
BOLETIN

del centro panamericano de fiebre aftosa

Nº 53, enero-diciembre 1987
No. 53, January-December 1987

contenido

contents

	p.
Actualización de cepas del virus de la fiebre aftosa de importancia epidemiológica en América del Sur	3
Updating of foot-and-mouth disease virus strains of epidemiological importance in South America	11
— <i>A. Alonso F., R. Casas Olascoaga, V.M. Astudillo, M.S. Söndahl, Ivo Gomes, Y.L. Vianna Filho</i>	
Vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso	19
Oil-adjuvant vaccine against foot-and-mouth disease	25
— <i>Hans G. Bahnemann & Julio A. Mesquita</i>	
Caracterización epidemiológica, antigénica, inmunogénica y bioquímica del virus de la fiebre aftosa A-81 Argentina/87	31
Epidemiologic, antigenic, immunogenic and biochemical characterization of foot-and-mouth disease virus A-81 Argentina/87	37
— <i>A. Alonso F., R. Casas Olascoaga, R. Graciela Fernández, Y.L. Vianna Filho, M.S. Söndahl, Ivo Gomes, V.M. Astudillo, P. Augé de Mello, H.G. Bahnemann</i>	
Resúmenes — Abstracts	43
Bibliografía sobre enfermedades vesiculares — Vesicular diseases bibliography	56

ACTUALIZACION DE CEPAS DEL VIRUS DE LA FIEBRE AFTOSA DE IMPORTANCIA EPIDEMIOLOGICA EN AMERICA DEL SUR¹

A. Alonso F.², R. Casas Olascoaga², V.M. Astudillo²,
M.S. Söndahl², Ivo Gomes², Y.L. Vianna Filho³

RESUMEN

La alta variabilidad de la fiebre aftosa, debida entre otros factores a la recombinación genética y a la presión selectiva de los anticuerpos en áreas con vacunación sistemática, hace que una cepa de virus ocasione una única onda epidémica. Por lo tanto, la lista de subtipos debe ser actualizada periódicamente para eliminar los que no actúan más en el campo. Los laboratorios de diagnóstico han de apoyar a las campañas de control de la enfermedad relacionando antigénica e inmunogénicamente las cepas de campo con las usadas en la producción de la vacuna. La cobertura de las cepas vacunales, además, es de suma utilidad e interés para los bancos de vacunas. Una prueba recomendable para este tipo de estudio es la expectativa porcentual de protección (EPP) a partir de la seroprotección realizada con sueros de bovinos vacunados y revacunados. Una EPP inferior al 75% en sueros de bovinos revacunados es indicación de baja protección en el campo.

INTRODUCCION

La fiebre aftosa es producida por un virus de la familia Picornaviridae y, debido a sus propiedades físico-químicas, está clasificado en el género Aphthovirus. Dentro de ese género han sido identificados siete serotipos inmunológicos (O, A, C, SAT₁, SAT₂, SAT₃ y Asia₁), los cuales no proporcionan protección cruzada entre sí.

Debido a su alta capacidad de mutación, cada serotipo agrupa varios subtipos que se caracterizan por presentar diferencias inmunogénicas entre sí. Los subtipos son representados por cepas aisladas de focos, brotes u ondas epidémicas, que poseen características antigénicas e inmunogénicas semejantes. Para evitar errores de identificación, la denominación de una cepa debe incluir el serotipo, el subtipo del virus, el lugar y el año de aislamiento.

VARIABILIDAD DEL VIRUS EN LAS AREAS ENDEMICAS

La alta capacidad de variación del virus de la fiebre aftosa se debe a la elevada tasa de mutación (7), a la recombinación genética (5) y a la acción selectiva de los anticuerpos a la replicación del virus en los animales parcialmente inmunes (4). Estos procesos originan cambios en la secuencia de los nucleótidos, los cuales inducirán modificaciones en los polipéptidos del cápside. Todo esto hace que cada cepa esté compuesta por una población de virus con diferentes genomas.

Los cambios de los nucleótidos pueden ser detectados por técnicas bioquímicas, como mapas RNase T₁ resistentes (2), mientras que las modificaciones de la secuencia de los aminoácidos, cuando localizados en las determinantes antigénicas, son detectadas por pruebas antigénicas e inmunogénicas (1, 6, 8) o mediante el secuenciamiento de los aminoácidos de la proteína viral (3).

Para los programas de control de la fiebre aftosa, los cambios en la antigenicidad e inmunogenicidad de los virus en el campo son de suma importancia, ya que el grado de protección de la población vacunada depende de la calidad de la vacuna aplicada y de la homología entre la cepa vacunal y la de campo. Estos cambios también repercuten en la producción y control de la vacuna y en el diagnóstico.

¹ Presentado en la Reunión de la Comisión Europea para el Control de la Fiebre Aftosa, Rio de Janeiro, Brasil, 15-18 octubre 1985. Publicación autorizada.

² Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (OPS/OMS), Caixa Postal 589, 20001 Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

³ LARA-RS - Laboratorio Regional de Apoio Animal, Estrada da Ponta Grossa 3096, 90000 Porto Alegre, RS, Brasil.

La alta contagiosidad de la fiebre aftosa, unido a la elevada capacidad de variación del virus, hacen que el éxito de los programas de control dependa en primer lugar de la eficiencia de la vigilancia epidemiológica en detectar los focos, recolectar muestras e impedir la difusión de la enfermedad. Este hecho es de vital importancia en los países con explotaciones extensivas y de alta movilización de animales, lo que facilita enormemente la propagación del virus. El laboratorio de diagnóstico junto con el de control de calidad de la vacuna deberán indicar las características antigénicas de las cepas de campo, la cobertura inmunológica de las cepas vacunales y la potencia de las vacunas.

Los estudios de caracterización antigénica del virus de campo y el análisis de la cobertura de las cepas vacunales frente a los virus de campo con importancia epidemiológica deben estar al alcance de los países que vacunan sistemáticamente y de los que tienen bancos de vacunas.

HISTORICO DE LAS CEPAS DE VIRUS IDENTIFICADAS EN AMERICA DEL SUR DESDE 1950 A 1984

Los estudios retrospectivos con los virus de campo de la fiebre aftosa identificados en los países del Cono Sur han mostrado que en los años 50 predominaban virus que podían ser encuadrados en los subtipos O₁, A₂₄ y C₃. En los países andinos pertenecían a los subtipos O₁ y A₅. Entre estos últimos Perú era una excepción, debido a que con frecuencia importaba bovinos, carnes y menudencias de Argentina y Colombia, por lo que se identificaban virus de las dos regiones.

En la década del 50, en el Cono Sur, se producía vacuna antiaftosa por el método de Waldmann, lo que provocó el surgimiento de cepas muy diferentes, como consecuencia de la inoculación de virus en los mataderos de bovinos parcialmente inmunes para la obtención de antígeno. Así fueron identificados en Brasil los subtipos O₈, A₁₃, A₁₆ y A₁₇ y en Argentina el A₁₉. Los aislamientos de estos virus estuvieron relacionados a los locales de manipulación y de producción de las vacunas (mataderos y laboratorios).

El intercambio de cepas entre laboratorios causó la introducción accidental en Argentina

del subtipo A₁₀, usado en Holanda para la elaboración de la vacuna. Las cepas C₂ y A₃₀ fueron causantes de epidemias en los años 40 y 50 en Río Grande do Sul, Brasil, y en Uruguay.

Cepas de los subtipos O₃, O₈, A₁₀, A₁₃, A₁₆, A₁₇, A₁₉, A₂₅, A₃₀ y C₂ desaparecieron totalmente y no causaron focos ni ninguna onda epidémica desde 1963.

En la década del 60, cuando la red de laboratorios de diagnóstico de las enfermedades vesiculares se consolidó en América del Sur (Fig. 1), varios países iniciaron los programas de control basados en la vacunación sistemática de la población bovina. Esa red de laboratorios resultó en una acentuada mejoría de la vigilancia epidemiológica y en la caracterización de los virus que ocurrían en el campo. En esa época los programas aún presentaban algunas deficiencias típicas del inicio y por eso, en algunos países, se registraron ondas epidémicas ocasionadas por cepas de virus muy similares a las utilizadas en la producción de vacunas. Así, en Venezuela, en 1962, se aisló el subtipo A₁₈, eliminado por la aplicación masiva en el campo de la vacuna de virus vivo atenuado A₂₄ Cruzeiro y en 1969 el subtipo A₃₂ que aún persiste. En Perú se identificaron cepas de los subtipos A₂₆ y A₂₉, similares al A₂₄. En Colombia se comprueba la existencia en todo el país de virus similares a los del subtipo A₅, los cuales fueron encuadrados en el subtipo A₂₇. En 1969 la sabana de Bogotá fue afectada por el virus A₃₁, que se eliminó con un estricto control de focos, acompañado con revacunación estratégica con vacuna monovalente homologa, no permitiéndose la propagación a otras áreas del país.

Con relación al tipo C, en 1966, en la Patagonia de Argentina se presentó un foco causado por el virus C₄ Tierra del Fuego, diferente a los identificados anteriormente en el Cono Sur. Los datos epidemiológicos de este episodio apuntan a los bovinos portadores como posibles responsables por el foco. En 1969, Argentina y Paraguay fueron afectados por una onda epidémica originada por una cepa antigénicamente no muy diferente al subtipo C₃. El Laboratorio Mundial de Referencia (LMR) clasificó la cepa de Argentina dentro del subtipo C₅ y la de Paraguay en el C₃.

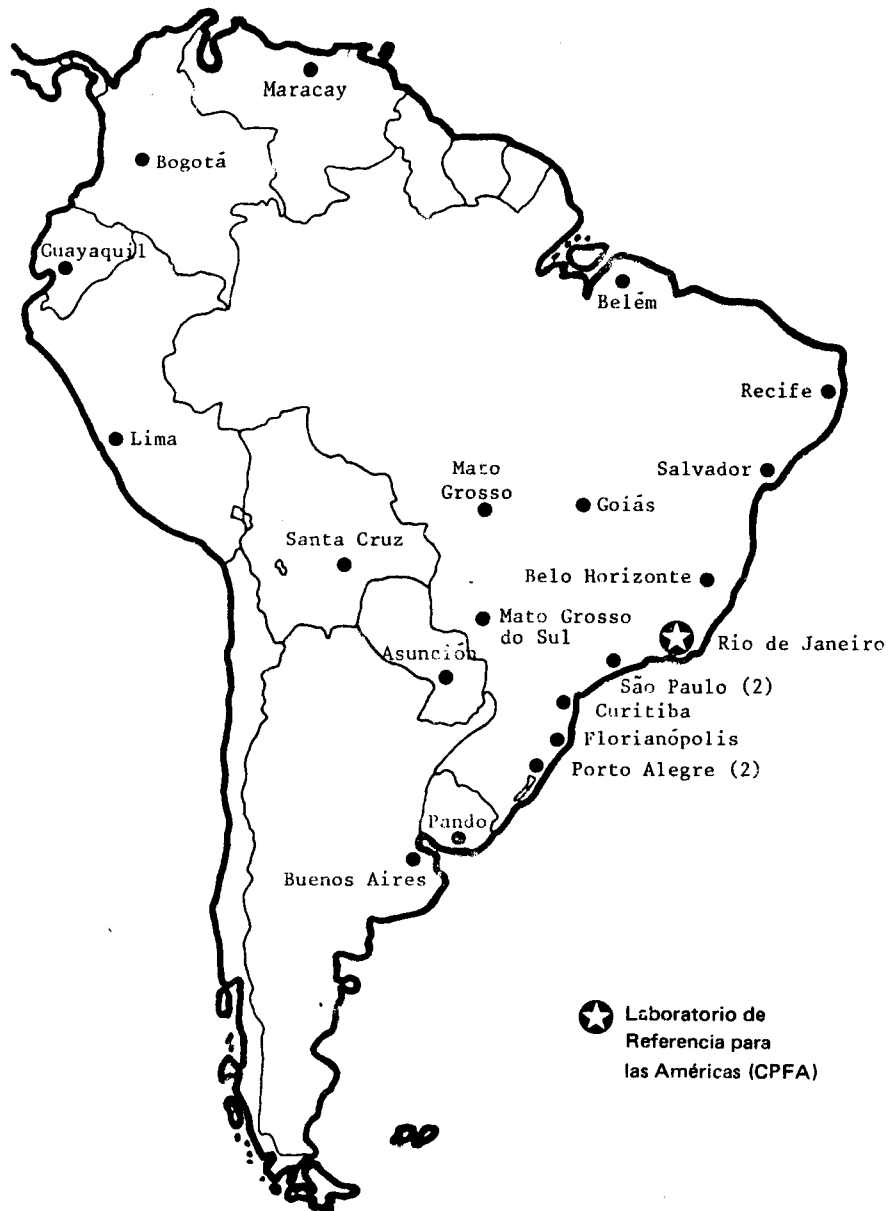


FIGURA 1. Laboratorios oficiales de diagnóstico de las enfermedades vesiculares. América del Sur, 1984.

La década del 70 se caracterizó por la consolidación de los laboratorios de producción y control de vacunas, primero en Uruguay y Chile y después en la Argentina, Brasil, Colombia y Paraguay. La producción regular de vacunas y su control oficial se reflejó en una mejor inmunización de la población bovina bajo programa. Sin embargo fueron aisladas cepas no muy diferentes a las usadas en la elaboración de vacunas. Como ejemplo, se cita el C₃ Indaial que afectó el sur de Brasil de 1971 a 1974, y a la Argentina y Uruguay en 1974-1975. En Brasil, en 1976, se aislaron las cepas A Venceslau y Bagé. Esta última afectó la ganadería de Río Grande do Sul extendiéndose posteriormente a la Argentina y Uruguay y en el proceso de evolución originó el A Argentina/79 y A Brasil/79, muy similares entre sí y al A Venceslau y A Bagé, por lo que son incluidas en un solo grupo.

El decenio del 80 se caracteriza por poseer programas mejor estructurados tanto en laboratorios como en el campo. Esto se demuestra por el combate a la cepa O RS-Br/80, bastante diferente al virus vacunal O₁ Campos (Cuadro 1), la cual originó una severa onda en Río Grande do Sul, Brasil, en 1980. La rápida identificación del virus y la adopción de una vigilancia epidemiológica eficaz impidieron su difusión a Uruguay y Argentina.

En 1981 surgen las cepas de virus A Argentina/81, A Brasil/81 y A Uruguay/81. Se considera que esas cepas sean el efecto de cola de la onda epidémica originada por la cepa A Argentina-Brasil/79. Esas cepas de virus A aisladas en 1981 no se propagaron debido a las medidas epidemiológicas tomadas en la ocasión.

En 1983, en Argentina aumenta la incidencia de virus del tipo C hasta originar una onda epidémica en 1984 que fue controlada por la utilización de una vacuna monovalente homóloga junto con la vacuna polivalente. En esa ocasión tampoco se permitió su difusión a los países vecinos, con la excepción de la ocurrencia de focos en el Chaco boliviano controlados por vacunación perifocal.

En 1984, en el estado de São Paulo, Brasil, se identificó el virus A São Carlos (Cuadros 2 y 3) que fue controlado con la intensificación de la vigilancia epidemiológica y la vacunación estratégica con vacuna clásica A Cruzeiro y A Venceslau.

CEPAS DE VIRUS DE INTERES ACTUAL IDENTIFICADAS EN AMERICA DEL SUR

Por un análisis detallado de las características antigénicas e inmunogénicas de los virus identificados en América del Sur (Cuadros 4, 5 y 6) se concluye que en la actualidad las cepas predominantes deben ser encuadradas en los subtipos O₁, A₂₄, A₃₂ y C₃. Además se deben incluir los virus A Argentina-Brasil/79 y C Argentina/84 pendientes de clasificación (Cuadro 7).

CLASIFICACION DEL VIRUS DE LA FIEBRE AFTOSA

El LMR dictó, en el Simposio Internacional sobre Variantes e Inmunidad realizado en Lyon en 1967, las normas para la clasificación del virus de

CUADRO 1. Relaciones serológicas (*r*), protección a la generalización podal (PGP), índices de seroprotección (ISP) y expectativa porcentual de protección (EPP) en bovinos revacunados con la cepa O₁ Campos controlada frente al virus homólogo y al O RS-Br/80

Cepas comprobación	Suero hiper. O ₁ Campos <i>r</i>	Vacuna O ₁ Campos		
		PGP	Media ISP	EPP ^a
O ₁ Campos-Br/58	1.00	16/16	3.62	87.7
O RS-Br/80	0.34	6/16	2.40	72.5

^aLímite inferior de confianza de 95%, expectativa porcentual de protección. GOMES, I. & ASTUDILLO, V. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 17-18:9-16, 1975.

CUADRO 2. Relaciones serológicas (r) y expectativas porcentuales de protección (EPP) obtenidas con sueros hiperinmunes y de bovinos vacunados y revacunados con vacunas A₂₄ Cruzeiro-Br/55 y A Venceslau-Br/76 comprobados con A São Carlos-Br/84

Cepas comprobación	r — Suero hiper.		EPP — 30 DPV		EPP — 30 DPR	
	A ₂₄ Cruz.	A Venc.	A ₂₄ Cruz.	A Venc.	A ₂₄ Cruz.	A Venc.
A ₂₄ Cruz.-Br/55	1.00	—	69.7	—	99	—
A Venc.-Br/76	—	1.00	—	96.1	—	98.7
A S.Carlos-Br/84	0.31	0.05	≤ 44.6	≤ 61.0	73.2	≤ 47.9

CUADRO 3. Protección a la generalización podal (PGP) en bovinos vacunados y revacunados con una vacuna A₂₄ Cruzeiro-Br/55 y A Venceslau-Br/76 comprobados frente al A Venceslau-Br/76 y A São Carlos-Br/84

Cepas comprobación	Bovinos protegidos/usados	
	30 DPV	21 DPR
A Venceslau-Br/76	14/16	18/18
A São Carlos-Br/84	3/16	11/18

CUADRO 4. Virus de la fiebre aftosa tipo O de interés histórico o actual, identificados en América del Sur. 1950-1984

Subtipo	Cepa	Año		
		Clasificación LMR	Primera	Última
O ₁	O ₁ Campos-Br/58	1967	1958	1984
O ₃	O ₃ Venezuela/50	1956	1950	1958
O ₈	O ₈ Bahia-Br/60	1962	1960	1962
O ^a	O ^a Rio Grande do Sul-Br/80	^a	1980	1980

^aNo enviado al Laboratorio Mundial de Referencia (LMR).

la fiebre aftosa, las cuales se basaban en la obtención de los parentescos serológicos mediante la fijación del complemento (1, 8). Debido a la dificultad de aplicar estas normas, por la existencia de muchos subtipos a su vez integrados por varias cepas, nuevamente en el Simposio de Variantes e Inmunidad realizado en 1976, se propuso analizar solo las relaciones (r) frente a los diferentes subtipos existentes. Cuando el valor de ambas r era inferior a 0,25 la cepa en estudio correspondía a un nuevo

subtipo. Además, se indicó que solo deberían ser clasificadas las cepas con importancia epidemiológica (6). Las propuestas existentes no han resuelto el problema, ya que no han sido clasificados nuevos subtipos a partir de 1970, cuando se identificó el A₃₂.

El Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (CPFA), como Laboratorio de Referencia para las Américas, juntamente con la red de laboratorios nacionales de diagnóstico han procurado

CUADRO 5. *Virus de la fiebre aftosa tipo C de interés histórico o actual, identificados en América del Sur. 1950-1984*

Subtipo	Cepa	A ñ o		
		Clasificación LMR	Identificación	
			Primera	Ultima
C ₂	C ₂ Pando-Uruguay/44	1969	1944	1974
C ₃	C ₃ Resende-Br/55	1969	1955	1984
C ₃	C ₃ Paraguay/69	1969	1969	1969
C ₄	C ₄ Tierra del Fuego-Arg/66	1969	1966	1966
C ₅	C ₅ Argentina/69	1969	1969	1974
C ^a	C ^a Argentina	a	1983	1984

^aPendiente de clasificación por el Laboratorio Mundial de Referencia (LMR).

CUADRO 6. *Virus de la fiebre aftosa tipo A de interés histórico o actual, identificados en América del Sur. 1950-1984*

Subtipo	Cepa	A ñ o		
		Clasificación LMR	Identificación	
			Primera	Ultima
A ₁₀	A ₁₀ Argentina/61	1961	1961	1961
A ₁₃	A ₁₃ Santos-Br/58	1962	1958	1958
A ₁₆	A ₁₆ Belém-Br/59	1964	1959	1960
A ₁₇	A ₁₇ Guarulhos-Br/59	1964	1959	1962
A ₁₈	A ₁₈ Zulia-Ven/62	1964	1962	1963
A ₁₉	A ₁₉ Suipacha-Arg/62	1964	1963	1963
A ₂₄	A ₂₄ Cruzeiro-Br/55	1967	1955	1984
A ₂₅	A ₂₅ Argentina/59	1967	1959	1964
A ₂₆	A ₂₆ Argentina/66	1967	1963	1967
A ₂₇	A ₂₇ Colombia/67	1967	1967	1983
A ₂₉	A ₂₉ Perú/69	1970	1969	1970
A ₃₀	A ₃₀ Uruguay/45	1970	1945	1960
A ₃₁	A ₃₁ Colombia/69	1970	1969	1970
A ₃₂	A ₃₂ Venezuela/70	1970	1969	1984
A ^a	A ^a Argentina/76	a	1976	1976
A ^b	A ^b Ecuador/75	b	1975	1978
A ^b	A ^b Venceslau-Br/76	b	1976	1984
A ^b	A ^b Bagé-Br/76	b	1976	1984
A ^b	A ^b Argentina/79	b	1979	1984
A ^b	A ^b Brasil/79	b	1979	1984
A ^b	A ^b Argentina/81	b	1981	1982
A ^b	A ^b Brasil/81	b	1981	1981
A ^a	A ^a São Carlos-Br/84	a	1984	1984

^aNo enviada al Laboratorio Mundial de Referencia (LMR).

^bPendiente de clasificación por el LMR.

CUADRO 7. Cepas y subtipos del virus de la fiebre aftosa con importancia epidemiológica actual, identificados en América del Sur. 1984

País	Subtipos o cepas					
	O ₁	A ₂₄	A ₃₂	A Arg/79 Br/79	C ₃	C Arg/84
Argentina	x	—	—	x	x	x
Bolivia	x	x	—	—	x	—
Brasil	x	x	—	x	x	—
Colombia	x	x	—	—	—	—
Ecuador	x	x	—	—	—	—
Paraguay	x	—	—	—	x	—
Perú	—	x	—	—	—	—
Uruguay	x	—	—	—	x	—
Venezuela	x	x	x	—	—	—

resolver la situación para los países de la región, mediante la aplicación del siguiente procedimiento:

1. Preparación del cepario

— Identificar las cepas existentes en el campo y las manipuladas por los laboratorios oficiales y privados de la región.

— Designar la cepa representativa de cada subtipo reconocido.

— Elaborar antígenos y sueros hiperinmunes de las cepas de virus relacionadas en los dos puntos anteriores para pruebas de fijación del complemento 50% (FC₅₀) y ELISA.

— Preparar suspensiones virulentas para pruebas de potencia.

— Efectuar mapas RNase y T₁ resistentes (mono y bidimensional "fingerprinting").

— Mantener actualizado el "Banco de Sueros" de bovinos vacunados y revacunados con vacunas elaboradas con las distintas cepas vacunales usadas en América del Sur.

— Obtener las relaciones serológicas.

— Determinar la cobertura inmunológica de las cepas vacunales por seroprotección y/o seroneutralización con sueros del Banco de Sueros de bovinos vacunados y revacunados y por pruebas directas.

2. Identificación de nuevas cepas

— Recolectar muestras de los focos de campo.

— Caracterizar antigénicamente por subtipificación.

— Obtener las r₁ frente a las cepas patrones usadas para preparar vacunas.

— Establecer la cobertura inmunológica de los sueros del Banco de Sueros de bovinos vacunados y revacunados con las cepas vacunales usadas en la región.

— Información epidemiológica.

— Cuando la cepa persiste en el campo es incluida en el cepario y se completa todo el trabajo mencionado en el punto 1. Si la cepa usada en la vacuna proporciona una protección en revacunación igual o mayor al 75% será encuadrada en el mismo subtipo al que pertenece la cepa vacunal.

— Cuando la cepa de campo es diferente a la usada en la producción de vacunas, se seleccionará una cepa para ser empleada en producción y control, teniendo en cuenta la antigenicidad, replicabilidad, estabilidad e inmunogenicidad.

CONCLUSIONES

La gran frecuencia de mutación del virus de la fiebre aftosa, unido a la acción selectiva con que es sometida la replicación del virus en condiciones de campo, así como el pasaje por diferentes huéspedes, tornan prácticamente imposible que en

áreas con vacunación sistemática, una cepa ocasione más de una onda epidémica. Por ese motivo, periódicamente debe revisarse la lista de subtipos y cepas, eliminando los que no han sido identificados en el campo en los últimos años.

Las cepas emergentes, desde el inicio deben ser tratadas de manera de impedir su difusión en el campo. Los virus causantes de los focos en los períodos interepidémicos han de ser analizados cuidadosamente, comparando su estructura antigénica con las cepas vacunales usadas en la región y determinando la cobertura inmunológica de los sueros de animales vacunados y revacunados con la cepa vacunal frente a la de campo. Esta prueba puede complementarse por pruebas de protección a la generalización podal en bovinos vacunados y revacunados con la cepa vacunal.

Cuando el grado de protección en los bovinos después de tres semanas de revacunados es igual o mayor al 75% y la cobertura de vacunación en la región es amplia, medidas de revacunación con la vacuna disponible junto con el control estricto del movimiento de animales serán suficientes para impedir la difusión de la nueva cepa, la cual debe ser incluida en el mismo subtipo al que pertenece la cepa vacunal. Cuando la cobertura inmunológica es inferior al 75%, su difusión adquiere carácter epidémico y de difícil control. Se debe proveer la elaboración y uso de vacuna monovalente específica o la inclusión de la cepa para complementar el perfil antigénico de la vacuna habitualmente usada en la región.

Los países con la fiebre aftosa controlada y que aún vacunan sistemáticamente la población susceptible, como es el caso de Europa Occidental, o aquellos países libres pero que tienen bancos de vacunas, deben conocer la cobertura de sus vacunas frente a las cepas epidemiológicas importantes de los países endémicos. Para este tipo de trabajo son muy adecuadas las pruebas de seroprotección con

sueros de bovinos vacunados y revacunados con sus vacunas. El CPFA ha organizado con los países de la región, a través de la red de laboratorios de diagnóstico de las enfermedades vesiculares, la realización de estos estudios.

REFERENCIAS

1. ALONSO FERNANDEZ, A., SÖNDAHL, M.S., ROSENBERG, F.J., ASTUDILLO, V.M. Variabilidad antigénica e inmunogénica del virus de la fiebre aftosa. (Antigenic and immunogenic variability of the foot-and-mouth disease virus). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 47-48: 11-22, 1983.
2. AUGÉ DE MELLO, P., CASAS OLASCOAGA, R., COSTA GIOMMI, M., ALONSO FERNANDEZ, A., SCODELLER, E.A., LA TORRE, J.L., BERGMAN, I.E. RNA fingerprinting of South American prototype aphthovirus strains. *Vaccine* 4: 105-110, 1986.
3. BECK, E., FEIL, G., STROHMAIER, K. The molecular basis of the antigenic variation of foot-and-mouth disease. *The EMBO Journal* 2 (4): 555-559, 1983.
4. HYSLOP, N.St.G. & FAGG, R.N. Isolation of variant during passage of strains of foot-and-mouth disease virus in partly immunized cattle. *J. Hyg. (Camb.)* 63: 357-368, 1965.
5. McCAHON, D., KING, A.M.Q., SLADE, W.R., SKINNER, H.H., HARESHAPE, J. The potential of recombination for the production of foot-and-mouth disease virus vaccine strains. 3rd. General Meeting of ESECT, Oxford 1979. *Develop. Biol. Standard.* 46: 223-230 (S. Karger, Basel, 1980).
6. PEREIRA, H.G. Foot-and-mouth disease virus subtypes. Int. Symp. on FMD Variants and Immunity, Lyon, 1976. *Develop. Biol. Standard.* 35: 165-174 (S. Karger, Basel, 1977).
7. PRINGLE, C.R. Genetic aspects of the thermal inactivation properties of foot-and-mouth disease virus strains. *Bull. Off. Int. Epiz.* 61 (7-8): 619-628, 1964.
8. RESOLUTIONS. Int. Symp. on FMD Variants and Immunity, Lyon, 1967, Symp. Series Imm. Stand. 8: 169-170 (Karger, B/N.Y., 1968).

UPDATING OF FOOT-AND-MOUTH DISEASE VIRUS STRAINS OF EPIDEMIOLOGICAL IMPORTANCE IN SOUTH AMERICA¹

A. Alonso F.², R. Casas Olascoaga², V.M. Astudillo²,
M.S. Söndahl², Ivo Gomes², Y.L. Vianna Filho³

SUMMARY

The high variability of foot-and-mouth disease, due to genetic recombination and the selective pressure of antibodies in areas of systematic vaccination, is the reason that one strain of virus causes only one epidemic wave in the field. The list of subtypes should therefore be revised periodically to eliminate those which are no longer found in the field. The diagnostic laboratories have to support the control campaigns of the disease by relating antigenically and immunologically the field strains with those used in the production of vaccines. The coverage of the vaccine strains, furthermore, is of great usefulness and interest for vaccine banks. One test which can be recommended for this type of study is the expected percentage of protection (EPP) determined through the serum protection test with sera from vaccinated and revaccinated cattle. An EPP of less than 75% with sera from revaccinated cattle is an indication of a low protection level in the field.

INTRODUCTION

Foot-and-mouth disease (FMD) is produced by a virus of the Picornaviridae family. Due to its physicochemical properties the virus is classified in the Aphthovirus genus.

Seven immunological serotypes (O, A, C, SAT₁, SAT₂, SAT₃ and Asia 1) have been identified

within the Aphthovirus genus which do not give cross protection between each other.

Due to their high mutation capability, each serotype includes various subtypes that are characterized by immunological differences among themselves. The subtypes are represented by strains isolated from foci, outbreaks or epidemics, which have similar antigenic and immunogenic characteristics. To prevent errors in identification, the denomination of a strain must include the serotype, the virus subtype, the place and the year of isolation.

VARIABILITY OF THE VIRUS IN THE ENDEMIC AREAS

The great capability of variation of FMD virus is due to the high rate of mutation (7), the genetic recombination (5) and the selective action of antibody on virus replication in partially immune animals (4). These processes cause changes in the sequence of the nucleotides, which induce modifications in the amino acids of the capsid polypeptides.

The changes in the nucleotides can be detected by biochemical techniques like RNase T₁ resistant maps (2). But the modifications of the sequence of the amino acids, when located in the antigenic determinants, are detected by antigenic and immunogenic tests (1, 6, 8) or by the sequencing of the amino acids of the viral protein (3).

The changes in antigenicity and immunogenicity of the viruses in the field are of utmost importance for the FMD control programs, since the degree of protection of the vaccinated population depends on the quality of the vaccine applied and on the homology between the vaccine strain and the field strain. These changes also have a repercussion on the diagnosis and on the production and control of the vaccine.

¹ Presented at the Meeting of the European Commission for the Control of Foot-and-Mouth Disease, Rio de Janeiro, Brazil, 15-18 Oct. 1985. Authorized publication.

² Pan American Foot-and-Mouth Disease Center (PAHO/WHO), Caixa Postal 589, 20001 Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

³ LARA-RS - Laboratório Regional de Apoio Animal, Estrada da Ponta Grossa 3096, 90000 Porto Alegre, RS, Brazil.

Because of high contagiousness of FMD and high capacity of variability of the virus, the success of the control programs depends initially on the efficiency of the epidemiological surveillance in detecting the foci, collecting samples and blocking the spread of the disease. This aspect is of vital importance in the countries having extensive livestock exploitation methods and much animal movement, which enormously facilitate propagation of the virus. The diagnosis laboratory, jointly with the quality control laboratory of vaccine, must determine the antigenic characteristics of the field strains, the immunological coverage of the vaccine strains, and the potency of the vaccines.

The antigenic characterization studies of the field virus and the analysis of the vaccine strain coverage against the epidemiologically important field viruses, must be available to other countries that vaccinate systematically and that have vaccine banks.

HISTORY OF THE VIRUS STRAINS IDENTIFIED IN SOUTH AMERICA FROM 1950 TO 1984

Retrospective studies of the FMD field viruses identified in South American countries have shown that in the Southern Cone the predominant viruses in the 1950's could be classified among the subtypes O₁, A₂₄ and C₃. In the Andean countries, the viruses belonged to the O₁ and A₅ subtypes. Peru was an exception because it frequently imported bovine meat and by-products from Argentina and Colombia, which led to the identification of viruses from the two regions.

During the 1950's, FMD vaccine in the Southern Cone of South America was produced with the Waldmann method which led to the emergence of very different virus strains when partially immune cattle at slaughterhouses were inoculated to produce antigen. Thus subtypes O₈, A₁₃, A₁₆ and A₁₇ were identified in Brazil and A₁₉ in Argentina. The isolation of those viruses was related to the sites of virus handling and vaccine production (slaughterhouses and laboratories).

The exchange of strains among laboratories led to the accidental introduction of subtype

A₁₀ into Argentina. That subtype was used in the Netherlands for vaccine preparation. Strains C₂ and A₃₀ caused epidemics in the 1940's and 50's in Rio Grande do Sul (Brazil) and in Uruguay,

Strains of the subtypes O₃, O₈, A₁₀, A₁₃, A₁₆, A₁₇, A₁₉, A₂₅, A₃₀ and C₂ have totally disappeared and have not caused foci or any epidemic outbreaks since 1963.

In the 1960's, when the network of vesicular disease diagnosis laboratories was consolidated in South America (Fig. 1), several countries initiated FMD control programs based on systematic vaccination of the cattle population. That network of laboratories led to a striking improvement in epidemiological surveillance and in the characterization of viruses occurring in the field. At that time the control programs still suffered from several shortcomings due to their inexperience. In some countries, therefore, epidemics were caused by virus strains very similar to those used in vaccine production. For example, the A₁₈ subtype was isolated in Venezuela in 1962. The disease was eliminated by massive field application of an attenuated live-virus vaccine of A₂₄ Cruzeiro and, in 1969, of subtype A₃₂ which still persists. Strains of the A₂₆ and A₂₉ subtypes, similar to A₂₄, were identified in Peru. Throughout Colombia the existence of viruses similar to those of subtype A₅ has been recorded. Those viruses were classified among the A₂₇ subtype. In 1969 the plains in Bogotá were affected by virus A₃₁. It was eliminated by strict control of foci and strategic revaccination with homologous monovalent vaccine, thus preventing its spread into other areas of the country.

With respect to type C virus strain, a focus caused by C₄ Tierra del Fuego virus occurred in 1966 in Argentine Patagonia; it was different from those previously identified in the Southern Cone. Epidemiological data on that episode indicate that carrier cattle were possibly responsible for the focus. Argentina and Paraguay were affected in 1969 by an epidemic caused by a strain antigenically not much different from subtype C₃. The World Reference Laboratory (WRL) classified the Argentine strain as subtype C₅ and the strain found in Paraguay as C₃.



FIGURE 1. Network of official laboratories for the diagnosis of vesicular diseases. South America, 1984.

The 1970's were characterized by the consolidation of the vaccine-production and control laboratories, first in Uruguay and Chile, then in Argentina, Brazil, Colombia and Paraguay. The consistent production of vaccines and their official control led to improved immunization of the cattle population in the programs. Nevertheless, strains not very different from those used in vaccine preparation were isolated. For example, C₃ Indaial affected southern Brazil from 1971 to 1974, and Argentina and Uruguay in 1974-75. The A Venceslau and A Bagé strains were isolated in 1976 in Brazil. The latter strain affected cattle in Rio Grande do Sul before spreading into Argentina and Uruguay. During its process of evolution it originated A Argentina/79 and A Brazil/79. Because those two strains are very similar and also similar to A Venceslau and A Bagé, they are included in a single group.

The 1980's are characterized by better structured programs both in the field and in the laboratories. This factor is evident in the effort developed against the O RS-Brazil/80 strains, which is rather different from the O₁ Campos virus vaccine (Table 1). The O RS-Br/80 strain produced a severe epidemic in Rio Grande do Sul, Brazil, in 1980, but quick identification of the virus and the adoption of efficient epidemiological surveillance blocked its spreading into Uruguay and Argentina.

In 1981, virus strains A Argentina/81, A Brazil/81 and A Uruguay/81 emerged. Those strains are believed to be the end effect of the epidemic caused by the A Argentina-Brazil/79 strain. Those type A virus strains isolated in 1981 did not

spread due to the epidemiological measures put into effect on that occasion.

The incidence of type C virus increased in Argentina in 1983 until it caused an epidemic in 1984. The epidemic was controlled by the use of a homologous monovalent vaccine jointly with the polyvalent vaccine. On that occasion the spread of the disease into the neighboring countries was likewise restrained, except for the occurrence of foci in the Bolivian Chaco area controlled by perifocal vaccination.

The A São Carlos virus was identified in 1984 in the state of São Paulo, Brazil (Tables 2 and 3). It was controlled through intensified epidemiological surveillance and strategic vaccination with classic A Cruzeiro and A Venceslau vaccine.

VIRUS STRAINS OF CURRENT INTEREST IDENTIFIED IN SOUTH AMERICA

Detailed analysis of the antigenic and immunogenic characteristics of the viruses identified in South America (Tables 4, 5, 6) leads to the conclusion that the currently predominant strains should be classed in the O₁, A₂₄, A₃₂ and C₃ subtypes. Additionally the A Argentina-Brazil/79 and C Argentina/84 strains should be included (Table 7), pending their classification.

CLASSIFICATION OF FMD VIRUS

At the International Symposium on Variants and Immunity, held in Lyon, France, in 1967, the

TABLE 1. Serological relationships (*r*), protection against foot generalization (PG), mouse protection indexes (MPI) and expected percentage of protection (EPP) in cattle revaccinated with strain O₁ Campos challenged against homologous virus and O RS-Br/80

Challenge strains	Hyper. serum O ₁ Campos <i>r</i>	O ₁ Campos vaccine		
		PG	Mean MPI	EPP ^a
O ₁ Campos-Br/58	1.00	16/16	3.62	87.7
O RS-Br/80	0.34	6/16	2.40	72.5

^aLow limit of confidence 95%, expected percentage of protection. GOMES, I. & ASTUDILLO, V. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 17-18:9-16, 1975.

TABLE 2. Serological relationships (*r*) and expected percentage of protection (EPP) obtained from hyperimmune sera and from cattle vaccinated and revaccinated with A₂₄ Cruzeiro-Br/55 and A Venceslau-Br/76 vaccines challenged against A São Carlos-Br/84

Challenge strains	<i>r</i> – Hyper.serum		EPP – 30 DPV		EPP – 30 DPR	
	A ₂₄ Cruz.	A Venc.	A ₂₄ Cruz.	A Venc.	A ₂₄ Cruz.	A Venc.
A ₂₄ Cruz.-Br/55	1.00	–	69.7	–	99	–
A Venc.-Br/76	–	1.00	–	96.1	–	98.7
A S.Carlos-Br/84	0.31	0.05	≤44.6	≤61.0	73.2	≤47.9

TABLE 3. Protection against foot generalization (PG) in cattle vaccinated and revaccinated with A₂₄ Cruzeiro-Br/55 and A Venceslau-Br/76 vaccine, challenged against A Venceslau-Br/76 and A São Carlos-Br/84

Challenge strains	Cattle protected/used	
	30 DPV	21 DPR
A Venceslau-Br/76	14/16	18/18
A São Carlos-Br/84	3/16	11/18

TABLE 4. Foot-and-mouth disease virus type O of historical or current interest, identified in South America. 1950-1984

Subtype	Strain	Year		
		Classification LMR	First	Identification Last
O ₁	O ₁ Campos-Br/58	1967	1958	1984
O ₃	O ₃ Venezuela/50	1956	1950	1958
O ₈	O ₈ Bahia-Br/60	1962	1960	1962
O ^a	O ^a Rio Grande do Sul-Br/80	a	1980	1980

^aIt was not sent to the World Reference Laboratory (WRL).

WRL set down the standards for classifying FMD viruses. The standards were based on obtaining the serological relationships by means of the complement fixation test (1, 8). In view of the difficulty of applying those standards, due to the existence of many subtypes each with groups of various strains, the 1976 International Symposium on Variants and Immunity proposed to analyze only the relationships (*r*) against the different existing subtypes. When the value of both *r* was

below 0.25, the strain under study was held to be a new subtype. Furthermore, it was proposed that only the epidemiologically important strains should be classified (6). The existing proposals have not resolved the problem, for no new subtypes have been identified since 1970 when virus A₃₂ was identified.

The Pan American Foot-and-Mouth Disease Center as the Reference Laboratory for the Americas and the network of national diagnosis

TABLE 5. *Foot-and-mouth disease virus type C of historical or current interest, identified in South America. 1950-1984*

Subtype	Strain	Year		
		Classification	Identification	
		LMR	First	Last
C ₂	C ₂ Pando-Uruguay/44	1969	1944	1974
C ₃	C ₃ Resende-Br/55	1969	1955	1984
C ₃	C ₃ Paraguay/69	1969	1969	1969
C ₄	C ₄ Tierra del Fuego-Arg/66	1969	1966	1966
C ₅	C ₅ Argentina/69	1969	1969	1974
C ^a	C ^a Argentina	a	1983	1984

^aPending classification by the World Reference Laboratory (WRL).

TABLE 6. *Foot-and-mouth disease virus type A of historical or current interest, identified in South America. 1950-1984*

Subtype	Strain	Year		
		Classification	Identification	
		LMR	First	Last
A ₁₀	A ₁₀ Argentina/61	1961	1961	1961
A ₁₃	A ₁₃ Santos-Br/58	1962	1958	1958
A ₁₆	A ₁₆ Belém-Br/59	1964	1959	1960
A ₁₇	A ₁₇ Guarulhos-Br/59	1964	1959	1962
A ₁₈	A ₁₈ Zulia-Ven/62	1964	1962	1963
A ₁₉	A ₁₉ Suipacha-Arg/62	1964	1963	1963
A ₂₄	A ₂₄ Cruzeiro-Br/55	1967	1955	1984
A ₂₅	A ₂₅ Argentina/59	1967	1959	1964
A ₂₆	A ₂₆ Argentina/66	1967	1963	1967
A ₂₇	A ₂₇ Colombia/67	1967	1967	1983
A ₂₉	A ₂₉ Peru/69	1970	1969	1970
A ₃₀	A ₃₀ Uruguay/45	1970	1945	1960
A ₃₁	A ₃₁ Colombia/69	1970	1969	1970
A ₃₂	A ₃₂ Venezuela/70	1970	1969	1984
A ^a	A ^a Argentina/76	a	1976	1976
A ^b	A ^b Ecuador/75	b	1975	1978
A ^b	A ^b Venceslau-Br/76	b	1976	1984
A ^b	A ^b Bagé-Br/76	b	1976	1984
A ^b	A ^b Argentina/79	b	1979	1984
A ^b	A ^b Brasil/79	b	1979	1984
A ^b	A ^b Argentina/81	b	1981	1982
A ^b	A ^b Brasil/81	b	1981	1981
A ^a	A ^a São Carlos-Br/84	a	1984	1984

^aIt was not sent to the World Reference Laboratory (WRL).

^bPending classification by the WRL.

TABLE 7. *Foot-and-mouth disease virus strains and subtypes epidemiologically important at present, identified in South America. 1984*

Country	Subtypes and strains					
	O ₁	A ₂₄	A ₃₂	A Arg/79 Br/79	C ₃	C Arg/84
Argentina	x	—	—	x	x	x
Bolivia	x	x	—	—	x	—
Brazil	x	x	—	x	x	—
Colombia	x	x	—	—	—	—
Ecuador	x	x	—	—	—	—
Paraguay	x	—	—	—	x	—
Peru	—	x	—	—	—	—
Uruguay	x	—	—	—	x	—
Venezuela	x	x	x	—	—	—

laboratories have jointly sought to resolve the situation for the countries of the region by applying the following procedure:

1. Preparation of the virus strain collection

— Identify the existing strains in the field and those handled by the official and private laboratories in the region.

— Designate the representative strain of each recognized subtype.

— Prepare antigens and hyperimmune sera from the virus strains listed in the two previous points, for CF₅₀ and ELISA tests.

— Prepare virulent virus suspensions for potency tests.

— Compile RNase T₁ resistant maps (one and two dimensional "fingerprinting").

— Keep "Serum Bank" of sera from cattle vaccinated and revaccinated with vaccines prepared with the various vaccine strains used in South America up-to-date.

— Establish the serological relationships.

— Determine the immunological coverage of the vaccine strains by means of the mouse protection and/or serum neutralization tests, with sera from vaccinated and revaccinated cattle (Serum Bank), and by direct testing.

2. Identification of new strains

— Collect samples of all the field foci.

— Characterize the strains antigenically by subtyping.

— Obtain the r₁ values against the standard strains used in vaccine preparation.

— Establish the immunological coverage of the "Serum Bank" sera from cattle vaccinated and revaccinated with the vaccine strains used in the region.

— Epidemiological information.

— When the strain persists in the field, it is included in the strain collection and all the work stated in point 1 is performed. If the strain used in the vaccine provides protection at revaccination equal to or greater than 75%, it will be included in the subtype to which the vaccine strain belongs.

— When the field strain is different from the strain used to produce the vaccines a strain will be selected to be used for vaccine production considering its antigenicity, replicability, stability and immunogenicity.

CONCLUSIONS

The great capacity of FMD virus for frequent mutation, plus the selective action affecting virus replication in field conditions, as well as its passage through different hosts, make it practically impossible for a strain to cause more than one epidemic wave in areas of systematic vaccination. Therefore,

the list of subtypes and strains should be reviewed periodically to eliminate those that have not been identified in the field in recent years.

The initial concern regarding emerging strains should be to restrain their spread in the field. The viruses causing foci in the interepidemic periods should be carefully studied: their antigenic structure should be compared with that of the vaccine strains used in the region, and the immunological coverage of the sera from animals vaccinated and revaccinated with the vaccine strain should be determined against the field strain. This test can be complemented by tests of protection against development of foot lesions in cattle vaccinated and revaccinated with the vaccine strain.

When the degree of protection in cattle at three weeks post-revaccination is equal to or exceeds 75%, and the vaccination coverage in the region is broad enough, then revaccination with the available vaccine and stringent control of animal movement will suffice to stop the spread of the new strain. The new strain should then be classified within the same subtype as the vaccine strain. When the immunological coverage is below 75%, the spread becomes epidemic and its control is difficult. In this case it is necessary to prepare and use an specific monovalent vaccine or to incorporate the strain to complement the antigenic profile of the vaccine commonly used in the region.

Countries where FMD is controlled and where the susceptible population is still protected by systematic vaccination —such as Western Europe— or disease-free countries that possess vaccine banks, should be aware of the coverage of their vaccines against the epidemiologically important strains in the endemic countries. The mouse protection test with sera from cattle vaccinated and revaccinated with their vaccines are very suitable for this type of work. The Pan American

Foot-and-Mouth Disease Center through the network of vesicular-disease diagnosis laboratories and the countries of the region have organized those studies.

REFERENCES

1. ALONSO FERNANDEZ, A., SÖNDAHL, M.S., ROSENBERG, F.J., ASTUDILLO, V.M. Variabilidad antigénica e inmunogénica del virus de la fiebre aftosa. (Antigenic and immunogenic variability of the foot-and-mouth disease virus). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 47-48: 11-22, 1983.
2. AUGÉ DE MELLO, P., CASAS OLASCOAGA, R., COSTA GIOMMI, M., ALONSO FERNANDEZ, A., SCODELLER, E.A., LA TORRE, J.L., BERGMAN, I.E. RNA fingerprinting of South American prototype aphthovirus strains. *Vaccine* 4: 105-110, 1986.
3. BECK, E., FEIL, G., STROHMAIER, K. The molecular basis of the antigenic variation of foot-and-mouth disease. *The EMBO Journal* 2 (4): 555-559, 1983.
4. HYSLOP, N.St.G. & FAGG, R.N. Isolation of variant during passage of strains of foot-and-mouth disease virus in partly immunized cattle. *J. Hyg. (Camb.)* 63: 357-368, 1965.
5. McCAHON, D., KING, A.M.O., SLADE, W.R., SKINNER, H.H., HARESHAPE, J. The potential of recombination for the production of foot-and-mouth disease virus vaccine strains. 3rd. General Meeting of ESECT, Oxford 1979. *Develop. Biol. Standard.* 46: 223-230 (S. Karger, Basel, 1980).
6. PEREIRA, H.G. Foot-and-mouth disease virus subtypes. *Int. Symp. on FMD Variants and Immunity*, Lyon, 1976. *Develop. Biol. Standard.* 35: 165-174 (S. Karger, Basel, 1977).
7. PRINGLE, C.R. Genetic aspects of the thermal inactivation properties of foot-and-mouth disease virus strains. *Bull. Off. Int. Epiz.* 61 (7-8): 619-628, 1964.
8. RESOLUTIONS. *Int. Symp. on FMD Variants and Immunity*, Lyon, 1967, *Symp. Series Imm. Stand.* 8: 169-170 (Karger, B/N.Y., 1968).

VACUNA ANTIAFTOSA CON ADYUVANTE OLEOSO¹

Hans G. Bahnemann² & Julio A. Mesquita²

RESUMEN

En este trabajo se describe la preparación de una vacuna con adyuvante oleoso y se dan algunos detalles pertinentes. Los resultados de estudios de inmunogenicidad en bovinos en pruebas de laboratorio y en experimentos de campo son indicados. También se discute la incidencia de fiebre aftosa en poblaciones bovinas vacunadas con vacuna oleosa en experimentos de campo de larga escala en Argentina y Brasil. La aplicación sistemática de vacuna antiaftosa oleosa induce mayor protección a la población bovina vacunada que la aplicación de vacunas convencionales de hidróxido de aluminio. Por lo tanto debería ser una importante herramienta en los programas de control de la fiebre aftosa en América del Sur.

INTRODUCCION

Durante los últimos 50 años la vacuna antiaftosa estándar ha sido preparada con antígeno inactivado adsorbido al hidróxido de aluminio. Aunque los métodos de producción e inactivación del antígeno han cambiado a través de los años, actualmente la mayoría de las vacunas son preparadas con hidróxido de aluminio, que ya fue usado en 1937 en la primera vacuna eficaz.

El primer estudio sobre el uso de un adyuvante oleoso con antígeno del virus inactivado fue publicado en 1963 (8). Posteriormente este adyuvante fue estudiado para la preparación de una vacuna antiaftosa eficaz para porcinos. En 1968 El Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (CPFA) inició es-

tudios, de laboratorio y de campo, de una vacuna con adyuvante oleoso para ser aplicada en bovinos. Los estudios de campo se iniciaron en Brasil y luego se extendieron a Argentina, Bolivia, Colombia, Ecuador, Paraguay, Perú y Uruguay (6).

PRODUCCION DE VACUNA

Producción de antígeno

Actualmente la mayoría de los laboratorios productores de vacuna antiaftosa usan cultivos celulares, principalmente células BHK-21, para la replicación del virus de la fiebre aftosa. Con este propósito, el CPFA también utiliza estas células cultivadas en monocamadas o en suspensión.

Los cultivos celulares son infectados con una semilla de virus que tiene pocos pasajes en cultivos celulares, un elevado título infeccioso y es controlada serológicamente para comprobar la especificidad de la cepa de virus. Las suspensiones de virus, después de recolectadas, son purificadas por un tratamiento intensivo con cloroformo y clarificadas por medio de filtración o centrifugación. Actualmente la mayoría de los laboratorios realizan la inactivación con un agente alquilante que proporciona una inactivación de primer orden o lineal. El inactivante preferido por la mayoría de los laboratorios productores de vacuna es la etilenimina binaria (BEI), desarrollada en el CPFA (4), donde es usada a 3mM durante 24 horas a 26°C. La prueba de inocuidad se hace en cultivos de células en monocamadas, realizando tres pasajes seriados.

La cantidad de antígeno viral en cada suspensión de virus es determinada por los títulos de infecciosidad; en el CPFA se usa la prueba de unidades formadoras de placa en monocamadas de cultivos celulares. La pureza y la especificidad del subtipo de cada suspensión de virus son controladas por la prueba de fijación del complemento. La cantidad de antígeno viral se determina con más precisión por la prueba de centrifugación de la suspensión viral en un gradiente de densidad de

¹ Presentado en el X Congreso Panamericano de Veterinaria y Zootecnia y V Congreso Argentino de Ciencias Veterinarias, Buenos Aires, Argentina, 23-27 septiembre 1985.

² Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (OPS/OMS), Caixa Postal 589, 20001 Río de Janeiro, RJ, Brasil.

sucrosa o de cloruro de cesio. El CPFA usa la centrifugación en un gradiente de densidad de cloruro de cesio, que a la vez permite examinar la integridad del antígeno por electroforesis en geles de poli(acrilamida) (PAGE). En la producción regular de antígeno de virus de la fiebre aftosa en monocamadas y en suspensión de cultivos celulares en el CPFA, los valores para la masa antigénica de las cuatro cepas de virus usadas (O_1 Campos, A_{24} Cruzeiro, A Venceslau y C_3 Indaial) generalmente están entre 1,5 y 3 microgramos/ml.

Preparación de antígeno

La preparación de vacuna antiaftosa polivalente con hidróxido de aluminio generalmente se hace mezclando las vacunas inactivadas monovalentes. En el caso de las vacunas oleosas, y con el uso de inactivantes de primer orden, es posible mezclar suspensiones de antígeno monovalentes antes de adicionar el adyuvante. Los diferentes antígenos son mezclados de tal manera que una única dosis de vacuna contenga antígeno de cada tipo de virus suficiente para cumplir con los requisitos de potencia de los contralores oficiales.

La cantidad de antígeno a ser usada en una vacuna es determinada en varios laboratorios por la infecciosidad y los títulos de fijación del complemento de las suspensiones virales. La determinación de la masa antigénica por medio de centrifugación en un gradiente de densidad permite, sin embargo, una mejor estandarización del contenido antigénico de las vacunas antiaftosa.

Después de los controles de potencia de un gran número de vacunas preparadas con antígenos con determinaciones de masas antigénicas, el CPFA ha decidido usar actualmente las siguientes cantidades de contenido de antígeno por dosis de cada tipo de virus: O_1 Campos, $\geq 2,2$ microgramos; virus A, $\geq 1,4$ microgramos (casi las mismas cantidades de A_{24} Cruzeiro y A Venceslau), y virus C_3 Indaial, $\geq 1,0$ microgramos. La dosis estándar de vacuna es de 5 ml y la cantidad total de antígeno está contenida en 2,5 ml de suspensión del antígeno sin ninguna concentración.

Emulsificación

El último paso en la producción de una vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso es la mezcla del

antígeno viral con una parte igual de aceite mineral blanco (Marcol 52), que contiene 10% de un emulsificante (Montanide 888), y la preparación de una emulsión primaria agua-en-aceite.

Con este propósito, la mezcla de aceite emulsificada es esterilizada por filtración en cartuchos Millipore y adicionada a la preparación de antígeno. Esta mezcla antígeno-aceite-emulsificante es pasada a través de un emulsificador industrial de tipo Silverson desarrollado en el CPFA y el grado de dispersión de la emulsión es comprobado midiendo la resistencia con un medidor de conductividad producido localmente. Para obtener la resistencia deseada de más de 100 mega Ohm, la vacuna generalmente es pasada tres veces a través del emulsificador.

La estabilidad de la emulsión de la preparación final de la vacuna es controlada por la prueba de centrifugación (3000 rpm durante 3 horas) y por el mantenimiento de las muestras de vacuna a 37°C por 15 días.

Prueba de potencia

El CPFA recomienda que la potencia de la vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso sea una expectativa porcentual de protección (EPP) de 85% en animales de 9 a 12 meses de edad. En las pruebas de desafío directas en bovinos, por lo menos 12 de 16 animales vacunados deberán estar protegidos (7).

Todas las partidas de vacuna preparadas en el CPFA son examinadas después de envasadas por medio de pruebas de potencia en cobayos y en bovinos. En cobayos, la dosis protectora cobayo 50% (DPC_{50}) es determinada por inoculación de 0,25 ml de vacuna diluida con diluyente activo y desafiada con la cepa del virus homólogo al usado en la vacuna. El valor de la DPC_{50} es calculado por el volumen de vacuna inoculado, esto es, 0,25 ml. Sin embargo, no se ha establecido una relación directa entre el valor de la DPC_{50} y la protección en bovino. Por lo tanto, se considera la DPC_{50} más como una prueba de tamiz que como una prueba definitiva para el control de potencia.

La potencia en bovinos es comprobada inoculando animales que nunca tuvieron contacto con la fiebre aftosa y determinando el nivel de anticuerpos en los sueros recolectados entre 21 y 28 días

después de la vacunación. Los anticuerpos neutralizantes son medidos por pruebas de neutralización de virus en cultivos celulares o en ratones lactantes, también denominada prueba de seroprotección (SP). Los títulos de seroprotección son usados para calcular la EPP (11, 13, 14). Para la preparación de vacunas con las cantidades de antígeno anteriormente mencionadas, la media de la EPP es de 85% como mínimo, pero generalmente está entre 90 y 97. Todas las valencias que integran las vacunas son comprobadas en cada partida de vacuna.

Los laboratorios oficiales de control en la Argentina, Brasil y Uruguay han experimentado la vacuna con adyuvante oleoso del CPFA en pruebas de desafío directas en bovinos para determinar la potencia, estabilidad y duración de inmunidad.

INMUNOGENICIDAD DE LA VACUNA ANTIAFTOSA CON ADYUVANTE OLEOSO

Estudios experimentales

La inmunogenicidad de la vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso y la duración de la inmunidad inducida por estas vacunas en bovinos jóvenes y adultos primovacunados y revacunados fueron estudiadas en extensos experimentos de laboratorio en el CPFA y en el campo (1, 2, 3, 6, 12). Las Figs. 1 y 2 muestran algunos de los resultados obtenidos en la primovacunación y revacunación respectivamente.

La vacuna con adyuvante oleoso proporciona títulos de anticuerpos séricos más altos y durante más tiempo que la vacuna de hidróxido de alumi-

nio. Este efecto es mucho más evidente en la revacunación. La recomendación para la aplicación de la vacuna con adyuvante oleoso es, por lo tanto, que los animales jóvenes con menos de dos años de edad sean revacunados con intervalos de seis meses, mientras que en los animales con más de dos años de edad previamente vacunados, una revacunación sería suficiente.

Desafío de campo

Los estudios de inmunogenicidad de la vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso, tanto de laboratorio como de campo, indicaron que este tipo de vacuna indujo niveles altos de anticuerpos para el virus de la fiebre aftosa y por períodos más largos de tiempo que la vacuna convencional de hidróxido de aluminio.

Dos países en América del Sur, Argentina y Brasil, ensayaron en larga escala la vacuna oleosa en programas de campo, comparándola con la vacuna convencional de hidróxido de aluminio (saponina). En Argentina, en Hipólito Yrigoyen, provincia de Buenos Aires, cerca de 68.000 bovinos fueron vacunados entre 1977 y 1981 con vacuna antiaftosa oleosa y la incidencia de fiebre aftosa en esos animales fue comparada, en la misma área, con los animales vacunados con vacuna comercial de hidróxido de aluminio. En 1982, Caggiano y colaboradores informaron sobre ese experimento (5) y los resultados se resumen en el Cuadro 1.

Recientemente Dora y colaboradores, en Brasil, publicaron un informe (9) comparando la

CUADRO 1. *Desafío a campo de vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso. Hipólito Yrigoyen, provincia de Buenos Aires, Argentina, 1977-1981*

Bovinos	V a c u n a s	
	Hidróxido de aluminio	Oleosa
Rebaños vacunados	1.719	494
Animales vacunados	620.462	67.715
Rebaños afectados	365	23
Animales expuestos	245.516	2.874
Animales enfermos	34.373	441
Morbilidad/1000	55	7

Fuente: Datos de Caggiano *et al.* (5).

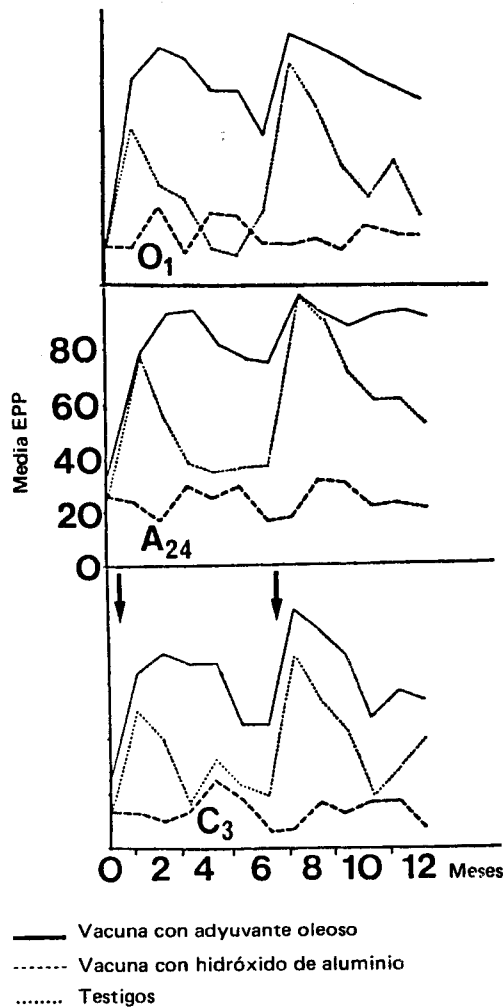


FIGURA 1. Expectativa porcentual de protección (EPP) de bovinos para los subtipos O₁, A₂₄ y C₃ del virus de la fiebre aftosa.

incidencia de fiebre aftosa durante una epidemia en Bagé, Río Grande do Sul, Brasil, en 1980, en dos grupos de bovinos vacunados con vacunas de hidróxido de aluminio y oleosa, respectivamente. Los resultados de ese estudio se resumen en el Cuadro 2.

Aunque en el experimento en Argentina el número de animales vacunados con vacuna oleosa es considerablemente menor que en el grupo control, se puede percibir claramente que la incidencia de

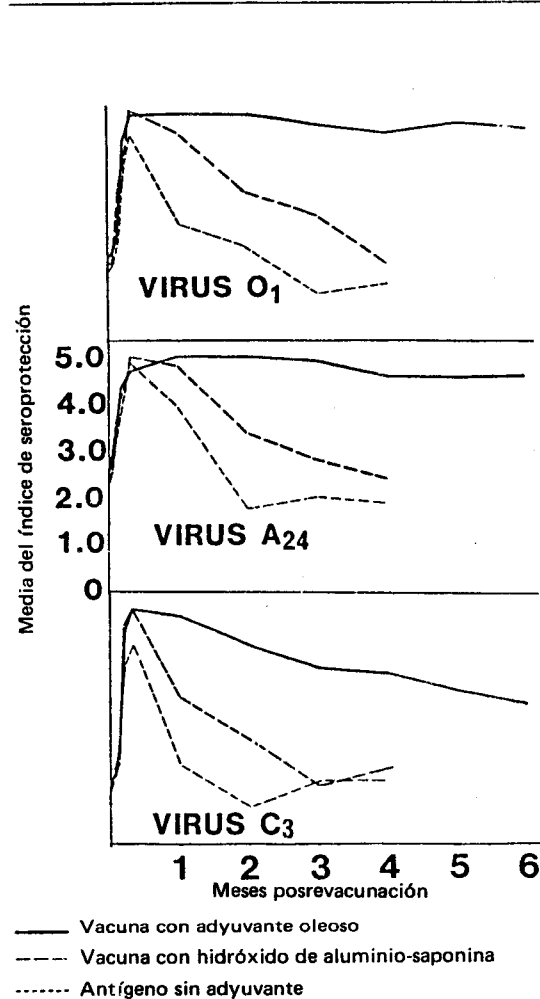


FIGURA 2. Media del índice de seroprotección de bovinos revacunados con vacunas con adyuvante oleoso, con hidróxido de aluminio-saponina o antígeno sin adyuvante

la enfermedad es menor en el grupo vacunado con vacuna oleosa. La tasa de morbilidad en el grupo vacunado con vacuna de hidróxido de aluminio es de 55 por 1000 mientras que en el grupo vacunado con vacuna oleosa solamente es de 7.

El experimento en Brasil comprende poblaciones bovinas comparativas de más de 200.000 animales para cada tipo de vacuna. Las tasas de morbilidad para la vacuna de hidróxido de aluminio y para la vacuna oleosa fueron 45 y 6

CUADRO 2. *Desafío a campo de vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso. Bagé, Río Grande do Sul, Brasil, 1980*

Bovinos	Vacuna hidróxido de aluminio	Vacuna oleosa		
		Total	Primovacunados	Revacunados
Rebaños vacunados	1.813	620	316	304
Animales vacunados	220.532	240.616	87.831	152.785
Rebaños afectados	73	20	9	11
Animales expuestos	30.780	17.164	5.647	11.517
Animales enfermos	9.958	1.546	1.218	328
Morbilidad/1000	45	6	14	2

Fuente: Datos de Dora et al. (9).

respectivamente, sorprendentemente similares a las del experimento en Argentina (Cuadro 3). También es muy interesante la comparación de los animales vacunados una, dos o más veces con vacuna con adyuvante oleoso. Los animales primovacunados tenían una tasa de morbilidad dos tercios más baja en comparación con la vacuna de hidróxido de aluminio. Los animales vacunados dos o más veces con vacuna oleosa tuvieron una tasa de morbilidad más de veinte veces más baja que los animales vacunados con vacuna de hidróxido de aluminio.

Estos resultados muestran que la incidencia de la enfermedad es bastante reducida en poblaciones de animales vacunados con vacuna con adyuvante oleoso. Concordamos con Dora y colaboradores que si todos los animales en esa determinada área hubiesen sido vacunados con una vacuna con adyuvante oleoso, la incidencia hubiese sido insignificante. Esta opinión es confirmada por la observación de que la población bovina en Bagé, que continúa siendo vacunada con vacuna oleosa, no ha tenido ningún caso de fiebre aftosa en los años siguientes a la epidemia de 1980, aunque aún se presentan brotes de fiebre aftosa en Río Grande do Sul (10). Sin embargo, la incidencia de la enfermedad ha sido drásticamente reducida, ya que casi la mitad de la población bovina en ese estado, 5.5 millones de animales de un total de 12 millones de bovinos, actualmente es vacunada con vacuna con adyuvante oleoso.

CUADRO 3. *Tasas de morbilidad (por 1000) de fiebre aftosa en dos experimentos de campo de larga escala con vacunas de hidróxido de aluminio y con adyuvante oleoso*

País	Vacunas	
	Hidróxido de aluminio	Oleosa
Argentina 1977-81	55	7
Brasil 1980	45	6

PRODUCCION ACTUAL Y FUTURA DE VACUNA ANTIAFTOSA CON ADYUVANTE OLEOSO

El CPFA prepara actualmente vacunas inactivadas con adyuvante oleoso para proyectos oficiales de campo en la Argentina, Bolivia, Brasil, Ecuador, Paraguay, Perú, Uruguay y Venezuela, y tiene en existencia 50.000 dosis de vacuna para situaciones de emergencia en áreas libres de la enfermedad.

La excelente experiencia con esta vacuna en epidemias de fiebre aftosa en el sur de Brasil y el gran interés de los ganaderos en su aplicación llevaron a las autoridades gubernamentales de Brasil a establecer laboratorios de producción de vacuna con adyuvante oleoso en Campinas (Gobierno Federal) y en Porto Alegre (Gobierno del Estado, Río Grande do Sul) que se encuentran en operación desde 1984.

Los laboratorios privados de producción de vacuna en Brasil están interesados en esta vacuna y ya han producido partidas experimentalmente. A través de la experiencia de los proyectos oficiales, apoyados por el CPFA, varios países en América del Sur también están interesados en la producción de este tipo de vacuna en un futuro próximo. Por tanto, es probable que el volumen de producción de vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso en América del Sur aumentará considerablemente. La aplicación sistemática y masiva de este tipo de vacuna tendrá un profundo efecto en la situación epidemiológica de la fiebre aftosa en el continente.

REFERENCIAS

1. ABARACON, D., ALONSO FERNANDEZ, A., MAGALLANES, N., CHARLES, E.G., DURINI, L. A. Protección de bovinos después de vacunados con vacunas antiaftosa con adyuvante oleoso. (Protection of cattle following vaccination with oil-adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine). *Bol.Cntr. Panam.Fiebre Aftosa* 37-38: 41-43, 45-47, 1980.
2. AUGÉ DE MELLO, P., ASTUDILLO, V., GOMES, I., CAMPOS GARCIA, J.T. Respuesta inmunitaria de bovinos adultos vacunados contra la fiebre aftosa con vacuna oleosa. (Immune response of adult cattle vaccinated with oil adjuvanted foot-and-mouth disease vaccines). *Bol.Centr.Panam.Fiebre Aftosa* 26: 23-25, 27-29, 1977.
3. AUGÉ DE MELLO P., SUTMÖLLER, P., FREITAS COSTA, K.de, MILLAN, A. Persistencia de anticuerpos en respuesta a la revacunación con vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso. (Persistence of antibody response after revaccination with oil-adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine). *Bol.Centr. Panam.Fiebre Aftosa* 37-38: 37-38, 39-40, 1980.
4. BAHNEMANN, H.G., AUGÉ DE MELLO, P., ABARACON, D., GOMES, I. Immunogenicity in cattle of foot-and-mouth disease vaccines inactivated with binary ethylenimine. *Bull.Off.int.Epiz.* 81: 1335-1343, 1974.
5. CAGGIANO, C.H., GIMENO, E.J., TKACICK, E., VILCHES, A.M. Aplicación experimental a campo de vacuna con adyuvante oleoso en la República Argentina. *Proc.16th Conf.FMD Comm.*, OIE, Paris, 14-17 Sept. 1982. Vol.1, p 223-241.
6. CASAS OLASCOAGA, R. Summary of current research of Pan American Foot-and-Mouth Disease Center on oil adjuvanted vaccines. *Bull.Off.int.Epiz.* 89 (11-12): 1015-1054, 1978.
7. CENTRO PANAMERICANO DE FIEBRE AFTOSA. Manual de procedimientos para el control de vacuna antiaftosa. *Ser.Man.Téc.* No. 2, 1980.
8. CUNLIFFE, H.R. & GRAVES, J.H. Formalin-treated foot-and-mouth disease virus: comparison of two adjuvants in cattle. *Can.J.Comp.Med.Vet.* 27: 193-197, 1963.
9. DORA, J.F.P., COELHO NUNES, J.C., da SILVEIRA, J.S.G., JORGENS, H.N., ROSENBERG, F.J., ASTUDILLO, V.M. Epidemia de fiebre aftosa en Bagé, RS, Brasil, 1980. Evaluación de dos sistemas de vacunación. (Epidemic of foot-and-mouth disease in Bage, RS, Brazil, 1980. Evaluation of two systems of vaccination). *Bol.Centr.Panam.Fiebre Aftosa* 49-50: 3-9, 11-17, 1984.
10. DORA, J.F.P. Comunicación personal-Personal communication, 1985.
11. GOMES, I. & ASTUDILLO, V. Foot-and-mouth disease: evaluation of mouse protection test results in relation to cattle immunity. *Bol.Centr.Panam.Fiebre Aftosa* 17-18: 9-16, 1975.
12. GOMES, I., SUTMÖLLER, P., CASAS OLASCOAGA, R. Respuesta en bovinos a la exposición del virus de la fiebre aftosa un año después de inmunizados con vacuna con adyuvante oleoso. (Response of cattle to foot-and-mouth disease (FMD) virus exposure one year after immunization with oil-adjuvanted FMD vaccine). *Bol.Centr.Panam.Fiebre Aftosa* 37-38: 25-29, 31-35, 1980.
13. SUTMÖLLER, P., FREITAS COSTA, K.de, GOMES, I. Prueba de seroneutralización por microtécnica para fiebre aftosa: cálculo de la expectativa porcentual de protección. (The serum microneutralization test: establishment of an expected percentage of protection). *Bol.Centr.Panam.Fiebre Aftosa* 39-40: 31-36, 37-42, 1980.
14. SUTMÖLLER, P., GOMES, I., ASTUDILLO, V. Potency estimation of FMD vaccines according to antibody assay results. *Mtg.Techn.Com.Eur.Comm. FMD*, Lelystad, Netherlands, 20-22 Nov., 1983. p.62-66.

OIL-ADJUVANT VACCINE AGAINST FOOT-AND-MOUTH DISEASE¹

Hans G. Bahnemann² & Julio A. Mesquita²

SUMMARY

The preparation of an oil-adjuvant vaccine against foot-and-mouth disease (FMD) is described and some pertinent details are given. Results of immunogenicity studies in cattle in laboratory and field experiments are presented and the incidence of FMD in cattle populations vaccinated with oil-adjuvant vaccine in large scale field experiments in Argentina and Brazil is discussed. The systematic application of oil-adjuvant FMD vaccine gives the vaccinated cattle population a much greater protection than vaccination with the conventional aluminum hydroxide vaccines. It therefore should become an important tool in the programs for the control of FMD in South America.

INTRODUCTION

For almost 50 years now the standard vaccine against FMD has been prepared with inactivated antigen adsorbed to aluminum hydroxide. Although the methods of antigen production and inactivation have changed over the years, most of the FMD vaccines today are still prepared with aluminum hydroxide adjuvant, which was already used in the first effective vaccine in 1937.

The first study of the use of an oil adjuvant with inactivated FMD virus antigen was published in 1963 (8). This adjuvant was subsequently studied more in relation to preparation of an effective FMD vaccine for pigs. In 1968 the Pan American Foot-and-Mouth Disease Center (PAFMDC) began laboratory and field studies of

an oil-adjuvant vaccine for application in cattle. The field studies began in Brazil and were later extended to Argentina, Bolivia, Colombia, Ecuador, Paraguay, Peru and Uruguay (6).

VACCINE PRODUCTION

Antigen production

The majority of FMD vaccine production laboratories today use cell cultures, mainly of BHK-21 cells, for the replication of FMD virus. The PAFMDC also uses these cells in monolayer or suspension cultures for this purpose.

The cell cultures are infected with a seed virus preparation which has a low passage level in cell cultures, a high infectivity titer and is controlled serologically for virus strain specificity. The virus suspensions are purified after harvest by intensive treatment with chloroform and clarification by filtration or centrifugation. Inactivation is done in most laboratories now with an alkylating agent which gives an inactivation reaction of the first order or a linear reaction. The inactivant preferred by many vaccine production laboratories is binary ethylenimine (BEI), which was developed at the PAFMDC (4). The Center uses BEI at 3 mM for 24 hours at 26°C. The inocuity test is done in monolayer cell cultures in three serial passages.

The amount of viral antigen in each virus suspension is determined by infectivity titration, at the Center by a test for plaque forming units in monolayer cell cultures. The purity and subtype specificity of each virus suspension is controlled serologically by the complement fixation test. A more precise determination of the amount of viral antigen can be done by centrifugation of the virus suspension in a density gradient of sucrose or cesium chloride. The Center uses cesium chloride density gradient centrifugation, as it also allows the sample to be used for testing the integrity of the antigenic polypeptide by poly-

¹ Presented at the X Pan-American Congress of Veterinary Medicine and Zootechnique, and V Argentinian Congress of Veterinary Sciences, Buenos Aires, Argentina, 23-27 Sept. 1985.

² Pan American Foot-and-Mouth Disease Center (PAHO/WHO), Caixa Postal 589, 20001 Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

acrylamide gel electrophoresis (PAGE). In the regular FMD virus antigen production in monolayer and suspension cell cultures at the PAFMDC the values for antigenic mass for the four virus strains used (O₁ Campos, A₂₄ Cruzeiro, A Venceslau and C₃ Indaial) are usually between 1.5 and 3 microgram per ml.

Antigen preparation

The preparation of plurivalent FMD vaccines with aluminum hydroxide adjuvant is usually done by mixing inactivated monovalent vaccines. In the case of oil-adjuvant vaccines and with the use of first order rate inactivants it is possible to mix monovalent antigen suspensions before addition of the adjuvant. The different antigens are mixed in such a manner that a single vaccine dose contains sufficient antigen of each virus type to comply with the potency requirements of the government control authority.

The amount of antigen to be used in a vaccine is determined in many laboratories on the basis of the infectivity and complement fixation titers of the virus suspensions. The more precise determination of antigenic mass by density gradient centrifugation allows however a better standardization of the antigen content of FMD vaccines.

After the potency controls of a large number of vaccines, which were prepared on the basis of antigens with antigenic mass determinations, the PAFMDC now uses the following parameters for the antigen content per dose of each virus type: virus O₁ Campos \geq 2.2 microgram, virus A \geq 1.4 microgram (about equal amounts of A₂₄ Cruzeiro and A Venceslau) and virus C₃ Indaial \geq 1.0 microgram. The standard dose of vaccine is 5 ml and the total amount of antigen is contained in 2.5 ml of antigen suspension without any concentration.

Emulsification

The final step in the production of an oil-adjuvant FMD vaccine is the mixture of the viral antigen with an equal amount of light mineral oil (Marcol 52), which contains 10% of an emul-

sifier (Montanide 888), and the preparation of a primary water-in-oil emulsion.

For this purpose the oil-emulsifier mixture is sterilized by filtration through Millipore cartridge filters and then added to the antigen preparation. This antigen-oil-emulsifier mixture is passed through an industrial in-line Silverson-type emulsifier developed at the Center and the degree of dispersion of the emulsion is controlled by resistance measurements with a locally made conductivity meter. In order to achieve the desired resistance of more than 100 mega Ohm the vaccine is usually passed three times through the emulsifier.

The stability of the emulsion of the final vaccine preparation is controlled by a centrifugation test (3000 rpm for 3 hours) and by holding vaccine samples at 37°C for 15 days.

Potency testing

The recommendations of the PAFMDC for FMD vaccine potency values of oil-adjuvant vaccines are an expected percentage of protection (EPP) of 85 in cattle of nine to twelve months old. In direct challenge tests in cattle at least 12 to 16 vaccinated animals should be protected (7).

Each batch of vaccine prepared at the Center is tested after bottling for potency in guinea pigs and cattle. In guinea pigs the 50% guinea pig protective dose (GPPD₅₀) is determined by injection of 0.25 ml of vaccine diluted with active diluent and challenge with the homologous vaccine virus strains. The GPPD₅₀ value is calculated for the injected vaccine volume, i.e. 0.25 ml. However a direct relation between GPPD₅₀ value and protection in cattle has not been established and the GPPD₅₀ test is therefore considered more to be a screening test and not a definite test for vaccine potency.

Potency in cattle is tested by vaccination of animals which had no prior contact with FMD and through antibody assays with their sera taken at 21 to 28 days after vaccination. Neutralizing antibodies are determined by virus neutralization tests in cell culture or in newborn mice, also called mouse protection test (MPT). The MPT titers are used to calculate the mean EPP

values (11, 13, 14). For vaccines prepared with the before mentioned antigen quantities the mean EPP is a minimum of 85 but usually falls between 90 and 97. All valencias in the vaccines are tested individually in each batch of vaccine.

Official government control laboratories in Argentina, Brazil and Uruguay have tested the oil-adjuvant vaccine of the Center in direct challenge tests in cattle for potency, stability and duration of immunity.

IMMUNOGENICITY OF OIL-ADJUVANT FMD VACCINE

Experimental studies

The immunogenicity of oil-adjuvant FMD vaccines as well as the duration of immunity induced by these vaccines in young and adult cattle at primovaccination and at revaccination was studied in extensive laboratory experiments at the PAFMDC and field trials in Brazil (1, 2, 3, 6, 12). Some of the results obtained are given in Fig. 1 for primovaccination and in Fig. 2 for revaccination.

The serum antibody titers are higher for the oil-adjuvant vaccine in comparison to the aluminum hydroxide vaccine for a longer period of time already in primovaccinated animals. This effect is much more pronounced upon revaccination. The recommendation for application of the oil-adjuvant vaccine is therefore that

young animals under two years of age should be revaccinated at six month intervals while for animals more than two years old and previously immunized one annual revaccination is sufficient.

Field challenge

All laboratory and field studies of the immunogenicity of oil-adjuvant FMD vaccine indicated that this type of vaccine induced high levels of antibody to FMD virus and for longer periods of time than the conventional aluminum hydroxide FMD vaccine.

Two countries in South America, Argentina and Brazil, tested the oil-adjuvant vaccine in large scale field application programs in comparison to the standard aluminum hydroxide (saponin) vaccine. In Argentina about 68,000 cattle were vaccinated from 1977 to 1981 in Hipólito Yrigoyen, Province of Buenos Aires, with oil-adjuvant FMD vaccine and the incidence of FMD in these animals compared with that in a cattle population in the same area vaccinated with commercial aluminum hydroxide vaccine. Caggiano and collaborators reported on this experiment in 1982 (5) and the results are summarized in Table 1.

Recently Dora and collaborators in Brazil published a report (9) comparing the incidence of FMD during an epidemic in Bagé, Rio Grande do Sul, in 1980 in two cattle populations vaccinated with aluminum hydroxide and oil-adjuvant

TABLE 1. *Field challenge of oil-adjuvant foot-and-mouth disease vaccine, Hipólito Yrigoyen, Buenos Aires province, Argentina, 1977-1981*

Cattle	Vaccines	
	Aluminum hydroxide	Oil adjuv.
Herds vaccinated	1,719	494
Animals vaccinated	620,462	67,715
Herds affected	365	23
Animals exposed	245,516	2,874
Animals diseased	34,373	441
Morbidity/1000	55	7

Source: Data from Caggiano *et al.* (5).

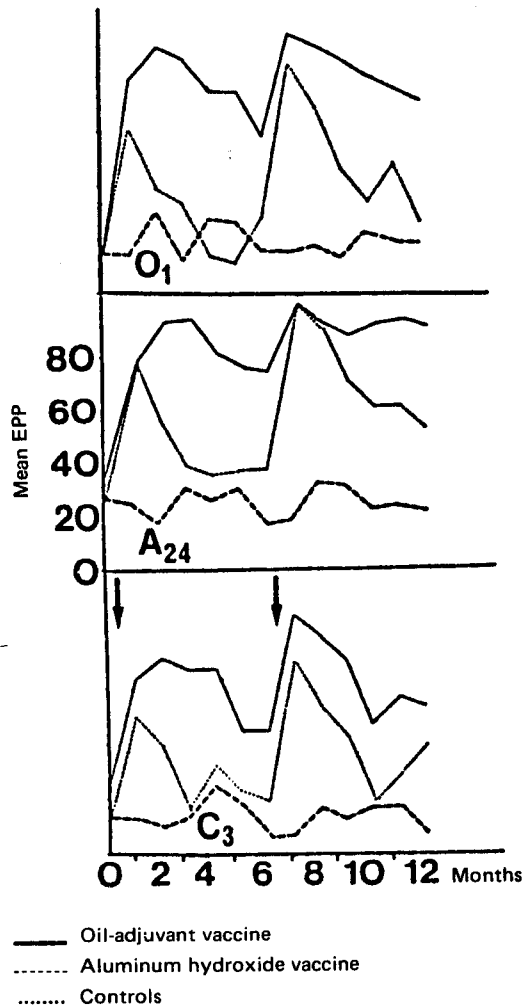


FIGURE 1. Expected percentage of protection (EPP) of cattle for FMD virus subtypes O₁, A₂₄ and C₃.

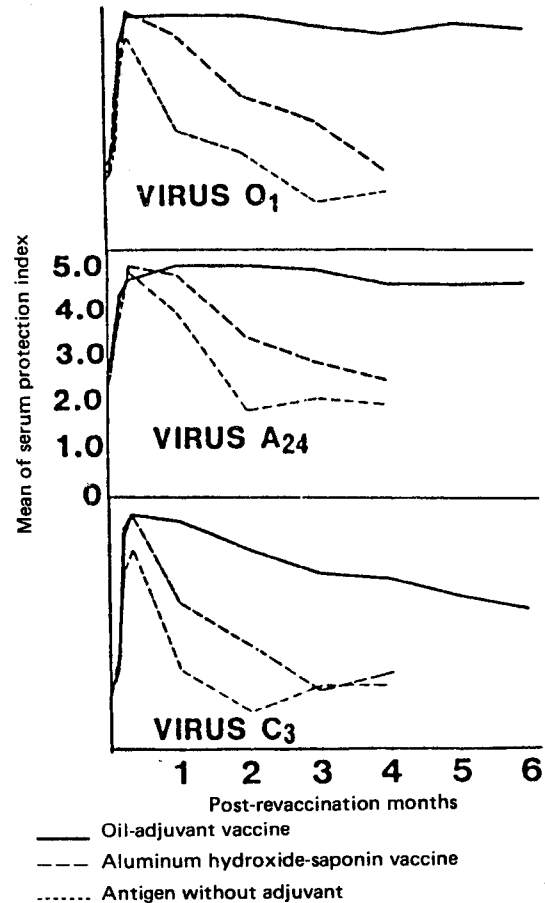


FIGURE 2. Mean of serum protection index of cattle revaccinated with oil-adjuvant, aluminum hydroxide-saponin or antigen without adjuvant vaccines.

vaccine respectively. The results of their publication are summarized in Table 2.

Although in the Argentinian experiment the number of animals vaccinated with oil-adjuvant vaccine is considerably smaller than in the control group, it can clearly be seen that the disease incidence is greatly reduced in the oil-adjuvant group. The morbidity rate in the aluminum hydroxide vaccine group is 55 per 1000 animals while it is only 7 for the oil-adjuvant group.

The Brazilian experiment has comparable cattle populations of over 200,000 animals for each vaccine type. The morbidity rates for the aluminum hydroxide vaccine and for the oil-adjuvant vaccine were 45 and 6 respectively, which is surprisingly similar to those in the Argentinian experiment (Table 3). Also very interesting is a comparison of the animals vaccinated once or two and more times with the oil-adjuvant vaccine. The primovaccinated animals

TABLE 2. *Field challenge of oil adjuvant foot-and-mouth disease vaccine, Bagé, Rio Grande do Sul, Brazil, 1980*

Cattle	Alum. hydr. vaccine	Oil adjuvant vaccine		
		Total	Primovaccinated	Revaccinated
Herds vaccinated	1,813	620	316	304
Animals vaccinated	220,532	240,616	87,831	152,785
Herds affected	73	20	9	11
Animals exposed	30,780	17,164	5,647	11,517
Animals diseased	9,958	1,546	1,218	328
Morbidity/1000	45	6	14	2

Source: Data from Dora *et al.* (9).

had a morbidity rate that was lower by two thirds in comparison to the aluminum hydroxide vaccine. But the animals vaccinated two or more times with this type of vaccine had a morbidity rate more than twenty times lower than the animals vaccinated with aluminum hydroxide vaccine.

These figures show that the incidence of FMD is greatly reduced in animal populations vaccinated with an oil-adjuvant vaccine. One can only agree with the conclusion of Dora and his collaborators, that if all the animals in the particular area had been vaccinated with an oil-adjuvant vaccine the incidence of the disease would have been insignificant. This opinion is supported by the observation that the cattle population in Bagé, which continues to be vaccinated with oil-adjuvant vaccine, has not had a single case of FMD in the five years following the described epidemic in 1980, although there are still outbreaks of FMD in Rio Grande do Sul (10). However, the incidence of FMD in Rio Grande do Sul has been reduced sharply as almost half the bovine population in this State, 5.5 million animals out of a total of about 12 million cattle, is now systematically vaccinated with oil-adjuvant vaccine.

TABLE 3. *Morbidity rate (per 1000) of foot-and-mouth disease in two large scale field challenge experiments with aluminum hydroxide and oil-adjuvant vaccines*

Country	Vaccines	
	Aluminum hydroxide	Oil adjuvant
Argentina 1977-81	55	7
Brazil 1980	45	6

PRESENT AND FUTURE FMD OIL-ADJUVANT VACCINE PRODUCTION

The PAFMDC prepares at present inactivated oil-adjuvant FMD vaccines for Government field projects in Argentina, Bolivia, Brazil, Ecuador, Paraguay, Peru, Uruguay and Venezuela and keeps a stock of 50,000 vaccine doses for emergency application at outbreaks in disease-free areas.

The excellent experience with this vaccine in FMD epidemics in southern Brazil and the great interest of farmers in the application of this vaccine lead government authorities in Brazil to establish oil-adjuvant vaccine production

laboratories in Campinas (Federal Government) and Porto Alegre (State Government, Rio Grande do Sul), which are in operation since 1984.

Private vaccine production laboratories in Brazil are interested in this vaccine and have already produced experimental batches. Through the experience of government field projects, supported by the PAFMDC, several countries in South America are also interested in the production of this type of FMD vaccine in the near future. It is therefore very likely that the production volume of oil-adjuvant FMD vaccine in South America will soon increase considerably. A systematic and massive application of this type of vaccine mainly in primary endemic areas should have a profound effect on the epidemiological situation of FMD on this continent.

REFERENCES

1. ABARACON, D., ALONSO FERNANDEZ, A., MAGALLANES, N., CHARLES, E.G., DURINI, L. A. Protección de bovinos después de vacunados con vacunas antiaftosa con adyuvante oleoso. (Protection of cattle following vaccination with oil-adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine). *Bol.Centr. Panam.Fiebre Aftosa* 37-38: 41-43, 45-47, 1980.
2. AUGÉ DE MELLO, P., ASTUDILLO, V., GOMES, I., CAMPOS GARCIA, J.T. Respuesta inmunitaria de bovinos adultos vacunados contra la fiebre aftosa con vacuna oleosa. (Immune response of adult cattle vaccinated with oil adjuvanted foot-and-mouth disease vaccines). *Bol.Centr.Panam.Fiebre Aftosa* 26: 23-25, 27-29, 1977.
3. AUGÉ DE MELLO P., SUTMÖLLER, P., FREITAS COSTA, K.de, MILLAN, A. Persistencia de anticuerpos en respuesta a la revacunación con vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso. (Persistence of antibody response after revaccination with oil-adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine). *Bol.Centr. Panam.Fiebre Aftosa* 37-38: 37-38, 39-40, 1980.
4. BAHNEMANN, H.G., AUGÉ DE MELLO, P., ABARACON, D., GOMES, I. Immunogenicity in cattle of foot-and-mouth disease vaccines inactivated with binary ethylenimine. *Bull.Off.int.Epiz.* 81: 1335-1343, 1974.
5. CAGGIANO, C.H., GIMENO, E.J., TKACICK, E., VILCHES, A.M. Aplicación experimental a campo de vacuna con adyuvante oleoso en la República Argentina. *Proc.16th Conf.FMD Comm., OIE, Paris*, 14-17 Sept. 1982. Vol.1, p.223-241.
6. CASAS OLASCOAGA, R. Summary of current research of Pan American Foot-and-Mouth Disease Center on oil adjuvanted vaccines. *Bull.Off.int.Epiz.* 89 (11-12): 1015-1054, 1978.
7. CENTRO PANAMERICANO DE FIEBRE AFTOSA. Manual de procedimientos para el control de vacuna antiaftosa. *Ser.Man.Técn.* No. 2, 1980.
8. CUNLIFFE, H.R. & GRAVES, J.H. Formalin-treated foot-and-mouth disease virus: comparison of two adjuvants in cattle. *Can.J.Comp.Med.Vet.* 27: 193-197, 1963.
9. DORA, J.F.P., COELHO NUNES, J.C., da SILVEIRA, J.S.G., JORGENS, H.N., ROSENBERG, F.J., ASTUDILLO, V.M. Epidemia de fiebre aftosa en Bagé, RS, Brasil, 1980. Evaluación de dos sistemas de vacunación. (Epidemic of foot-and-mouth disease in Bage, RS, Brazil, 1980. Evaluation of two systems of vaccination). *Bol.Centr.Panam.Fiebre Aftosa* 49-50: 3-9, 11-17, 1984.
10. DORA, J.F.P. Comunicación personal-Personal communication, 1985.
11. GOMES, I. & ASTUDILLO, V. Foot-and-mouth disease: evaluation of mouse protection test results in relation to cattle immunity. *Bol.Centr.Panam.Fiebre Aftosa* 17-18: 9-16, 1975.
12. GOMES, I., SUTMÖLLER, P., CASAS OLASCOAGA, R. Respuesta en bovinos a la exposición del virus de la fiebre aftosa un año después de inmunizados con vacuna con adyuvante oleoso. (Response of cattle to foot-and-mouth disease (FMD) virus exposure one year after immunization with oil-adjuvanted FMD vaccine). *Bol.Centr.Panam.Fiebre Aftosa* 37-38: 25-29, 31-35, 1980.
13. SUTMÖLLER, P., FREITAS COSTA, K.de, GOMES, I. Prueba de seroneutralización por microtécnica para fiebre aftosa: cálculo de la expectativa porcentual de protección. (The serum microneutralization test: establishment of an expected percentage of protection). *Bol.Centr.Panam.Fiebre Aftosa* 39-40: 31-36, 37-42, 1980.
14. SUTMÖLLER, P., GOMES, I., ASTUDILLO, V. Potency estimation of FMD vaccines according to antibody assay results. *Mtg.Techn.Com.Eur.Comm. FMD*, Lelystad, Netherlands, 20-22 Nov., 1983. p.62-66.

CARACTERIZACION EPIDEMIOLOGICA, ANTIGENICA, INMUNOGENICA Y BIOQUIMICA DEL VIRUS DE LA FIEBRE AFTOSA A-81 ARGENTINA/87

A. Alonso F.¹, R. Casas Olascoaga¹, R. Graciela Fernández,
Y.L. Vianna Filho³, M.S. Søndahl¹, Ivo Gomes¹, V.M. Astudillo¹,
P. Augé de Mello¹, H.G. Bahnemann¹

COMUNICACION BREVE

Situación de campo

De 1983 a 1986, la incidencia del virus de la fiebre aftosa tipo A en Argentina, Uruguay y el estado de Río Grande do Sul en Brasil fue baja (Cuadro 1), y la mayoría de las muestras de virus aisladas correspondían a los subtipos A₂₄ y A-79.

Estudios seroepidemiológicos llevados a cabo en muestras de campo, realizados a fines de 1986 por el Laboratorio de Diagnóstico y Referencia para las Américas en el Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (CPFA), mostraron una variación antigénica de virus de la fiebre aftosa tipo A en relación con el usual A₂₄ y aislamientos de campo A-79 en la Argentina. La situación de la enfermedad empezó a mostrar características alarmantes en ese país durante la semana 11 de 1987 (marzo 14-20). El número de cuadrantes afectados (dispersión temporal) aumentó considerablemente después de la semana 16, mucho más allá de las previsiones más pesimistas (Fig. 1). Durante ese período, la Argentina además sufrió una serie de inundaciones que crearon un intenso movimiento de animales y la concentración de animales susceptibles en el área afectada más severamente, la Pampa húmeda, lo

que contribuyó a agravar la situación de la enfermedad. La región norte y la Mesopotamia argentina también fueron afectadas por la epidemia.

La estrecha relación entre la industria ganadera argentina y su contraparte en la frontera con Uruguay, en conjunción con la presencia de una variante del virus A de la fiebre aftosa contribuyó al apareamiento de la enfermedad en el Uruguay, que se inició durante la semana 18 de 1987, después de un período de calma de cuatro años. Esta hipótesis está sostenida por las características antigénicas similares de los aislamientos de Uruguay y de Argentina. Estas muestras de campo fueron caracterizadas como virus A-81 Argentina/87.

La frontera argentina, a lo largo del río Uruguay, fue el área más afectada, aunque la enfermedad se difundió por todo el país.

La frontera entre el Uruguay y el estado de Río Grande do Sul, en Brasil, no tiene barreras naturales, lo que facilita la diseminación del virus de la fiebre aftosa entre los dos países. La enfermedad entró en el estado de Brasil durante la segunda semana de mayo (semana 19).

La situación epidemiológica observada en Río Grande do Sul mostró que la enfermedad se difundió principalmente en la región de la Campaña. El número de focos fue menor que el observado en Uruguay y Argentina y ellos ocurrieron después que en estos dos países (Fig. 1).

Características antigénicas

Los Servicios de Agricultura de la Argentina, Uruguay y Brasil enviaron al CPFA muestras de epitelio bovino recolectadas en establecimientos afectados de la región. De las diversas muestras recibidas, se seleccionó la muestra designada

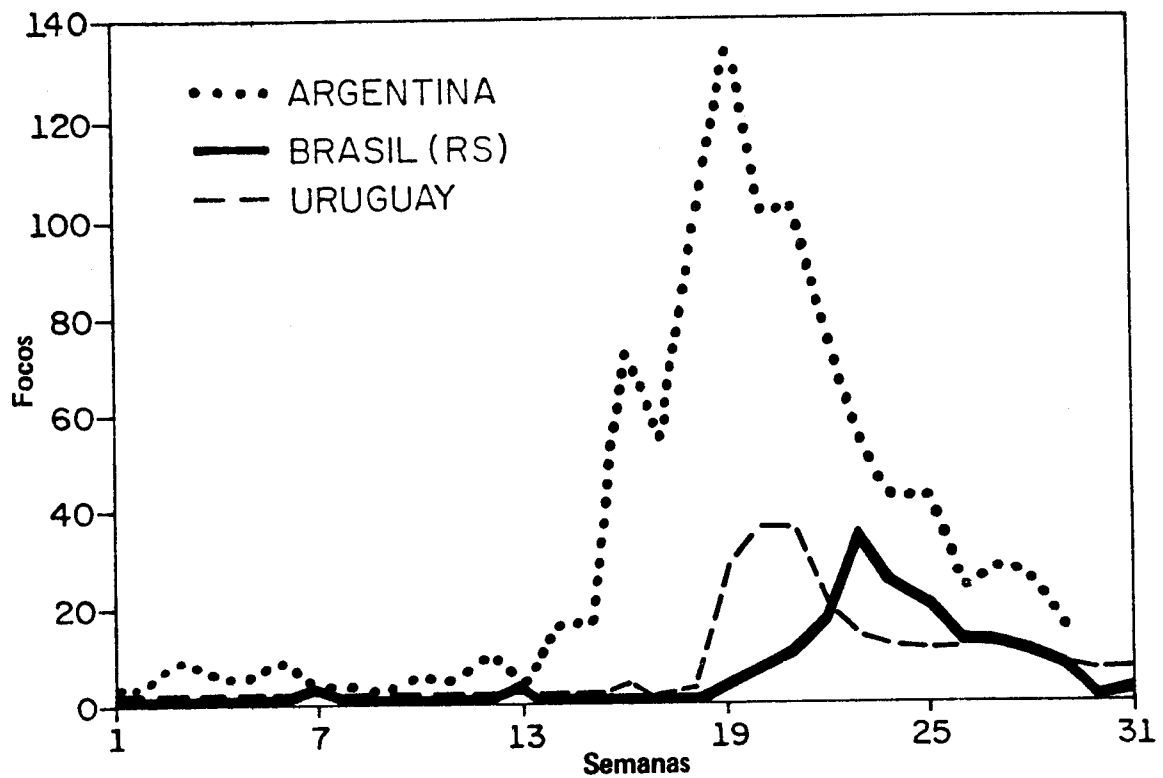
¹ Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (OPS/OMS), Caixa Postal 589, 20001, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

² SELAB, Servicios de Laboratorio del Servicio Nacional de Sanidad Animal, Avenida Fleming 1653, Martínez, Pcia. Buenos Aires, Argentina.

³ LARA-RS, Laboratório de Apoio Animal, Estrada da Ponta Grossa 3036, 90000 Porto Alegre, RS, Brasil.

CUADRO 1. *Rebaños afectados por fiebre aftosa de acuerdo con el tipo de virus, por año. 1980-1986*

País	Tipo de virus	1980	1981	1982	1983	1984	1985	1986
Argentina	O	44	64	13	351	90	10	30
	A	339	429	39	23	6	5	11
	C	37	22	4	196	348	288	316
Río Grande do Sul (Brasil)	O	379	60	6	5	12	2	1
	A	19	103	38	8	27	12	7
	C	1	13	11	7	1	5	4
Uruguay	O	127	4	1	—	10	15	2
	A	6	14	2	1	—	—	1
	C	—	—	—	4	6	3	28

FIGURA 1. *Distribución temporal de focos. Argentina, Uruguay y Río Grande do Sul (Brasil), 1987*

A-81 Argentina/87, originalmente de la municipalidad de Castellanos, provincia de Santa Fé, como la más representativa debido a su antigenicidad, inmunogenicidad, replicabilidad y estabilidad. Todas las muestras recibidas mostraron un espectro serológico similar.

Las relaciones serológicas (r y R) realizadas por fijación del complemento 50% (FC50) (1, 6) de la cepa A-81 Argentina/87 (Cuadro 2) son muy bajas, menos la r y R contra el A-81 Brasil/81 y A-81 Argentina/81. Los resultados de subtipificación de los antígenos usados para estudiar el virus A-81 Argentina/87 se muestran en el Cuadro 3.

Los estudios serológicos con la prueba de ELISA usando anticuerpos policlonales, en comparación con nuestra prueba de FC₅₀, mostraron mayor sensibilidad y una especificidad más baja, lo que no permite una interpretación correcta de los resultados. Para evitar estos problemas estamos usando anticuerpos monoclonales en la prueba de ELISA.

CUADRO 2. Relación serológica (r) y parentesco (R) de la cepa de virus de la fiebre aftosa A-81 Argentina/87

Cepas	r ₁	r ₂	R
A ₅ Kelderman-Bélgica	<0.02	0.03	<2
A ₅ Allier-Fr/60	<0.02	0.07	<4
A ₁₀ Argentina/61	<0.02	0.02	<2
A ₁₂ UK/32 (A119)	<0.02	0.05	<3
A ₂₄ Cruzeiro-Br/55	<0.02	0.06	<3
A-79 Venceslau-Br/76	<0.02	0.03	<2
A-79 Argentina/79	<0.02	0.04	<3
A-85 Sabana-Col/85	<0.02	0.08	<4
A-81 Uruguay/79	0.25	0.25	25
A-81 Brasil/81	0.50	0.42	46
A-81 Argentina/81	0.65	0.42	52
A-81 Argentina/87	1.00	1.00	100

r₁ = Capacidad de FC de A-81 Argentina/87 en suero hiperinmune de cobayo.

r₂ = Capacidad de FC del antígeno A-81 Argentina/87 por sueros hiperinmunes heterólogos.

CUADRO 3. Subtipificación de antígenos usados para estudiar la cepa A-81 Argentina/87 de fiebre aftosa. CPFA, 1987

Antígeno	Antisueros														Control antígeno
	A ₅ Keld.	A ₅ Allier	A ₁₀ Arg/61	A ₁₂ (119)	A ₂₄ Cruz.	A-79 Venc.	A-79 Arg/79	A Sab. Col/85	A-81 Uru/79	A-81 Bra/81	A-81 Arg/81	A-81 Arg/87	A Poliv.	A Control	
A ₅ Kelderman-Bélgica	00	02	29	46	22	65	66	65	67	66	67	67	03	64	
A ₅ Allier-Fr/60	01	00	54	54	64	64	66	66	67	66	66	67	02	65	
A ₁₀ Argentina/61	64	59	00	62	64	64	65	65	66	67	66	68	05	66	
A ₁₂ UK/32 (A119)	69	27	63	00	58	67	67	67	66	65	66	67	04	67	
A ₂₄ Cruzeiro-Br/55	09	06	36	14	00	65	45	60	60	60	61	64	02	67	
A-79 Venceslau-Br/76	48	48	44	40	59	00	09	62	61	65	67	64	04	65	
A-79 Argentina/79	64	64	65	64	65	18	00	65	64	65	66	67	03	66	
A-85 Sabana-Col/85	64	65	64	65	66	62	60	00	64	65	66	67	02	68	
A-81 Uruguay/79	65	64	61	62	65	64	45	66	00	04	05	06	01	66	
A-81 Brasil/81	64	65	65	62	64	64	63	63	09	00	01	01	03	66	
A-81 Argentina/81	65	64	66	66	64	61	68	66	07	08	00	03	05	67	
A-81 Argentina/87	67	66	67	67	66	66	66	64	35	07	04	00	05	68	
Control antisueros	65	66	65	67	65	65	64	65	66	65	67	67	65	65	

Cobertura inmunológica

Se estudió la cobertura inmunológica de este virus por las pruebas de seroprotección (3) y seroneutralización (4), usando sueros del banco de sueros del CPFA recolectados de bovinos vacunados y revacunados. Los resultados se expresaron como la media de la expectativa porcentual de protección (5, 7) (Cuadro 4). En Argentina y Brasil también se realizaron pruebas en bovinos vacunados y revacunados, cuyos resultados se muestran en los Cuadros 5 y 6.

Estudios bioquímicos

Se estudió por "fingerprint" (2) el ácido ribonucleico (ARN) de las cepas A-81 Argentina/81 y A-81 Argentina/87 (A-81 Castellanos-Arg/87, A-81 Rivera-Uru/87 y A-81 Palmar-Br/87) (Fig. 2). Se están realizando otros estudios como: secuenciamiento del ARN usando probes sintéticos del Centro de Biología Molecular (Madrid, España), electroenfocado y análisis en gel de poliacrilamida PAGE.

CUADRO 4. Fiebre aftosa: cobertura de varias cepas vacunales de Europa y América del Sur

Pruebas	Virus de desafío				
	A-79 Venceslau	A ₅ Kelderman	A ₂₄ Cruzeiro	A-79 Arg/79	A-81 Arg/81
EPP 30 DPV suero bovinos vacunados con A-79 Argentina/79	—	—	—	61.1	≤38.4
EPP 30 DPR suero bovinos revacunados con A-79 Argentina/79	—	—	—	90.1	52.3
EPP 30 DPV suero bovinos vacunados con A ₂₄ Cruzeiro-Br/55	—	—	67.5	—	≤37.5
EPP 30 DPR suero de bovinos revacunados con A ₂₄ Cruzeiro-Br/55	—	—	91.9	—	79.3
EPP 30 DPV suero bovinos vacunados con A ₅ Kelderman-Belg.	—	61.2	—	—	≤39.0
EPP 30 DPR suero bovinos revacunados con A ₅ Kelderman-Belg.	—	83.3	—	—	56.0
EPP 30 DPV suero bovinos vacunados con A-79 Venceslau-Br/76	68.8	—	—	—	≤39.0
EPP 30 DPR suero bovinos revacunados con A-79 Venceslau-Br/76	91.7	—	—	—	51.3
EPP 30 DPV suero bovinos vacunados con A ₂₄ Cruzeiro + A-79 Venceslau	59.6	—	62.0	—	≤38.1
EPP 30 DPR suero bovinos revacunados con A ₂₄ Cruzeiro + A-79 Venceslau	94.9	—	94.9	—	76.5

EPP = Expectativa porcentual de protección. Límite inferior de confianza (0,95).

DPV = Días posvacunación. DPR = Días posrevacunación.

CUADRO 5. Inmunidad cruzada en bovinos a las tres semanas de vacunados, realizada en SELAB, Argentina

Vacunas	Virus de desafío				
	A-79 Arg/79	A-81 Arg/81	A-81 Arg/87 (Utracán)	A-81 Arg/87 (25 de Mayo)	A-81 Arg/87 (Castellanos)
A-79 Argentina/79	14/16 ^a	—	—	—	7/16
A-79 Argentina/79 + A-81 Argentina/81	10/10	10/10	9/10	8/10	10/10

^aBovinos protegidos/bovinos vacunados.

CUADRO 6. Inmunidad cruzada en bovinos vacunados y revacunados, realizada en LARA-Porto Alegre, Brasil

Vacunas	Virus de desafío	
	A-79 Venceslau/76	A-81 Argentina/87 (Castellanos)
Bovinos vacunados con A-81 Castellanos/87	—	16/16 ^a
Bovinos revacunados con A ₂₄ Cruzeiro-Br/55 + A-79 Venceslau-Br/76	16/16	16/16

^aBovinos protegidos/bovinos vacunados.

Medidas tomadas

Después de la subtipificación de las muestras de campo en el CPFA, los países fueron notificados en 24 horas sobre las variaciones antigénicas de las cepas A-81 Argentina/87. Además, por las pruebas de seroneutralización y seroprotección usando sueros del banco de sueros del CPFA, en una semana se pudo determinar la cobertura inmunológica de las cepas vacunales comúnmente usadas en el área contra el A-81 Argentina/87 (Cuadro 4).

En todas las áreas afectadas se prohibieron ferias y exposiciones de animales. El movimiento de rebaños para abate solo se permitió después de la confirmación de la ausencia de la enfermedad en el establecimiento de origen. Se prepararon vacunas monovalentes con la cepa A-81 Argentina/81 o A-81 Argentina/87 y, en algunos casos, esta última se está incluyendo en la vacuna trivalente.

Las medidas tomadas fueron:

a) Vacunación masiva con vacuna monovalente A-81 Argentina/87 en Río Grande do Sul (Brasil) y Uruquay.

b) Vacunación selectiva con vacuna monovalente A-81 Argentina/81 en Argentina.

c) Adelantar el programa regular de vacunación usando la vacuna trivalente normal.

Actualmente se ha observado una nítida disminución de la incidencia y la cepa A-81 Argentina/87 no ha sido encontrada en ningún área de Brasil o en cualquier otro país.

REFERENCIAS

- ALONSO FERNANDEZ, A., VIANNA FILHO, Y.L., DURINI, L.A.E., SUTMÖLLER, P. Los virus de fiebre aftosa usados en la producción y control de vacunas en América del Sur. Foot-and-mouth disease viruses used in vaccine production and control in South America. *Bol.Centr.Panam.Fiebre Aftosa* 43-44: 21-28, 29-36, 1981.
- AUGÉ DE MELLO, P., CASAS OLASCOAGA, R., COSTA GIOMI, M.P., ALONSO FERNANDEZ, A., SCODELLER, E.A., LA TORRE, J.L., BERGMANN, I.E. RNA fingerprinting of South American prototype aphthovirus strains. *Vaccine* 4: 105-110, 1986.

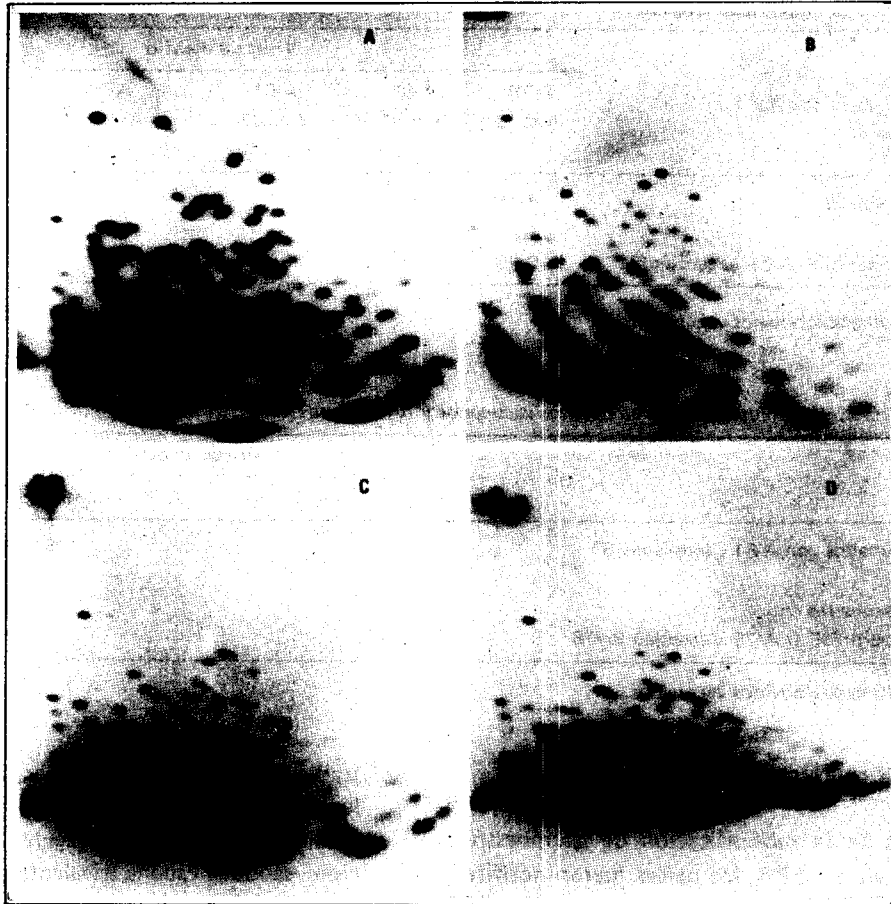


FIGURA 2. RNase T_1 "fingerprints" de cepas del tipo A del virus de la fiebre aftosa. (A) A-81 (Alen-Arg) Argentina/81, (B) A-81 (Castellanos-Arg) Argentina/87, (C) A-81 (Rivera-Uru) Argentina/87, y (D) A-81 (Palmar-Br) Argentina/87.

3. CUNHA, R.G., BAPTISTA Jr., J.A., SERRAO, U.M., TORTURELLA, I. El uso de los ratones lactantes en la evaluación de los anticuerpos contra el virus de la fiebre aftosa y su significación inmunológica. *Gac. vet. B.Aires*, 19 (110): 243-267, 1957.
4. FERREIRA, M.E.V. Prueba de microneutralización para estudio de anticuerpos de la fiebre aftosa. Microtiter neutralization test for the study of foot-and-mouth disease antibodies. *Bol.Centr.Panam.Fiebre Aftosa* 21-22: 17-20, 21-24, 1976.
5. GOMES, I. & ASTUDILLO V. Foot-and-mouth disease evaluation of mouse protection test results in relation to cattle immunity. *Bol.Centr.Panam.Fiebre Aftosa* 17-18: 9-16, 1975.
6. RESOLUTIONS. Int. Symp. on FMD Variants and Immunity, Lyon, 1967. Symp. Series Imm. Stand. 8: 169-170 (Karger, B/NY, 1968).
7. SUTMÖLLER, P., COSTA, K. de F., GOMES, I. Prueba de microneutralización por microtécnica para fiebre aftosa: cálculo de la expectativa porcentual de protección. The serum microneutralization test for foot-and-mouth disease: establishment of an expected percentage of protection. *Bol.Centr.Panam.Fiebre Aftosa* 39-40: 31-36, 37-42, 1980.

**EPIDEMIOLOGIC, ANTIGENIC, IMMUNOGENIC AND BIOCHEMICAL
CHARACTERIZATION OF APHTHOVIRUS A-81 ARGENTINA/87**

*A. Alonso F.¹, R. Casas Olascoaga¹, R. Graciela Fernández²,
Y.L. Vianna Filho³, M.S. Söndahl¹, Ivo Gomes¹, V.M. Astudillo¹,
P. Augé de Mello¹, H.G. Bahnemann¹*

SHORT COMMUNICATION

Field Situation

From 1983 to 1986 the incidence of foot-and-mouth disease virus (FMDV) type A in Argentina, Uruguay and the state of Rio Grande do Sul (Brazil) was low (Table 1) and the majority of the virus samples isolated corresponded to sub-type A₂₄ and A-79.

Seroepidemiologic studies constantly carried out on field samples by the Diagnostic Reference Laboratory for the Americas at the Pan American Foot-and-Mouth Disease Center (PAFMDC) revealed, late in 1986, an antigenic variation of FMDV type A in relation to the usual A₂₄ and A-79 field isolates in Argentina. The FMD situation started to present alarming characteristics in that country by the 11th week of 1987 (March 14-20). The number of affected grids (spacial dispersion) increased notably after the 16th week, going well beyond the most pessimistic forecast (Fig. 1). During that period, Argentina also suffered a series of floods which created an intense animal movement and concentration of susceptible animals in the more severely affected area, humid Pampa, thus contributing to the aggravation of the disease situation. The north-

ern region and the Argentinian Mesopotamia also were affected by the epidemics.

The close relationship between the Argentinian livestock industry and its counterpart on the Uruguayan border, in conjunction with the presence of a variant of the FMDV-A may have contributed to the surge of FMDV in Uruguay, which started during week 18 of 1987, after a fairly calm period of four years. This hypothesis is also supported by the similar antigenic characteristics of the isolates from Uruguay and Argentina. These field samples were characterized as FMDV A-81 Argentina/87.

The Argentinian border area along the Uruguay river was the most affected area, although the disease spread all over the country.

The border between Uruguay and the state of Rio Grande do Sul, in Brazil, has no natural barriers, which is facilitating the diffusion of FMDV between these countries. The disease entered that state of Brazil during the second week in May (week 19).

The epidemiological situation observed in Rio Grande do Sul showed that the disease spread mainly throughout the Campanha region. The number of outbreaks was lower than that observed in Uruguay and Argentina and they occurred later than in these two countries (Fig. 1).

Antigenic Characterization

Bovine epithelial samples were received from the Agriculture Services of Argentina, Uruguay and Brazil which were collected from affected farms in the region. From the different samples received, we selected the sample designated A-81 Argentina/87, originally from the county of Castellanos, province of Santa Fé, as the most

¹ Pan American Foot-and-Mouth Disease Center (PAHO/WHO), Caixa Postal 589, 20001 Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

² SELAB, Servicios de Laboratorio del Servicio Nacional de Sanidad Animal, Avenida Fleming 1653, Martínez, Pcia. Buenos Aires, Argentina.

³ LARA-RS, Laboratorio de Apoio Animal, Estrada da Ponta Grossa 3036, 90000 Porto Alegre, RS, Brasil.

TABLE 1. Herds affected by foot-and-mouth disease according to type of virus by year, 1980-1986

Country	Type of virus	1980	1981	1982	1983	1984	1985	1986
Argentina	O	44	64	13	351	90	10	30
	A	339	429	39	23	6	5	11
	C	37	22	4	196	348	288	316
Rio Grande do Sul (Brazil)	O	379	60	6	5	12	2	1
	A	19	103	38	8	27	12	7
	C	1	13	11	7	1	5	4
Uruguay	O	127	4	1	—	10	15	2
	A	6	14	2	1	—	—	1
	C	—	—	—	4	6	3	28

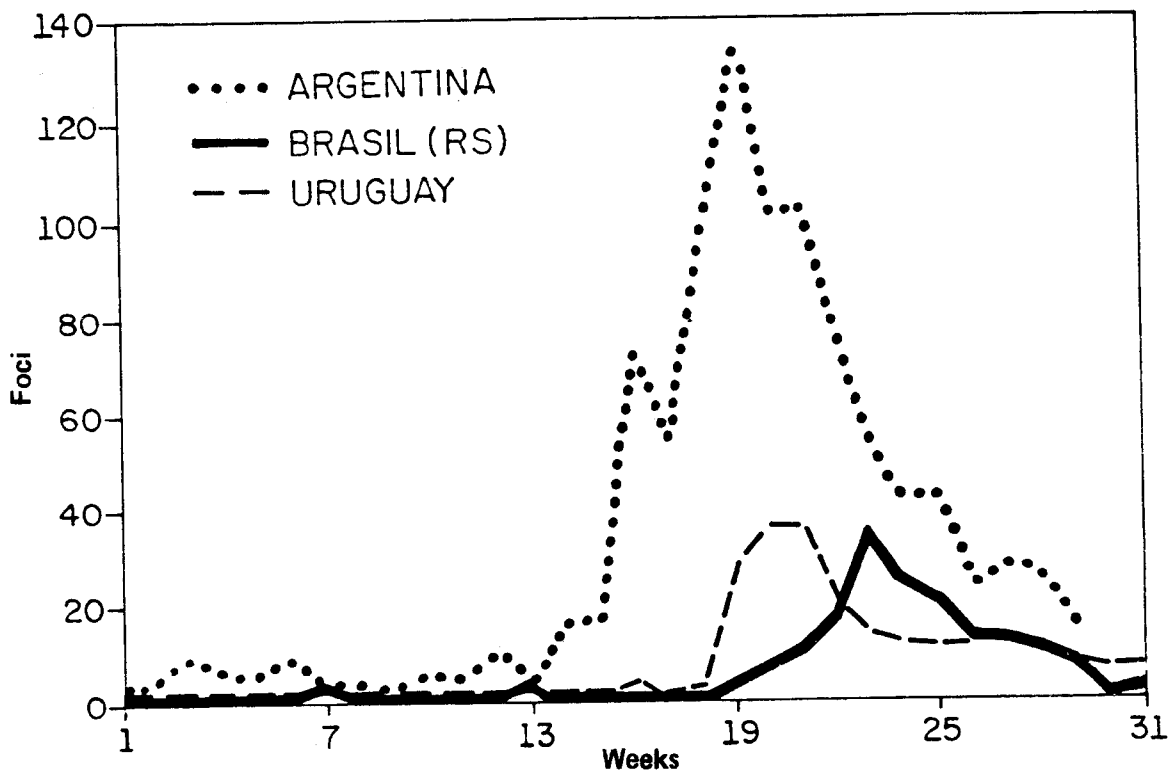


FIGURE 1. Time distribution of outbreaks. Argentina, Uruguay and Rio Grande do Sul (Brazil), 1987

representative, due to its antigenicity, immunogenicity, replication and stability. All the samples received showed a similar serological scope.

The serological relationships (*r* and *R*) carried out by 50% complement fixing (CF_{50}) (1, 6), of the strain A-81 Argentina/87 shown in Table 2 are very low excluding the *r* and *R* against A-81 Brasil/81 and A-81 Argentina/81. The results of antigens used to study FMDV are shown in Table 3.

The serological studies with ELISA using polyclonal antibodies in comparison to our CF_{50} showed a higher sensitivity but lower specificity which does not allow a correct interpretation of results. To avoid this problem we are attempting to use monoclonal antibodies in the ELISA test.

TABLE 2. Serological relationships (*r*) and parentage(*R*) of foot-and-mouth disease virus strain A-81 Argentina/87

Strains	<i>r</i> ₁	<i>r</i> ₂	<i>R</i>
A ₅ Kelderman-Belgium	<0.02	0.03	△2
A ₅ Allier-Fr/60	<0.02	0.07	△4
A ₁₀ Argentina/61	<0.02	0.02	△2
A ₁₂ UK/32 (A119)	<0.02	0.05	△3
A ₂₄ Cruzeiro-Br/55	<0.02	0.06	△3
A-79 Venceslau-Br/76	<0.02	0.03	△2
A-79 Argentina/79	<0.02	0.04	△3
A-85 Sabana-Col/85	<0.02	0.08	△4
A-81 Uruguay/79	0.25	0.25	25
A-81 Brazil/81	0.50	0.42	46
A-81 Argentina/81	0.65	0.42	52
A-81 Argentina/87	1.00	1.00	100

*r*₁ = CF capacity of guinea pig A-81 Argentina/87 hyper-immune serum.
*r*₂ = CF capacity of A-81 Argentina/87 antigen by heterologous hyperimmune sera.

TABLE 3. Subtyping of antigens used to study foot-and-mouth disease strain A-81 Argentina/87. PAFMDC, 1987

Antigen	Antisera													Control antigen
	A ₅ Keld.	A ₅ Allier	A ₁₀ Arg/61	A ₁₂ (119)	A ₂₄ Cruz.	A-79 Venc.	A-79 Arg/79	A Sab. Col/85	A-81 Uru/79	A-81 Bra/81	A-81 Arg/81	A-81 Arg/87	A Poliv.	
A ₅ Kelderman-Belgium	00	02	29	46	22	65	66	65	67	66	67	67	03	64
A ₅ Allier-Fr/60	01	00	54	54	64	64	66	66	67	66	66	67	02	65
A ₁₀ Argentina/61	64	59	00	62	64	64	65	65	66	67	66	68	05	66
A ₁₂ UK/32 (A119)	69	27	63	00	58	67	67	67	66	65	66	67	04	67
A ₂₄ Cruzeiro-Br/55	09	06	36	14	00	65	45	61	60	60	61	64	02	67
A-79 Venceslau-Br/76	48	48	44	40	59	00	09	62	61	65	67	64	04	65
A-79 Argentina/79	64	64	65	64	65	18	00	65	64	65	66	67	03	66
A-85 Sabana-Col/85	64	65	64	65	66	62	60	00	64	65	66	67	02	68
A-81 Uruguay/79	65	64	61	62	65	64	45	66	00	04	05	06	01	66
A-81 Brazil/81	64	65	65	62	64	64	63	63	09	00	01	01	03	66
A-81 Argentina/81	65	64	60	66	64	61	68	66	07	08	00	03	05	67
A-81 Argentina/87	67	66	67	67	66	86	66	64	35	07	04	00	05	68
Antisera control	65	66	65	67	65	65	64	65	65	65	67	67	65	65

Immunological Coverage

The immunological coverage of this virus was studied by the mouse protection test (3) and seroneutralization test (4), using sera from our serum bank, taken from vaccinated and revaccinated cattle. Results are expressed as mean expected percentage of protection (5, 7) in Table 4. Also Argentina and Brazil have carried out tests in vaccinated and revaccinated cattle. Results are shown in Tables 5 and 6.

Biochemical Studies

The ribonucleic acid (RNA) of the strains A-81 Argentina/81 and A-81 Argentina/87 (A-81 Castellanos-Arg/87, A-81 Rivera-Uru/87 and A-81 Palmar-Br/87) were studied by fingerprinting (2) (Fig. 2). Other studies in progress are: RNA sequencing using synthetic probes from Centro de Biología Molecular (Madrid, Spain), electrofocusing and polyacrylamide gels (PAGE) analysis.

TABLE 4. Foot-and-mouth disease: coverage of several vaccine virus strains from Europe and South America

Tests	Challenge virus				
	A-79 Venceslau	A ₅ Kelderman	A ₂₄ Cruzeiro	A-79 Arg/79	A-81 Arg/81
EPP 30 DPV bovine serum vaccinated with A-79 Argentina/79	—	—	—	61.1	≤38.4
EPP 30 DPR bovine serum revaccinated with A-79 Argentina/79	—	—	—	90.1	52.3
EPP 30 DPV bovine serum vaccinated with A ₂₄ Cruzeiro-Br/55	—	—	67.5	—	≤37.5
EPP 30 DPR bovine serum revaccinated with A ₂₄ Cruzeiro-Br/55	—	—	91.9	—	79.3
EPP 30 DPV bovine serum vaccinated with A ₅ Kelderman-Belg.	—	61.2	—	—	≤39.0
EPP 30 DPR bovine serum revaccinated with A ₅ Kelderman-Belg.	—	83.3	—	—	56.0
EPP 30 DPV bovine serum vaccinated with A-79 Venceslau-Br/76	68.8	—	—	—	≤39.0
EPP 30 DPR bovine serum revaccinated with A-79 Venceslau-Br/76	91.7	—	—	—	51.3
EPP 30 DPV bovine serum vaccinated with A ₂₄ Cruzeiro + A-79 Venceslau	59.6	—	62.0	—	≤38.1
EPP 30 DPR bovine serum revaccinated with A ₂₄ Cruzeiro + A-79 Venceslau	94.9	—	94.9	—	76.5

EPP = Expected percentage of protection. Lower confidence limit (0.95).
DPV = Days post-vaccination. DPR = Days post-revaccination.

TABLE 5. *Cross immunity three weeks vaccinated cattle performed in SELAB, Argentina*

Vaccines	Challenge virus				
	A-79 Arg/79	A-81 Arg/81	A-81 Arg/87 (Utracán)	A-81 Arg/87 (25 de Mayo)	A-81 Arg/87 (Castellanos)
A-79 Argentina/79	14/16 ^a	—	—	—	7/16
A-79 Argentina/79 + A-81 Argentina/81	10/10	10/10	9/10	8/10	10/10

^aProtected cattle/vaccinated cattle.

TABLE 6. *Cross immunity in vaccinated and revaccinated cattle performed in LARA-Porto Alegre, Brazil*

Vaccines	Challenge virus	
	A-79 Venceslau/76	A-81 Argentina/87 (Castellanos)
Vaccinated cattle with A-81 Castellanos/87	—	16/16 ^a
Revaccinated cattle with A ₂₄ Cruzeiro-Br/55 + A-79 Venceslau-Br/76	16/16	16/16

^aProtected cattle/vaccinated cattle.

Measures Taken

After subtyping of field samples at the PAFMDC the countries were notified in 24 hours, about antigenic variations in strains A-81 Argentina/87. In addition to the above, the immunologic coverage of vaccine strains normally used in the area against A-81 Argentina/87 could be determined within a week by seroneutralization and mouse protection tests using our serum bank (Table 4).

Animal fairs and expositions were prohibited in all affected areas. Movement of herds for the purpose of slaughter were only permitted after confirmation of absence of disease from the farm of origin. Monovalent vaccines with the strains A-81 Argentina/81 or A-81 Argentina/87 were prepared and in some cases this strain is being added to trivalent vaccine.

Measures taken were as follows:

- a) Massive vaccination with monovalent A-81 Argentina/87 vaccine in Rio Grande do Sul and Uruguay.

- b) Selective vaccination monovalent A-81 Argentina/81 vaccine in Argentina.

- c) Advance regular vaccination program using the normal trivalent vaccine.

At present, a clear decrease in incidence of disease is observed and strain A-81 Argentina/87 has not been found in any areas of Brazil or any other countries.

REFERENCES

1. ALONSO FERNANDEZ, A., VIANNA FILHO, Y.L., DURINI, L.A.E., SUTMÖLLER, P. Los virus de fiebre aftosa usados en la producción y control de vacunas en América del Sur. Foot-and-mouth disease viruses used in vaccine production and control in South America. *Bol.Centr.Panam.Fiebre Aftosa* 43-44: 21-28, 29-36, 1981.
2. AUGÉ DE MELLO, P., CASAS OLASCOAGA, R., COSTA GIOMI, M.P., ALONSO FERNANDEZ, A., SCODELLER, E.A., LA TORRE, J.L., BERGMANN, I.E. RNA fingerprinting of South American prototype aphthovirus strains. *Vaccine* 4: 105-110, 1986.

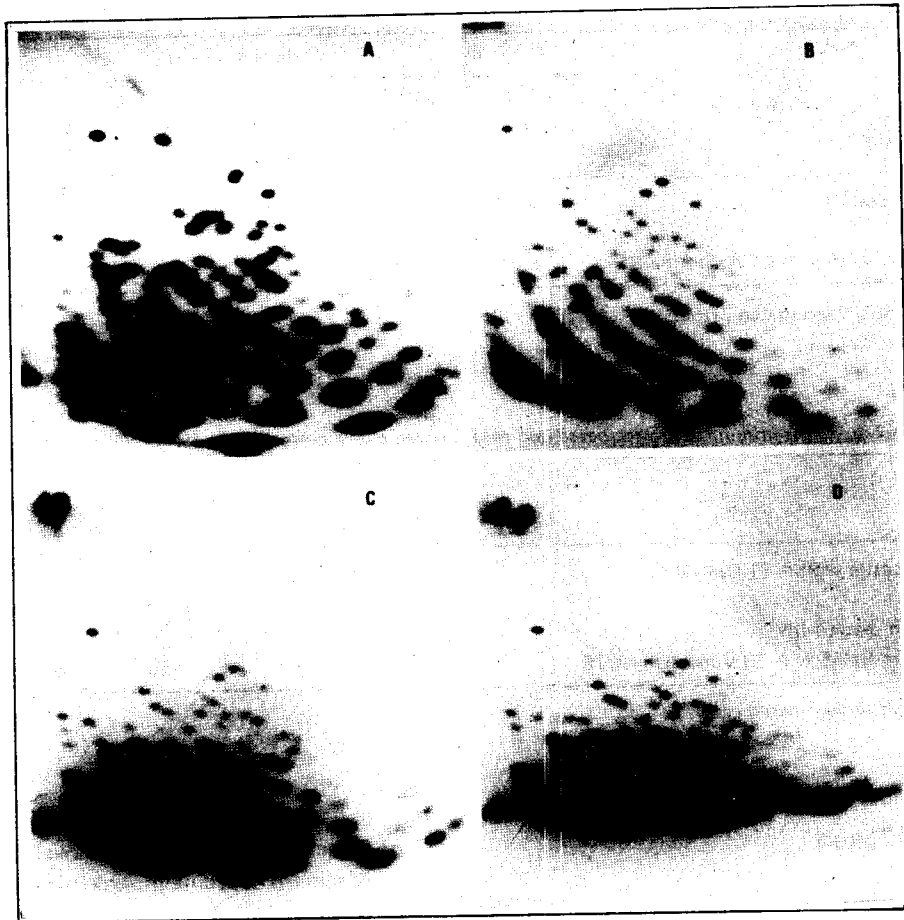


FIGURE 2. RNase T₁ Two-D maps (Fingerprints) of FMDV type A strains. (A) A-81 (Alen-Arg) Argentina/81, (B) A-81 (Castellanos-Arg) Argentina/87, (C) A-81 (Rivera-Uru) Argentina/87, and (D) A-81 (Palmar-Br) Argentina/87.

3. CUNHA, R.G., BAPTISTA Jr., J.A., SERRAO, U.M., TORTURELLA, I. El uso de los ratones lactantes en la evaluación de los anticuerpos contra el virus de la fiebre aftosa y su significación inmunológica. *Gac. vet. B.Aires*, 19 (110): 243-267, 1957.
4. FERREIRA, M.E.V. Prueba de microneutralización para estudio de anticuerpos de la fiebre aftosa. Micro-titer neutralization test for the study of foot-and-mouth disease antibodies. *Bol.Centr.Panam.Fiebre Aftosa* 21-22: 17-20, 21-24, 1976.
5. GOMES, I. & ASTUDILLO V. Foot-and-mouth disease evaluation of mouse protection test results in relation to cattle immunity. *Bol.Centr.Panam.Fiebre Aftosa* 17-18: 9-16, 1975.
6. RESOLUTIONS. Int. Symp. on FMD Variants and Immunity, Lyon, 1967. Symp. Series Imm. Stand. 8: 169-170 (Karger, B/NY, 1968).
7. SUTMÖLLER, P., COSTA, K. de F., GOMES, I. Prueba de microneutralización por microtécnica para fiebre aftosa: cálculo de la expectativa porcentual de protección. The serum microneutralization test for foot-and-mouth disease: establishment of an expected percentage of protection. *Bol.Centr.Panam.Fiebre Aftosa* 39-40: 31-36, 37-42, 1980.

RESUMENES

ABSTRACTS

AKHTAR, S. & NAEEM, K.

Texto en inglés. *Pakistan Vet. J.* 5(3):138-139, 1985. (*Vet. Bull.* 56(3): abstr. 1493, 1986). [Anim. Sci. Inst., N.A.R.C., Islamabad, Pakistan].

Modelos de anticuerpos de fijación del complemento en vacas y terneros de búfalos tras vacunación antiaftosa

Seis novillos Shorthorn Illawara australianos y seis terneros de búfalos inoculados con vacuna de cultivo celular preparada en Pakistán que contenía los antígenos tipos A y O del virus aftoso desarrollaron anticuerpos de fijación del complemento después de 7 días, y alcanzaron un pico después de tres semanas. Los títulos fueron elevados y persistieron por más tiempo en los terneros de búfalo que en los de Shorthorn. Los títulos de anticuerpos para el tipo O fueron más altos y persistieron por más tiempo que los del tipo A.

Patterns of complement fixing antibodies in cow and buffalo calves following foot and mouth disease vaccination

Six Australian Illawara Shorthorn calves and six buffalo calves injected with cell-culture vaccine prepared in Pakistan, containing both A and O types of aphtovirus antigen, developed complement-fixing antibody after 7 days, which reached a peak after 3 weeks. The titres were higher and persisted longer in buffalo calves than in the Shorthorn calves. Antibody titres to type O were higher and lasted longer than titres to type A.

ANDERSON, E.C.

Texto en inglés. *Res. Vet. Sci.* 40(2):278-280, 1986. (*FMD Bull.* 24(2):86/29, 1986). [Anim. Virus Res. Inst., Pirbright, Woking, Surrey, GU24 0NF, U.K.]

Posibilidad de transmisión de fiebre aftosa de búfalo africano (*Syncerus caffer*) a bovinos

Los virus de la fiebre aftosa tipos SAT-1 y SAT-2 aislados de bovinos enfermos y de búfalos portadores, tanto en el mismo establecimiento como en una misma área ecológica en un corto período de tiempo entre un aislamiento y otro, fueron comparados por mapeo del oligonucleótido T₁. No se observó semejanza entre los dos mapas obtenidos, lo que indicó que las diferentes poblaciones de virus eran únicas para cada especie y que no ocurrió transmisión entre las especies.

Potential for the transmission of foot and mouth disease from African buffalo (*Syncerus caffer*) to cattle

Foot and mouth disease viruses of types SAT 1 and SAT 2 isolated from diseased cattle and carrier buffalo, either on the same farm or in the same ecological area within a short time of each other, were compared by T₁ oligonucleotide mapping. No similarity was observed between the maps obtained, indicating that the different populations of virus were unique to each species and that the interspecies transmission had occurred.

ARAFI, M.H., MAZLOUM, K., DEEB, S., MOUSSA, A.A.M.

Texto en inglés. *Assiut Vet. Med. J.* 13(25):39-48, 1984. (*Vet. Bull.* 56(7): abstr. 4338, 1986). [Dep. Path., Fac. Vet. Med., Beni Suef, Cairo Univ., Egypt]

Replicación y efectos citopáticos de virus aftoso en una línea celular derivada de riñón de embrión de búfalo

La susceptibilidad de la línea celular de riñón de embrión de búfalo (BfEK) al virus de la fiebre

Replication and cytopathic effects of foot-and-mouth disease virus in a cell line derived from buffalo embryonic kidney

The susceptibility of a buffalo embryonic kidney cell line (BfEK) to aphtovirus (O₁/2/72)

aftosa (O₁/2/72) fue comparada con la de la línea celular BHK₂₁. En las dos líneas, el período latente de dos horas fue seguido por un aumento gradual del título que alcanzó su máximo a las 10-12 horas después de la infección. La mayor producción fue de 7,95-8,45 log₁₀ DICT₅₀/ml. Los efectos citopáticos, con dilatación seguida de contracción y arredondeamiento fueron similares para las dos líneas celulares. La línea celular BfEK se recomienda para el aislamiento primario, diagnóstico y estudios de las propiedades del virus aftoso.

was compared with that of a baby hamster kidney cell line (BHK₂₁). In both cell lines, a latent period of about 2 hours was followed by a gradual increase in titre which reached a maximum 10-12 hours after infection. The maximum yield was 7.95-8.45 log₁₀ TCID₅₀/ml. Cytopathic effects, with swelling followed by shrinkage and rounding were similar in the two cell lines. The BfEK cell line is recommended for primary isolation, diagnostic purposes and studies of the properties of aphthovirus.

BAYRAMOGLU, O.S. & BURGUL, A.

Texto en turco. *Doga Veterinerlik ve Hayvancilik* 9 (2): 133-143, 1985. (*Vet. Bull.* 57 (5): abstr. 2602, 1987). [Sap. Kontrol ve Arastirma Enst., Ankara, Turkey]

Estudios sobre el efecto de diferentes temperaturas de almacenamiento en los valores inmunitarios de las vacunas antiaftosa preparadas con diversos adyuvantes e inactivantes

[Studies on the effect of different storage temperatures on the immunity values of FMD vaccines prepared with different adjuvants and inactivants]

Se usó el formaldehído y la etileneimina binaria (BEI) como inactivantes y el hidróxido de aluminio y la bentonita como adyuvantes de los tipos O₁ y A₂₂ de los virus de la fiebre aftosa desarrollados en monocapas de células BHK 21 y en cultivos en suspensión. El contenido del antígeno 146S de la vacuna de tipo O₁ disminuyó con el formaldehído pero no con la BEI y no fue afectado en la vacuna del tipo A₂₂ por ningún inactivante. El almacenamiento de las vacunas a 26 y 37°C durante 15 días redujo su antigenicidad e inmunogenicidad en pruebas en cobayos, pero el almacenamiento a 4°C fue estable por lo menos durante 12 meses. El congelamiento a -20°C tuvo efectos adversos en las vacunas que contenían hidróxido de aluminio pero no en las que contenían bentonita.

Formaldehyde and binary ethylene imine (BEI) were used as inactivants and aluminium hydroxide and bentonite as adjuvants for types O₁ and A₂₂ FMD viruses grown in BHK 21 cell monolayers and suspension cultures. The 146S antigen content of the type O₁ vaccine was decreased by formaldehyde but not by BEI and was not affected in type A₂₂ vaccine by either inactivant. Storage of the vaccines at 26 and 37°C for 15 days reduced their antigenicity and immunogenicity in tests on guinea pigs, but with storage at 4°C the vaccines were stable for at least 12 months. Freezing at -20°C had an adverse effect on vaccines containing aluminium hydroxide but not on those containing bentonite.

BELWAL, L.M., PALANISAMY, R., NAGAI AH, K., KALANIDHI, A.P., JAGANNATHA, H.M., RAMANNA, B.C., SRINIVASAN, V.A.

Texto en inglés. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 5 (3): 723-730, 1986. [Indian Immunol., Hyderabad 500 004, India]

Estudio serológico del virus aftoso de tipo A en India

Serological study of foot and mouth disease virus type A in India

Se ha efectuado un estudio serológico comparativo de cepas de virus aftoso de tipo A aisladas en distintas regiones de la India empleando el micro-método de neutralización bidimensional. El estudio comparativo se refirió a las cepas que se utilizan o proponen actualmente para preparar

Serological comparisons among type A Indian FMD virus isolates from different parts of the country were made using the two-dimensional microneutralisation test. Current vaccine strains and candidate vaccine strains were employed for reference. More than one distinct antigenic group

vacunas, con lo que se pudieron identificar varios y distintos grupos antigénicos entre los virus aftosos de tipo A. La cepa A India 7/82 presenta un amplio espectro antigénico, seguida por la cepa A₂₂ India 57/79, mientras que las cepas A India 85/79 y A Holanda se caracterizan por espectros estrechos. La diversidad antigénica de los virus de tipo A en India demuestra que debe compararse en detalle una cepa propuesta como cepa vacunal con cepas representativas aisladas en las diferentes regiones del país para cerciorarse que su espectro antigénico es lo bastante amplio para cubrir la totalidad del subcontinente.

in type A FMD virus could be identified. A broad antigenic spectrum was exhibited by A India 7/82 followed by A₂₂ India 57/79 while A India 85/79 and A Holland showed narrow spectra. The antigenic diversity among type A viruses in India indicated that a proposed candidate vaccine strain needs to be thoroughly compared with representative isolates from various Indian territories to establish its wide antigenic spectrum as required for the vast sub-continent.

BLACK, L., NICHOLLS, M.J., RWEYEMAMU, M.M., FERRARI, R.L., ZUNINO, M.A.

Texto en inglés. *Res. Vet. Sci.* 40 (3): 303-307, 1986. (*FMD Bull.* 24 (3): 86/53, 1986). [Wellcome FMD Vaccine Lab., Pirbright, Surrey GU24 0NQ, UK]

Vacunación antiaftosa: un estudio multifactorial de la influencia de la dosis de antígeno e inmunógenos potencialmente competitivos en la respuesta de bovinos de diferentes edades

Grupos de 68 y 66 bovinos de 12 y 24 meses de edad respectivamente fueron divididos en 16 grupos e inoculados con vacunas antiaftosa conteniendo cepas de los virus O₁ Campos, A₂₄ Cruzeiro y C₃ Pando. La masa del antígeno 140S de las valencias O₁ y A₂₄ era variada mientras que para el C₃ se mantuvo constante. Comparaciones multifactoriales entre los títulos de los anticuerpos seroneutralizantes a los 21 días mostraron que en la mayoría de la gama hubo una relación lineal dosis respuesta log. Al doblar la dosis de antígeno aumentaron los títulos de anticuerpos séricos contra los virus A₂₄ Cruzeiro y O₁ Campos en aproximadamente 0,15 log₁₀. El antígeno A₂₄ fue cerca de 30 veces más inmunogénico que el O₁, y el C₃ estaba entre los dos. Con dosis más altas de antígeno las respuestas se nivelaron y ese nivel dependió del inmunógeno administrado. No hubo diferencias entre las respuestas de los bovinos de 12 y 24 meses de edad y tampoco hubo evidencia de la inhibición competitiva o aumento entre las cepas de virus de las vacunas.

Foot and mouth disease vaccination: a multifactorial study of the influence of antigen dose and potentially competitive immunogens on the response of cattle of different ages

Groups of 68 and 66 cattle aged 12 and 24 months respectively were each subdivided into 16 groups and inoculated with foot and mouth disease vaccines containing O₁ Campos, A₂₄ Cruzeiro and C₃ Pando virus strains. The 140S antigen mass of the O₁ and A₂₄ valencies was varied while that of C₃ was held constant. Multifactorial comparisons between the 21 day serum neutralising antibody titres showed that over most of the range there was a linear log dose response relationship. Doubling the antigen dose increased the serum antibody titres against both A₂₄ Cruzeiro and O₁ Campos by approximately 0.15 log₁₀. The A₂₄ antigen was about 30 times more immunogenic than the O₁ with C₃ intermediate between the two. At high antigen dose the responses flattened but the level at which this occurred depended on the immunogen administered. No difference could be demonstrated between the responses of 12- and 24-month-old cattle and there was no evidence of competitive inhibition or enhancement between the virus strains included in the vaccines.

BOLWELL, C., PARRY, N.J., ROWLANDS, D.J., BROWN, F., OULDRIDGE, E.J.

Texto en inglés. In Brown, F., Channock, R.M., Lerner, R.A. eds. *Vaccine 86: New Approaches to Immunization*. Cold Spring Harbour Laboratory, 1986, 51-55. (*FMD Bull.* 24 (2): 86/22, 1986). [Wellcome Biotechnology Ltd., Ash Road, Pirbright, Woking, Surrey GU24 0NQ, UK]

Variantes de virus de fiebre aftosa con amplio y limitado espectro antigénico

Aislamientos de virus del serotipo A de Asia muestran una variación antigénica intratípica considerable. Sin embargo, el antisuero de un aislamiento A₂₂ Iraq 24/64 neutraliza varios aislamientos de diferentes fuentes. Este espectro antigénico amplio es importante para la aplicación de las vacunas existentes y el diseño de nuevas vacunas. Cuatro clones de cosechas de este virus con pasajes previos en dos cultivos celulares diferentes fueron usados en la preparación de antisueros. Los antisueros para dos de estos clones neutralizaron los cuatro clones, el aislado original y una selección de aislados de campo, lo que demostró que el espectro antigénico amplio es una propiedad de los clones individuales y no una consecuencia de una mezcla estable de virus. El antisuero para un tercer clon neutralizó el clon, el clon remaneciente y el virus original, mientras que para el cuarto clon solo neutralizó homológamente. Estos dos clones fueron definidos como teniendo espectros antigénicos estrechos. Los clones de espectros antigénicos amplios tenían un tamaño de placa relativamente grande en monocapas de células BHK y crecieron muy poco en suspensiones de células de BHK. Al contrario, los clones de espectro antigénico estrecho dieron placas pequeñas y crecieron bien en suspensiones celulares. Esta diferencia de crecimiento en los dos tipos de células puede estar relacionada con la relativa habilidad de las variantes de unirse a las células. El isoelectroenfocado de las proteínas del cápside y el mapeo de la ribonucleasa T₁ del ARN del virus revelaron diferencias entre las dos categorías de virus. Entretanto, no se encontraron diferencias en la secuencia de los aminoácidos 141-160 del cápside de la proteína VP1 que ha demostrado ser inmunodominante en otras cepas de virus. Esto sugiere que el espectro antigénico es una propiedad de una estructura más compleja. Sin embargo, espectro antigénico amplio, tamaño de placa mayor e inhabilidad de crecimiento en suspensiones celulares no fueron propiedades inseparables. Por un pasaje secuencial de

Foot and mouth disease virus variants with broad and narrow antigenic spectra

Isolates of virus of serotype A from Asia show considerable intratypic antigenic variation. However, antiserum to one isolate A₂₂, Iraq 24/64 neutralizes many isolates from diverse sources. Understanding the basis for such a broad antigenic spectrum is important for the application of existing vaccines and the design of new vaccines. Four clones from harvests of this virus with two different tissue culture passage histories were used for the preparation of antisera. The antisera to two of these clones neutralized all four clones, the parental isolate and a selection of field isolates, demonstrating that the broad antigenic spectrum is a property of the individual clones and not a consequence of a stable mixture of viruses. Antiserum to a third clone neutralized the clone, the remaining clone and the parental virus, while that to the fourth clone only neutralized homologously. These two clones were defined as having a narrow antigenic spectra. The broad antigenic spectrum clones had a relatively large plaque size in BHK monolayer cells and grew only poorly in BHK suspension cells. In contrast the narrow antigenic spectrum clones gave small plaques and grew well in suspension cells. This difference in growth in the two cell types could be correlated with the relative abilities of the variants to attach to the cells. Isoelectric focussing of the capsid proteins and ribonuclease T₁ mapping of the virus RNA revealed differences between the two categories of virus. However, no differences were found in the sequence of amino acids 141-160 of the capsid protein VP1 which has been found to be immuno-dominant in other strains of the virus. This suggests that the antigenic spectrum is a property of a more complex structure. However, broad antigenic spectrum, large plaque size and the inability to grow in suspension cells were not inseparable properties. By sequential passage of clones in suspension cells, variants have been isolated with different combinations of properties.

clones en suspensiones celulares se aislaron variantes con diferentes combinaciones de propiedades.

BROEKHUIJSEN, M.P., BLOM, T., KOTTENHAGEN, M., POWLES, P.H., MELOEN, R.H., BARTELING, S.J., ENGER-VALK, B.E.

Texto en inglés. *Vaccine* 4 (2): 119-124, 1986. [Med. Biol. Lab. TNO, Lange Kleiweg 139, 2288 GJ Rijswijk, The Netherlands]

Síntesis de proteínas de fusión que contienen determinantes antigénicos del virus aftoso

Parte del genoma del virus de la fiebre aftosa tipo O₁, BFS, que incluye la secuencia de codificación del cápside del polipéptido VP1 fue clonada en *Escherichia coli* siguiendo una nueva técnica de clonaje. El clon que contenía la secuencia VP1 fue usado para la construcción de dos plasmidios de expresión que codificaron la proteína de fusión VP1. Subsecuentemente, cantidades importantes de las dos proteínas de fusión VP1-β-galactosidas que contenían una (región de aminoácido 140-160) o dos (regiones de aminoácidos 140-160 y 200-213) determinantes antigénicos del virus, fueron sintetizadas por la bacteria *E. coli*. La proteína conteniendo la región del aminoácido 140-160 del VP1 fusionada a la β-galactosidasa indujo eficientemente anticuerpos en conejos que reaccionaban específicamente con el virus aftoso tipo O₁, BFS. La misma proteína también fue capaz de producir anticuerpos neutralizantes. La proteína de fusión que contenía ambas determinantes antigénicas no indujo eficientemente anticuerpos reaccionantes con el virus aftoso.

Synthesis of fusion proteins containing antigenic determinants of foot and mouth disease virus

Part of the genome of foot and mouth disease virus (FMDV) type O₁, BFS, including the sequence encoding the capsid polypeptide VP1, was cloned in *Escherichia coli* following a new cloning strategy. The clone containing the VP1 sequence was used for the construction of two expression plasmids encoding VP1 fusion proteins. Subsequently, substantial amounts of the two VP1-β-galactosidase fusion proteins, containing either one (amino acid region 140-160) or two (amino acid regions 140-160 and 200-213) antigenic determinants of the virus, were synthesized by *E. coli* bacteria. The protein containing the amino acid region 140-160 of VP1 fused to β-galactosidase efficiently induced antibodies in rabbits specifically reacting with FMDV type O₁, BFS. The same protein was also capable of eliciting neutralizing antibodies. The fusion protein containing both antigenic determinants did not efficiently induce antibodies reacting with FMDV.

BROWN, E.

Texto en inglés. *Annales de l'Institut Pasteur* 137E (4): 504-508, 1986. [Wellcome Biotechnology Ltd., Ash Road, Pirbright, Woking, Surrey GU24 0NQ, UK]

Perspectivas para vacunas de péptido sintético contra la fiebre aftosa

La actividad del péptido 141-160 es suficientemente elevada para esperarse que esta secuencia podría servir de base para una vacuna. El principal problema que es necesario resolver es la mejor forma de presentar el péptido al sistema inmunológico. Ya se sabe que la parte principal de la respuesta de anticuerpo al péptido no neutralizará al virus. Si la configuración del péptido pudiese ser fijada para que se asemejara a aquella que adopta en la partícula de virus, parece probable que la respuesta en anticuerpos del hospedero podría

Prospects for synthetic peptide vaccines against foot-and-mouth disease

The activity of the 141-160 peptide is sufficiently high to lead to the expectation that this sequence will serve as the basis for a vaccine. The major problem which it is necessary to solve is the best way to present the peptide to the immune system. It is already known that the major part of the antibody response to the peptide will not neutralize the virus. If the configuration of the peptide could be fixed so that it resembled that which it takes up on the virus particle, it seems likely that an antibody response which

ser obtenida con pequeñas cantidades de péptido. El análisis de rayos X de la partícula viral daría la información necesaria.

would protect the host could be achieved with small amounts of peptide. X-ray analysis of the virus particle should provide the necessary information.

BUTCHIAH, G., SEN, A.K., RAO, B.U.

Texto en inglés. *Indian Vet. J.* 62 (8): 635-642, 1985. (*Vet. Bull.* 56 (4): abstr. 2121, 1986). [Indian Vet. Res. Inst., Bangalore 560 024, India]

Acetiletilenimina y etilenimina binaria como inactivantes de vacunas antiaftosa

Las tasas de inactivación del virus de la fiebre aftosa de las cepas vacunales tipos O, A, C y Asia-1 desarrolladas en BHK₂₁ fueron determinadas con 0,05% de N-acetiletilenimina (AEI) a 4, 25 y 37°C. Las cuatro cepas fueron inactivadas con AEI a 25 y 37°C de acuerdo con cinéticas de primer orden. El antígeno de fijación del complemento (FC) no fue afectado por la AEI y la etilenimina binaria (BEI). Se comparó en cobayos la potencia de las vacunas experimentales preparadas con virus aftoso inactivado con AEI y BEI con las preparadas con formaldehído.

Acetyethylenimine and binary ethylenimine as inactivants for foot-and-mouth disease virus vaccines

The rates of inactivation of foot-and-mouth disease virus (FMDV) types O, A, C and Asia-1 vaccine strains grown in BHK₂₁, suspension cell culture system were determined with 0.05% N-acetyethylenimine (AEI) at 4, 25 and 37°C. At 25 and 37°C AEI inactivated all four strains according to first-order kinetics. The complement fixing (CF) antigen was not affected by AEI and binary ethylenimine (BEI) inactivation. Experimental vaccines prepared with FMDV inactivated by AEI and BEI were comparable in their potency in guinea-pigs to vaccines prepared with formaldehyde.

DiMARCHI, R., BROOKE, G., GALE, C., CRACKNELL, V., DOEL, T., MOWAT, N.

Texto en inglés. *Science* 232 (4750): 639-641, 1986. [Eli Lilly Res. Lab., Indianapolis, IN 46282, USA]

Protección de bovinos por un péptido sintético contra la fiebre aftosa

Un péptido químicamente sintetizado consistiendo esencialmente de dos regiones separadas (residuos 141 a 158 y 200 a 213) del cápside de la proteína viral (VP1) de la cepa O₁ Kaufbeuren del virus de la fiebre aftosa fue preparado libre de cualquier proteína portadora. Produjo altos niveles de anticuerpos neutralizantes y protegió bovinos contra desafío por vía intradermolingual por inoculación de virus infeccioso. Evaluación comparativa de este péptido con un péptido de sitio único (residuos 141 a 158) en cobayos sugiere la importancia de los residuos terminales de carboxil VP1 en aumentar la respuesta de protección.

Protection of cattle against foot-and-mouth disease by a synthetic peptide

A chemically synthesized peptide consisting essentially of two separate regions (residues 141 to 158 and 200 to 213) of a virus coat protein (VP1) from the O₁ Kaufbeuren strain of foot-and-mouth disease virus was prepared free of any carrier protein. It elicited high levels of neutralizing antibody and protected cattle against intradermolingual challenge by inoculation of infectious virus. Comparative evaluation of this peptide with a single-site peptide (residues 141 to 158) in guinea pigs suggests the importance of the VP1 carboxyl terminal residues in enhancing the protective response.

DOMINGO, E., MARTINEZ-SALAS, E., SOBRINO, F. *et al.*

Texto en inglés. *Gene* 40: 1-8, 1985. (*FMD Bull.* 24 (4): abstr. 86/64, 1986). [Centro Biol. Molecular (CSIC-UAM), Univ. Autónoma, Canto Blanco, 28049 Madrid, España]

La naturaleza semejante a especies (muy heterogéneas) de poblaciones del ARN del genoma viral: importancia biológica. Revisión

Se revisó la evidencia de que poblaciones clonadas (o sin clonar) del ARN de la mayoría de los virus no consisten de una única especie de genoma de secuencia definida, sino de mezclas heterogéneas de genomas relacionados (semejantes a especies). Debido a las elevadas tasas de mutación, los genomas de una población viral semejante comparten una secuencia de consenso pero difieren entre sí y de la secuencia consenso por una, varias o muchas mutaciones. Los análisis del genoma viral por secuenciamiento, fingerprinting, clonaje de cADN, etc. indican que los ARN de la mayoría de las poblaciones virales (semejantes a especies) contienen todos los sitios posibles de mutaciones de genoma simple y doble y proporciones variables de triple, cuádruple, etc. sitios de mutación. Esta estructura semejante a especies del ARN de poblaciones virales tiene varias implicaciones teórico-prácticas importantes debido a que las mutaciones en solo uno o en varios sitios pueden alterar el fenotipo del ARN viral.

DONALDSON, A.I.

Texto en inglés. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 5 (2): 315-321, 1986. [Anim. Virus Res. Inst., Pirbright, Woking, Surrey GU24 0NF, UK]

Aerobiología de la fiebre aftosa: presentación y recientes progresos

El autor describe el método adoptado para lograr informaciones sobre los focos de fiebre aftosa en base a análisis epidemiológicos y meteorológicos. Asimismo, merced a las investigaciones experimentales de la excreción, supervivencia y poder infeccioso del virus aftoso propagado por vía aérea, se han elaborado modelos matemáticos que se pueden utilizar para anticipar el riesgo de transmisión aérea de la enfermedad en el campo.

FRANCIS, M.J. & BLACK, L.

Texto en inglés. *J. Hyg., Camb.*, 96 (3): 501-511, 1986. [Wellcome Biotechnology Ltd., Ash Road, Pirbright, Woking, Surrey GU24 0NQ, UK]

Respuesta humoral de cerdas preñadas a la vacunación antiaftosa

Cuatro grupos de cerdas fueron inoculadas, una

The quasispecies (extremely heterogeneous) nature of viral RNA genome populations: biological relevance. A review

We review evidence that cloned (or uncloned) populations of most RNA viruses do not consist of a single genome species of defined sequence, but rather of heterogeneous mixtures of related genomes (quasispecies). Due to very high mutation rates, genomes of a quasispecies virus population share a consensus sequence but differ from each other and from the consensus sequence by one, several, or many mutations. Viral genome analyses by sequencing, fingerprinting, cDNA cloning etc indicate that most viral RNA populations (quasispecies) contain all possible single and double genomic site mutations and varying proportions of triple, quadruple, etc site mutations. This quasispecies structure of RNA virus populations has many important theoretical and practical implications because mutations at only one or a few sites may alter the phenotype of an RNA virus.

Aerobiology of foot-and-mouth disease (FMD): an outline and recent advances

This paper describes how information obtained from epidemiological and meteorological analyses of outbreaks of FMD, together with experimental investigations on the excretion, survival and infection by airborne FMD virus, have been used to develop mathematical models which can be used to predict the probability of airborne FMD in the field.

Humoral response of pregnant sows to foot and mouth disease vaccination

Four groups of sows were inoculated, either

o dos veces, con vacuna antiaftosa de emulsión oleosa con O₁ BFS 1860 durante la preñez y se recolectaron muestras de suero a intervalos por más de 300 días para análisis. Las cerdas preñadas respondieron bien a la vacunación independiente del estado de gestación. La vacunación simple produjo niveles de anticuerpos de protección ($> 1,53 \log_{10} \text{SN}_{50}$) en 3 de 4 cerdas mientras que la vacunación doble produjo niveles de protección en los 6 animales. Se pudo detectar anticuerpos IgM antiaftosa durante 40-60 días después de la revacunación. Anticuerpos antiaftosa IgG aparecieron a los 10 días de la vacunación y persistieron, en cada cerda, durante el período del estudio. La respuesta antiaftosa IgA observada fue menos fácil de caracterizar debido a la variación significativa de un animal a otro. Aunque no hubo evidencia de una caída en los títulos de anticuerpos neutralizantes durante un año después de la vacunación, la población de anticuerpos antiaftosa IgG no mostró signos de un cambio en su heterogeneidad y avididad.

once or twice, with O₁ BFS 1860 foot and mouth disease oil emulsion vaccine during pregnancy and samples of serum, for analysis, were collected at intervals for > 300 days. The pregnant sows responded well to vaccination regardless of their state of gestation. Single vaccination produced protective levels of antibody ($> 1,53 \log_{10} \text{SN}_{50}$) in 3 out of 4 sows while double vaccination produced protective levels in all 6 sows tested. Anti-FMD IgM antibodies could be detected for 40-60 days after vaccination or revaccination. Anti-FMD IgG antibodies appeared within 10 days of vaccination and persisted, in each sow, for the duration of the study. The anti-FMD IgA response observed was less easy to characterize due to significant animal to animal variation. Although there was no evidence of a fall in the neutralizing antibody titres over one year post vaccination the anti-FMD IgG antibody population did show signs of a change in its heterogeneity and avidity.

FRANCIS, M.J., FRY, C.M., ROWLANDS, D.J. *et al.*

Texto en inglés, *J. gen. Virol.* 66 (11): 2347-2354, 1985. [Wellcome Biotechnology Ltd., FMD Div., Ash Road, Pirbright, Woking, Surrey GU24 0NQ, UK]

Sensibilización inmunológica con péptidos sintéticos del virus de la fiebre aftosa

Una dosis subinmunizante de un péptido sintético correspondiente a la región de los aminoácidos 141 a 160 de la proteína VP1 del virus aftoso, subtipo O₁, ligado a la molécula portadora de hemocianina (141-160 KLH) sensibilizó el sistema inmunitario de cobayos para una respuesta de anticuerpos neutralizantes de un subtipo específico del virus aftoso a una segunda dosis subinmunizante del mismo péptido. La sensibilización óptima requirió un intervalo de 42 días entre la dosis sensibilizante y la dosis de refuerzo. No se observó sensibilización en la ausencia de adyuvante. La respuesta secundaria no fue limitada por el portador pues los animales sensibilizados con 141-160 KLH podían recibir refuerzo con 141-160 sin ligar o 141-160 ligado al toxoide de tétano. También se demostró que el péptido 141-160 no ligado sensibilizará para una respuesta de anticuerpo neutralizante cuando incorporado en un portador relativamente no inmunogénico tal como pequeños

Immunological priming with synthetic peptides of foot-and-mouth disease virus

A sub-immunizing dose of a synthetic peptide corresponding to the amino acids 141 to 160 region of protein VP1 from foot-and-mouth disease virus (FMDV), serotype O₁, coupled to keyhole limpet haemocyanin (141-160 KLH) has been shown to prime the immune system of guinea-pigs for an FMDV serotype-specific neutralizing antibody response to a second sub-immunizing dose of the same peptide. Optimal priming required an interval of 42 days between the priming dose and the booster dose. No priming was observed in the absence of adjuvant. The secondary response was not restricted by the carrier since animals primed with 141-160KLH could be boosted with uncoupled 141-160 or 141-160 coupled to tetanus toxoid. It has also been shown that uncoupled peptide 141-160 will prime for a neutralizing antibody response when it is incorporated into a relatively non-immunogenic carrier such as small unilamellar liposomes.

liposomas unilamerales. Estos resultados indican que el péptido 141-160 del virus de la fiebre aftosa, al mismo tiempo que contiene un importante sitio de anticuerpo neutralizante, puede iniciar su propia respuesta auxiliar a células T.

These results indicate that the 141-160 peptide of FMDV, as well as containing an important neutralizing antibody site, can initiate its own T-helper cell response.

FRANCIS, M.J., FRY, C.M., ROWLANDS, D.J., BROWN, F., BITTLE, J.L., HOUGHTON, R.A., LERNER, R.A.

Texto en inglés. Paper prepared at 6th Intern. Congr. Immunol., Toronto, Canada. 6-11 July 1986. Solo el resumen-Summary only. (*FMD Bull.* 24 (3): abstr. 86/51, 1986). [Wellcome Biotechnology Ltd., FMD Div., Pirbright, Woking, Surrey GH24 0NQ, UK]

Un péptido sintético del virus de la fiebre aftosa que contiene determinantes de las células B y T

Un péptido sintético correspondiente a la región del aminoácido del VP1 del virus de la fiebre aftosa, subtipo O₁, ligado a la molécula portadora de hemocianina (141-160 KLH) ha demostrado previamente producir una respuesta de anticuerpo neutralizante que puede proteger cobayos contra la infección experimental con esta enfermedad. En este estudio hemos demostrado que una dosis subinmunizante de 141-160 KLH sensibilizará para un virus aftoso neutralizante, partícula viral y respuesta de anticuerpo del antipéptido 141-160. Esta sensibilización requiere adyuvante pero la respuesta secundaria no está limitada por el portador. Por lo tanto, la actividad neutralizante del virus aftoso puede ser reforzada en cobayos sensibilizados con 141-160 KLH usando péptido sin ligar. Además, el 141-160 sin ligar incorporado a pequeños liposomas unilamerales relativamente no inmunogénicos o presentados en IFA, con un residuo de "carboxy terminal cysteine", también puede ser usado para inmunizar animales experimentales. Estudios *in vitro* han demostrado que una parte de este péptido inducirá proliferación específica de células T sensibilizadoras. Por lo tanto, parece ser que el péptido 141-160 del VP1 del virus aftoso no solo contiene sitios importantes de reconocimiento de células B sino también un sitio capaz de producir actividad auxiliar de células T.

An FMDV synthetic peptide containing B and T cell determinants

A synthetic peptide corresponding to the aminoacid 141-160 region of VP1 from foot and disease virus (FMDV), serotype O₁, coupled to keyhole limpet haemocyanin (141-160 KLH) has previously been shown to elicit a neutralizing antibody response that can protect guinea pigs against experimental infection with the disease. In this study we have shown that a sub-immunizing dose of 141-160 KLH will prime for an FMDV neutralizing, anti-virus particle and anti-peptide 141-160 antibody response. This priming requires adjuvant but the secondary response is not restricted by the carrier. Thus, FMDV neutralizing activity can be boosted in 141-160 KLH primed guinea pigs using uncoupled peptide. Furthermore, uncoupled 141-160 incorporated into relatively non-immunogenic small unilamellar liposomes or presented in IFA, with a carboxy terminal cysteine residue, can also be used to immunize experimental animals. *In vitro* studies have shown that a portion of this peptide will induce specific proliferation of primed T cells. Therefore, it appears that the 141-160 peptide of FMDV VP1 not only contains important B-cell recognition sites but also a site capable of eliciting T-helper cell activity.

GIACHETTI, C., CARILLO, E.C., CAMPOS, R.H.

Texto en inglés. *Virus Res.* 6: 1-13, 1986. (*FMD Bull.* 25 (1): abstr. 87/02, 1987). [Centro Virol. Anim., Serrano 661, 1414 Cap. Fed., Argentina]

Caracterización adicional de un mutante morfogenético del virus de la fiebre aftosa

En este trabajo se describe la caracterización

Further characterization of a morphogenetic mutant of the foot-and-mouth disease virus

In this paper we describe further characteriza-

adicional de un mutante del virus de la fiebre aftosa sensible a la temperatura, el ts 139. Este mutante fue muy sensible a la inactivación por calor, sugiriendo que sus partículas virales están algo alteradas. El análisis electroforético de las proteínas estructurales del ts 139 indicó que VP2 tiene una movilidad alterada. Además, dos precursores conocidos de la proteína VP2, VP0 y p88, mostraron estar alterados, como fue p64, que contiene un papel precursor de VP2 para p64. Los pasos de montaje de la partícula viral ts 139 fueron analizados durante la replicación viral. El cápside vacío para completar la tasa de la partícula viral estaba claramente aumentado comparado con el encontrado para la cepa wt, indicando una alteración en el proceso morfogenético. Esto nos estimuló a investigar la presencia de posibles precursores virales de bajo coeficiente de sedimentación que no hubiesen sido descritos previamente en células infectadas con virus aftoso. El análisis del proceso morfogenético del virus en células 139 infectadas demostró la presencia de complejos virales formados por VP0, VP1 y VP3 que sedimentaron un poco más rápido que el marcador 12S. La composición de la proteína, el coeficiente de sedimentación de este complejo y los resultados de marcación en pulso sugieren fuertemente que es un precursor morfogenético de la partícula viral madura.

tion of a foot-and-mouth disease virus (FMDV) temperature-sensitive mutant, ts 139. This mutant was very sensitive to heat inactivation, suggesting that its viral particles are somehow altered. The electrophoretic analysis of ts 139 structural proteins indicated that VP2 has an altered mobility. Furthermore, two known protein precursors of VP2, VP0 and p88, were shown to be altered, as was p64, which supports a VP2 precursor role for p64. The ts 139 viral particle assembly pathway was analyzed during viral replication. The empty-capsid to complete-viral-particle ratio was clearly increased compared to that found for the wt strain, indicating an alteration in the morphogenetic process. This encouraged us to search for the presence of possible viral precursors of low sedimentation coefficient which have not been described previously in aphthovirus-infected cells. Analysis of the viral morphogenetic process in ts 139-infected cells demonstrated the presence of viral complexes formed by VP0, VP1 and VP3 which sedimented slightly faster than a 12 S marker. The protein composition, the sedimentation coefficient of this complex and the pulse-chase results strongly suggest that it is a morphogenetic precursor of the mature viral particle.

GRUBMAN, M.J. & MORGAN, D.O.

Texto en inglés. *Virus Res.* 6: 33-43, 1986. (*FMD Bull.* 25 (1): abstr. 87/03, 1987.) [Plum Island Anim. Dis. Center, P.O. Box 848, Greenport, NY 11944, USA]

Comparación antigénica de serotipos de virus de fiebre aftosa con anticuerpos monoclonales

Las estructuras del cápside de los siete serotipos del virus de la fiebre aftosa han sido comparadas utilizando una serie de anticuerpos monoclonales que previamente demostraron reconocer por lo menos cuatro epítopes distintos en el virus A12. Una prueba de fijación radioinmune usando antígenos marcados radiactivamente y anticuerpos monoclonales reveló que determinados epítopes de conformación dependiente se conservan entre los subtipos A, mientras que algunos epítopes continuos se conservan entre los subtipos A así como en otros subtipos del virus aftoso. Con base en la reacción diferencial entre otros subtipos y serotipos

Antigenic comparison of foot-and-mouth disease virus serotypes with monoclonal antibodies

The capsid structures of the seven serotypes of foot-and-mouth disease virus have been compared utilizing a series of neutralizing monoclonal antibodies which were previously shown to recognize at least four distinct epitopes on type A12 virus. A radioimmune binding assay using radioactively labeled antigens and the monoclonal antibodies revealed that certain conformation dependent epitopes are conserved among A subtypes, while some continuous epitopes are conserved among A subtypes as well as other FMDV serotypes. On the basis of differential reactivity among other FMDV subtypes and serotypes two

del virus aftoso se han definido dos epítopes adicionales en la partícula del A12. Ensayos de fijación y de neutralización revelaron que la presencia y función de un epítope no necesariamente están relacionadas.

additional epitopes have been defined on the A12 particle. Binding and neutralization assays revealed that the presence and function of an epitope are not necessarily correlated.

KNUDSEN, R.C., CARD, D.M., HOFFMAN, W.W.

Texto en inglés. *Antiviral Res.* 6 (12): 123-133, 1986. (*FMD Bull.* 24 (3): abstr. 86/50, 1986). [USDA Plum Island Anim. Dis. Center, New York 11944, USA]

Protección de cobayos contra fiebre aftosa local y sistémica tras administración de liposomas de aminosintéticos (Avridina)

La inyección de aminolípido sintético, Avridina, en forma de liposomas protegió a cobayos contra el desarrollo de lesiones de virus aftoso inoculado por vía intradermal en las patas traseras. Los animales fueron protegidos contra el desarrollo de vesículas en el sitio de inoculación así como el desarrollo sistémico del virus. Después de la aplicación por vía intracardíaca de 5-10 mg dosis de liposoma Avridina se obtuvo la protección máxima. Dosis más bajas dieron protección menor. Las aplicaciones por vías subcutánea o intraperitoneal fueron ineficaces. La protección máxima fue a las 0-24 h después de la aplicación de los liposomas. Formulaciones de etanol y emulsión de Avridina podrían dar protección cuando inyectadas por vía intracardíaca pero tuvieron efectos tóxicos colaterales. Los cobayos protegidos contra la primera inoculación de virus aftoso con formulaciones de liposomas y etanol de Avridina continuaron protegidos contra lesiones después de la segunda inoculación a los 15-45 días más tarde. Los títulos de anticuerpos de protección al virus aftoso de estos animales oscilaron entre un mínimo de 1:10 a 1:1000.

Protection of guinea pigs against local and systemic foot and mouth disease after administration of synthetic lipid amine (Avridine) liposomes

Injection of the synthetic lipid amine, Avridine, in the form of liposomes, protected guinea pigs against the development of lesions from foot and mouth disease virus (FMDV) inoculated intradermally into the rear footpads. The animals were protected against the development of vesicles at the inoculation site as well as the systemic spread of virus. Maximal protection was obtained after intracardial injection of 5-10 mg doses of liposomal Avridine. Lower doses yielded decreased protection. Subcutaneous or intraperitoneal routes of liposomal Avridine injection were ineffective. Protection was maximal 0-24 h after injection of liposomes. Ethanol and emulsion formulations of Avridine could induce protection when injected intracardially but had toxic side effects. Guinea pigs protected against the first FMDV inoculation by liposomal and ethanol formulations of Avridine continued to be protected against lesions after a second inoculation 15-45 days later. FMDV protective antibody titers of these animals ranged from a low of 1:10 to 1:1000.

McCAHON, D.

Texto en inglés. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 5 (2): 279-297, 1986. [Dept. Genetics, Anim. Virus Res. Inst., Pirbright, Woking, Surrey GU24 0NF, UK]

Genética del virus aftoso

El autor revisa las investigaciones sobre la genética del virus aftoso, haciendo especial énfasis en los fenómenos de mutación y de recombinación que podrían estar en el origen de modificaciones del virus, así como el uso de la genética para analizar las funciones del genoma. La tasa de mutación del virus aftoso resultó comparable a la de los

The genetics of foot-and-mouth disease virus

Work on the genetics of foot-and-mouth disease virus is reviewed, with particular emphasis on mutation and recombination as possible mechanisms of change in the virus and on the use of genetics to analyse the functions of the genome. The mutation rate has been shown to be similar to that of other RNA viruses and the regions of

demás virus de ARN. La mutación únicamente puede intervenir en algunas partes del genoma donde es tolerada y que son descritas. Se ha efectuado una investigación para estudiar el cúmulo de mutaciones en condiciones de campo; naturalmente son complejos los factores propiciantes, sin que forzosamente estén en relación directa con determinado huésped especial o con la presencia de anticuerpos. En el laboratorio, se observó en cultivo celular una recombinación entre serotipos incluso muy alejados unos de otros. No se refiere a secuencias específicas de nucleótidos ni implica una fuerte homología. Además, puede surgir en muchas células diversamente infectadas. Por consiguiente, por reserva de circunstancias y condiciones de selección propiciantes, la recombinación potencialmente es capaz de producir grandes cambios en el fenotipo del virus. Las técnicas genéticas permitieron analizar la replicación del ARN y la estructura del cápside. En el primer caso, se confirmó p56a en su papel de polimerasa vírica y se puso de manifiesto la participación de otra proteína no estructural (p34). Utilizando anticuerpos monoclonales, se pudieron aislar mutantes del virus O resistentes a la neutralización. Anallizando estos mutantes, se pudieron definir en el cápside tres lugares antigénicos que no coinciden.

MELOEN, R.H. & BARTELING, S.J.

Texto en inglés. *Virology* 149 (1): 55-63, 1986. [Central Vet. Inst., Edelhertweg 15, Lelystad 8219, PH, Netherlands]

Mapeamiento del epítotope de la estructura externa de la proteína VP1 de tres serotipos diferentes del virus de la fiebre aftosa

Todos los hexapéptidos superpuestos de estructura externa de la proteína VP1 de los tipos O₁, A₁₀ y C₁ reaccionaron con los sueros antiviral apropiados, subunidad antiviral y anti-VP1. Los resultados sugieren que los sueros antiviral pueden contener actividades contra la subunidad viral y VP1 así como contra el virus. Además, los péptidos antigénicos asociados con el virión intacto de los tres serotipos se encuentran en lugares similares en sus respectivos VP1s, y produjeron actividades neutralizantes cuando usados para vacunar. Los resultados también dan una explicación para las frecuentes reacciones cruzadas observadas entre los serotipos, especialmente en la subunidad viral y

the genome in which mutation is tolerated are described. Work has begun on studying the accumulation of mutations under field conditions; the factors affecting this are clearly complex and cannot be attributed directly to particular hosts or the presence of antibody. Recombination has been shown to occur in tissue culture in the laboratory between even the most distantly related serotypes. It does not require specific nucleotide sequences or extensive homology and occurs in many mixedly infected cells. There, given the opportunity and favourable selective conditions, it has the potential to produce large shifts in the phenotype of the virus. Genetic techniques have been applied to the analysis of RNA replication and capsid structure. In RNA replication, the role of p56a as the viral polymerase has been confirmed and the involvement of another non-structural protein (p34) has been demonstrated. Monoclonal antibodies have been used to isolate neutralisation-resistant mutants of a type O virus for which analysis has defined three non-overlapping antigenic sites on the capsid.

Epitope mapping of the outer structural protein VP1 of three different serotypes of foot-and-mouth disease virus

All overlapping hexapeptides of the outer structural protein VP1 of type O₁, type A₁₀, and type C₁ were reacted with the appropriate anti-virus, anti-viral subunit and anti-VP1 sera. The results suggest that anti-virus sera may contain activities against viral subunit and VP1 as well as against virus. Furthermore the antigenic peptides associated with the intact virion of all three serotypes are found at similar locations on their respective VP1s, and produced neutralizing activities when used for vaccination. The results often further offer an explanation for the frequently observed cross-reactions between serotypes, especially at the level of the viral subunit and VP1.

VP1. Se discute la confiabilidad de las predicciones de péptidos provechosos de perfiles de hidrofili- dad y las predicciones de la estructura secundaria. Predicciones basadas en la variación de perfiles pueden ser más útiles.

The reliability of predictions of useful peptides from hydrophilicity profiles and secondary structure predictions is questioned. Predictions based on variation profiles may be more useful.

MOWAT, G.N.

Texto en inglés. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 5 (2): 271-277, 1986. [Anim. Virus Res. Inst., Ash Road, Pirbright, Woking, Surrey GU24 0NF, UK]

Epidemiología de la fiebre aftosa en Europa

Después del gran brote de fiebre aftosa que hizo estragos en 1967-1968, Gran Bretaña ha permanecido prácticamente libre de la enfermedad con excepción de focos aislados, presentados en las islas de la Mancha en 1974 y 1981. El autor analiza los principales factores que contribuyeron a proteger su país contra la enfermedad desde hace 17 años. En los demás países europeos está regresando claramente la incidencia de la fiebre aftosa, aparte de Italia y los países del sudeste europeo. Efectivamente, desde noviembre de 1984, en Italia ocurrieron 152 focos producidos por el virus del subtipo A₅. Asimismo, en 1984, el virus Asia 1 procedente del Medio Oriente provocó dos focos en Grecia, dentro de la zona tampón de Tracia. En coordinación con la OIE, la Comisión europea de la FAO organizó un programa de vacunación de emergencia en la zona tampón.

Epidemiology of foot-and-mouth disease in Europe

Great Britain has remained practically free from foot-and-mouth disease since the last major outbreak of 1967-1968, with the exception of isolated outbreaks in the Channel Islands in 1974 and 1981. The author analyses the main factors which have helped to protect the country from the disease for 17 years. In other European countries the incidence of the disease is declining, with the exception of Italy and countries of south-eastern Europe. 152 outbreaks caused by subtype A₅ of the virus have occurred in Italy since November 1984. Also in 1984, type Asia 1 virus of Middle-East origin caused two outbreaks in Greece, within the buffer zone of Thrace. Emergency vaccination campaigns have been conducted in this buffer zone as a result of joint action by the OIE and the European Commission of the FAO.

MURDIN, A.D.

Texto en inglés. *Vaccine* 4 (4): 210-211, 1986. [Dep. Microbiol. Univ. Surrey, Guildford, Surrey GU2 5XH, UK]

Vacunas antiaftosa de péptidos sintéticos

Vacunas contra la fiebre aftosa de péptidos sintéticos han sido estudiadas durante varios años. Informes recientes indican que se están desarrollando vacunas sintéticas para uso en bovinos. Sin embargo, aún hay algunos problemas sin resolver referentes a la respuesta de bovinos y otros animales a esta vacuna. Esta breve revisión describe algunos estudios recientes de vacunas sintéticas contra la fiebre aftosa y da atención a algunas deficiencias en el conocimiento de la respuesta de estas vacunas.

Synthetic peptide vaccines against foot and mouth disease

Synthetic peptide vaccines against foot and mouth disease (FMD) have been under examination for several years. Recent reports indicate that effective synthetic vaccines for use in cattle are being developed. However, there are still some unresolved questions regarding the response of cattle and other animals to these vaccines. This brief review describes some recent studies of synthetic vaccines against FMD and draws attention to some deficiencies in our understanding of the response to these vaccines.

SINGH, E.L., McVICAR, J.W., HARE, W.C.D., MEBUS, C.A.

Texto en inglés. *Theriogenology* 26 (5): 587-593, 1986. (*Vet. Bull.* 57 (3): abstr. 1292, 1987). [Anim. Dis. Res. Inst., P.O. Box 11300, Nepean, Ont. K2H 8P9, Canada]

Transferencia de embriones como un medio para controlar la enfermedad viral. VII. Exposición in vitro de embriones bovinos y porcinos al virus de la fiebre aftosa

Cuando 169 embriones bovinos con zona pelúcida intacta fueron expuestos a 10^6 UFP/ml de virus de la fiebre aftosa y luego lavados, no se detectó virus infeccioso en ninguno de ellos. Sin embargo se encontró infecciosidad viral asociada con 14 de 42 embriones bovinos incubados (libres de zona pelúcida) y en menor número en embriones porcinos con zona pelúcida intacta. Los embriones porcinos fueron ensayados individualmente y en grupos de ocho. Cuatro de los 124 embriones y 2 de los 9 grupos de embriones eran portadores de virus infeccioso.

Embryo transfer as a means of controlling the transmission of viral infections. VII. The in vitro exposure of bovine and porcine embryos to foot-and-mouth disease virus

When 169 zona pellucida-intact bovine embryos were exposed to 10^6 pfu/ml of foot-and-mouth disease virus and then washed, no infectious virus was detected on any of the embryos. FMD viral infectivity was found, however, in association with 14 of 42 hatched (zona pellucida-free) bovine embryos and in a small number of zona pelucida-intact porcine embryos. The porcine embryos were assayed individually and in groups of 8 embryos. Four of the 124 individual embryos and 2 of the 9 groups of embryos carried the infectious virus.

BIBLIOGRAFIA SOBRE ENFERMEDADES VESICULARES

VESICULAR DISEASES BIBLIOGRAPHY

AHLERS, D., GRUNERT, E., MEHRKENS, L.

Investigación de abortos en vacas asociados con vacunación antiaftosa. Investigation of abortion in cows associated with vaccination against foot and mouth disease. [Untersuchungen über mögliche Zusammenhänge zwischen der MKS-Schutzimpfung und Verkalbefällen bei Rindern.] *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift* 92 (10): 423-428, 1985. In: *Vet. Bull.* 56 (2): abstr. 796, 1986. Tierärztliche Hochschule, Bischofsholer Damm 15, D-3000 Hannover 1, Fed. Rep. of Germany.

AHUJA, K.L., KUMAR, A., PRASAD, SHARMA, R.

Incidencia y distribución de tipos de virus de fiebre aftosa en el noroeste de India (1982-84). [Incidence and distribution of foot-and-mouth disease virus type in north-west India (1982-84).] *Indian J. Anim. Sci.* 56: 503-505, 1986. In: *FMD Bull.* 24 (4): abstr. 86/77, 1986. College of Veterinary Sciences, Haryana Agricultural University, Hisar, Haryana 125 004, India.

AUGÉ DE MELLO, P., OLASCOAGA, R.C., COSTA GIOMI, M.P., FERNANDEZ, A.A., SCODELLER, E.A., LA TORRE, J.L., BERGMANN, I.E.

Fingerprinting del ARN de cepas de virus aftoso prototipo de América del Sur. [RNA fingerprinting of South American prototype aphthovirus strains.] *Vaccine* 4 (2): 105-110, 1986. Pan American Foot-and-Mouth Disease Center, Caixa Postal 589, 20001 Rio de Janeiro, RJ, Brasil. Centro de Virología Animal (CEVAN), Serrano 661, 1414 Cap. Fed., Argentina.

BANDPAY, M.R.F., AMIGHI, M., LOMBARD, M., PIROIRD, R., SALEHIZADEH, M.

Situación de los tipos y subtipos del virus aftoso en Irán en 1980-1983. [The situation of foot and mouth disease virus types and subtypes in Iran in 1980-1983.] *Arch. Inst. Razi* 34/35, 55-60, 1984. In: *Vet. Bull.* 56 (1): abstr. 152, 1986. Institut Razi, BP 11365-1558, Teheran, Iran.

BARTELING, S.J.

Condiciones para inactivación adecuada con formaldehído de vacunas antiaftosa de hidróxido de aluminio. [Conditions for proper formaldehyde inactivation of foot and mouth disease alhydrogel vaccines.] *Dev. Biol. Standard.* 60: 323-329, 1985. In: *Vet. Bull.* 56 (6): abstr. 3625, 1986. Central Vet. Inst., Houtribweg 39, 8221 RA Lelystad, Netherlands.

BENGIS, R.G., THOMSON, G.R., HEDGER, R.S. et al.

Fiebre aftosa y el búfalo africano (*Syncerus caffer*). I. Portadores como una fuente de infección de bovinos. [Foot-and-mouth disease and the African buffalo (*Syncerus caffer*). I. Carriers as a source of infection for cattle.] *Onderstepoort J. vet. Res.* 53 (2): 69-73, 1986. Div. Vet. Serv., P.O. Box 12, Skukuza 1350, South Africa.

BLACKWELL, J.H., WOOL, S.H.

Dstrucción y reparación del parénquima de la glándula mamaria de vacas infectadas con fiebre aftosa. [Destruction and repair of mammary gland parenchyma of cows infected with foot-and-mouth disease.] *J. Comp. Pathol.* 96 (2): 227-234, 1986. USDA, Foreign Anim. Dis. Diag. Lab., P.O. Box 848, Greenport, NY 11944, USA.

BOIKO, A.A., KRUGLIKOV, B.A., NALIVAICO, V.G.

Reglamentos aplicables a focos de fiebre aftosa estacionarios. Rules applicable to stationary foci of foot and mouth disease. Texto en ruso. *Veterinariya, Moscow* 7: 42-44, 1986. In: *Vet. Bull.* 56 (12): abstr. 8487, 1986.

BORCA, M.V., FERNANDEZ, F.M., SADIR, A.M., BRAUN, M., SCHUDEL, A.A.

Respuesta inmunitaria al virus de la fiebre aftosa en un modelo experimental en ratón: reacción primaria y secundaria efectiva independiente del timo. [Immune response to foot-and-mouth disease virus in a murine experimental model: effective thymus-independent primary and secondary reaction.] *Immunology* 59 (2): 261-267, 1986. Dep. Vet. Sci., Univ. East Campus, Lincoln, NE 68583-0905, USA.

BROOKSBY, J.B.

Fiebre aftosa: introducción. [Foot-and-mouth disease: an introduction.] *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 5 (2): 257-263, 1986. Heartherdale House, Compton Way, Moor Park, Farnham, Surrey GU10, 1QY, UK.

BROWN, F.

Treinta años de trabajo bioquímico con el virus de la fiebre aftosa en el Instituto de Pirbright. [Thirty years of biochemical work on foot-and-mouth disease virus at the Pirbright Institute.] *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 5 (2): 265-270, 1986. Dep. Biotechnol., Wellcome Biotechnology Ltd., Pirbright, Surrey GU24 0NQ, UK.

- BURDOV, A.N., PEREVOZCHIKOVA, N.A., FALINA, G.M., TITOV, I.N., MIKHALUSEV, V.I., IVANYUSCHCHENKOV, V.N., ONISHCHENKO, A.M., VASILENKO, S.K., SANDAKHCHIEV, L.S.
Síntesis y clonaje de ADN complementario del aftovirus y *Escherichia coli*. Synthesis and cloning of complementary DNA of aphthovirus and *Escherichia coli*. Texto en ruso. *Veterinariya, Moscow* 7: 27-29, 1986. In: *Vet. Bull.* 56 (11): abstr. 7681, 1986. Vsesoyuznyi Yashchurnyi Institut, gorod Vladimir, USSR.
- BUSTOS, M.O. DE, GERARDINO, A.G. DE, ROCHA R., J.R.
[Replicación del virus de la fiebre aftosa en células BHK₂₁ CL₁₃ cultivadas con dos tipos de suero bovino.] Replication of aphthovirus in hamster kidney cells using bovine serum from two sources. *Rev. Inst. Colombiano Agropec.* 18 (2): 123-128, 1983. In: *Vet. Bull.* 56 (2): abstr. 800, 1986. Lab. Invest. Med. Vet., Apartado Aéreo 29743, Bogotá, Colombia.
- BUTCHAI AH, G., RAO, B.U., MADHUSUDAN, P.
Evaluación de la respuesta de anticuerpos en bovinos vacunados contra la fiebre aftosa por las pruebas de microneutralización e inhibición de la fijación del microcomplemento. [Evaluation of antibody response in foot-and-mouth disease vaccinated cattle by microneutralization and microcomplement fixation inhibition tests.] *Indian J. Anim. Sci.* 55 (12): 975-979, 1985. In: *Vet. Bull.* 56 (6): abstr. 3621, 1986. Vet. Res. Inst., Bangalore, Karnataka 560 024, India.
- CROWTHER, J.R.
Estructura antigénica del virus de la fiebre aftosa. [Antigenic structure of foot-and-mouth disease virus.] *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 5 (2): 299-314, 1986. Dep. Virus Diag, Anim. Virus Res. Inst., Pirbright, Woking, Surrey GU24 0NF, UK.
- DAWE, P.S., DUROJAIYE, O.A.
Estudio preliminar de anticuerpos contra el antígeno VIA del virus de la fiebre aftosa en ganado de Nigeria. [A preliminary survey of antibody to VIA antigen of foot and mouth disease virus in Nigerian livestock.] *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 5 (3): 711-714, 1986. Anim. Virus Res. Inst., Pirbright, Woking, Surrey GU24 0NF, UK.
- ELMARIMI, A.A., HASSAN, N.K.
Brote de fiebre aftosa de serotipo O en ovinos y caprinos de Jamahiriya (Libia). [An outbreak of foot-and-mouth disease (FMD) of serotype O in sheep and goats in the Jamahiriya (Libya).] *Vet. Med. Rev.* 1: 100-106, 1986. In: *FMD Bull.* 25 (1): abstr. 87/20, 1987. Dept. Vet. Med. and Surgery, Faculty of Vet. Med., Al-Fateh-University, Tripoli, Libya.
- ESTUPIÑAN A., J., CASAS OLASCOAGA, R., ASTUDILLO, V.M., ROSENBERG, F.J., MOSCOSO, V.H., FARIA, J.F. DE.
Convenios fronterizos de salud animal entre países de América del Sur. Frontier agreements on animal health between South American countries. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 5 (3): 743-769, 1986. Centro Panamericano de Fiebre Aftosa, Caixa Postal 589, 20001 Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
- FERNANDEZ, F.M., BORCA, M.V., SADIR, A.M., FORDEVILLA, N., MAYO, J., SCHUDEL, A.A.
Infección experimental de virus de la fiebre aftosa: susceptibilidad y respuesta inmunitaria de ratones adultos. [Foot-and-mouth disease virus (FMDV) experimental infection: susceptibility and immune response of adult mice.] *Vet. Microbiol.* 12 (1): 15-24, 1986. Unidad de Serología y Referencia de Enfermedades Virales Animales, Dpto. Virol., Centro de Investigaciones en Ciencias Veterinarias, INTA, Castelar, Argentina.

FIROUZI-BANDPAY, M.R., AMIGHI, M., PIROIRD, R., LOMBARD, M., FAVRE, M., SALEHIZADEH, M.

La situación de la fiebre aftosa en Irán en 1980-1984. [The foot and mouth disease situation in Iran in 1980-1984.] *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 4 (2): 311-317, 1985. Institut Razi, Keshā 23, Hesarak-Karadj, Iran.

FRANCIS, Michael J.

Respuesta inmunitaria humoral de animales jóvenes a la vacunación antiaftosa. [The humoral immune response of young animals to foot and mouth disease vaccination.] *FMD Bull.* 24 (1): 1-4, 1986. Wellcome Biotech. Ltd., Ash Road, Pirbright, Woking, Surrey GU24 0NQ, UK.

FRANCIS, M.J., BLACK, L.

Separación y caracterización de potenciales alérgenos de cultivos de células BHK. [Separation and characterization of potential allergens from cultured baby hamster kidney cells.] *Clinical Allergy* 16: 371-377, 1986. In: *FMD Bull.* 24 (3): abstr. 86/60, 1986. Wellcome Biotech. Ltd., FMD Div., Ash Road, Pirbright, Woking, Surrey GU24 0NQ, UK.

FRANCIS, M.J., BLACK, L.

Respuesta a la vacunación antiaftosa oleosa de cerdos jóvenes con y sin anticuerpos maternos neutralizantes. [Response of young pigs to foot and mouth disease oil emulsion vaccination in the presence and absence of maternally derived neutralising antibodies.] *Res. Vet. Sci.* 41 (1): 31-39, 1986. In: *FMD Bull.* 24 (3): abstr. 86/55, 1986. Wellcome Biotech. Ltd., FMD Div., Ash Road, Pirbright, Woking, Surrey GU24 0NQ, UK.

GAINARU, M.D., THOMSON, G.R., BENGIS, R.G. *et al.*

Fiebre aftosa y el búfalo africano (*Syncerus caffer*). II. Excreción de virus y transmisión durante infección aguda. [Foot-and-mouth disease and the African buffalo (*Syncerus caffer*). II. Virus excretion and transmission during acute infection.] *Onderstepoort J. vet. Res.* 53 (2): 75-85, 1986. Vet. Res. Inst., P.O. Onderstepoort 0110, South Africa.

GIBSON, C.F., DONALDSON, A.I.

Exposición de ovinos a aerosoles naturales del virus de la fiebre aftosa. [Exposure of sheep to natural aerosols of foot-and-mouth disease virus.] *Res. Vet. Sci.* 41 (1): 45-49, 1986. In: *FMD Bull.* 24 (4): abstr. 86/65, 1986. Aním. Virus Res. Inst., Ash Road, Pirbright, Woking, Surrey GU24 0NF, UK.

GOEL, A.C., RAI, A.

Curva de crecimiento, ensayo de placa y estudios de inactivación de los virus de la fiebre aftosa subtipos O₅, O₁ y O₆ de India. [Growth curve, plaque assay and inactivation studies of FMD virus subtypes O₅, O₁ and O₆ of Indian origin.] *Indian J. Comp. Microbiol. Immunol. Infect. Dis.* 6 (1): 16-28, 1985. In: *Vet. Bull.* 56 (9): abstr. 5987, 1986. Indian Vet. Res. Inst., Izatnagar-243122, Uttar Pradesh, India.

GOFFAUX, M., LARENAUDIE, B., REMOND, M., THIBIER, M.

Frecuencia de la presencia de anticuerpos de fiebre aftosa anti-VIA en el suero de toros franceses para inseminación artificial. Frequency of antibody to aphthovirus VIA antigen in the serum of French AI bulls. [Fréquence de la présence de l'anticorps anti-aphteux VIA dans le sérum des taureaux d'insemination artificielle français.] *Bull. Acad. Vét. France* 59 (2): 187-193, 1986. Lab. Reprod., 13 rue Jouet, BP 65, 94703 Maisons-Alfort, France.

GRIGERA, P.R., SAGEDAHL, A.

Asociación citoesquelética de un polipéptido inducido de virus aftoso derivado de la región P3ABC de la proteína viral. [Cytoskeletal association of an aphthovirus-induced polypeptide derived from the P3ABC region of the viral polyprotein.] *Virology* 154 (2): 369-380, 1986. In: *Vet. Bull.* 57 (1): abstr. 145, 1987. Centro Virol. Anim., Serrano 661, 1414, Cap. Fed., Argentina.

GRIGERA, P., VASQUEZ, C., PALMEMBERG, A.

Proteínas VP0, VP1 y VP3 del cápside del virus aftoso sintetizadas por traslación "in vitro" son las componentes más importantes de las partículas 14S. [Foot-and-mouth disease virus capsid proteins VP0, VP1 and VP3 synthesized by "in vitro" translation are the major components of 14S particles.] *Acta Virol.* 29 (6): 449-454, 1985. Centro Virol. Anim., Serrano 661, 1414 Cap. Fed. Argentina.

HAMBLIN, C., BARNETT, I.T.R., HEDGER, R.S.

Una nueva prueba ELISA para la detección de anticuerpos contra el virus aftoso. I. Desarrollo y método de ELISA. [A new enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies against foot-and-mouth disease virus. I. Development and method of ELISA.] *J. Immunol. Meth.* 93 (1): 115-121, 1986. Dep. Virus Diag., Anim. Virus Res. Inst., Pirbright, Woking, Surrey GU24 0NF, UK.

HAMBLIN, C., BARNETT, I.T.R., CROWTHER, J.R.

Una nueva prueba ELISA para la detección de anticuerpos contra el virus aftoso. II. Aplicación. [A new enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies against foot-and-mouth disease. II. Application.] *J. Immunol. Meth.* 93 (1): 123-129, 1986. Dep. Virus Diag., Anim. Virus Res. Inst., Pirbright, Woking, Surrey GU24 0NF, UK.

HANTSCHER, J., LIEBERMANN, H., THALMANN, G.

Preparación de picornavirus (aftovirus) concentrado por ultrafiltración. Preparation of concentrated picornavirus (aphthovirus) by ultrafiltration. [Herstellung von Picornavirus-Konzentraten mit Hilfe der Ultrafiltration.] *Arch. Exper. Veterinärmedizin* 39 (5): 723-729, 1985. In: *Vet. Bull.* 56 (2): abstr. 801, 1986. Loeffler Inst., Insel Riems, DDR-2201 Greifswald. German Democratic Republic.

HEDGER, R.S., TAYLOR, W.P., BARNETT, I.T.R., RIEK, R., HARPHAM, D.

Vacunación simultánea de bovinos contra fiebre aftosa y peste bovina. [Simultaneous vaccination of cattle against foot-and-mouth disease and rinderpest.] *Trop. Anim. Hlth. Prod.* 18: 21-25, 1986. In: *FMD Bull.* 24 (2): abstr. 86/34, 1986. Anim. Virus Res. Inst., Pirbright, Woking, Surrey GU24 0NF, UK.

HENDERSON, W.

Una historia personal del estudio de vacunas antiaftosa en bovinos. [A personal history of the testing of foot-and-mouth disease vaccines in cattle.] Stareton, Kenilworth CV8 2LJ, UK. Massey-Ferguson Ltd., 55pp, 1985.

KADOI, K.

Efecto de aumento de placa de tiosulfato de sodio para virus de la fiebre aftosa. [Plaque enhancement effect of sodium thiosulfate for foot-and-mouth diseases viruses.] *Microbiologica* 9 (2): 151-162, 1986. In: *FMD Bull.* 25 (1): abstr. 87/08, 1987. Lab. Vet. Epiz., Fac. Agric. Vet. Med., Nihon Univ., 1866 Kameino, Fujisawa, Kanagawa, 253 Japan.

KANI, R., SINGH, B.K., TONGAONKAR, S.S.

Distribución de tipos de virus aftoso en algunos estados de la India – una nota. [Distribution of the foot and mouth disease virus types in some of the states in India – a note.] *Indian J. Comp. Microb. Immun. Infect. Dis.* 7 (1): 43-45, 1986. In: *Vet. Bull* 56 (12): abstr. 8496, 1986. Anim. Dis. Diag. Lab., Nat. Dairy Dev. Board, Anand 388001, India.

KAPIL, S., AHUJA, K.L., PRASAD, S.

Persistencia del virus aftoso tipo Asia 1 en secreciones de novillos vacunados y sin vacunar previa infección experimental. [Persistence of foot and mouth disease virus type Asia 1 in secretions of vaccinated and unvaccinated calves following experimental infection.] *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 5 (3): 715-721, 1986. Coll. Vet. Sci., Haryana Agric. Coll., Hisar 125004, India.

KRUGLIKOV, B.A., ANTONYUK, V.P., NALIVAICO, V.G.

Profilaxis de la fiebre aftosa en ovinos. Prophylaxis of foot and mouth disease in sheep. Texto en ruso. *Ovstsevodstvo* 5: 36-37, 1985. In: *Vet. Bull* 56 (2): abstr. 795, 1986. Vsesoyuznyi Institut Vet-preparatov, Moscow, USSR.

LAL, S.M., VASANTHA, S., BUTCHAIHAH, G.

Duración de vacunas antiaftosa producidas en BHK después de dos años de almacenamiento. [Shelf life of BHK produced foot and mouth disease vaccine after two years of storage.] *Indian Vet. Med. J.* 9 (2): 79-83, 1985. In: *Vet. Bull.* 56 (6): abstr. 3629, 1986. Indian Vet. Res. Inst., Hebbal Campus, Bangalore 560 024, India.

LEBAN, J.J., BOEHM, H.G., THIEL, J.H., BECK, E., PFAFF, E.

Nuevos avances para una vacuna antiaftosa segura. [New approaches to a safe foot and mouth disease virus vaccine.] In: Peptides. Structure and Function. Proc. 9th Amer. Peptide Symp. (eds) Deber, C. M., Hruby, V.J. and Kopple, K.D. Pierce Chemical Co., Rockford, Illinois, USA. In: *FMD Bull.* 24 (3): abstr. 86/45, 1986. Biogen Res. Corp., Cambridge, MA 02142, USA.

LEI, J.C.

Los virus de animales con fiebre aftosa enterrados constituyen un peligro de contaminación de aguas subterráneas? Una evaluación. Can virus from buried animals with foot and mouth disease constitute a pollution hazard in ground water? An evaluation. [Kan virus fra nedgravede mund- og klovesygeramte dyr udgore en forureningsfare for grundvandet? En vurdering.] *Dansk Veterinaertidsskrift* 68 (24): 1263-1274, 1985. In: *Vet. Bull.* 56 (6): abstr. 3626, 1986. Sta. Vet. Inst. Virusforskning, Lindholm, 4771 Kalvehave, Denmark.

LIEBERMANN, H., HOLL, U.

Primeros resultados de un método óptico para el ensayo cuantitativo de anticuerpos de virus aftoso. First results of an optical method for quantitative assay of antibodies to foot and mouth disease virus. [Eine optische Methode zum quantitativen Nachweis von Antikörpern gegen das Maul-und-Klauenseuche-Virus—erste Ergebnisse.] *Arch. Exper. Veterinärmedizin* 39 (5): 718-722, 1985. In: *Vet. Bull.* 56 (2): abstr. 797, 1986. Loeffler Inst., Insel Riems, DDR-2201 Greifswald, German Democratic Republic.

LIEBERMANN, H. TEWS, G.

Comportamiento del aftovirus en diversos medios de gradientes de densidad. Behaviour of aphthovirus in various density gradient media. [Verhalten des Maul-und-Klauenseuche-Virus in verschiedenen Dichtegradientenmedien.] *Arch. Exper. Veterinärmedizin* 39 (5): 770-780, 1985. In: *Vet. Bull.* 56 (2): abstr. 798, 1986. Loeffler Inst., Insel Riems, DDR-2201 Greifswald, German Democratic Republic.

LORD, R.D., OCHOA DE CHAURELL, A., CAMPOS, A.E.

Infección experimental de murciélagos vampiros con virus de la fiebre aftosa. [Experimental infection of vampire bats with foot and mouth disease virus.] *J. Wildlife Dis.* 22 (3): 413-414, 1986. In: *FMD Bull.* 24 (4): abstr. 86/81, 1986. Inst. Invest. Vet., Apartado 70, Maracay 2102, Estado Aragua, Venezuela.

McCULLOUGH, K.C., CROWTHER, J.R., BUTCHER, R.N., CARPENTER, W.C., BROCCHI, E., CAPUCCI, L., De SIMONE, F.

Protección inmunitaria contra el virus de la fiebre aftosa estudiada usando concentraciones de virus neutralizante y no neutralizante de anticuerpos monoclonales. [Immune protection against foot-and-mouth disease virus studied using virus-neutralizing and non-neutralizing concentrations of monoclonal antibodies.] *Immunology* 58 (3): 421-428, 1986. Anim. Virus. Res. Inst., Pirbright, Woking, Surrey GU24 0NF, UK.

McVICAR, J.W., SINGH, E.L., MEBUS, C.A., HARE, W.C.D.

Transferencia de embriones como un medio de control de transmisión de infecciones virales. VIII. Falla en detectar infectividad del virus aftoso asociada a embriones recolectados de bovinos donantes infectados. [Embryo transfer as a means of controlling the transmission of viral infections. VIII. Failure to detect foot-and-mouth disease viral infectivity associated with embryos collected from infected donor cattle.] *Theriogenology* 26 (5): 595-602, 1986. In: *FMD Bull.* 25 (1): abstr. 87/17, 1987. USDA-ARS, Plum Island Anim. Dis. Center, P.O. Box 848, Greenport, NY 11944, USA.

MELOEN, R.H. BARTELING, S.J.

Un epítotope localizado en el extremo C de VP1 aislado de virus aftoso tipo O induce actividad neutralizante pero una protección pobre. [An epitope located at the C terminus of isolated VP1 of foot-and-mouth disease virus type O induces neutralizing activity but poor protection.] *J. gen. Virol.* 67 (2): 289-294, 1986. Central Vet. Inst., Edelhertweg 15, 8219 PH Lelystad, Netherlands.

MISRA, L.D., SEN, A.K., NAIR, S.P., RAO, B.U.

Producción de vacuna antiaftosa inactivada usando suspensión de cultivo celular en fermentador. [Production of foot and mouth disease virus inactivated vaccine using suspension cell culture in fermenter.] *Indian Vet. J.* 62 (6): 453-457, 1985. In: *Vet. Bull.* 56 (1): abstr. 146, 1986. Vet. Res. Inst., Bangalore 560 024, India.

MOUSSA, A.A.M., SABER, M.S., HUSSEIN, K., ARAFA, M.H., OMAR, A., EL-KELANY, S.

Variación antigénica e inmunogénica entre diferentes cepas de virus aftoso tipo "O" aisladas de varias especies de animales de granja en Egipto. [Antigenic and immunogenic variation between different strains of foot-and-mouth disease virus type "O" isolated from different species of farm animals in Egypt.] *Assiut Vet. Med. J.* 13 (25): 49-64, 1984. In: *Vet. Bull.* 56 (7): abstr. 4339, 1986. Dep. Microbiol., Fac. Vet. Med., Cairo Univ., Egypt.

NAIR, S.P., SEN, A.K., RAO, B.U.

Desarrollo de una nueva cepa de suspensión de línea celular BHK₂₁ de cultivos en monocamadas de "Glasgow". [Development of a new strain of BHK₂₁ suspension cell-line from 'Glasgow' monolayer cultures.] *Indian J. Anim. Sci.* 55 (7): 511-514, 1985. In: *Vet. Bull.* 56 (4): abstr. 2116, 1986. Vet. Res. Ins., Bangalore, Karnataka 560 024, India.

NEGI, B.N.

Estudio seroepidemiológico de diferentes tipos de virus aftoso en extensiones de colinas de Uttar Pradesh. [Sero-epidemiological survey of different types of foot and mouth disease virus in hill tract of Uttar Pradesh.] *Indian J. Comp. Microbiol. Immunol. Infect. Dis.* 7 (2/3): 89-90, 1986. In: *Vet. Bull.* 57 (4): abstr. 1929, 1987. Indian Vet. Res. Inst., Mukteswat-Kumaon-263138, Nainital, India.

NEWTON, S.W., FRANCIS, M.J., MACKETT, M., APPELYARD, G., BROWN, F.

Expresión de una secuencia del sitio inmunogénico del virus aftoso en virus de viruela bovina. [Expression of a foot and mouth disease virus immunogenic site sequence in vaccinia virus.] In: Brown, F., Channock, R.M., Lerner, R.A. eds. *Vaccine 86: New Approaches to Immunization*. Cold Spring Harbour Laboratory 1986, 303-309. In: *FMD Bull.* 24 (2): abstr. 86/23, 1986. Wellcome Biotechnology Ltd., Ash Road, Pirbright, Woking, Surrey GU24 0NQ, UK.

OMAR, A., ARAFA, M.H., MOUSSA, A.A.M.

Fiebre aftosa en búfalos lactantes infectados naturalmente. [Foot and mouth disease in naturally infected lactating buffaloes.] *Assuit vet. Med. J.* 82-95, 1984. In: *FMD Bull.* 24 (4): abstr. 86/80, 1986. Vet. Serum and Vaccine Res. Inst. Abbassia, Cairo, Egypt.

OULDRIDGE, E.J., PARRY, N.J., BARNETT, P.V., BOLWELL, C., ROWLANDS, D.J., BROWN, F., BITTLE, J.L., HOUGHTEN, R.A., LERNER, R.A.

Comparación de la estructura del sitio antigénico principal de los virus aftosos de dos serotipos diferentes. [Comparison of the structure of the major antigenic site of foot and mouth disease viruses of two different serotypes.] In: Brown, F., Channock, R.M., Lerner, R.A. eds. *Vaccine 86: New Approaches to Immunization*. Cold Spring Harbour Laboratory 1986, 45-49. In: *FMD Bull.* 24 (2): abstr. 86/19, 1986. Wellcome Biotechnology Ltd., Ash Road, Pirbright, Woking, Surrey GU24 0NQ, UK.

PATNAIK, R.K.

Un brote de fiebre aftosa en un establecimiento organizado en Orissa (India). [An outbreak of foot and mouth disease in an organised farm in Orissa.] *Indian Vet. J.* 63 (7): 598-600, 1986. In: *Vet. Bull.* 57 (4) abstr. 1930, 1987. State Livestock Breeding Farm, Chiplima, Sambalpur, Orissa, India.

PAY, T.W.F., HINGLEY, P.J.

El uso de la prueba de seroneutralización de anticuerpos para la determinación de potencia de vacunas antiaftosa en bovinos. [The use of serum neutralizing antibody assay for the determination of the potency of foot and mouth disease (FMD) vaccines in cattle.] *Develop. Biol. Standard.* 64: 153-161, S. Karger, Basel, 1986. In: *FMD Bull.* 24 (4): abstr. 86/68, 1986. Wellcome Biotechnology Ltd., FMD Division, Ash Road, Pirbright, Woking, Surrey GU24 0NQ, UK.

PEREVOZCHIKOVA, N.A., FALINA, G.M., SATINA, T.A., PEREVOZCHIKOV, V.A., BURDOV, A.N., IVANYUSHCHENKOV, V.N., VASILENKO, S.K., ONISHCHENKO, A.M., NETESOV, S.V., SANDAKHCHIEV, L.S.

Aislamiento de ARN de aftovirus. Isolation of aphthovirus RNA. Texto en ruso. *Veterinariya, Moscow*, 5:31-34, 1986. In: *Vet. Bull.* 56 (8): abstr. 5173, 1986. Vsesoyuznyi Uashchurnyi Institut, gorod Vladimir, USSR.

PFUFF, E., THIEL, H.J., BECK, E., KUHN, C., LEBAN, J., STROHMAIER, K., SCHALLER, H.
Estudios de neutralización de virus de la fiebre aftosa. [Studies on foot and mouth disease virus neutralisation.] In: Brown, F., Channock, R.M., Lerner, R.A., eds. *Vaccine 86: Approaches to Immunization*. Cold Spring Harbour Laboratory 1986, 91-95. In: *FMD Bull.* 24 (2): abstr. 86/21, 1986. Microbiol. ZMBH, Univ. Heidelberg, D-6900 Heidelberg 1, Fed. Rep. of Germany.

POEDJOMARTONO, S., TEKEN TEMADJA, I.G.N.

Programa de erradicación de la fiebre aftosa en Indonesia. [Foot and mouth disease eradication programme in Indonesia.] In: *Veterinary viral diseases, their significance in South-East Asia and the Western Pacific*, eds. A.J. Della-Porta. Sydney, Australia, Academic Press: 290-293, 1985. ISBN 0-12-208870-0. In: *Vet. Bull.* 56 (12): abstr. 8492, 1986. Anim. Hlth, Min. Agric., Jakarta, Indonesia.

POLACINO, P., KAPLAN, G., YAFAL, A.G., PALMA, E.L.

Caracterización bioquímica de una cepa atenuada de virus de la fiebre aftosa para bovinos. [Biochemical characterization of a foot-and-mouth disease virus strain attenuated for cattle.] *Arch. Virol.* 88 (1): 143-150, 1986. Dep. Virol. Centro Invest. Cienc. Vet., Inst. Nac. Techn. Agropec, Buenos Aires, Argentina.

RADLETT, P.J.

Ultraconcentración de antígenos de fiebre aftosa. [Ultraconcentration of foot and mouth disease antigens.] *FMD Bull.* 24 (3): 2-6, 1986. FMD Vaccine Lab., Coopers Anim. Hlth Ltd., Pirbright, Working, Surrey GU24 0NQ, UK.

RAHMAN, M.M., PRASAD, S.

Estudios del estado inmunitario de búfalos vacunados con vacuna antiaftosa a través del índice de viraemia. [Studies on the immune status of foot and mouth disease virus vaccinated buffaloes through viraemia index.] *Bangladesh Vet. J.* 19 (1/4): 43-48, 1985. In: *Vet. Bull.* 56 (10): abstr. 6846, 1986. Dep. Microbiol., Bangladesh Agric. Unid., Mymensingh, Bangladesh.

ROJAS, G.B., ROTTENBERG, M.E., BRUNENGO, A.M.

[Respuesta inmune humoral en bovinos vacunados contra aftovirus. Estudio de la cinética de anticuerpos protectores y neutralizantes.] Humoral immune response in cattle vaccinated against foot and mouth disease. Kinetics of protective and neutralizing antibodies. *Rev. Argentina Microbiol.* 16 (4): 195-208, 1984. In: *Vet. Bull.* 56 (5): abstr. 2813, 1986. Dep. Quím. Biol., Fac. Ciencias, Univ., Buenos Aires, Argentina.

SANGAR, D.V. CLARK, R.P.

Una técnica de "electroblotting" para evaluar la integridad de la proteína inmunogénica principal en vacunas antiaftosa. [An electroblotting technique for assessing the integrity of the major immunogenic protein in foot-and-mouth disease virus vaccines.] *J. Virol. Meth.* 14 (1): 85-95, 1986. Wellcome Biotechnology Ltd., Ash Road, Pirbright, Woking, Surrey GU24 0NQ, UK.

SANGAR, D.V., CLARK, R.P., ROWLANDS, D.J., BITTLE, J.L., HOUGHTEN, R.A.

Proteínas de genoma unido de aftovirus: inmunoprecipitación específica de tres especies detectadas en el ARN viral e identificación de posibles precursores. [The genome-linked proteins of aphthovirus: specific immunoprecipitation of the three species detected on virus RNA and identification of possible precursors.] *J. gen. Virol.* 67 (11): 2405-2414, 1986. Wellcome Biotechnology Ltd., Ash Road, Pirbright, Woking, Surrey GU24 0NQ, UK.

SARMA, G., DAS, S.K., DUTTA, P.K.

Reacción cruzada de cepas de virus aftoso aisladas de brotes de campo en la región noreste de India. [Foot-and-mouth disease virus cross-reacting strains isolated from field outbreaks in the north-eastern region of India.] *Indian J. Comp. Microbiol. Immunol. Infect. Dis.* 6 (2/3): 76-81, 1985. In: *Vet. Bull.* 56 (10): abstr. 6845, 1986. Coll. Vet. Sci., Assam Agric. Univ. Khanapara, Gauhati-781022, Assam, India.

SAUNDERS, K., KING, A.M.O., McCAHON, D., NEWMAN, J.W.I., SLADE, W.R., FORSS, S.

Recombinación y análisis de nucleótidos de mutantes de virus aftoso resistentes a la guanidina. [Recombination and oligonucleotide analysis of guanidine-resistant foot-and-mouth disease virus mutants.] *J. Virol.* 56 (3): 921-929, 1985. In: *Vet. Bull.* 56 (3): abstr. 1497, 1986. Anim. Virus Res. Inst., Pirbright, Woking, Surrey GU24 0NF, UK.

SCHOLZ, H., EISMANN, A., WAGNER, G., EICKEN, K., MANQUART, W., TIMM, D., MEHRKENS, L.

Influencia de vacunación antiaftosa en la salud de patas de vacas lecheras. Influence of foot and mouth disease vaccination on claw health of dairy cows. [Untersuchungen zum Einfluss von MKS-Schutzimpfungen auf die Klauengesundheit von Milchkühen.] *Tierärztliche Umschau* 41 (1): 25...32, 1986. In: *Vet. Bull.* 56 (5): abstr. 2812, 1986. Tierärztliche Hochschule, Bischofsholer Damm 15, 3000 Hannover 1, German Federal Republic.

SHANKAR, H., UPPAL, P.K.

Respuesta inmunitaria de novillos jóvenes a la vacunación antiaftosa con vacuna tipo "C". [Immune response of young calves to vaccination with type 'C' foot and mouth disease vaccine.] *Indian J. Comp. Microbiol. Immunol. Infect. Dis.* 7 (1): 1-9, 1986. In: *Vet. Bull.* 56 (12): abstr. 8488, 1986. Indian. Vet. Res. Inst., Mukteswar-Kumaon, Uttar Pradesh, India.

SHARMA, R., KUMAR, A., AHUJA, K.L., PRASAD, S.

Recuperación de virus aftoso de cultivos de células de riñón bovino. [Recovery of foot-and-mouth disease virus in bovine kidney cell culture system.] *Indian J. Virol.* 1 (1): 87-91, 1985. In: *Vet. Bull.* 56 (1): abstr. 151, 1986. Dep. Vet. Microbiol., Haryana Agric. Univ., Hisar-125 004, India.

SHARMA, R., KUMAR, A., AHUJA, K.L., PRASAD, S.

Susceptibilidad de diferentes sistemas de cultivos celulares para el aftovirus. [Susceptibility of different cell culture systems to aphthovirus.] *Indian J. Virol.* 1 (2): 116-119, 1985. In: *Vet. Bull.* 57 (3): abstr. 1291, 1987. Dep. Vet. Microbiol., Haryana Agric. Univ., Hisar-125 004, India.

SHARMA, M.C., PATHAK, N.N., HUNG, N.N., NHI, D.L., VUC, N.V.

Informe de brotes de fiebre aftosa en búfalos Murrah criados en la parte sur de Vietnam. [Report on the outbreaks of foot and mouth disease in Murrah buffaloes reared in southern part of Vietnam.] In: *Veterinary viral diseases, their significance in South-East Asia and the Western Pacific*, eds. A.J. Della-Porta. Sydney, Australia, Academic Press: 302-303, 1985. ISBN 0-12-208870-0. In: *Vet. Bull.* 56 (12): abstr. 8493, 1986. Buffalo Breeding Res. Center. Songe Be, Vietnam.

SHARMA, R., PRASAD, K.L., AHUJA, K.L. *et al.*

Respuesta inmunitaria por medio de células tras vacunación antiaftosa de terneros de búfalos. [Cell mediated immune response following foot-and-mouth disease vaccination in buffalo calves.] *Acta virol.* 29 (6): 509-513, 1985. Dep. Vet. Microbiol., Haryana Agric. Univ., Hisar-125004, India.

SHIMSHONY, A., ORGAD, U., BAHARAV, D., PRUDOVSKY, S., YAKOBSON, B., MOSHE, B.B.
Fiebre aftosa maligna en gacelas de montaña. [Malignant foot-and-mouth disease in mountain gazelles.] *Vet. Rec.* 119: 175-176, 1986. In: *FMD Bull.* 24 (4): abstr. 86/67, 1986. Vet. Serv. and Anim. Hlth, P.O. Box 12, Beit Dagan 50250, Israel.

SÓLYOM, F., BERTÓK, L.

Aplicación de endotoxina radiodetoxicada como adyuvante para vacuna antiaftosa experimental. [Application of radio-detoxified endotoxin as adjuvant for experimental foot-and-mouth disease vaccine.] *Acta Microbiol. Hungarica* 32 (3): 233-239, 1985. In: *Vet. Bull.* 56 (8): abstr. 5170, 1986. Phylaxia, P.O. Box 23, H-1486 Budapest, Hungary.

SOÓS, R., FAZEKAS, Á.

Duración de inmunidad producida por vacunas húngaras contra la fiebre aftosa. Duration of immunity produced by Hungarian vaccines against foot and mouth disease. [Immunitastartossagi vizsgálatok hazai szaj- es koromfajas elleni vakcinakkal.] *Magyar Allartov. Lapja* 40 (7): 397-402, 1985. In: *Vet. Bull.* 56 (1): abstr. 144, 1986. Allatgyógyászati Oltoanyagellenorzo Intezet, Szallas u. 8, 1107 Budapest, Hungary.

STAVE, J.W., CARD, J.L., MORGAN, D.O.

Análisis de epítopes neutralizantes del virus de la fiebre aftosa tipo O₁ Brugge por medio de anticuerpos monoclonales. [Analysis of foot-and-mouth disease virus type O₁ Brugge neutralization epitopes using monoclonal antibodies.] *J. Gen. Virol.* 67 (10): 2083-2092, 1986. In: *Vet. Bull.* 57 (1): abstr. 143, 1987. USDA, Plum Island Animal Dis. Center, P.O. Box 848, Greenport, NY 11944, USA.

STREBEL, K., BECK, E.

Una segunda proteasa del virus de la fiebre aftosa. [A second protease of foot-and-mouth disease virus.] *J. Virol.* 58 (3): 893-899, 1986. In: *FMD Bull.* 24 (4): abstr. 86/75, 1986. Microbiol. Zentrum Molekularbiologie Heidelberg, Univ. Heidelberg, D-6900 Heidelberg, German Federal Republic.

STREBEL, K., BECK, E., STROHMAIER, K., SCHALLER, J.

Caracterización de productos de genes del virus de la fiebre aftosa con antisuero contra proteínas de fusión sintetizadas por bacterias. [Characterization of foot-and-mouth disease virus gene products with antisera against bacterially synthesized fusion proteins.] *J. Virol.* 57 (3): 983-991, 1986. In: *Vet. Bull.* 56 (6): abstr. 3627, 1986. J. Schaller, Mikrobiol., Univ., D-6900 Heidelberg 1, German Federal Republic.

STROBBE, R.

Reducción del uso de animales en el control de vacunas antiaftosa. [Reduction of animal usage in the control of foot-and-mouth disease vaccines.] *Develop. Biol. Standard.* 64: 163-167, S.Karger, Basel, 1986. In: *FMD Bull.* 24 (4): abstr. 86/69, 1986. Nat. Inst. Vet. Res., Grooseleberg 99, B-1180, Brussels, Belgium.

SURYANARAYANA, V.V.S., BANUMATHI, J., RAO, B.U.

Actividad de la hexoquinasa como marcadora para estimar el tiempo de cosecha de virus aftoso en cultivos de células BHK₂₁ Clon₁₃. [Hexokinase activity as marker to assess time of harvest of foot-and-mouth disease virus in BHK₂₁ Cl₁₃ cell cultures.] *Biotech. Bioeng.* 28 (4): 613-615, 1986. In: *FMD Bull.* 24 (4): abstr. 86/78, 1986. Indian Vet. Res. Inst., Bangalore 560024, India.

SURYANARAYANA, V.V.S., RAO, B.U., PADAYATTY, J.D.

Clonaje y expresión del ADNc para el antígeno principal del virus de la fiebre aftosa tipo Asia 1 63/72. [Cloning and expression of the cDNA for the major antigen of foot and mouth disease virus type Asia 1 63/72.] *Current Science* 54 (20): 1044-1048, 1985. In: *Vet. Bull.* 56 (4): abstr. 2122, 1986. Dep. Biochem., Inst. Sci., Bangalore 560 012, India.

SUTMÖLLER, P.

Simulación en computadora de pruebas de potencia de vacuna antiaftosa. [Computer simulation of foot-and-mouth disease vaccine potency tests.] *Prev. Vet. Med.* 4 (4): 329-339, 1986. Pan American Foot-and-Mouth Disease Center, Caixa Postal 589, 20001 Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

TANTAWI, H.H., MOUSSA, A.A.M., OMAR, A., ARAFA, M.H.

Detección de portadores de virus de la fiebre aftosa entre animales en establecimientos en Egipto. [Detection of foot and mouth disease virus carriers among farm animals in Egypt.] *Assuit vet. Med. J.*: 66-79, 1984. In: *FMD Bull.* 24 (4): abstr. 86/79, 1986. Vet. Serum Vaccine Res. Inst., Abbassia, Cairo, Egypt.

TEKERLEKOV, P., POPOV, G., VASILEVA, L., NIKOLOVA, E.

Purificación y concentración del virus aftoso. Purification and concentration of aphthovirus. Texto en búlgaro. *Veterinarnomeditsinski Nauki* 22 (10): 3-9, 1985. In: *Vet. Bull.* 56 (4): abstr. 2119, 1986. Tsentralen Veterinarnomed. Inst., Sofia, Bulgaria.

TEKERLEKOV, P., VASILEVA, L., NIKOLOVA, E., VELEVA, E.

Determinación cuantitativa del antígeno inmunizante 140S del virus aftoso. Quantitative determination of aphthovirus 140S immunizing antigen. Texto en búlgaro. *Veterinarnomeditsinski Nauki* 22 (9): 10-19, 1985. In: *Vet. Bull.* 56 (4): abstr. 2117, 1986. Tsentralen Veterinarnomed. Inst., Sofia, Bulgaria.

VASANTHA, S., ANTONY, A., LAL, S.M.

Estudios comparativos del crecimiento de los virus de la fiebre aftosa tipo O y Asia 1 en células BHK-21 de Razi. [Comparative studies on growth of foot-and-mouth disease virus types O and Asia 1 in BHK-21 Razi cells.] *Acta Virologica* 30 (5): 367-372, 1986. S.M. Lal, Vet. Res. Inst., Bangalore, 560024, India.

WINTHER, M.D., ALLEN, G., BOMFORD, R.H., BROWN, F.

Péptido antigénico del cápside del aftovirus expresado en bacteria da respuestas inmunológicas variables en animales. [Bacterially expressed antigenic peptide from foot-and-mouth disease virus capsid elicits variable immunologic responses in animals.] *J. Immunol.* 136 (5): 1835-1840, 1986. Wellcome Biotechnology Ltd., Langley Court, Beckenham, Kent BR3 3BS, UK.

WINTHER, M., BOMFORD, R., ALLEN, G., BROWN, F.

Proteínas de fusión de bacterias como inmunógenos. [Bacterial fusion proteins as immunogens.] In: Brown, F., Channock, R.M., Lerner, R.A. eds. *Vaccine 86: New Approaches to Immunization.* Cold Spring Harbour Laboratory 1986, 79-84. In: *FMD Bull.* 24 (2): 86/20, 1986. Wellcome Res. Lab., Beckenham, Kent. UK.

WOOL, S.H., SOROKA, S., YEDLOUTSCHNIG, R.J.

Desarrollo de técnicas de microscopía inmuno-electrónica para la identificación rápida de virus en un laboratorio de biocontención de P3/4. Solo resumen. [Immuno-electron microscopy techniques developed for the rapid identification of virus in a P3/4 biocontainment laboratory.] Only abstract. *Abs. Ann. Mt. Amer. Soc. Microbiol.*, 422, 1986. In: *FMD Bull.* 25 (1): abstr. 87/09, 1987. Foreign Anim. Dis. Diag. Lab., Greenport, NY 11944, USA.

YAFAL, A.G., PALMA, E.L.

Modulación de la célula huésped de la síntesis del procápside del virus aftoso. [Host cell modulation of foot-and-mouth disease virus procapsid synthesis.] *Vet. Microbiol.* 12 (4): 329-335, 1985. INTA Centro Invest. Ciencias Vet., 1708 Morón C.C. 77, Buenos Aires, Argentina.

YOUNG, P.L., IBRAHIM, I., SOEHARSONO, *et al.*

Fiebre aftosa en bovinos, búfalos y ovinos en Java. [Foot and mouth disease in cattle, buffalo and sheep in Java.] *Aust. vet. J.* 62 (11): 389, 1985. In: *FMD Bull.* 24 (4): abstr. 86/82, 1986. Res. Inst. for Anim. Dis., Bogor, Java.

ZOLETTO, R., CARLOTTO, F., BUONAVOGLIA, C., NARDELLI, S.

Fiebre aftosa nuevamente en Italia; notas sobre la vacuna, vacunación e inmunidad. Foot and mouth disease again in Italy; notes on the vaccine, vaccination and immunity. [Ancora afta epizootica; note su vaccino, vaccinazione ed immunità.] *Clinica Vet.* 108 (5): 370-377, 1985. In: *Vet. Bull.* 56 (7): abstr. 4335, 1986. Ist. Zooprofilattico, Via G. Ovus 2, 35100 Padova, Italy.

BOLETIN DEL CENTRO PANAMERICANO DE FIEBRE AFTOSA**INVITACION A LOS AUTORES**

El BOLETIN del Centro Panamericano de Fiebre Aftosa es una revista trimestral, bilingüe (español e inglés) del Centro Panamericano de Fiebre Aftosa. En ella se publican trabajos que se juzgan de interés para las actividades relacionadas con los programas de prevención o de lucha contra las enfermedades vesiculares 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.

INSTRUCCIONES A LOS AUTORES

1. Todos los trabajos que se presenten para su publicación en el BOLETIN deben estar escritos a máquina, a doble espacio, en un sola cara del papel, tamaño carta (28 x 22 cm).
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. Los trabajos pueden enviarse en inglés o español o, de preferencia, en ambos idiomas. Los trabajos que se presenten en un solo idioma serán traducidos al otro por disposición del Comité Editorial, el que se reserva el derecho de aprobar las traducciones.
6. El Comité Editorial se reserva también 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.
7. Publicado el trabajo, cada autor recibirá gratuitamente 25 separatas del mismo.

COMITE EDITORIAL

Dr. Raúl Casas Olascoaga, Director
Dr. Hans G. Bahnmann, Jefe de los Laboratorios
Dr. Juan Zapatel, Planificación y Evaluación
Dr. Vicente M. Astudillo, Estadístico
Dr. Jaime Estupiñán A., Epidemiólogo
Perla Vaccaro, Secretaria

PAN-AMERICAN FOOT-AND-MOUTH DISEASE CENTER BULLETIN

INVITATION TO CONTRIBUTORS

The BOLETIN is a quarterly bi-lingual journal of the Pan-American Foot-and-Mouth Disease Center. It publishes articles relating to all aspects of work in laboratory, field and program activities of vesicular 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.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

1. All manuscripts presented to the BOLETIN should be typewritten and double-spaced on one side of 28 x 22 cm paper.
2. Author's name, title, institution and address should be given on a separate sheet.
3. Figures and tables (arabic numbers) with appropriate captions and titles should be included on separate pages, numbered consecutively and attached at the end of the text with an indication of where they belong.
4. References cited should be listed separately in alphabetical order with appropriate reference numbers in the text.
5. Manuscripts may be presented in Spanish and/or English. The Editorial Committee will provide translation services on request. Final decisions on translations rest with the Editorial Committee.
6. The Editorial Committee 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.
7. Authors will receive 25 reprints of articles published. In special cases, extra reprints may be arranged.

EDITORIAL COMMITTEE

Dr. Raúl Casas Olascoaga, Director
Dr. Hans G. Bahnemann, Chief of Laboratories
Dr. Juan Zapatel, Planning and Evaluation
Dr. Vicente M. Astudillo, Statistician
Dr. Jaime Estupiñán A., Epidemiologist
Perla Vaccaro, Secretary