
<i>José Germán Rodríguez Torres, Narey Cotrina</i>	
[Abstract, Resumen, p. 7]	
Distribución histórica de la estomatitis vesicular en Brasil.....	10
<i>López Inzaurreale, A., López J.W.,</i>	
<i>Moreira, E.C., Söndahl, M.S.</i>	
[Abstract, Resumen, p. 20]	
Inquérito soro-epidemiológico sobre fiebre aftosa realizado em bovinos no pantanal Sul-Mato-Grossense, Brasil.....	21
<i>Moraes, Geraldo Marcos, Paes, Rita de Cássia da Silva</i>	
<i>Cavallero, João Crisostomo Mauad</i>	
[Abstract, Resumen, p. 33]	
Obtención de glicoproteínas del virus de la estomatitis vesicular para la identificación de anticuerpos.....	34
<i>Martins, M.A., Gomes, M.P.D., Söndahl, M.S., Alonso, A., López, J.W.</i>	
[Abstract, Resumen, p. 38]	

La vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso y su posible influencia en el diagnóstico de la tuberculosis en bovinos	39
<i>Pedro Torres, María Celia Antognoli, Ana Rita Moreira, Isabel N. de Kantor</i>	
[Abstract, Resumo, p. 43]	
Resúmenes - Abstracts	44
Bibliografía sobre enfermedades vesiculares - Bibliography on vesicular diseases	59
Instrucciones/Instructions	71

ISSN 0009-0131

RECONOCIMIENTOS

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

Anibal Franco	Paulo Augé de Mello
Elva López Nieto	Raúl V. García
José A. Mendes da Silva	Paul Suttmöller
José A.P. Prado	Rossana Allende
Juan Lubroth	Santiago Ucerlay
Magnus S. Söndahl	Victor Saraiva
Mairo Urbina	

SISTEMA DE INFORMACIÓN Y VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA A NIVEL LOCAL

José Germán Rodríguez Torres, Narey Cotrina

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

La situación de salud de los pobladores rurales en la mayor parte de América Latina se ve comprometida por la existencia de diferentes enfermedades, cuyo origen en el caso de las zoonosis está dado por la estrecha convivencia con los animales y la carencia de condiciones de higiene básica. En el documento de la Organización Panamericana de la Salud (OPS) "Indicadores Básicos, 1995" (Health situation in the Americas. Basic indicators. Washington, D.C., PAHO, 1995), se informa que en el medio rural la disponibilidad de agua potable es del 48% y la de servicios de disposición de excretas es del 37%.

El Dr. Carlyle Guerra de Macedo, director de la OPS, en su intervención (A saúde para todos um desafio para o Brasil no final do século. Brasília, OPAS, 1994) durante la inauguración del Seminario sobre "Los Escenarios Sociales, Económicos y Políticos en Brasil para el Final del Siglo", afirmó que: "la idea de desarrollo debe tener una característica de integración, y estar orientada para conseguir el bienestar de todos los ciudadanos de una determinada sociedad".

Dentro de este contexto, la estrategia de la OPS de contribuir a mejorar las condiciones de vida de las poblaciones económica y socialmente postergadas ha propuesto a los países el establecimiento de los sistemas locales de salud (SILOS), con lo cual se persigue la participación consciente de toda la comunidad y del personal de salud, a fin de contribuir a una mejora de la salud de la población.

El Centro Panamericano de Fiebre Aftosa/ Organización Panamericana de la Salud (PANAFTOSA/OPS), abocado a contribuir, desde su marco de trabajo, a las mejoras en materia de sanidad animal, fundamentalmente en la erradicación de la fiebre aftosa, enfermedad que al limitar la capacidad productiva del efectivo ganadero reduce la disponibilidad de proteínas de origen animal, contribuyó con los países en la preparación de los programas nacionales, dentro del marco del Plan Hemisférico de Erradicación de la Fiebre Aftosa (PHEFA).

Entre las acciones de cooperación técnica de PANAFTOSA fue importante la creación de un sistema de información para la vigilancia epidemiológica de las enfermedades vesiculares, que hoy en día cubre la región de América del Sur, Centro América y México, sirviendo a los países para elaborar y evaluar sus planes de control, erradicación y/o prevención de las enfermedades vesiculares, con especial énfasis en la fiebre aftosa.

OBJETIVO DEL SISTEMA DE INFORMACIÓN

El objetivo de cualquier sistema de información es obtener datos confiables que permitan una visión lo más precisa posible de la realidad en el área de trabajo a que el sistema se refiera.

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

El sistema de registro y comunicación de datos para la vigilancia diseñado por PANAFTOSA coherente con la política y las estrategias definidas por la OPS de cooperar técnicamente con los países de la región y estimular la cooperación entre ellos, puede ser un elemento que facilite la recolección de información relativa a otras patologías de interés que puedan estar afectando a una comunidad dada, así como también servir de metodología para caracterizar en espacios geográficos condiciones endémicas. Como menciona Astudillo (1), la caracterización del espacio ganadero corresponde a la descripción de la interacción de los tres componentes epidemiológicos: agente, huésped y medio ambiente.

Las observaciones continuas sobre la presencia de enfermedad vesicular en espacios geográficos realizados por PANAFTOSA (2), sirvieron de apoyo para caracterizar a los diferentes ecosistemas de producción pecuaria y su relación con las condiciones epidemiológicas de la enfermedad. La aplicación del conocimiento de los ecosistemas y su interrelación, facilitó el ordenamiento inicial de los programas de control, asimismo para que varios países se encuentren en la fase previa a la erradicación o incluso en la consolidación de la erradicación de la fiebre aftosa.

Los cambios que se están veniendo operando en las estructuras de los servicios oficiales como parte del proceso generalizado de descentralización, de cogestión y de municipios libres, exigen que el sistema de información se implemente de acuerdo con estos hechos, adecuándose a las condiciones prevalentes. Es decir, el sistema de información debe permitir una participación mayor de los actores sociales directamente involucrados en la productividad ganadera, teniendo como ámbito operacional la localidad, que puede ser un municipio o áreas del mismo.

El sistema de información a nivel local (SILO) debe tener por finalidad: *atender los problemas de salud animal y el fomento de la producción y productividad ganadera*, el cual dispone de una herramienta que es un sistema de aviso rápido activado por los usuarios.

Se pretende con este enfoque un sistema que, además de recoger información relativa a los procesos de salud y enfermedad, sirva para identificar los problemas de la ganadería y para

planificar y evaluar los cambios promovidos mediante las acciones transformadoras que se introduzcan, siendo el sistema operado por los propios beneficiarios bajo la asesoría del personal técnico oficial. La viabilidad de este trabajo de conjunto dependerá del sistema.

Para conocer los problemas de la industria pecuaria es necesario en primer lugar disponer de información sobre la población objeto del estudio, sus características productivas y epidemiológicas para confeccionar un diagnóstico que permita hacer una selección de los problemas prioritarios, las debilidades que existen en los métodos de control y/o prevención de enfermedades, así como de las prácticas de manejo. Esto permite definir las acciones necesarias para mejorar la situación de la ganadería.

La recolección y análisis de información sobre los aspectos epidemiológicos, de manera sistemática permitirá prever tendencias, prevenir riesgo de introducción de enfermedades exóticas, identificar rápidamente los cambios que puedan señalar el apareamiento de enfermedades emergentes, así como cambios en el medio ambiente, a fin de diseñar mecanismos de prevención, control y/o erradicación, en el que forme parte el Sistema de Vigilancia Epidemiológica a nivel local.

CONDICIONES BÁSICAS PARA LA IMPLANTACIÓN DEL SISTEMA DE INFORMACIÓN

Organización de la comunidad. El primer aspecto a ser considerado es el grado de organización en la comunidad. Por ello, la existencia en la comunidad de organizaciones con una activa participación de la mayoría de los pobladores, especialmente quienes poseen animales, así como la existencia de los SILOS, facilita la implantación de sistemas de recolección y comunicación de datos concernientes a la sanidad y producción animal y salud pública veterinaria a nivel rural por parte de la comunidad organizada.

Para que sea implantado un sistema de información a nivel local operado por la comunidad se debe contar con el apoyo de las instancias del poder público, los líderes de la comunidad y los

productores, que de una forma u otra están interesados en mejorar las condiciones de producción y productividad de sus ganaderías, así como las condiciones generales de vida de ellos y de la población rural del área en cuestión.

Condiciones de vida. El sistema debe incorporar información sobre las condiciones de vida de los poseedores y manejadores de animales, y caracterizar el riesgo de enfermar por alguna zoonosis, o por una toxi-infección de origen alimentario, frecuentes en áreas rurales, pero no registradas generalmente por los servicios de salud.

El diagnóstico de situación requiere de un trabajo previo de reconocimiento de las necesidades y problemas sentidos por la comunidad, así como de la identificación de los líderes naturales que están interesados o se sientan afectados por las necesidades y problemas manifestados por la mayoría de la comunidad. Posteriormente, con la comunidad interesada se debe diseñar el modelo de recolección de informaciones sobre los problemas que la comunidad considere prioritarios, siempre dentro del marco específico de la Salud Animal y Salud Pública Veterinaria.

El sistema debe orientarse a conocer los factores que caracterizan la población animal, y a definir su dinámica e interrelación con otras poblaciones animales. Esto permitirá tener una visión de conjunto del circuito pecuario imperante, y decidir sobre las acciones para mantener o mejorar las condiciones de producción y productividad, reduciendo el riesgo de enfermedades.

Espacio geográfico. La caracterización de un área debe partir del nivel local, para lo cual se debe definir el espacio geográfico que se considerará en el estudio. Esto se puede hacer utilizando un sistema cartográfico similar al implementado por PANAFITSA para el Sistema Continental de Información y Vigilancia Epidemiológica de las Enfermedades Vesiculares (3,6), en donde los episodios de enfermedades vesiculares se ubican en un espacio geográfico del cuadrante.

El uso de cuadrantes facilita, entre otros, el estudio de las enfermedades animales, la confección de análisis de riesgo de receptividad y vulnerabilidad según cada ecosistema.

El sistema de información debe servir tanto al propósito del servicio de sanidad animal, como al de los productores que son los beneficiarios del mismo; por ello, es importante que todos los actores sociales involucrados en el sector pecuario que están vinculados, colaboren y reciban apoyo del sistema de información. Los mecanismos de vehiculización de la información han sido descritos por Astudillo (2).

Paralelamente, un método relativamente barato y fácil de aplicar es recoger información en el matadero de procedencia de los animales, así como de las enfermedades que sean detectadas durante el proceso.

La limitante que tiene este método es la carencia de inspectores, la existencia de matanza sin registro y la dificultad para diagnosticar aquellas enfermedades que no sean visibles, como es el caso de la brucelosis, o salmonelosis; pero sí es efectivo para reconocer entre otras, las enfermedades parasitarias como la *distomatosis hepática*, o los efectos de la *mastitis* por la pérdida de los cuartos mamarios por fibrosis irreversible, o la ubre completa.

Descentralización. Como se desprende de todo lo expuesto, el sistema se establece y opera a nivel local por las personas directamente involucradas de una forma u otra con la ganadería, pero requiere de mecanismos de comunicación estrecha con el servicio oficial, para responder a la demanda técnica que se origine con la notificación en el caso de las enfermedades incluidas entre las prioridades nacionales de protección a la riqueza pecuaria.

A fin de lograr la participación de los productores veterinarios en ejercicio privado, vendedores de vacuna, transportistas de ganado, gerentes de mataderos y de remates/ferias, se ha visto muy efectivo la creación de comités locales de sanidad animal, cuyo propósito primordial es mover la voluntad de todos los factores de la producción pecuaria a colaborar activamente con las acciones de sanidad animal, siendo ellos quienes toman las decisiones que los favorezcan.

Por lo general, en América Latina los datos generados por el sistema de salud animal sirven a los productores y a los factores de la industria

animal, indistintamente del grado de tecnología que empleen, para conocer la condición sanitaria imperante y definir las medidas de protección necesarias para su ganadería. Asimismo, le ayudan a conseguir una mayor ampliación de sus áreas de mercado al poder informar, fehacientemente, las condiciones zoonitarias imperantes en las fincas y en la localidad; ambos, entre otros, son los beneficios directos que los productores obtienen.

SISTEMAS DE PRODUCCIÓN PECUARIA Y EL SISTEMA DE INFORMACIÓN A NIVEL LOCAL

Los sistemas de producción pecuaria, a los fines de este trabajo, se han dividido en dos posibles escenarios: uno está conformado por aquellos lugares en que la ganadería es económicamente importante, donde tradicionalmente los productores han mostrado interés y han logrado mejoras en la producción y productividad que les ha permitido ampliar la oferta de productos y alcanzar nuevos mercados.

En general, para este tipo de productores de América Latina, la prestación de servicios veterinarios es realizada mediante la acción de profesionales dependientes de las asociaciones de productores, veterinarios en ejercicio privado, u otros mecanismos equivalentes. Para que el sistema de información sea eficiente y útil a todos estos actores sociales, ellos deben ser incorporados al sistema de aviso como notificadores y usuarios del mismo.

En este caso, existe una razonable posibilidad de encontrar personas, a nivel local, interesadas y deseosas de contar con un sistema de información, ya que pueden visualizar las ventajas que el mismo tendría para sus propias economías. Este supuesto confirma: la experiencia de las fundaciones provinciales de la cual dependen los planes locales de erradicación de la fiebre aftosa en la Argentina; las comisiones departamentales de salud animal en el Uruguay, y las comisiones de salud animal creadas por el Servicio Nacional de Salud Animal (SENASA) a nivel departamental o zonal en Paraguay, así como la

que se ha llevado a cabo en algunas regiones de otros países.

La situación es otra en aquellas áreas donde la ganadería es importante para el productor individual, pero no es en el contexto municipal y/o regional del país. Los poseedores o manejadores de ganado, en algunos casos personas que no recurren a solicitar asistencia técnica por carecer de recursos económicos, ha impedido introducir cambios en sus estructuras de producción.

Estas personas poseen comúnmente poca cantidad de ganado, que generalmente es manejado con tecnología deficiente y por lo tanto obtienen una baja productividad por unidad. Este tipo de productor pequeño, denominado así no solo en términos de volumen de recursos empleados o de producción, sino además por dedicar un alto grado de la producción a subsistencia familiar (5, 7), trata de maximizar el uso del recurso tierra que logran mediante una diversificación de la producción con el objetivo de llenar sus necesidades alimentarias.

Estos pobladores rurales de escasos ingresos frecuentemente viven en inadecuadas condiciones higiénicas, y por su dispersión geográfica habitan en lugares lejanos de centros urbanos, tienen poco acceso a los servicios de atención primaria y en muchas ocasiones su salud está afectada por enfermedades que limitan un desarrollo adecuado, siendo frecuente en los niños los episodios de diarrea que perjudican su desarrollo corporal e intelectual (4). Las zoonosis, sobre todo las parasitarias, muchas veces están presentes en las poblaciones rurales afectando su salud.

Por lo general existe información en los servicios de salud pública de cada país de las enfermedades prevalentes en cada región. Esa información puede servir de indicador para concretar prioridades relacionadas con zoonosis.

Para muchas de estas personas, la ganadería cumple una función económica secundaria, cuya finalidad es la subsistencia familiar, obteniendo en algunas oportunidades algún excedente que se vende.

Dado que el recurso más valioso que poseen es la "mano de obra", venden el trabajo. Para ello, muchos hombres migran temporalmente a otras áreas donde se ofrecen como trabajadores

en la recolección de safras, o en la industria de la construcción, dejando el cuidado de los animales a la mujer.

Existen algunos productores pequeños que cuentan con recursos económicos superiores al promedio de su entorno. Sin embargo, no están "interesados" en invertir esos recursos en la prevención y mejora de la salud de los animales, básicamente por desconocer el daño que las enfermedades pueden estar causando. Por otra parte, es factible que el factor limitante más importante no sea de origen patológico sino de manejo o esté dado por las características del mercado de sus productos.

INFORMACIÓN PARA EL DIAGNÓSTICO DE SITUACIÓN Y CARACTERIZACIÓN SANITARIA Y PRODUCTIVA

El sistema debe incorporar en su fase inicial solo los eventos de fácil caracterización por la población del área, así como reconocer los nombres que ellos les dan a las enfermedades.

El período de implantación del sistema, que puede ser de un año, requiere en su inicio de un catastro de todos los poseedores de ganado, ubicándolos en un mapa e indicando la cantidad de animales por categoría. En este registro se deben incluir todas las especies que se encuentren bajo su propiedad y/o cuidado, y registrar información sobre la procedencia de los animales que compre y lugares donde vende, tanto animales como productos de origen animal.

Igualmente es importante registrar datos sobre las condiciones en que viven las personas responsables por el cuidado y manejo de los animales en el campo, tales como: tipo y condición de la vivienda, abastecimiento de agua de bebida, disposición de excretas, fuente de alimentos, su conservación en la casa entre otros, que permitirán caracterizar la posible exposición al riesgo de zoonosis y las enfermedades transmitidas por los alimentos.

Se registrará solamente una vez, los datos referentes a la ubicación, condiciones de la vivienda, y número de personas que se encuentran en la finca; de ser necesario y con fines específicos, estos deben ser actualizados.

Referente a los animales, la dinámica de sus poblaciones, flujos de entrada y salida se mantendrán de forma permanente.

DESCRIPCIÓN DEL SISTEMA

Según las características de cada país y región, el sistema se implantaría de acuerdo con las propias del lugar.

El sistema local es consecuencia de la descentralización administrativa del Estado y él, en su papel rector y conductor del proceso actúa en las localidades, propiciando la integración de esfuerzos entre los sectores público y privado.

Se identificará una o dos personas que sirvan de acopiadores de la información a nivel local. Estas personas no necesitan ser veterinarios, y sirve cualquier persona que tenga interés y sea ordenada.

La experiencia demuestra que en las áreas donde predomina la producción familiar, las mujeres son más indicadas porque con mayor frecuencia tienen la responsabilidad de los animales, y generalmente son mucho más ordenadas.

La persona encargada de acopiar la información, la remitirá semanalmente a una instancia superior, que puede ser la cabecera municipal, según la característica del país; allí debe haber una persona que concentre, reciba y remita la información a la sede central.

Para hacer funcional el sistema de información, de manera que genere respuestas hay que, juntamente con la comunidad interesada, diseñar el mecanismo de envío de información, a quién y cómo, y también el de respuesta, quién y dónde. En este último caso es importante definir quién será responsable por cubrir los costos de atención.

En cuanto a la atención de la demanda que pudiera generarse, el nivel municipal, o inmediato superior al local será el responsable por ello. Allí puede haber un técnico agropecuario adecuadamente capacitado (veterinario, ingeniero agrónomo o zootecnista), cuya dependencia administrativa puede ser oficial (Ministerio/Secretaría de Agricultura, u otra dependencia del

Gobierno Estatal o Nacional), o pertenecer al sector privado que se haya acreditado, lo cual le permite actuar en nombre del servicio oficial, vía convenio, siendo responsable por atender esta demanda de atención.

UTILIDAD DEL SISTEMA DE INFORMACIÓN Y VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA

Para que el sistema sea eficiente deben estar claramente definidos los mecanismos de interrelación tanto a nivel local, con otras localidades, y con el nivel regional y nacional; como fuera antes anotado, es necesario un mecanismo de respuesta a las demandas de atención que el sistema detecte, a partir de una notificación de sospecha de cualquiera de las enfermedades consideradas, lo que exige una respuesta inmediata de atención.

Esta atención debe ser brindada rápidamente por alguna persona competente quien dará las recomendaciones necesarias para evitar la difusión de la enfermedad que se sospeche, y además tomará muestras y las remitirá al laboratorio de referencia del área, recopilará mayores informaciones y las enviará a la unidad local para su remisión al nivel regional o nacional, según el caso, para dar continuidad a la atención técnica que sea requerida.

Mediante estas acciones conjuntas de recolección de información, el análisis epidemiológico del dato y la atención al problema, se

reducirán los impactos negativos causados por las enfermedades, contribuyendo de esta forma a mejorar las condiciones de vida de los pobladores rurales.

REFERENCIAS

1. ASTUDILLO. Informe de viaje a Cuba. Rio de Janeiro, PANAFITOSA, 1988. (mimeo)
2. ASTUDILLO, V. Sistema continental de vigilancia de enfermedades vesiculares y de información: un enfoque geográfico. In: 62ª Sesión General del Comité Internacional de la OIE. Paris, 15-22, mayo, 1994.
3. ASTUDILLO, V., OBIAGA, J.A., ROSENBERG, F.J., GOIC, R. Sistemas de información para programas de enfermedades vesiculares. In: Seminario sobre Sistemas Nacionales de Información. Washington, D.C., 5-9 febrero, 1979.
4. BROW, J.L., POLLIT, E. Malnutrition, poverty and intellectual development. *Sci. Am.*, 274 (2): 26-31, 1996.
5. GHATAK, S., INGERSENT, K. Agriculture and economic development. Baltimore, Maryland U.S.A., The John Hopkins University Press, 1984.
6. OBIAGA, J.A., ROSENBERG, F.J., ASTUDILLO, V., GOIC, R. Las características de la producción pecuaria como determinantes de los ecosistemas de fiebre aftosa. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa*, 33-34: 33-42, 1979.
7. ZOTTELE, A., TAMAYO, H., BRIEVA, S., IRIARTE L. La producción familiar y las estrategias de salud animal. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa*, 59:45-54, 1993.

ABSTRACT

System of information and epidemic surveillance at local level

The health situation of rural residents' in most of Latin America is committed by the existence of different illnesses whose origin in the case of the zoonosis is given by the narrow coexistence with the animals and the lack of conditions of basic hygiene. In the document of the Pan-American Health Organization (PAHO) "Basic Indicators, 1995" (Health situation in the Americas. Basic indicators. Washington, D.C., PAHO, 1995), it is informed that in the rural means the readiness of drinkable water is of 48% and that of excreta disposition services it is of 37%.

Dr. Carlyle Guerra de Macedo, director PAHO, in their intervention ("A saúde para todos um desafio para o Brasil no final de século". Brasília, OPAS, 1994) during the inauguration of the Seminar on "Social, Economic and Political Scenarios in Brazil for the End of the Century", affirmed that: the development idea should have an integration characteristic, and to be guided to get the well-being of all the citizens of a certain society."

Inside this context, the strategy of PAHO of contributing to improve the conditions of the economic and socially deferred populations' life has proposed to the countries the establishment of the local systems of health (SILOS), with that the aware participation of the whole community and of the personnel of health is pursued, in order to contribute to an improvement of the population's health.

RESUMO

Sistema de informação e vigilância epidemiológica a nível local

A situação da saúde das populações rurais na maior parte de América Latina se vê comprometida pela existência de diferentes doenças, cuja origem no caso das zoonoses está dado pela estreita convivência com os animais e a necessidade de condições de higiene básica. No documento da Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS): "Indicadores Básicos, 1995" (Health situation in the Americas. Basic indicators. Washington, D.C., PAHO, 1995), se informa que no meio rural a disponibilidade de água potável é de 48% e a de serviços de disposição de excretas é de 37%.

O Dr. Carlyle Guerra de Macedo, diretor OPAS, na sua intervenção (A saúde para todos um desafio para o Brasil no final do século. Brasília, OPAS, 1994) durante a inauguração do Seminário sobre "Os Cenários Sociais, Econômicos e Políticos no Brasil para o Final do Século", afirmou que: "*a idéia do desenvolvimento deve ter uma característica de integração, e estar orientada para conseguir o bem-estar de todos os cidadãos de uma determinada sociedade*".

Dentro deste contexto, a estratégia da OPAS de contribuir para melhorar as condições de vida dos povos econômica e socialmente menos favorecidas, se propôs aos países o estabelecimento de sistemas locais de saúde (SILOS), com o qual se insiste na participação consciente de toda a comunidade e do pessoal de saúde, para contribuir a melhorar a saúde da população.

DISTRIBUCIÓN HISTÓRICA DE LA ESTOMATITIS VESICULAR EN BRASIL

López Inzaurrealde, A.¹, Moreira, E.C.², López, J.W.¹ Söndahl, M.S.¹

¹*Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (OPS/OMS)*

Caixa Postal 589, 20001-970 Rio de Janeiro, RJ, Brasil

²*Escola de Veterinária. Universidade Federal de Minas Gerais*

Av. Pres. Antonio Carlos, 6627, 30161-070 Belo Horizonte, MG, Brasil

La estomatitis vesicular es una enfermedad que afecta bovinos, ovinos, porcinos, caprinos y equinos clínicamente indistinguible de la fiebre aftosa. En Brasil fue diagnosticada por primera vez en 1964 en los estados de Alagoas y Pernambuco. En este trabajo se hace un relato histórico a partir de los resultados de diagnósticos de los virus tipos Indiana-2 e Indiana-3 realizados durante los años 1964-1996 en el Centro Panamericano de Fiebre Aftosa.

La estomatitis vesicular es una zoonosis que ataca bovinos, ovinos, caprinos, porcinos y équidos causando lesiones vesiculares en la boca, patas y ubre de los animales afectados. Su sintomatología incluye fiebre elevada, salivación intensa, claudicación y disminución de la producción lechera. Solo se distingue clínicamente de la fiebre aftosa cuando existen équidos enfermos.

En el hombre, la estomatitis vesicular se manifiesta como una enfermedad de tipo gripal caracterizada por fiebre, dolores musculares, dolor de cabeza, diarrea, vómitos y con presencia ocasional de vesículas en la boca y faringe. El curso clínico es corto y los síntomas desaparecen en 3 ó 4 días (21). No debe ser considerada únicamente como una enfermedad profesional pues, si bien tiene lugar preferentemente entre

personal de laboratorio (12) también afecta la población rural en general, especialmente la de aquellas áreas donde la enfermedad es endémica en los animales (7).

La naturaleza viral de su etiología fue establecida por Cotton en 1925 al aislar el virus Indiana y posteriormente el serotipo denominado New Jersey (15). Estos virus están incluidos dentro de familia *Rhabdoviridae*, género *vesiculovirus* (20). Además de los mencionados, en el género se incluyen el virus Cocal aislado de insectos en la isla de Trinidad y el estado brasileño de Pará en 1961 (16); el virus Salto-Argentina identificado en la provincia de Buenos Aires, Argentina, en 1963 (14) y el virus Alagoas aislado en el estado de Alagoas, Brasil, en 1964 (3). Federer y colaboradores consideraron más adecuado clasificar estos últimos agentes como subtipos del virus Indiana y propusieron designar como Indiana-1 al virus de ese nombre aislado en los Estados Unidos, agrupar los virus Cocal y Salto-Argentina como Indiana-2 y denominar como Indiana-3 el virus aislado en Alagoas (11).

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

Otros cuatro *rhabdovirus* vinculados a los vesiculovirus también fueron aislados en el Brasil en el estado de Pará e identificados como Marabá, Carajás (31), Jurona y Piry (8).

En el Brasil, la enfermedad estuvo siempre relegada a un segundo plano respecto de la fiebre aftosa y solo se la recuerda como una posibilidad con relación al diagnóstico diferencial de esta última. Aunque existen relatos indicando que ya era conocida en São Paulo y Minas Gerais en años anteriores (24), la estomatitis vesicular fue diagnosticada por primera vez en su forma clínica en 1964 en los estados de Alagoas y Pernambuco simultáneamente, cuando se aisló el virus Indiana-3 [Cepa Alagoas] (3). La investigación sobre el origen de este episodio apuntó como casos primarios animales provenientes de los estados de Sergipe, Bahia y del norte de Minas Gerais. La enfermedad afectó principalmente caballos y mulas presentando una menor incidencia en bovinos. Muchos trabajadores de la región declararon haber sufrido fiebre y dolores de cabeza y resultaron efectivamente seropositivos en los exámenes de laboratorio (4).

Entre 1968 y 1972, la estomatitis vesicular ocasionada por virus Indiana-3 fue diagnosticada serológicamente en bovinos, caballos y mulas de la mesorregión Norte de Minas (mesorregión = conglomerado de microrregiones denominada por el nombre de la microrregión más representativa; microrregión = conglomerado de municipios homogéneos en sus características demográficas y productivas) en el estado de Minas Gerais (9), siendo registrada nuevamente en 1975 en la mesorregión de Jequitinhonha, ocasión en que el virus fue aislado por primera vez a partir de bovinos (29).

Un muestreo realizado en bovinos de los estados de la región norte de Brasil entre 1979 y 1981 mostró una prevalencia de animales con reacción positiva a la prueba de inmunodifusión en gel de agar (IDGA) para el tipo Indiana-3 de 3,9% en Rondonia, 2,9% en Pará, 2,7% en Acre, 1,6 % para el estado de Amazonas y 1,4% en Amapá (19).

Entre noviembre de 1984 y diciembre de 1985 el mismo agente fue identificado serológicamente en 46 municipios del estado de Minas

Gerais, siendo la principal especie afectada la bovina (10). En ese mismo período el virus fue aislado en los estados de Ceará y Sergipe (1,6). En 1986 afectó bovinos y equinos de la mesorregión Vale do Paraíba Paulista en São Paulo, registrándose episodios en los estados de Ceará, Minas Gerais y Rio de Janeiro (17,22).

Por su parte, la estomatitis vesicular por virus Indiana-2 [Cepa Rancharia] fue diagnosticada por primera vez en 1966 en el estado de São Paulo, afectando equinos, mulas y bovinos de las microrregiones de Assis y Presidente Prudente (28). Este agente tuvo diagnóstico serológico en 1967 en caballos, en Ourinhos, microrregión vecina a la de Assis (25) y nuevamente en 1968, en equinos de las microrregiones de Franca y Registro (26,27).

En el estado de Rio Grande do Sul la enfermedad era desconocida hasta diciembre de 1978 cuando tuvo diagnóstico clínico, confirmado mediante serología como causado por virus Indiana-2 en caballos de las microrregiones de Santiago, Porto Alegre y Serras do Sudeste (23). En esa misma fecha, un virus serológicamente similar [Cepa Ribeirão] fue aislado en las microrregiones paulistas de Presidente Prudente y Ribeirão Preto (5,13,18).

El cuadro 1 muestra el registro de estomatitis vesicular en Brasil, en el período de 1964-1996.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para identificar históricamente la distribución geográfica de la estomatitis vesicular en el Brasil fueron utilizados los resultados de 5.224 diagnósticos realizados en el Laboratorio de Referencia del Centro Panamericano de Fiebre Aftosa entre agosto de 1964 y diciembre de 1996, complementados con los informes que el Ministerio de Agricultura y Abastecimiento del Brasil envió a la Comisión Sudamericana para la Lucha contra la Fiebre Aftosa en el período 1980-1996, y donde se resumen los resultados de todos los laboratorios de diagnóstico existentes en el país.

Se definieron como unidades geográficas de análisis las microrregiones homogéneas establecidas por el Instituto Brasileño de Geografía

y Estadísticas (30), consideradas con presencia de enfermedad cuando entre sus componentes existía por lo menos un municipio con registro de animales con diagnóstico positivo para estomatitis vesicular por aislamiento del agente o mediante prueba serológica.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A partir de su diagnóstico por primera vez en 1964, la estomatitis vesicular ha sido diagnosticada prácticamente todos los años en el Brasil (cuadro 1). El único período de ausencia que pudiera ser clasificado como significativo entre los años de 1980 y 1983, al igual que la falta de registro verificada en 1965, 1969, 1987 y 1990 resultan difíciles de interpretar dada la discontinuidad del sistema de atención veterinaria en la toma de material para confirmación de agente causal por el laboratorio, especialmente en la región nordeste del país.

De los virus descritos como agentes etiológicos de la enfermedad, en Brasil solo presentan importancia epidemiológica los subtipos 2 y 3 del virus Indiana, también referidos en la literatura científica como Cocal y Alagoas, respectivamente. El virus Indiana-2 ha sido aislado en el país únicamente en los estados de São Paulo y Rio Grande do Sul en dos episodios separados entre sí por 10 años de intervalo (cuadro 2). El virus Indiana-3 en cambio mantiene una presencia más constante, afectando bovinos, caballos, mulas, porcinos y caprinos. Fue diagnosticado por aislamiento en los estados de Minas Gerais, São Paulo, Alagoas, Ceará, Goiás y Rio de Janeiro y confirmado serológicamente como agente de casos clínicos en los estados de Bahia, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Piauí y Sergipe (cuadro 1).

El ámbito de acción de ambos virus no se superpone, las microrregiones con antecedentes de registro de virus Indiana-2 se localizan en una latitud más austral que aquellas correspondientes a Indiana-3 (mapa 1), siendo la microrregión de Presidente Prudente en São Paulo la única del Brasil con registro de los dos agentes, aunque con 15 años de intervalo entre uno y otro.

El virus Indiana-2 [cepa Rancharia], identificado en 1966, demostró ser serológicamente

similar a otro virus aislado en Argentina en 1963 y fue diagnosticado durante tres años seguidos en el estado de São Paulo. Tras un intervalo de 10 años de ausencia, la cepa Ribeirão, que se mostró similar al virus identificado en los casos de 1966-1968, afectó de forma simultánea microrregiones de São Paulo y Rio Grande do Sul entre diciembre de 1978 y enero 1979 (5, 13, 18, 23, 24). A partir de este año no existen registros de presencia de virus del grupo Indiana-2 en el Brasil (cuadro 2).

En Brasil, la estomatitis vesicular ocasionada por el serotipo Indiana-3 afecta principalmente bovinos y en menor grado caballos, mulas, cerdos y cabras. Diagnosticado en 1964, hasta 1981 el virus Indiana-3 (mapa 2) se mantuvo prácticamente restringido a una región situada al norte del estado de Minas Gerais. Comenzó a generar situaciones epidémicas entre 1984 y 1986 (mapa 3) con amplia difusión del agente y extenso número de municipios afectados en Minas Gerais, Rio de Janeiro y São Paulo. En el estado de Minas Gerais existe una única mesorregión sin registro histórico de la enfermedad, la Vale do Rio Doce, geográficamente vecina del estado de Espírito Santo, donde tampoco hay registro de casos (cuadro 3).

En la región nordeste, a partir de 1984 el estado de Ceará registra la presencia reiterada de la enfermedad. La mesorregión Centro-sul Cearense y la vecina microrregión de Caririáçu conforman el único espacio sin diagnóstico de la enfermedad en todo el estado; Piauí y Sergipe registran focos aislados, y en Alagoas, después del aislamiento original, el virus no ha vuelto a ser constatado (cuadro 4).

En la región Centro-oeste, el virus ha sido identificado en Goiás, Mato Grosso y Mato Grosso do Sul, una vez en cada uno (cuadro 5), y nunca ha sido identificado en los estados de la región Sur.

Es difícil establecer conclusiones definitivas sobre los animales seropositivos detectados en el muestreo realizado en la región Norte sin correlato de manifestaciones clínicas. Otros rhabdovirus serológicamente relacionados a los vesiculovirus han sido descritos en la región, existiendo la posibilidad de que se trate de reacciones cruzadas, las que no son extrañas en la prueba de IDGA (2).

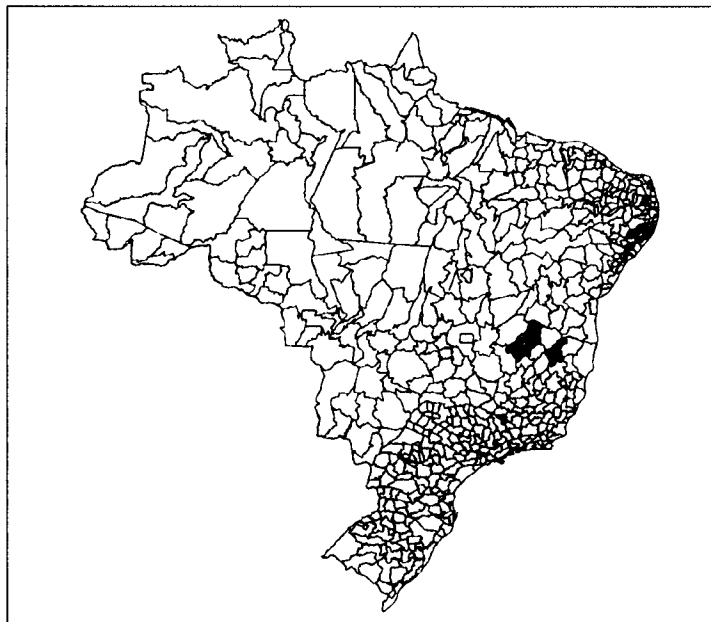
CUADRO 1. Estomatitis vesicular por año, estado, especie afectada y diagnóstico. Brasil, 1964-1996

Año	Estado	Especie afectada	Diagnóstico
1964	Alagoas	équidos	Indiana-3
1965			
1966	São Paulo	equinos	Indiana-2
1967	São Paulo	equinos	Indiana-2
1968	São Paulo	equinos	Indiana-2
1969			
1970			
1971			
1972	Minas Gerais	équidos	Indiana-3
1973	Bahia	équidos	Indiana-3
1974			
1975			
1976			
1977	Minas Gerais	bovinos	Indiana-3
1978	São Paulo	equinos	Indiana-2
1979	Minas Gerais	eq., bov., por., cap.	Indiana-3
	R.G. do Sul	equinos	Indiana-2
	São Paulo	equinos	Indiana-2
1980			
1981			
1982			
1983			
1984	Ceará	bovinos	Indiana-3
	Minas Gerais	bovinos	Indiana-3
	Piauí	bovinos	Indiana-3
	Sergipe	bov., eq.	Indiana-3
1985	Minas Gerais	bovinos	Indiana-3
	Piauí	bovinos	Indiana-3
1986	Rio de Janeiro	bovinos	Indiana-3
1987			
1988			
1989	Minas Gerais	cap., bov.	Indiana-3
	Rio de Janeiro	bovinos	Indiana-3
	São Paulo	bovinos	Indiana-3
1990			
1991	Ceará	bovinos	Indiana-3
	M.G. do Sul	bovinos	Indiana-3
	Minas Gerais	bovinos	Indiana-3
1992	Ceará	bovinos	Indiana-3
1993	Ceará	bovinos	Indiana-3
	Goiás	equinos	Indiana-3
1994	Ceará	bovinos	Indiana-3
	São Paulo	bovinos	Indiana-3
1995	Ceará	bovinos	Indiana-3
	Mato Grosso	équidos	Indiana-3
	Minas Gerais	bovinos	Indiana-3
1996	Ceará	bovinos	Indiana-3

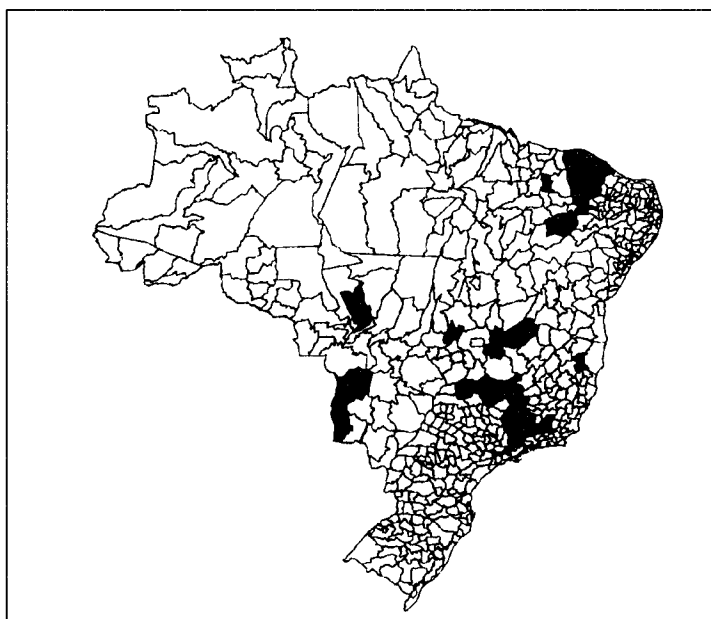
MAPA 1. Microrregiones de Brasil con registro de virus Indiana-2**CUADRO 2. Microrregiones con diagnóstico de estomatitis vesicular por virus Indiana-2. Brasil, 1966-1979**

Estado	Microrregión
São Paulo	Presidente Prudente
	Ourinhos
	Assis
	Franca
	Ribeirão Preto
	Nhandeara
Rio Grande do Sul	Registro
	Santiago
	Porto Alegre
	Serras de Sudeste

MAPA 2. Microrregiones de Brasil con registro de virus Indiana-3 entre 1964 y 1983



MAPA 3. Microrregiones de Brasil con registro de virus Indiana-3 entre 1984 y 1996



CUADRO 3. Microrregiones con diagnóstico de estomatitis vesicular por virus Indiana-3. Región Sudeste, Brasil, 1964-1996

Estado	Microrregión
Minas Gerais	Janaúba Januária Montes Claros Unai Pedra Azul Araçuai Nanuque Uberlândia Patrocínio Patos de Minas Araxá Três Marias Curvelo Bom Despacho Sete Lagoas Conceição do Mato Dentro Pará de Minas Campo Belo Divinópolis Oliveira Alfenas Varginha Pouso Alegre Santa Rita do Sapucaí São Lourenço Itajubá Lavras São João Del Rei Cataguases Juiz de Fora
São Paulo	Presidente Prudente São João da Boa Vista São José dos Campos Guaratinguetá
Rio de Janeiro	Itaguaí Vale do Paraíba Fluminense

CUADRO 4. Microrregiones con diagnóstico de estomatitis vesicular por virus Indiana-3. Región Nordeste, 1964-1996

Estado	Microrregión
Ceará	Fortaleza Pacajús Coreaú Ipu Sobral Meruoca Santa Quitéria Lit.de Camocin e Aracajú Ibiapiaba Sertão de Quixeramobim Sertão de Crateús Sertão de Inhamuns Sertão do Senador Pompeu Canindé Médio Curú Uruburetama Itapipoca Baturite Cascavel Baixo Curú Baixo Jaguaribe Médio Jaguaribe Serra do Pereiro Brejo Santo Barro Cariri Chapada do Araripe
Piauí	Alto e Médio Canindé Teresina
Alagoas	Mata Alagoana
Sergipe	Sergipana do Sertão de São Francisco

CUADRO 5. Microrregiones con diagnóstico de estomatitis vesicular por virus Indiana-3. Región Centro-oeste, Brasil, 1964-1996

Estado	Microrregión
Mato Grosso	Alto Teles Pires
Goiás	Ceres
Mato Grosso	Baixo Pantanal do Sul

CONCLUSIONES

Teniendo en cuenta el tipo de agente causal involucrado, la distribución histórica de la estomatitis vesicular en Brasil presenta dos situaciones epidemiológicamente diferentes.

El serotipo de virus Indiana-2 aparece involucrado en dos episodios entre los años de 1966 y 1978, en los estados de São Paulo y Rio Grande do Sul; esto sugiere tratarse de situaciones epidémicas no relacionadas entre sí, no existiendo registros de la presencia del virus Indiana-2 posteriores a 1979.

En cambio, la estomatitis vesicular ocasionada por el serotipo Indiana-3 mantiene una presencia activa desde que fue diagnosticado hasta el presente, afectando bovinos, équidos, porcinos y caprinos. En muchos episodios, sino en la mayoría, aparecen los bovinos como la única especie afectada, eliminando la posibilidad de diagnóstico clínico diferencial con la fiebre aftosa.

Esta circunstancia es especialmente relevante debido a que el área afectada por estomatitis vesicular coincide, en su mayor parte, con la región del territorio brasileño que mantiene presencia activa de fiebre aftosa y por lo tanto, el diagnóstico diferencial es de urgente necesidad.

REFERENCIAS

1. ALONSO, A., SÖNDAHL, M. S. Antigenic and immunogenic characterization of various strains of the Indiana serotype of vesicular stomatitis isolated in Brazil. *Bol. Centr. Panam. Febre Aftosa*, 51: 27-30, 1985.
2. ALLENDE, R., SEPULVEDA, L., MENDES DA SILVA, A., MARTINS, M., SÖNDAHL, M. S., ALONSO, A. An enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of vesicular stomatitis virus antibodies. *Prev. Vet. Med.*, 14: 293-301, 1992.
3. ANDRADE, C. M. *Estomatite vesicular no Brasil*. Rio de Janeiro, RJ, UFRRJ, 1974. 86p. (Tese de habilitação à livre docência)

4. ANDRADE, C. M., ROSAS, C. E.; AMORIM, L. M., MOTA, J. P., TEIXEIRA, E. N., SANTOS, N. F. Vesicular stomatitis in Brazil. *Anais de microbiologia*, 25: 81-87, 1980.
5. ARITA, G. M. M., ARITA, H. Isolamento do vírus da estomatite vesicular em equinos no estado de São Paulo e persistência de anticorpos em animais inoculados experimentalmente. *Biológico*, 49 (7): 193-194, 1983.
6. ARITA, G. M. M., DEAK, J. G., SALES MOURA, F., SILVA F. A. S. Isolamento e identificação do vírus da estomatite vesicular em bovinos do estado do Ceará. *Biológico*, 51 (9): 257-259, 1985.
7. BRODY, J. A., FISCHER, G. F., PERALTA, P. H. Vesicular stomatitis in Panama. Human serologic patterns in a cattle raising area. *Am. J. Epidem.*, 88: 158-161, 1967.
8. CALISHER, C. H., KARABATSOS, N., ZELLER, H., DIGOUTTE, J. P. et al. Antigenic relationships among Rhabdoviruses from vertebrates and hematophagous arthropods. *Intervirology*, 30: 241-257, 1989.
9. CONTEIRO, E. G. Relatório sobre a ocorrência de estomatite vesicular em Minas Gerais. *Bol. Centr. Panam. Febre Aftosa*, 6: 41-42, 1972.
10. DEAK, J. G., ARITA, G. M. M., PRUDENCIO, C. N. Estomatite vesicular no Estado de Minas Gerais, Brasil (Nota prévia). *Rev. Bras. Med. Veterinária*, 9 (1): 17-19, 1987.
11. FEDERER, K. E., BURROWS, R., BROOKSBY, J. B. Vesicular stomatitis virus - The relationship between some strains of the Indiana serotype. *Res. Vet. Sci.*, 8: 103-117, 1967.
12. FELLOWES, O. N., DIMOPOULLOS, G. T., CALLIS, J. J. Isolation of vesicular stomatitis virus from an infected laboratory worker. *Am. J. Vet. Res.* 16 (61): 623-626, 1955.
13. FERREIRA, M. E. V., OBIAGA, J. A., ALONSO, A., SÖNDHAL, M. S. Diagnóstico y tipificación de virus de estomatitis vesicular por técnica de virusneutralización. *Inf. Epid. Mensual CPFA*, 11 (5): 58-60, 1979.
14. GARCIA PIRAZZI, A. J., CAGGIANO, C. H., ALONSO FERNANDEZ, A. Estomatitis vesicular: Constatación de la enfermedad y aislamiento del virus. *Gaz. Veterinaria*, 28: 85-91, 1966.
15. HANSON, R. P. The natural history of vesicular stomatitis. *Bac. Rev.*, 16 (5): 199-204, 1952.
16. JONKERS, A. H., SPENCE, L., COAKWELL, C. A., THORNTON, J. J. Laboratory studies with wild rodents and viruses native to Trinidad. *Am. J. Tropical Med. Hyg.*, 13: 613-619, 1964.
17. KOTAIT, I. Estudo epidemiológico da estomatite vesicular no vale do Paraíba. São Paulo, Univ. de São Paulo, Fac. de Saúde Pública, 1990. 85 p. (Tese)
18. MENGATO, W. Diagnóstico de estomatite vesicular en equinos en el estado de São Paulo, Brasil. *Inf. Epid. Mensual CPFA*, 11 (5): 56-57, 1979.
19. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA *Diagnóstico de saúde animal: Região Norte*, Programa Nacional de Saúde Animal. Sem dados editoriais.
20. MURPHY, F. A., KINGSBURY, D. W. Virus taxonomy. In: FIELDS, BN, KNIPE, D. M., eds. *Fundamental virology*, Ltd., New York, Raven Press, 1991, p. 9-35.
21. PATTERSON, W. E., MOTT, L. O., JENNEY, E. W. A study of vesicular stomatitis in man. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 133: 75-62, 1958.
22. PITUCO, E. M., STEFANO, E., PUSTIGLIONE NETTO, L. Isolamento do subtipo III do vírus da estomatite vesicular no estado de São Paulo. *Biológico*, 55 (1/2): 5-6, 1989.
23. PRADO, J. A. P., PETZHOLD, S. A., RECKZIEGEL, P. E., JORGENS, E. N. Estomatite vesicular no Estado de Rio Grande do Sul (Brasil). Primeira identificação - Nota prévia. *Bol. Ins. Pes. Vet. Desejério Finamor*, 6: 73-77, 1970.
24. PUSTIGLIONE NETTO, L., PINTO, A. A., SUGA, O. Isolamento do vírus, identificação sorológica e levantamento epizootiológico de um surto de estomatite vesicular no Estado de São Paulo. *Arq. Inst. Biológico, São Paulo*, 34(2): 69-72, 1967.
25. PUSTIGLIONE NETTO, L., PINTO, A. A., SUGA, O. Ocorrência da febre aftosa e estomatite vesicular no estado de São Paulo em 1967. *Arq. Inst. Biológico, São Paulo*, 34 (3): 65-67, 1968.
26. PUSTIGLIONE NETTO, L. PINTO, A. A., SUGA, O., YIDA, O. Ocorrência da febre aftosa e estomatite vesicular no estado de São Paulo em 1968. *Arq. Inst. Biológico, São Paulo*, 34 (10): 226-228, 1968.
27. PUSTIGLIONE NETTO, L., PINTO, A. A., SUGA, O., YIDA, O. Ocorrência da febre aftosa e estomatite vesicular no estado de São Paulo no biênio 1967-1968. *Arq. Inst. Biológico, São Paulo*, 36 (3): 129-134, 1969.
28. PUSTIGLIONE NETTO, L., SUGA, O., PINTO, A. A. Levantamento da incidência da febre aftosa no estado de São Paulo em 1966 e nota sobre ocorrência de estomatite vesicular. *Biológico*, 32: 223-225, 1966.

29. ROCHA ARAUJO, M. L. GALETTI, M., MACÁRIO ROCHA, M. A., MOREIRA, E. C. Isolamento do vírus da estomatite vesicular tipo Indiana, subtipo Indiana III, no Estado de Minas Gerais, Brasil. *Arq. Escola Vet. UFMG*, 29 (2): 185-189, 1977.
30. SECRETARIA DE PLANEJAMENTO E COORDENAÇÃO DA PRESIDÊNCIA DA REPÚBLICA. PR. Nro 11 de 05-06-90. *Boletim de Serviço IBGE*, n. 1774, semanas 026 a 030, 1990.
31. TRAVASSOS da ROSA, A. P., TESH, R. B., TRAVASSOS da ROSA, J. F., HERVE, J. P., MAIN Jr, A.J. Carajás and Marabá viruses, two new vesiculoviruses isolated from phlebotomine sand flies in Brazil. *Am. J. Tropical Med. Hyg.* 33 (5): 999-1006, 1984.
-

ABSTRACT

Historical distribution of the vesicular stomatitis in Brazil

Vesicular stomatitis is a disease that affects cattle, sheep, swine, goats and equine clinically indistinguishable of the foot-and-mouth disease. In Brazil it was diagnosed for the first time in 1964 in the states of Alagoas and Pernambuco. In this work a historical review is made based on the results of the diagnoses of the virus types Indiana-2 and Indiana-3 carried out at the Pan American Foot-and-Mouth Disease Center during the years 1964-1996.

RESUMO

Distribuição histórica da estomatite vesicular no Brasil

A estomatite vesicular é uma doença que afeta bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos, clinicamente indistinguível da febre aftosa. No Brasil, foi diagnosticada pela primeira vez em 1964 nos estados de Alagoas e Pernambuco. Neste trabalho faz-se um relato histórico a partir dos resultados de diagnósticos dos vírus tipos Indiana-2 e Indiana-3, realizados durante os anos 1964-1996 no Centro Pan-Americano de Febre Aftosa.

INQUÉRITO SOROEPIDEMIOLÓGICO SOBRE FEBRE AFTOSA REALIZADO EM BOVINOS NO PANTANAL SUL-MATO-GROSSENSE, BRASIL

MORAES, Geraldo Marcos¹, PAES, Rita de Cássia da Silva¹,
CAVALLERO, João Crisostomo Mauad²

¹*Departamento de Inspeção e Defesa Agropecuária de Mato Grosso do Sul (LAGRO)*
Av. Senador Filinto Muller, 1146, 79074-460 Campo Grande, MS, Brasil

²*Delegacia Federal de Agricultura em Mato Grosso do Sul (DFA/MS)*
Rua Dom Aquino, 2696, 79002-182, Campo Grande, MS, Brasil

Para avaliar as ações de combate à febre aftosa realizadas na região do pantanal do Estado do Mato Grosso do Sul, em especial a estratégia de vacinação empregada, bem como estimar o conhecimento da comunidade sobre as características da febre aftosa e sua participação no sistema de vigilância local, realizou-se, no período de 1995-1996, um estudo soroepidemiológico na região em questão. O pantanal sul-mato-grossense foi dividido em duas regiões, considerando-se para o estudo bovinos com idade entre 6 e 24 meses. Para diagnóstico laboratorial foram empregadas duas técnicas, em série, sendo uma inicial representada pela técnica de IDGA para a detecção de anticorpos contra o antígeno associado à infecção viral e uma prova confirmatória, representada pela técnica de EITB. Os resultados dos trabalhos realizados na região alvo evidenciam uma redução da prevalência da enfermidade, observando-se um total de 12 animais reagentes (0,3%) e considerando-se, portanto, satisfatória a campanha de vacinação anual contra a febre aftosa realizada empregando-se vacina com adjuvante oleoso. Entretanto, visando a erradicação da enfermidade, recomenda-se uma avaliação sobre a possibilidade de se incorporar na região mais uma etapa de vacinação dirigida, especialmente, aos bovinos com idade abaixo de 24 meses.

Os programas em execução na América do Sul para erradicação da febre aftosa alcançaram resultados expressivos na década de noventa, encontrando-se respaldados por um amplo compromisso governamental e por uma

significativa participação social, além da experiência e do conhecimento acumulados durante os vários anos de luta contra a enfermidade (8,9).

Na região hoje pertencente ao estado de Mato Grosso do Sul, o trabalho organizado de combate à enfermidade teve como marco o ano de 1970, época em que ocorreu a instituição da obrigatoriedade da vacinação dos rebanhos bovino e bubalino pertencentes aos municípios de divisa com os estados de Minas Gerais e São Paulo (15). Desde então, acompanhando o

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

desenvolvimento e a ampliação no âmbito nacional, os trabalhos progrediram e estenderam-se ao restante do Estado, sendo construída, gradativamente, uma boa infraestrutura técnico-administrativa, capaz de prover e responder satisfatoriamente às necessidades e exigências básicas de combate à enfermidade.

Atualmente, encontra-se em andamento no país o Programa Nacional de Erradicação da Febre Aftosa, como parte do Projeto de Combate às Doenças dos Animais implantado pelo Ministério da Agricultura e do Abastecimento, que tem como base, além de outros fatores, a regionalização das atividades de combate à enfermidade através de espaços geográficos distintos, denominados de circuitos pecuários (16). De acordo com esse Programa, Mato Grosso do Sul integra o Circuito Pecuário do Centro-Oeste, juntamente com os estados de Mato Grosso, Goiás, São Paulo e com parte dos estados de Minas Gerais, Paraná e Tocantins, além do Distrito Federal, onde estabeleceu-se como meta principal a erradicação da enfermidade até o ano 2000.

A estratégia de combate à febre aftosa no Estado encontra-se diferenciada de acordo com duas regiões geograficamente distintas: o planalto e o pantanal sul-mato-grossense. Apesar das diferenças existentes, essas regiões encontram-se vinculadas por uma forte relação histórico-cultural e socioeconômica, fazendo com que exista uma estreita interdependência entre ambas. Dessa forma, especialmente no que se refere ao objetivo de erradicação da febre aftosa, os resultados a serem obtidos em uma região dependem necessariamente dos trabalhos desenvolvidos na outra, com uma maior influência do pantanal sobre o planalto.

Em função das características geográficas existentes, não é possível executar no pantanal a mesma estratégia de combate à febre aftosa realizada para o planalto, especialmente no que se refere à campanha de vacinação dos bovinos e bubalinos. Enquanto no pantanal a vacinação sempre foi realizada uma vez ao ano, no planalto as etapas de vacinação inicialmente eram realizadas trimestralmente, passando em seguida, a partir de 1993, a serem executadas de seis em seis meses, de acordo com a faixa etária dos

animais. A atual estratégia de vacinação considera a obrigatoriedade de uso da vacina com adjuvante oleoso, sendo que para o planalto as etapas encontram-se distribuídas da seguinte forma: *fevereiro*: vacinação de animais com idade inferior a 12 meses; *maio*: vacinação de animais com idade inferior a 24 meses e *novembro*: vacinação de todo rebanho. No pantanal o pecuarista pode optar, dependendo da época de cheia em sua propriedade, pela vacinação de todo o rebanho em *maio* ou *novembro*. Além da campanha de vacinação em execução, destacam-se, também, entre as atividades realizadas pelo serviço de defesa sanitária animal em ambas as regiões, a educação sanitária, o controle do trânsito animal, o controle das exposições e leilões e o atendimento aos focos identificados. A expressiva diminuição de focos registrada nos últimos anos e, especialmente, o longo período de tempo sem ocorrências a partir de 1994 evidenciam que essas ações têm surtido efeitos satisfatórios.

Entretanto, buscando-se formas mais específicas de avaliar os resultados obtidos e considerando a necessidade do Estado demonstrar suas condições sanitárias para almejar o título de zona livre para febre aftosa, de acordo com as normas estabelecidas no Código Zoossanitário Internacional do Escritório Internacional de Epizootias e no Acordo sobre a Aplicação de Medidas Sanitárias e Fitossanitárias da Organização Mundial do Comércio, o presente estudo procura dar início aos trabalhos nessa direção. Os objetivos básicos pretendidos foram o de avaliar a estratégia de vacinação anti-aftosa empregada no pantanal sul-mato-grossense, principalmente no que diz respeito a sua função de diminuição da prevalência da enfermidade na região, bem como o de estimar o conhecimento da comunidade local sobre as características básicas da febre aftosa e, conseqüentemente, avaliar o nível de sua participação no sistema de vigilância local.

MATERIAL E MÉTODOS

Região de estudo

O pantanal sul-mato-grossense localiza-se na região noroeste do Estado de Mato Grosso

do Sul, representando a maior extensão. A região denominada como planícies e pantanais mato-grossenses ocupa cerca de 133.465 Km² da bacia do alto Paraguai, entre os paralelos 16° e 22° LS e os meridianos 55° e 58° W (figura 1). Fazem parte dessas planícies e pantanais a região noroeste do estado de Mato Grosso do Sul, a região sudoeste de Mato Grosso e pequenas partes da Bolívia e Paraguai, onde ocorre o prolongamento natural com o Chaco Boreal. Em território brasileiro, as planícies e pantanais mato-grossenses desenvolvem-se do município de Cáceres, nas proximidades de Porto Espiridião, em Mato Grosso, até o rio Apa, em Mato Grosso do Sul, numa faixa de 770 Km em sentido norte-sul, com largura variável entre 50, 100 e 250 Km, em sentido leste-oeste, perfazendo uma superfície de cerca de 200.000 Km² (11). Mato Grosso do Sul possui a maior extensão da região pantaneira, sendo constituída pelos municípios de Aquidauana, Corumbá, Coxim, Ladário, Miranda, Porto Murtinho, Rio Verde de Mato Grosso e Sonora, conforme figura 1. A região dos pantanais possui altimetrias variando entre 80 e 150 metros (6) e temperaturas médias entre 26 e 32°C, registrando-se mínimas absolutas de 0°C no inverno e máximas absolutas acima de 40°C no verão (11).

Sob o ponto de vista natural, o Pantanal não é uma unidade homogênea, daí ser comum distinguir-se tipos de pantanais. Observações feitas através de imagens de radar, tomadas nos anos de 1975 e 1976, possibilitaram a identificação de doze padrões distintos de pantanais, com características estruturais, morfológicas, hidrológicas, pedológicas e de cobertura vegetal típicas, sendo que desses, nove localizam-se no estado de Mato Grosso do Sul: Pantanal do Paiaguás, do Taquari, do Negro, do Jacadigo-Nabileque, do Miranda-Aquidauana, do Tarumã-Jibóia, do Aquidabã, do Branco-Amonguijá e do Apa (6).

Os pantanais mato-grossenses apresentam uma dinâmica fluvial complexa, não representando uma área permanentemente inundada (6). Seu comportamento hidrológico é influenciado por eventos climáticos locais e regionais, que definem variabilidades sazonais

(estações chuvosas e secas) e pluri- anuais (alternância de ciclos de anos muito chuvosos com ciclos relativamente secos). O regime de chuvas é tropical, com duas estações bem definidas: seca - de maio a setembro, e chuvosa - de outubro a abril, com uma precipitação média anual variando de 1.000 a 1.400 mm (13).

As áreas sujeitas à inundação variam quanto à altura das lâminas de água, duração do alagamento e extensão da área inundada. O fenômeno das cheias (6) manifesta-se, pela sua intensidade, como dos tipos: *comuns*, atingindo pequenas áreas, sem realimentação dos corixos e das lagoas distantes; *médias* ou *extraordinárias*: regulares, redistribuindo água através de corixos e alimentando lençóis subterrâneos distantes dos leitos fluviais, e excepcionais: atingindo grandes extensões e causando alguns danos sob o ponto de vista socioeconômico.

Para este estudo, a região do pantanal sul-mato-grossense, considerada segundo o Departamento de Inspeção e Defesa Agropecuária de Mato Grosso do Sul (IAGRO) (10), foi dividida em duas regiões (figura 2). A primeira, denominada Região I, ficou constituída pelo município de Corumbá que, dado as suas dimensões, foi subdividida em outras cinco regiões: Albuquerque, Amolar, Nabileque, Nhecolândia e Paiaguás. A Região II, por sua vez, ficou constituída pelos pantanais pertencentes aos municípios de Aquidauana, Coxim, Miranda, Porto Murtinho e Rio Verde de Mato Grosso.

Rebanho bovino considerado

Para a realização do inquérito soropidemiológico foi considerado como população alvo o rebanho bovino com idade inferior a 2 anos sob controle do IAGRO no pantanal sul-mato-grossense, conforme quadro 1. Com objetivo de restringir a análise ao histórico mais recente da enfermidade na região, as faixas etárias consideradas foram de animais com idade de até 12 meses e entre 13 e 24 meses. Os animais de até 12 meses, foram animais desmamados ou com idade superior a 6 meses que, preferencialmente, não haviam sido vacinados contra febre aftosa ou que receberam a primeira

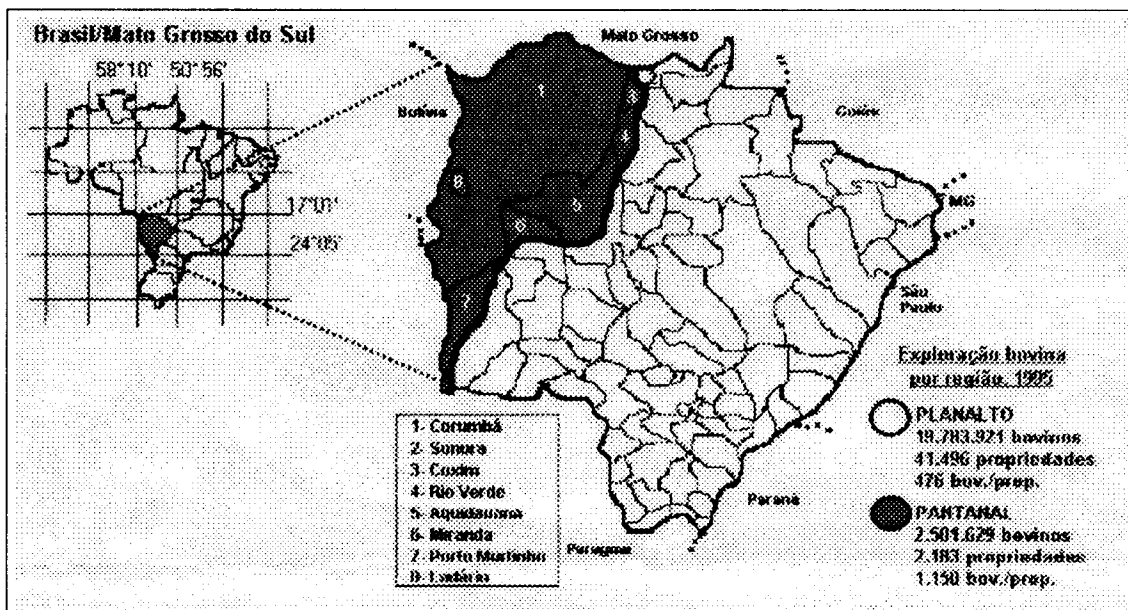


FIGURA 1. Localização de Mato Grosso do Sul, destacando-se as regiões do planalto e do pantanal sul-mato-grossenses e informações sobre a exploração bovina existente, 1995

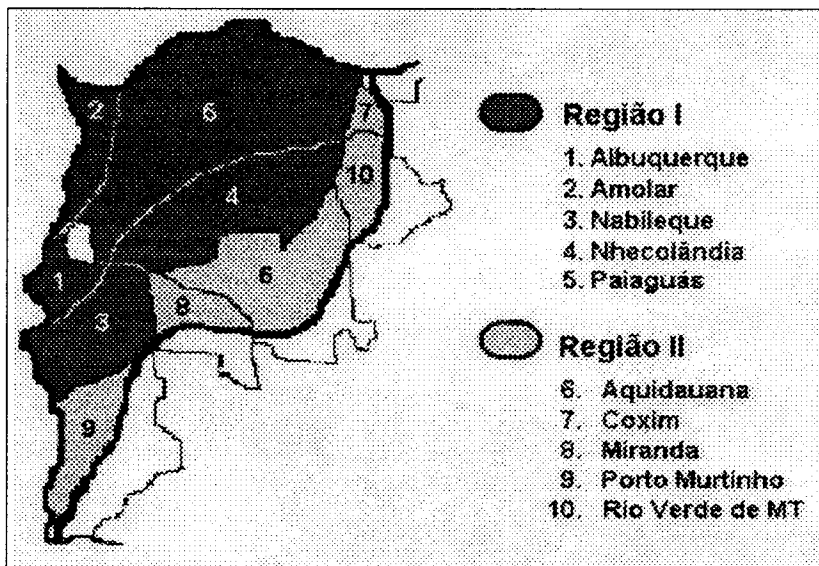


FIGURA 2. Regiões do pantanal sul-mato-grossense consideradas no inquérito soroepidemiológico para febre aftosa, período de outubro de 1995 a maio de 1996

QUADRO 1. Rebanho bovino e propriedades sob controle do IAGRO no pantanal sul-mato-grossense, 1995

Município	Rebanho bovino e bubalino				Propriedades
	> 2 anos	1 a 2 anos	< 1 ano	Total	
Aquidauana	220481	65136	77994	363611	301
Corumbá/Ladário	883765	242593	264599	1390957	1100
Coxim	67657	15346	25416	108419	79
Miranda	15426	7266	6325	29017	12
Porto Murtinho	204648	67612	60579	332838	320
Rio Verde	148019	49120	52682	249821	358
Sonora	17754	3928	5285	26966	13
Total	1557750	451000	492880	2501629	2183

dose em dias próximos à colheita das amostras. Os animais com idade entre 13 e 24 meses haviam recebido apenas uma vacinação contra febre aftosa ou haviam recebido a segunda dose em até cinco dias anteriores à colheita das amostras.

Amostragem realizada

A amostragem empregada foi do tipo aleatória e estratificada, sendo estabelecida independentemente para cada região, considerando-se como unidade primária de análise o rebanho bovino de acordo com o apresentado anteriormente. Para a estratificação considerou-se o percentual do rebanho bovino, por faixa etária, em cada sub-região existente e a época de realização da vacinação. Essa última condição se fez necessária em função dos proprietários dos animais poderem optar, de acordo com a época de enchente na propriedade, entre os meses de maio/junho ou novembro/dezembro para realizar a vacinação anual nos bovinos. Esse fato define a existência de rebanhos bovinos com proteção imunológica diferenciada: enquanto uma parte encontra-se em fase ascendente na produção de anticorpos,

a outra encontra-se em processo descendente ou de estabilidade.

O tamanho das amostras foi estabelecido considerando-se uma prevalência da infecção de 5%, um nível de significância de 95% e uma margem de erro de 1%. Através dos quadros 2 e 3 podem ser observadas as amostras consideradas por região de estudo e por faixas etárias trabalhadas. A colheita das amostras foi distribuída em 14% das propriedades sob controle do IAGRO, de acordo com o percentual dessas por regiões e sub-regiões de estudo, sendo estas escolhidas aleatoriamente.

Colheita das amostras e testes laboratoriais empregados

Procurando-se aproveitar o manejo dos rebanhos bovinos para a vacinação contra a febre aftosa, o trabalho de colheita das amostras foi concentrado nos períodos de outubro a dezembro de 1995 e abril a junho de 1996. Os soros sanguíneos dos bovinos foram dessorados nos próprios estabelecimentos e encaminhados sob refrigeração ao Laboratório de Diagnóstico Animal do IAGRO para congelamento e posterior envio ao Centro Pan-americano de Febre Aftosa (PANAFTOSA).

QUADRO 2. Tamanho da amostra para a Região I, representada pelo município de Corumbá, MS

Período	Sub-região	Rebanho bovino			Propriedades visitadas
		6 a 12 meses	13 a 24 meses	Total	
out/dez-1995	Albuquerque	48	19	67	8
	Amolar	18	24	42	3
	Nabileque	156	223	379	32
	Nhecolândia	39	41	80	7
	Paiaguás	54	72	126	9
	<i>Sub-total</i>	315	379	694	59
mai/jun-1996	Albuquerque	57	27	84	7
	Amolar	12	6	18	2
	Nabileque	78	72	150	15
	Nhecolândia	357	295	652	43
	Paiaguás	276	199	475	40
	<i>Sub-total</i>	780	599	1379	107
	Total	1095	978	2073	166

QUADRO 3. Tamanho da amostra para a Região II, composta pelos demais municípios com áreas pertencentes ao pantanal sul-mato-grossense

Período	Sub-região	Rebanho bovino			Propriedades Visitadas
		6 a 12 meses	13 a 24 meses	Total	
out/dez-1995	Aquidauana	149	216	365	19
	Coxim	67	12	79	10
	Miranda	22	44	66	3
	Porto Murtinho	138	180	318	17
	Rio Verde	63	70	133	23
	<i>Sub-total</i>	439	522	961	72
mai/jun-1996	Aquidauana	196	140	336	28
	Coxim	32	20	52	4
	Miranda	8	16	24	2
	Porto Murtinho	95	114	209	19
	Rio Verde	107	123	230	20
	<i>Sub-total</i>	438	413	851	73
	Total	877	935	1812	145

Empregou-se como prova de triagem a técnica de imunodifusão em gel agar (IDGA) para detecção de anticorpos contra o antígeno associado à infecção viral, conduzida e interpretada de acordo com as recomendações de PANAFTOSA (1,2,7). Como prova confirmatória utilizou-se a prova EITB (enzyme-linked immunoelectrotransfer blot) (3,4,5). Ambas as provas foram realizadas por PANAFTOSA.

Aplicação de questionário através de entrevistas diretas

Durante a colheita das amostras de soro sanguíneo foram realizadas entrevistas diretas empregando-se um questionário padronizado (figura 3), tendo como questões básicas a comprovação da data de vacinação dos animais, a identificação do nível de conhecimento sobre os principais sinais clínicos causados pela febre

<p>GOVERNO DO ESTADO DE MATO GROSSO DO SUL Secretaria de Estado de Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável Departamento de Inspeção e Defesa Agropecuária de MS - IAGRO</p>	
<p>INQUÉRITO SOROEPIDEMIOLÓGICO NO PANTANAL SUL-MATO-GROSSENSE QUESTIONÁRIO</p>	
<p>PROPRIEDADE: _____</p>	
<p>PROPRIETÁRIO: _____</p>	
<p>DATA DA ENTREVISTA: ____/____/____</p>	
<p>1) Qual a última data de vacinação contra febre aftosa realizada nos animais da propriedade? _____</p>	
<p>2) Como conhece um animal acometido por febre aftosa? (quais os sinais) _____ _____</p>	
<p>3) Qual a última vez que viu animais com febre aftosa? Onde? (na região do Pantanal) _____ _____</p>	
<p>4) Os bovinos da propriedade já foram afetados por febre aftosa? Quando? _____ _____</p>	
<p>E quanto aos animais silvestres? _____ _____</p>	
<p>_____ Nome e assinatura do Informante</p>	<p>_____ Nome e assinatura do Médico Veterinário</p>

FIGURA 3. Modelo de questionário empregado nas entrevistas

aftosa e a verificação da existência de possíveis suspeitas recentes de ocorrência clínica da enfermidade na região. As entrevistas foram efetuadas por médicos veterinários do IAGRO, responsáveis pela colheita das amostras, que escolheram um entrevistado por propriedade visitada, preferencialmente o responsável direto pelos animais. A estratificação foi realizada de acordo com a colheita das amostras, respeitando-se a participação do total de propriedades por região estudada, conforme quadros 2 e 3.

RESULTADOS

Inquérito sorológico

Os resultados obtidos para as Regiões I e II encontram-se nos quadros 4 e 5, respectivamente. Observa-se para a Região I, de forma global, um total de apenas 3 animais reagentes (0,1%). Esses reagentes foram encontrados apenas nas sub-regiões de Nhecolândia (2 reagentes) e do Paiaguás (1 reagente). Quanto aos períodos analisados, não houve diferença

significativa, encontrando-se 2 animais reagentes no período de novembro/dezembro de 1995 e 1 no de maio/junho de 1996. Nas faixas etárias consideradas, também não foram encontradas diferenças significativas, sendo 2 reagentes para a de 6 a 12 meses e 1 para a de 13 a 24 meses.

Para a Região II, o total global de reagentes foi de 9 animais (0,5%), 2 no período de novembro/dezembro de 1995 e 7 no de maio/junho de 1996. Em relação às sub-regiões, observa-se que os reagentes concentraram-se nos municípios de Aquidauana (3 reagentes) e Porto Murtinho (6 reagentes). Observa-se, também, especialmente para a sub-região de Porto Murtinho, uma tendência de maior concentração de reagentes para o período de maio/junho de 1996. Quanto às faixas etárias consideradas não observa-se diferenças significativas, sendo identificados 4 reagentes para a de 6 a 12 meses e 5 para a de 13 a 24 meses.

A figura 4 apresenta as regiões e sub-regiões onde foram encontrados animais reagentes ao teste de EITB, e os resultados encontram-se apresentados por sub-região.

QUADRO 4. Resultados laboratoriais aos testes de VIA-IDGA e EITB, Região I, MS

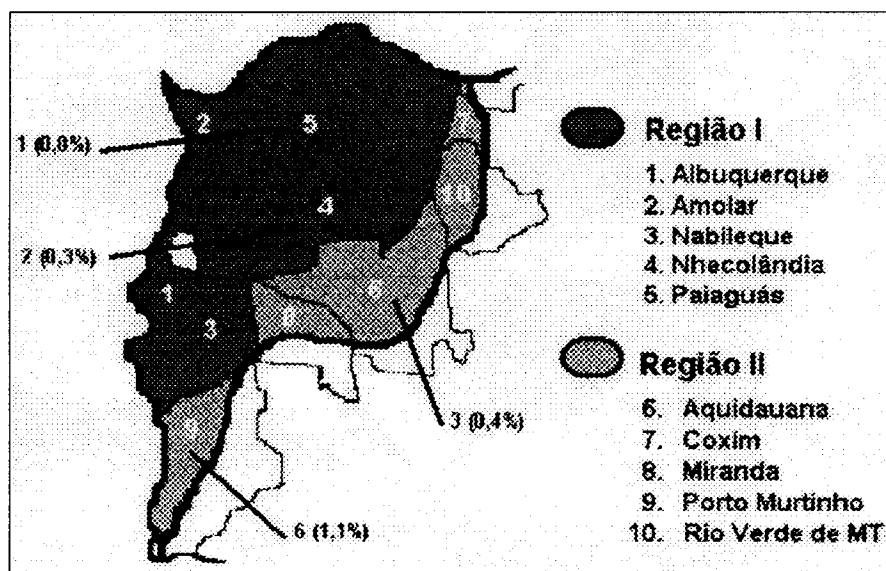
Período	Sub-região	Resultados positivos para as provas de IDGA e EITB														
		6 a 12 meses				13 a 24 meses				Total						
		Total	IDGA+	%*	EITB+	%*	Total	IDGA+	%*	EITB+	%*	Total	IDGA+	%*	EITB+	%*
Nov/Dez 1995	Albuquerque	48	0	0,0	0	0,0	19	0	0,0	0	0,0	67	0	0,0	0	0,0
	Amolar	18	0	0,0	0	0,0	24	1	4,2	0	0,0	42	1	2,4	0	0,0
	Nabileque	156	0	0,0	0	0,0	223	15	6,7	0	0,0	379	15	4,0	0	0,0
	Nhecolândia	39	1	2,6	0	0,0	41	2	4,9	1	2,4	80	3	3,8	1	1,3
	Paiaguás	54	2	3,7	1	1,9	72	4	5,6	0	0,0	126	6	4,8	1	0,8
	<i>Subtotal</i>	315	3	1,0	1	0,3	379	22	5,8	1	0,3	694	25	3,6	2	0,3
Mai/Jun 1996	Albuquerque	57	1	1,8	0	0,0	27	0	0,0	0	0,0	84	1	1,2	0	0,0
	Amolar	12	0	0,0	0	0,0	6	0	0,0	0	0,0	18	0	0,0	0	0,0
	Nabileque	78	0	0,0	0	0,0	72	4	5,6	0	0,0	150	4	2,7	0	0,0
	Nhecolândia	357	1	0,3	1	0,3	295	9	3,1	0	0,0	652	10	1,5	1	0,2
	Paiaguás	276	0	0,0	0	0,0	199	2	1,0	0	0,0	475	2	0,4	0	0,0
	<i>Subtotal</i>	780	2	0,3	1	0,1	599	15	2,5	0	0,0	1379	17	1,2	1	0,1
	Total	1095	5	0,5	2	0,2	978	37	3,8	1	0,1	2073	42	2,0	3	0,1

* Percentual em relação ao total de amostras colhidas.

QUADRO 5. Resultados laboratoriais aos testes de VIA-IDGA e EITB, Região II, MS

Período	Sub-região	Resultados positivos para as provas de IDGA e EITB														
		6 a 12 meses				13 a 24 meses				Total						
		Total	IDGA+ %*	EITB+ %*	%*	Total	IDGA+ %*	EITB+ %*	%*	Total	IDGA+ %*	EITB+ %*	%*			
Nov/Dez 1995	Aquidauana	149	2	1,3	0	0,0	216	16	7,4	1	0,5	365	18	4,9	1	0,3
	Coxim	67	7	10,4	0	0,0	12	0	0,0	0	0,0	79	7	8,9	0	0,0
	Miranda	22	0	0,0	0	0,0	44	6	13,6	0	0,0	66	6	9,1	0	0,0
	Porto Murtinho	138	0	0,0	0	0,0	180	14	7,8	1	0,6	318	14	4,4	1	0,3
	Rio Verde	63	0	0,0	0	0,0	70	0	0,0	0	0,0	133	0	0,0	0	0,0
	<i>Subtotal</i>	439	9	2,1	0	0,0	522	36	6,9	2	0,4	961	45	4,7	2	0,2
Mai/Jun 1996	Aquidauana	196	4	2,0	1	0,5	140	6	4,3	1	0,7	336	10	3,0	2	0,6
	Coxim	32	0	0,0	0	0,0	20	1	5,0	0	0,0	52	1	1,9	0	0,0
	Miranda	8	0	0,0	0	0,0	16	0	0,0	0	0,0	24	0	0,0	0	0,0
	Porto Murtinho	95	3	3,2	3	3,2	114	5	4,4	2	1,8	209	8	3,8	5	2,4
	Rio Verde	107	0	0,0	0	0,0	123	1	0,8	0	0,0	230	1	0,4	0	0,0
	<i>Subtotal</i>	438	7	1,6	4	0,9	413	13	3,1	3	0,7	851	20	2,4	7	0,8
	Total	877	16	1,8	4	0,5	935	49	5,2	5	0,5	1812	65	3,6	9	0,5

* Percentual em relação ao total de amostras colhidas.

**FIGURA 4.** Resultados positivos ao teste de EITB, acumulados por sub-região, MS

independentemente da época de colheita das amostras.

Aplicação de questionários

Os questionários foram aplicados em 96% das propriedades visitadas, estando os resultados compilados de forma resumida no quadro 6. Em relação ao conhecimento sobre os sinais clínicos da febre aftosa, os entrevistados foram agrupados em três grupos distintos: aqueles que informaram dois ou mais sinais típicos da enfermidade foram agrupados como SIM (conhecimento satisfatório); os que informaram apenas um sinal clínico da enfermidade foram agrupados como INCOMPLETO (conhecimento regular); e aqueles que informaram não conhecer a enfermidade ou informaram sintomatologia errada ficaram agrupados como NÃO (conhecimento insatisfatório). Em relação à questão que teve como objetivo verificar a possível ocorrência clínica da enfermidade na região, foram considerados apenas os entrevistados agrupados nas categorias SIM e INCOMPLETO, sendo as respostas, por sua vez, agrupadas em nove grupos distintos (quadro 6).

Dos entrevistados, 83% revelaram ter um conhecimento satisfatório sobre os sintomas da febre aftosa, 10% mostraram conhecimento parcial e 7% informaram não ter nenhum conhecimento sobre a enfermidade. Aqueles que apresentaram algum conhecimento sobre a doença, quando perguntados sobre a última vez em que viram animais suspeitos de estarem acometidos por febre aftosa, 48% informaram que viram há muito tempo ou há mais de cinco anos, 24% responderam que nunca viram, 15% que não se lembram e 13% observaram animais suspeitos a partir de 1992. Em relação à possibilidade de ocorrências recentes da enfermidade, 4% dos entrevistados com conhecimento sobre a doença afirmaram ter visto animais acometidos nos anos de 1994 e 1995.

DISCUSSÃO

O pantanal sul-mato-grossense, devido às características ecológicas e da produção pecuária existentes, apresenta-se classificado como um

ecossistema endêmico para a febre aftosa. Esse tipo de ecossistema caracteriza-se, entre outros fatores, pelo domínio da cria extensiva de bovinos em grandes propriedades, com a prevalência da exportação de bezerros e novilhos, terminados ou não, e com o agente apresentando-se de forma permanente, quer difundido na maior parte da região, quer limitado a manchas em alguns núcleos pecuários (14). No início da década de 80, com objetivo de estimar o risco potencial de difusão da febre aftosa a partir do pantanal mato-grossense, foi realizado (12) um estudo na região onde foram colhidas 1330 amostras de soro sanguíneo de bovinos distribuídos em 61 boiadas que se deslocavam para outras regiões do país. Os autores encontraram em torno de 40% de animais positivos à prova de VIA-IDGA, sendo que apenas 30% dos bovinos apresentavam níveis de imunidade satisfatórios, e concluíram que o pantanal representava risco para as regiões sob sua influência, tanto pelo fornecimento de fontes de infecção como de animais susceptíveis.

Os resultados do presente estudo evidenciam que os trabalhos em execução na região do pantanal sul-mato-grossense, a partir do início da década de 80, objetivando a erradicação da febre aftosa, permitiram uma redução expressiva da prevalência da enfermidade, com conseqüente diminuição do risco de difusão do agente a partir da região em questão. A campanha de vacinação contra a febre aftosa realizada na região, em particular, tem-se revelado satisfatória no que se refere a redução da viabilidade do agente viral no espaço sob estudo. Entretanto, tendo em vista o objetivo de erradicação da enfermidade, recomenda-se um processo de discussão visando a possibilidade e viabilidade de introdução de mais uma etapa de vacinação na região do pantanal sul-mato-grossense, objetivando o reforço na imunidade em bovinos da faixa etária abaixo de 24 meses. A vacinação anual, apesar da valiosa contribuição revelada, permite a presença de animais desprotegidos, em virtude, principalmente, do nascimento de bovinos entre as etapas de vacinação.

Em relação à realização dos questionários, deduz-se que, apesar de haver um bom nível de

QUADRO 6. Resultados às entrevistas realizadas, região do pantanal, MS, novembro de 1995 a junho de 1996

REGIÃO	Questionários realizados	Conhecimento sobre sintomas da febre aftosa		Última vez em que foi visto animais com suspeita de febre aftosa									
		Sim	Incom.	Não	Há muito tempo	Não se lembra	Nunca viu	Há 5 anos ou mais	Há 10 anos ou mais	Em 1992	Em 1993	Em 1994	Em 1995
REGIÃO I													
Albuquerque	15	14	1	0	2	1	3	3	4	0	2	0	0
Amolar	5	5	0	0	0	0	1	1	3	0	1	0	0
Nabileque	46	36	6	4	2	11	13	0	8	4	1	2	1
Nhecolândia	49	34	8	7	1	8	3	6	19	2	2	1	0
Paiguás	48	36	7	5	1	10	6	10	4	3	5	0	4
<i>Subtotal</i>	163	125	22	16	6	30	25	20	38	9	11	3	5
REGIÃO II													
Aquidauana	44	38	4	2	5	1	16	5	10	4	1	0	0
Coxim	10	9	1	0	4	2	4	0	0	0	0	0	0
Miranda	5	4	1	0	0	0	3	0	1	0	0	1	0
Porto Murtinho	35	31	3	1	1	7	12	5	7	0	0	1	1
Rio Verde	43	41	0	2	1	1	7	7	25	1	0	0	0
<i>Subtotal</i>	137	123	9	5	11	11	42	17	43	5	1	2	1
Total	301	250	31	21	17	41	67	37	81	14	12	5	6

conhecimento sobre os sinais clínicos da enfermidade, ainda existe uma parcela de pelo menos 17% da comunidade que não conhece ou que pode ter seus conhecimentos ampliados. Com referência à possibilidade de ocorrências recentes da enfermidade, preocupa o fato de que alguns entrevistados, mesmo que em pequena parcela, afirmaram ter visto animais suspeitos de estarem acometidos pela febre aftosa mas não comunicaram a suspeita ao Serviço de Defesa Sanitária Animal. Em um processo de erradicação esses fatos têm de ser considerados e trabalhados, evidenciando-se a necessidade de melhoria do sistema de vigilância sanitária local, pois este tem em sua composição a participação da comunidade como elemento fundamental.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho representa um esforço conjunto realizado pelo Departamento de Inspeção e Defesa Agropecuária de Mato Grosso do Sul, IAGRO, e pela Delegacia Federal de Agricultura em Mato Grosso do Sul, DFA/MS. Deve-se destacar os trabalhos dos médicos veterinários Ademar Etiro Mori e Letícia Almeida R.C.M. Paiva e do auxiliar de laboratório Melquesedeque Coura, representantes do Laboratório Central do IAGRO. Em relação aos trabalhos de colheita de amostras e realização de entrevistas destacam-se os médicos veterinários Adenan Kadri, Elvio Patatt Gazola, Eucrécio Pillonetto, Gelson Sandoval Jr., Guaraci Borges Freire, João Batista Cristaldo, Olímpio Massao Katayama, Paulo Sérgio B. Penteado e Vanderlei Ferreira Amorim.

Por fim, deve-se registrar o indispensável apoio do Centro Pan-americano de Febre Aftosa e a valiosa contribuição do médico veterinário, Dr. Ivo Gomes.

REFERÊNCIAS

1. ALONSO, F.A., GOMES, I, BAHNEMANN, H.G. La inducción de anticuerpos anti-VIA en bovinos vacunados y revacunados con vacuna inactivada antiaftosa. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa*, 54: 51 -52, 1988.
2. ALONSO, S., SÖNDAHL, M.S., GIACOMETTI, H., FERREIRA, M.E. Identificación de anticuerpos VIA de la fiebre aftosa. Rio de Janeiro, PANAFTOSA, 1984. (Serie de Manuales Técnicos, 6)
3. BERGMANN, I. E. Uso de la prueba de EITB para identificaciones de áreas con ausencia de actividad viral. *Veterinaria*, (70): 6-20, 1994.
4. BERGMANN, I.E., AUGÉ DE MELLO, P., NEITZERT, E., GOMES, I. Diagnosis of persistent aphthovirus infection and its differentiation from vaccination response in cattle by use of enzyme-linked immunoelectrotransfer blot analysis with bioengineered nonstructural viral antigens. *Am. J. Vet. Research*, 54 (6): 825-831, 1993.
5. BERGMANN, I.E., MALIRAT, V., DIAS, L.E., NEITZERT, E. Identification of foot-and-mouth disease virus-free regions by use of a standartized enzyme-linked immunoelectrotransfer blot assay. *Am. J. Vet. Res.*, 57 (7): 972-974, 1996.
6. BRASIL, A.E., ALVARENGA, S.M. Relevô. In: Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Geografia do Brasil. Região Centro-Oeste. Rio de Janeiro, IBGE, 1989. v. s. 268 p.
7. CENTRO PANAMERICANO DE FIEBRE AFTOSA. El uso de las pruebas del antígeno asociado a la infección por virus (VIA) de la fiebre aftosa. Rio de Janeiro, PANAFTOSA, 1980. (Serie de Monografias Científicas y Técnicas, 6)
8. CENTRO PANAMERICANO DE FIEBRE AFTOSA. Situación de los programas de control de la fiebre aftosa, América del Sur, 1995. Rio de Janeiro, PANAFTOSA, 1996.
9. CONFERÊNCIA INTERNACIONAL SOBRE PERSPECTIVAS PARA A ERRADICAÇÃO DA FEBRE AFTOSA NO PRÓXIMO MILÊNIO E SEU IMPACTO NA SEGURANÇA ALIMENTAR E NO COMÉRCIO: FOCO NAS AMÉRICAS. Brasília, D.F., Brasil, 11-12 de julho de 1996.
10. DEPARTAMENTO DE INSPEÇÃO E DEFESA AGROPECUÁRIA DE MATO GROSSO DO SUL. Portaria/IAGRO/MS 065/95: Normatiza o trânsito de bovinos e bubalinos na região do Pantanal Sul-mato-grossense e dá outras providências. Mato Grosso do Sul, MS, IAGRO, 1995.
11. FIGUEIREDO, A. A propósito do boi. Cuiabá, UFMT, 1994. 226 p.
12. MATHIAS, L.A., MOREIRA, C.E., ROSENBERG, F.J., OBIAGA, J.A. Estudio serológico de fiebre aftosa en bovinos procedentes del Pantanal Matogrossense, Brasil. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa*, 41/42: 3-8, 1981.

13. MAZZA, M.C.M. et al. Etnobiología e conservação do bovino pantaneiro. Mato Grosso do Sul: EMBRAPA-CPAP/SPI, 1994, 61 p.
14. OBIAGA, J. A., ROSENBERG, F.J., ASTUDILLO, V., GOIC, R. Las características de la producción pecuaria como determinantes de los ecosistemas de fiebre aftosa. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa*, 33/34: 33-42, 1979.
15. PLANO INTEGRADO DE DEFESA SANITÁRIA ANIMAL. Atividades. Campanha contra febre aftosa. Cuiabá, 1970. v. 1.
16. REVISÃO DA POLÍTICA E ESTRATÉGIAS DE COMBATE À FEBRE AFTOSA IMPLANTADAS PELO PROJETO DE CONTROLE DAS DOENÇAS DOS ANIMAIS. Brasília, Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. 1992. 34 p.

ABSTRACT

SERUM-EPIDEMIOLOGIC STUDY ON FOOT-AND-MOUTH DISEASE CARRIED OUT IN CATTLE IN THE PANTANAL OF STATE OF MATO GROSSO DO SUL, BRAZIL

To evaluate the combat actions to the foot-and-mouth disease accomplished in the area of the «pantanal» of the State of Mato Grosso do Sul, especially the strategy of employed vaccination, as well as to evaluate the community's knowledge about the characteristics of the disease and your participation in the system of local surveillance, in the period of 1995-1996 a serum-epidemiologic study in the area was

carried out. The «pantanal» was divided in two areas, and cattle between 6 and 24 months of age were being considered. For the laboratory diagnosis the technique of IDAG for the detection of antibodies against the antigen associated to viral infection, and a confirmatory technique of EITB were used. The results show a reduction of the prevalence of illness, being observed a total of 12 animals reagents (0.3%). Therefore, the campaign of annual vaccination against foot-and-mouth disease using vaccines oil adjuvant is considered satisfactory. However, aiming at the eradication of the disease, an evaluation is recommended on the possibility of incorporating in the area one more stage of vaccination, especially to cattle with age below 24 months.

RESUMEN

ESTUDIO SEROEPIDEMIOLÓGICO SOBRE FIEBRE AFTOSA REALIZADO EN BOVINOS EN EL PANTANAL DEL ESTADO DE MATO GROSSO DO SUL, BRASIL

Para evaluar las acciones de combate a la fiebre aftosa en la región del pantanal del Estado de Mato Grosso do Sul, especialmente la estrategia de vacunación empleada, así como estimar el conocimiento de la comunidad sobre las características de la fiebre aftosa y su participación en el sistema de vigilancia local, en el período de 1995 a 1996 se realizó en esa región un estudio seroepidemiológico. El pantanal sud-matogrosense fue dividido en dos regiones, y se consideraron para el estudio

bovinos entre 6 y 24 meses de edad. Para el diagnóstico de laboratorio se utilizaron dos pruebas, en serie, siendo una inicial representada por la técnica de IDGA para la detección de anticuerpos contra el antígeno asociado a la infección viral y como prueba de confirmación, la técnica de EITB. Los resultados indican una reducción de la prevalencia de la enfermedad, observándose un total de 12 animales reaccionantes (0,3%). Por lo tanto, se consideró satisfactoria la campaña de vacunación anual contra la fiebre aftosa realizada utilizando vacuna con adyuvante oleoso. Sin embargo, con el fin de erradicar la enfermedad se recomienda una evaluación sobre la posibilidad de incorporar en la región más una etapa de vacunación dirigida principalmente a los bovinos con menos de 24 meses de edad.

Comunicación breve

OBTENCIÓN DE GLICOPROTEÍNAS DEL VIRUS DE LA ESTOMATITIS VESICULAR PARA IDENTIFICACIÓN DE ANTICUERPOS

Martins, M.A., Gomes, M.P.D., Söndahl, M.S., Alonso, A., López, J.W.

Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (OPS/OMS)

Caixa Postal 589, 20001-970 Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Se describe un método práctico basado en el uso de un detergente no iónico, que se puede remover por diálisis, para la extracción de las glicoproteínas del virus de la estomatitis vesicular con el objeto de ser usadas para la identificación de anticuerpos por la técnica de ELISA.

La estomatitis vesicular (EV) es una enfermedad que afecta bovinos, caprinos, equinos, ovinos, porcinos y otras especies de vertebrados causada por un *Vesiculovirus* de la familia *Rhabdoviridae* (6,15). En 1927 fueron identificados serotipos New Jersey (NJ) e Indiana (IN) (8). Dentro del serotipo IN fueron aisladas numerosas cepas que son agrupadas en los subtipos IN-1, IN-2 e IN-3 (2,4,10). El virus de la estomatitis vesicular (VEV) está compuesto por 64% de proteínas, 20% de lípidos, 13% de carbohidratos y 3% de ácido ribonucleico (ARN) (16). En el virión fue identificado cinco proteínas: L, G, N, NS y M. La proteína G, o glicoproteína (GP) es responsable por la inducción de anticuerpos neutralizantes y por la especificidad de los serotipos (13,16,20). Debido a esto, se investigó diversos métodos de extracción de la GP del virión para utilizar en la producción de antisueros

(11) y en el análisis de las reacciones antígeno-anticuerpo (3,13,20). Para la extracción de las GP se utilizó desde enzimas proteolíticas hasta detergentes (9,19). Mediante el uso de detergentes no iónicos con alta concentración micelar crítica (12,18) es posible extraer las GP del VEV bajo la forma de liposomas (5,18), inmunosomas y virosomas (17).

El procedimiento utilizado en este trabajo para la extracción de GP del VEV para su uso en la identificación de anticuerpos por la técnica ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) es sencillo y práctico. El método usado es una modificación de procedimientos anteriormente descritos (5,11,13,18).

Las cepas de virus NJ-Costa Rica/66, IN-1 Costa Rica/72, IN-2 Salto-Arg/63 e IN-3 Alagoas-Br/64 son inoculadas en monocamadas de células BHK₂₁, clon 13, cultivadas en botellas rodantes con 1.000 DI₅₀ CC, e incubadas a 37°C. Una vez que el efecto citopático se generaliza, se cosecha los cultivos raspando las células aún adheridas y se clarifican por centrifugación a 600 g durante 15 minutos a 4°C. El sobrenadante es centrifugado

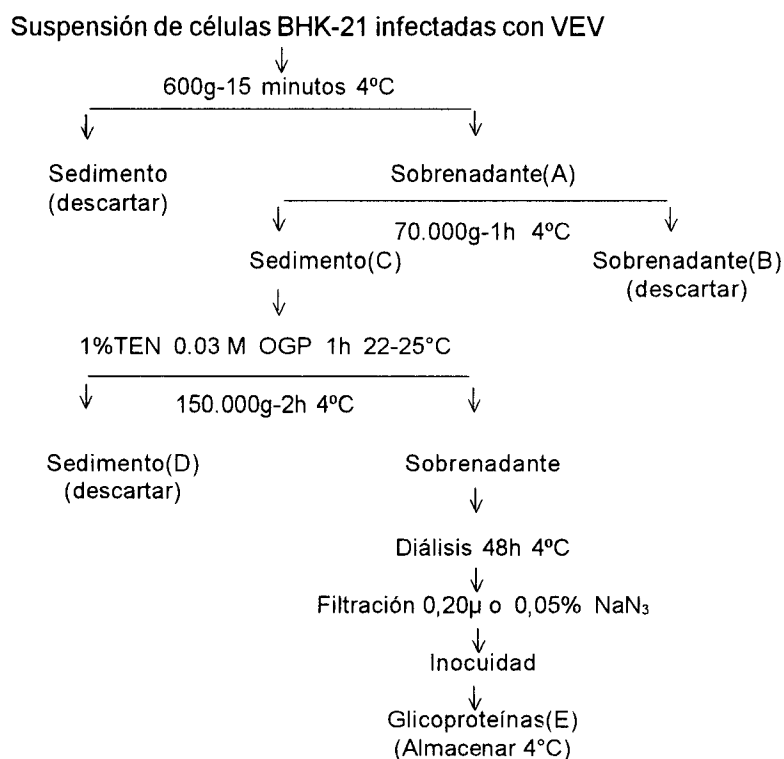
Solicitar separatas al:
Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (OPS/OMS).

a 70.000 g durante 1 hora a 4°C y se utiliza el sedimento, descartando el sobrenadante. El sedimento es resuspendido en medio TEN (Tris 0,05M, EDT 0,002M, NaCl 0,2M, pH 7,5) al 1% del volumen original (v/v). El proceso de solubilización selectiva de las GP se efectúa en reposo, a temperatura de 22 a 25°C, durante 1 hora con OGP 0,03 M. A continuación, la suspensión es centrifugada a 150.000 g durante 2 horas a 4°C y el sobrenadante conteniendo las GP es dializado durante 48 horas a 4°C con dos cambios del

tampón TRIS (Tris 0,01M, ClMg 6H₂O 0,001M, Ditiotreitól 0,0001M y NaN₃ 0,002M, pH 7,5 (18). Las suspensiones de GP pueden ser filtradas en membranas de acetato de celulosa de 0,20 μ ó tratadas con 0,05% NaN₃, y conservadas a 4°C en fracciones de 1 ml, en viales herméticamente cerrados, para impedir la deshidratación y permitir el almacenamiento prolongado.

El proceso de obtención de las GP (cuadro 1) es controlado mediante la tipificación, subtipificación y titulación por fijación del complemento

CUADRO 1. Flujograma de producción de las glicoproteínas de los virus de la estomatitis vesicular, usando el detergente octyl-β-D-glucopiranoside



A,B,C,D,E: etapas del proceso de producción controladas por FC 50%.

50% (FC₅₀) (cuadro 2) de las diferentes muestras obtenidas durante el referido proceso, según las técnicas descritas (1). El grado de pureza de la GP es confirmado por pruebas de electroforesis en gel de poliacrilamida al 12,5% (5, 14, 18) (datos no incluidos).

El cuadro 3 muestra las diluciones que proporcionaron el 50% de reactividad en la

titulación por ELISA "sandwich" indirecta del virión y las GP de las diferentes cepas de VEV analizadas, frente a los antiseros homólogos.

Finalmente, se realizó la prueba de inocuidad de la suspensión de GP, la cual consistió en tres pasajes seriados de 48 horas cada uno, en células BHK₂₁ cultivadas en botellas rodantes. Todas las preparaciones fueron negativas.

CUADRO 2. Título por fijación del complemento 50% de las suspensiones de virus de la estomatitis vesicular durante el proceso de obtención de las glicoproteínas de acuerdo con el flujograma

Fracciones ¹	Antígenos			
	New Jersey	Indiana-1	Indiana -2	Indiana -3
A	1:24 ²	1:12	1:50	1:130
B	1:12	< 1:10	1:20	1:30
C	1:620	1:500	1:500	1:500
D	1:30	< 1:10	< 1:10	1:20
E	1:160	1:100	1:120	1:250

¹Fracciones de las muestras indicadas en el cuadro 1.

²Dilución que proporcionó el 50% de reacción según Spearman-Kärber.

CUADRO 3. Titulación del virión y de las glicoproteínas del virus de la estomatitis vesicular por ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) "sandwich" indirecta

Antígeno	Antígenos			
	New Jersey	Indiana-1	Indiana -2	Indiana -3
Virión	1:148 ¹	1:30	1:40	1:295
Glicoproteína	1:620	1:500	1:500	1:500

¹Dilución que proporcionó el 50% de reacción por interpolación lineal.

CUADRO 4. Inhibición de la neutralización del virus de la estomatitis vesicular en células IB-RS-2 por glicoproteínas New Jersey e Indiana-1 usando sueros hiperinmunes homólogos producidos en cobayos

Dilución de Glicoproteína	Dilución Antisuero Cobayo									
	New Jersey					Indiana-1				
	1/50	1/100	1/200	1/400	1/800	1/50	1/100	1/200	1/400	1/800
1/10	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-
1/30	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-
1/90	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-
1/270	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1/810	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
NO GP	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+ Neutralización.
- Inhibición de la neutralización.

El proceso de extracción conservó la capacidad de las GP reaccionar con anticuerpos neutralizantes de las mismas (13), como fue comprobado por la prueba de inhibición de la neutralización realizada en monocamadas de células IB-RS-2 (7).

Dicha prueba consiste en mezclar en partes iguales diluciones de antisueros de EV con una solución de las GP homólogas e incubar por 1 hora a 37°C. Seguidamente, a cada dilución se agregan 100 DI₅₀ CC de virus por 0,1 ml de la mezcla GP/antisuero y después de incubar agitando por 1 hora a 37°C, las mezclas antisuero/GP/virus son inoculadas sobre monocamadas de células IB-RS-2 y cultivadas en microplacas de 96 pocillos. Transcurridas 48 horas se observa el efecto citopático en las células. Las GP de los virus NJ e Ind-1 inhibieron la neutralización del antisuero homólogo hasta la dilución 1/90 (cuadro 4).

Las GP conservadas a 4°C se mostraron estables por un período superior a cinco años al ser usadas en pruebas de FC₅₀ y ELISA competición fase líquida.

La especificidad, estabilidad e inocuidad mostradas por las GP preparadas a partir de los virus NJ, IN-1, IN-2 e IN-3, así como la capacidad de inducir anticuerpos neutralizantes hacen de ellas un antígeno adecuado para ser utilizado en

estudios serológicos de áreas libres de la EV, permitiendo la realización de las pruebas sin riesgos biológicos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a los compañeros del Laboratorio Central y de Referencia de PANAFTOSA por la ayuda en la realización, preparación y revisión del manuscrito, así como a la señora Verónica Pereira da Costa por la dactilografía del texto.

REFERENCIAS

1. ALONSO, A. Manual de diagnóstico de laboratorio de las enfermedades vesiculares. Rio de Janeiro, Brasil. PANAFTOSA, 1989. (Ser. Man. Did., 15).
2. ALONSO, A., SÖNDAHL, M.S. Antigenic and immunogenic characterization of various strains of the Indiana serotype of vesicular stomatitis isolated in Brazil. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa*, 51: 25-30, 1985.
3. ALLENDE, R., SEPÚLVEDA, L. M., SILVA, A.J. M., MARTINS, M. A., SÖNDAHL, M.S., ALONSO, A. An enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of vesicular stomatitis

- virus antibody. *Prev. Vet. Med.*, 14:293-301, 1992.
4. ANDRADE, C. M., ROZAS, C. E. E., AMORIM, L. M., MOTA, J. P., TEIXEIRA, E. N., SANTOS, N. F. Estomatite vesicular no Brasil: isolamento do virus Alagoas. *An. Microbiol.*, 25: 81-87, 1980.
 5. BISHOP, D. H. L., REPIK, P., OBJESKI, J. F., MOORE, N. F., WAGNER, R. R. Restitution of infectivity to spikeless vesicular stomatitis virus by solubilized viral components. *J. Virol.*, 16: 75-84, 1975.
 6. BROWN, F., CRICK, J. Natural history of the rhabdoviruses of vertebrados and invertebrados. In: Bishop, D.H.L., ed. *Rhabdoviruses*. Boca Raton, Flórida CRC Press, 1979. v.I., p.2-22.
 7. CASTRO, M. P. Behavoir of the foot-and-mouth disease virus in cell cultures: susceptibility of the IB-RS-2 Cell line. *Arch. Inst. Biol., São Paulo*, 31: 63-78, 1964.
 8. COTTON, W. E. Vesicular stomatitis. *Vet. Med.*, 22: 169-175, 1927.
 9. ETCHISON, J. R., SUMMER, D. F. Structure, synthesis and function of the vesicular stomatitis virus glycoprotein. In: *Rhabdoviruses*. Bishop, D.H.L. ed. Boca Raton, Flórida CRC Press, 1979. Vol. 1 P.151-160.
 10. FEDERER, K. E., BURROWS, R., BROOKSBY, J. B. Vesicular stomatitis virus - The relationship between some strains of the Indiana serotype. *Res. Vet. Sci.*, 8: 103-117, 1967.
 11. FERRIS, N. P., DONALDSON, A. I. An enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of vesicular stomatitis virus antigen. *Vet. Microbiol.*, 18: 243-258, 1988.
 12. FINDLAY, J. B. C. Purification of membrane proteins. In: Harris, E.L.V., Angal, S. eds. *Protein purification applications*. A practical approach. Oxford, IRL Press, 1989. v.4, p.59-82.
 13. KELLEY, J. M., EMERSON, S. U., WAGNER, R. R. The glycoprotein of vesicular stomatitis virus is the antigen that gives rise to and reacts with neutralizing antibody. *J. Virol.*, 10: 1231-1235, 1972.
 14. LAEMMLI, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227: 680-685, 1970.
 15. MATTHEWS, R. E. F. Classification and nomenclature of viruses. Fourth report of the international committee on taxonomy of viruses. *Intervirology*, 17:1-3, 1982.
 16. MCSHARRY, J. J., WAGNER, R. R. Lipid composition of purified vesicular stomatitis viruses. *J. Virol.*, 7: 59-70, 1970.
 17. PERRIN, P., THIBODEAU, L., SUREAU, P. Rabies immunosome (subunit vaccine) structure and immunogenicity. Pre-and post-exposure protection studies. *Vaccine*, 3: 325-332, 1985.
 18. PETRI, W. A., WAGNER, R. R. Reconstitution into liposomes of the glycoprotein of vesicular stomatitis virus by detergent dialysis. *J. Biol. Chem.*, 254: 4313-4316, 1979.
 19. WILEY, D. C. Viral membranes. In: Fields, B.N., Knipe, D.M., N. Y., eds. *Fundamental virology*. Raven Press, 1986, v.4, p.45-67.
 20. WILKS, C. R., JENNEY, E. W., HOUSE, J. A. Development of an immunoelectroosmophoresis test for the detection and typing of antibodies to vesicular stomatitis viruses. *Can. J. Comp. Med.*, 48:179-183, 1984.

ABSTRACT

Obtaining of glycoproteins of stomatitis vesicular virus for the identification of antibodies

In this article a practical method is described on the use of a non ionic detergent, that can be removed by dialysis, for the extraction of the glycoproteins of the vesicular stomatitis virus to be used in the identification of antibodies by ELISA's technique.

RESUMO

Obtenção de glicoproteínas do vírus da estomatite vesicular para identificação de anticorpos

Neste trabalho descreve-se um método prático baseado no uso de um detergente não iônico, que pode ser removido por diálise, para a extração das glicoproteínas do vírus da estomatite vesicular para seu uso na identificação de anticorpos pela técnica de ELISA.

Comunicación breve

LA VACUNA ANTIAFTOSA CON ADYUVANTE OLEOSO Y SU POSIBLE INFLUENCIA EN EL DIAGNÓSTICO DE LA TUBERCULOSIS EN BOVINOS

Pedro Torres¹, María Celia Antognoli², Ana Rita Moreira³, Isabel N. de Kantor⁴

¹*Servicio Nacional de Sanidad Animal, Gerencia de Luchas Sanitarias, (GELSA-SENASA)*
Avda. Paseo Colón 367 (1330) Buenos Aires, Argentina

²*Instituto de Bacteriología, CICV/INTA*
Casilla de correo 67 (1708) Morón, Buenos Aires, Argentina

³*E.E.A.INTA*
Casilla de correo 276 (7620) Balcarce, Buenos Aires, Argentina

⁴*Instituto Panamericano de Protección de Alimentos y Zoonosis (INPPAZ/OPS/OMS)*
Casilla de correo 44 (1640) Martínez, Buenos Aires, Argentina

Se investigó la posible influencia de la vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso - aplicada de acuerdo con el Plan Nacional de Erradicación - sobre la respuesta a la tuberculina PPD, y sobre el nivel de anticuerpos séricos anti-Mykobacterium bovis determinado por un enzimoimmunoensayo (ELISA). Se incluyeron 40 bovinos de un establecimiento oficialmente libre de tuberculosis. Se efectuaron dos vacunaciones con seis meses de intervalo, pruebas tuberculínicas y sangrías para ELISA. Las sangrías se realizaron al inicio del estudio, a los cinco días y a los 90 días después de cada vacunación. Los resultados obtenidos en ambas pruebas diagnósticas de tuberculosis, antes y después de dos vacunaciones con vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso no mostraron interferencia de esa vacuna sobre la especificidad de las respuestas tuberculínicas o de los niveles de anticuerpos anti-M.bovis. Se analizó también la presencia de anticuerpos anti-M.paratuberculosis por ELISA, hallándose resultados positivos en 6% de los animales.

Se ha comprobado que la vacuna antiaftosa, con o sin adyuvante oleoso no es causa de falsos resultados negativos en la prueba tuberculínica realizada en bovinos infectados por *Mykobacterium bovis* (4). En una investigación anterior en bovinos libres de tuberculosis se observó que la vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso no influía sobre los resultados de la prueba

tuberculínica ni sobre los niveles de anticuerpos IgG anti-M.bovis (7).

El Plan de Control y Erradicación de la Fiebre Aftosa en Argentina incluye vacunaciones semestrales en bovinos de hasta 12 meses de edad, y anuales en animales adultos. A partir de 1993 se ha iniciado el Plan Nacional de Control y Erradicación de la Tuberculosis Bovina, cuyo método diagnóstico básico es la prueba tuberculínica (11). Desde entonces, algunos productores ganaderos y veterinarios comunicaron al Servicio Nacional de Sanidad Animal (SENASA) la

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

observación de reacciones tuberculínicas transitoriamente positivas luego de dos o más vacunaciones con vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso.

La vacuna antiaftosa es una suspensión de antígenos de los virus de la fiebre aftosa inactivados con un inactivante de primer orden y con adyuvante que consiste de aceite mineral y un emulsificante. Se ha demostrado que el aceite mineral estimula la proliferación de linfocitos y la producción de linfoquinas, además de la respuesta humoral al antígeno. Sus depósitos, luego de vacunaciones repetidas, podrían eventualmente determinar la formación de granulomas, y actuar como estímulos inespecíficos para la respuesta tuberculínica (1,6).

Teniendo en cuenta estos antecedentes, se realizó el presente estudio a fin de determinar si la vacunación repetida de bovinos con adyuvante oleoso podrá inducir reacciones tuberculínicas falsas positivas o influir en el mismo sentido los resultados de un ensayo inmunoenzimático (ELISA) para la detección de IgG anti-*M. bovis*.

Se utilizaron 40 bovinos, hembras pardosuzos de 36 meses de edad promedio al inicio del estudio ubicados en un establecimiento oficialmente libre de tuberculosis. Sesenta días antes de iniciar la experiencia se efectuó una prueba tuberculina ano-caudal a los 40 animales, en la que se constató la ausencia de reactores.

Los animales identificados fueron debidamente asignados a dos grupos, de 20 bovinos cada uno, sin que ello significase separación física entre ambos grupos. El estudio no varió las condiciones habituales de mantenimiento y manejo. El día 0 se vacunaron los 40 bovinos con vacuna antiaftosa oleosa. A los 5 y a los 90 días se hicieron pruebas tuberculínicas ano-caudal al grupo 1, y cervical simple al grupo 2. A los 180 días a partir del día 0, se efectuó una nueva vacunación con vacuna antiaftosa oleosa seguida de pruebas tuberculinas 5 y 110 días después (a 185 y 290 días respectivamente desde el inicio de la experiencia). En la última tuberculinización se empleó la prueba doble comparativa cervical en ambos grupos. Se recolectaron muestras de sangre para ELISA los días 0 y 5 del estudio, y nuevamente a los 90, 180, 185 y 290 días.

Se emplearon tuberculinas PPD bovina y aviar producidas por la Gerencia de Laboratorios

(GELAB) del SENASA: PPD bovina, 1 por GELAB/ SENASA: PPD bovina, 1 mg/ml, series 10 y 44; PPD aviar, 0,5mg/ml, serie 40. Se aplicaron las pruebas tuberculínicas ano-caudal, cervical simple y cervical comparativa, en el cuadro del cuello. Se realizó inoculación intradérmica con 0,1 ml de PPD, y lectura por medición con un cutímetro del grosor de la piel antes y a las 72 horas posinoculación (11).

En la prueba ano-caudal se consideró a un aumento del grosor de la piel igual o mayor a 5 mm como respuesta positiva, entre 3 y 4 mm, respuesta dudosa, y menor de 3 mm como negativa. En la prueba cervical simple se consideró respuesta positiva un aumento del grosor de la piel de 3 mm o más, y negativa cuando fue menor de 3 mm (11). Para la interpretación de la prueba comparativa se consideró reaccionante positivo aquel con 4 mm o más de respuesta a PPD bovino que a PPD aviar (2).

Enzimoimmunoensayo (ELISA) para detección de anticuerpos IgG anti *Mycobacterium bovis*. Las muestras de sangre se obtuvieron por punción de la vena coccígea media. Se efectuó una prueba ELISA con antígeno PPD bovino, de acuerdo con los métodos ya descritos (10).

ELISA para detección de anticuerpos IgG anti-*M. paratuberculosis*. Se efectuó en la última muestra de suero recolectada de cada uno de los 35 animales del estudio, siguiendo los métodos ya descritos (8).

Los resultados de la prueba tuberculínica ano-caudal fueron siempre negativos. En la prueba efectuada 5 días después de la primera vacunación con vacuna antiaftosa oleosa, solo se observó en un animal (n° 637) un aumento de 3 mm en el grosor de la piel, que lo clasificaría como reactor sospechoso. En este animal y en los 19 restantes del grupo 1 no hubo reacción alguna, tanto en la prueba ano-caudal como en la cervical comparativa, realizada a los 290 días del inicio de la experiencia.

Los resultados de la prueba cervical simple (grupo 2) fueron negativos, salvo en los casos y oportunidades que se presentan (cuadro 1) en 13 animales, en los cuales se observaron aumentos

CUADRO 1. Resultados de las pruebas tuberculínicas cervical simple y comparativa, (mm de aumento en el grosor de la piel), en 13 bovinos del grupo 2, que presentaron respuesta, en una o más pruebas después de la vacunación con vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso.

Nº identif. Animal	Días (d) y respuestas (mm)					
	0d ↓	5d	90d	180d ↓	185d	290d(A/B)**
407		5*	1		0	1/0
408		2	0		0	0/0
409		0	4		0	5/0
413		1	2		0	4/0
418		1	0		0	3/0
425		2	5		0	4/0
457		0	4		0	0/0
477		0	0		0	3/1
479		3	0		0	4/1
644		2	0		0	0/0
648		0	0		0	7/4
660		0	4		0	2/0
667		0	4		0	4/4

↓: Aplicación de vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso.

* : mm respuesta PPD bovino.

**A/B: mm respuesta a PPD aviar/PPD bovino.

del grosor de la piel que variaron entre 1 y 5 mm. En la prueba cervical comparativa, estos animales presentaron una respuesta mayor al PPD aviar, por lo que fueron considerados reaccionantes no específicos y clasificados como negativos (2).

En ninguno de estos animales se detectaron anticuerpos anti-*M. bovis* mediante ELISA en la prueba efectuada con muestras de sueros antes de la vacunación con vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso, ni con las muestras obtenidas posteriormente.

En el ELISA para IgG anti-*M. paratuberculosis* resultaron positivos 2 de los 35 bovinos (632 y 644), los cuales fueron negativos a las pruebas tuberculínicas y no presentaron anticuerpos detectables contra *M. bovis*.

De acuerdo con los resultados obtenidos, la vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso, aplicada de acuerdo con las Normas del Plan Nacional de

Erradicación, no interfiere con la especificidad de la prueba tuberculínica ano-caudal, que fue la prueba oficial para el diagnóstico de infección tuberculosa, en el Plan Nacional de Control y Erradicación de la Tuberculosis Bovina en Argentina (11).

Cuando se empleó la prueba cervical simple, que posee una mayor sensibilidad que la prueba ano-caudal, pero también una menor especificidad (3,5,9), aparecieron algunas reacciones relativamente pequeñas, que no mantuvieron consistencia en sucesivas tuberculinizaciones. En la prueba comparativa se comprobó mayor respuesta al PPD aviar en esos animales, por lo que ellos fueron considerados reactores no específicos, y por lo tanto, clasificados como negativos.

Tampoco se manifestó aumento de anticuerpos IgG séricos anti-*M. bovis* después de las vacunaciones con vacuna con adyuvante oleoso,

lo que significa que la vacunación antiaftosa repetidamente aplicada no determinó una respuesta humoral inespecífica al antígeno PPD.

Se observó un 6% de reacciones positivas al ELISA anti-*M. paratuberculosis*. Este ensayo, y la prueba tuberculínica comparativa, son elementos útiles para determinar el posible origen de reacciones pequeñas al PPD bovino (0-5 mm), observadas en la prueba caudal, en animales de rodeos considerados libres de tuberculosis, después de haber aplicado la vacunación con vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso.

Sin embargo, ninguna de estas pruebas poseen especificidad absoluta. Solo el aislamiento por cultivo, del agente etiológico confirmará con certeza el origen de la infección.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Establecimiento Campazú (Vicente Casares) y a su propietaria Sra. Zulema Ibarbia de Porcel por su colaboración, que hizo posible este trabajo.

REFERENCIAS

1. ALLISON, A.C., BYARS, N.E., WATERS, R.V. Immunologic adjuvants efficacy and safety consideration. In: *Advances in carriers and adjuvants for veterinary biologics*. Iowa State University Press, Ames, Iowa, 1984. pp. 91-103.
2. COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES. *Commission report to the Council on the application of plans to accelerate and intensify the eradication of brucellosis, tuberculosis and leukosis in cattle. Comm. 81/611*. Brussels, CEE, 1981.
3. FRANCIS, J., SEILER, R.J.J., WILKIE, I.W., O'BOYLE, D., LUMSDEN, M.J., FROST, M.J. The sensitivity and specificity of various tuberculin tests using bovine PPD and other tuberculins. *Vet. Rec.* 103:420-435, 1978.
4. KANTOR, I.N., MARCHEVSKY, N., LOMBARDO, R. Tuberculosis response related to the administration of foot and mouth disease, brucellosis and rabies vaccines. *Br. Vet. J.* 136:98-100, 1980.
5. KANTOR, I.N., ODEÓN, A.C., STEFFAN, P.E., AUZA, M.J., MADRID, C.R., MARCHEVSKY, N. Sensitivity of the cervical and the caudal fold tests with *M. bovis* in infected cattle in Argentina. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 3:137-150, 1984.
6. Mc KERDER, P.D. Oil adjuvants: their use in veterinary biologics. In: *Advances in carriers and adjuvants for veterinary biologics*. Iowa State University Press, Ames, Iowa, 1984. pp. 15-119.
7. NADER, A., LÓPEZ, B., LÁZARO, L., ERRICO, F., RITACCO, V., GROTTER, C.G., KANTOR, I.N. The administration of foot and mouth disease vaccine with oil adjuvant and its influence on the diagnosis of bovine tuberculosis. *Rev. sci. Off. int. Epiz.*, 11:791-796, 1992.
8. OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES. *Manual of Standards for diagnostic tests and vaccines*, Paris, OIE, 1992. pp. 223-224.
9. ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. Plan de acción para la erradicación de la tuberculosis bovina en las Américas. Washington, D.C., OPS/OMS, 1992. Doc/Tub/113/92.
10. RITACCO, V., LÓPEZ, B., BARRERA, L., NADER, A., FLIESS, E., KANTOR, I.N. Further evaluation of an indirect ELISA for the diagnosis of bovine tuberculosis. *Int. J. Vet. Med. B*, 37:19-21, 1990.
11. SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD ANIMAL. *Plan Nacional de Control y Erradicación de la Tuberculosis Bovina*, Buenos Aires, Argentina, SENASA, 1994.

ABSTRACT

FOOT-AND-MOUTH DISEASE OIL-ADJUVANT VACCINE AND ITS POSSIBLE ROLE IN THE DIAGNOSIS OF TUBERCULOSIS IN CATTLE

The possible influence of a foot-and-mouth disease (FMD) oil-adjuvant vaccine administered according to the National Eradication Programme - on diagnostic tests results for tuberculosis in bovines. Forty animals from a tuberculosis free herd were included in the study. Two vaccinations were

applied with a six months interval. Intradermal PPD tests were performed and serum samples collected at the start of the study, at five days and 90 days after vaccination with FMD oil-adjuvant vaccine. Humoral response was determined by the level of serum-*Mycobacterium bovis* IgG antibodies in an enzyme immunoassay (ELISA). According to results obtained a repeated vaccination with FMD oil-adjuvant vaccine had no apparent influence on the specificity of tuberculin responses nor did it influence the level of anti-*M.bovis* antibodies in cattle. Additionally, the presence of anti-*M.paratuberculosis* antibodies was investigated by ELISA. Positive results were obtained in 6% of tested animals.

RESUMO

A VACINA ANTIAFTOSA COM ADJUVANTE OLEOSO E SUA POSSÍVEL INFLUÊNCIA NO DIAGNÓSTICO DA TUBERCULOSE EM BOVINOS

Investigou-se a possível influência da vacina contra a febre aftosa (FA) –aplicada de acordo com o Plano Nacional de Erradicação- sobre a resposta à tuberculina PPD, e sobre o nível de anticorpos séricos anti-*Mycobacterium bovis* determinado por um ensaio imunoenzimático (ELISA). Foram incluídos 40 bovinos

de um estabelecimento oficialmente livre de tuberculose. Realizaram-se duas vacinações com seis meses de intervalo, provas tuberculínicas e sangrias para ELISA. As sangrias realizaram-se ao início do estudo, aos cinco dias e aos 90 dias depois de cada vacinação. Os resultados obtidos em ambas provas diagnósticas de tuberculose, antes e depois de duas vacinações com vacina com adjuvante oleoso, não indicaram interferência dessa vacina sobre a especificidade das respostas tuberculínicas ou dos níveis de anticorpos anti-*M.bovis*. Analizou-se também a presença de anticorpos anti-*M.paratuberculosis* por ELISA, encontrando-se resultados positivos em 6% dos animais.

RESÚMENES

ABSTRACTS

AMADORI, M., VOLPE, G., DEFILIPPI, P., BERNERI, C.

Biologicals, 25 (1): 65-73, 1997. Istituto Zooprofilattico Sperimentale, Department of Vaccine Research and Development, via A. Bianchi 7, 25124 Brescia, Italia.

Aspecto fenotípico de células BHK-21 usadas para la producción de vacuna antiaftosa

Se produjeron células BHK-21 clon 13 de la cepa Brescia 38 en monocamadas y en cultivos en suspensión y luego fueron infectadas con virus de la fiebre aftosa (VFA). Todas las células mostraron buena viabilidad, pero la cepa del virus producida en células en suspensión en pasajes con niveles elevados fueron muy degradadas tras la inactivación con aceridina. Luego las células fueron examinadas para comprobar la aparición de integrinas en la superficie. Las células en cultivos en suspensión fueron sujetas a un control de caída en la expresión de las integrinas alfa5, alfa6 y alfaV. Estas estructuras pueden influenciar en el acoplamiento del virus hospedero. La reducción en la expresión de integrina fue relacionada con la falta de fibras estrés actuantes. Se piensa que éstas podrían jugar un rol en la formación de la cápside viral. Se concluye que la degradación de la cepa del VFA puede ocurrir durante la inactivación cuando se utilizan pasajes elevados de células BHK-21 clon 13 en suspensión.

Phenotypic features of BHK-21 cells used for production of foot-and-mouth disease vaccine

BHK-21 c13, strain 38 Brescia cells were grown in monolayer and suspension cultures and then infected with foot-and-mouth disease (FMD) virus. All cells exhibited good viability, but the virus progeny produced in suspension cells at high passage levels was largely degraded following inactivation with aziridine. Cells were then tested for surface expression of integrins. Those in suspension culture were subject to a downregulation in the expression of alpha5, alpha6 and alphaV integrins. These structures are thought to play a role in virus-host binding. The reduction in integrin expression was correlated with a lack of actin stress fibres. These are thought to play a role in viral capsid formation. It is concluded that degradation of FMD viral progeny may occur during inactivation when using high passage level BHK-21 c13 cells in suspension.

ARMSTRONG, R.M.

J. Virol. Meth., 63 (1-2): 175-180, 1997. Institute for Animal Health, Pirbright Laboratory, Ash Road, Pirbright, Woking, Surrey GU24 0NF, UK.

Desarrollo de pruebas para anticuerpos contra el virus de la fiebre aftosa en bovinos lecheros

Pares de muestras de leche y suero fueron recolectadas de bovinos Holstein de Israel, a los 2,5, 6 y 12 meses después de inmunización con una

Development tests for antibodies against foot-and-mouth disease virus in cattle milk

Paired milk and serum samples were collected from Israeli Holstein cattle 2.5, 6 and 12 months after immunization with a multivalent vaccine (including type O1). Paired milk and serum

vacuna polivalente (incluyendo el tipo O1). Pares de muestras de leche y suero también fueron recolectadas de bovinos de Israel y Turquía entre 4 y 1 mes, respectivamente, tras infección. Estos animales habían sido inmunizados con vacunas multivalentes en varias ocasiones. Muestras de 55 bovinos Friesian-Holstein en el Reino Unido fueron usadas como controles sin vacunación. Muestras de leche fueron examinadas por ELISA de bloqueo en fase líquida y una prueba de isotipo específico para IgG1 modificado para detectar anticuerpos contra aftovirus tipo O1 Manisa en la leche. La ELISA de fase líquida no distinguió bovinos vacunados de controles negativos pero el 90% de las muestras de leche de bovinos convalecientes fueron positivas. La prueba de isotipo específico detectó 95% de los bovinos hasta 12 meses después de la vacunación y 100% de los animales convalecientes. Por lo tanto, ambas pruebas podrían ser usadas en encuestas en brotes de fiebre aftosa para identificar rebaños infectados, pero la prueba de isotipo específico podría ser necesaria para detectar animales vacunados. Muestras de bovinos convalecientes mostraron la elevada correlación entre niveles de anticuerpos en la leche y en el suero. Hubo además una elevada concordancia entre animales recientemente vacunados, pero disminuyó con el tiempo después de la inmunización, aunque aún hubo una fuerte correlación de niveles de IgG1 después de 6 meses.

samples were also collected from Israeli and Turkish cattle about 4 and 1 month, respectively, after infection. These animals had also been immunized with multivalent vaccines on several occasions. Samples from 55 Friesian-Holstein cattle in the UK were used as non-vaccinated controls. Milk samples were examined by a liquid-phase blocking ELISA and a specific isotype assay for IgG1 modified to detect antibodies against aphthovirus isolate O1 Manisa in milk. The liquid phase ELISA could not distinguish vaccinated from negative control cattle but 90% of milk samples from convalescent cattle were positive. The specific isotype assay detected 95% of cattle for up to 12 months after vaccination and 100% of convalescent animals. Both tests could, therefore, be used in surveillance following an outbreak of foot-and-mouth disease to identify infected herds, but the specific isotype assay would be required to detect vaccinated animals. Samples from convalescent cattle showed the highest correlation between antibody levels in milk and in serum. Agreement was also high among recently vaccinated animals, but decreased with time after immunization, although there was still a strong correlation of IgG1 levels after 6 months.

ARMSTRONG, R.M.

J. Virol. Meth., 69(1-2): 45-51, 1997. Institute for Animal Health, Pirbright Laboratory, Ash Road, Pirbright, Woking, Surrey GU24 0NF, UK.

Detección de anticuerpos contra el virus de la fiebre aftosa en ovejas lecheras

Fue utilizada la prueba ELISA de bloqueo en fase líquida (LPBE) y también un ensayo de isotipo específico (SIA) modificado para IgG1 e IgG2 de caprinos/ovinos para detectar anticuerpos contra el virus O1 Manisa de la fiebre aftosa (FA) aislado en muestras de leche de ovejas. La mayoría de las muestras de animales vacunados 14-23 semanas antes fueron indistinguibles de ovejas no afectadas cuando examinadas por LPBE, pero 97% fueron positivas usando el SIA. Todas las muestras de leche tomadas a los 7 días después del parto de

The detection of antibodies against foot-and-mouth disease virus in sheep milk

The liquid-phase blocking ELISA (LPBE) and a specific isotype assay (SIA) modified for caprine/ovine IgG1 and IgG2 were used to detect antibodies against foot and mouth disease (FMD) virus isolate O1 Manisa in sheep milk samples. The majority of samples from animals vaccinated 14-23 weeks previously were indistinguishable from native sheep when tested in the LPBE but 97% were positive using the SIA. All milk samples taken at 7 days after parturition from immunized animals were positive by LPBE. Thereafter, this proportion de-

animales inmunizados fueron positivas por LPBE. Posteriormente esta proporción disminuyó, aunque fueron detectados reactores ocasionales en cada etapa hasta los 83 días. Sin embargo, cuando se calculó la media de títulos para cada etapa de muestreo después del parto, los resultados fueron solo positivos para los primeros 18 días para esta prueba. Al contrario, por SIA fue posible detectar casi todos (97%) los animales vacunados hasta los 83 días después del parto. Todas las muestras de leche de animales convalecientes dieron resultados positivos en las pruebas. Ovejas Sicilo-Sarde dieron en media títulos más elevados que los de la raza Commisane en situaciones comparables después del parto. Se concluye que ambas pruebas podrían ser utilizadas con el propósito de realizar muestreos tras un brote de FA para identificar rebaños de ovejas que habían sido infectadas, pero el SIA sería necesario para mostrar la presencia de animales vacunados, a menos que les tomasen muestras poco después del parto.

clined, although occasional reactors were detected at every stage up to 83 days. However, when mean titres were calculated for every sampling point after lambing, results were only positive for the first 18 days in this test. By contrast, the SIA was able to detect almost all (97%) of the vaccinated animals up to 83 days after parturition. Milk samples from convalescent animals all gave positive results in the assays. Sicilo-Sarde sheep gave higher titres on average than the Commisane breed at comparable stages after lambing. It is concluded that both tests could be used for surveillance purposes following an outbreak of FMD to identify flocks of sheep which had been infected, but the SIA would be required to show the presence of vaccinated animals unless they were sampled soon after parturition.

CARVALHO, D., RIEDER, E., BAXT, B., RODARTE, R., TANURI, A., MASON, P.W.,
J. Virol., 71 (7): 5115-5123, 1997. Plum Island Animal Disease Center, Agricultural Research Service, North Atlantic Area, U.S. Department of Agriculture, Greenport, NY 11944, USA.

Adaptación en cultivo de tejido de virus de fiebre aftosa selecciona virus que se acoplan a heparina y son atenuados en bovinos

Dos preparaciones diferentes de aftovirus serotipo O1 Campos contenían dos variantes con morfologías precisas de placas sobre células BHK: una placa pequeña de virus claro que replica en células BHK y CHO, y una grande, de virus turbio que solo crece en células BHK. ADNc que codifica las cápsides de estas dos variantes fueron introducidos a lo largo de un genoma de ADNc infeccioso de virus de fiebre aftosa (VFA) tipo A12 y usado para producir virus imaginarios con el fenotipo de las variantes originales. Análisis de estos virus y de híbridos creados por pedazos cambiantes del gen de la cápside, identificaron el codón 56 en VP3 (3056) como el determinante crítico del tropismo celular y placa de fenotipo. Especialmente, el crecimiento de células CHO en placa de fenotipo clara depende de la presencia de una carga

Tissue culture adaptation of foot-and-mouth disease virus selects viruses that bind to heparin and are attenuated in cattle

Two different aphthovirus serotype O1 Campos preparations contained 2 variants with distinct plaque morphologies on BHK cells: a small, clear-plaque virus that replicates in BHK and CHO cells, and a large, turbid-plaque virus that only grows in BHK cells. cDNAs encoding the capsids of these 2 variants were inserted into a genome-length foot-and-mouth disease virus (FMDV) type A12 infectious cDNA and used to produce chimeric viruses with the phenotype of the original variants. Analysis of these viruses, and hybrids created by exchanging portions of the capsid gene, identified codon 56 in VP3 (3056) as the critical determinant of both cell tropism and plaque phenotype. Specifically, the CHO growth/clear-plaque phenotype depends on the presence of the highly charged Arg residue at 3056, and viruses with this phenotype and genotype were selected during propagation in

elevada del residuo Arg en 3056, y los virus con este fenotipo y genotipo fueron seleccionados durante la propagación en cultivo de tejidos. El virus recombinante Arg 3056 fue altamente atenuado en bovinos, pero los virus recuperados de animales inoculados con elevadas dosis de este virus no crecieron en células CHO y contenían o un residuo sin carga en 3056 o un Glu cargado negativamente sustituido por un Lys en una posición espacial y antigénciamente relacionada a VP2 (2134). La comparación de estos virus provenientes de animales con otros virus naturales y recombinantes mostró que los residuos cargados positivamente son necesarios en 2134 y 3056 para acoplarse a heparina. Estos resultados indican que el cultivo in vitro de aftovirus tipo O selecciona los virus que se acoplan a heparina y que los virus con fenotipo con heparina acoplada son atenuados en hospedero natural.

tissue culture. The recombinant Arg 3056 virus was highly attenuated in cattle, but viruses recovered from animals inoculated with high doses of this virus did not grow in CHO cells and contained either an uncharged residue at 3056 or a negatively charged Glu substituted for a Lys at a spatially and antigenically related position on VP2 (2134). Comparison of these animal-derived viruses to other natural and recombinant viruses showed that positively charged residues are required at both 2134 and 3056 for binding to heparin. These results indicate that in vitro cultivation of aphthovirus type O selects viruses that bind to heparin and that viruses with the heparin-binding phenotype are attenuated in the natural host.

CURRY, S., FRY, E., BLAKEMORE, W., ABU-GHAZALEH, R., JACKSON, T., KING, A., LEA, S., NEWMAN, J., STUART, D.

J. Virol., 71 (12): 9743-9752, 1997. Pirbright Laboratory, Institute for Animal Health, Pirbright, Surrey GU24 0NF, UK.

Análisis del rol del VP0 partido y empaquetamiento del ARN en la estabilización de la cápside de picornavirus: la estructura de cápsides vacías del virus de la fiebre aftosa

La estructura de cápsides vacías de virus de la fiebre aftosa (VFA) tipo A22 Iraq 24/64 fue investigada usando cristalografía de rayos X. Estas cápsides son poco usuales en los picornavirus puesto que ellos contienen VP2 y VP4, productos partidos de la proteína precursora VP0. Se encontró que tanto el extremo N del VP1 como el extremo C del VP4, que empaquetan junto al eje del icosaedro con una simetría de tres veces donde tres pentámeros se asocian, son más desordenados en la cápside vacía que en el virus conteniendo ARN. El ordenamiento de estos extremos en presencia de ARN refuerza interacciones dentro de un único promotor y entre promotores pertenecientes a diferentes pentámeros. El desorden en la cápside vacía del VFA forma un subgrupo de aquel visto en la cápside vacía del poliovirus, el cual tiene VP0 intacto. Por lo tanto, el VP0 partido confiere estabilidad en la

Dissecting the roles of VP0 cleavage and RNA packaging in picornavirus capsid stabilization: the structure of empty capsids of foot-and-mouth disease virus

The structure of empty capsids of foot-and-mouth disease virus (FMDV) type A22 Iraq 24/64 was investigated using X-ray crystallography. These capsids are unusual for picornaviruses since they contain VP2 and VP4, the cleavage products of the protein precursor VP0. It was found that both the N terminus of VP1 and the C terminus of VP4, which pack together close to the icosahedral threefold symmetry axis where three pentamers associate, are more disordered in the empty capsid than they are in the RNA-containing virus. The ordering of these termini in the presence of RNA strengthens interactions within a single promoter and between promoters belonging to different pentamers. The disorder in the FMDV empty capsid forms a subset of that seen in the poliovirus empty capsid, which has VP0 intact. Thus, VP0 cleavage confers stability on the picornavirus capsid over and above that attributable to RNA encapsidation. In both FMDV and

cápside de los picornavirus por encima de la atribuible a la encapsidación del ARN. Tanto en las cápsides vacías del VFA como del poliovirus, el desorden interno encubre una histidina conservada que ha sido propuesta para ser involucrada al VP0 partido. Una comparación de los supuestos sitios activos en los VFA y polio sugiere una explicación estructural para la especificidad de la secuencia de la reacción de corte.

poliovirus empty capsids, the internal disordering uncovers a conserved histidine which has been proposed to be involved in the cleavage of VP0. A comparison of the putative active sites in FMDV and poliovirus suggests a structural explanation for the sequence specificity of the cleavage reaction.

DAS, B.R., PATTNAIK, B., VENKATARAMANAN, R., RAI, D.V.

Acta Virologica, 41 (3): 131-138, 1997. Central Foot-and-Mouth Disease Virus Laboratory, Indian Veterinary Research Institute, Mukteswar-Kumaon, Nainital, U.P. 263138, India.

Escape de mutantes de virus de fiebre aftosa seleccionado por anticuerpos monoclonales dirigidos a la neutralización de un epítoto sensible a la tripsina

En este estudio se utilizaron cinco anticuerpos monoclonales (AcMs) contra la cepa de referencia de virus de fiebre aftosa (VFA) de India para la vacuna antiaftosa de virus subtipo A22 (IND17/77) y un anticuerpo de cobayo contra un péptido sintético representando los aminoácidos 136-151 del polipéptido VP1 del virus A22. Todos los anticuerpos o fallaron a reaccionar o mostraron una reacción reducida al tratamiento con tripsina de las partículas 146S en la prueba ELISA, y neutralizaron la infectividad del virus de referencia. Los anticuerpos fueron identificados como específicos a un lugar antigénico del virus neutralizable sensible a la tripsina. Usando los anticuerpos se aislaron mutantes que mostraron poca o reducida reacción con los anticuerpos homólogos y heterólogos en ELISA. Los mutantes no fueron neutralizados con los respectivos anticuerpos pero fueron eficientemente neutralizados con suero de bovinos vacunados. Se concluye que los anticuerpos producidos en bovinos después de la vacunación los protegieron adecuadamente contra mutantes seleccionados y que el lugar antigénico neutralizable sensible a la tripsina del VFA A22 puede no ser dominante para producir respuesta de anticuerpo neutralizante.

Escape mutants of foot-and-mouth disease virus selected by monoclonal antibodies directed to a trypsin-sensitive neutralization epitope

Five monoclonal antibodies (MAbs) against Indian reference/vaccine strain of foot-and-mouth disease (FMD) virus subtype A22 (IND17/77) and a guinea pig antibody against a synthetic peptide representing amino acids 136-151 of VP1 polypeptide of A22 virus were used in the study. All antibodies either failed to react or showed a reduced reactivity with trypsin-treated-146 S virus particles in ELISA, and could neutralize the infectivity of the reference virus. The antibodies were identified as specific to a trypsin-sensitive neutralizable antigenic site of the virus. Using the antibodies, mutants were isolated which showed no or reduced reactivity with the homologous and heterologous antibodies in ELISA. The mutants could not be neutralized with the respective antibodies but were efficiently neutralized with serum from vaccinated cattle. It is concluded that the antibodies elicited in cattle after vaccination protected them adequately against the mutants selected and that the trypsin-sensitive neutralizable antigenic site of FMD A22 virus may not be dominant in eliciting a neutralizing antibody response.

DIEGO, M. de, BROCCHI, E., MACKAY, D., SIMONE, F. de, De DIEGO, M., De SIMONE, F.

Arch. Virol., 142(10): 2021-2033, 1997. Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia, Brescia, Italia.

La poliproteína no estructural 3ABC del virus de la fiebre aftosa como un antígeno para diagnóstico en ELISA para diferenciar bovinos infectados de vacunados

Se realizó una prueba de diagnóstico para diferenciar anticuerpos producidos por infección con virus de la fiebre aftosa (VFA) de aquellos producidos por vacunación. Se utilizó una prueba ELISA indirecta la cual usa anticuerpos monoclonales para atrapar el polipéptido no estructural 3ABC del VFA expresado en *E. coli*. Fueron examinados sueros experimentales y de campo de bovinos no afectados, vacunados e infectados. Utilizando el parámetro ("threshold") establecido de 0,20 unidades de densidad óptica, la sensibilidad de la prueba fue de 100%, pues los 137 sueros de bovinos experimentalmente infectados dieron valores más elevados que este "threshold", independiente del serotipo de VFA usado para la inoculación. Al contrario, más de 99% de los sueros de animales vacunados fueron negativos (225 de 228 primovacunasiones y 159 de 159 multivacunaciones). También se confirmó un elevado grado de especificidad al hallarse que 99,5% (442 de 444) de los sueros de animales no infectados dieron resultados negativos. Se comprobó seroconversión contra 3ABC a los 8 días después de la infección y se encontraron niveles demostrables de anticuerpos específicos de 3ABC por lo menos un año después de la infección. Se concluye que ELISA-3ABC es segura, barata y fácil de realizar en encuestas serológicas de larga escala. Se sugiere que la alta especificidad y sensibilidad hacen de esta prueba una herramienta ideal para las campañas de erradicación y los programas de control de la fiebre aftosa.

The non-structural polyprotein 3ABC of foot-and-mouth disease virus as a diagnostic antigen in ELISA to differentiate infected from vaccinated cattle

A diagnostic assay to differentiate antibodies induced by foot-and-mouth disease virus (FMDV) infection from those induced by vaccination was developed. The test is an indirect-trapping ELISA which uses a monoclonal antibody to trap the non-structural 3ABC-FMDV polipeptide expressed in *E. coli*. Experimental and field sera from naive, vaccinated and infected cattle were examined. Using the established threshold of 0.20 optical density units, the sensitivity of the assay was 100%, as all 137 sera from experimentally infected cattle gave values greater than this threshold, irrespective of the FMDV serotype used for the infection. In contrast, more than 99% of sera from vaccinated animals were negative (225 out of 228 primo-vaccinates and 159 out of 159 multi-vaccinates). A high degree of specificity was also confirmed by the finding that 99.5% (442 out of 444) of sera from naive animals gave negative results. Serum conversion against 3ABC was first detected 8 days after infection and demonstrable levels of 3ABC specific antibodies were detectable at least 1 year after infection. It is concluded that the 3ABC-ELISA is safe, cheap and easy to perform in large scale serological surveys. It is suggested that the high specificity and sensitivity makes this test an ideal tool for foot-and-mouth disease eradication campaigns and control programmes.

FEIGELSTOCK, D.A., MATEU, M.G., VALERO, M.L., ANDREU, D., DOMINGO, E., PALMA, E.L.

Vaccine, 14 (2): 97-102, 1996. Instituto de Biotecnología, CICV, cc77 INTA, 1708 Morón, Buenos Aires, Argentina.

Variantes emergentes de virus de la fiebre aftosa con sustituciones de aminoácidos antigénicamente críticas pronosticadas por modelos de estudios usando virus de referencia

Uno de los mayores obstáculos para diseñar vacunas antivirales críticas es la frecuente generación de variantes antigénicas de virus en el campo. Los tipos de variantes que se tornarán dominantes durante brotes de enfermedad generalmente impredecible. Sin embargo, aquí informamos sobre la caracterización genética y antigénica de variantes de virus de la fiebre aftosa (VFA) emergentes con sustituciones antigénicamente críticas de aminoácidos pronosticadas por modelos de estudio usando virus de referencia y anticuerpos monoclonales. Las nuevas variantes pertenecen al serotipo C y han ocasionado algunos brotes recientes de enfermedad en Argentina. Las variantes albergan sustituciones de aminoácidos antigénicamente drásticas en cada uno de los sitios antigénicos identificados en el VFA. En particular, una sustitución encontrada en un sitio principal (sitio A, el ojal G-H del VP1) había sido varias veces seleccionada en virus resistentes a la neutralización por anticuerpos mono y policlonales. La asociación de reemplazos críticos de aminoácidos en posiciones pronosticadas con nuevos brotes de FA tiene varias implicaciones para la epidemiología de la FA y para el diseño de vacunas para controlar enfermedades causadas por virus de ARN muy variables.

Emerging foot-and-mouth disease virus variants with antigenically critical amino acid substitutions predicted by model studies using reference viruses

One of the major obstacles to the design of effective antiviral vaccines is the frequent generation of antigenic viral variants in the field. The types of variants that will become dominant during disease outbreaks is often unpredictable. However, here we report the genetic and antigenic characterization of emerging foot-and-mouth disease virus (FMDV) variants with antigenically critical amino acid substitutions predicted by model studies using reference viruses and monoclonal antibodies. The new variants belong to serotype C and have caused a number of recent disease outbreaks in Argentina. The variants harbor antigenically drastic amino acid substitutions in each of the antigenic sites identified in FMDV. In particular, a substitutions found at a major antigenic site (site A, the G-H loop of VP1) had been repeatedly selected in viruses resistant to neutralization by monoclonal and polyclonal antibodies. The association of critical amino acid replacements at predicted positions with new FMD outbreaks has a number of implications for FMD epidemiology and for the design of vaccines intended to control diseases caused by highly variable RNA viruses.

LEIPPERT, M., BECK, E., WEILAND, F., PFAFF, E.

J. Virol. 71 (2): 1046-1051, 1997. Federal Research Centre for Virus Diseases of Animals, Paul-Ehrlich-Strasse 28, D-72076 Tübingen, Germany.

Puntos de mutación dentro del ojal beta-G-betaH del virus de la fiebre aftosa O1K afectan el acoplamiento de virus a células blanco

La secuencia aminoácido Arg-Gli-Asp (RGD) es una región altamente conservada localizada en la proteína PID en la mayoría de los

Point mutations within the betaG-betaH loop of foot-and-mouth disease virus O1K affect virus attachment to target cells

The amino acid sequence Arg-Gly-Asp (RGD) is a highly conserved region located on the PID protein of most sero- and subtypes of foot-and-mouth disease virus (FMDV) and participates in

sero- y subtipos del virus de la fiebre aftosa (VFA) y participa en el acoplamiento del VFA a las células blanco. Para investigar el rol de la secuencia RGD en la infección de células por VFA, 13 mutaciones dentro o junto a la secuencia RGD del virus tipo O1Kaufbeuren fueron designadas usando un plásmido de ADNc de longitud completa. "Transfección" de células BHK21 con ARNc copiado in vitro conteniendo mutaciones que bordean la secuencia RGD produjo virus infectante en la mayoría de los casos. Casi todas las mutantes conteniendo cambios dentro de la secuencia RGD produjeron partículas virales no infectantes indistinguibles de virus tipo salvaje por la microscopía electrónica. Para mostrar que estas progenies no infecciosas de mutantes de RGD fueron escasas solo en su adsorción a la célula, los respectivos ARNc fueron "cotransfectados" junto con un ARNc indicando el tipo salvaje de la proteína P1. Las partículas de virus resultantes fueron capaces de infectar células BHK-21. Estos resultados muestran la importancia de la secuencia RGD en el acoplamiento de VFA a células y también enfatiza el efecto de otros aminoácidos que bordean la región.

binding of FMDV to target cells. To further investigate the role of the RGD sequence in FMDV infection of cells, 13 mutations within or near the RGD sequence of virus type O1Kaufbeuren were designed by using a full-length cDNA plasmid. Transfection of baby hamster kidney cells (BHK-21) with in vitro-transcribed cRNAs containing mutations bordering the RGD sequence produced infectious virus in most cases. Almost all of the mutants containing changes within the RGD sequence produced non-infectious viral particles indistinguishable from wild-type virus by electron microscopy. To show that these non-infectious progeny from the RGD mutants were defective only in their cell adsorption, the respective cRNAs were cotransfected together with a cRNA expressing the wild-type P1 protein. The resulting virus particles were able to infect BHK-21 cells. These results show the importance of the RGD sequence in FMDV binding to cells but also emphasize the effect of other amino acids in the bordering region.

LUBROTH, J., GRUBMAN, M.J., BURRAGE, T.G., NEUMAN, J.F.E., BROWN, F.

Vaccine, 4 (5): 419-427, 1996. Animal and Plant Health Service, US Department of Agriculture, Plum Island Animal Disease Center, P.O. Box 848, Greenport, NY 11944, USA.

Ausencia de la proteína 2C de vacunas antiaftosa clarificadas produce la base para diferenciar animales convalecientes de vacunados

Recientemente informamos que bovinos y cerdos que habían sido vacunados contra la fiebre aftosa pueden ser diferenciados de animales convalecientes por la ausencia de anticuerpos para la proteína viral no estructural 2C (Lubroth & Brown, Res. Vet. Sci., 59: 70-78, 1995). En este estudio mostramos que la ausencia de anticuerpos 2C de los sueros de animales vacunados puede explicarse por la asociación de esta proteína viral con el filamento celular que es separado del crecimiento del virus antes de la inactivación del sobrenadante para producción de vacuna. Este marcador serológico puede ser de gran importancia en países donde la enfermedad ocurre o en reglamentos veterinarios

Absence of protein 2C from clarified foot-and-mouth disease virus vaccines provides the basis for distinguishing convalescent from vaccinated animals

We have recently reported that cattle and pigs which have been vaccinated against foot-and-mouth disease can be distinguished from convalescent by the absence of antibodies to viral non-structural protein 2C (Lubroth and Brown, Res. Vet. Sci., 1995, 59, 70-78). In this study, we show that the absence of 2C antibodies from the sera of vaccinated animals can be explained by the association of this viral protein with cellular debris which is separated from the virus harvest prior to inactivation of the supernatant for vaccine production. This serological marker can be of great value in countries where the disease occurs or in the veterinary regulatory arena when livestock are transported across

cuando el ganado es transportado a través de fronteras, pues puede ser usado para identificar animales convalecientes, persistentemente infectados y vacunaciones expuestas a variantes de virus salvajes que han infectado los animales vacunados.

borders, since it can be used to identify convalescent, persistently infected animals and vaccinates exposed to wild-type virus variants which have infected the vaccinated animals.

MARTÍNEZ, M.A., VERDAGUER, N., MATEU, M.G., DOMINGO, E.

Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 94 (13): 6798-6802, 1997. Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa" (CSIC-UAM), Universidad Autónoma de Madrid, 28049 Canto Blanco, Madrid, España.

Evolución esencial subvertiendo: dispensa del acoplamiento de células del modelo Arg-Gli-Asp in múltiples pasajes de virus de la fiebre aftosa

Los aftovirus usan un trío Arg-Gli-Asp conservado para acoplamiento a células hospederas y se cree que este modelo es esencial para la viabilidad del virus. Se ha informado que este trío —que es también un modelo ampliamente diseminado involucrado en la adhesión célula-a-célula— puede tornarse dispensable en la evolución a corto plazo de que el virus lo albergue. El virus de la fiebre aftosa (VFA), que fue multiplicado por pasajes in cultivo celular, mostró un repertorio alterado de variantes antigénicas resistentes a un anticuerpo monoclonal neutralizante. El repertorio alterado incluye variantes con sustituciones en el modelo Arg-Gli-Asp. Mutantes sin esta secuencia replicaron normalmente en cultivos celulares y fueron indistinguibles del virus pariente. Estudios con clones individuales de VFA indican que reemplazos de aminoácidos en la superficie de la cápside ubicada alrededor del anillo portador del trío Arg-Gli-Asp puede mediar en la dispensa de este modelo. Los resultados muestran que cuasiespecies de VFA que evolucionan en un medio biológico constante tienen la capacidad de hacer totalmente dispensable un modelo de reconocimiento receptor previamente invariable, y asegurar un camino alternativo para la producción normal de virus. Por lo tanto, la variación de modelos altamente conservados, aun aquellos en los cuales los virus fueron adaptados de modelos celulares funcionales, pueden contribuir para la flexibilidad fenotípica del ARN viral en la naturaleza.

Evolution subverting essentiality: dispensability of the cell attachment Arg-Gly-Asp motif in multiply passaged foot-and-mouth disease virus

Aphthoviruses use a conserved Arg-Gly-Asp triplet for attachment to host cells and this motif is believed to be essential for virus viability. It is reported that this triplet —which is also a widespread motif involved in cell-to-cell adhesion— can become dispensable upon short-term evolution of the virus harbouring it. Foot-and-mouth disease virus (FMDV), which was multiply passaged in cell culture, showed an altered repertoire of antigenic variants resistant to a neutralizing monoclonal antibody. The altered repertoire includes variants with substitutions at the Arg-Gly-Asp motif. Mutants lacking this sequence replicated normally in cell culture and were indistinguishable from the parental virus. Studies with individual FMDV clones indicate that amino acid replacements on the capsid surface located around the loop harbouring the Arg-Gly-Asp triplet may mediate in the dispensability of this motif. The results show that FMDV quasispecies evolving in a constant biological environment have the capability of rendering totally dispensable a receptor recognition motif previously invariant, and to ensure an alternative pathway for normal viral replication. Thus, variability of highly conserved motifs, even those that viruses have adapted from functional cellular motifs, can contribute to phenotypic flexibility of RNA viruses in nature.

MASON, P.W., PICONNE, M.E., McKENNA, S.C., CHINSANGARAM, J., GRUBMAN, M.J.

Virology, New York, 227 (1): 96-102, 1997. ARS, Plum Island Animal Disease Center, US Department of Agriculture, P.O. Box 848, Greenport, NY 11944, USA.

Evaluación de una vacuna antiaftosa de virus vivo atenuado como vacuna candidata

Novillos Hereford de 9-12 meses de edad fueron inoculados con una variante atenuada del aftovirus, A12-LLV, sin la región líder (L) que codifica la cepa pariente salvaje (107 UFP por vía subcutánea), A12-IC (107 UFP por vía subcutánea) o A12-CI purificada e inactivada por BEI en gradiente de sacarosa emulsificado 9:1 en aceite mineral (2 mug vía intramuscular). Los grupos de cada tratamiento y uno de control sin inocular fueron mantenidos en establos separados y comprobados por pasaje de virus virulento en bovinos (2 x 10⁵ dosis infectante bovino por inoculación vía intradermolingual) a los 35-36 días después de la inoculación. Los bovinos vacunados con A12-LLV desarrollaron anticuerpos neutralizantes sin signos clínicos a los 4 días de la inoculación; los controles en contacto no seroconvirtieron. Después de la comprobación, 2 de los 3 bovinos inoculados desarrollaron signos leves de infección, sin lesiones. El tercer animal desarrolló lesiones menos severas que las del control sin inocular que mostró fiebre aftosa (FA) clásica. Todos los bovinos inoculados con A12-CI tuvieron fiebre y dos presentaron lesiones típicas de FA; el control en contacto seroconvirtió, indicando transmisión de la enfermedad por contacto. Los bovinos inoculados con A12-CI y el control en contacto fueron protegidos frente al desafío. Los bovinos inoculados con el virus inactivado no desarrollaron signos clínicos y presentaron anticuerpos neutralizantes; el control en contacto no seroconvirtió. Después del desafío ninguno de los bovinos vacunados desarrolló lesiones, uno tuvo fiebre y el control en contacto desarrolló FA.

Evaluation of a live-attenuated foot-and-mouth disease virus as a vaccine candidate

Hereford steers (9-12 months old) were inoculated with an attenuated variant aphthovirus, A12-LLV, lacking the leader (L) coding region (107 pfu s.c.), the wild-type parent strain, A12-IC (107 pfu s.c.) or sucrose gradient-purified BEI-inactivated A12-CI emulsified 9:1 in mineral oil (2 mug i.m.). The groups from each treatment and one uninoculated control were kept in separate rooms and challenged with the virulent cattle-passaged virus (2 X 10⁵ cattle infectious doses by intradermal inoculation into the tongue) 35-36 days after inoculation. A12-LLV-inoculated cattle developed neutralizing antibodies without clinical signs by 4 days after inoculation; the in-contact control did not seroconvert. After challenge 2 of 3 inoculated cattle developed mild signs of infection without lesions. The third animal developed less severe lesions than the uninoculated control which showed classic foot-and-mouth disease (FMD). All cattle inoculated with A12-CI developed a fever, 2 had typical lesions of FMD; the in-contact control seroconverted, indicating disease transmission by contact. The A12-CI-inoculated cattle and the in-contact control were protected from challenge. Cattle inoculated with the inactivated virus did not develop clinical signs and showed a neutralizing antibody response; the in-contact control did not seroconvert. After challenge none of the vaccinated cattle developed lesions, one developed a fever and the in-contact control developed FMD.

MEYER, R.F., BABCOCK, G.D., NEWMAN, J.F.E., BURRAGE, T.G., TOOHEY, K., LUBROTH, J., BROWN, F.

J. Virol. Meth., 65 (1): 33-43, 1997. USDA-APHIS-FADDL, Plum Island Animal Disease Center, P.O. Box 848, Greenport, NY 11944, USA.

Baculovirus expresado en 2C del virus de la fiebre aftosa posibilitaría la diferenciación de animales convalecientes de vacunados

Proteínas no estructurales 2C y 3D de virus de la fiebre aftosa fueron expresadas en células de insecto infectadas con baculovirus recombinante portadoras de genes individuales que codifican las proteínas. Pruebas de serología y microscopía mostraron que 2C fue retenida en las membranas de células de insecto mientras que 3D fue excretada en el sobrenadante. Ambas proteínas reaccionaron con muestras de sueros de animales convalecientes y vacunados, mientras que 2C no reaccionó con muestras de suero de animales vacunados. Se concluyó que 2C recombinante es un antígeno adecuado en pruebas para diferenciar animales convalecientes de vacunados.

Baculovirus expressed 2C of foot-and-mouth disease virus has the potential for differentiating convalescent from vaccinated animals

Foot-and-mouth disease virus non-structural proteins 2C and 3D were expressed in insect cells infected with recombinant baculoviruses carrying the individual genes coding for the proteins. Serology and electron microscopy showed that 2C was retained on the insect cell membranes while 3D was excreted into the supernatant. Both expressed proteins reacted with serum samples from convalescent and vaccinated animals whereas 2C did not react with serum samples from vaccinated animals. It was concluded that recombinant 2C is a suitable antigen for tests to differentiate convalescent from vaccinated animals.

O'DONNELL, V.K., SMITSAART, E., CETRA, B., DUFFY, S., FINELLI, J., BOYLE, D., DRAGHI, G., FONDEVILA, N., SCHUDEL, A.A.

Rev. Sci. Tech., 16 (3): 833-840, 1997. Instituto de Virología, Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, CC77, Morón (1708), Prov. de Buenos Aires, Argentina.

Detección de antígeno asociado a la infección viral y de anticuerpos 3D en bovinos vacunados contra la fiebre aftosa

Se investigó la respuesta de anticuerpos para la proteína 3D y el antígeno asociado a la infección viral (VIAA) del virus de la fiebre aftosa inducido por diferentes vacunas en un grupo de 51 terneros. Fueron usadas las pruebas de inmunodifusión en gel de agar (IDGA) y una prueba ELISA tipo "sandwich" de bloqueo en fase líquida para los anticuerpos anti-3D (ELISA-3D). No se comprobaron anticuerpos anti-VIAA o anti-3D tras la vacunación inicial. Luego de la revacunación a los 120 días, los animales con resultados positivos fueron detectados por ambos métodos. Esta respuesta inmunitaria desapareció a los 60-120 días posrevacunación (DPR) utilizando el método de IDGA y a los 90-180 DPR cuando se usó la prueba ELISA-3D. No se aisló virus de muestras de líquido

Detection of virus infection-associated antigen and 3D antibodies in cattle vaccinated against foot and mouth disease

The antibody response to protein 3D and the virus infection-associated antigen (VIAA) of foot and mouth disease virus (FMD) virus induced by different vaccines in a group of 51 calves was investigated. Agar gel immunodiffusion (AGID) and a liquid-phase blocking sandwich ELISA for anti-3D antibodies (ELISA-3D) were used. No anti-VIAA or anti-3D antibodies were detected after the initial vaccination. Following revaccination 120 days later, animals giving positive results were detected by both methods. This immune response disappeared 60-120 days after revaccination (dprv) according to the AGID method, and 90-180 dprv when ELISA-3D was used. The virus was not isolated from samples of oesophageal-pharyngeal fluid obtained from animals that remained positive

esofágico-faríngeo obtenido de animales que permanecieron positivos para anticuerpos anti-VIAA a los 90-120 DPR, lo que indicó que la respuesta de anticuerpos de transición producida por la vacuna se debió a la presencia de antígenos no estructurales en la vacuna y no a la infección viral. Se sugiere que el método ELISA-3D podría ser usado como una prueba complementaria para estudios seroepidemiológicos como un indicador indirecto de actividad viral, siempre que se tome en consideración la edad y el estado de vacunación de los animales examinados.

for anti-VIAA antibodies at 90-120 dprv, indicating that the transitional antibody response induced by the vaccine was due to the presence of non-structural antigens in the vaccine and not to viral infection. It is suggested that the ELISA-3D method could be used as a complementary method for sero-epidemiological studies as an indirect indicator of viral activity, as long as the age and vaccination status of the animals being sampled are taken into consideration.

SILBERSTEIN, E., KAPLAN, G., TABOGA, O., DUFFY, S., PALMA, E.

Arch. Virol., 142(4): 795-805, 1997. Instituto de Biología, Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias, INTA, cc 77, 1708 Morón, Buenos Aires, Argentina.

Bovinos infectados pero no vacunados contra la fiebre aftosa desarrollan anticuerpos contra la proteína recombinante no estructural 3AB1

Vacunas antiaftosa producen anticuerpos contra proteínas estructurales y algunas no estructurales presentes en preparaciones de vacuna. Animales infectados y vacunados contra la fiebre aftosa fueron diferenciados usando un nuevo ensayo inmunoquímico capaz de detectar anticuerpos contra una proteína no estructural del virus de la fiebre (VFA). La proteína recombinante no estructural 3AB1 fue desarrollada en *Escherichia coli* y en células de insecto y usada para detectar anticuerpos anti-3AB1. Análisis de ELISA y Western blot mostraron que sueros de bovinos infectados con VFA reaccionaron con la proteína recombinante 3AB1, mientras que sueros de bovinos que habían sido vacunados contra la fiebre aftosa, imitando infección, o infectados con diferentes virus bovinos no reconocieron la proteína 3AB1. Por otro lado, anticuerpos del antígeno asociado a la infección viral antiviral (VIAA) fueron encontrados en animales infectados y vacunados contra la fiebre aftosa. La detección de anticuerpos anti-3AB1 en sueros de bovinos infectados experimentalmente obtenidos entre 7 y 560 días después de la infección indicaron que pruebas inmunológicas basadas en la detección de la proteína recombinante 3AB1 podrían ser usadas para el diagnóstico de la infección por VFA.

Foot-and-mouth disease virus-infected but not vaccinated cattle develop antibodies against recombinant 3AB1 nonstructural protein

Foot-and-mouth disease (FMD) vaccines induce antibodies against structural and some nonstructural proteins present in vaccine preparations. FMDV-infected and vaccinated animals, were differentiated using a novel immunochemical assay capable of detecting antibodies against an FMDV nonstructural protein. Recombinant nonstructural 3AB1 protein was expressed in *Escherichia coli* and in insect cells and used to detect anti-3AB1 antibodies. ELISA and Western blot analysis showed that sera from cattle infected with FMDV reacted with recombinant 3AB1 protein whereas sera from cattle which had been vaccinated against FMDV, mock-infected, or infected with different bovine viruses did not recognize the 3AB1 protein. In contrast, anti-virus infection associated antigen (VIAA) antibodies were present in both FMDV-infected and vaccinated animals. Detection of anti-3AB1 antibodies in sera of experimentally infected cattle obtained between 7 and 560 days after infection indicated that immunological tests based on detection of recombinant 3AB1 protein could be used for the diagnosis of FMDV infection.

SUTMÖLLER, P., WRATHALL, A.E.

Prev. Vet. Med., 32(1-2): 111-132, 1997. Pan American Foot-and-Mouth Disease Center, Caixa Postal 589, 20001-970, Rio de Janeiro, Brasil.

Una evaluación cuantitativa del riesgo de transmisión de fiebre aftosa, lengua azul y estomatitis vesicular por transferencia de embriones en bovinos

Los riesgos de transmisión de enfermedades asociados al transporte internacional de embriones fueron evaluados usando embriones oriundos de una región subtropical de Brasil, donde ocurre fiebre aftosa, lengua azul y estomatitis vesicular. Para el análisis, el escenario de riesgo fue dividido en tres fases. La primera fase incluyó la posibilidad de que la contaminación por embriones depende de la situación de la enfermedad en el país exportador y/o región, del estado de salud de los rebaños y de las vacas donantes de las cuales los embriones son recolectados, y de las características patogénicas del agente especificado. La segunda fase cubrió el riesgo de atenuación por el uso de estándares internacionalmente aceptados para el procesamiento de embriones, y la tercera fase englobó la reducción de riesgo resultante de encuestas después de la recolección en las donantes y de los rebaños donantes, y también de las pruebas realizadas en fluidos de recolección de embriones para el agente de enfermedad. El análisis cuantitativo mostró que el riesgo de transmisión de fiebre aftosa y estomatitis vesicular por embriones es de <1 en 100 billones (10-11) y 1 en 100 millones (10-8), respectivamente. Los valores para lengua azul fueron 1 en 30,000 (10-4,2) cuando los embriones fueron recolectados en la estación del vector y 1 en 1 millón (10-6,0) en la estación con baja actividad del vector. Estos valores de riesgo fueron influenciados por la incidencia de cada enfermedad en la región de origen y la facilidad con la cual los signos clínicos pueden ser reconocidos.

A quantitative assessment of the risk of transmission of foot-and-mouth disease, bluetongue and vesicular stomatitis by embryo transfer in cattle

The risks of disease transmission associated with international transport of embryos were assessed using embryos originating from a sub-tropical area of Brazil where foot-and-mouth disease, bluetongue and vesicular stomatitis are known to occur. The risk scenario pathway was divided into 3 phases for analysis. The first phase included the potential for embryo contamination which depends on the disease situation in the exporting country and/or region, the health status of the herds and the donor cows from which the embryos are collected, and the pathogenetic characteristics of the specified disease agent. The second phase covered risk mitigation by use of internationally accepted standards for processing embryos, and the third phase encompassed the risk reductions resulting from post-collection surveillance of the donors and donor herds, and also from testing of embryo-collection (flushing) fluids for the disease agent. Quantitative risk analysis showed that the risk of transmission of foot-and-mouth disease and vesicular stomatitis by embryos is <1 in 100 billion (10-11) and 1 in 100 million (10-8), respectively. The values for bluetongue were 1 in 30,000 (10-4.2) when embryos were collected in the vector season and 1 in 1 million (10-6.0) in the season with low vector activity. These risk values were influenced by the incidence of each disease in the area of origin and the ease with which clinical signs can be recognised

VERDAGUER, N., FITA, I., DOMINGO, E., MATEU, M.G.

J. Virol., 71 (12): 9813-9816, 1997. Centre de Investigació i Desenvolupament (CSIC), Jordi Girona 6, 08028 Barcelona, España.

Neutralización eficiente del virus de la fiebre aftosa por acoplamiento de anticuerpo monovalente

El clon C-S8c1 del virus de la fiebre aftosa (VFA) fue neutralizado por el anticuerpo monoclonal (AcM) SD6, que fue dirigido hacia un epítoto continuo dentro de un sitio antigénico principal del ojal G-H de la proteína capsídica VP1. En una base molar, el fragmento Fab fue por lo menos cinco veces menos activo en la neutralización que el anticuerpo intacto, y ambos bloquearon el acoplamiento a células. Tanto el anticuerpo como el fragmento Fab no provocaron agrupación de viriones, como fue evidenciado por estudios de sedimentación en gradiente de sacarosa del complejo anticuerpo-virus formado en el anticuerpo para tasas de viriones de 1:50 a 1:10.000. Los resultados de neutralización de infectividad y de ultracentrifugación son muy consistentes con los datos estructurales basados en estudios cristalográficos de rayos X y en microscopio crioelectrónico, los cuales mostraron interacción monovalente del anticuerpo con un receptor crítico de acoplamiento del modelo Arg-Gli-Asp. Se concluye que el acoplamiento bivalente de anticuerpo no es un requisito para una fuerte neutralización de los aftovirus y que la agrupación de partículas virales, propuesta para ser el mecanismo dominante de neutralización de anticuerpos que acoplan de forma monovalente a viriones, no es necesaria para la neutralización del C-S8c1 del VFA por el AcM SD6.

Efficient neutralization of foot-and-mouth disease virus by monovalent antibody binding

Foot-and-mouth disease virus (FMDV) clone C-S8c1 was neutralized by monoclonal antibody (MAb) SD6, which was directed to a continuous epitope within a major antigenic site of the G-H loop of capsid protein VP1. On a molar basis, the Fab fragment was at most fivefold less active in neutralization than the intact antibody, and both blocked virus attachment to cells. Neither the antibody nor the Fab fragment caused aggregation of virions, as evidenced by sucrose gradient sedimentation studies of the antibody-virus complex formed at antibody to virion ratios of 1:50 to 1:10,000. The results of neutralization of infectivity and of ultracentrifugation are fully consistent with structural data based on X-ray crystallographic and cryoelectron microscopy studies, which showed monovalent interaction of the antibody with a critical receptor binding motif Arg-Gly-Asp. It is concluded that bivalent binding of antibody is not a requisite for strong neutralization of aphthoviruses and that aggregation of viral particles, which has been proposed to be the dominant neutralization mechanism of antibodies that bind monovalently to virions, is not necessary for the neutralization of FMDV C-S8c1 by Mab SD6.

YU, P., HABTEMARIAM, T., WILSON, S., ORYANG, D., NGANWA, D., OBASA, M., ROBNETT, V.

Prev. Vet. Med., 30 (1): 49-59, 1997. Center for Computational Epidemiology, School of Veterinary Medicine, Tuskegee University, Tuskegee.AL 36088, USA.

Un modelo de evaluación de riesgo de introducción de virus de la fiebre aftosa a través de la importación de carne deshuesada

Se diseñó un modelo de evaluación de riesgo para medir el riesgo de introducción de virus de la fiebre aftosa (VFA) asociado con la importación de carne deshuesada. El modelo fue desarrollado de acuerdo con los procedimientos de reducción de riesgo propuestos por la Comunidad Europea para la importación de carne. Los procedimientos de reducción de riesgo incluyen inspección en los establecimientos, inspecciones ante- y post-mortem, enfriamiento y deshuesado. La evaluación de riesgo fue basada en la prevalencia de bovinos infectados por FA en rebaños, así como la prevalencia de rebaños infectados en el país exportador. Se realizó la simulación en computadora para evaluar la probabilidad de introducción de VFA por la importación de 100 toneladas de carne deshuesada en relación con la prevalencia de la FA, el número de bovinos seleccionados de cada rebaño, y el tamaño de las muestras en las inspecciones ante- y post-mortem. Fueron examinados los efectos de procedimientos de reducción de riesgo sobre la probabilidad de introducción de VFA.

A risk-assessment model for foot and mouth disease (FMD) virus introduction through deboned beef importation

A risk-assessment model to assess risk of introduction of foot and mouth disease (FMD) virus associated with deboned beef importation was designed. The model was developed in accordance with the risk-reduction procedures proposed by the European Community for meat importation. The risk reduction procedures include farm-level inspection, ante-mortem inspection, post-mortem inspection, chilling and deboning. The risk assessment was based on the prevalence of FMD-infected cattle in herds as well as the prevalence of infected herds in the exporting country. Computer simulation were carried out to evaluate the probability of FMD virus introduction by importing 100 tonnes of deboned beef in relation to FMD prevalence, number of cattle selected from each herd, and sample sizes in the ante-mortem and post-mortem inspections. The effects of the risk-reduction procedures on the probability of FMD virus introduction was examined.

Reconocimientos

El Comité Editorial agradece el aporte de Maria da Penha Monteiro da Silva y Perla Vaccaro (edición y revisión), y Astrid Rocha Pimentel (bibliografías).

Acknowledgements

The Editorial Committee is grateful to Maria da penha Monteiro da Silva and Perla Vaccaro (editing and proofreading), and Astrid Rocha Pimentel (bibliography).

BIBLIOGRAFÍA SOBRE ENFERMEDADES VESICULARES

BIBLIOGRAPHY ON VESICULAR DISEASES

- ARAÚJO Jr., J.P., MONTASSIER, H.J., PINTO, A.A. Liquid-phase blocking sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibodies against foot-and-mouth disease in water buffalo sera. *Am. J. Vet. Res.*, 57(6): 840-843, 1996. Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Distrito de Rubião Jr., Botucatu, SP, 186 18-000, Brasil.
- ARMSTRONG, R.M. Development of tests for antibodies against foot and mouth disease virus in cattle milk. *J. Virol. Method.*, 63(1): 175-180, 1997. Institute for Animal Health, Pirbright Laboratory, Ash Road, Pirbright, Woking Surrey GU24 0NF, UK.
- ASTUDILLO, V., CANE, B.G., GEYMONAT, D., SATHLER, A.B., GARAY ROMAN, S., SUTMOLLER, P., GIMENO, E.J. Risk assessment and risk regionalisation, based on the surveillance system for foot and mouth disease in South America. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 16(3): 800-808, 1997. Pan American Foot and Mouth Disease Centre (PANAFTOSA). Caixa Postal 589, CEP 20001-970, Rio de Janeiro, RJ, Brazil.
- ASTUDILLO, V., SUTMOLLER, P., SARAIVA, V., LOPEZ, A. Risks of introducing foot and mouth disease through the importation of beef from South America. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 16(1): 33-44, 1997. Pan American Foot and Mouth Disease Centre (PANAFTOSA). Caixa Postal 589, CEP 20001-970, Rio de Janeiro, RJ, Brazil.
- BARNETT, P.V., PULLEN, L., STAPLE, R.F., LEE, L.J., BUTCHER, R., PARKINSON, D., DOEL, T.R. A protective anti-peptide antibody against the immunodominant site of the A₂₄ Cruzeiro strain of foot-and-mouth disease virus and its reactivity with other subtype viruses containing the same minimum binding sequence. *J. Gen. Virol.*, 77(5): 1011-1018, 1996. Institute for Animal Health, Pirbright Laboratory, Ash Road, Pirbright, Woking, Surrey GU24 0NF, UK.
- BECKER, Y. Computer simulations to identify in polyproteins of FMDV OK1 and A12 strains. Putative nonapeptides with amino acid motifs for binding to BoLA class I and A11 and A20 haplotype molecules. *Virus Genes*, 14(2): 123-129, 1997. Department of Molecular Virology, Institute of Microbiology, Faculty of Medicine, Hebrew University of Jerusalém, Jerusalém, Israel.
- BENGIS, R.G. Animal health risks associated with the transportation and utilisation of wildlife products. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 16(1): 104-110, 1997. State Veterinarian, Kruger national Park, P.O. Box 12, 1350 Skukuza, South Africa.
- BERGMANN, I.E., MALIRAT, V., AUGÉ DE MELLO, P., GOMES, I. Detection of foot-and-mouth disease viral sequences in various fluids and tissues during persistence of the virus in cattle. *Am. J. Vet. Res.*, 57(2): 134-137, 1996. Pan American Foot-and-Mouth Disease Center, P.O. Box 589, 20001-970 Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

- BHAT, M.N., MANICKAM, R. Foot and mouth disease virus infection associated (VIA) antibodies in wild herbivores. *Indian Vet. J.*, 74 (10): 827-829, 1997. Department of Preventive Veterinary Medicine, Madras Veterinary College, Madras 600 007, India.
- BLACKSELL, S.D., CAMERON, A.R., CHAMNANPOOD, C., CHAMNANPOOD, P., TATONG, D., MONPOLSIRI, M., WESTBURY, H.A. Implementation of internal laboratory quality control procedures for the monitoring of ELISA performance at a regional veterinary laboratory. *Vet. Microbiol.*, 51 (1-2): 1-9, 1996. CSIRO Australian Animal Health Laboratory, P.O. Bag 24, Geelong, Victoria 3220, Australia.
- BLANCOU, J. Les anciennes methodes de surveillance et de control de la fievre aphteuse. [Early methods of surveillance and control for foot and mouth disease]. *Rev. Med. Vet.*, 148 (5): 389-398, 1997. Office International des Epizooties, 12 rue de Prony, F-75017 Paris, France.
- BOHM, H., KAADEN, O.R., CZERNY, C.P., EICHHORN, W. Viral zoonoses and food and animal origin: a re-evaluation of possible hazards for human health. *Arch. Virol, Supplement*, 13: 256, 1997.
- BROWN, C.C., PICCONE, M.E., MASON, P.W., MCKENNA, T.S.-C., GRUBMAN, M.J. Pathogenesis of wild-type and leaderless foot-and-mouth disease virus in cattle. *J. Virol.*, 70 (8): 5638-5641, 1996. Plum Island Animal Disease Center, ARS, USDA, P.O. Box 848, Greenport, NY 11944, USA.
- BUECHEN-OSMOND, C., DALLWITZ, M. Towards a universal virus database - progress in the ICTVdB. *Arch. Virol.*, 141 (2): 392-399, 1996. Research School of Biological Sciences, The Australian National University, Canberra, Australia.
- CALLENS, M., DE CLERCQ, K. Differentiation of the seven serotypes of foot and mouth disease virus by reverse transcriptase polymerase chain reaction. *J. Virol. Meth.*, 67 (1): 35-44, 1997. National Institute for Veterinary Research, Groeselenberg 99, B-1180 Brussels (Ukkel), Belgium.
- CAPOZZO, A.V.E., PERIOLO, O.H., ROBIOLO, B., SEKI, C., TORRE, J.L., GRIGERA, P.R. Total and isotype humoral responses in cattle vaccinated with foot and mouth disease virus (FMDV) immunogen, produced either in bovine tongue tissue or in BHK-21 cell suspension cultures. *Vaccine*, 15 (6-7): 624-630, 1997. Centro de Virologia Animal (CEVAN-CONICET), Serrano 669-1414, Capital Federal, Buenos Aires, Argentina.
- CARRERAS, F.F. Libre de fiebre aftosa con vacunación. [Free from foot and mouth disease due to vaccination]. *Rev. Med. Vet., Buenos Aires*, 78 (3): 154-155, 1997.
- CASAL, J., MORESO, J.M., PLANAS CHUCHI, E. Simulated airborne spread of Aujeszky's disease and foot and mouth disease. *Vet. Rec.*, 140 (26): 672-676, 1997. Department of Veterinary Medicine and Animal Production, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Catalonia, Spain.
- CASAS OLASCOAGA, R. Convênio Internacional de Erradicação da Febre Aftosa na Bacia do Rio da Prata. *A Hora Vet.*, 16 (91): 43-48, 1996. Centro Panamericano de Febre Aftosa, Caixa Postal 589, 20001-970 Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

- CHANG, T.C., CHANG, C.C., TSAI, S.S., CHANG, G.N., KUO, M., CHUNG, W.B. An outbreak of foot and mouth disease in pigs in southern Taiwan. *J. Chinese Soc. Vet. Med.*, 23 (3): 269-273, 1997. Department of Veterinary Medicine, National Pingtung Polytechnic Institute. Pingtung, Taiwan, China.
- CHITRAVEL, V., PADMARAJ, A., SAYEED, S.A., KORUTH, J., RAMESH, R. Antibody response in Danish Jersey heifers to foot-and-mouth disease vaccine. *Indian J. Animal Sci.*, 67 (7): 550-552, 1997. Institute of Veterinary Preventive Medicine, Ranipet, Tamil Nadu, Andhra Pradesh 632 402, India.
- CHOU, C.C., YANG, P.C., HSU, S.Y., YEN, C.C., DONG, H.D., CHU, R.M., FUH, T.H. Risk assessment of the importation of chilled or frozen beef from Argentina. *J. Chinese Soc. Vet. Sci.*, 23 (6): 556-565, 1997. Department of Veterinary Medicine, National Taiwan University, Taipei, Taiwan.
- CHU, R.M., YANG, P.C., CHENG, I.C. Review: foot and mouth disease. *J. Chinese Soc. Vet. Sci.*, 23 (6): 477-491, 1997. Department of Veterinary Medicine, National Taiwan University, Taipei, Taiwan.
- CLELAND, P.C., BALDOCK, F.C., CHAMMANPOOD, P., GLEESON, J.L. Village level risk factors for foot-and-mouth disease in northern Thailand. *Prev. Vet. Med.*, 26 (3/4): 253-261, 1996. CSIRO Australian Animal Health Laboratory, P.O. Bag 24, Geelong, Vic. 3220, Australia.
- CORSO, B. Likelihood of introducing selected exotic disease to domestic swine in the continental United States of America through uncooked swill. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 16 (1): 199-206, 1997. United States of Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service, Veterinary Services, Centers for Epidemiology and Animal Health, 555 South Howes Street, Fort Collins, Colorado 80521, USA.
- D'ANGELO, M., RODRIGUES, M.A. la R. Amitraz effects on foot-and-mouth disease virus in mammalian cells *in vitro*. *Ecotoxicology Environm. Safety*, 33 (2): 163-167, 1996. In: *Vet. Bull.*, 66 (10): 6766, 1996. Instituto Biológico, Caixa Postal 7119, 01064-970, São Paulo, SP. Brasil.
- DEKKER, A., TERPSTRA, C. Prevalence of foot-and-mouth disease antibodies in dairy herds in the Netherlands four years after vaccination. *Res. Vet. Sci.*, 61 (1): 89-91, 1996. Department of Porcine and Exotic Viral Diseases, ID-DLO, P.O. Box 65, 8200 AB Lelystad, The Netherlands.
- DONALDSON, A.I. Foot and mouth disease in Taiwan. *Vet. Rec.*, 140 (15): 407, 1997. Institute for Animal Health, Pirbright Laboratory, Woking, Surrey GU24 0NF, UK.
- DONALDSON, A.I. Risks of spreading foot and mouth disease through milk and dairy products. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 16 (1): 117-124, 1997. Institute for Animal Health, Pirbright Laboratory, Pirbright, Woking, Surrey GU24 0NF, UK.
- DUNN, C.S., DONALDSON, A.I. Natural adaption to pigs of a Taiwanese isolate of foot and mouth disease virus. *Vet. Rec.*, 141 (7): 174-175, 1997. Institute for Animal Health, Pirbright Laboratory, Woking, Surrey GU24 0NF, UK.
- DURICIC, B., BODIROGA, J. Upotreba persicetne kiseline (Peral-S) u dezinfekciji kod pojave slinavke i sapa. [The use of peracetic acid (Peral-S) as disinfectant against foot and mouth disease virus. *Veterinarski – Glasnik*, 51 (3-4): 173-176, 1997. Katedra za zarazne bolesti zivotinja i bolesti pcela, Veterinarski fakultet, Beograd, Yugoslavia.

- FAREZ, S., MORLEY, R.S. Potential animal health hazards of pork and pork products. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 16(1): 65-78, 1997. Animal and Plant Health Risk Assessment Network, Canadian Food Inspection Agency, 3851 Fallowfield Road, Nepean, Ontario K2H 8P9, Canada.
- FEIGELSTOCK, D.A., MATEU, M.G., VALERO, M.L., ANDREU, D., DOMINGO, E., PALMA, E.L. Emerging foot-and-mouth disease virus variants with antigenically critical amino acid substitutions predicted by model studies using reference viruses. *Vaccine*, 14 (2): 97-102, 1996. Instituto de Biotecnología, CICV, cc77 INTA, 1708 Morón, Buenos Aires, Argentina.
- FONDEVILLA, N., O'DONELL, V., DUFFY, S., LEON, E., SMITSAART, E., SCHUDEL, AA. Indicadores seroepidemiológicos para la evaluación de las campañas de control de fiebre aftosa. [Sero-epidemiological indicators for evaluating foot and mouth disease control campaigns]. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 16(3): 748-792, 1997. Instituto de Virología, Centro de Investigaciones en Ciencias Veterinarias (CICV), Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), C.C. 77, (1708) Moron, Argentina.
- FOWLER, M.E. Husbandry and diseases of captive wild swine and peccaries. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 15 (1): 141-154, 1996. Department of Medicine and Epidemiology, School of Veterinary Medicine, University of California-Davis, 427 Cabrillo Avenue, Davis, CA 95616-8737, USA.
- FOWLER, M.E. Husbandry and diseases of camelids. *Rev. sci. tech. Off. Epiz.*, 15 (1): 155-169, 1996. Department of Medicine and Epidemiology, School of Veterinary Medicine, University of California-Davis, 427 Cabrillo Avenue, Davis, CA 95626-8737, USA.
- GARCIA-VALCARCEL, M., DOEL, T., COLLEN, T., RYAN, M., PARKHOUSE, R.M.E. Recognition of foot-and-mouth disease virus and its capsid protein VP1 by bovine peripheral T lymphocytes. *J. Gen. Virol.*, 77(4): 727-735, 1996. British Biotech Pharmaceuticals Ltd., Watlington Road, Oxford OX4 5LY, UK.
- GERBIER, G., CHADOEUF, J., DURAND, B., MOUTOU, F. Modelisation de la propagation de la fièvre aphteuse en fonction de la taille et de la répartition spatiale des cheptels. [Model of the spread of foot and mouth disease as a function of the size and spatial distribution of the herds]. *Epidemiologie et Sante Animale*, 31-32: 13.15.1-13.15.3, 1997.
- GOMES, I., RAMALHO, A., AUGÉ DE MELLO, P. Infectivity assays of foot and mouth disease virus: contact transmission between cattle and buffalo (*Bubalus bubalis*) in the early stages of infection. *Vet. Rec.*, 140(2): 43-47, 1997. Pan American Foot and Mouth Disease Center. P.O. Box, CEP 20.001-970 Rio de Janeiro, RJ, Brazil.
- GOURREAU, J.M., DURAND, B., MOUTON, F., DUFOUR, B., SAVEY, M. The struggle against foot and mouth disease in France. *Bull. Acad. Vet. France* 70(2): 213-218, 1997. CNEVA Alfort. 22 rue Pierre Curie, 94703 Maisons-Alfort Cedex, France.
- GUPTA, N., SAHAI, R., GUPTA, S.C., Cytogenetic effects of foot and mouth disease vaccine on buffalo blood cultures. In: *Proc., 4th World Buffalo Congress*, São Paulo, Brasil, 27-30 June 1994. pp. 413-415. In: *Index Vet.*, 64(9), 1996. National Bureau of Animal Genetic Resources, Karnal, India.
- HENDRIKX, P., BIDJEH, K., GANDA, K., OUAGAL, M., HAGGAR, A.I., SABOUN, M., MAHO, A., IDRIS, A. Le réseau d'épidémiologie des maladies au Tchad. [Animal disease epidemiology surveillance network in Chad]. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 16(3): 759-769, 1997. La Rippe des Monts, 71470 Romenay, France.

- HERNÁNDEZ, J., VALERO, M.L., ANDREU, D., DOMINGO, E., MATEU, M.G. Antibody and host cell recognition of foot-and-mouth disease virus (serotype C) cleaved at the Arg-Gly-Asp (RGD) motif: a structural interpretation. *J. Gen. Virol.*, 77 (2): 257-264, 1996. Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa" (CSIC-UAM), Universidad Autónoma de Madrid, Cantoblanco, 2804 9 Madrid, España.
- HEWAT, E.A., VERDAGUER, N., FITA, I., BLAKEMORE, W., BROOKES, S., KING, A., NEWMAN, J., DOMINGO, E., MATEU, M.G., STUART, D.I. Structure of the complex of an Fab fragment of a neutralizing antibody with foot and mouth disease virus: positioning of a highly mobile antigenic loop. *EMBOJ.*, 16 (7): 1492-1500, 1997. Institut de Biologie Structurales Jean-Pierre Ebel, 41 avenue des Martyrs, 38027 Grenoble, France.
- HOLGUIN, A., HERNANDEZ, J., MARTINEZ, M.A., MATEU, M.G., DOMINGO, E. Differential restrictions on antigenic variation among antigenic sites of foot and mouth disease virus in the absence of antibody selection. *J. Gen. Virol.*, 78 (3): 601-604, 1997. Centro de Biología Molecular 'Severo Ochoa', Universidad Autonoma de Madrid.
- ILOTT, M.C., SALT, J.S., GASKELL, R.M., KITCHING, R.P. Dexamethasone inhibits virus production and the secretory IgA response in oesophageal-pharyngeal fluid in cattle persistently infected with foot and mouth disease virus. *Epidemiol. Infect.*, 116 (2): 181-187, 1997. Institute for Animal Health, Pirbright Laboratory, Ash Road, Pirbright, Woking, Surrey GU24 0NF, UK.
- JACKSON, T., SHARMA, A., GHAZALEH, R.A., BLAKEMORE, W.E., ELLARD, F.M., SIMMONS, D.L., NEWMAN, J.W.I., STUART, D.I., KING, A.M.Q. Arginine-glycine-aspartic acid-specific binding by foot-and-mouth disease viruses to the purified integrin α 5 β 1 in vitro. *J. Virol.*, 71 (11): 8357-8361, 1997. Pirbright Laboratory, Institute for Animal Health, Pirbright, Ash Road. Pirbright, Surrey GU24 0NF, UK.
- JALVINGH, A.W., NIELEN, M., MEUWISSEN, M.P.M., DIJHUIZEN, A.A., MORRIS, R.S. Economic evaluation of foot and mouth disease control strategies using spatial and stochastic simulation. *Epidemiologie et Sante Animale*, 31-32: 10.22.1-10.22.3, 1997.
- JANA, D., MAITY, B. Foot and mouth disease outbreak in vaccinated herds of cattle with atypical lesions and allergic reaction. *Indian Vet. J.*, 74 (1): 77-79, 1997. Disease Investigation and Clinical Laboratory, R.N. Sinha Road, Darjeeling, West Bengal, India.
- JIANG, Z.J., YIN, Y.B., GONG, Z.H., MA, H.C., SUN, S.F., CAI, L.J., GUO, F.S., LI, W., S.Y. Study on the rapid detection of foot and mouth virus using a one-step RT-PCR and a nested PCR. *Chinese J. Animal Quarantine*, 14 (2): 3-5, 1997. Animal Quarantine Institute, Ministry of Agriculture, Qingdao, Shandong 266032, China.
- KARESH, W.B., ROTHSTEIN, A., GREEN, W., REUTER, H.O., BRASELTON, W.E., TORRES, A., COOK, R.A. Health evaluation of black-faced impala (*Aepyceros melampus petersi*) using blood chemistry and serology. *J. Zoo & Wildlife Med.*, 28 (4): 361-367, 1997. Wildlife Conservation Society, 185th Street and Southern Boulevard, Bronx, NY 10460, USA.
- KNIFE, T., RIEDER, E., BAXT, B., WARD, G., MASON, P.W. Characterization of synthetic foot and mouth disease virus provirions separates acid-mediated disassembly from infectivity. *J. Virol.*, 71 (4): 2851-2856, 1997. Plum Island Animal Disease Center, North Atlantic Area, Agricultural Research Service, United States Department of Agriculture, Greenport, NY 11944, USA.

- LARRIESTRA, A., SANCHEZ, J., PISCITELLI, H. Surveillance of foot and mouth disease in the province of Cordoba, Argentina, a retrospective study: estimation of prevalence and risk factors. *Epidemiologie et Sante Animale*, 31-32: 11.C.15, 1997.
- LENSCH, J.H., GEILHAUSEN, H.E., YANG, R.Z., HAN, X.T., LUO, X.L. Infectious and parasitic diseases in the yak. In: Yak production in Central Asian highlands. Proceedings of the Second International Congress on Yak, Xining, China, 1-6 September, 1997. Yak and Camel Foundation, D-25359Krempe, Germany.
- LESLIE, J., BAROZZI, J., OTTE, J. The economic implications of a change in FMD policy: a case study in Uruguay. *Epidemiologie et Sante Animale*, 31-32: 10.21.1-10.21.3, 1997.
- LI, D., XIAO, Z.P., CHEN, Z.T., CHEN, Y.L., SONG, M.L., WANG, Z.Z., PAN., G.W., XIE, Q.G., XIN, J.Y. Preparation of micro-pellets of slow-releasing modified chitosan and preliminary observations on its adsorption capacity of foot-and-mouth disease virus. *Chinese J. Vet. Sci. Tech.*, 27 (12): 19, 1997. Veterinary Research Institute, CAAS, Lanzhou, Gansu 730046, China.
- LIN, F., MACKAY, D.K.J., KNOWLES, N.J. Detection of swine vesicular disease virus RNA by reverse transcription-polymerase chain reaction. *J. Virol. Meth.*, 65 (1): 111-121, 1997. World Reference Laboratory for Foot and Mouth Disease, Institute for Animal Health, Pirbright Laboratory, Ash Road, Pirbright, Woking, Surrey GU24 0NF, UK.
- LUBROTH, J., GRUBMAN, M.J., BURRAGE, T.G., NEWMAN, J.F.E., BROWN, F. Absence of protein 2C from clarified foot-and-mouth disease virus vaccines provides the basis for distinguishing convalescent from vaccinated animals. *Vaccine*, 14 (5): 419-427, 1996. Animal and Plant Health Inspection Service, US Department of Agriculture, Plum Island Animal Disease Center, P.O. Box 848, Greenport, NY 11944, USA.
- LUCHELLI, A., FONDEVILA, N., RICCI, L., ROMAT, P., MALIANDI, F. Ensayos de vacunación simultanea a campo. [Simultaneous vaccination field tests]. *Avances en Ciencias Veterinarias*, 12(1): 52-56, 1997. Instituto de Virologia, Centro de Investigaciones en Ciencias Veterinarias (CICV), Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), C.C. 77, (1708) Moron, Argentina.
- MACDIARMID, S.C., THOMPSON, E.J. The potential risks to animal health from imported sheep and goat meat. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 16 (1): 45-56, 1997. Ministry of Agriculture and Fisheries Regulatory Authority, P.O. Box 2565, Wellington, New Zealand.
- MAHUL, O., POUPA, J.C., RIAINELLI, P. Evaluation des consequences économiques d'une épidémie aphteuse. [Evaluation the economic consequences of foot and mouth disease]. *INRA Sci. Sociales*, 6: 4, 1997. INRA ESR, Rennes, France.
- MARTÍNEZ-SALAS, E., PAZ REGALADO, M., DOMINGO, E. Identification of an essential region for internal initiation of translation in the aphthovirus internal ribosome entry site and implications for viral evolution. *J. Virol.*, 70(2): 992-998, 1996. Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa", Consejo Superior de Investigaciones Científicas-Universidad Autónoma de Madrid, 28049 Madrid, España.
- MATTION, N.M., HARNISH, E.C., CROWLEY, J.C., REILLY, P.A. Foot-and-mouth disease virus 2A protease mediates cleavage in attenuated Sabin 3 poliovirus vectors engineered for delivery of foreign antigens. *J. Virol.*, 70(11): 8124-8127, 1996. Biogenesis S.A., Ruta Panamericana, Km 38,2 (1619)-Garin, Argentina.

- MEBUS, C., ARIAS, M., PINEDA, J.M., TAIADOR, J., HOUSE, C., SANCHEZ-VIZCAINO, J.M. Survival of several porcine viruses in different Spanish dry-cured meat products. *Food Chemistry*, 59(4):555-559, 1997. United States Department of Agriculture, APHIS, VS, NVSL, Foreign Animal Disease Diagnostic Laboratory, PO Box 848, Greenport, NY 11944, USA.
- MISHRA, N., MISHRA, S., BHAGWAN, P.S.K. Occurrence of an outbreak of FMD in organised goat farm. *Indian J. Comp. Microbiol., Immunol. & Infec. Dis.*, 18(2): 189, 1997.
- MOUTOU, F., DUFOUR, B., SAVEY, M. Evaluation of the French foot and mouth disease epidemiovigilance network. *Epidemiologie et Sante Animale*, 31-32: 07.08.1-07.08.3, 1997.
- MUKWEDEYA, D.T., BUSAYI, R., OBWOLO, M.J. Recent developments in foot and mouth disease research at Pirbright (UK) and University of Zimbabwe. *Zimbabwe Vet. J.*, 28(1): 23-24, 1997. Faculty of Veterinary Science, University of Zimbabwe, P.O. Box MP 167, Mount Pleasant, Harare, Zimbabwe.
- MURUGAVEL, K., SUBRAMANIAN, A., RAJASEKARAN, J. Post-vaccination studies on semen quality and serum testosterone levels in foot and foot disease and black quarter vaccinated murrha bulls. *Indian J. Vet. Res.*, 61(1): 50-52, 1997. Department of Obstetrics and Gynaecology, Madras Veterinary College, Chennai-600 007, India.
- MUSIKOOL, P., CHAMNANPOOD, C., CHAMNANPOOD, P. Food and mouth virus transmission in carrier cattle. *Thai J. Vet. Med.*, 27(1): 11-17, 1997.
- MUZIO, J.F., DIAS, L.E., BLANCO, M.L. La leche y sus subproductos como riesgo de transmision de la fiebre aftosa: perspectiva en America del Sur. [Risk of transmitting foot and mouth disease by milk dairy products: perspectives in South America]. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 16(1): 125-134, 1997. Ministerio de Ganaderia, Agricultura y Pesca. Constituyente 1476, Montevideo, Uruguay.
- NANDI, S., SEN, A.K. Evaluation of purity of 146S particles of foot and mouth disease virus subtypes A10 and A22. *Indian J. Animal Health*, 36(2): 111-114, 1997. Division of Virology, I.V.R.I., Mukteswar, Nainital-263138, U.P., India.
- NANDI, S., SURYANARAYANA, V.V.S., BANUMATHI, N., SEN, A.K. Biochemical characterization of FMDV A10 and A22 subtypes by PAGE and IEF. *Comparative Immunol., Microbiol. & Infec. Dis.*, 20(1): 95-99, 1997. FMD Research Centre, Indian Veterinary Research Institute, Hebbal, Bangalore 560024, India.
- NEWMAN, J.F.E., BROWN, F. Foot and mouth disease virus and poliovirus particles contain proteins of the replication complex. *J. Virol.*, 71(10): 7657-7662, 1997. Plum Island Animal Disease Center, USDA, ARS, P. O. Box 848, Greenport, NY 11944-0848, USA.
- NIEDBALSKI, W., KESY, A., FITZNER, A. Prevalence of foot and mouth disease antibodies in cattle in "the ring" vaccination zone around Zdunska Wola. *Bull. Vet. Inst. Pulawy*, 41(1): 11-15, 1997. Department of Foot and Mouth Disease, National Veterinary Research Institute, 98-220 Zdunska Wola, Poland.
- NIELEN, M., JALVINGH, A.W., HORST, H.S., DIJKHUIZEN, A.A., MAURICE, H., SCHUT, B.H., WUIJCKHUISE, L.A. van, JONG, M.F. de. Quantification of contacts between Dutch farms to assess the potential risk of foot-and-mouth disease spread. *Prev. Vet. Med.*, 28(3): 143-158, 1996. Department of Farm Management, Hollandseweg 1, 6706 KN Wageningen, The Netherlands.

- O'DONNELL, V.K., BOYLE, D.B., SPROAT, K., FONDEVILA, N.A., FORMAN, A., SCHUDEL, A.A., SMITSAART, E.N. Detection of antibodies against foot-and-mouth disease virus using a liquid-phase blocking sandwich ELISA (LPBE) with a bioengineered 3D protein. *J. Vet. Diag. Invest.*, 8 (2): 143-150, 1996. In: *Vet. Bull.*, 66 (10): 6767, 1996. Instituto de Virología, Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias, INTA, Castelar, CC 77 (1708) Morón, Provincia de Buenos Aires, Argentina.
- O'DONNELL, V.K., SMITSAART, E., BOYLE, D., DUFFY, S., CETRA, B.N., FONDEVILA, N.A., SCHUDEL, A.A. Detection of antibodies against 3D protein of foot and mouth disease virus by a liquid phase blocking sandwich ELISA. *Epidemiologie et Sante Animale*, 31-32: 12. C.40, 1997.
- OZAWA, Y. Viral diseases currently attracting attention abroad: bovine spongiform encephalopathy, foot and mouth disease, rinderpest. *J. Vet. Med., Japan*, 50 (1): 13-19, 1997.
- PAGLIARO, A.F., MASANA, M.O., SANJURJO, E.D., FONDEVILA, N.A., RODRIGUEZ, H.R. Foot-and-mouth disease virus inactivation in miniburders by a continuous dry-moist heat cooking system. *J. Food Protect.*, 59 (2): 181-184, 1996. In: *Index Vet.*, 64 (8), 1996. Swift-Armous S.A., C.C. 207, 2000 Rosario, Buenos Aires, Argentina.
- PAL, R.N., YANG, R., HAN, X., LUO, X. Yak (*Poephagus grunniens* L.) research and development in India. In: Yak production in Central Asian highlands. Proceedings of the Second International Congress on Yak, Xining, P.R. China, 1-6 September 1997. National Research Center on Yak (ICAR), Dirang 790 101. West Kameng District, Arunachal Pradesh, India.
- PAPROCKA, G., PLUCIENNICZAK, G., PLUCIENNICZAK, A., KESY, A., NIEDBALSKI, W., FITZER, A. [Determination of VP1 coding sequence in type O aphthovirus.] En polaco. *Medycyna Weterynaryjna*, 52 (2): 111-113, 1996. In: *Index Vet.*, 64 (7), 1996.
- PATTNAIK, B., SANYAL, A., GEORGE, M., TOSH, C., HEMADRI, D., VENKATARAMANAN, R. Evaluation of primers for PCR amplification of RNA polymerase gene sequence of foot-and-mouth disease virus. *Acta Virol.*, 41 (6): 333-336, 1997. Central Laboratory, All India Coordinated Research Project on Foot and Mouth Disease, Indian Veterinary Research Institute, Mukteswar-Kumaon, Nainital, UP 263 138, India.
- POGACNIK, M., CURK, A., MEHLE, J., JUNTES, P., HOSTNIK, P., JAZBEC, I., GROM, J., VENGUST, M. Suvremena strategija suzbijanja zaraznih bolesi zivotinja i kontrola pojedinih bolesi goveda u Sloveniji. [Modern strategy of infectious disease control in animals in Slovenia]. *Praxis Vet. Zagreb.*, 45 (3): 191-204, 1997. Veterinarski Fakultet Sveucilista u Ljubljani, Gerniceva 60, 1115 Ljubljana, Slovenia.
- PRAT, G. Conformational preference of a peptide corresponding to the major antigenic determinant of foot-and-mouth disease virus: implications for peptide-vaccine approaches. *Arch. Bioch. & Biophys.*, 341 (2): 360-369, 1997. Departamento de Bioquímica Médica, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Cidade Universitaria, Rio de Janeiro CEP 21941-590, Brazil.
- PUNTEL, M. Seroprevalencia de infecciones virales en llamas (*Lama glama*) en la República Argentina. [Seroprevalence of viral infections in llamas (*Lama glama*) in Argentina]. *Rev. Argentina Microbiologia*, 29 (1): 38-46, 1997. Instituto de Virología, Centro de Investigaciones en Ciencias Veterinarias (CICV), Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), C.C. 77, (1708) Moron, Argentina.

- RAZDAN, R., SEN, A.K., RAO, B.V., SURYANARAYANA, V.V.S. Stability of foot-and-mouth disease virus, its genome and proteins at 37°C. *Acta Virol.*, 40 (1): 9-14, 1996. Indian Veterinary Institute, Hebbal, Bangalore 560024, India.
- RADZAN, R., SURYANARAYANA, V.V.S., RAO, B.U., SEN., A.K. Foot and mouth disease virus recovery from polyethylene glycol precipitates: a comparative study on filtration and centrifugation methods. *Indian J. V. Virol.*, 13 (1): 53-57, 1997. Indian Veterinary Research Institute Hebbal, Bangalore 560 024, Karnataka, India.
- RAPORT, E., SHIMSHONY, A. Health hazards to the small ruminant population of the Middle East posed by the trade of sheep and goat meat. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 16 (1): 57-64, 1997. Veterinary Services and Animal Health, Ministry of Agriculture, P.O. Box 12, 50250.
- REDDY, G.S., ANTONY, P.X., SRINIVASAN, V.A. Serological response to combined vaccination of cattle against foot-and-mouth disease, haemorrhagic septicaemia and blackquarter. *Indian J. Animal Sci.*, 67 (7): 585-586, 1997. Indian Immunologicals, Gachibowli, Hyderabad, Andhra Pradesh 500 019, India.
- RODRÍGUEZ, A., LEY, V., ORTUÑO, E., EZQUERRA, A., SAALMÜLLER, A., SOBRINO, F., SAIZ, J.C. A porcine CD8⁺ T cell clone with heterotypic specificity for foot-and-mouth disease virus. *J. Gen. Virol.*, 77 (9): 2089-2096, 1996. Centro de Investigación en Sanidad Animal, INIA, 28130 Madrid, España.
- SABER, M.S., EL KILANY, S., ABD ELVARY, H.K., FAWZY, H.G., ABBAS, A. The antigenic variation of foot and mouth disease virus of the last three isolates in Egypt. *Vet. Med. J. Giza*, 45 (2): 175-186, 1997. Veterinary Serum & Vaccine Research Institute, Abbasia, Cairo, Egypt.
- SALT, J.S., SAMUEL, A.R., KITCHING, R.P. Antigenic analysis of type O foot-and-mouth disease virus in the persistently infected bovine. *Arch. Virol.*, 141 (8): 1407-1421, 1996. Institute for Animal Health, Ash Road, Pirbright, Surrey GU24 0NF, U.K.
- SAMARA, S.I., FAVA, C. del, GONÇALVES, E.I. The detection of antibody to virus infection associated (VIA) antigen of foot-and-mouth disease (FMD) in water buffaloes of Vale do Ribeira, São Paulo State, Brazil. In: *Proc., 4th World Buffalo Congress*, São Paulo, Brazil, 27-30 June 1994. pp. 450-452. In: *Index Vet.*, 64 (9), 1996. Veterinary Sciences College, Jaboticabal, SP, Brasil.
- SAMUEL, A.R., KNOWLES, N.J., KITCHING, R.P., HAFEZ, S.M. Molecular analysis of foot and mouth disease type O viruses isolated in Saudi Arabia between 1983 and 1995. *Epidemiol. Infect.*, 119 (3): 381-389, 1997. Institute for Animal Health, Pirbright Laboratory, Pirbright, Woking, Surrey GU24 0NF, UK.
- SANYAL, A., VENKATARAMANAN, R., PATTNAIK, B. Antigenic features of foot-and-mouth disease virus serotype Asia 1 as revealed by monoclonal antibodies and neutralization-escape mutants. *Virus Res.*, 50 (2): 107-117, 1997. Central Foot and Mouth Disease Laboratory, Indian Veterinary Research Institute, Mukteswar – Kumaon, Nainital 263 138, India.

- SEVILLA, N., DOMINGO, E. Evolution of a persistent aphthovirus in cytolytic infections: partial reversion of phenotypic traits accompanied by genetic diversification. *J. Virol.*, 70 (10): 66176624, 1996. Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa", Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Universidad Autónoma de Madrid, Cantoblanco, 28049 Madrid, España.
- SHARMA, A., RAO, Z., FRY, E., BOOTH, T., JONES, E.Y., ROWLANDS, D.J., SIMMONS, D.L., STUART, D.I. Specific interactions between human integrin alphavbeta3 and chimeric hepatitis B virus core particles bearing the receptor-binding epitope of foot and mouth disease virus. *Virology*, 239 (1): 150-157, 1997.
- SHIEH, H.K. Short communication: the FMD situation in Taiwan. *J. Chinese Soc. Vet. Sci.*, 23 (5): 395-402, 1997. Department of Veterinary Medicine, National Chung Hsing University, Taichung, China.
- SINGH, M., MOHAN, B.M., SURYANARAYANA, V.V.S. Serological and molecular analysis of serotype O foot-and-mouth disease virus isolated from disease outbreaks in India during 1987-91. *Virus Res.*, 43 (1): 45-55, 1996. Indian Veterinary Research Institute, Hebbal, Bangalore, India.
- SINGH, R., TIWARI, C.B., KUMAR, D. Statistical model for estimating losses due to foot-and-mouth disease in India. *Indian J. Animal Sci.*, 67 (5): 441-444, 1997. Indian Veterinary Research Institute, Izatnagar, Uttar Pradesh 243 122, India.
- STRAM, Y., MOLAD, T. A ribozyme targeted to cleave the polymerase gene sequences of different foot and mouth disease virus (FMDV) serotypes. *Virus Genes*, 15 (1): 33-37, 1997. Division of Virology, The Kimron Veterinary Institute, P.O. Box 12 Beit-Dagan 50250, Israel.
- SUTMOLLER, P., VOSE, D.J. Contamination of animal products: the minimum pathogen dose required to initiate infection. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 16 (1): 30-32, 1997. 2430 Crowncrest Drive, Richmond, Virginia 23233, USA.
- SUTMOLLER, P., WRATHALL, A.E. The risks of disease transmission by embryo transfer in cattle. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 16 (1): 226-239, 1997. Pan American Foot and Mouth Disease Centre (PANAFTOSA). Caixa Postal 589, CEP 20001-970, Rio de Janeiro, RJ, Brazil.
- TABOGA, O., TAMI, C., CARRILLO, E., NUNEZ, J.I., RODRIGUEZ, A., SAIZ, J.C., BLANCO, E., VALERO, M.L., ROIG, M., CAMERERO, J.A., ANDREU, D., MATEU, M.G., GIRALT, E., DOMINGO, E., SOBRINO, F., PALMA, E.L. A large-scale evaluation of peptide vaccines against foot and mouth disease: lack of solid protection in cattle and isolation of escape mutants. *J. Virol.*, 71 (4): 2606-2614, 1997. Instituto de Biotecnología, Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias, INTA, 1708 Moron, Buenos Aires, Argentina.
- TAMI, C., KAPLAN, G., PICCONE, M.E., PALMA, E.L. Nucleotide sequence of the P1 region of foot and mouth disease virus strain O1 Caseros. *Virus Genes*, 14 (3): 255-259, 1997. Instituto de Biotecnología, Centro de Investigaciones en Ciencias Veterinarias (CICV), Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), C.C. 77, (1708) Moron, Argentina.
- THOMAS, A.A.M., RIJNBRAND, R., VOORMA, H.O. Recognition of the initiation codon for protein synthesis in foot-and-mouth disease virus RNA. *J. Gen. Virol.*, 77 (2): 265-272, 1996. Department of Molecular Cell Biology, Utrecht University, Padualaan 8, 3584 CH Utrecht, The Netherlands.

- THOMSON, G.R. The role of carrier animals in the transmission of foot and mouth disease. Presented in Conference Proceedings of the 64th General Session of OIE, Paris, 20-24 May 1996. Onderstepoort Institute for Exotic Diseases, Private Bag X06, Onderstepoort 0110, South Africa.
- TOSH, C., HEMADRI, D., SANYAL, A., PATNAIK, B., VENKATARAMANAN, R. One-tube and one-buffer system of RT-PCR amplification of 1D gene of foot-and-mouth disease virus field isolates. *Acta Virol.*, 41: 3: 153-155, 1997. Central Foot and Mouth Disease Laboratory, Indian Veterinary Research Institute, Mukteswar-Kumaon, Nainital 263 138, India.
- TULASIRAM, P., TYAGI, M., SRINIVAS, K., PRABHUDAS, K., NATARAJAN, C., SURYANARAYANA, V. Antigenic variation in foot and mouth disease virus type Asia 1 isolates circulated during 1993-95 in India. *Virus Genes*, 15 (3): 247-253, 1997. Indian Veterinary Research Institute, Campus Hebbal, Bangalore 560 024, India.
- VANGRYSPPERRE, W., CLERCQ, K. de. Rapid and sensitive polymerase chain reaction based detection and typing of foot-and-mouth disease virus in clinical samples and cell culture isolates, combined with a simultaneous differentiation with other genomically and/or symptomatically related virus. *Arch. Virol.*, 141 (2): 331-344, 1996. National Institute for Veterinary Research, Groeselenberg 99, B-1180 Brussels, Belgium.
- VERMA, N.D., SARMA, D.K. A note on foot and mouth disease in mithun. Arunachal Pradesh. *Indian J. Virol.*, 13(1): 75-76, 1997. ICAR Research Complex, Barapani, Meghalaya, India.
- VOSLOO, W., BASTOS, A.D., KIRKBRIDE, E., ESTERHUYSEN, J.J., JANSE van RENSBURG, D., BENGIS, R.G., KEET, D.W., THOMSON, G.R. Persistent infection of African buffalo (*Syncerus caffer*) with SAT-type foot-and-mouth disease viruses: rate of fixation of mutations, antigenic change and interspecies transmission. *J. Gen. Virol.*, 77 (7): 1457-1467, 1996. Onderstepoort Institute for Exotic Diseases, Private Bag X6, Onderstepoort 0110, South Africa.
- WANG, Y.L., ZHANG, Y.G., FANG, Y.Z., JIANG, S.T., KUANG, Q.T. Studies on a inactivated bivalent vaccine against bovine FMD of types O and A and the cell-mediated immune response in mice inoculated with the vaccine. *Chinese J. Vet. Sci. Tech.*, 27 (1): 5-7, 1997. Veterinary Research Institute CAAS, Lanzhou, Gansu 730046, China.
- WANI, S.A., AHUJA, K.L., PRASAD, S., KUMAR, A. Antigenic characterization of foot-and-mouth virus type O strains isolated from outbreaks in vaccinated herds. *Indian J. Animal Sci.*, 67 (7): 556-558, 1997. CCS Haryana Agricultural University, Hisar, Haryana 125 004, India.
- WANI, S.A., AHUJA, K.L., PRASAD, S., KUMAR, A. Comparison of micro-complement fixation, micro-serum neutralization tests and sandwich enzyme linked immunosorbent assay for differentiation of foot-and-mouth disease virus. *Indian J. Animal Sci.*, 67(1): 23-25, 1997. CCS Haryana Agricultural University, Hisar, Haryana 125 004, India.
- WANI, S.A., AHUJA, K.L., PRASAD, S., KUMAR, A. Differentiation of foot and mouth virus type 'O' isolates by micro-serum neutralization and in vivo cross protection methods. *Int. J. Animal Sci.*, 12 (1): 73-75, 1997. Department Veterinary Microbiology, CCS Haryana Agricultural University, Hisar-125004, India.

- WARD, G., RIEDER, E., MASON, P.W. Plasmid DNA encoding replicating foot and mouth disease virus genomes induces antiviral immune responses in swine. *J. Virol.*, 71 (10): 7442-7447, 1997. Plum Island Animal Disease Center, USDA, ARS, P. O. Box 848, Greenport, NY 11944-0848, USA.
- WIGDOROVITZ, A., ZAMORANO, P., FERNANDEZ, F.M., LOPEZ, °, PRATO, M., CARRILLO, C., SADIR, A.M., BORCA, M.V. Duration of the foot and mouth disease virus antibody response in mice is closely related to the presence of antigen specific presenting cells. *J. Gen. Virol.*, 78 (5): 1025-1032, 1997. Instituto de Virologia (CICV), Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) Castelar, cc.77, Moron (1708) Pcia. Buenos Aires, Argentina.
- WILSON, T.M., TUSZYNSKI, C. Foot and mouth disease in Taiwan – 1997 overview. *Proc. Ann. Mee. US Animal Hlth. Assoc.*, 101: 114-124, 1997.
- WUTZ, G., AUER, H., NOWOTNY, N., GROSSE, B., SKERN, T., KUECHLER, E. Equine rhinovirus serotypes 1 and 2: relationship to each other and to aphthoviruses and cardioviruses. *J. Gen. Virol.*, 77 (8): 1719-1730, 1996. Institute of Biochemistry, Medical Faculty, University of Vienna, Dr Bohr-Gasse 9/3, A-1030 Vienna, Austria.
- YAMANE, I., KAMATA, A., SUGIURA, K., HAMAOKA, T., MURAKAMI, Y., SHIRAI, J., NANBA, K. An epidemiological analysis of foot and mouth disease outbreaks in Taiwan using geographic information system. *J. Japan Vet. Med. Assoc.*, 50(10): 583-586, 1997. Laboratory of Epidemiology, National Institute of Animal Health, 3-1-1 Kannondai, Tsukuba 305, Japan.
- YOU, Y.J., XU, Q.X., ZHAO, H.X., WU, Z.F., RAO, Z., ZHENG, Z.X., GUO, J.Y., JIN, J.P., SHENG, Z.T., HE, B.Y., HE, Y.Q., DU, Q.Y. Immunological response of protective antibody against serotype “O” FMDV using biosynthetic peptide vaccine. *Acta Agric. Shanghai*, 13 (4): 1-3, 1997. Animal Husbandry and Veterinary Research Institute, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201106, China.
- ZHU, C.Z., LU, Y.G., QIU, X.G., ZHAO, Q.Z., XIE, Q.G., ZHANG, W.D., YAN, M.R., YANG, F.R., ZHANG, Q. Detection of FMDV in animal tissues by a RT-PCR technique. *Chinese J. Vet. Sci. Tech.*, 27 (1): 3-5, 1997. Veterinary Research Institute CAAS, Lanzhou, Gansu 730046, China.
- ZHU, N.G., LI, S.S., HUANG, B.L., LONG, S.H., NING, J.Q., CHEN, T.F. Serological investigation of goats for three diseases in the Dongxing border area in Guangxi, China. *Chinese J. Vet. Med.*, 23 (12): 20, 1997. Animal and Plant Quarantine Bureau, Fangcheng Port, Guangxi 538011, China.

Boletín del Centro Panamericano de Fiebre Aftosa

Invitación a los autores

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

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

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

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

Trabajo de revisión: Formato flexible.

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

Instrucciones a los autores

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

Editor responsable: Dr. Vicente Astudillo, Director

Pan American Foot-and-Mouth Disease Center Bulletin

Invitation to Contributors

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

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

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

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

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

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

Instructions to Authors

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

Editor: Dr. Vicente Astudillo, Director