
BOLETIN

del centro panamericano de fiebre aftosa

Nº 37-38, enero-junio, 1980.

No. 37-38, January-June, 1980.

contenido

contents

p.

Influencia del grado de dispersión en la fase acuosa sobre la inmunogenicidad de vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso.	5
Influence of the degree of dispersion in the aqueous phase on the immunogenicity of oil-adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine	11
<i>P. Augé de Mello; K. de Freitas Costa; A. Alonso Fernández; P. Suttmöller; A. Pollak; A. Millán</i>	
Vida útil de una vacuna antiaftosa inactivada con adyuvante oleoso.	17
Shelf life of inactivated oil-adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine	21
<i>D. Abaracón; N. Magallanes; E.G. Charles; L.A. Durini; E. Frick; G. Fernández de Albarracín; E. Degiorgi de Burghi; T. Radisich</i>	
Respuesta en bovinos a la exposición del virus de la fiebre aftosa un año después de inmunizados con vacuna con adyuvante oleoso.	25
Response of cattle to foot-and-mouth disease (FMD) virus exposure one year after immunization with oil-adjuvanted FMD vaccine.	31
<i>Ivo Gomes; P. Suttmöller; R. Casas Olascoaga</i>	

Persistencia de anticuerpos en respuesta a la revacunación con vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso	37
Persistence of antibody response after revaccination with oil-adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine	39
<i>P. Augé de Mello; P. Suttmöller; K. de Freitas Costa; A. Millán</i>	
Protección de bovinos después de vacunados con vacunas antiaftosas con adyuvante oleoso.	41
Protection of cattle following vaccination with oil-adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine	45
<i>D. Abaracón; A. Alonso Fernández; N. Magallanes; E.G. Charles; L.A. Durini</i>	
Análisis del costo y de la efectividad de dos procedimientos de vacunación antiaftosa	49
Cost and effectiveness analysis of two foot-and-mouth disease vaccination procedures	57
<i>Vicente M. Astudillo; P. Augé de Mello</i>	
Resúmenes — Abstracts	65
Bibliografía sobre enfermedades vesiculares Vesicular diseases bibliography.	71

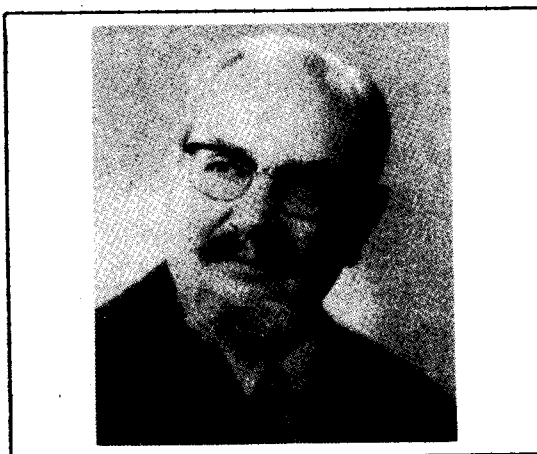
KARL ELMAR FEDERER

Cuando llegó al Centro Panamericano de Fiebre Aftosa, en 1957, lejos estaría de su pensamiento que iba a desarrollar allí una obra trascendental. Cuando sintió su salud seriamente quebrantada, 17 años más tarde, tuvo que alejarse involuntariamente de sus actividades. Pero su presencia inmaterial aún se percibe en los laboratorios donde transcurrieron sus mayores afanes. Por eso, con su muerte acaecida el 3 de julio de 1980, la Organización Panamericana de la Salud se enluta por la desaparición de uno de sus más preclaros funcionarios.

Nació en Friburgo en 1916 y allí cursó sus primeras letras y su educación secundaria. Sus estudios superiores los realizó en Berlín, Munich, Viena y Leipzig donde en 1941 obtuvo su doctorado en Medicina Veterinaria con designación "Magna Cum Laude", máxima calificación universitaria en la época.

Tras haber padecido los horrores de la guerra y ya en la vida civil, en 1945 inició su formación profesional en el Instituto de Higiene Animal de Friburgo junto al Profesor Karl Trautwein, uno de los grandes maestros de la medicina veterinaria alemana. En 1948, integrando el equipo del Profesor Waldmann fue contratado por el Gobierno Argentino para colaborar en los albores de la lucha antiaftosa en ese país. Terminados sus servicios con el gobierno, la actividad privada, en la incipiente industria de las vacunas antiaftosas, reclamó su concurso y su saber. Permaneció 10 años en la Argentina hasta que, en 1957 medio continente comenzó a disfrutar de sus conocimientos y su experiencia, al ser incorporado como serólogo en el Centro Panamericano de Fiebre Aftosa en Río de Janeiro.

Allí tuvo oportunidad de definir conceptos y establecer normas que hoy se utilizan en todos los laboratorios de la especialidad. Reconoció e identificó 18 nuevos subtipos del virus de la fiebre aftosa y los primeros subtipos del virus de la estomatitis vesicular en las Américas. Innúmeras veces fue solicitada su cooperación por los laboratorios de diagnóstico de la fiebre aftosa de los países. A su obra seria y tesonera debe el Centro Panamericano de Fiebre Aftosa haber sido decla-



rado por los países, como el Laboratorio de Referencia para los virus de la fiebre aftosa en las Américas. Maestro por excelencia, poseía las aptitudes necesarias para formar discípulos, condición reservada a los mejores. Algunos de ellos prosiguen en el Centro las tareas por él iniciadas y siempre bajo la advocación de su ejemplo y su memoria. Otros, —los más— hoy dirigen los laboratorios de diagnóstico oficiales y de empresas productoras de vacunas en toda la América del Sur.

Largo sería enumerar la cantidad de congresos, simposios, reuniones o misiones especiales de las que participó y larga sería también la lista de sus trabajos y de las menciones honoríficas que recibió. Pero si su obra realizada en el campo científico tiene proyección continental, no menos destacadas fueron sus actividades sociales y culturales. Fue fundador y director de asociaciones de beneficencia en la Argentina y en Brasil. Dedicó buena parte de su tiempo y de sus recursos a las obras de caridad, a socorrer a enfermos y necesitados y a reconfortar la fe en sus espíritus.

En sus últimos años, en Alemania, con su salud parcialmente recuperada, se dedicó a dictar conferencias que condensaban su experiencia de un cuarto de siglo en América y su profundo cariño por estas tierras americanas. El Gobierno de la Alemania Federal lo distinguió con la condecoración al Mérito de Primera Clase por sus actividades científicas y culturales.

El Centro Panamericano de Fiebre Aftosa rinde un sentido homenaje a la memoria de un hombre cuyo paso por sus filas constituyó motivo de orgullo y de prestigio para la institución.

KARL ELMAR FEDERER

When he came to the Pan American Foot-and-Mouth Disease Center in 1957, he was undoubtedly unaware that he would there develop and leave behind transcendental accomplishments. And when, 17 years later, he felt his health seriously weakened, it was unwillingly that he withdrew from his beloved activities. But his unseen presence is still felt in the laboratories where his major attainments were generated. With his death on July 3, 1980, the Pan American Health Organization mourns the passing of one of its most outstanding members.

He was born in Freiburg in 1916, and it was there that he took his primary and secondary schooling. Then he went on to university in Berlin, Munich, Vienna and finally Leipzig where, in 1941, he was to take his doctorate in Veterinary Medicine with "Magna Cum Laude" honors, the highest university recognition known at that time.

Having survived the horrors of the world war, he returned to civilian life and undertook his professional training at the Animal Health Institute of Freiburg, under Professor Karl Trautwein, one of Germany's great masters of veterinary medicine. In 1948, as a member of Professor Waldmann's team, he was contracted by the Argentine Government to assist that country's incipient struggle against foot-and-mouth disease. Following his services for the government, he lent his knowledge and ability to private enterprise in the young foot-and-mouth disease vaccine industry.

Ten years he spent in Argentina until, in 1957, half a continent began to benefit from his knowledge and experience when he joined the Pan American Foot-and-Mouth Disease Center in Rio de Janeiro, as a serologist.

At the Center he defined concepts and established standards implemented today by all laboratories in the specialty. Thanks to his efforts, 18 new foot-and-mouth disease virus subtypes were recognized and identified, as well as the

first vesicular stomatitis virus subtypes in the Americas. Innumerable were the times the countries' foot-and-mouth disease diagnosis laboratories solicited his cooperation. Through his persevering, painstaking efforts, the Pan American Foot-and-Mouth Disease Center was declared by the countries as the foot-and-mouth disease Reference Laboratory for the Americas.

A teacher *par excellence*, he possessed the uncommon aptitudes required to mold disciples, a condition reserved for the best. Some continue his works today at the Center, ever guided by his example and his memory. Others—the majority—are today the directors of the official diagnosis laboratories, or those of vaccine-producing organizations throughout South America.

To enumerate the extensive list of congresses, symposia, meetings or special missions in which he participated is unnecessary, and long is the list of his works and of the honors bestowed on him. But if his work in the scientific field reached out across the continent, no less significant were his social and cultural activities. As founder and director of charity associations in Argentina and Brazil, he dedicated a large part of his life and resources to charitable works, to succoring the sick and needy and recomforting them in their distress.

During his later years in Germany, having partially recovered his weakened health, he dedicated his time to dictating talks and lectures, condensing his experience accrued over a quarter century in the Americas. His deep affection for this part of the world was ever apparent. And the Federal Government of Germany, in conferring the First Degree Meritorious Award upon him, distinguished his scientific and cultural attainments.

The Pan American Foot-and-Mouth Disease Center is deeply moved in rendering this homage to the memory of a man whose presence in its ranks brought only pride and prestige.

INFLUENCIA DEL GRADO DE DISPERSION EN LA FASE ACUOSA SOBRE LA INMUNOGENICIDAD DE VACUNA ANTIAFTOSA CON ADYUVANTE OLEOSO

*P. Augé de Mello¹; K. de Freitas Costa¹; A. Alonso Fernández¹; P. Suttmöller¹
A. Pollak²; A. Millán²*

RESUMEN

Vacunas antiaftosa, tanto de emulsión primaria (agua-en-aceite) como de emulsión doble (agua-en-aceite-en-agua), con diferentes viscosidades, produjeron excelentes y persistentes niveles de anticuerpos neutralizantes. El grado de dispersión de la fase acuosa del antígeno en la fase oleosa, que determina la viscosidad de la vacuna, no tuvo un efecto demostrable en la inmunogenicidad a largo plazo de estas vacunas.

INTRODUCCION

La respuesta inmunitaria a la vacunación con una vacuna de tipo emulsión de agua-en-aceite depende, entre otros factores, del grado de dispersión de la fase acuosa en la fase continua de aceite. Para una proporción dada de las fases acuosa y oleosa, a un mayor grado de dispersión de la fase acuosa corresponde una mayor viscosidad de la emulsión. Un grado alto de dispersión generalmente significa una mayor estabilidad de la emulsión, y por lo tanto, de las vacunas durante el almacenamiento, pero un manejo más difícil en el campo que las vacunas de baja viscosidad.

Berlin (5), en sus estudios con vacuna de influenza con adyuvante oleoso, comprobó que una viscosidad demasiado elevada puede influir desfavorablemente en el efecto del adyuvante, independientemente de que las diferencias entre vacunas emulsificadas fueran producidas cambiando la viscosidad de la fase externa, la proporción de la fase acuosa dispersada o la intensidad de la agitación aplicada en la preparación.

El mismo investigador (5) también descubrió que las vacunas emulsificadas que tienen una estabilidad intermedia ofrecen un efecto adyuvante mayor que las vacunas que poseen una estabilidad breve o prolongada.

Desde un punto de vista práctico, para la producción de vacunas contra la fiebre aftosa (FA) sería importante conocer si el grado de dispersión de la fase acuosa influiría significativamente la respuesta inmunitaria y si es así, cuál sería la relación ideal entre inmunogenicidad, dispersión (viscosidad) y estabilidad de la emulsión.

Durante varios años el Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (CPFA) ha usado una emulsión del tipo agua-en-aceite para la preparación de vacunas antiaftosas inactivadas con adyuvante oleoso, para aplicación en bovinos (1, 2, 6, 7), en ovinos (6, 7) y en porcinos (3, 4, 7).

Estas vacunas están constituidas por un antígeno acuoso emulsificado con un volumen igual de aceite (9 partes de aceite mineral³ y una parte de monooleato de manitol⁴). La emulsión se considera satisfactoria cuando una gota colocada en agua fría permanece como una esfera (5). Además, cuando la emulsión se guarda a 4°C, debe permanecer estable por lo menos durante 12 meses y a 37°C, por lo menos durante dos semanas. En este trabajo, cuando hablamos de vacuna "padrón", nos referimos a este tipo de emulsión.

Para estudiar la influencia del grado de dispersión de la fase acuosa sobre la inmunogenicidad de la emulsión, se probaron en bovinos tres vacunas: una de viscosidad baja con una reducida dispersión de la fase acuosa, la vacuna padrón y una emulsión con la mayor viscosidad posible para la proporción dada de las fases oleosa y acuosa.

¹Centro Panamericano de Fiebre Aftosa, OPS/OMS, Caixa Postal 589, 20000 Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

²Dirección de Lucha contra la Fiebre Aftosa, Ruta 8, "Brig. Gral. Juan A. Lavalleja", Km 29, Pando, Uruguay.

³Marcol 52, Exxon Corporation U.S.A.

⁴Arlacel A, ICI American Inc. Atlas Chemicals Division.

Además de esas emulsiones primarias, se probaron en bovinos tres vacunas de emulsión doble (agua-en-aceite-en-agua) (9).

MATERIALES Y METODOS

1. Vacuna

Los antígenos para las vacunas se prepararon mediante métodos padrones utilizados en el CPFA. Se usaron células BHK cultivadas en suspensión en tanque de 200 litros. El Cuadro 1 describe las características de los antígenos.

CUADRO 1. Características de los antígenos usados en la preparación de la vacuna antiaftosa experimental

Antígeno	Cepa	TFC ^a	DICC ^b
O ₁	Campos	1/20	7,0
A	} 25% Cruzeiro 25% Venceslau 50% Bagé	1/22	7,3
		1/16	7,6
		1/12	7,4
C ₃	Resende	1/22	7,5

^aTFC = Título fijación del complemento 50% (4UHC₅₀-90').

^bDICC = Dosis infectante 50% para cultivo de células/ml.

Las Vacunas 1 (baja viscosidad) y 2 (vacuna padrón) se prepararon en un tanque emulsificador de 50 litros. La Vacuna 1 se recogió en cuanto la conductividad de la emulsión se aproximó a cero y la emulsificación en el tanque de 50 litros se dio por terminada cuando se alcanzaron las características de la vacuna padrón (Vacuna 2). Una porción de 1000 ml de la emulsión continuó emulsificándose con un aparato Silverson⁵, hasta alcanzar la máxima viscosidad que podía aplicarse con una jeringa especial (alta viscosidad).

Las tres vacunas tenían las siguientes características: la Vacuna 1 (baja viscosidad) no formaba gota en el agua fría y a 37°C no se mantenía estable por más de 24 horas; la Vacuna 2 (viscosidad padrón) en todos los aspectos era igual a la vacuna padrón del CPFA (1, 2); y la Vacuna 3 (alta visco-

sidad) era muy estable aun a 37°C, pero demasiado viscosa para ser aplicada fácilmente en condiciones de campo.

Las emulsiones de las tres vacunas fueron estables por más de 12 meses a 4°C. Con las Vacunas 1, 2 y 3 se prepararon emulsiones dobles en un emulsificador Silverson con partes iguales de solución buffer fosfato (SBF) con 2% de polioxietileno 20 monooleato de sorbitol⁶. Estas vacunas de emulsión doble (identificadas como Vacunas 4, 5 y 6, respectivamente) tenían la misma baja viscosidad.

2. Pruebas de potencia

Para las pruebas de potencia en cobayos y en bovinos, cada vacuna fue diluida en serie en una emulsión con las mismas características de la emulsión de la vacuna.

Cobayos: En estos experimentos se utilizaron cobayos de 3 a 4 meses de edad con 550 ± 50 g de peso. Fueron inoculados por vía intramuscular con 0,25 ml de las vacunas de emulsión primaria o con 0,5 ml de las vacunas de emulsión doble. A los 30 días posvacunación (DPV) los cobayos fueron inoculados por vía intradermopltar en una pata con 0,1 ml de una suspensión de virus que contenía 10³ DI₅₀ cobayo de virus de la FA tipo O₁ Campos. Los cobayos que presentaron lesiones generalizadas en las patas no inoculadas fueron considerados como "no protegidos".

Bovinos: Se utilizaron novillos Hereford de 2 a 3 años de edad con un peso aproximado de 200 kg, criados en condiciones de aislamiento en las islas del río Negro, en Uruguay. Se inocularon por vía intramuscular con 5 ml de la Vacuna 2, con las siguientes diluciones: 1:1, 1:10, 1:40 y 1:160. Cada dilución se aplicó en un grupo de 8 bovinos. A los 30 DPV los animales fueron expuestos al virus de la FA O₁ Campos por inoculación en el epitelio de la lengua de 10⁴ DI₅₀ bovino. Cualquier animal que tuviera una o más lesiones podales fue considerado "no protegido". Para estudios de anticuerpos se extrajo suero antes de la vacunación y a los 30 DPV.

⁵Silverson - Machine (Sales) Ltd. London.

⁶Tween 80, ICI American Inc. Atlas Chemicals Division.

3. Experimento principal

Los bovinos de este experimento eran similares a los descritos anteriormente. Durante el experimento se mantuvieron en estricto aislamiento en las mismas islas que los bovinos de las pruebas de potencia.

Para las Vacunas 1-6 se emplearon 6 grupos de 12 bovinos cada uno. La vacuna se aplicó por vía intramuscular en el cuello, a la dosis de 5 ml para la vacuna de emulsión primaria y de 10 ml para las emulsiones dobles, ya que estas vacunas contenían la mitad de antígeno y de adyuvante oleoso por ml.

Para los exámenes de anticuerpos se extrajeron muestras de suero antes de la vacunación y a intervalos mensuales hasta 180 días más tarde.

4. Examen de anticuerpos

Con el suero se hicieron pruebas de microneutralización, según descrito por Ferreira (8).

RESULTADOS

Prueba de potencia

El Cuadro 2 contiene los resultados de las pruebas de potencia en cobayos frente al virus subtipo O₁ de la vacuna padrón y de las Vacunas 4, 5 y 6 de emulsión doble.

CUADRO 2. Prueba de potencia en cobayos de vacunas con adyuvante oleoso frente al virus subtipo O₁ de la fiebre aftosa

Tipo de emulsión	Dilución de la vacuna	Vacuna N ^o		
		1	2	3
Primaria	1:10		6/6 ^a	
	1:40	NP ^b	1/6	NP
	1:160		0/6	
	DPC ₅₀ ^c		25	
Doble		4	5	6
	1:4	1/6	4/6	6/6
	1:16	0/6	0/6	0/6
	1:64	0/6	0/6	0/6
	DPC ₅₀ ^d	<4	5	8

^aN^o de cobayos protegidos/N^o de cobayos inoculados.

^bNo probada.

^cDPC₅₀ = Dosis protectora cobayo 50% en 0,25 ml de vacuna, vía intramuscular.

^dDPC₅₀ = Dosis protectora cobayo 50% en 0,50 ml de vacuna, vía intramuscular.

La vacuna padrón diluida en una emulsión sin antígeno (diluyente activo) contenía 25 dosis protectoras cobayo 50% (DPC₅₀) por 0,25 ml. Las Vacunas 4, 5 y 6 de emulsión doble, diluidas en una emulsión doble sin antígeno, contenían <4, 5 y 8 DPC₅₀ por 0,5 ml, respectivamente.

El Cuadro 3 muestra los resultados de seroneutralización y de las pruebas de descarga en bovinos después de la inoculación de la vacuna padrón (N^o 2), pudiendo observarse que la vacuna de emulsión padrón tenía 40 dosis protectoras bovino 50% (DPB₅₀) por 5 ml dosis para el virus subtipo O₁.

CUADRO 3. Promedio del título de seroneutralización^a y resultado de la descarga a los 30 días en bovinos inoculados con vacuna oleosa de emulsión primaria en varias diluciones

Dilución de la vacuna ^b	Anticuerpos neutralizantes		
	Virus		Descarga
	O ₁ Campos	A ₂₄ Cruzeiro	O ₁ Campos
1:1	3,24 ± 0,44	2,98 ± 0,39	8/8 ^c
1:10	2,81 ± 0,70	2,66 ± 0,54	6/8
1:40	2,87 ± 0,61	2,48 ± 0,42	4/8
1:160	2,19 ± 0,57	2,04 ± 0,47	2/8
Controles	<1,0	<1,0	0/4 ^d

^aPrueba de microneutralización. Recíproca del log₁₀ de la dilución del suero que protege 50% de cultivos celulares frente a 100 DI₅₀.

^bDilución en emulsión primaria sin antígeno del virus de la fiebre aftosa.

^cProtegidos/Total.

^dUn animal murió debido a fiebre aftosa.

Respuesta inmunitaria a largo plazo

La Fig. 1 muestra la media de los títulos de anticuerpos para el virus subtipo A₂₄. En cuanto a la respuesta a largo plazo, puede observarse que no hay una diferencia real entre las tres viscosidades. Sin embargo, las vacunas de emulsión doble indujeron una respuesta de anticuerpos algo menor que la emulsión primaria. En la Fig. 2 se muestran los resultados correspondientes al virus subtipo O₁. En conjunto fue mejor la respuesta para el virus O que para el A. A los 30 DPV las emulsiones con dispersión más alta de la fase acuosa (Vacunas 1 y 4) produjeron los mayores niveles de anticuerpos.

No obstante, no se observaron diferencias en la respuesta a largo plazo, probablemente debido a que con todas ellas se consiguieron títulos máximos de anticuerpos que eliminarían cualquier diferencia. Tanto el tipo O como el A dieron excelentes niveles de anticuerpos que persistieron

durante todo el período de observación. Con base en estos resultados, se concluye que en este experimento el grado de dispersión de la fase acuosa en la emulsión primaria tuvo poca influencia en la inmunogenicidad de la vacuna en el bovino.

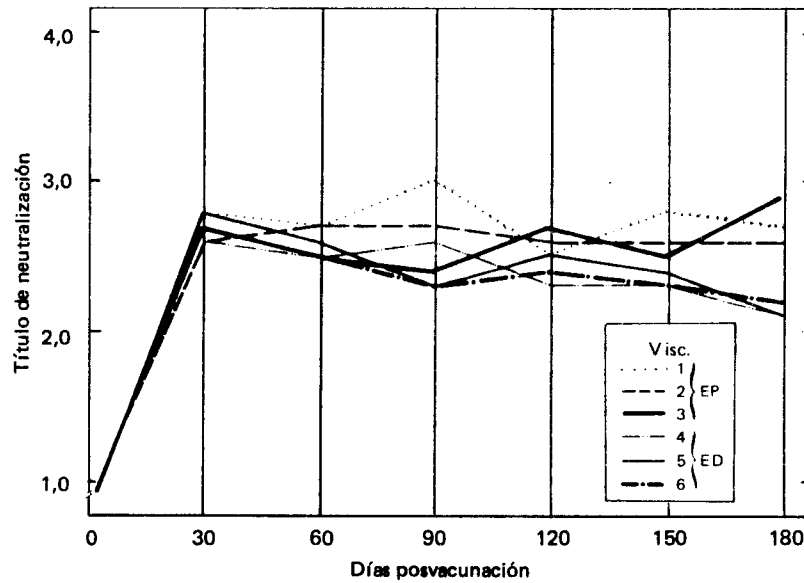


FIGURA 1. Títulos de neutralización del subtipo A₂₄ (Cruzeiro) de vacunas con adyuvante oleoso de emulsión primaria (EP) con diferentes viscosidades y vacunas de emulsión doble (ED) preparadas de las vacunas de EP.

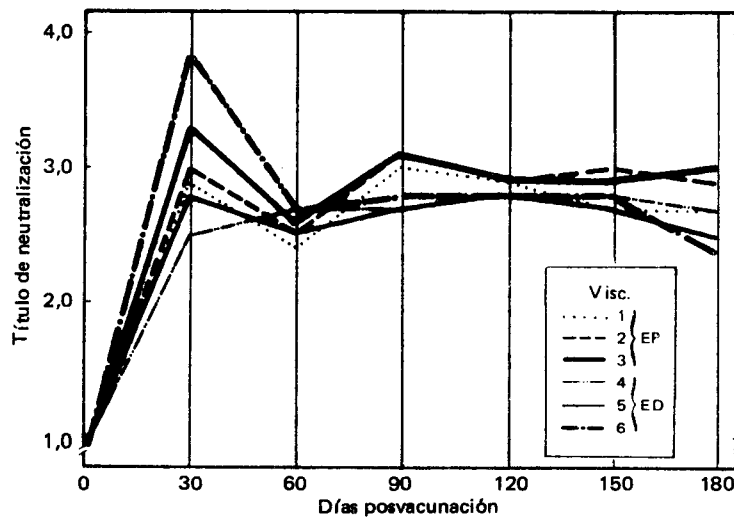


FIGURA 2. Títulos de neutralización del subtipo O₁ (Campos) de vacunas con adyuvante oleoso de emulsión primaria (EP) con diferentes viscosidades y de vacunas de emulsión doble (ED) preparadas de las vacunas de EP.

DISCUSION

Tanto con las vacunas de emulsión primaria como con las de emulsión doble se indujeron excelentes niveles de anticuerpos neutralizantes, si bien las primarias fueron levemente mejores. El antígeno del subtipo O₁ indujo niveles superiores de anticuerpos que el antígeno A. Esto es contrario a los resultados de experimentos anteriores (1, 2, 6, 7), en que el antígeno A se comportó mejor que el O₁ Campos y que puede interpretarse como el resultado de la mezcla de cepas A utilizada para las vacunas de este experimento. Debido a la situación epidemiológica en Brasil en la época de preparación del lote principal (Vacuna 2) para uso en el campo, en la vacuna se incorporaron 3 cepas del virus A de la FA, en la siguiente proporción: 25% A Cruzeiro, 25% A Venceslau y 50% A Bagé, por volumen. La introducción de estas 3 cepas produjo una cobertura mayor contra las cepas de campo, pero, resultó en títulos menores para las cepas individuales de las vacunas.

Los resultados de la DPC₅₀ obtenidos con la vacuna de emulsión doble coinciden con la respuesta de los bovinos a los 30 DPV. No obstante, después de los 60 DPV todas las vacunas indujeron una respuesta similar en los bovinos.

De este experimento parecería que el grado de dispersión de la fase acuosa del antígeno en la fase oleosa no es muy crítico y que, aun con una dispersión relativamente pobre se puede preparar una vacuna adecuada. Se debe tener en cuenta, sin embargo, que un grado bajo de dispersión puede significar una baja estabilidad de la emulsión durante su almacenamiento y que podría ser necesario un estabilizador adicional para la vacuna.

REFERENCIAS

1. AUGÉ DE MELLO, P.; ASTUDILLO, V.; GOMES, I.; CAMPOS GARCIA, J.T. Aplicación en el campo de vacuna antiaftosa oleosa e inactivada: vacunación y revacunación de bovinos jóvenes. (Field application of inactivated oil adjuvanted foot-and-mouth disease virus vaccine: vaccination and revaccination of young cattle). *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 19-20: 31-38, 39-47, 1975.
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). *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 26: 23-25, 27-29, 1977.
3. AUGÉ DE MELLO, P.; GOMES, I. Vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso para cerdos. I. Vacuna de emulsión doble aplicada por diferentes vías. (Foot-and-mouth disease oil adjuvanted vaccines for pigs. I. Double emulsion vaccine applied by different routes). *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 31-32: 1-6, 7-12, 1978.
4. AUGÉ DE MELLO, P.; GOMES, I.; ALONSO FERNANDEZ, A.; MASCARENHAS, J.C. Vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso para cerdos. II. Vacunación intraperitoneal de cerdos jóvenes con emulsión doble. (Foot-and-mouth disease oil adjuvanted vaccine for pigs. II. Intraperitoneal vaccination of young pigs with double emulsion vaccine). *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 31-32: 13-19, 21-27, 1978.
5. BERLIN, B.S. Gross physical properties of emulsified influenza virus vaccines and the adjuvant response. *J. Immunol.* 85: 81-89, 1960.
6. CENTRO DE ENFERMEDADES DE ANIMALES DE PLUM ISLAND - CENTRO PANAMERICANO DE FIEBRE AFTOSA. Vacunas contra la fiebre aftosa. I. Comparación entre vacunas preparadas con virus inactivado con formalina y adsorbido en hidróxido de aluminio y vacunas preparadas con virus inactivado con acetilileneimina emulsificado con adyuvante incompleto de Freund. (Foot-and-mouth disease vaccines. I. Comparison of vaccines prepared from virus inactivated with formalin and adsorbed on aluminum hydroxide gel with saponin and virus inactivated with acetyleneimine and emulsified with incomplete Freund's adjuvant). *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 19-20: 1-8, 9-16, 1975.
7. CENTRO DE ENFERMEDADES DE ANIMALES DE PLUM ISLAND - CENTRO PANAMERICANO DE FIEBRE AFTOSA. Vacunas contra la fiebre aftosa. II. Estudios sobre la duración de la inmunidad en bovinos y porcinos. (Foot-and-mouth disease vaccines. II. Studies on the duration of immunity in cattle and pigs). *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 19-20: 17-23, 24-30, 1975.
8. FERREIRA, M.E.V. Prueba de microneutralización para estudios de anticuerpos de la fiebre aftosa. (Micro-titer neutralization test for the study of foot-and-mouth disease antibodies). *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 21-22: 17-20, 21-24, 1976.
9. HERBERT, W.T. Multiple emulsion - A new form of mineral-oil antigen adjuvant. *Lancet* 16: 771, 1965.

INFLUENCE OF THE DEGREE OF DISPERSION IN THE AQUEOUS PHASE ON THE IMMUNOGENICITY OF OIL-ADJUVANTED FOOT-AND-MOUTH DISEASE VACCINE

*P. Auge de Mello*¹; *K. de Freitas Costa*¹; *A. Alonso Fernandez*¹; *P. Suttmöller*¹
*A. Pollak*²; *A. Millan*²

SUMMARY

Both primary emulsion (water-in-oil) and double emulsion (water-in-oil-in-water) foot-and-mouth disease vaccines with different viscosities produced excellent persistent levels of neutralizing antibodies. The degree of dispersion of the aqueous antigenic phase in the oily phase, which determined the viscosity of the vaccine, did not have a demonstrable effect on the long-term immunogenicity of these vaccines.

INTRODUCTION

The immune response following vaccination with a water-in-oil type emulsion vaccine may depend, among other factors, on the degree of dispersion of the aqueous phase in the continuous oily phase. For a given ratio of aqueous and oily phase a higher degree of dispersion of the aqueous phase results in a higher viscosity of the emulsion. Such a high degree of dispersion usually means a higher stability of the emulsion during storage although such vaccines are more difficult to handle in the field than those of low viscosity.

Berlin (5) concluded in his studies of oil-adjuvanted influenza vaccine that the adjuvant effect may be adversely influenced by extremely high viscosity regardless of whether differences between emulsified vaccines were produced by altering the viscosity of the external phase, the proportion of the dispersed aqueous phase or the amount of agitation used in their preparation.

The same investigator (5) also found that

emulsified vaccines exhibiting intermediate stability had a greater adjuvant effect than vaccines with a brief or prolonged stability.

From a practical point of view for the production of foot-and-mouth disease (FMD) vaccines it would therefore be important to know if the degree of dispersion of the aqueous phase would significantly influence the immune response and, if so, what would be the ideal compromise between immunogenicity, dispersion (viscosity) and stability of the emulsion.

For several years the Pan American Foot-and-Mouth Disease Center has used a water-in-oil type emulsion for the formulation of oil adjuvanted inactivated FMD vaccines for use in cattle (1, 2, 6, 7), pigs (3, 4, 7) and sheep (6, 7).

These vaccines consist of aqueous antigen emulsified with an equal volume of the oily phase (9 parts of mineral oil³ and one part of mannide monooleate⁴). The emulsion is considered satisfactory when a drop of the emulsion in cold water remains a perfect sphere (5). Moreover the emulsion when stored at 4°C should remain stable for at least 12 months and at 37°C for at least two weeks. In this paper we refer to this type of emulsion as the "standard" vaccine.

In order to study the influence of the degree of dispersion of the aqueous phase on the immunogenicity of the emulsion, three vaccines were tested in cattle: one low viscosity emulsion a poor dispersion of the aqueous phase, the standard vaccine and an emulsion with the highest possible viscosity for the given ratio of the oily and aqueous phase.

In addition, 3 double emulsion (water-in-oil-in-water) vaccines prepared from these primary emulsions were tested in cattle (9).

¹Pan American Foot-and-Mouth Disease Center, PAHO/WHO, Caixa Postal 589, 20000 Rio de Janeiro-RJ, Brazil.

²Dirección de Lucha contra la Fiebre Aftosa, Ruta 8, "Brig. Gral. Juan A. Lavalleja", Km 29, Pando, Uruguay.

³Marcol 52, Exxon Corporation U.S.A.

⁴Arlacel A, ICI American Inc. Atlas Chemicals Division.

MATERIALS AND METHODS

1. Vaccine

The antigens for the vaccines were prepared by standard methods used in the vaccine plant of the Pan American Foot-and-Mouth Disease Center. These particular antigens were produced in BHK cells grown in suspension in a 200-liter vessel. The characteristics of the antigens are listed in Table 1.

TABLE 1. Characteristics of the FMD antigens used for the preparation of the experimental vaccine

Antigen	Strain	CFT ^a	CCID ^b
O ₁	Campos	1/20	7.0
A	} 25% Cruzeiro 25% Venceslau 50% Bage	1/22	7.3
		1/16	7.6
		1/12	7.4
C ₃	Resende	1/22	7.5

^aCFT = 50% complement fixation titer (4HCU₅₀-90').

^bCell culture infectious doses 50%/ml.

Vaccines 1 (lowest viscosity) and 2 (standard vaccine) were made in a 50-liter emulsifier vessel. Vaccine 1 was collected as soon as the conductivity of the emulsion was near zero, and emulsification in the 50-liter vessel was terminated when the characteristics of the "standard" (Vaccine 2) were reached. A 1000 ml portion of the emulsion was further emulsified with a benchtop emulsifier⁵ until the maximum viscosity was obtained which could still be applied by special syringe (highest viscosity).

The three vaccines had the following characteristics: Vaccine 1 (lowest viscosity) did not form a droplet in cold water and was not stable at 37°C for more than 24 hours; Vaccine 2 (standard viscosity) was in all aspects like the standard vaccine of the Center (1, 2); and Vaccine 3 (highest viscosity) was very stable even at 37°C but was too viscous to be practical under field conditions.

The emulsion of all 3 vaccines were stable at storage for more than 12 months at 4°C. Double emulsions were prepared from Vaccines 1, 2 and 3

by emulsification in a benchtop emulsifier with equal parts of phosphate buffer solution (PBS) with 2% of polyoxyethylene 20 sorbitan monooleate⁶. These double emulsion vaccines (identified as 4, 5 and 6, respectively) had equal low viscosity.

2. Potency tests

For potency testing in guinea pigs and cattle each vaccine was serially diluted in an emulsion having the same characteristics as the vaccine itself.

Guinea pigs: 3-4 months old guinea pigs weighing 550 ± 50 g were used in these experiments. They were inoculated intramuscularly with 0.25 ml of primary emulsion vaccine or with 0.5 ml of double emulsion vaccine. At 30 days post-vaccination (DPV) the guinea pigs were inoculated intradermally in the foot pad with 0.1 ml of virus suspension containing 10³ guinea pig ID₅₀ of FMD virus type O₁ Campos. Guinea pigs with generalized lesions at the non-inoculated feet were scored as "not protected".

Cattle: Hereford steers, 2-3 years old, weighing approximately 200 kg raised in isolation on islands in the lake of the Rio Negro river in Uruguay were used in these experiments. They were inoculated intramuscularly with 5 ml of Vaccine 2 in the following dilutions: 1:1, 1:10, 1:40 and 1:160. For each dilution 8 cattle were used. At 30 DPV the cattle were exposed to FMD virus O₁ Campos by inoculation in the tongue epithelium of 10⁴ bovine ID₅₀. Any animal developing one or more foot lesions was scored as "not protected". Serum was collected before vaccination and at the day of challenge (30 DPV) for antibody studies.

3. Main experiment

Cattle used in the main experiment were similar to those described above. During the experiment they were maintained in strict isolation on the same islands as the cattle used for the potency tests.

⁵Silverson - Machine (Sales) Ltd. London.

⁶Tween 80, ICI American Inc. Atlas Chemicals Division

Six groups of 12 cattle each were used for Vaccines 1-6. The cattle were vaccinated intramuscularly at the side of the neck. A 5 ml dose of the primary emulsion vaccine was used. The double emulsions were given in 10 ml doses since these vaccines contained half the amount of antigen and oil adjuvant per ml.

Serum was collected for antibody assay before vaccination and at monthly intervals up to 180 days after vaccination.

4. Antibody assay

Microneutralization tests with the sera were made as described by Ferreira (8).

RESULTS

Potency tests

Table 2 lists the results of the potency tests in guinea pigs for subtype O₁ virus of the standard vaccine and of the double emulsion Vaccines 4, 5 and 6.

TABLE 2. Potency test of oil-adjuvanted vaccines in guinea pigs for subtype O₁ FMD virus

Type of emulsion	Dilution of vaccine	Vaccine No.		
		1	2	3
Primary	1:10		6/6 ^a	
	1:40	NT ^b	1/6	NT
	1:160		0/6	
	GPPD ₅₀ ^c		25	
Double		4	5	6
	1:4	1/6	4/6	6/6
	1:16	0/6	0/6	0/6
	1:64	0/6	0/6	0/6
	GPPD ₅₀ ^d	<4	5	8

^aNumber of guinea pigs protected/number of guinea pigs inoculated.

^bNot tested.

^cGPPD₅₀ = Guinea pig protective dose 50% in 0.25 ml of vaccine, intramuscularly.

^dGPPD₅₀ = Guinea pig protective dose 50% in 0.50 ml of vaccine, intramuscularly.

The standard vaccine when diluted in an emulsion without antigen (active diluent) contained 25

guinea pig PD₅₀ per 0.25 ml. The double emulsion Vaccines 4, 5 and 6, diluted in a double emulsion without antigen, contained <4, 5, 8 guinea pig PD₅₀ per 0.5 ml, respectively.

Results of the serum neutralization and the challenge tests in cattle following inoculation of the standard vaccine (No. 2) are shown in Table 3 and shows this standard emulsion vaccine contained 40 bovine PD₅₀ per 5 ml dose for subtype O₁ virus.

TABLE 3. Mean serum neutralization titer^a and 30-day challenge results of cattle inoculated with primary oil emulsion vaccine in various dilutions

Vaccine dilution ^b	Neutralizing antibodies		
	Virus		Challenge O ₁ Campos
	O ₁ Campos	A ₂₄ Cruzeiro	
1:1	3.24 ± 0.44	2.98 ± 0.39	8/8 ^c
1:10	2.81 ± 0.70	2.66 ± 0.54	6/8
1:40	2.87 ± 0.61	2.48 ± 0.42	4/8
1:160	2.19 ± 0.57	2.04 ± 0.47	2/8
Controls	<1.0	<1.0	0/4 ^d

^aMicroneutralization test. Reciprocal of log₁₀ of serum dilution protecting 50% of cell cultures against approximately 100 ID₅₀.

^bDilution in primary emulsion without FMD virus antigen.

^cProtected/Total.

^dOne animal died as consequence of FMD.

Long-term immune response

The mean serum antibody titers for subtype A₂₄ virus are shown in Fig. 1. It can be observed that no real differences existed among the three viscosities with regard to long-term response. However, the double emulsion vaccines consistently induced a somewhat lower antibody response than the primary emulsion. The results of antibody assays for virus type O₁ are shown in Fig. 2. The overall response for type O was somewhat better than for virus A. At 30 DPV the emulsions with the highest dispersion of the aqueous phase (Vaccines 1 and 4) induced the highest levels of antibody. However, in the long-term response no differences between the vaccines were observed probably because peak antibody titers were obtained with all of them which obliterated any differences.

Both types O and A produced excellent levels of antibodies which persisted throughout the observation period. From these results we conclude that in this experiment the degree of dispersion of the

aqueous phase in the primary emulsion had little influence on the immunogenicity of the vaccine in cattle.

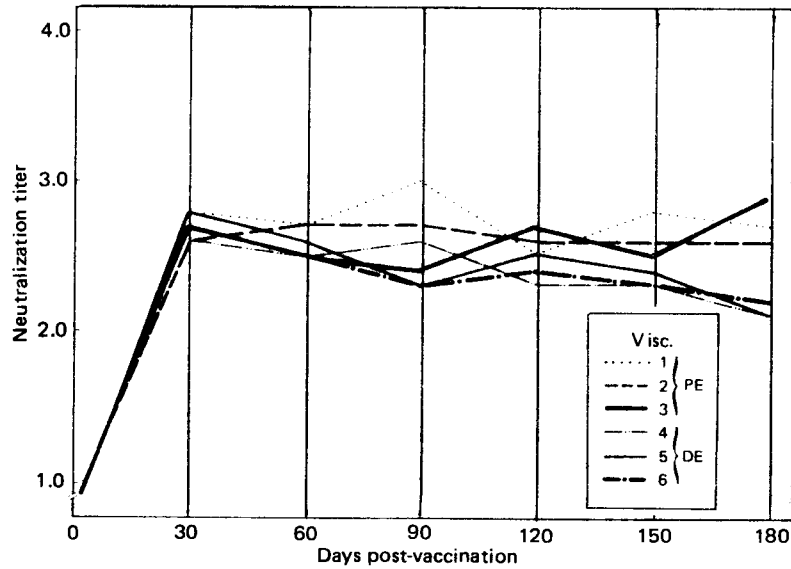


FIGURE 1. Neutralization titers of subtype A₂₄ (Cruzeiro) of primary emulsion inactivated oil adjuvanted vaccines (PE) with different viscosities and of double emulsion vaccines (DE) prepared from the PE vaccines.

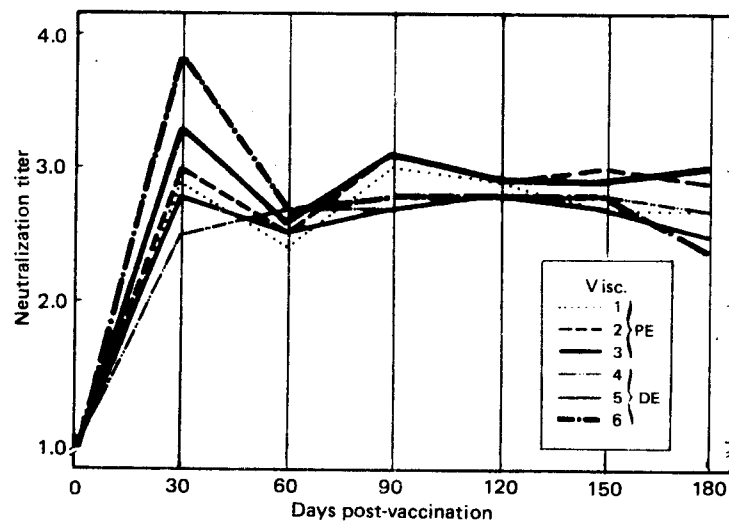


FIGURE 2. Neutralization titers of subtype O₁ (Campos) of primary emulsion inactivated oil adjuvanted vaccines (PE) with different viscosities and of double emulsion vaccines (DE) prepared from the PE vaccines.

DISCUSSION

Excellent levels of neutralizing antibody were induced both by the primary and the double emulsion vaccines, even though the primary emulsions performed slightly better. Subtype O₁ antigen induced higher antibody levels than the A antigen. This is contrary to the results in earlier experiments (1, 2, 6, 7) in which the A antigen performed better than the O₁ Campos antigen and may be a result of the mixture of A strains used for the vaccines in this experiment. Because of the epidemiological situation in Brazil at the time of preparation of the main batch (Vaccine 2) and its intended use in the field, three strains of FMD A virus were incorporated in the vaccine in the following ratio: 25% A Cruzeiro, 25% A Veneslau and 50% A Bage by volume. The incorporation of these three strains produced a broad coverage against the field strains but resulted in lower titers for the individual vaccine strains.

The results of the GP PD₅₀ tests of the double emulsion vaccines agree with the response of cattle at 30 DPV. However, after 60 DPV all vaccines gave a similar response in cattle.

It appears from this experiment that the degree of dispersion of the aqueous antigen phase in the oily phase is not extremely critical and that with even relatively poor dispersion, adequate vaccines may be prepared. It should be kept in mind however that a low degree of dispersion might mean a low stability of the emulsion and that an additional stabilizer for the vaccine might be needed.

REFERENCES

1. AUGÉ DE MELLO, P.; ASTUDILLO, V.; GOMES, I.; CAMPOS GARCIA, J.T. Aplicación en el campo de vacuna antiaftosa oleosa e inactivada: vacunación y revacunación de bovinos jóvenes. (Field application of inactivated oil adjuvanted foot-and-mouth disease virus vaccine: vaccination and revaccination of young cattle). *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 19-20: 31-38, 39-47, 1975.
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). *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 26: 23-25, 27-29, 1977.
3. AUGÉ DE MELLO, P.; GOMES, I. Vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso para cerdos. I. Vacuna de emulsión doble aplicada por diferentes vías. (Foot-and-mouth disease oil adjuvanted vaccines for pigs. I. Double emulsion vaccine applied by different routes). *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 31-32: 1-6, 7-12, 1978.
4. AUGÉ DE MELLO, P.; GOMES, I.; ALONSO FERNANDEZ, A.; MASCARENHAS, J.C. Vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso para cerdos. II. Vacunación intraperitoneal de cerdos jóvenes con emulsión doble. (Foot-and-mouth disease oil adjuvanted vaccine for pigs. II. Intraperitoneal vaccination of young pigs with double emulsion vaccine). *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 31-32: 13-19, 21-27, 1978.
5. BERLIN, B.S. Gross physical properties of emulsified influenza virus vaccines and the adjuvant response. *J. Immunol.* 85: 81-89, 1960.
6. CENTRO DE ENFERMEDADES DE ANIMALES DE PLUM ISLAND - CENTRO PANAMERICANO DE FIEBRE AFTOSA. Vacunas contra la fiebre aftosa. I. Comparación entre vacunas preparadas con virus inactivado con formalina y adsorbido en hidróxido de aluminio y vacunas preparadas con virus inactivado con acetilileneimina emulsificado con adyuvante incompleto de Freund. (Foot-and-mouth disease vaccines. I. Comparison of vaccines prepared from virus inactivated with formalin and adsorbed on aluminum hydroxide gel with saponin and virus inactivated with acetyl-ethyleneimine and emulsified with incomplete Freund's adjuvant). *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 19-20: 1-8, 9-16, 1975.
7. CENTRO DE ENFERMEDADES DE ANIMALES DE PLUM ISLAND - CENTRO PANAMERICANO DE FIEBRE AFTOSA. Vacunas contra la fiebre aftosa. II. Estudios sobre la duración de la inmunidad en bovinos y porcinos. (Foot-and-mouth disease vaccines. II. Studies on the duration of immunity in cattle and pigs). *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 19-20: 17-23, 24-30, 1975.
8. FERREIRA, M.E.V. Prueba de microneutralización para estudios de anticuerpos de la fiebre aftosa. (Micro-titer neutralization test for the study of foot-and-mouth disease antibodies). *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 21-22: 17-20, 21-24, 1976.
9. HERBERT, W.T. Multiple emulsion - A new form of mineral-oil antigen adjuvant. *Lancet.* 16: 771, 1965.

VIDA UTIL DE UNA VACUNA ANTIAFTOSA INACTIVADA CON ADYUVANTE OLEOSO

D. Abaracón¹; N. Magallanes²; E.G. Charles³; L.A. Durini³; E. Frick³;
G. Fernández de Albarracín³; E. Degiorgi de Burghi³; T. Radisich³

RESUMEN

La vida útil de una vacuna antiaftosa inactivada con adyuvante oleoso, almacenada a +4°C, fue seguida durante un período de 15 meses. No se observó pérdida significativa de potencia durante ese período por prueba directa de desafío en bovino y pruebas de anticuerpos. Simultáneamente se probó una vacuna de hidróxido de aluminio-saponina, la que mantuvo su inmunogenicidad durante 13 meses.

INTRODUCCION

En un estudio previo (6) se observó que vacunas de adyuvante oleoso, almacenadas durante períodos prolongados, mantuvieron su inmunogenicidad pero no fue realizada una comparación de inmunogenicidad de varias muestras de una misma vacuna almacenada durante diferentes tiempos.

El presente estudio fue efectuado para establecer si el almacenamiento durante 15 meses a +4°C afecta la inmunogenicidad de este tipo de vacuna. Como referencia, fue incluida otra vacuna antiaftosa elaborada con los mismos antígenos, pero adsorbidos en hidróxido de aluminio y con el agregado de saponina. La inmunogenicidad de esas vacunas fue controlada en bovinos después de varios períodos de almacenamiento.

MATERIALES Y METODOS

1. Virus

Se utilizaron las cepas O₁ Campos, A_{2,4} Cruzeiro y C₃ Resende, producidas en el Centro Pana-

¹Centro Panamericano de Fiebre Aftosa, OPS/OMS, Caixa Postal 589, 20000 Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

²Consultor de la OPS/OMS en Argentina. Dirección actual: Director General de Servicios Veterinarios, Ministerio de Agricultura y Pesca, Constituyente 1476, Montevideo, Uruguay.

³Servicio de Laboratorios (SELAB), SENASA, Chorroarín 134, Buenos Aires, Argentina.

americano de Fiebre Aftosa (CPFA) en cultivos de células BHK_{2,1}C13 en suspensión. Las suspensiones infecciosas así obtenidas fueron inactivadas con etileneimina binaria (BEI) (4). Las características de esos antígenos están indicadas en el Cuadro 1.

CUADRO 1. Características de los antígenos de la fiebre aftosa usados en la preparación de las vacunas

Antígenos	Títulos infectantes	TFC ^b
O ₁ Campos	7,5 ^a	1/20
A _{2,4} Cruzeiro	8,2	1/18
C ₃ Resende	8,2	1/22

^aLog₁₀ cultivo de células BHK DI₅₀%/ml.

^bTFC = Título fijación del complemento 50% (4UHC₅₀-90').

2. Vacuna trivalente con adyuvante oleoso

La vacuna trivalente con adyuvante oleoso consistió en una mezcla de antígenos aftosos en una suspensión acuosa emulsificada con partes iguales de la fase oleosa (Marcol 52, 90% y Arlacel A, 10%) (2). En un emulsificador de 50 litros se prepararon, en la forma descrita (3), 30 litros de vacuna que contenían una mezcla de los tres antígenos. Cada dosis de 5 ml de vacuna trivalente con 0,83 ml de cada una de las suspensiones de antígenos, fue inoculada por vía intramuscular.

3. Vacuna trivalente hidróxido-saponina

Se preparó un lote de 72 litros de vacuna de acuerdo con la técnica descrita (1) utilizando los mismos antígenos de la vacuna oleosa. La dosis fue de 5 ml por vía subcutánea y contenía el

equivalente a las siguientes suspensiones de antígenos: 3 ml del tipo O, 2 ml del tipo A y 2 ml del tipo C.

4. Controles de las vacunas

La vacuna oleosa fue controlada en cuanto a su viscosidad, tipo de emulsión, estabilidad (centrifugando a 1000 g durante una hora y sometiéndola luego a 37° y 55°) y por determinación de su título de fijación del complemento (FC) después de la ruptura de la emulsión por adición de aceite vegetal (2). Los resultados de estos controles mostraron que la vacuna era del tipo agua-en-aceite y poseía adecuada viscosidad y estabilidad. Durante el período de preparación de la vacuna no hubo disminución apreciable del título de FC.

Tanto la vacuna oleosa como la de hidróxido-saponina fueron sometidas a controles de esterilidad en agar-Sabouraud, caldo tioglicolato y caldo triptosa fosfato, ambas con resultado negativo.

5. Prueba de eficacia en cobayos después de la preparación de la vacuna

Se utilizaron cobayos de 3 a 4 meses de edad y 550 ± 50 g de peso. Grupos de 6 cobayos fueron inoculados por vía intramuscular a la dosis de 0,25 ml. El índice C fue determinado después de 30 días de la vacunación mediante desafío por inoculación en una pata con cepas de virus aftoso O₁ Campos, A₂₄ Cruzeiroiro y C₃ Resende adaptadas a cobayos, de acuerdo con la técnica standard (5). Todos los índices C para los tres virus en ambas vacunas fueron >4,0.

6. Prueba de eficacia en bovinos

Fueron usados novillos Hereford de 2 años y 250 a 280 k procedentes del área libre de fiebre aftosa en Argentina. La vacunación se realizó con vacunas que habían estado almacenadas por diferentes períodos según se indica en el Cuadro 2, y los bovinos fueron desafiados a los 30 días posvacunación (DPV). Poco antes del desafío los animales fueron transportados a la unidad de aislamiento del Servicio Nacional de Sanidad Animal (SENASA) en Buenos Aires y fueron inoculados por vía intradermolingual con 10.000 DI₅₀/ratón lactante. Los tipos de virus se detallan en el Cuadro 2. Los bovinos fueron examinados a las

48 horas posinoculación para apreciar lesiones de lengua y a los 7 días para observar lesiones en las patas.

CUADRO 2. Protección de bovinos vacunados con vacunas contra la fiebre aftosa almacenadas durante diferentes tiempos

Vacuna	Cepas de desafío	Meses de almacenamiento de las vacunas a + 4°C			
		1	8	13	15
Con adyuvante oleoso	O ₁	9/9 ^a	—	—	12/12
	A ₂₄	8/8	12/12	12/12	—
	C ₃	8/8	—	—	12/12
Con hidróxido de aluminio-saponina	O ₁	8/8	—	—	—
	A ₂₄	8/8	12/12	11/12	—
	C ₃	8/8	—	—	—

^a Número de animales protegidos/Número total de animales.

7. Determinación de anticuerpos

Se extrajo suero de todos los bovinos antes de la vacunación y previamente a la infección de prueba. Las pruebas de seroprotección en ratones fueron realizadas de acuerdo con la técnica descrita (7) y los resultados expresados en expectativa porcentual de protección (8).

RESULTADOS

Los bovinos vacunados con vacuna oleosa almacenada por 1, 8, 13 y 15 meses estaban totalmente protegidos contra el desafío. Los bovinos que recibieron la vacuna de hidróxido saponina almacenada por 1 y 8 meses también estaban totalmente protegidos así como 11 de 12 animales que recibieron esta misma vacuna pero almacenada por 13 meses.

El Cuadro 3 muestra los resultados de los sueros en las pruebas de seroprotección (SP). Con ambas vacunas, la respuesta de anticuerpos fue similar aun después de prolongados períodos de almacenamiento de las vacunas.

CUADRO 3. *Media de la expectativa porcentual de protección de bovinos después de la vacunación con vacunas antiaftosas almacenadas durante diferentes tiempos*

Vacuna	Tipo de virus	Meses de almacenamiento a +4°C			
		1	8	13	15
Con adyuvante oleoso	O ₁	97 ± 5	98 ± 3	94 ± 10	98 ± 1
	A ₂₄	96 ± 7	98 ± 2	88 ± 17	...
	C ₃	99	97 ± 5	80 ± 20	96 ± 5
Con hidróxido de aluminio-saponina	O ₁	93 ± 12	96 ± 3	78 ± 29	
	A ₂₄	92 ± 14	98 ± 3	93 ± 8	
	C ₃	98 ± 3	91 ± 4	81 ± 20	

... No hecho.

DISCUSION

El presente estudio proporciona información sobre la duración de la potencia de una vacuna de adyuvante oleoso mantenida a 4°C durante 15 meses. Las pruebas en bovinos indican que no hubo pérdida de potencia apreciable después de ese período de almacenamiento. Una vacuna de referencia, de hidróxido de aluminio mantuvo su inmunogenicidad hasta 13 meses. Los resultados de las pruebas de seroprotección en ratón lactante confirman estas observaciones.

Las pruebas de descarga directa utilizadas en el presente estudio no detectan diferencias de potencia entre dos vacunas que protegen a todos los animales vacunados. En futuros experimentos es aconsejable usar el método de las dosis protectoras 50%. Se estima que son necesarios nuevos estudios sobre la duración de inmunogenicidad de las vacunas antes y después de su almacenamiento por períodos prolongados.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Dr. Ivo Gomes por la realización de las pruebas de seroprotección.

REFERENCIAS

1. ABARACON, D.; GIACOMETTI, H.; MESQUITA, J.A. El uso de la etilenimina binaria (BEI) como inactivante de virus de la fiebre aftosa producido por diferentes técnicas semi-industriales. (The use of binary ethylenimine (BEI) for the inactivation of foot-and-mouth disease virus produced by different semi-industrial techniques). *Bln Centro Panamericano Fiebre Aftosa 33-34*: 1-5, 7-11, 1979.
2. AUGÉ DE MELLO, P.; ASTUDILLO, V.; GOMES, I.; CAMPOS GARCIA, J.T. Aplicación en el campo de vacuna antiaftosa oleosa e inactivada: vacunación y revacunación de bovinos jóvenes. (Field application of inactivated oil adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine: vaccination and revaccination of young cattle). *Bln Centro Panamericano Fiebre Aftosa 19-20*: 31-38, 39-47, 1975.
3. AUGÉ DE MELLO, P.; MESQUITA, J.A. Preparation of water-in-oil emulsion foot-and-mouth disease vaccine in a semi-industrial scale at the Pan American Foot-and-Mouth Disease Center. (En preparación).
4. BAHNEMANN, H.G. Binary ethylenimine as an inactivant for foot-and-mouth disease virus and its application for vaccine production. *Arch. Virol.* 47: 47-56, 1975.
5. CENTRO PANAMERICANO DE FIEBRE AFTOSA. Manual de procedimientos para el control de vacuna antiaftosa. *Ser. Man. Téc.* 2, 1980.

6. CENTRO PANAMERICANO DE FIEBRE AFTOSA; DIRECCION DE LUCHA CONTRA LA FIEBRE AFTOSA. Prueba de potencia para vacunas contra la fiebre aftosa de adyuvante oleoso: ensayos de DP_{50} en cobayos y en bovinos de una vacuna preparada en forma semi-industrial con una emulsión del tipo agua en aceite. (Potency testing of oil adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine: PD_{50} assays of a semi-industrial water-in-oil type emulsion vaccine in guinea pigs and cattle). *Bltm Centro Panamericano Fiebre Aftosa 29-30*: 55-59, 61-65, 1978.
7. CUNHA, R.G.; BAPTISTA Jr., J.A.; SERRÃO, U.M.; TORTURELLA, I. El uso de los ratones lactantes en la evaluación de los anticuerpos contra el virus de la fiebre aftosa y su significación inmunológica. *Gac. Vet., B. Aires, 19* (11): 243-267, 1957.
8. GOMES, I.; ASTUDILLO, V. Foot-and-mouth disease: evaluation of mouse protection test results in relation to cattle immunity. *Bltm Centro Panamericano Fiebre Aftosa 17-18*: 9-16, 1975.

SHELF LIFE OF INACTIVATED OIL-ADJUVANTED FOOT-AND-MOUTH DISEASE VACCINE

D. Abaracon¹; N. Magallanes²; E.G. Charles³; L.A. Durini³; E. Frick³; G. Fernández de Albarracín³; E. Degiorgi de Burghi³; T. Radisich³

SUMMARY

The shelf life of an inactivated oil-adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine at 4°C was tested for a storage period of 15 months. No appreciable vaccine potency loss could be detected during that period by the direct challenge test in cattle and antibody assay. An aluminum hydroxide vaccine tested simultaneously up to 13 months also retained its immunogenicity.

INTRODUCTION

An earlier study (6) noted that oil-adjuvanted foot-and-mouth disease (FMD) vaccines could maintain their immunogenicity after long storage periods but no systematic observations were made of the same vaccine after different storage time.

In the present study the shelf life of an oil-adjuvanted vaccine up to 15-month storage at 4°C was tested. For reference an inactivated FMD vaccine was included in the test which contained the same antigens absorbed to aluminum hydroxide and to which saponin was added. Both vaccines were tested in cattle after various storage periods.

MATERIALS AND METHODS

1. Virus

Foot-and-mouth disease virus (FMDV) strains O₁ Campos, A₂₄ Cruzeiro and C₃ Resende were used. These viruses were produced at the

¹ Pan American Foot-and-Mouth Disease Center, PAHO/WHO, Caixa Postal 589, 20000 Rio de Janeiro-RJ, Brazil.

² PAHO/WHO Consultant in Argentina. Present address: Director General de Servicios Veterinarios, Ministerio de Agricultura y Pesca, Constituyente 1476, Montevideo, Uruguay.

³ Servicio de Laboratorios (SELAB), SENASA, Chorroarín 134, Buenos Aires, Argentina.

Pan American Foot-and-Mouth Disease Center (PAFMDC) in cultures of BHK₂₁C13 cells. The infectious virus suspensions were inactivated with binary ethylenimine (BEI) (4). The characteristics of these antigens are presented in Table 1.

TABLE 1. *Characteristics of the foot-and-mouth disease virus antigens used for vaccine preparation*

Antigens	Infectivity titers	CFT ^b
O ₁ Campos	7.5 ^a	1/20
A ₂₄ Cruzeiro	8.2	1/18
C ₃ Resende	8.2	1/22

^a Log₁₀ BHK cell culture ID₅₀/ml.

^b CFT = 50% complement fixation titer (4HCU₅₀-90').

2. Trivalent oil-andjuvanted vaccine

The trivalent oil-adjuvanted vaccine consisted of a mixture of inactivated FMD antigens in aqueous suspension emulsified with equal parts of the oil phase (Marcol 52, 90% and Arlacel A, 10%) (2). A batch of 30 liters of vaccine containing a mixture of the three antigens was prepared as described (3) in a 50-liter emulsification vessel. Each dose of 5 ml trivalent oil vaccine was applied intramuscularly and contained 0.83 ml of each of the antigen suspensions.

3. Trivalent saponin-hydroxide vaccine

A batch of 72 liters of vaccine was prepared according to the method described earlier (1), using the same antigens as the oil vaccines. A 5 ml dose applied subcutaneously, contained the equivalent

of the 3 ml type O, 2 ml type A and 2 ml type C antigen suspensions.

4. Vaccine controls

The oil vaccine was tested for viscosity, type of emulsion, stability (by centrifugation at 1000 g during one hour and storage at 37° and 55° C) and a complement fixation (CF) titer determination after rupture of the emulsion by the addition of vegetable oil (2). The results of these controls indicated that the vaccine was a water-in-oil type emulsion with adequate viscosity and stability. No appreciable loss of CF titer had occurred during formulation of the vaccine.

The oil and aluminum hydroxide-saponin vaccines were also tested for sterility in Sabouraud agar, thioglycollate and tryptose phosphate broth with negative results.

5. Potency test in guinea pigs after vaccine formulation

Three-to-four month old guinea pigs weighing 550 ± 50 g were used. Groups of 6 guinea pigs were inoculated intramuscularly with 0.25 ml. The C Index was determined at 30 days according to standard techniques (5) by challenge of the guinea pigs in one foot pad with strains O₁ Campos, A₂₄ Cruzeiro or C₃ Resende. All C indexes against the three virus strains were >4.0 for both vaccines.

6. Cattle tests

Two-years old Hereford steers weighing 250-280 kg, originating from the FMD-free area in Argentina were vaccinated after various vaccine storage periods as indicated in Table 2 and were challenged at 30 days post-vaccination (DPV). Shortly before challenge the animals were transported to the National Service of Animal Health (SENASA) isolation unit in Buenos Aires where they were inoculated intradermally (IDL) with approximately 10,000 mouse/ID₅₀. The types of virus used are shown in Table 2. The cattle were examined 48 hours after inoculation to check for tongue lesions and at 7 days to examine the feet.

TABLE 2. Protection of cattle vaccinated with FMD vaccines stored for different periods after formulation

Vaccine	Challenge FMD strains	Months of storage of vaccine at 4°C			
		1	8	13	15
Oil adjuvanted	O ₁	9/9 ^a	—	—	12/12
	A ₂₄	8/8	12/12	12/12	—
	C ₃	8/8	—	—	12/12
Aluminum-hydroxide-saponin adjuvanted	O ₁	8/8	—	—	—
	A ₂₄	8/8	12/12	11/12	—
	C ₃	8/8	—	—	—

^a Number of cattle protected/Total number.

7. Antibody tests

Blood samples were collected from the cattle before vaccination and before exposure to virus. The serum antibodies were assayed by the mouse protection tests as described (7) and the results expressed by the expected percentage of protection (8).

RESULTS

Cattle vaccinated with the oil-adjuvanted vaccine stored for 1, 8, 13 and 15 months were fully protected against challenge. Cattle vaccinated with aluminum hydroxide-saponin vaccine stored for 1 and 8 months were also totally protected, as were eleven of twelve cattle vaccinated with the same vaccine, after a storage period of 13 months.

Results of the mouse protection tests made with the bovine sera are shown in Table 3. With both vaccines the antibody response after prolonged storage periods remained similar.

DISCUSSION

The present study provides further information on the shelf life of an oil vaccine stored at 4°C for 15 months. No appreciable loss of protection in cattle could be detected during storage. A reference vaccine with aluminum hydroxide adjuvant retained its immunogenicity when tested

TABLE 3. Mean expected percentage of protection indices of cattle after vaccination with FMD vaccines stored for different periods after formulation

Vaccine	FMD virus	Months of storage at 4°C			
		1	8	13	15
Oil adjuvant	O ₁	97 ± 5	98 ± 3	94 ± 10	98 ± 1
	A ₂₄	96 ± 7	98 ± 2	88 ± 17	...
	C ₃	99	97 ± 5	80 ± 20	96 ± 5
Aluminum-hydroxide-saponin adjuvanted	O ₁	93 ± 12	96 ± 3	78 ± 29	
	A ₂₄	92 ± 14	98 ± 3	93 ± 8	
	C ₃	98 ± 3	91 ± 4	81 ± 20	

... Not done.

after 13 months of storage. Results of the mouse protection test confirmed these observations.

The direct challenge method used in the present study does not differentiate the potency of two vaccines, both protecting all vaccinated cattle. In future experiments the use of the 50% protection dose method is indicated. Further studies are needed on the duration of immunity of vaccines before and after storage for prolonged periods.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors wish to thank Dr. Ivo Gomes for carrying out the mouse protection test.

REFERENCES

1. ABARACON, D.; GIACOMETTI, H.; MESQUITA, J.A. El uso de la etilenimina binaria (BEI) como inactivante de virus de la fiebre aftosa producido por diferentes técnicas semi-industriales. (The use of binary ethylenimine (BEI) for the inactivation of foot-and-mouth disease virus produced by different semi-industrial techniques). *Bln Centro Panamericano Fiebre Aftosa 33-34*: 1-5, 7-11, 1979.
2. AUGÉ DE MELLO, P.; ASTUDILLO, V.; GOMES, I.; CAMPOS GARCIA, J.T. Aplicación en el campo de vacuna antiaftosa oleosa e inactivada: vacunación y revacunación de bovinos jóvenes. (Field application of inactivated oil adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine: vaccination and revaccination of young cattle). *Bln Centro Panamericano Fiebre Aftosa 19-20*: 31-38, 39-47, 1975.
3. AUGÉ DE MELLO, P.; MESQUITA, J.A. Preparation of water-in-oil emulsion foot-and-mouth disease vaccine in a semi-industrial scale at the Pan American Foot-and-Mouth Disease Center. (In preparation).
4. BAHNEMANN, H.G. Binary ethylenimine as an inactivant for foot-and-mouth disease virus and its application for vaccine production. *Arch. Virol.* 47: 47-56, 1975.
5. CENTRO PANAMERICANO DE FIEBRE AFTOSA. Manual de procedimientos para el control de vacuna antiaftosa. *Ser. Man. Técn.* 2, 1980.
6. CENTRO PANAMERICANO DE FIEBRE AFTOSA; DIRECCION DE LUCHA CONTRA LA FIEBRE AFTOSA. Prueba de potencia para vacunas contra la fiebre aftosa de adyuvante oleoso: ensayos de DP₅₀ en cobayos y en bovinos de una vacuna preparada en forma semi-industrial con una emulsión del tipo agua

- en aceite. (Potency testing of oil adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine: PD₅₀ assays of a semi-industrial water-in-oil type emulsion vaccine in guinea pigs and cattle). *Bln Centro Panamericano Fiebre Aftosa 29-30*: 55-59, 61-65, 1978.
7. CUNHA, R.G.; BAPTISTA Jr., J.A.; SERRÃO, U.M.; TORTURELLA, I. El uso de los ratones lactantes en la evaluación de los anticuerpos contra el virus de la fiebre aftosa y su significación inmunológica. *Gac. Vet., B. Aires, 19* (11): 243-267, 1957.
8. GOMES, I.; ASTUDILLO, V. Foot-and-mouth disease: evaluation of mouse protection test results in relation to cattle immunity. *Bln Centro Panamericano Fiebre Aftosa 17-18*: 9-16, 1975.

RESPUESTA EN BOVINOS A LA EXPOSICION DEL VIRUS DE LA FIEBRE AFTOSA UN AÑO DESPUES DE INMUNIZADOS CON VACUNA CON ADYUVANTE OLEOSO

Ivo Gomes¹; P. Suttmöller¹; R. Casas Olascoaga¹

RESUMEN

Treinta vacas, que habían sido vacunadas 3 veces a intervalos de 6 meses con vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso, fueron expuestas 13 meses después de la última vacunación al virus tipo O₁ por vía intradermolingual y al contacto con bovinos y cerdos infectados.

De acuerdo con los niveles de anticuerpos previos al desafío de virus se esperaba una elevada protección, la que fue confirmada por la prueba de desafío de virus. Sólo uno de los 30 bovinos desarrolló fiebre aftosa generalizada. De los 29 animales sólo 6 tuvieron una lesión en el punto de inoculación.

Estas observaciones confirman, en general, que en las encuestas serológicas realizadas en la población bovina a la que pertenecían esos animales, vacunados con vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso, los elevados niveles de anticuerpos indican una sólida inmunidad.

INTRODUCCION

Los estudios de campo para evaluar la eficacia de las vacunas contra la fiebre aftosa (FA) se basan principalmente en los resultados de las pruebas de neutralización de anticuerpos virales. Las más comúnmente usadas en el Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (CPFA) son: la prueba de microneutralización (MN) (8) y la de seroprotección (SP) (7). Para la prueba de SP se establecieron las relaciones entre los valores del suero de 700 bovinos vacunados y su protección a los 21-30 días postvacunación (DPV) frente a la exposición al virus por vía intradermolingual (IDL) (10). De los bovinos vacunados con vacuna inactivada, 25% de los que

presentaron un índice de seroprotección (ISP) entre 0,1-1,0 estaban protegidos. En el rango intermedio (1,0-2,0), aproximadamente 60% de los bovinos vacunados no desarrollaron lesiones en las patas después de la inoculación en la lengua. Con base en ese estudio se estableció una expectativa porcentual de protección (EPP) para los valores de ISP (10), la cual indicó que más del 90% de los animales con un $ISP \geq 2,5$ podrían estar protegidos frente al desafío de virus de la FA. La mayoría de estos datos se obtuvieron de bovinos expuestos al virus por inoculación en la lengua a los 21-30 DPV.

En un trabajo conjunto (6) realizado por el CPFA y la Dirección de Lucha contra la Fiebre Aftosa (DILFA), Uruguay, bovinos vacunados con diluciones de vacuna inactivada de adyuvante oleoso, fueron desafiados 3 meses después por inoculación en la lengua. Los bovinos de los grupos con niveles de protección $\geq 90\%$ generalmente tenían un $ISP \geq 2,5$ y un título de microneutralización (TMN) $\geq 3,0$.

En un experimento cooperativo (7) realizado por el CPFA con el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Argentina, los bovinos que fueron vacunados con vacuna de adyuvante oleoso a los 6 meses postvacunación, estaban protegidos frente al desafío por vía IDL, si el ISP o el TMN era $\geq 2,5$.

Un trabajo (12) realizado por el CPFA juntamente con el Centro de Enfermedades Animales de Plum Island (PIADC) mostró que, grupos de bovinos con un ISP promedio de 2,0-3,0 a los 6-12 meses después de la revacunación con vacuna antiaftosa inactivada con adyuvante oleoso, tenían una protección en el orden de 60-90% frente a la inoculación de virus en la lengua.

Encuestas serológicas realizadas en áreas donde se había utilizado vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso mostraron muy satisfactorios niveles de anticuerpos (4, 5), de donde se podría deducir que esas poblaciones están bien protegidas frente a la

¹Centro Panamericano de Fiebre Aftosa, OPS/OMS, Caixa Postal 589, 20000 Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

exposición del virus de la FA; sin embargo, los datos experimentales para corroborar esta suposición son escasos.

La oportunidad de realizar este estudio se presentó cuando, en un establecimiento situado en un área piloto de aplicación de vacuna con adyuvante oleoso, se dispuso de 30 vacas que habían sido vacunadas tres veces con esta vacuna; la última vacunación se efectuó 13 meses antes de ser llevadas al CPFA y exponerlas al virus.

MATERIALES Y METODOS

Bovinos vacunados

Las 30 vacas eran mestizas, con más de 4 años de edad y provenían de la Fazenda Santa Mónica, Juparanã, Rio de Janeiro, perteneciente a la Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias (EMBRAPA) del Ministerio de Agricultura.

Cuatro de las 30 vacas sufrieron FA (virus tipo A) durante un brote ocurrido en el establecimiento, en 1976. La vacuna con adyuvante oleoso fue aplicada en enero y julio de 1977 y en enero de 1978. Las vacas llegaron al CPFA a fines de enero de 1979 y fueron expuestas al virus al principio de febrero de 1979, poco más de un año después de la última vacunación.

Bovinos y cerdos no vacunados

Cuatro bovinos y 6 cerdos sin historia de vacunación y libres de anticuerpos fueron agregados al grupo de 30 vacas vacunadas, y sirvieron como controles y donadores adicionales de virus.

Vacuna

Las vacunas de adyuvante oleoso fueron de las partidas de producción de rutina del CPFA y usadas en ensayos de campo y en áreas demostrativas (5).

Virus

Para la inoculación de los bovinos y los cerdos se usó el virus de la FA subtipo O₁, cepa Campos, de origen bovino.

Exposición al virus

Todos los animales fueron inoculados con 10⁴ DI₅₀ bovino en el epitelio lingual. Cuatro animales

no vacunados fueron inoculados de forma similar, así como 3 cerdos a los que se aplicaron 10⁴ DI₅₀ bovino en una pata. Todos los bovinos y 3 cerdos sin inocular fueron mantenidos juntos, en las mismas instalaciones, y en íntimo contacto hasta una semana después de la inoculación del virus, en que fueron separados en pequeños grupos en compartimientos abiertos, en el mismo galpón.

Examen de los bovinos

Dos días después de la inoculación los bovinos fueron examinados para observar la presencia de lesiones en la lengua y 9 días después para determinar la generalización.

Antes del desafío de virus y a los 15 y 36 días después de la exposición fueron tomadas muestras de suero y de líquido esófago-faríngeo (LEF).

Pruebas

Los anticuerpos circulantes fueron ensayados por la prueba de MN (8) frente a las cepas de virus usadas en la vacuna: O₁ Campos, A Bagé, A Veneslau y C Indaial. La cepa O₁ Campos fue usada en la prueba de SP (7).

Los anticuerpos VIA fueron ensayados por la prueba de doble difusión en agar (DDA) como fue descrita (3).

El aislamiento del virus del LEF se llevó a cabo como descrito (13), usando emulsificación en triclorotrifluoretano (TTE) y 3 series de pasajes en volúmenes de 10 ml en cultivos de células IB-RS-2 en monocapas en botellas Roux. Todos los cultivos con efecto citopático fueron examinados por la prueba de fijación del complemento para confirmar el tipo.

RESULTADOS

Los bovinos y cerdos controles desarrollaron FA generalizada. Uno de los bovinos contacto murió y lo mismo ocurrió con dos cerdos. Solamente un bovino vacunado desarrolló lesiones generalizadas en las patas. De los 29 bovinos protegidos sólo seis tuvieron una lesión en el punto de inoculación de virus.

El Cuadro 1 resume estos resultados así como los de las pruebas de los diversos anticuerpos y de aislamiento de virus.

CUADRO 1. Respuesta de bovinos expuestos al virus O₁ de la fiebre aftosa un año después de vacunados con vacuna de adyuvante oleoso

Bov. Nº	Antes desafío							Desafío Lesiones	15 DDV ^a			36 DDV	
	Microneutralización				ISP		Aisl. virus		ISP		Aisl. virus	VIA	Aisl. virus
	C Ind.	A Bagé	A Venc.	O ₁	O ₁	VIA			O ₁	VIA			
651	≥3,2	3,2	≥3,5	≥3,6	3,7	-	-	Neg. ^b	>5,0	-	+1 ^o	-	+1 ^o
652	≥3,6	≥3,5	2,9	3,3	2,2	-	-	L ^c	>5,0	+	+2 ^o	+	Neg.
653	≥3,6	≥3,5	3,3	3,2	4,9	-	-	Neg.	>5,2	-	+2 ^o	-	+3 ^o
654	≥3,6	≥3,5	≥3,6	≥3,6	>4,5	-	-	Neg.	>5,0	-	+2 ^o	+	+2 ^o
655	3,3	≥3,6	3,0	≥3,5	2,1	-	-	Neg.	>5,0	-	Neg.	-	+1 ^o
656	≥3,6	≥3,6	3,2	≥3,5	4,8	+	-	Neg.	>5,0	+	+1 ^o	-	+1 ^o
657	≥3,5	3,2	3,2	2,7	4,8	-	-	Neg.	>5,0	+	+2 ^o	+	Neg.
658	3,3	≥3,5	2,7	3,2	2,8	+	-	L	4,9	+	+2 ^o	+	+1 ^o
659	≥3,6	3,3	3,2	≥3,5	3,0	-	-	Neg.	4,2	+	+1 ^o	-	+1 ^o
660	≥3,6	2,9	2,9	3,3	>4,5	-	-	Neg.	>5,2	+	+2 ^o	+	+1 ^o
661	≥3,5	≥3,6	3,0	3,3	2,5	-	-	L	5,2	+	+2 ^o	+	+1 ^o
662	≥3,6	≥3,6	≥3,5	≥3,6	4,0	-	-	Neg.	5,0	-	+2 ^o	-	+2 ^o
663	≥3,6	≥3,6	≥3,6	≥3,6	>4,5	-	-	Neg.	5,0	-	+2 ^o	-	+2 ^o
664	≥3,6	≥3,6	≥3,5	≥3,6	>4,5	+	-	Neg.	>5,0	+	+2 ^o	+	Neg.
665	≥3,5	3,3	≥3,5	2,9	2,0	-	-	Neg.	>5,0	+	+2 ^o	-	+1 ^o
666	≥3,6	≥3,6	≥3,6	≥3,6	4,7	+	-	Neg.	>5,0	-	+2 ^o	+	Neg.
667	2,7	2,7	2,3	2,6	1,0	-	-	L4P ^d	>5,0	+	+2 ^o	+	+1 ^o
668	≥3,6	≥3,6	2,9	≥3,5	>4,3	+	-	Neg.	>5,0	+	+2 ^o	+	+2 ^o
669	≥3,6	≥3,5	2,9	≥3,5	>4,3	+	-	Neg.	>5,0	+	+2 ^o	+	+2 ^o
670	≥3,6	≥3,5	≥3,6	≥3,5	>4,3	+	-	Neg.	>5,0	+	+2 ^o	+	+2 ^o
671	3,3	2,9	3,2	3,0	3,3	+	-	Neg.	>5,0	+	+2 ^o	+	+1 ^o
672	≥3,6	≥3,5	≥3,6	3,3	>4,3	-	-	Neg.	>5,0	-	Neg.	-	+3 ^o
673	≥3,6	≥3,5	3,0	3,3	3,6	-	-	Neg.	>5,0	+	+2 ^o	+	+1 ^o
674	≥3,5	≥3,5	2,7	3,3	2,7	-	-	L	>5,0	+	Neg.	+	+2 ^o
675	≥3,6	≥3,5	3,0	≥3,5	4,7	-	-	Neg.	>5,0	-	Neg.	-	+3 ^o
676	3,3	2,9	2,4	2,6	1,5	-	-	L	5,0	+	+1 ^o	+	Neg.
677	≥3,6	3,3	2,4	3,0	1,5	-	-	L	>5,0	+	+2 ^o	+	Neg.
678	≥3,6	3,3	≥3,5	≥3,6	>4,3	-	-	Neg.	>5,0	-	+2 ^o	-	+3 ^o
679	3,3	≥3,6	3,3	3,2	3,0	+	-	Neg.	>5,0	+	+1 ^o	+	+1 ^o
680	≥3,5	≥3,5	≥3,5	3,3	1,9	+	-	Neg.	5,0	+	+2 ^o	+	+1 ^o

^aDías después del desafío de virus.

^bNegativos lengua y patas.

^cL = lengua.

^dP = patas.

En la prueba de MN la mayoría de los títulos fue $\geq 3,0$. Para el tipo C, solamente un animal estuvo por debajo de este valor. Para las cepas A Bagé y A Venceslau hubieron 4 y 9 bovinos, respectivamente, con valores menores que 3,0. Para la cepa O₁ Campos, 4 bovinos estuvieron por debajo de 3,0.

Los valores para la prueba de SP presentaron variación en una gama más amplia que los de la prueba de MN. La EPP del grupo basado en la prueba de SP fue de $92,3 \pm 4,4$. El único animal no protegido (N^o 667) tuvo valores de 2,6 y 1,0 para las pruebas de MN y SP, respectivamente. En la prueba de SP los animales con lesiones en la lengua en el punto de inoculación tuvieron valores que variaban de 1,5 a 2,8. Los animales con valores más altos no presentaron ningún tipo de lesión. Sin embargo, algunos bovinos con un ISP en el rango intermedio también fueron totalmente negativos. Esta relación probable entre lesiones primarias en la lengua y el ISP no fue aparente con la prueba de MN. Todos los ISP aumentaron a valores de convaleciente (7, 9) después de la exposición al virus. Diez de las 30 vacas tenían anticuerpos VIA antes de la inoculación del virus, probablemente debido al brote de virus tipo A de 1976. A los 15 días después del desafío, 20 de 30 fueron positivas; a los 36 días, 3 de las vacas positivas dieron resultados negativos y dos de las negativas pasaron a ser positivas.

No fue aislado virus de ninguno de los bovinos antes del desafío. A los 15 días del desafío se aisló virus tipo O₁ de 26 animales. Cinco de los bovinos fueron positivos al primer pasaje en cultivo de células IB-RS-2 y los 21 restantes al segundo pasaje.

A los 36 días, 13 bovinos fueron positivos al virus al primer pasaje y 11 lo fueron al segundo o al tercer pasaje, totalizando 24 bovinos de los cuales fue aislado el virus tipo O₁.

Los 4 bovinos de control fueron positivos al VIA y se aisló virus del LEF de cada uno de ellos. Como se esperaba, los anticuerpos alcanzaron niveles de convaleciente.

DISCUSION

De acuerdo con los niveles de anticuerpos antes del desafío de virus, se esperaba que los bovi-

nos usados en esta prueba estuviesen bien protegidos contra la FA. Esta presunción fue confirmada ya que todos los animales, menos uno, resistieron a una descarga severa de virus O₁, como son: la inoculación de 10^4 unidades virales en el epitelio lingual; el íntimo contacto con 4 bovinos sin vacunar e inoculados de forma similar; la exposición a 3 cerdos donadores inoculados y a 3 cerdos contacto, todos los cuales presentaron generalización. Todos los animales fueron infectados como lo evidenció la respuesta de anticuerpos y el aislamiento de virus. Cabe destacar que no todos los animales fueron positivos al VIA (DDA) aunque el virus se replicó en la región faríngea. Observaciones similares fueron hechas por otros autores (2, 11).

Este experimento confirma la suposición de que una población bovina con una EPP ≥ 90 está bien protegida contra la FA, aun cuando la última vacunación se hubiese realizado un año antes, o más. Lo mismo se infiere cuando un alto porcentaje tiene un TMN $\geq 3,0$. Un desafío más severo de la inmunidad que el efectuado en este experimento sería difícil de realizar en condiciones de campo o aun en ferias o exposiciones ganaderas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la cooperación del personal de la Hacienda Santa Mónica, Juparanã, Rio de Janeiro y del Centro Nacional de Ganado Lechero de EMBRAPA por haber facilitado los bovinos para este experimento.

Asimismo, agradecen al personal del Laboratorio de Diagnóstico y Referencia del CPFA por la realización de las pruebas VIA y de tipificación de virus. Las pruebas de microneutralización se efectuaron bajo la supervisión de la Dra. Kleise de Freitas Costa.

REFERENCIAS

1. ABARACON, D.; MAGALLANES, N.; CHARLES, E.G.; DURINI, L.A.; FRICK, E.; ALBARRACIN, G. F. de; BURGHI, E.D. de; RADISICH, T. Vida útil de una vacuna antiaftosa inactivada con adyuvante oleoso. (Shelf life of inactivated oil-adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine). *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 37-38: 17-20, 21-24, 1980.

2. ALONSO FERNANDEZ, A.; AUGÉ DE MELLO, P.; GOMES, I.; ROSENBERG, F. El uso del antígeno asociado a la infección viral (VIA) en la detección de ganado expuesto al virus de la fiebre aftosa. (The use of virus-infection-associated antigen (VIA) in the detection of cattle exposed to foot-and-mouth disease virus). *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 17-18: 17-22, 1975.
3. ALONSO FERNANDEZ, A.; SONDAHL, M.S. Preparación y concentración de los antígenos 140S, 12S y VIA del virus de la fiebre aftosa. *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 17-18: 1-8, 1975.
4. 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). *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 26: 23-25, 27-29, 1977.
5. CASAS OLASCOAGA, R. Summary of current research of the Pan American Foot-and-Mouth Disease Center on oil adjuvanted vaccines. *Bull. Off. int. Épizoot.* 89 (11-12): 1015-1054, 1978.
6. CENTRO PANAMERICANO DE FIEBRE AFTOSA; DIRECCION DE LUCHA CONTRA LA FIEBRE AFTOSA. Prueba de potencia para vacunas contra la fiebre aftosa de adyuvante oleoso: ensayos de DP_{50} en cobayos y en bovinos de una vacuna preparada en forma semi-industrial con una emulsión del tipo agua en aceite. (Potency testing of oil adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine: PD_{50} assays of a semi-industrial water-in-oil type emulsion in guinea pigs and cattle). *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 29-30: 55-59, 61-65, 1978.
7. CUNHA, R.G.; BAPTISTA, Jr., J.A.; SERRÃO, U.M.; TORTURELLA, I. El uso de los ratones lactantes en la evaluación de los anticuerpos contra el virus de la fiebre aftosa y su significación inmunológica. *Gac. Vet.*, B. Aires, 19 (110): 243-267, 1957.
8. FERREIRA, M.E.V. Prueba de microneutralización para estudios de anticuerpos de la fiebre aftosa. (Microtiter neutralization test for the study of foot-and-mouth disease antibodies). *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 21-22: 17-20, 21-24, 1976.
9. GOMES, I.; ALONSO FERNANDEZ, A.; AUGÉ DE MELLO, P. Foot-and-mouth disease circulating antibodies in convalescent cattle. *Bull. Off. int. Épizoot.* 77 (5-6): 731-741, 1972.
10. GOMES, I.; ASTUDILLO, V. Foot-and-mouth disease: evaluation of mouse protection test results in relation to cattle immunity. *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 17-18: 9-16, 1976.
11. McVICAR, J.W.; SUTMÖLLER, P. Foot-and-mouth disease: the agar gel diffusion precipitin test for antibody to virus-infection-associated (VIA) antigen as a tool for epizootiologic surveys. *Am. J. Epidem.* 92 (4): 273-278, 1970.
12. PLUM ISLAND ANIMAL DISEASE CENTER; PAN AMERICAN FOOT-AND-MOUTH DISEASE CENTER. Vacunas contra la fiebre aftosa. II. Estudios sobre la duración de la inmunidad en bovinos y porcinos. (Foot-and-mouth disease vaccines. II. Studies on the duration of immunity in cattle and pigs). *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 19-20: 17-23, 24-30, 1975.
13. SUTMÖLLER, P.; COTTRAL, G.E. Improved techniques for the detection of foot-and-mouth disease virus in carrier cattle. *Arch. ges. Virusforsch.* 21: 170-177, 1967.

RESPONSE OF CATTLE TO FOOT-AND-MOUTH DISEASE (FMD) VIRUS EXPOSURE ONE YEAR AFTER IMMUNIZATION WITH OIL-ADJUVANTED FMD VACCINE

Ivo Gomes¹; P. Sutmöller¹; R. Casas Olascoaga¹

SUMMARY

Thirty cows that had been vaccinated 3 times at 6-month intervals with oil-adjuvanted foot-and-mouth (FMD) vaccine were exposed to virus type O₁ by intradermolingual inoculation and exposure to infected cattle and pigs 13 months after their last vaccination.

According to the pre-challenge antibody levels a high protection was expected which was confirmed by the challenge test. Only one of the 30 cattle developed generalized FMD. Of the 29 protected cattle only 6 had a lesion on the inoculation site.

These observations confirm, in general, that uniform high antibody levels of cattle populations vaccinated with oil-adjuvanted FMD vaccine indicate solid population immunity.

INTRODUCTION

Field studies to evaluate the efficacy of foot-and-mouth disease (FMD) vaccines are mainly based on the results of virus neutralizing antibody tests. Most commonly used for this purpose by the Pan American Foot-and-Mouth Disease Center (PAFMDC) are the microneutralization test (MNT) (8) and the mouse protection test (MPT) (7). For the MPT the relationship between the serum values of some 700 vaccinated cattle and their protection at 21-30 days post-vaccination (DPV) against intradermolingual (IDL) virus exposure were established (10). Of cattle vaccinated with inactivated vaccine with a mouse protection index (MPI) in the range 0.1-1.0, 25% were protected. In the intermediate range (1.0-2.0) approximately 60% of vaccinated cattle did not develop foot lesions after tongue inoculation. Based on that study an expected

percentage of protection (EPP) for MPI values was established (10), indicating that more than 90% of cattle with an MPI \geq 2.5 would be expected to be protected at FMD virus challenge. Most of this data was derived from cattle exposed to virus by tongue inoculation at 21-30 DPV.

In a joint experiment (6) of the PAFMDC and the FMD Control Directorate (Dirección de Lucha contra la Fiebre Aftosa, DILFA), Uruguay, cattle vaccinated with dilutions of inactivated oil-adjuvanted vaccine were challenged by tongue inoculation 3 months later. Cattle of the groups with protective levels of \geq 90%, generally, had an MPI \geq 2.5 and MNT \geq 3.0.

In a collaborative experiment (1) with the National Institute of Agricultural Technology (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, INTA), Argentina, cattle vaccinated with oil-adjuvanted vaccine were protected when inoculated IDL at 6 months after vaccination if their MPI or MNT was \geq 2.5.

An experiment (12) of the PAFMDC and the Plum Island Animal Disease Center (PIADC) showed that groups of cattle with a mean MPI of 2.0-3.0 at 6-12 months after revaccination with inactivated oil-adjuvanted FMD vaccine had a protection against tongue challenge on the order of 60-90%.

Serum surveys in areas where oil-adjuvanted FMD vaccines have been used showed very satisfactory antibody levels (4, 5). Such populations appear to be well protected against FMD virus exposure; however, experimental data to substantiate this assumption is scarce.

We were given an opportunity to make such a study when a farm situated in an oil-adjuvanted vaccine pilot area had to dispose of 30 cattle which had been vaccinated three times with oil-adjuvanted vaccine; the last vaccination had occurred 13 months before they were brought to the PAFMDC and exposed to virus.

¹Pan American Foot-and-Mouth Disease Center, PAHO/WHO, Caixa Postal 589, 20000 Rio de Janeiro-RJ, Brazil.

MATERIALS AND METHODS

Vaccinated cattle

The farm from which the 30 crossbred cows originated (Fazenda Santa Monica, Juparana, Rio de Janeiro) belongs to the Brazilian Agency for Agricultural Research (Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuarias, EMBRAPA) of the Ministry of Agriculture. All cattle were over 4 years old.

Four of the 30 cows had been affected by FMD virus type A during an FMD outbreak in 1976. Oil-adjuvanted vaccine was used in January and July 1977 and in January 1978. The cows arrived at the PAFMDC at the end of January 1979 and were exposed to virus early in February 1979, slightly more than one year after their last vaccination.

Unvaccinated cattle and pigs

Four susceptible cattle and 6 pigs without vaccination history and free of antibodies were added to the group of the 30 vaccinated cows as controls and additional virus donors.

Vaccine

The oil-adjuvanted vaccines were from routine production batches of the PAFMDC and have been used in field trials and demonstration areas (5).

Virus

FMD virus subtype O₁, strain Campos of cattle origin was used for virus exposure of the cattle and pigs.

Virus exposure

All cattle were inoculated with 10⁴ bovine ID₅₀ in the tongue epithelium. Four unvaccinated cattle were similarly inoculated as well as 3 pigs which were inoculated with 10⁴ bovine ID₅₀ in one foot. All animals plus 3 uninoculated pigs were housed together in intimate contact until one week after virus inoculation when they were separated into small groups in loose boxes in the same barn.

Cattle examination

Cattle were examined for tongue lesions two days after inoculation and checked for generaliza-

tion 9 days after exposure.

Sera and oesophageal-pharyngeal (OP) fluid were collected before virus exposure and at 15 and 36 days after virus exposure.

Test procedures

Circulating antibodies were assayed by the MNT (8) against virus strains used in the vaccine: O₁ Campos, A Bage, A Venceslau and C Indaial. Virus strain O₁ Campos was used in the mouse protection test (7).

VIA antibodies were assayed in the double diffusion agar precipitation (DDAP) test as described (3).

Virus isolation from OP fluid was carried out as described (13) using TTE emulsification and 3 serial passages of 10 ml volumes in IB-RS-2 cell monolayer cultures in Roux flasks. All cultures with cytopathic effect were assayed by the complement fixation test for type confirmation.

RESULTS

All control cattle and pigs developed generalized FMD. One of the control cattle died as did 2 of the pigs. Only one of the vaccinated cattle developed generalized lesions on the feet. Of the 29 protected cattle only six had a lesion on the site of virus inoculation.

Table 1 summarizes these results as well as those of the various antibody and virus isolation tests.

In the MNT most titers were ≥ 3.0 . For type C only one animal showed titers below this value. For the two A strains Bage and Venceslau there were 4 and 9 cattle respectively, with values less than 3.0. For O₁ Campos, 4 cattle were below 3.0.

The MPT values varied over a wider range than the MNT. The EPP of the group based on the MPI was 92.3 ± 4.4 . The one unprotected animal (No. 667) had an MNT of 2.6 and an MPI of 1.0. In the MPT the animals with a tongue lesion at the inoculation site had values in the 1.5-2.8 range. Animals with higher values did not show even this type of lesion. However, a few cattle with an MPI in the intermediate range were also completely negative. This type of possible relationship

TABLE 1. Response of cattle exposed to foot-and-mouth disease virus O₁ one year after vaccination with oil-adjuvanted vaccine

Cattle No.	Before challenge				MPI O ₁	VIA	Virus isol.	Challenge Lesions	15 DPC ^a			36 DPC			
	Microneutralization			O ₁					MPI O ₁	VIA	Virus isol.	VIA	Virus isol.	VIA	Virus isol.
	C Ind.	A Bage	A Venc.												
651	≥3.2	3.2	≥3.5	≥3.6	3.7	-	-	Neg. ^b	>5.0	-	+ 1st	-	+ 1st		
652	≥3.6	≥3.5	2.9	3.3	2.2	-	-	T ^c	>5.0	+	+ 2nd	+	Neg.		
653	≥3.6	≥3.5	3.3	3.2	4.9	-	-	Neg.	>5.2	-	+ 2nd	-	+ 3rd		
654	≥3.6	≥3.5	≥3.6	≥3.6	>4.5	-	-	Neg.	>5.0	-	+ 2nd	+	+ 2nd		
655	3.3	≥3.6	3.0	≥3.5	2.1	-	-	Neg.	>5.0	-	Neg.	-	+ 1st		
656	≥3.6	≥3.6	3.2	≥3.5	4.8	+	-	Neg.	>5.0	+	+ 1st	-	+ 1st		
657	≥3.5	3.2	3.2	2.7	4.8	-	-	Neg.	>5.0	+	+ 2nd	+	Neg.		
658	3.3	≥3.5	2.7	3.2	2.8	+	-	T	4.9	+	+ 2nd	+	+ 1st		
659	≥3.6	3.3	3.2	≥3.5	3.0	-	-	Neg.	4.2	+	+ 1st	-	+ 1st		
660	≥3.6	2.9	2.9	3.3	>4.5	-	-	Neg.	>5.2	+	+ 2nd	+	+ 1st		
661	≥3.5	≥3.6	3.0	3.3	2.5	-	-	T	5.2	+	+ 2nd	+	+ 1st		
662	≥3.6	≥3.6	≥3.5	≥3.6	4.0	-	-	Neg.	5.0	-	+ 2nd	-	+ 2nd		
663	≥3.6	≥3.6	≥3.6	≥3.6	>4.5	-	-	Neg.	5.0	-	+ 2nd	-	+ 2nd		
664	≥3.6	≥3.6	≥3.5	≥3.6	>4.5	+	-	Neg.	>5.0	+	+ 2nd	+	Neg.		
665	≥3.5	3.3	≥3.5	2.9	2.0	-	-	Neg.	>5.0	+	+ 2nd	-	+ 1st		
666	≥3.6	≥3.6	≥3.6	≥3.6	4.7	+	-	Neg.	>5.0	-	+ 2nd	+	Neg.		
667	2.7	2.7	2.3	2.6	1.0	-	-	T4F ^d	>5.0	+	+ 2nd	+	+ 1st		
668	≥3.6	≥3.6	2.9	≥3.5	>4.3	+	-	Neg.	>5.0	+	+ 2nd	+	+ 2nd		
669	≥3.6	≥3.5	2.9	≥3.5	>4.3	+	-	Neg.	>5.0	+	+ 2nd	+	+ 2nd		
670	≥3.6	≥3.5	≥3.6	≥3.5	>4.3	+	-	Neg.	>5.0	+	+ 2nd	+	+ 2nd		
671	3.3	2.9	3.2	3.0	3.3	+	-	Neg.	>5.0	+	+ 2nd	+	+ 1st		
672	≥3.6	≥3.5	≥3.6	3.3	>4.3	-	-	Neg.	>5.0	-	Neg.	-	+ 3rd		
673	≥3.6	≥3.5	3.0	3.3	3.6	-	-	Neg.	>5.0	+	+ 2nd	+	+ 1st		
674	≥3.5	≥3.5	2.7	3.3	2.7	-	-	T	>5.0	+	Neg.	+	+ 2nd		
675	≥3.6	≥3.5	3.0	≥3.5	4.7	-	-	Neg.	>5.0	-	Neg.	-	+ 3rd		
676	3.3	2.9	2.4	2.6	1.5	-	-	T	5.0	+	+ 1st	+	Neg.		
677	≥3.6	3.3	2.4	3.0	1.5	-	-	T	>5.0	+	+ 2nd	+	Neg.		
678	≥3.6	3.3	≥3.5	≥3.6	>4.3	-	-	Neg.	>5.0	-	+ 2nd	-	+ 3rd		
679	3.3	≥3.6	3.3	3.2	3.0	+	-	Neg.	>5.0	+	+ 1st	+	+ 1st		
680	≥3.5	≥3.5	≥3.5	3.3	1.9	+	-	Neg.	5.0	+	+ 2nd	+	+ 1st		

^aDPC = Days post-challenge.

^bNegative for tongue and feet.

^cT = tongue.

^dF = feet.

between primary tongue lesions and the MPI was not apparent with the MNT. All MPI increased to convalescent values (7, 9) following virus exposure. Ten of the 30 cows had VIA antibody before virus inoculation probably as a result of the type A, FMD outbreak in 1976. At 15 days post-challenge 20 of the 30 were positive. At 36 days post-challenge 3 of the positive cattle became negative and 2 of the negative became positive.

No virus could be isolated from any of the cattle before challenge. At 15 days post-challenge virus type O₁ was isolated from 26 cattle. Five cattle were positive at first passage in IB-RS-2 cell culture; the remaining 21 were positive at second passage.

At 36 days 13 cattle were virus positive at first passage and 11 were at second or third passage, making a total of 24 cattle from which type O₁ virus was isolated.

All four control cattle became VIA positive and virus was isolated from the OP fluid of each. As expected their antibodies reached convalescent levels.

DISCUSSION

According to pre-challenge antibody levels the cattle used in this test were expected to be well protected against FMD. This assumption proved correct as all but one animal withstood an extremely severe challenge of virus O₁: inoculation in the tongue epithelium of all cattle with 10⁴ virus units; intimate contact with 4 similar inoculated unvaccinated cattle; exposure to 3 inoculated donor and 3 contact pigs all with generalizing disease. Indeed, all cattle became infected as evidenced by antibody response and virus isolations. It is noteworthy that not all cattle became VIA positive (DDAP) even though virus had replicated in their pharyngeal area. Similar observations were made by others (2, 11).

This experiment confirms the assumption that a cattle population with an EPP of ≥ 90 is well protected against FMD even if the last vaccination was more than a year ago. The same is true when a high percentage of the herd has an MNT ≥ 3.0 . A more severe challenge of immunity than in this experiment would be difficult to en-

vision under farm conditions or even at auctions or cattle shows.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors wish to acknowledge the cooperation of the staff of the Fazenda Santa Monica, Juparana, Rio de Janeiro, and of the National Dairy Cattle Center (Centro Nacional de Gado de Leite) of EMBRAPA for making available the cattle used in this experiment.

The authors would also like to thank the staff of the Diagnostic and Reference Laboratory of the PAFMDC for the performance of the VIA tests and virus typing. The microneutralization tests were made under the supervision of Dra. Kleise de Freitas Costa.

REFERENCES

1. ABARACON, D.; MAGALLANES, N.; CHARLES, E.G.; DURINI, L.A.; FRICK, E.; ALBARRACIN, G. F. de; BURGHI, E.D. de; RADISICH, T. Vida útil de una vacuna antiaftosa inactivada con adyuvante oleoso. (Shelf life of inactivated oil-adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine). *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa 37-38*: 17-20, 21-24, 1980.
2. ALONSO FERNANDEZ, A.; SONDAHL, M.S. Pre-GOMES, I.; ROSENBERG, F. El uso del antígeno asociado a la infección viral (VIA) en la detección de ganado expuesto al virus de la fiebre aftosa. (The use of virus-infection-associated antigen (VIA) in the detection of cattle exposed to foot-and-mouth disease virus). *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa 17-18*: 17-22, 1975.
3. ALONSO FERNANDEZ, A.; SONDAHL, M.S. Preparación y concentración de los antígenos 140S, 12S y VIA del virus de la fiebre aftosa. *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa 17-18*: 1-8, 1975.
4. 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). *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa 26*: 23-25, 27-29, 1977.
5. CASAS OLASCOAGA, R. Summary of current research of the Pan American Foot-and-Mouth Disease Center on oil adjuvanted vaccines. *Bull. Off. int. Epizoot. 89* (11-12): 1015-1054, 1978.

6. CENTRO PANAMERICANO DE FIEBRE AFTOSA; DIRECCION DE LUCHA CONTRA LA FIEBRE AFTOSA. Prueba de potencia para vacunas contra la fiebre aftosa de adyuvante oleoso: ensayos de DP_{50} en cobayos y en bovinos de una vacuna preparada en forma semi-industrial con una emulsión del tipo agua en aceite. (Potency testing of oil adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine: PD_{50} assays of a semi-industrial water-in-oil type emulsion in guinea pigs and cattle). *Bltm Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 29-30: 55-59, 61-65, 1978.
7. CUNHA, R.G.; BAPTISTA, Jr., J.A.; SERRÃO, U.M.; TORTURELLA, I. El uso de los ratones lactantes en la evaluación de los anticuerpos contra el virus de la fiebre aftosa y su significación inmunológica. *Gac. Vet.*, B. Aires, 19 (110): 243-267, 1957.
8. FERREIRA, M.E.V. Prueba de microneutralización para estudios de anticuerpos de la fiebre aftosa. (Microtiter neutralization test for the study of foot-and-mouth disease antibodies). *Bltm Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 21-22: 17-20, 21-24, 1976.
9. GOMES, I.; ALONSO FERNANDEZ, A.; AUGÉ DE MELLO, P. Foot-and-mouth disease circulating antibodies in convalescent cattle. *Bull. Off. int. Épizoot.* 77 (5-6): 731-741, 1972.
10. GOMES, I.; ASTUDILLO, V. Foot-and-mouth disease: evaluation of mouse protection test results in relation to cattle immunity. *Bltm Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 17-18: 9-16, 1976.
11. McVICAR, J.W.; SUTMÖLLER, P. Foot-and-mouth disease: the agar gel diffusion precipitin test for antibody to virus-infection-associated (VIA) antigen as a tool for epizootiologic surveys. *Am. J. Epidem.* 92 (4): 273-278, 1970.
12. PLUM ISLAND ANIMAL DISEASE CENTER; PAN AMERICAN FOOT-AND-MOUTH DISEASE CENTER. Vacunas contra la fiebre aftosa. II. Estudios sobre la duración de la inmunidad en bovinos y porcinos. (Foot-and-mouth disease vaccines. II. Studies on the duration of immunity in cattle and pigs). *Bltm Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 19-20: 17-23, 24-30, 1975.
13. SUTMÖLLER, P.; COTTRAL, G.E. Improved techniques for the detection of foot-and-mouth disease virus in carrier cattle. *Arch. ges. Virusforsch.* 21: 170-177, 1967.

**PERSISTENCIA DE ANTICUERPOS EN RESPUESTA A LA REVACUNACION
CON VACUNA ANTIAFTOSA CON ADYUVANTE OLEOSO**

P. Augé de Mello¹; P. Suttmöller¹; K. de Freitas Costa¹; Abel Millán²

COMUNICACION BREVE

En otra publicación (7) se informó sobre la respuesta inmunitaria de 72 bovinos vacunados con vacunas antiaftosa de emulsión primaria y doble. Al fin de ese experimento, 6 meses después de la vacunación, la media aritmética de los títulos neutralizantes de los diversos grupos experimentales variaba entre 2,2 y 2,8.

Para este trabajo, esos 72 bovinos fueron divididos aleatoriamente en tres grupos, manteniendo una correlación con los grupos del trabajo anterior.

Los bovinos del grupo 1 no se revacunaron, los del grupo 2 se revacunaron con 10 ml de una vacuna antiaftosa de emulsión doble y los del grupo 3 con 5 ml de una vacuna de emulsión primaria.

La emulsión primaria fue la misma que para la vacuna padrón 2 usada en la primera vacunación informada en el trabajo anterior (7). La emulsión doble se preparó a partir de la vacuna de emulsión primaria, mediante reemulsificación con un volumen igual de solución buffer fosfato (SBF) de pH 7,4, con 2% de polioxietileno 20 monooleato de sorbitol³. Detalles de los antígenos, de la preparación y de la prueba de potencia de esa vacuna se encuentran en la publicación citada (7).

Los Cuadros 1 y 2 contienen las medias aritméticas de los títulos neutralizantes de los 3 grupos de bovinos, por un período de dos años después de la revacunación de los grupos 2 y 3. Puede observarse que el título del grupo 1 no vacunado decre-

ció gradualmente hasta 1,75 y 1,83 para las cepas O₁ Campos y A₂₄ Cruzeiro, respectivamente.

CUADRO 1. Media aritmética de los títulos neutralizantes para el virus de la fiebre aftosa O₁ Campos después de la revacunación con vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso

Meses pos-revacunación	No re-vacunados	Revacunados	
		Emulsión doble	Emulsión primaria
0	2,33 ± 0,43 ^a	2,39 ± 0,61	2,49 ± 0,52
1	2,33 ± 0,34	3,55 ± 0,10	3,48 ± 0,21
3	2,16 ± 0,28	3,32 ± 0,43	3,26 ± 0,33
6	2,03 ± 0,30	3,25 ± 0,43	3,14 ± 0,35
12	2,13 ± 0,49	3,39 ± 0,35	3,17 ± 0,37
24	1,75 ± 0,43	3,14 ± 0,56	2,87 ± 0,45

^aMedia aritmética y desviación estándar.

CUADRO 2. Media aritmética de los títulos neutralizantes para el virus de la fiebre aftosa A₂₄ Cruzeiro después de la revacunación con vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso

Meses pos-revacunación	No re-vacunados	Revacunados	
		Emulsión doble	Emulsión primaria
0	2,69 ± 0,55	2,58 ± 0,44	2,78 ± 0,58
1	2,30 ± 0,42	3,35 ± 0,28	3,50 ± 0,21
3	2,05 ± 0,48	2,94 ± 0,46	3,42 ± 0,23
6	2,10 ± 0,48	2,84 ± 0,51	3,27 ± 0,35
12	1,97 ± 0,52	2,78 ± 0,57	3,18 ± 0,46
24	1,83 ± 0,46	2,49 ± 0,50	2,90 ± 0,43

La media aritmética de los títulos neutralizantes para la cepa O₁ Campos de los grupos de bovinos vacunados con la vacuna de adyuvante oleoso doble o primaria se mantuvieron en niveles altos durante el período de observación a partir de la revacunación. Los valores para la cepa A₂₄ Cruzeiro

¹Centro Panamericano de Fiebre Aftosa, OPS/QMS, Caixa Postal 589, 20000 Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

²Dirección de Lucha contra la Fiebre Aftosa, Ruta 8, "Brig. Gral. Juan A. Lavalleja", Km 29, Pando, Uruguay.

³Tween 80 - ICI America Inc. Atlas Chemicals Division.

fueron un poco más bajos, debido probablemente a la composición de la valencia A de las vacunas. Tanto la vacunación como la revacunación fueron hechas con vacunas que tenían un 50% de A Bagé, 25% de A Venceslau y 25% de A Cruzeiro. En el Cuadro 3 figura la media aritmética de los títulos neutralizantes para la cepa A Bagé, de sueros obtenidos 6 y 12 meses después de la revacunación. Puede observarse que ellos son similares o un poco más altos que los títulos para la cepa A₂₄ Cruzeiro.

CUADRO 3. Media aritmética de los títulos neutralizantes para el virus de la fiebre aftosa A Bagé

Grupos de bovinos	Meses posrevacunación	
	6	12
No revacunados	2,48 ± 0,45 ^a	2,39 ± 0,44
Revacunados		
Emulsión doble	2,89 ± 0,47	3,00 ± 0,41
Emulsión primaria	3,03 ± 0,33	3,25 ± 0,29

^aMedia aritmética y desviación estándar.

Cuando la vacuna de emulsión primaria se sometió a una prueba de potencia en bovinos frente a la cepa O₁, 30 días después de la vacunación, se observó que estaban protegidos 8 de 8 animales vacunados con la vacuna sin diluir y 6 de 8 con la vacuna en la dilución 1:10 (1). La media aritmética de los títulos neutralizantes de estos grupos de bovinos era 3,24 ± 0,44 y 2,81 ± 0,70, respectivamente. Para la cepa O₁ Campos la media aritmética de los títulos neutralizantes uno y dos años des-

pues de la revacunación con la misma vacuna era 3,39 ± 0,35 y 3,14 ± 0,56 para la emulsión doble y 3,17 ± 0,37 y 2,87 ± 0,45 para la emulsión primaria. Por lo tanto, es muy probable que esos bovinos hubieran estado protegidos frente a la descarga del tipo O₁ Campos. Esta opinión se fundamenta en los resultados de otro experimento realizado en el CPFA (2), en el cual 30 bovinos se expusieron al virus un año después de repetidas vacunaciones con vacunas de adyuvante oleoso. Los anticuerpos neutralizantes de esos bovinos eran similares a los obtenidos en el presente experimento y todos los animales, menos uno, resistieron a la descarga.

Nuestra intención es continuar estudiando los bovinos de este experimento sin practicarles nuevas revacunaciones contra la fiebre aftosa, con el objeto de observar, hasta donde sea posible, la persistencia de anticuerpos.

REFERENCIAS

1. AUGÉ DE MELLO, P.; COSTA, K. de F.; ALONSO FERNANDEZ, A.; SUTMÖLLER, P.; POLLAK, A.; MILLAN, A. Influencia del grado de dispersión en la fase acuosa sobre la inmunogenicidad de vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso. (Influence of the degree of dispersion in the aqueous phase on the immunogenicity of oil-adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine). *Bln Centro Panamericano Fiebre Aftosa 37-38*: 5-9, 11-15, 1980.
2. 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). *Bln Centro Panamericano Fiebre Aftosa 37-38*: 25-29, 31-35, 1980.

**PERSISTENCE OF ANTIBODY RESPONSE AFTER REVACCINATION
WITH OIL-ADJUVANTED FOOT-AND-MOUTH DISEASE VACCINE**

P. Augé de Mello¹; P. Suttmöller¹; K. de Freitas Costa¹; Abel Millán²

SHORT COMMUNICATION

An accompanying paper (1) reported on the immune response of 72 cattle after vaccination with primary and double emulsion foot-and-mouth disease (FMD) vaccines. At the end of that experiment at 6 months post-vaccination the mean neutralization titers of the various experimental groups ranged from 2.2 to 2.8.

For the present experiment these 72 cattle were randomly divided in 3 groups, with equal contribution of each of the original experimental groups to the three new groups.

Cattle of group 1 were left without revaccination, cattle of group 2 were revaccinated with 10 ml of a double emulsion FMD vaccine and group 3 was revaccinated with 5 ml primary emulsion FMD vaccine.

The primary emulsion was the same as the standard vaccine 2 used for the first vaccination reported in the accompanying paper (1). The double emulsion was prepared from the primary emulsion vaccine by reemulsification with an equal volume of phosphate buffer solution (PBS), pH 7.4, containing 2% polyoxyethylene 20 sorbitan monooleate³. Details on the antigens, formulation and potency testing of that vaccine can also be found in that paper (1).

Tables 1 and 2 list the mean neutralization titers of the 3 groups of cattle for a period of two years after revaccination of groups 2 and 3. It can be observed that the neutralization titer of the unvaccinated group 1 gradually decreased to 1.75

and 1.83 for strains O₁ Campos and A₂₄ Cruzeiro, respectively.

TABLE 1. Mean of serum neutralization titers against FMD virus O₁ Campos of cattle after revaccination with oil-adjuvanted FMD vaccines

Months post-revaccination	Not re-vaccinated	Revaccinated	
		Double emulsion	Primary emulsion
0	2.33 ± 0.43 ^a	2.39 ± 0.61	2.49 ± 0.52
1	2.33 ± 0.34	3.55 ± 0.10	3.48 ± 0.21
3	2.16 ± 0.28	3.32 ± 0.43	3.26 ± 0.33
6	2.03 ± 0.30	3.25 ± 0.43	3.14 ± 0.35
12	2.13 ± 0.49	3.39 ± 0.35	3.17 ± 0.37
24	1.75 ± 0.43	3.14 ± 0.56	2.87 ± 0.45

^aMean and standard deviation.

TABLE 2. Mean of serum neutralization titers against FMD virus A₂₄ Cruzeiro of cattle after revaccination with oil-adjuvanted FMD vaccines

Months post-revaccination	Not re-vaccinated	Revaccinated	
		Double emulsion	Primary emulsion
0	2.69 ± 0.55	2.58 ± 0.44	2.78 ± 0.58
1	2.30 ± 0.42	3.35 ± 0.28	3.50 ± 0.21
3	2.05 ± 0.48	2.94 ± 0.46	3.42 ± 0.23
6	2.10 ± 0.48	2.84 ± 0.51	3.27 ± 0.35
12	1.97 ± 0.52	2.78 ± 0.57	3.18 ± 0.46
24	1.83 ± 0.46	2.49 ± 0.50	2.90 ± 0.43

The mean neutralization titers for strain O₁ Campos of the groups of cattle vaccinated with the double or primary oil-adjuvanted vaccine remained at high levels throughout the post-revaccination observation period. Slightly lower values are obtained for strain A₂₄ Cruzeiro which probably is due to the

¹Pan American Foot-and-Mouth Disease Center, PAHO/WHO, Caixa Postal 589, 20000 Rio de Janeiro-RJ, Brazil.

²Dirección de Lucha contra la Fiebre Aftosa, Ruta 8, "Brig. Gral. Juan A. Lavalleja", Km 29, Pando, Uruguay.

³Tween 80 - ICI America Inc. Atlas Chemicals Division.

composition of the A valency of the vaccines. Both the original vaccination and the revaccination were done with vaccines of which the A valency contained 50% A Bage, 25% A Venceslau and 25% A Cruzeiro. The mean neutralization titers against strain A Bage of sera collected 6 and 12 months after revaccination are listed in Table 3. It can be observed that those titers are similar or slightly higher than those for strain A₂₄ Cruzeiro.

TABLE 3. Mean neutralization titers of cattle against FMD virus A Bage

Cattle groups	Months post-revaccination	
	6	12
Not revaccinated	2.48 ± 0.45 ^a	2.39 ± 0.44
Revaccinated		
Double emulsion	2.89 ± 0.47	3.00 ± 0.41
Primary emulsion	3.03 ± 0.33	3.25 ± 0.29

^aMean and standard deviation.

When the primary emulsion vaccine was potency tested for strain O₁ in cattle at 30 days post-vaccination it protected 8 out of 8 cattle with the undiluted vaccine and 6 out of 8 cattle with the vaccine diluted 1:10 (1). The mean neutralization titers of these groups of cattle were 3.24 ± 0.44 and 2.81 ± 0.70, respectively. The mean antibody titers of cattle against O₁ Campos one year and two years after revaccination with the same vaccine were 3.39 ± 0.35 and 3.14 ± 0.56 for the double emulsion, and 3.17 ± 0.37 and 2.87 ± 0.45 for the primary emulsion respectively. It is most

likely therefore that those cattle would have been protected against challenge with type O₁ Campos. This assumption is substantiated by the results of another experiment done at the Pan American Foot-and-Mouth Disease Center (2). In that experiment 30 cattle were exposed to this virus one year after repeated vaccinations with oil-adjuvanted vaccines. The neutralizing antibodies of these 30 cattle were of the same order as those obtained in the present experiment and all but one animal were protected at challenge.

It is our intention to continue studying the cattle of the present experiment without further FMD vaccinations in order to establish the persistence of antibodies for as long as possible.

REFERENCES

1. AUGÉ DE MELLO, P.; COSTA, K. de F.; ALONSO FERNANDEZ, A.; SUTMÖLLER, P.; POLLAK, A.; MILLAN, A. Influencia del grado de dispersión en la fase acuosa sobre la inmunogenicidad de vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso. (Influence of the degree of dispersion in the aqueous phase on the immunogenicity of oil-adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine). *Bln Centro Panamericano Fiebre Aftosa 37-38*: 5-9, 11-15, 1980.
2. 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). *Bln Centro Panamericano Fiebre Aftosa 37-38*: 25-29, 31-35, 1980.

PROTECCION DE BOVINOS DESPUES DE VACUNADOS CON VACUNAS ANTIAFTOSAS CON ADYUVANTE OLEOSO

*Daniel Abaracon¹; A. Alonso Fernández¹
Nelson Magallanes²; Eduardo G. Charles³; Luis A. Durini³*

COMUNICACION BREVE

Varios trabajos han sido escritos sobre la exposición de bovinos al virus de la fiebre aftosa aproximadamente a los 30 días después de haber sido vacunados con vacuna con adyuvante oleoso (1, 3, 6, 7).

En otro trabajo con vacunas con adyuvante oleoso (6) también se incluyó un experimento para determinar la protección de bovinos a los 6 meses después de la vacunación. En este estudio se obtuvieron niveles de protección de 13/16, 12/16 y 13/16 (protegidos/inoculados) a 1, 4 y 6 meses posvacunación respectivamente, frente a la inoculación por vía intradermolingual (IDL) de 10^4 DI₅₀ ratón lactante del virus del subtipo O₁.

Recientemente fue descrito un estudio con descarga por inoculación IDL de los bovinos a 1, 2 y 3 meses después de vacunados (3). La vacuna fue diluida en una emulsión sin antígeno (diluyente activo) y proporcionó, para la cepa O₁ Campos, 160, 160 y 115 dosis protectora 50% (DP₅₀) a 1, 2 y 3 meses posvacunación, respectivamente.

El objetivo del presente experimento es informar sobre la respuesta a la descarga de virus y serológica de bovinos que recibieron vacuna oleosa y fueron comprobados a diferentes períodos posvacunales.

Las características del antígeno de la vacuna utilizada en este experimento están indicadas en el

Cuadro 1. Las DP₅₀ obtenidas con diluyente activo en cobayos (2) fueron de 18, 10 y 20 para los virus O₁ Campos, A₂₄ Argentina/68 (8345) y C₃ Resende, respectivamente. El valor para el virus O₁ Campos es la media de cinco pruebas, lo que supuso el uso de 30 cobayos por dilución.

CUADRO 1. Características de los antígenos usados en la vacuna de fiebre aftosa con adyuvante oleoso

Virus	Método de producción	TFC ^a	Infectividad DI ₅₀ CC/ml
O ₁ Campos	Cultivos en suspensión	1/13	7,3
A 8345	Cultivos en monocamadas	1/16	7,1
C ₃ Resende	Cultivos en suspensión	1/14	7,6

^aTFC = Título fijación del complemento 50% (4UHC₅₀-90').

Se utilizaron bovinos Hereford con 2 años de edad, procedentes del área libre de fiebre aftosa de Argentina (Patagonia), los cuales fueron vacunados en los aislamientos del Servicio Nacional de Sanidad Animal (SENASA), en Buenos Aires.

Los 75 bovinos utilizados, divididos en 5 grupos de 15 animales cada uno, fueron vacunados con vacuna con adyuvante oleoso.

La vacuna fue diluida usando el diluyente activo (emulsión sin antígeno) y se vacunaron grupos de 15 bovinos con la vacuna sin diluir y con cada una de las diluciones 1:4, 1:16, 1:64 y 1:256 respectivamente. En todos los casos fueron aplicados 5 ml por vía intramuscular. A los 35, 97 y 186 días posvacunación (DPV) cinco bovinos de cada grupo más dos o tres controles sin vacunar fueron

¹Centro Panamericano de Fiebre Aftosa, OPS/OMS, Caixa Postal 589, 20000 Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

²Consultor de la OPS/OMS en Argentina. Dirección actual: Director General de Servicios Veterinarios, Ministerio de Agricultura y Pesca, Constituyente 1476, Montevideo, Uruguay.

³Servicio de Laboratorios (SELAB), SENASA, Chorroarín 134, Buenos Aires, Argentina.

inoculados por vía IDL con 10^4 DI_{50} bovino de la cepa O₁ Campos. Todos los animales fueron examinados en la lengua y patas a los 7 días después de la inoculación. Los resultados de la comprobación están presentados en el Cuadro 2.

CUADRO 2. Protección de bovinos inoculados por vía intradermolingual con 10^4 DI_{50} de la cepa de virus de fiebre aftosa O₁ Campos, después de vacunados con diferentes diluciones de vacuna antiáftosa con adyuvante oleoso y a diferentes días posvacunación

Dilución de la vacuna	Días posvacunación			
	35	97	186	Total
1:1	5/5	5/5	5/5	15/15
1:4	5/5	5/5	5/5	15/15
1:16	5/5	5/5	3/5	13/15
1:64	3/5	4/5	2/4	9/14
1:256	3/5	3/5	1/5	7/15

Se extrajeron muestras de suero a los 97 y 186 DPV y se realizaron pruebas de seroprotección (SP) (4) y de neutralización por microtécnica (MT) (5). Las respuestas individuales de estos animales están indicadas en los Cuadros 3 y 4.

Se observó que los valores de SP y $MT \geq 2,5$ correspondían a animales protegidos. Sin embargo, valores más bajos no indican necesariamente falta de protección. Una dosis respuesta gradual puede ser observada en los resultados de la inoculación y del nivel de anticuerpos.

Esta vacuna contenía 18 DP_{50} y fue probada en cobayos en cinco repeticiones que involucraron el uso de 30 cobayos por dilución.

CUADRO 3. Respuesta inmunitaria de bovinos vacunados con vacuna con adyuvante oleoso inoculados por vía IDL con el virus de la fiebre aftosa O₁ Campos, 97 días después de la vacunación

Dilución de la vacuna	Nº de bovinos	ISP ^a	MT ^b	Lesiones
1:1	001	> 4,50	$\geq 3,45$	Neg.
	002	2,90	2,70	L ^c
	003	> 4,50	3,15	L
	004	> 4,50	3,30	L
	005	> 4,50	3,15	Neg.
1:4	006	> 4,50	3,30	Neg.
	007	> 4,50	$\geq 3,60$	Neg.
	008	> 4,50	$\geq 3,45$	Neg.
	009	> 4,50	$\geq 3,45$	Neg.
	010	4,50	$\geq 3,45$	L
1:16	011	> 4,50	3,15	Neg.
	012	2,75	3,00	L
	013	2,75	3,15	L
	014	> 4,50	$\geq 3,60$	L
	015	-	3,15	L
1:64	016	0,00	1,50	L 4P ^d
	017	2,11	2,70	L
	018	3,85	$\geq 3,60$	L
	019	$\geq 3,60$	$\geq 3,60$	L
	020	1,60	2,70	L
1:256	021	4,00	3,00	L
	022	0,35	$\leq 1,20$	L 4P
	023	0,35	1,95	L
	024	1,60	2,70	L
	025	0,85	1,80	L 4P
Controles	25	0,35	$\leq 0,60$	L 4P
	30	0,20	$\leq 0,60$	L 4P

^aISP = índice de seroprotección.

^bMT = neutralización por microtécnica.

^cL = lesiones en el punto de inoculación de la lengua.

^dP = número de patas con lesiones.

CUADRO 4. Respuesta inmunitaria de bovinos vacunados con vacuna con adyuvante oleoso inoculados por vía IDL con el virus de la fiebre aftosa O₁ Campos, 186 días después de la vacunación

Dilución de la vacuna	Nº de bovinos	ISP	MT	Lesiones
1:1	102	3,70	3,15	L
	103	1,90	2,85	L
	104	1,50	2,85	L
	105	3,01	≥3,60	L
1:4	106	2,75	3,30	L
	107	2,00	3,30	L
	108	≤1,00	2,10	L
	109	2,75	≥3,60	L
1:16	110	3,90	3,15	L
	111	2,08	3,15	L
	112	2,68	3,30	L
	115	0,68	2,40	L 2P
1:64	116	1,43	≥3,60	L
	117	1,68	2,85	L
	118	1,18	2,40	L 4P
	119	0,43	1,65	L 4P
1:256	120	2,08	2,55	L
	121	0,93	1,65	L 3P
	122	2,43	2,85	L
	123	0,68	≤1,35	L 4P
	124	≤0,18	≤1,20	L 4P
	125	0,93	1,80	L 4P
Controles	140	0,25	≤1,20	L 4P
	142	0,25	≤1,20	L 4P
	143	0,25	≤1,20	L 4P

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Dra. Kleise de Freitas Costa y al Dr. Ivo Gomes por realizar las pruebas de neutralización por microtécnica y seroprotección, respectivamente.

REFERENCIAS

1. ABARACON, D.; MAGALLANES, N.; CHARLES, E. G.; DURINI, L.A.; FRICK, E.; de ALBARRACIN, G. F.; de BURGHI, E.D.; RADISICH, T. Vida útil de una

vacuna antiaftosa inactivada con adyuvante oleoso. (Shelf life of inactivated oil-adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine). *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa 37-38*: 17-20, 21-24, 1980.

2. CENTRO PANAMERICANO DE FIEBRE AFTOSA. Manual de procedimientos para el control de vacuna antiaftosa. *Ser. Man. Técn. 2*, 1980.

3. CENTRO PANAMERICANO DE FIEBRE AFTOSA; DIRECCION DE LUCHA CONTRA LA FIEBRE AFTOSA. Prueba de potencia para vacunas contra la fiebre aftosa de adyuvante oleoso: ensayos de DP₅₀ en cobayos y en bovinos de una vacuna preparada en forma semi-industrial con una emulsión del tipo agua en aceite. (Potency testing of oil adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine: PD₅₀ assays of a semi-industrial water-in-oil type emulsion vaccine in guinea pigs and cattle). *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa 29-30*: 55-59, 61-65, 1978.

4. CUNHA, R.G.; BAPTISTA, Jr., J.A.; SERRÃO, U.M.; TORTURELLA, I. El uso de los ratones lactantes en la evaluación de los anticuerpos contra el virus de la fiebre aftosa y su significación inmunológica. *Gac. Vet., B. Aires, 19* (110): 243-267, 1957.

5. FERREIRA, M.E.V. Prueba de microneutralización para estudios de anticuerpos de la fiebre aftosa. (Microtiter neutralization test for the study of foot-and-mouth disease antibodies). *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa 21-22*: 17-20, 21-24, 1976.

6. PLUM ISLAND ANIMAL DISEASE CENTER; PAN AMERICAN FOOT-AND-MOUTH DISEASE CENTER. Vacunas contra la fiebre aftosa. I. Comparación entre vacunas preparadas con virus inactivado con formalina y adsorbido en hidróxido de aluminio y vacunas preparadas con virus inactivado con acetiletilenimina emulsificado con adyuvante incompleto de Freund. (Foot-and-mouth disease vaccines. I. Comparison of vaccines prepared from virus inactivated with formalin and adsorbed on aluminum hydroxide gel with saponin and virus inactivated with acetylethyleneimine and emulsified with incomplete Freund's adjuvant). *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa 19-20*: 1-8, 9-16, 1975.

7. PLUM ISLAND ANIMAL DISEASE CENTER; PAN AMERICAN FOOT-AND-MOUTH DISEASE CENTER. Vacunas contra la fiebre aftosa. II. Estudios sobre la duración de la inmunidad en bovinos y porcinos. (Foot-and-mouth disease vaccines. II. Studies on the duration of immunity in cattle and pigs). *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa 19-20*: 17-23, 24-30, 1975.

**PROTECTION OF CATTLE FOLLOWING VACCINATION
WITH OIL-ADJUVANTED FOOT-AND-MOUTH DISEASE VACCINE**

*Daniel Abaracon¹; A. Alonso Fernandez¹
Nelson Magallanes²; Eduardo G. Charles³; Luis A. Durini³*

SHORT COMMUNICATION

Several experiments have been reported on exposure of cattle to virulent foot-and-mouth disease (FMD) virus approximately 30 days after vaccination with oil-adjuvanted vaccine (1, 3, 6, 7).

Early studies on oil-adjuvanted vaccines (6) included experiments to determine the duration of protection for cattle for as long as 6 months post-vaccination. In that study the protection levels against challenge with 10⁴ mouse ID₅₀ of FMD virus subtype O₁ inoculated intradermally (IDL) were 13/16, 12/16 and 13/16 (protected cattle/number inoculated) at 1, 4 and 6 months post-vaccination, respectively.

Recently, a study was reported with IDL challenge of cattle at 1, 2 and 3 months post-vaccination (3). In that experiment the vaccines were serially diluted with antigen-free-emulsion (active diluent) and contained 160, 160 and 115 cattle protective dose 50% (PD₅₀) for strain O₁ Campos at 1, 2 and 3 months post-vaccination, respectively.

The present experiment was made to determine the serological response and resistance to challenge of cattle vaccinated with oil-adjuvanted vaccine at different periods post vaccination.

The characteristics of the vaccine antigens used in the present experiment are listed in Table 1.

The PD₅₀ values (2) in guinea pigs (active diluent) were 18, 10 and 20 for virus O₁ Campos, A₂₄ Argentina/68 (8345) and C₃ Resende, respectively. The mean value for virus O₁ Campos was obtained with five replicate tests with a total of 30 guinea pigs per dilution.

TABLE 1. *Characteristics of antigens used in the FMD oil-adjuvanted vaccine*

Virus	Production method	CFT ^a	Infectivity CCID ₅₀ /ml
O ₁ Campos	Suspension culture	1/13	7.3
A 8345	Monolayer culture	1/16	7.1
C ₃ Resende	Suspension culture	1/14	7.6

^aCFT = 50% complement fixation titer (4HCU₅₀-90').

Cattle used in the present experiment were 2 years old Hereford steers from the FMD free area of Argentina (Patagonia). They were vaccinated at an isolation units of the National Animal Health Service (SENASA) in Buenos Aires.

A total of 75 cattle divided in 5 groups of 15 were vaccinated with the oil-adjuvanted vaccine.

The vaccine was diluted using active diluent (antigen free water-in-oil emulsion). Fifteen cattle groups were vaccinated with the undiluted vaccine and with the dilutions 1:4, 1:16, 1:64 and 1:256, respectively. In all cases the dose was 5 ml, given intramuscularly. Of each group 5 cattle were challenged by IDL inoculation with 10⁴ bovine ID₅₀

¹Pan American Foot-and-Mouth Disease Center, PAHO/WHO, Caixa Postal 589, 20000 Rio de Janeiro-RJ, Brazil.

²PAHO/WHO Consultant in Argentina. Present address: Director General de Servicios Veterinarios, Ministerio de Agricultura y Pesca, Constituyente 1476, Montevideo, Uruguay.

³Servicio de Laboratorios (SELAB), SENASA, Chorroarín 134, Buenos Aires, Argentina.

of strain O₁ Campos at 35, 97 and 186 days post-vaccination (DPV), respectively, together with 2 or 3 unvaccinated control cattle. All cattle were examined for tongue or foot lesions at 7 DPV. The results of these challenge tests are presented in Table 2.

TABLE 2. Protection of cattle inoculated intradermally (IDL) with 10^A ID₅₀ of O₁ Campos FMD virus after vaccination with different dilutions of oil-adjuvanted FMD vaccine at different post-vaccination days

Dilution of vaccine	Days post vaccination			
	35	97	186	Total
1:1	5/5	5/5	5/5	15/15
1:4	5/5	5/5	5/5	15/15
1:16	5/5	5/5	3/5	13/15
1:64	3/5	4/5	2/4	9/14
1:256	3/5	3/5	1/5	7/15

Pre-challenge sera were collected from the cattle challenged at 97 and 186 DPV and antibody assays were done by the mouse protection test (MPT) (4) and the microneutralization test (MNT) (5). The individual immune response of those cattle are presented in Tables 3 and 4.

It was observed that with a value of ≥ 2.5 for either the MPT or the MNT the animals were protected. However, lower values not necessarily indicated a lack of protection. A graded dose response can be observed both for the challenge results and for the results of the antibody tests.

It must be noted that the vaccine used in the present study contained 18 guinea pig PD₅₀ according to the results of five replicate tests using a total of 30 guinea pigs per dilution.

TABLE 3. Immune response of cattle vaccinated with oil-adjuvanted vaccine and exposed by IDL inoculation with FMD virus O₁ Campos 97 days after vaccination

Vaccine dilution	No. of cattle	MPI ^a	MNT ^b	Lesions
1:1	001	> 4.50	≥ 3.45	Neg.
	002	2.90	2.70	T ^c
	003	> 4.50	3.15	T
	004	> 4.50	3.30	T
	005	> 4.50	3.15	Neg.
1:4	006	> 4.50	3.30	Neg.
	007	> 4.50	≥ 3.60	Neg.
	008	> 4.50	≥ 3.45	Neg.
	009	> 4.50	≥ 3.45	Neg.
	010	4.50	≥ 3.45	T
1:16	011	> 4.50	3.15	Neg.
	012	2.75	3.00	T
	013	2.75	3.15	T
	014	> 4.50	≥ 3.60	T
	015	-	3.15	T
1:64	016	0.00	1.50	T 4F ^d
	017	2.11	2.70	T
	018	3.85	≥ 3.60	T
	019	≥ 3.60	≥ 3.60	T
	020	1.60	2.70	T
1:256	021	4.00	3.00	T
	022	0.35	≤ 1.20	T 4F
	023	0.35	1.95	T
	024	1.60	2.70	T
	025	0.85	1.80	T 4F
Controls	25	0.35	≤ 0.60	T 4F
	30	0.20	≤ 0.60	T 4F

^aMPI = mouse protection index.

^bMNT = microneutralization test.

^cT = tongue lesion at inoculation site.

^dF = number of feet affected.

TABLE 4. Immune response of cattle vaccinated with oil-adjuvanted vaccine and exposed by IDL inoculation with FMD virus O₁ Campos 186 days after vaccination

Vaccine dilution	No. of cattle	MPI	MNT	Lesions
1:1	102	3.70	3.15	T
	103	1.90	2.85	T
	104	1.50	2.85	T
	105	3.01	≥3.60	T
1:4	106	2.75	3.30	T
	107	2.00	3.30	T
	108	≤1.00	2.10	T
	109	2.75	≥3.60	T
	110	3.90	3.15	T
1:16	111	2.08	3.15	T
	112	2.68	3.30	T
	115	0.68	2.40	T 2F
	116	1.43	≥3.60	T
1:64	117	1.68	2.85	T
	118	1.18	2.40	T 4F
	119	0.43	1.65	T 4F
	120	2.08	2.55	T
1:256	121	0.93	1.65	T 3F
	122	2.43	2.85	T
	123	0.68	≤1.35	T 4F
	124	≤0.18	≤1.20	T 4F
	125	0.93	1.80	T 4F
Controls	140	0.25	≤1.20	T 4F
	142	0.25	≤1.20	T 4F
	143	0.25	≤1.20	T 4F

ACKNOWLEDGMENT

The authors thanks Dr. Kleise de Freitas Costa and Dr. Ivo Gomes for performing the micro-neutralization tests and mouse protection tests, respectively.

REFERENCES

1. ABARACON, D.; MAGALLANES, N.; CHARLES, E. G.; DURINI, L.A.; FRICK, E.; de ALBARRACIN, G. F.; de BURGHI, E.D.; RADISICH, T. Vide útil de una

vacuna antiaftosa inactivada con adyuvante oleoso. (Shelf life of inactivated oil-adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine). *Bltm Centro Panamericano Fiebre Aftosa 37-38*: 17-20, 21-24, 1980.

2. CENTRO PANAMERICANO DE FIEBRE AFTOSA. Manual de procedimientos para el control de vacuna antiaftosa. *Ser. Man. Técn. 2*, 1980.

3. CENTRO PANAMERICANO DE FIEBRE AFTOSA; DIRECCION DE LUCHA CONTRA LA FIEBRE AFTOSA. Prueba de potencia para vacunas contra la fiebre aftosa de adyuvante oleoso: ensayos de DP₅₀ en cobayos y en bovinos de una vacuna preparada en forma semi-industrial con una emulsión del tipo agua en aceite. (Potency testing of oil adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine: PD₅₀ assays of a semi-industrial water-in-oil type emulsion vaccine in guinea pigs and cattle). *Bltm Centro Panamericano Fiebre Aftosa 29-30*: 55-59, 61-65, 1978.

4. CUNHA, R.G.; BAPTISTA, Jr., J.A.; SERRÃO, U.M.; TORTURELLA, I. El uso de los ratones lactantes en la evaluación de los anticuerpos contra el virus de la fiebre aftosa y su significación inmunológica. *Gac. Vet., B. Aires, 19* (110): 243-267, 1957.

5. FERREIRA, M.E.V. Prueba de microneutralización para estudios de anticuerpos de la fiebre aftosa. (Microtiter neutralization test for the study of foot-and-mouth disease antibodies). *Bltm Centro Panamericano Fiebre Aftosa 21-22*: 17-20, 21-24, 1976.

6. PLUM ISLAND ANIMAL DISEASE CENTER; PAN AMERICAN FOOT-AND-MOUTH DISEASE CENTER. Vacunas contra la fiebre aftosa. I. Comparación entre vacunas preparadas con virus inactivado con formalina y adsorbido en hidróxido de aluminio y vacunas preparadas con virus inactivado con acetil-etil-eneimina emulsificado con adyuvante incompleto de Freund. (Foot-and-mouth disease vaccines. I. Comparison of vaccines prepared from virus inactivated with formalin and adsorbed on aluminum hydroxide gel with saponin and virus inactivated with acetyleneimine and emulsified with incomplete Freund's adjuvant). *Bltm Centro Panamericano Fiebre Aftosa 19-20*: 1-8, 9-16, 1975.

7. PLUM ISLAND ANIMAL DISEASE CENTER; PAN AMERICAN FOOT-AND-MOUTH DISEASE CENTER. Vacunas contra la fiebre aftosa. II. Estudios sobre la duración de la inmunidad en bovinos y porcinos. (Foot-and-mouth disease vaccines. II. Studies on the duration of immunity in cattle and pigs). *Bltm Centro Panamericano Fiebre Aftosa 19-20*: 17-23, 24-30, 1975.

ANALISIS DEL COSTO Y DE LA EFECTIVIDAD DE DOS PROCEDIMIENTOS DE VACUNACION ANTIAFTOSA

Vicente M. Astudillo¹; P. Augé de Mello¹

RESUMEN

En los programas de lucha contra la fiebre aftosa que realizan los países de la América del Sur se establece la obligatoriedad de vacunar a los bovinos mayores de 4 meses. Esta obligatoriedad se cumple, hasta el presente, con vacunas de hidróxido de aluminio-saponina. Como alternativa se ha propuesto la aplicación de vacunas de excipiente oleoso con las que se consigue una protección mayor y más prolongada, lo que permite un esquema de dos vacunaciones por año (una cada 6 meses) a los bovinos menores de 2 años y una sola vez por año a los que pasaron de esa edad.

En este trabajo se analizan los factores que intervienen en el proceso de vacunación a fin de determinar si el costo de la segunda alternativa justifica su adopción.

El costo total anual de vacunación antiaftosa es el producto de: número de etapas de vacunación al año, costo por bovino vacunado en una etapa y cantidad de bovinos a vacunar.

Para el cálculo del costo por bovino vacunado en una etapa se ha considerado el precio de una dosis de vacuna en el mercado, el costo operacional (de origen público y privado) asociado a la aplicación de la vacuna y la dotación bovina a ser vacunada.

Si se considera que el costo unitario de vacunación por etapa es igual para las dos alternativas, indudablemente que la vacunación con vacuna oleosa es la más viable ya que, a igualdad de costo, las vacunas oleosas ofrecen una mayor efectividad inmunitaria.

Dado que las vacunas oleosas no se encuentran aún en comercio, y por consiguiente se ignora su costo, se han considerado diferentes posibilidades

y se han determinado los valores que delimitan el intervalo de soluciones económicamente viables.

INTRODUCCION

Uno de los problemas que se ha planteado en los programas de control de la fiebre aftosa en los países de América del Sur es el alto costo de la vacunación masiva de la población bovina (1). La vacuna antiaftosa actualmente utilizada tiene como adyuvante el hidróxido de aluminio y la saponina, y su efecto de protección frente a la exposición al virus de esta enfermedad no se prolonga más allá de los 4 meses, razón por la cual los programas han establecido 3 vacunaciones obligatorias por año para todo el ganado de más de 4 meses de edad.

Existe una marcada inquietud por mejorar la eficiencia de los programas, en el sentido de disminuir sus costos.

Entre los cambios que se vislumbran a corto plazo en América del Sur dos de ellos pueden tener gran importancia. Uno de carácter metodológico, se refiere a la selección de estrategias de combate a la enfermedad de acuerdo con las características epidemiológicas de cada región (7). Esta orientación debe traer como consecuencia la consolidación de las áreas indemnes y su ampliación a expensas de avances logrados en aquellas áreas de ocurrencia ocasional en donde es bajo el riesgo de exposición de los animales al virus. La vacunación masiva como método de combate será aplicada inicialmente en estas regiones, para luego gradualmente disminuir su frecuencia e intensificar la vigilancia epidemiológica y el control de ingreso de animales desde áreas endémicas.

El otro cambio que puede ser significativo es de tipo tecnológico, e implica la utilización de una vacuna de excelente calidad, para ser aplicada en las regiones endémicas, otorgando al ganado un mayor y más prolongado nivel de

¹Centro Panamericano de Fiebre Aftosa, OPS/OMS, Caixa Postal, 20000 Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

protección, buscando reducir el esquema actual de tres vacunaciones por año.

En relación con este último aspecto, el Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (CPFA) desde hace algunos años viene desarrollando una serie de investigaciones sobre una vacuna con coadyuvante oleoso, tendiente a alcanzar el objetivo mencionado (2, 3). El problema que surge es si el costo del procedimiento justifica su adopción.

Para estudiar este problema se hace un análisis del costo y de la efectividad, como una ayuda para la toma de decisiones de una manera objetiva frente a la existencia de alternativas para la solución del problema planteado.

ALTERNATIVAS EN ESTUDIO

Las alternativas que en este trabajo se consideran son dos esquemas de vacunación contra la fiebre aftosa, aplicados a un rebaño bovino (población bovina vacunable).

Alternativa 1

Aplicación de vacuna con adyuvante de hidróxido de aluminio-saponina (VH) cada 4 meses a la población bovina mayor de cuatro meses de edad.

Alternativa 2

Aplicación de vacuna con adyuvante oleoso (VO) con diferente frecuencia anual para dos grupos etarios de la población (2, 3):

a) cada seis meses para los bovinos jóvenes (hasta 24 meses de edad). Se estima que esta franja etaria corresponde a $\alpha = 0,33$ de la población bovina;

b) una vez por año para los bovinos adultos (mayores de 24 meses de edad). Se estima que este grupo incluye a $\beta = (1 - \alpha) = 0,67$ de la población bovina.

La calificación de jóvenes y adultos, que se adopta en este trabajo, es una forma particular de codificar las dos franjas etarias y no se atiende rigurosamente a padrones fisiológicos ni zootécnicos. También se ha supuesto que las pariciones ocurren regularmente durante todo el año.

EFFECTIVIDAD

La efectividad de un procedimiento de vacuna-

ción se mide a través del grado de protección que confiere a la población bovina frente a la exposición al virus de la fiebre aftosa.

De acuerdo con los resultados de las evaluaciones de los programas de control de la fiebre aftosa de varios países de América del Sur, en una población vacunada sistemáticamente, las tasas de ataque por lo general no sobrepasan un 20% (4). Por otra parte, en pruebas de laboratorio de control de calidad de vacunas trivalentes con adyuvante de hidróxido de aluminio-saponina, hechas en el CPFA, se ha observado a los 30 días postvacunación, que el 81% (171/211) $\pm 5\%$ ² de los bovinos vacunados están protegidos al ser expuestos al virus de la fiebre aftosa (5). Por estas razones se ha considerado que el actual procedimiento de vacunación tendría una efectividad del 80%, cuando las vacunas utilizadas hubiesen resultado aprobadas en las pruebas de control de calidad.

La vacuna oleosa, cuando es sometida a pruebas de control de calidad, en las mismas condiciones en que son controladas las vacunas con hidróxido de aluminio-saponina, presenta una efectividad mayor, 94% (103/109) $\pm 4\%$ ², (6).

En estudios de campo hechos en bovinos jóvenes, vacunados con vacuna oleosa cada 6 meses, el nivel de efectividad fue de 80% $\pm 7\%$ ², en cambio, en los vacunados con vacuna hidróxido de aluminio-saponina la efectividad fue de 40% $\pm 7\%$ ². La evaluación de la efectividad en ambos casos se hizo según el procedimiento propuesto por Gomes y Astudillo (5).

Esta información ha servido de apoyo para confeccionar la alternativa 2 de vacunación antiaftosa, considerando la vacunación cada 6 meses de los bovinos de hasta 24 meses de edad con vacuna oleosa (2, 3). A partir de ese momento los bovinos pueden ser vacunados con esta vacuna una vez por año, ya que los niveles de efectividad alcanzados con este procedimiento son de 96% $\pm 1\%$ ² (3).

Por esta razón la efectividad de la alternativa 2 resulta de la ponderación de las efectividades alcanzadas con vacuna oleosa en bovinos jóvenes y adultos por las respectivas proporciones (α y β) en términos de la población bovina vacunable:

²Para un intervalo de confianza de 95%.

En los bovinos jóvenes = (0,33) (0,80) = 0,2640
 y en los adultos = (0,67) (0,96) = 0,6432
 0,9072

De ahí que la efectividad global correspondiente a la alternativa 2 sea de 91%.

MODELO DE COSTOS

Un problema que afecta en gran medida el cálculo de los costos de los dos procedimientos alternativos presentados es la no existencia aún en el mercado de una vacuna oleosa contra la fiebre aftosa. La única referencia que se tiene es la del laboratorio experimental del CPFA, que no puede ser considerada porque sus condiciones son diferentes a las de un laboratorio comercial.

De acuerdo con la información del Servicio Nacional de Salud Animal (SENACSA) del Paraguay, correspondiente a la tercera etapa de vacunación de 1976, el costo unitario de un bovino vacunado con vacuna hidróxido de aluminio-saponina (CUVH) alcanzaba a EUA\$0,29 (8). Aplicando la metodología y los coeficientes presentados por Astudillo *et al.* (1), de ese valor, EUA\$0,16 corresponden al costo de una dosis en el mercado (CMVH), y los EUA\$0,13 restantes corresponden a los distintos insumos fijos, variables, directos o indirectos que se consideran en el costo de operación (CIV).

El costo total anual de cada alternativa de vacunación (CTV) antiaftosa de un rebaño, se define como el producto entre: a) el número de etapas de vacunación anual (NV); b) el costo unitario de vacunación (CUV) y c) la población bovina vacunable (BV).

Por tanto,

$$CTV = (NV) (CUV) (BV) \quad (i)$$

En el caso de la alternativa 1 se obtiene:

$$CTVH = (3) (CUVH) (BV) \quad (ii)$$

En el caso de la alternativa 2 se obtiene:

$$\begin{aligned} CTVO &= (CUVO) \{ (2) (\alpha) (BV) + 1 (\beta) (BV) \} \\ &= (CUVO) \{ (2) (\alpha) (BV) + \\ &\quad [(1) (BV) - (\alpha) (BV)] \} \\ &= (CUVO) (BV) (1 + \alpha) \quad (iii) \end{aligned}$$

El CTVH varía en función del tamaño de la población bovina (BV). El CTVO varía de acuerdo con cambios en la dotación bovina a vacunar

(BV) y también en la proporción de animales jóvenes (α). En este último caso si $\alpha \rightarrow 0$ el CTVO disminuye, y si $\alpha \rightarrow 1$ el CTVO aumenta.

ANÁLISIS DEL PROBLEMA

En este capítulo se trata de desarrollar el estudio de las relaciones entre los componentes de ambas alternativas. De esta manera será posible conocer las condiciones en que el nuevo procedimiento es técnica y económicamente viable y así tornar objetiva la toma de decisiones.

1. Análisis sin considerar diferencias de efectividad entre las vacunas

El costo unitario de vacunación (CUV) se refiere a la unidad bovino para cada etapa de vacunación antiaftosa dentro del año.

Si $CUVH = CUVO$ entonces $CTVH > CTVO$, simplemente por el menor número de vacunaciones realizadas. Sin embargo, no se conoce la veracidad de la sentencia $CUVH = CUVO$, particularmente porque no se tiene información sobre el costo de la vacuna antiaftosa de excipiente oleoso en mercado (CMVO). Se debe tener en cuenta que:

$$CUVO = CMVO + CIV \quad (iv)$$

$$\text{como también } CUVH = CMVH + CIV \quad (v)$$

donde CMV = costo de la vacuna en mercado,

CIV = costo operacional para la aplicación

A partir de las estadísticas oficiales del SENACSA del Paraguay (8), se sabe que para la tercera etapa de vacunación de 1976 en dicho país, el CUVH alcanzaba a EUA\$0,29, en cambio acerca del CUVO no se cuenta con ninguna información. Para estudiar las relaciones entre CUVO y CUVH es necesario plantear una hipótesis de referencia, que en este caso es dada por la siguiente igualdad:

$$CTVH = CTVO \quad (vi)$$

que permite asumir la identidad de los costos totales anuales de los procedimientos.

Haciendo substitutiones en ambos miembros de esta igualdad, de acuerdo con las ecuaciones (ii) y (iii), se obtiene

$$(3) (CUVH) (BV) = (CUVO) (BV) (1 + \alpha)$$

$$\frac{CUVO}{CUVH} = \frac{3}{(1 + \alpha)} \quad (vii)$$

Como la proporción de animales jóvenes (α) de una población bovina que debe ser vacunada puede fluctuar en el intervalo

$$0 \leq \alpha \leq 1 \quad (\text{viii})$$

dado que $\alpha + (1 - \alpha) = \alpha + \beta = 1$

entonces, la relación entre los costos unitarios de vacunación de ambos procedimientos (CUVO/CUVH) puede variar en el intervalo

$$1,5 \leq \frac{\text{CUVO}}{\text{CUVH}} \leq 3,0 \quad (\text{ix})$$

De ahí que se puede afirmar que el costo unitario de vacunación con la nueva alternativa, si $\text{CTVH} = \text{CTVO}$, es mayor que el costo unitario de vacunación con el procedimiento actualmente en uso entre 1,5 y 3,0 veces. Consecuentemente, si $\text{CUVH} = \text{CUVO}$, el costo total anual de vacunación con la alternativa que incluye la vacuna hidróxido-saponinada es 1,5 a 3,0 veces el costo total anual de vacunación con el procedimiento que preconiza la vacuna oleosa.

Haciendo substitutiones en la ecuación (ix) considerando las relaciones establecidas en las ecuaciones (iv) y (v), se tiene

$$1,5 \leq \frac{\text{CMVO} + \text{CIV}}{\text{CMVH} + \text{CIV}} \leq 3,0$$

lo que permite aislar CMVO, el costo que tendría la vacuna oleosa en el mercado para ser adquirida por los ganaderos. Para realizar esta operación se asume que los costos de operación, expresados en forma unitaria (CIV), no varían de un procedimiento a otro. Por lo tanto

$$\begin{aligned} [1,5(\text{CMVH} + \text{CIV}) - \text{CIV}] &\leq \\ \frac{\text{CMVO} + \text{CIV}}{\text{CMVH} + \text{CIV}} (\text{CMVH} + \text{CIV}) - \text{CIV} &\leq \\ [3,0(\text{CMVH} + \text{CIV}) - \text{CIV}] &\quad (\text{x}) \end{aligned}$$

Tomando los datos de vacunación antiaftosa de Paraguay en 1976 (8), si los costos de operación asumieran el valor estimado EUA\$0,13, se obtendría

$$\begin{aligned} [(1,5)(\text{CMVH}) + \text{EUA\$0,07}] &\leq \text{CMVO} \leq \\ [(3,0)(\text{CMVH}) + \text{EUA\$0,26}] &\quad (\text{x}) \end{aligned}$$

dentro del cual debería fluctuar el costo unitario de la vacuna oleosa en el mercado (o sea, el precio de una dosis). Al tomar el costo unitario de la vacuna hidróxido-saponinada en Paraguay en 1976, estimada en EUA\$0,16 (8), la ecuación (x) define el siguiente intervalo para el costo unitario en el mercado de la vacuna oleosa

$$\text{EUA\$0,31} \leq \text{CMVO} \leq \text{EUA\$0,74} \quad (\text{xi})$$

Otra vía para alcanzar este resultado es considerar el costo unitario de vacunación para la alternativa que incluye vacuna hidróxido-saponinada (CUVH). De acuerdo con (8), el valor alcanzado era EUA\$0,29 por bovino vacunado en una etapa y teniendo en cuenta las relaciones establecidas en las ecuaciones (iv), (v) y (ix), el costo unitario de vacunación por el nuevo procedimiento podría llegar al valor límite superior de EUA\$0,87. Si a este valor CUVO se le descuenta $\text{CIV} = \text{EUA\$0,13}$ entonces CMVO podría llegar a EUA\$0,74 para una situación límite.

Si establecemos una relación entre los valores estimados para CMVO, bajo las hipótesis indicadas, resulta que el costo en el mercado de una dosis de vacuna oleosa, con respecto al costo de la misma unidad de la vacuna actualmente utilizada, podría fluctuar en el intervalo

$$1,9 \text{ veces} \leq \frac{\text{CMVO}}{\text{CMVH}} \leq 4,6 \text{ veces} \quad (\text{xii})$$

Dentro de las hipótesis bajo las cuales se han elaborado estos resultados debe renovarse la atención para con aquella que establece la identidad $\text{CTVH} = \text{CTVO}$. Como se puede observar a partir de estos resultados el nuevo procedimiento de vacunación antiaftosa, juzgado en este caso independientemente de un nivel determinado de efectividad de la vacuna, es económicamente viable desde que implica un menor número de aplicaciones en el ganado. A partir de esta situación se deriva que la dosis de vacuna oleosa en el mercado podría tener un costo entre 1,9 y 4,6 veces el valor correspondiente a una unidad de vacuna con hidróxido de aluminio y saponina.

Estos resultados y conclusiones deben ser analizados tomando en cuenta las condiciones que han sido consideradas en forma explícita o implícita, como ser la no referencia a niveles específicos de efectividad de las vacunas, ni tampoco a diferencias de efectividad entre ambos procedimientos. Sin embargo, está implícito que son vacunas de buena calidad y consecuentemente que tales vacunas serían aprobadas en cualquier prueba de control de efectividad.

Queda claro, en las relaciones presentadas, que aplicando el nuevo procedimiento los costos

totales anuales de vacunación serán más altos en áreas donde la proporción de animales jóvenes (α) sea alta como ocurre en regiones de cría y recría.

2. Análisis teniendo en cuenta una mayor efectividad de la vacuna oleosa

Es del mayor interés que en el estudio de la viabilidad del procedimiento que incluye vacuna oleosa, se considere la mayor persistencia de niveles de protección poblacional, lo que significa una menor frecuencia de vacunaciones al año a que es sometido el ganado. También debe ser considerada en forma explícita la mayor efectividad protectora de la población bovina en un momento dado, comparada con la alternativa tradicional. La relación entre el costo de vacunación y el nivel de efectividad inmunitaria de los procedimientos aquí analizados se hace a través del parámetro costo unitario de protección anual (CUP), indicador que refleja lo que cuesta mantener un bovino protegido frente a la fiebre aftosa, durante un año.

En la alternativa 1 se toma la efectividad cuando se aplica vacuna con hidróxido de aluminio- saponina, que es aproximadamente igual a 0,80 de acuerdo con Gomes y Astudillo (5). Teniendo en cuenta esta información es posible calcular el costo unitario de protección respectivo (CUPH), para lo cual se presenta la ecuación siguiente:

$$CUPH = CTVH/(0,8) (BV) \tag{xiii}$$

Haciendo substituciones en (xiii) a partir de la ecuación (ii):

$$CUPH = \frac{(3) (CUVH) (BV)}{(0,8) (BV)} = 3,75 CUVH \tag{xiv}$$

Para la alternativa 2 que aplica vacuna oleosa, la efectividad inmunitaria es igual a 0,91 de acuerdo con la ponderación hecha en la primera parte de este trabajo. El costo unitario de protección para este procedimiento (CUPO) es definido así:

$$CUPO = CTVO/0,91 BV \tag{xv}$$

Haciendo la correspondiente substitución en (xv) a partir de la ecuación (iii):

$$CUPO = \frac{(1 + \alpha) (CUVO) (BV)}{(0,91) (BV)} =$$

$$\frac{(1 + \alpha)}{0,91} CUVO \tag{xvi}$$

dada la información de la ecuación (viii) entonces:

$$(1,1)(CUVO) \leq CUPO \leq (2,2) CUVO \tag{xvii}$$

Resolviendo la ecuación (xiv) a partir de la información dada por SENACSA (8) de que CUVH = EUA\$0,29, se tiene

$$CUPH = EUA\$1,09 \tag{xviii}$$

Un problema a resolver es definir el intervalo de variación de CUPO, definiendo CUVO, lo que directamente no es posible por desconocimiento de CMVO, ya que hasta el momento no existen en el mercado sudamericano vacunas antiaftosas con adyuvante oleoso. Ya que esto no es posible, se puede considerar la hipótesis CUVO = CUVH y de esta manera estudiar la conducta de CUPO en relación a CUPH cuyo valor ya ha sido definido en (xviii).

Bajo la hipótesis CUVO = CUVH y siguiendo la ecuación (xvii):

$$\frac{(1,1) (CUVO)}{(3,75)(CUVH)} \leq \frac{CUPO}{CUPH} \leq \frac{(2,2) (CUVO)}{(3,75)(CUVH)}$$

$$0,29 \leq \frac{CUPO}{CUPH} \leq 0,59$$

$$(0,29) (CUPH) \leq CUPO \leq (0,59) (CUPH) \tag{xix}$$

Este resultado permite afirmar que si el costo unitario de vacunación por etapa fuese igual para ambos procedimientos, el costo unitario anual de protección para la alternativa que preconiza la vacuna oleosa (CUPO) es entre 41% y 71% más bajo que el CUPH.

Haciendo la substitución necesaria en la ecuación (xix) se tiene

$$EUA\$0,32 \leq CUPO \leq EUA\$0,64 \tag{xx}$$

que representa el intervalo de valores dentro del cual podría fluctuar el costo unitario anual de protección en bovinos para la alternativa 2, desde que los supuestos establecidos sean llevados en consideración.

De igual forma como fue abordado el problema en el título "a", se debe analizar la situación que ocurre cuando se asume que CUPO = CUPH. Bajo tal hipótesis

$$(3,75) (CUVH) = \frac{(1 + \alpha)}{0,91} CUVO \tag{xxi}$$

por substituciones en la igualdad a partir de las ecuaciones (xiv) y (xvi).

Haciendo operaciones se tiene

$$\frac{CUVO}{CUVH} = \frac{3,41}{(1 + \alpha)} \quad (\text{xxii})$$

dado que $0 \leq \alpha \leq 1$, entonces la razón CUVO/CUVH puede fluctuar en el siguiente intervalo

$$1,71 \leq \frac{CUVO}{CUVH} \leq 3,41 \quad (\text{xxiii})$$

y haciendo operaciones similares a las hechas en el título anterior es posible aislar CMVO y definir su intervalo de variación

$$\begin{aligned} [(1,71)(CMVH) + (0,71)(CIV)] &\leq CMVO \leq \\ [(3,41)(CMVH) + (2,41)(CIV)] &\quad (\text{xxiv}) \end{aligned}$$

que expresa, en forma general, el intervalo en el cual debería fluctuar el costo unitario de la vacuna oleosa en el mercado (CMVO), ahora teniendo en cuenta el hecho de que la efectividad de ambos procedimientos no es la misma, siendo mayor la correspondiente a la alternativa que utiliza la vacuna oleosa.

Tomando los datos de Paraguay (8) y haciendo substitutiones en la ecuación (xxiv), se tiene:

$$\text{EUA\$}0,37 \leq CMVO \leq \text{EUA\$}0,86 \quad (\text{xxv})$$

Se puede apreciar que el valor de los límites del intervalo donde podría caer el costo de una dosis de vacuna oleosa en el mercado, por efecto de considerar la mayor efectividad de esta vacuna, ha aumentado en aproximadamente 18% con respecto al que resultaba cuando no era considerada una diferencia de efectividad inmunitaria entre ambos procedimientos (ecuación xi).

Por otra parte, si se relaciona este intervalo de costos unitarios de la vacuna oleosa en mercado con la situación conocida del costo de una dosis de vacuna hidróxido-saponinada en el mercado (8), ocurre lo siguiente:

$$2,3 \text{ veces} \leq \frac{CMVO}{CMVH} \leq 5,4 \text{ veces} \quad (\text{xxvi})$$

donde esta afirmación solo es verificable si se cumple el supuesto CUPH = CUPO, considerando una mayor efectividad para la vacuna oleosa (0,91 contra 0,80) y si se utilizan los costos estimados para la vacunación antiaftosa en 1976 en Paraguay (8).

CONCLUSIONES

El costo total anual de vacunación antiaftosa

para la alternativa 1, con vacuna de hidróxido de aluminio-saponina depende de la cantidad de animales a vacunar y del costo que tiene vacunar un bovino en una etapa. El mismo tipo de costo para la alternativa 2, que incluye vacuna oleosa, es función del número de bovinos a ser vacunados, del costo de vacunar un bovino en una etapa y de la proporción de animales jóvenes existentes en la población. El costo unitario de vacunación en una etapa depende del costo de una dosis de vacuna en el mercado y del costo operacional de aplicación.

Este último costo, expresado en forma unitaria, es idéntico para ambos procedimientos. Al no existir aún en el mercado vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso, para estudiar las relaciones de costos es necesario tomar como referencia la vacunación con la alternativa 1. Asumiendo que $CUVH = CUVO$, se subentiende que $CTVH > CTVO$, por lo que el nuevo procedimiento resulta económicamente viable ya que aunque toda la población a vacunar fuese joven (α), el costo total por año de vacunación sería un tercio menor que el que se alcanzaría con el procedimiento actualmente vigente. Por otro lado, si se asume que $CTVH = CTVO$, no considerando diferencias de efectividad entre ambos procedimientos, entonces el esquema de vacunación con vacuna oleosa es económicamente viable dentro de un intervalo que tiene como límite $CMVO = 4,6 CMVH$. A estos resultados es posible llegar aplicando la metodología de costos propuesta por Astudillo *et al.* (1) y utilizando las informaciones sobre costos de vacunación de Paraguay en 1976 (8).

La efectividad inmunitaria de la alternativa con vacuna oleosa es de 0,91 contra 0,80 del procedimiento con vacuna hidróxido-saponinada. Considerando esta diferencia de efectividad el estudio de los costos se debe referir al costo anual de protección de un bovino frente a la fiebre aftosa (CUP). Si se asume que $CUVO = CUVH$ entonces el CUPO llega a ser siempre más bajo que CUPH. Por otra parte si se supone que los costos anuales de protección de un bovino por ambas alternativas son iguales ($CUPO = CUPH$), entonces el nuevo esquema de vacunación antiaftosa es económicamente viable en el intervalo de CUV que tiene como límite $CUVO = 3,41 CUVH$. Si el estudio es referido al costo unitario de una dosis

de vacuna oleosa en el mercado de consumo, la viabilidad existe hasta el punto en que CMVO = 5,4 CMVH, aplicando los datos de Paraguay (8) y la metodología propuesta en un trabajo anterior (1).

REFERENCIAS

1. ASTUDILLO, V.M.; GAUTO, M.T. de; WANDERLEY, M.; CABALLERO, B. Costo de la vacunación antiaftosa en Paraguay. (The cost of foot-and-mouth disease vaccination in Paraguay). *Bltm Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 23-24: 17-24, 1976.
2. AUGÉ DE MELLO, P.; ASTUDILLO, V.M.; GOMES, I.; CAMPOS GARCIA, J.T. Aplicación en el campo de vacuna antiaftosa oleosa e inactivada: vacunación y revacunación de bovinos jóvenes. (Field application of inactivated oil adjuvanted foot-and-mouth disease virus vaccine: vaccination and revaccination of young cattle). *Bltm Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 19-20: 31-38, 39-47, 1975.
3. AUGÉ DE MELLO, P.; ASTUDILLO, V.M.; 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). *Bltm Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 26: 23-25, 27-29, 1977.
4. COORDENAÇÃO DO COMBATE À FEBRE AFTOSA. MINISTÉRIO AGRICULTURA. BRASIL. II Avaliação do Plano Nacional de Combate à Febre Aftosa-PNCFA, 1971-76. Edif. Embaixador, SCS, Brasília, DF.
5. GOMES, I.; ASTUDILLO, V.M. Foot-and-mouth disease: evaluation of mouse protection test results in relation to cattle immunity. *Bltm Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 17-18: 9-16, 1975.
6. PAN-AMERICAN FOOT-AND-MOUTH DISEASE CENTER. PAHO/WHO. Unpublished data on protection against IDL challenge conferred by oil vaccines.
7. ROSENBERG, F.; ASTUDILLO, V.M.; GOIĆ, R. Regional strategies for the foot-and-mouth disease: an ecological outlook. In Proceedings of the Second International Symposium, Canberra, Australia, 7-11 May 1979.
8. SERVICIO NACIONAL DE SALUD ANIMAL (SENACSA). PARAGUAY. Información estadística relacionada con el programa de fiebre aftosa. 3er. cuatrimestre, 1976. Casilla 1110, Asunción.

COST AND EFFECTIVENESS ANALYSIS OF TWO FOOT-AND-MOUTH DISEASE VACCINATION PROCEDURES

Vicente M. Astudillo¹; P. Augé de Mello¹

SUMMARY

The foot-and-mouth disease (FMD) control programs so far implemented by the South American countries have established mandatory vaccination of cattle over four months of age. Such mandatory vaccination has to date been accomplished with aluminum hydroxide-saponin vaccines. Application of oil-adjuvanted vaccines has been proposed as an alternative offering longer and greater protection and permitting semi-annual vaccination (each 6 months) of cattle under two years and annual vaccination of older animals.

This study analyzes the factors bearing on the vaccination process in order to determine whether the cost of the second alternative justifies its adoption and utilization.

The total annual cost of FMD vaccination is the result of the number of vaccination stages per year, the cost per cattle vaccinated at a stage and the number of bovines to be vaccinated.

The following factors are taken into consideration in calculating the cost per bovine vaccinated at a stage: the market price of a dose of vaccine, the operational cost (both public and private sources) associated with the vaccine application, and the number of cattle to be vaccinated.

If the unit cost of vaccination per stage is considered the same for the two alternatives, then the oil-adjuvanted vaccine vaccination is undoubtedly the more feasible since, at equal cost, the oil-adjuvanted vaccines impart greater immune effectiveness.

Because oil-adjuvanted vaccines are not yet commercially available and their costs therefore unknown, different possibilities have been con-

sidered and values determined that profile the range of economically feasible solutions.

INTRODUCTION

One of the problems faced by the foot-and-mouth disease (FMD) control programs implemented in South American countries is the high cost of massive vaccination of cattle population (1). The FMD vaccine currently utilized relies on aluminum-hydroxide and saponin adjuvants; its protective effect to exposure to FMD virus lasts for a maximum of four months. The FMD control programs have therefore determined that all cattle older than four months should be necessarily vaccinated three times a year.

There is a marked concern to improve the programs' efficiency, thereby reducing their costs.

Two of the short-term changes envisioned in South America could assume considerable importance. The first, which is methodological in character, proposes the selection of disease control strategies according to the epidemiological characteristics of each region (7). A consequence of this approach would be the consolidation of the disease-free areas and their expansion at the expense of advances achieved in those occasional-occurrence areas where the risks of livestock being exposed to the virus is low. Massive vaccination as a method of controlling FMD will be initially applied in these regions. Subsequently, vaccination frequency will be gradually reduced while epidemiological surveillance and control of animals coming in from endemic areas will be intensified.

The other possibly significant change is technological in nature and aims to reduce the present scheme of three vaccinations per year. It involves the use of excellent quality vaccine to be applied in the endemic regions to provide livestock with

¹Pan American Foot-and-Mouth Disease Center, PAHO/WHO, Caixa Postal 589, 20000 Rio de Janeiro-RJ, Brazil.

a higher level of protection for a longer period of time.

With respect to this latter aspect, the Pan American Foot-and-Mouth Disease Center (PAFMDC) has in recent years developed a series of studies on an oil-coadjuvanted vaccine seeking to achieve the objective mentioned (2, 3). The problem faced is the question of whether the cost of the procedure can justify its utilization.

Analysis and assessment of this problem focus on cost and effectiveness as a means of objective decision-making when confronted with alternatives for solving the problem presented.

ALTERNATIVES UNDER STUDY

The alternatives considered in this study are two FMD vaccination schemes applied to a bovine herd (cattle population).

Alternative 1

Application of a vaccine having an aluminum-hydroxide saponin adjuvant (HV), every four months to the cattle population older than four months.

Alternative 2

Application of oil-adjuvanted vaccine (OV) with differing annual frequencies for two age groups of the cattle population (2, 3):

a) every six months for the **young** cattle (up to 24 months of age). It is estimated that this age bracket corresponds to $\alpha = 0.33$ of cattle population;

b) once a year for the **adult** cattle (older than 24 months). This group is estimated to encompass $\beta = (1 - \alpha) = 0.67$ of cattle population.

The division of young and adult animals used in this study represents a particular approach to coding the two age brackets and does not adhere strictly to physiological standards or animal husbandry practices. It is also assumed that calving occurs regularly during the entire year.

EFFECTIVENESS

The effectiveness of a vaccination procedure is measured in terms of the degree of protection

that is conferred on the cattle population when exposed to FMD virus.

Evaluations of FMD control programs in various South American countries have shown that attack rates in a systematically vaccinated population generally do not exceed 20% (4). Moreover, laboratory tests involving quality control of aluminum-hydroxide saponin adjuvanted trivalent vaccines, conducted at the PAFMDC, have yielded an 81% (171/211) $\pm 5\%$ ² protection rate in vaccinated cattle exposed to FMD virus at 30-day post vaccination (5). It has therefore been considered that the present vaccination procedure would attain 80% effectiveness when vaccines approved in quality control testing are utilized.

When submitted to quality-control tests in the same control conditions as the aluminum-hydroxide saponin vaccines, the oil-adjuvanted vaccine provides greater effectiveness: 94% (103/109) $\pm 4\%$ ² (6).

Field studies involving young cattle vaccinated with oil-adjuvanted vaccine every 6 months disclosed an effectiveness level of 80% $\pm 7\%$ ², whereas an effectiveness of 40% $\pm 7\%$ ² was noted in cattle vaccinated with aluminum-hydroxide saponin vaccine. In both cases, the effectiveness was assessed according to the procedure proposed by Gomes and Astudillo (5).

This information has served as basis for the preparation of FMD vaccination alternative 2, which contemplates vaccinating cattle up to 24 months of age with oil-adjuvanted vaccine at 6-month intervals (2, 3). From then on the livestock can be vaccinated with this vaccine once a year, since the effectiveness levels achieved with this procedure are 96% $\pm 1\%$ ² (3).

Thus the effectiveness of alternative 2 is the result of considering the effectiveness achieved with oil-adjuvanted vaccine in young and adult cattle through the respective proportions (α and β) in terms of the vaccinatable cattle population:

²95% confidence interval.

$$\begin{aligned} \text{In young cattle} &= (0.33) (0.80) = 0.2640 \\ \text{and in adult cattle} &= (0.67) (0.96) = \frac{0.6432}{0.9072} \end{aligned}$$

The overall effectiveness corresponding to alternative 2 is therefore 91%.

COST MODEL

One problem that appreciably affects the calculation of the costs of the two alternative procedures under discussion is the fact that no oil-adjuvanted FMD vaccine is yet available on the market. Vaccines produced at the PAFMDC experimental laboratory are presently the only cost reference, but cannot be considered because the laboratory's conditions differ from those of a commercial laboratory.

According to information provided by Paraguay's National Animal Health Service (SENACSA) for the third stage of vaccination in 1976, the unit cost of vaccinating a bovine with aluminum-hydroxide saponin vaccine (UCHV) reached US\$0.29 (8). When the method and coefficients proposed by Astudillo *et al.* (1) are applied to the total amount, US\$0.16 corresponds to the market cost of a vaccine dose (MCHV) and the remaining US\$0.13 correspond to the different fixed, variable, direct or indirect inputs considered in the operating cost (CVI).

The annual total cost of each FMD vaccination alternative (TCV) for a herd is defined as the product of: (a) the number of annual vaccination stages (NV); (b) the unit cost of vaccination (UCV); (c) the vaccinatable bovine population (VB).

Therefore:

$$TCV = (NV) (UCV) (VB) \quad (i)$$

In the case of alternative 1, this yields:

$$TCHV = (3) (UCHV) (VB) \quad (ii)$$

In the case of alternative 2, this yields:

$$\begin{aligned} TCOV &= (UCOV) \{ (2) (\alpha) (VB) + 1 (\beta) (VB) \} \\ &= (UCOV) \{ (2) (\alpha) (VB) + \\ &\quad [(1) (VB) - (\alpha) (VB)] \} \\ &= (UCOV) (VB) (1 + \alpha) \quad (iii) \end{aligned}$$

The TCHV varies as a function of the size of the bovine population (VB). The TCOV varies according to changes in the number of bovines to be vaccinated (VB) and also in the proportion

of young animals (α). In the latter case, if $\alpha \rightarrow 0$ the TCOV declines; if $\alpha \rightarrow 1$, the TCOV increases.

ANALYSIS OF THE PROBLEM

This section focuses on developing the study of the relationships among the components of both alternatives. Thus the conditions in which the new procedure is technically and economically feasible become apparent and enable objective decisions to be made.

1. Analysis without considering differences of effectiveness between the vaccines

The unit cost of vaccination (UCV) refers to the bovine unit for each stage of FMD vaccination during the year.

If $UCHV = UCOV$ then $TCHV > TCOV$, simply due to the lower number of vaccinations applied. However, the veracity of $UCHV = UCOV$ is unknown, especially because information on the market cost of the oil-adjuvanted FMD vaccine (MCOV) is unavailable. It should be remembered that:

$$UCOV = MCOV + CVI \quad (iv)$$

$$\text{and likewise } UCHV = MCHV + CVI \quad (v)$$

where MCV = cost of the vaccine on the market
CVI = operating cost for application.

Based on the official statistics provided by the SENACSA (8), the UCHV for that country's third stage of vaccination in 1976 reached US\$0.29; on the other hand, no data is available on the UCOV. In order to study the relationships between UCOV and UCHV, a reference assumption must be stated. In this case it is given by the following equation:

$$TCHV = TCOV \quad (vi)$$

which enables the identity of the procedures' total annual costs to be assumed.

By making substitutions on both sides of the equation according to equations (ii) and (iii), we get

$$(3) (UCHV) (VB) = (UCOV) (VB) (1 + \alpha)$$

$$\frac{UCOV}{UCHV} = \frac{3}{1 + \alpha} \quad (vii)$$

Because the proportion of young animals (α) in a cattle population to be vaccinated may fluctuate within the range

$$0 \leq \alpha \leq 1 \quad (viii)$$

given $\alpha + (1 - \alpha) = \alpha + \beta = 1$
 then the relation between the two procedures' unit costs of vaccination (UCOV/UCHV) may vary as follows:

$$1.5 \leq \frac{\text{UCOV}}{\text{UCHV}} \leq 3.0 \quad (\text{ix})$$

It can therefore be stated that if TCHV = TCOV, the unit cost of vaccination with the new alternative is from 1.5 to 3.0 times higher than the unit cost of vaccination using the present procedure. Consequently, if UCHV = UCOV, the total annual cost of vaccination with the hydroxide-saponin vaccine alternative is from 1.5 to 3.0 times the total annual cost of vaccination using the procedure proposing oil-adjuvanted vaccine.

If the relationships established in equations (iv) and (v) are substituted into equation (ix), we get

$$1.5 \leq \frac{\text{MCOV} + \text{CVI}}{\text{MCHV} + \text{CVI}} \leq 3.0$$

which enables us to isolate MCOV, the price that oil-adjuvanted vaccine would have on the market for purchase by farmers. In order to carry out this operation it is assumed that the operating costs, which are expressed in units (CVI), do not vary from one procedure to another. Therefore

$$\begin{aligned} [1.5(\text{MCHV} + \text{CVI}) - \text{CVI}] &\leq \\ \left[\frac{\text{MCOV} + \text{CVI}}{\text{MCHV} + \text{CVI}} (\text{MCHV} + \text{CVI}) - \text{CVI} \right] &\leq \\ [3.0(\text{MCHV} + \text{CVI}) - \text{CVI}] &\leq \end{aligned} \quad (\text{x})$$

Taking the Paraguayan FMD vaccination data for 1976 (8), if the operating costs assumed the estimated value of US\$0.13, it will be obtained

$$[(1.5)(\text{MCHV}) + \text{US\$0.07}] \leq \text{MCOV} <$$

$[(3.0)(\text{MCHV}) + \text{US\$0.26}]$, the range within which the unit cost of the oil-adjuvanted vaccine should fluctuate on the market (that is, the price of a dose). On taking the unit cost of the hydroxide-saponin vaccine in 1976 in Paraguay, estimated at US\$0.16 (8), equation (x) defines the following range for the market unit cost of oil-adjuvanted vaccine

$$\text{US\$0.31} < \text{MCOV} < \text{US\$0.74} \quad (\text{xi})$$

Another way of reaching this result is to consider the unit cost of vaccination for the

alternative that uses UCHV (hydroxide-saponin vaccine). According to (8), the value attained was US\$0.29 per bovine vaccinated at a stage. Keeping in mind the relations established in equations (iv), (v) and (ix), the unit cost of vaccination using the new procedure could reach the upper limit of US\$0.87. If CVI = US\$0.13 is deducted from this UCOV value, then the upper limit of MCOV should be US\$0.74.

If we establish a relationship between the values estimated for MCOV under the assumptions indicated, then the market cost of a dose of oil-adjuvanted vaccine—in relation to the cost of the same unit of presently utilized vaccine—could fluctuate over the following range:

$$1.9 \text{ times} \leq \frac{\text{MCOV}}{\text{MCHV}} \leq 4.6 \text{ times} \quad (\text{xii})$$

Among the assumptions within which these results have been prepared, attention should again turn to the assumption which establishes that TCHV = TCOV. As these results indicate, the new FMD vaccination procedure—in this case judged independently of a given vaccine effectiveness level—is economically feasible because it requires a lesser number of vaccinations per animal. It can therefore be inferred that the oil-adjuvanted vaccine could have a per-dose market cost ranging from 1.9 to 4.6 times the cost of a unit of aluminum-hydroxide saponin vaccine.

Assessment of these results and conclusions must bear in mind the conditions that have been explicitly or implicitly considered, i.e., reference neither to specific levels of vaccine effectiveness, nor to differences of effectiveness between the two procedures. Nevertheless, it is implicit that both vaccines are of good quality and would consequently be approved in any effectiveness control test.

It is clear in the foregoing relationships that application of the new procedure will make the total annual costs of vaccination higher in areas where the proportion of young animals (α) is high, such as in breeding and raising regions.

2. Analysis considering greater effectiveness with oil-adjuvanted vaccine

It is of major interest that the feasibility study of the oil-adjuvanted vaccine procedure consider

the longer duration of populational protection levels, resulting in a lesser frequency of vaccinations administered to the cattle per year. Explicit consideration should also be given to the cattle population's greater protective effectiveness at a given moment, compared with the traditional alternative. The relationship between the cost of vaccination and the immune effectiveness level of the procedures analyzed herein is determined through the unit cost of annual protection parameter (UCP), an indicator that reflects how much it costs to keep one bovine protected against FMD for one year.

According to Gomes and Astudillo (5), effectiveness in alternative 1 is taken as approximately 0.80 when aluminum-hydroxide saponin vaccine is applied. Based on this information, the respective unit cost of protection (UCHP) can be calculated through the following equation:

$$UCHP = TCHV / (0.8) (VB) \quad (xiii)$$

With equation (ii) used for the following substitutions in equation (xiii):

$$UCHP = \frac{(3) (UCHV) (VB)}{(0.8) (VB)} = 3.75 UCHV \quad (xiv)$$

According to the calculation made in the first part of this work, 0.91 is the immune effectiveness for alternative 2 which applies oil-adjuvanted vaccine. The unit cost of protection for this procedure (UCOP) is defined as:

$$UCOP = TCOV / 0.91 VB \quad (xv)$$

By making the corresponding substitution in (xv) based on equation (iii):

$$UCOP = \frac{(1 + \alpha) (UCOV) (VB)}{(0.91) (VB)} = \frac{(1 + \alpha)}{0.91} UCOV \quad (xvi)$$

given the information in equation (viii), then:

$$(1.1)(UCOV) \leq UCOP \leq (2.2) UCOV \quad (xvii)$$

Resolving equation (xiv) from the information given by SENACSA (8), according to which UCHV = US\$0.29, yields:

$$UCHP = US\$1.09 \quad (xviii)$$

One problem to resolve is to define the range of variation of UCOP by defining UCOV. But this is not directly possible because MCOV is unknown, due to the present unavailability of oil-adjuvanted FMD vaccines on the South American

vaccine market. Because this is not possible, the assumption UCOV = UCHV may be considered; the behavior of UCOP can therefore be assessed in relation to UCHP, whose value was defined in (xviii).

Under the assumption that UCOV = UCHV, and following through with equation (xvii):

$$\frac{(1.1) (UCOV)}{(3.75)(UCHV)} \leq \frac{UCOP}{UCHP} \leq \frac{(2.2) (UCOV)}{(3.75)(UCHV)}$$

$$0.29 \leq \frac{UCOP}{UCHP} \leq 0.59$$

$$(0.29) (UCHP) \leq UCOP \leq (0.59) (UCHP) \quad (xix)$$

This result leads to the statement that if the unit cost of vaccination per stage were equal for both the procedures, the annual unit cost of protection for the alternative proposing oil-adjuvanted vaccine (UCOP) would be from 41% to 71% lower than the UCHP.

The required substitution in equation (xix) yields

$$US\$0.32 \leq UCOP \leq US\$0.64 \quad (xx)$$

which represents the value range within which the annual cost of protection for bovines under alternative 2 could fluctuate provided the established suppositions are taken into consideration.

The situation occurring when it is assumed that UCOP = UCHP should be analyzed using the same approach as applied to the problem in section "a". Thus

$$(3.75) (UCHV) = \frac{(1 + \alpha)}{0.91} UCOV \quad (xxi)$$

through substitutions in the equation based on equations (xiv) and (xvi).

The equation can then be worked out to yield:

$$\frac{UCOV}{UCHV} = \frac{3.41}{(1 + \alpha)} \quad (xxii)$$

with $0 \leq \alpha \leq 1$, then the UCOV/UCHV ratio can range as follows:

$$1.71 \leq \frac{UCOV}{UCHV} \leq 3.41 \quad (xxiii)$$

through operations similar to those made in the preceding section, MCOV can be isolated and its range of variation defined as follows:

$$\frac{[(1.71)(MCHV) + (0.71)(CVI)]}{[(3.41)(MCHV) + (2.41)(CVI)]} \leq MCOV \leq \quad (xxiv)$$

in a general way, this expresses the range of variation of the unit cost of the oil-adjuvanted vaccine on the market (MCOV), and now takes into account the fact that the two procedures' effectiveness is not the same, the greater one being that which corresponds to the alternative utilizing oil-adjuvanted vaccine.

By using the Paraguayan data (8) and making the substitutions required in equation (xxiv), we get:

$$US\$0.37 \leq MCOV \leq US\$0.86 \quad (xxv)$$

It can be observed that the market-cost range of a dose of oil-adjuvanted vaccine, when this vaccine's greater effectiveness is considered, has increased by approximately 18% as compared to the limits ascertained when a difference of immune effectiveness between the two procedures was disregarded (equation xi).

Moreover, if this unit-cost range of oil-adjuvanted vaccine on the market is related to the situation of the known market cost of a dose of hydroxide saponin vaccine (8), the following occurs:

$$2.3 \text{ times} \leq \frac{MCOV}{MCHV} \leq 5.4 \text{ times} \quad (xxvi)$$

which makes this statement verifiable only if the supposition UCHP = UCOP is fulfilled, considering greater effectiveness for oil-adjuvanted vaccine (0.91 versus 0.80) and using the costs estimated for the 1976 FMD vaccinations in Paraguay (8).

CONCLUSIONS

The annual total cost of FMD vaccination for alternative 1, using aluminum-hydroxide saponin vaccine, depends on the number of animals to be vaccinated and the cost of vaccinating one bovine at one stage. The same kind of cost for alternative 2, which employs oil-adjuvanted vaccine, is a function of (a) the number of bovines to be vaccinated, (b) the cost of vaccinating one bovine at one stage, and (c) the proportion of young animals in the population. The unit cost of vaccination at a stage depends on the cost of a vaccine dose on the

market and on the operating cost of applying the vaccine.

The latter cost, expressed in units, is identical for both procedures. Because oil-adjuvanted vaccine is not yet available on the market, a study of the cost relationships must take vaccination under alternative 1 as reference. Assuming that UCHV = UCOV, it is understood that TCHV > TCOV; the new procedure therefore becomes economically feasible because even though the entire bovine population to be vaccinated may be young (α), the annual total cost of vaccination would be one-third less than what would be achieved with the currently used procedure. On the other hand, if it is assumed that TCHV = TCOV, and differences of effectiveness between the two procedures are disregarded, then the oil-adjuvanted vaccine procedure is economically viable within a range whose limit is MCOV = 4.6 MCHV. These results can be attained by applying the costing methodology proposed by Astudillo *et al.* (1) and utilizing the data on vaccination costs in Paraguay in 1976 (8).

The immune effectiveness of the oil-adjuvanted vaccine procedure is 0.91, versus 0.80 for the hydroxide saponin vaccine procedure. Considering this difference in effectiveness, the cost study should refer to the annual cost of protecting a bovine against FMD (UCP). If it is assumed that UCOV = UCHV, then the UCOP turns out to be always lower than UCHP. On the other hand, if it is supposed that the annual costs of protecting a bovine are equal for both alternatives (UCOP = UCHP), then the new FMD vaccination scheme is economically feasible over the UCV range whose limit is UCOV = 3.41 UCHV. If the assessment is referred to the unit cost of a dose of oil-adjuvanted vaccine on the retail market, the scheme is feasible up to the point at which MCOV = 5.4 MCHV, when the Paraguayan data (8) and the methodology proposed in a previous study (1) are applied.

REFERENCES

1. ASTUDILLO, V.M.; GAUTO, M.T. de; WANDERLEY, M.; CABALLERO, B. Costo de la vacunación antiaftosa en Paraguay. (The cost of foot-and-mouth disease

- vaccination in Paraguay). *Bln. Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 23-24: 17-24, 1976.
2. AUGÉ DE MELLO, P.; ASTUDILLO, V.M.; GOMES, I.; CAMPOS GARCIA, J.T. Aplicación en el campo de vacuna antiaftosa oleosa e inactivada: vacunación y revacunación de bovinos jóvenes. (Field application of inactivated oil adjuvanted foot-and-mouth disease virus vaccine: vaccination and revaccination of young cattle). *Bln Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 19-20: 31-38, 39-47, 1975.
 3. AUGÉ DE MELLO, P.; ASTUDILLO, V.M.; 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). *Bln Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 26: 23-25, 27-29, 1977.
 4. COORDENAÇÃO DO COMBATE À FEBRE AFTOSA. MINISTÉRIO AGRICULTURA. BRASIL. II Avaliação do Plano Nacional de Combate à Febre Aftosa-PNCFA, 1971-76. Edif. Embaixador, SCS, Brasília, DF.
 5. GOMES, I.; ASTUDILLO, V.M. Foot-and-mouth disease: evaluation of mouse protection test results in relation to cattle immunity. *Bln Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 17-18: 9-16, 1975.
 6. PAN-AMERICAN FOOT-AND-MOUTH DISEASE CENTER. PAHO/WHO. Unpublished data on protection against IDL challenge conferred by oil vaccines.
 7. ROSENBERG, F.; ASTUDILLO, V.M.; GOIĆ, R. Regional strategies for the foot-and-mouth disease: an ecological outlook. In Proceedings of the Second International Symposium, Canberra, Australia, 7-11 May 1979.
 8. SERVICIO NACIONAL DE SALUD ANIMAL (SENACSA). PARAGUAY. Información estadística relacionada con el programa de fiebre aftosa. 3er. trimestre, 1976. Casilla 1110, Asunción.

resúmenes

abstracts

ARAMBULO, P.V.

Texto en inglés. *Dissertation Abstr. Int.* 38B: 5221-5222, 1978. (Abstract only). (*FMD Bull. Wellcome* 18 (11): 61, 1979). [University of Texas Health Science Center, Houston, Texas, U.S.A.]

Cálculo de pérdidas económicas debido a la fiebre aftosa y análisis de costo y beneficio de sistemas alternativos para su eliminación de un país en desarrollo

En años recientes se viene considerando un factor muy importante, la aplicación de análisis económico a enfermedades animales y/o programas para su eliminación. Han sido desarrolladas técnicas para la valoración de beneficios y ayudar a tomar decisiones razonables en cuanto a asignación de recursos eficientes. La técnica más generalmente utilizada es el análisis de costo y beneficio (ACB). La fiebre aftosa es endémica en las Filipinas, donde se informó la ocurrencia de virus O, A y C. En 1975 se hicieron constar 67.681 casos. La pérdida económica directa se estima en 25.083.905 dólares americanos, sin incluir ingresos invertidos de producciones futuras. Las pérdidas resultantes de la enfermedad son grandes pero no cuantitativas en términos monetarios. Se desarrollaron modelos determinísticos para representar la tasa de cambio en casos de fiebre aftosa. Las medidas de control disponibles aplicáronse individualmente o en combinación para dar forma a modelos de un programa de eliminación. Tomando como base los resultados del ACB, se recomendó que el gobierno adoptara un programa de erradicación de 4 años de duración, usando un sistema de vacunación de todos los animales susceptibles cada 6 meses y cuarentena durante los primeros 18 meses, seguida del sacrificio de los animales infectados (con indemnización), vacunación en anillo y cuarentena durante los subsiguientes 30 meses. Se calculó que el presente sistema de control tardaría hasta unos 34 años en eliminar la fiebre aftosa.

Estimation of economic losses from foot-and-mouth disease and cost-benefit analysis of alternative policies for eradication of a developing country

The application of economic analysis to animal disease and/or eradication programs has become an important tool in recent years. Techniques have been developed for the assessment of benefits and to aid the making of rational decisions for efficient resource allocation. The most widely used technique is cost benefit analysis (CBA). Foot-and-mouth disease (FMD) is endemic in the Philippines and virus types O, A and C have been recorded. In 1975, there were 67,681 reported cases. The estimated direct economic loss is 25,083,905 U.S. dollars not including earnings foregone from future production etc. The consequential losses from the disease are large but non-quantifiable in monetary terms. Deterministic models were developed to portray the rate of change in FMD cases. The available control measures were applied singly or in combination to shape eradication program models. Based on CBA results, it was recommended that the government should adopt a four-year eradication program using a policy of vaccination of all susceptible animals every six months and quarantine in the first 18 months followed by slaughter of infected animals (with indemnification), ring vaccination and quarantine in the subsequent 30 months. It was estimated that the present control policy would, theoretically, take up to 34 years to eradicate foot-and-mouth disease.

CHAKRABARTY, A.K.; DUTTA, P.K.; BORO, B.R.; MAHANTA, P.N.

Texto en inglés. *Trop. anim. Hlth. Prod.* 11 (2): 115-116, 1979. (*FMD Bull. Wellcome* 18 (10): 55, 1979). [Dept. of Microbiology, College of Veterinary Science, Assam Agricultural University, Gauhati-22, Assam, India]

Prevalencia estacional en Assam de la fiebre aftosa

La prevalencia de fiebre aftosa en Assam fue calculada en relación con las siguientes estaciones: verano (marzo-mayo), monzón sur-oeste (junio-septiembre), post-monzón (octubre-noviembre) e invierno (diciembre-febrero). Entre enero de 1976 y diciembre de 1977 tuvieron lugar 84 epidemias de fiebre aftosa en la región. En ambos años, los brotes abundaron más durante las estaciones invernales y monzónicas. Las incidencias de invierno fueron atribuidas a las condiciones climáticas, que favorecen la supervivencia viral. Las ocurrencias monzónicas se atribuyeron a las inundaciones que obligaron el traslado de los animales a regiones más elevadas, donde se congregaron grandes multitudes de animales domésticos, apiñados en contacto próximo con salvajes herbívoros. Virus, tipos O, A, C y Asia 1 se hallaban presentes en Assam durante 1976/77, siendo el más común el tipo O.

Seasonal prevalence of foot-and-mouth disease in Assam

The prevalence of foot-and-mouth disease in Assam was assessed in relation to the following seasons: summer (March-May), south-west monsoon (June-September), post-monsoon (October-November) and winter (December-February). Between January 1976 and December 1977 there were 84 outbreaks of foot-and-mouth disease in the region. In both years, outbreaks were commonest in winter and during the monsoon season. The winter epizootics were attributed to climatic conditions favouring the survival of virus. Monsoon epizootics were attributed to the floods which forced the movement of animals to high lands where large congregations of domestic animals were herded in close contact with wild herbivores. Virus types O, A, C and Asia 1 were present in Assam in 1976/77, type O being the most common.

DHENNIN, L.; GICQUEL, B.; LABIE, J.

Texto en francés. *Bull. Acad. vet. Fr.* 52 (1): 125-128, 1979. (*FMD Bull. Wellcome* 18 (10): 58, 1979). [Laboratoire central de Recherches vétérinaires d'Alfort, 22 rue Pierre-Curie, 94704 Maisons-Alfort cedex, France]

Estudios sobre el momento de la aparición de virus aftoso en los músculos del cerdo

Treinta y dos horas antes de la aparición de los primeros síntomas aftosos fue descubierto virus en la sangre de un cerdo contagiado mediante contacto con un animal infectado. Dicho virus pudo observarse en el tejido muscular 20 horas antes del hecho. En un cerdo infectado mediante inoculación intradérmica en el talón, fue detectado virus en la sangre y en el tejido muscular a las 12 horas después de la inoculación (12 horas antes de la aparición de lesiones primarias). Existe el peligro de transmisión de la enfermedad durante un período de 20 horas, cuando el cerdo está aparentemente sano, pero su riego sanguíneo contiene virus y los tejidos musculares han sido presionados.

Studies of the time of appearance of foot-and-mouth disease virus in the muscles of pigs

In a pig infected with foot-and-mouth disease by contact with an infected animal, virus was detected in the blood at 32 hours before the appearance of primary aphthae and in muscle tissue at 20 hours before. In a pig infected by intradermal inoculation in the heel, virus was detected in blood and muscle tissue at 12 hours after inoculation (12 hours prior to the appearance of primary lesions). There is a potential danger of transmission of disease during the 20 hour period when the pig is apparently healthy but has virus in its blood and muscle tissues are stressed.

DOEL, T.R.; ROBSON, K.; GORMAN, B.M; BROWN, F.

Texto en inglés. *In* 1st Mtg European Study Group on Molecular Biology of Picornaviruses, Enkhuzen, Netherlands, September, 1979. (Abstract only). (*FMD Bull. Wellcome* 18 (10): 56, 1979). [Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England]

Base bioquímica para variación antigénica en virus aftoso

Se examinaron las proteínas estructurales y provocadas de dos aislamientos de virus aftoso tipo A y uno de tipo O, con el fin de ganar conocimiento sobre la naturaleza de la variación del nivel molecular. Información obtenida por hibridación de ARN confirmó la clasificación serológica de los tres virus, pero el procedimiento más distintivo de localización oligonucleótido T1 RNase, no demostró mayor parecido entre los dos tipos virales A, que entre éstos y el tipo viral O. Cuando fueron examinados los productos primarios provocados en células infectadas, por medio del análisis trípico de péptidos, la variación mayor parecía residir en la región de la codificación del genoma para proteínas estructurales. Esta variación era considerablemente menor en el resto del genoma. También se examinaron las proteínas a través de análisis trípico de péptidos y electroforesis en gel de poliacrilamida de fragmentos proteolíticos limitados. La variación parecía ser mayor en VP₁ y VP₃ que en VP₂.

Biochemical basis for antigenic variation in foot-and-mouth disease virus

The structural and induced proteins of two isolates of type A and one isolate of type O foot-and-mouth disease virus were studied in order to gain an understanding of the nature of variation at the molecular level. RNA hybridization data supported the serological classification of the three viruses but the more discriminating RNase T1 oligonucleotide mapping procedure did not show any greater similarity between the two type A viruses than between these and the type O virus. When the primary products induced in infected cells were examined by tryptic peptide analysis, the greatest variation appeared to be in the region of the genome coding for the structural proteins. The extent of variation was considerable less in the remainder of the genome. The individual structural proteins were also examined by tryptic peptide analysis and by polyacrylamide gel electrophoresis of limited proteolytic fragments. The variation appeared to be greater in VP₁ and VP₃ than in VP₂.

ELLIS, P.R.; JAMES, A.D.

Texto en inglés. *Vet. Rec.* 105: 504-506, 1979. (*FMD Bull. Wellcome* 18 (12): 126, 1979). [Veterinary Epidemiology and Economics Research Unit, Department of Agriculture and Horticulture, University of Reading, Reading, Berks, England]

Economía de sanidad animal. 1. Programas para el control de las enfermedades principales

Este trabajo trata acerca del proceso de la toma de decisiones concernientes al control de las enfermedades animales a nivel nacional. El problema causado por cada enfermedad animal presenta una serie de consideraciones distintas y cada caso debe abordarse con un sistema analítico distinto. Se ha visto claramente que mejores sistemas de recopilación, trabajo adicional sobre epidemiología dinámica y un concepto más refinado de teoría económica aplicada, puede llevar a programas más

The economics of animal health. 1. Major disease control programs

This paper is concerned with the decision-making process in the control of animal disease at the national level. Each animal disease problem raises a different set of considerations and calls for somewhat different analytical approaches. It has become clear that better recording systems, further work on dynamic epidemiology and a more refined body of applied economic theory can lead to more effective programs for disease control. It is suggested that a continuous

efectivos para el control de enfermedades. Se sugiere que un proceso continuo de control y reajuste debiera establecerse como parte de la rutina de todo proyecto de sanidad animal.

monitoring and reappraisal process should become a routine part of every animal health project.

HUGH-JONES, M.E.

Texto en inglés. *In* 2nd International Symposium on Veterinary Epidemiology and Economics, Canberra, Australia, Veterinary Epidemiology and Economics, Canberra, Australia, 1979. (*FMD Bull. Wellcome* 18 (7): 37, 1979). [Dept. Epidemiology and Community Health, School of Veterinary Medicine, Louisiana State University, Baton Rouge, Louisiana 70803, U.S.A.]

Unos efectos de la fiebre aftosa en bovinos brasileños

La fiebre aftosa en bovinos lecheros produjo una pérdida inmediata e irremplazable de leche. Se observaron los efectos más marcados en vacas de la primera y segunda lactancia, y las vacas que producen más leche fueron las menos afectadas. No hubo efecto permanente sobre la lactancia o fertilidad, a excepción de animales con lesiones endócrinas crónicas. La ausencia de terneros neonatos nueve meses después del brote resultó del anestroso y la resorción al concebir inducido por la enfermedad. Aunque los efectos económicos cuantificables de la fiebre aftosa son temporaneos, los efectos de utilidad marginal son severos. La falta administrativa de flexibilidad y falta de confianza "entrepreneurial" de gerentes con rebaños afectados parecerían ser los efectos más importantes, y no necesariamente la falta de producción directa.

Some effects of foot-and-mouth disease in Brazilian cattle

Foot-and-mouth disease in dairy cattle produced an immediate and irreplaceable loss of milk. The effects were greatest in first and second lactation cows with higher lactation cows least affected. With the exception of animals with chronic endocrine lesions, there are no permanent effects of lactation or fertility. The anoestrous and resorbition on concepti induced by disease resulted in an absence of newborn calves nine months after the outbreak. Although the quantifiable economic effects of foot-and-mouth disease are temporary the marginal utility effects are severe. The managerial lack of flexibility and entre-preneur loss of confidence of managers with affected herds would appear to be the most important effects, and not necessarily the direct loss of production.

LEEuw, P.W. de; TIESSINK, J.W.A.; BEKKUM, J.G. van

Texto en inglés. *Zbl. VetMed* (B) 26 (2): 98-109, 1979. (*FMD Bull. Wellcome* 18 (8): 46, 1979). [Central Veterinary Institute, Virology Dept., Lelystad, Netherlands]

Desafío de cerdos vacunados con virus aftoso

Con el fin de llegar a un mejor entendimiento sobre lo que ocurre tras el desafío de cerdos vacunados con virus aftoso, la excreción de virus en los fluidos bucales de cerdos vacunados fue comparada con la de los cerdos susceptibles. Tras desafío por inoculación o por frotamiento, los cerdos susceptibles excretaron hasta 7 logs de virus por ml de fluido. Cerdos desafiados por frotamiento, a la sexta semana posvacunación excretaron mucho menos virus. A la vigésima semana

The challenge of vaccinated pigs with foot-and-mouth disease virus

In order to obtain a better understanding of what happens following challenge of vaccinated pigs with foot-and-mouth disease virus, the virus excretion in the mouth fluids of vaccinated pigs was compared with that in susceptible pigs. After swab and needle challenge, susceptible pigs excreted up to 7 logs of virus per ml of fluid. Pigs which were swab challenged at 6 weeks post-vaccination (p.v.) excreted much less virus. At 20 weeks p.v. some pigs excreted

posvacunación algunos cerdos excretaron hasta 5,5 logs de virus y sin embargo no mostraron síntomas de enfermedad clínica. Trás descarga por inoculación de cerdos vacunados y alojados individualmente, la excreción de virus en los fluidos bucales fue inversamente proporcional al nivel de inmunidad del animal. Cuando cerdos alojados en grupo fueron desafiados mediante inoculación, se detectó virus en muestras pertenecientes a animales totalmente inmunes.

up to 5.5 logs of virus yet did not show any signs of clinical disease. Following needle challenge of individually housed, vaccinated pigs, virus excretion in mouth fluids was inversely proportional to the level of immunity of the animal. When pigs housed in groups were needle challenged, virus was detected in samples from completely immune animals.

LOMBARD, M.

Texto en inglés. *In Mtg of the European Commission for the Control of FMD, Lindholm, Denmark, 1979. (FMD Bull. Wellcome 18 (7): 38, 1979). [IFFA Merieux: 254 rue Marcel Merieux, 69007 Lyon, France]*

Resultados actuales del estudio unilateral del virus tipo O que apareció en Francia en 1979

Un brote de la fiebre aftosa ocurrió en la región de Normandía en Francia, a principios de 1979. Se aisló el virus tipo O y ahora se ha comparado la cepa del brote con varias otras cepas europeas del tipo O en pruebas de la fijación del complemento. Los resultados indicaron que la cepa perteneció al subtipo O₁ y que la cepa francesa O₁ Lausanne de la vacuna sería apropiada para la vacunación profiláctica.

Present results of the unilateral study of the O virus that appeared in France in 1979

An outbreak of foot-and-mouth disease occurred in the Normandy region of France early in 1979. Virus type O was isolated and the outbreak strain has now been compared with a number of other European type O strains in complement fixation tests. The results indicated that the strain belonged to the O₁ subtype and that the French O₁ Lausanne vaccine strain would be suitable for prophylactic vaccination.

LOMBARD, M.

Texto en inglés. *In Mtg of the European Commission for the Control of FMD, Lindholm, Denmark, 1979. (FMD Bull. Wellcome 18 (8): 45, 1979). [IFFA-Merieux, 254 rue Marcel Merieux, 69007 Lyon, France]*

Uso de suero de bovinos vacunados en la evaluación de cepas de virus aftoso en el campo

Vacunáronse bovinos una o dos veces con vacunas antiaftosas de tipo O Lausanne o tipo A₅ Allier. Fueron determinados títulos de anticuerpos neutralizantes contra virus homólogo y virus heterólogos. Se calcularon los valores r para los sueros de animales vacunados una o dos veces, comparando la actividad en los sistemas heterólogos y homólogos. En algunos casos el valor r permaneció inalterable al revacunar, pero en otros casos el valor r trás revacunación, indicó mayor

Use of vaccinated cattle sera in the evaluation of foot-and-mouth disease virus strains in the field

Cattle were vaccinated once or twice with either a type O Lausanne or type A₅ Allier foot-and-mouth disease vaccine. Serum neutralizing antibody titers were determined against homologous virus and heterologous field viruses. The r values were calculated for the sera of once and twice vaccinated animals by comparing the activity in the heterologous and homologous systems. In some cases, the r value remained unchanged on revaccination, but in other cases, the r value after

semejanza entre las cepas. Estos resultados, junto con la gran variabilidad apreciada entre animales individuales, indica que no se puede esperar que exista correlación entre los títulos neutralizantes, especialmente en un sistema heterólogo, y la protección en el campo. Sin embargo, dentro del contexto de una campaña de vacunación normal, se considera que el valor r , comparando el título del sistema homólogo tras dos vacunaciones con el sistema homólogo después de una vacunación, podría indicar una mejor protección.

revaccination indicated a greater similarity between the strains. These results, together with the great variability observed between individual animals, indicate that neutralization titers, especially in a heterologous system, cannot be expected to correlate with protection in the field. However, in the context of a regular vaccination campaign, it is considered that the r value, comparing the titer of the homologous system after two vaccinations with the homologous system after one vaccination, could be a better indicator of protection.

MURAVIEV, V.K.; MALYARETS, P.V.; ONUFRIEV, A.V.; SHORSHNEV, V.I.; SOROKIN, V.A.
 Texto en ruso. *Veterinariya (Moscow)* 5: 31-34, 1979. (*FMD Bull. Wellcome* 18 (7): 40, 1979).

La valoración del estado inmunitario de bovinos en brotes de la fiebre aftosa

Este trabajo describe el uso del análisis matemático para determinar el estado inmunitario de un rebaño de bovinos durante un período después de vacunación y revacunación subsecuente contra la fiebre aftosa. En este estudio se utilizó un rebaño de 114 vacas y 50 terneros (hasta 6 meses de edad) que fueron vacunados y revacunados con una vacuna preparada del virus A_{22} lapinizado. Se determinaron los títulos de anticuerpos para cada animal a períodos de entre 1 y 5 meses después de la vacunación inicial y de entre 1 y 12 meses después de la revacunación. Los animales se pueden dividir en grupos según los títulos neutralizantes de los anticuerpos: buena inmunidad (más de $4,1 \log_2$), inmunidad satisfactoria (entre $3,1$ y $4,0 \log_2$), e inmunidad no satisfactoria (menos de $3,0 \log_2$). La manipulación matemática de los datos permitió la delineación de gráficos de inmunidad dinámica para el rebaño. Los resultados indicaron que el estado inmunitario de un rebaño de bovinos jóvenes después de una vacunación única puede determinarse de una muestra representativa de entre 10 y 27 animales y que, después de revacunación, de una muestra de entre 10 y 36 animales. Se puede declarar el estado inmunitario de bovinos adultos entre 13 y 25 animales y entre 14 y 32 animales después de vacunación primaria y revacunación respectivamente.

Assessment of the immune status of cattle in outbreaks of foot-and-mouth disease

This paper describes the use of mathematical analysis to determine the immune status of a herd of cattle over a period following vaccination and subsequent revaccination against foot-and-mouth disease. A herd of 114 adult cows and 50 calves (up to 6 months old) vaccinated and revaccinated with an adsorbed vaccine prepared from lapinized A_{22} virus was used in the study. Antibody titers were determined for each animal at periods between 1 and 5 months after initial vaccination and between 1 and 12 months after revaccination. On the basis of neutralizing antibody titers the animals could be divided into groups with good (above $4.1 \log_2$), satisfactory (3.1 to $4.0 \log_2$) and unsatisfactory (less than $3.0 \log_2$) immunity. Mathematical manipulation of the data allowed dynamic immunity graphs to be plotted for the herd. The results indicated that the immune status of a herd of young cattle following single vaccination can be determined from a representative sample of 10 to 27 animals and, following revaccination, from a sample of 10 to 36 animals. The immune status of adult cattle can be assessed on the basis of 13 to 25 animals and 14 to 32 animals following primary vaccination and revaccination respectively.

bibliografía sobre enfermedades vesiculares

vesicular diseases bibliography

ABU ELZEIN, E.M.E.; GROWTHER, J.R.

Descubrimiento específico del antígeno de partícula íntegra (140S) de virus aftoso a través de prueba inmunosorbente producida por enzima marcada. *Texto en inglés.* (The specific detection of foot-and-mouth disease virus whole particle antigen (140S) by enzyme labelled immunosorbent assay). *J. Hyg. (Camb.)* 83: 127-134, 1979. (*FMD Bull. Wellcome* 18 (8): 43, 1979). [Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England]

AVILOV, V.S.; GOGOLEV, M.M.; SALAZHOV, E.L.

Efecto de la irradiación ultravioleta en el ARN de virus aftoso. *Texto en ruso.* (Effect of ultraviolet irradiation on foot-and-mouth disease virus RNA). *Trudy vses. Inst. eksp. vet.* 45: 68-71, 1977. (*FMD Bull. Wellcome* 18 (11): 65, 1979).

BACHRACH, H.L.; MORGAN, D.O.; MOORE, D.M.

Proteína vírica inmunogénica VP_T, secuencias del terminal N y péptidos inmunogénicos obtenidos mediante bromuro de cianógeno y divisiones trópticas. *Texto en inglés.* (Foot-and-mouth disease virus immunogenic protein VP_T, N-terminal sequences and immunogenic peptides obtained by cyanogen bromide and tryptic cleavages). *Intervirology* 12: 65-72, 1979. (*FMD Bull. Wellcome* 18 (11): 63, 1979). [Plum Island Animal Disease Center, P.O. Box 848, Greenport, New York 11944, U.S.A.]

BARTELING, S.J.; MELOEN, R.H.; WAGENAAR, F.; GIELKENS, A.L.J.

Aislamiento y caracterización de las variantes O₁ del virus aftoso resistentes a la tripsina. *Texto en inglés.* (Isolation and characterization of trypsin-resistant O₁ variants of foot-and-mouth disease virus). *J. gen. Virol.* 43: 383-393, 1979. (*FMD Bull. Wellcome* 18 (9): 43, 1979). [Virology Dept., Central Veterinary Institute, Virology Dept., Houtribweg 39, 8221 RA Lelystad, Netherlands]

BARTELING, S.J.; WAGENAAR, F.

Aislamiento de virus aftoso "resistente a la tripsina" mediante electroforesis de virus tratado con tripsina. *Texto en inglés.* (Isolation of "trypsin-resistant" foot-and-mouth disease virus by electrophoresis of trypsin-treated virus). *In* 1st Mtg European Study Group on Molecular Biology of Picornaviruses, Enkhuizen, Netherlands, September, 1979. (*FMD Bull. Wellcome* 18 (10): 56, 1979). [Central Veterinary Institute, Virology Dept., Houtribweg 39, 8221 RA Lelystad, Netherlands]

BAXT, B.; GRUBMAN, M.J.; BACHRACH, H.L.

Relación de la longitud de la serie poly (A) a la infectividad específica de ARN viral. Comparación de distintos tipos de virus aftoso. *Texto en inglés.* (The relation of poly (A) length to specific infectivity of viral RNA: a comparison of different types of foot-and-mouth disease virus). *Virology* 98: 480-483, 1979. (*FMD Bull. Wellcome* 18 (11): 64, 1979). [Plum Island Animal Disease Center, P.O. Box 848, Greenport, New York 11944, U.S.A.]

BÖHM, H.O.; KREBS, H.; KEHRER, E.

Pruebas de pasteurización con leche contaminada con virus aftoso. *Texto en alemán.* (Pasteurization tests with milk contaminated with foot-and-mouth disease virus). *Milchwissenschaft* 34 (5):

253-256, 1979. (*FMD Bull. Wellcome 18* (8): 49, 1979). [Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere, Tubingen, Federal Republic of Germany]

BOLT, K.; CLARKE, J.; SPIER, R.E.

Uso de células BHK21 C13 congeladas para el control de parámetros biológicos para el desarrollo de virus aftoso. *Texto en inglés*. (The use of frozen BHK21 C13 cells to control the biological parameters for cell and foot-and-mouth disease virus growth). *Dev. Biol. Stand.* 42: 47-53, 1979. (*FMD Bull. Wellcome 18* (8): 47, 1979). [Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England]

CALVARIN, R.; GAYOT, G.

Técnica de cultivos celulares primarios de tiroides de ternero. *Texto en francés*. (Techniques of culture of primary calf-thyroid cells). *Recl. Med. vet.* 155 (3): 253-258, 1979. (*FMD Bull. Wellcome 18* (10): 60, 1979). [Laboratoire Central de Recherches Veterinaires, 22 rue Pierre-Curie, F 94704 Maisons-Alfort Cedex, France]

CAMPBELL, C.H.

La selección de los virus aftosos por pasaje en cultivos celulares de riñones bovinos y porcinos. *Texto en inglés*. (Selection of foot-and-mouth disease viruses by passage in bovine and swine kidney cell cultures). *Vet. Microbiol.* 4: 1-10, 1979. (*FMD Bull. Wellcome 18* (9): 52, 1979). [Plum Island Animal Disease Center, P.O. Box 848, Greenport, New York, 11944, U.S.A.]

CUNLIFFE, H.R.; BLACKWELL, J.H.; WALKER, J.S.

Inactivación por glutaraldehído de virus exóticos de animales en tejido de corazón porcino. *Texto en inglés*. (Glutaraldehyde inactivation of exotic animal viruses in swine heart tissue). *Appl. Environ. Microbiol.* 37 (5): 1044-1046, 1979. (*FMD Bull. Wellcome 18* (12): 135, 1979). [Plum Island Animal Disease Center, P.O. Box 848, Greenport, New York, 11944, U.S.A.]

CUNLIFFE, H.R.; BLACKWELL, J.H.; DORS, R.; WALKER, J.S.

Inactivación del virus aftoso presente en la leche a temperaturas ultra-elevadas. *Texto en inglés*. (Inactivation of milkborne foot-and-mouth disease virus at ultra-high temperatures). *J. Food. Protection* 42 (2): 135-137, 1979. (*FMD Bull. Wellcome 18* (8): 49, 1979). [Plum Island Animal Disease Center, P.O. Box 848, Greenport, Long Island, New York 11944, U.S.A.]

DANNACHER, G.; FEDIDA, M.; COUDERT, M.

Diseño experimental factorial aplicado al estudio inmunológico de dos subtipos de virus aftoso. 1. 1969 Grecia A - ejemplo Allier A. *Texto en inglés*. (Factorial experimental design applied to the immunological study of two foot-and-mouth disease virus subtypes. 1. A Greece 1969 - A Allier example). *Ann. Rech. vet.* 10 (1): 93-100, 1979. (*FMD Bull. Wellcome 18* (11): 62, 1979). [Laboratoire National de Pathologie Bovine, 250 rue Marcel-Mérieux, 69342 Lyon Cedex 2, France]

DANNACHER, G.; FEDIDA, M.; COUDERT, M.

Diseño experimental factorial aplicado al estudio de dos subtipos de virus aftoso. 2. Estudio teórico de modelos experimentales. *Texto en inglés*. (Factorial experimental design applied to the study of two foot-and-mouth disease virus subtypes. 2. Theoretical study of experimental models). *Ann. Rech. vet.* 10 (1): 101-106, 1979. (*FMD Bull. Wellcome 18* (11): 63, 1979). [Laboratoire National de Pathologie Bovine, 250 rue Marcel-Mérieux, 69342 Lyon Cedex 2, France]

DIMITRIADIS, I.A.

Actividad adyuvante de saponina y sus fracciones en la vacuna antiaftosa. *Texto en griego.* (Adjuvant activity of saponin and its fractions in foot-and-mouth disease vaccine). *Delt. Hellen. Kten. Etair.* 30 (2): 83-95, 1979. (*FMD Bull. Wellcome* 18 (11): 66, 1979).

DHENNIN, L.; DHENNIN, L.; GOUREAU, J.M.

Epizootias de fiebre aftosa en Normandía en marzo/abril 1979. *Texto en francés.* (The epizootic of foot-and-mouth disease in Normandy in March/April 1979). *Bull. Acad. vet. Fr.* 52: 311-318, 1979. (*FMD Bull. Wellcome* 18 (11): 61, 1979). [Laboratoire Central des Recherches Veterinaires, 22 rue Pierre Curie, 94700 Maisons-Alfort, France]

FAVRE, H.; BRUN, A.; FONTAINE, J.

Estabilidad prolongada de antígenos de la fiebre aftosa mantenidos en forma de vacunas inactivadas y como cepas de virus liofilizadas. *Texto en inglés.* (Long-dated stability of foot-and-mouth disease antigens kept as freeze-dried virus strains and inactivated vaccines). In Mtg of the European Commission for the Control of FMD, Lindholm, Denmark, 1979. (*FMD Bull. Wellcome* 18 (8): 47, 1979). [IFFA-Mérieux, 254 rue Marcel Mérieux, 69007 Lyon, France]

FIRPO, E.J.; PALMA, E.L.

La inhibición de la síntesis del virus aftoso y de los procápsides por iones de cinc. *Texto en inglés.* (Inhibition of foot-and-mouth disease virus and procapsid synthesis by zinc ions). *Arch. Virol.* 61: 175-181, 1979. (*FMD Bull. Wellcome* 18 (9): 52, 1979). [Centro de Virología Animal, Serrano 661, 1414 Buenos Aires, Argentina]

GRUBMAN, M.J.; BACHRACH, H.L.

Aislamiento de ARN mensajero de virus aftoso de polirribosomas ligadas a la membrana y caracterización de sus términos 3' y 5'. *Texto en inglés.* (Isolation of foot-and-mouth disease virus messenger RNA from membrane-bound polyribosomes and characterization of its 5' and 3' termini). *Virology* 98: 466-470, 1979. (*FMD Bull. Wellcome* 18 (11): 64, 1979). [Plum Island Animal Disease Center, P. O. Box 848, Greenport, New York 11944, U.S.A.]

GRUBMAN, M.J.; BAXT, B.; BACHRACH, H.L.

El ARN del virión de la fiebre aftosa: estudios sobre las relaciones entre la longitud de su fracción 3¹-poly (A) y la infectividad. *Texto en inglés.* (Foot-and-mouth disease virion RNA: studies on the relation between the length of its 3¹-poly (A) segment and infectivity). *Virology* 97: 22-31, 1979. (*FMD Bull. Wellcome* 18 (9): 51, 1979). [Plum Island Animal Disease Center, P.O. Box 848, Greenport, New York, 11944, U.S.A.]

HARRIS, T.J.R.; UNDERWOOD, B.O.; KNOWLES, N.J.; GROWTHER, J.R.; BROWN, F.

La epidemiología de la enfermedad vesicular porcina del punto de vista molecular: la correlación de variación en los polipéptidos estructurales del virus con propiedades serológicas. *Texto en inglés.* (Molecular approach to the epidemiology of swine vesicular disease: correlation of variation in the virus structural polypeptides with serological properties). *Infect. Immun.* 24 (3): 593-599, 1979. (*FMD Bull. Wellcome* 18 (9): 54, 1979). [Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England]

KNUDSEN, R.C.; GROOCKOCK, C.M.; ANDERSEN, A.A.

La inmunidad al virus aftoso en cobayos: respuestas clínicas e inmunológicas. *Texto en inglés.*

(Immunity to foot-and-mouth disease virus in guinea pigs: clinical and immune response). *Infect. Immun.* 24 (3): 787-792, 1979. (*FMD Bull. Wellcome* 18 (9): 53, 1979). [Plum Island Animal Disease Center, P.O. Box 848, Greenport, New York, 11944, U.S.A.]

LEEuw, P.W. de; TIESSINK, J.W.A.; FRENKEL, S.

Inoculación de cerdos con vacuna de hidróxido de aluminio, inactivada por formaldehído y potenciada con dietilaminoetil dextrano. *Texto en inglés.* (Vaccination of pigs with formaldehyde-inactivated aluminium hydroxide foot-and-mouth disease vaccines potentiated with diethylaminoethyl dextran). *Zbl. VetMed* (B) 26: 85-97, 1979. (*FMD Bull. Wellcome* 18 (8): 45, 1979). [Central Veterinary Institute, Virology Dept., Houtribweg 39, 8221 RA Lelystad, Netherlands]

MELOEN, R.H.

Respuesta de anticuerpos contra el virus aftoso. 1. Respuesta medida en sueros de bueyes inoculados con virus completo, virus tratado con tripsina, subunidades 12S y virus heterólogo. *Texto en inglés.* (Antibody response against foot-and-mouth disease virus. 1. Response measured in sera of vaccinated steers with complete virus, trypsin-treated virus, 12S subunits and heterologous virus). *Zbl. VetMed.* (B) 26: 273-283, 1979. (*FMD Bull. Wellcome* 18 (11): 66, 1979). [Central Veterinary Institute, Virology Dept., Houtribweg 39, 8221 RA Lelystad, Netherlands]

MELOEN, R.H.

Respuesta de anticuerpos contra el virus aftoso. 2. Reacciones medidas en sueros fraccionados de bueyes infectados con virus completo, virus tratado con tripsina, subunidades de virus 12S, VIA y virus heterólogos. *Texto en inglés.* (Antibody response against foot-and-mouth disease virus. 2. Responses measured in fractionated sera of infected steers with complete virus, trypsin-treated virus, 12S virus subunits, VIA and heterologous virus). *Zbl. VetMed.* (B) 26: 358-365, 1979. (*FMD Bull. Wellcome* 18 (12): 134, 1979). [Central Veterinary Institute, Virology Dept., Houtribweg 39, 8221 RA Lelystad, Netherlands]

MENDOZA, J.W.M.; FRANCIS, D.G.; CASTRO, L.M.B.; FILHO, F.M.

Factores socio-económicos relacionados con la lucha contra la fiebre aftosa en dos departamentos del Paraguay. *Texto en portugués.* (Socio-economic factors related to the control of foot-and-mouth disease in two departments of Paraguay). *Revista Ceres* 25 (139): 280-291, 1978. (*FMD Bull. Wellcome* 18 (12): 127, 1979).

POLATNICK, J.; RICHMOND, J.Y.

Fenómeno de interferencia vírica inducida en células de riñón de bovino por mutantes de fiebre aftosa sensibles a la temperatura. *Texto en inglés.* (Viral interference phenomena induced by foot-and-mouth disease temperature-sensitive mutants in bovine kidney cells). *Arch. Virol.* 61: 105-114, 1979. (*FMD Bull. Wellcome* 18 (11): 65, 1979). [Plum Island Animal Disease Center, P.O. Box 848, Greenport, New York 11944, U.S.A.]

SANGAR, D.V.

Caracterización del m-ARN de virus aftoso. *Texto en inglés.* (Characterization of foot-and-mouth disease virus m-RNA). In 1st Mtg European Study Group on Molecular Biology of Picornaviruses, Enkhuizen, Netherlands, September, 1979. (*FMD Bull. Wellcome* 18 (10): 57, 1979). [Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England]

SCODELLER, E.A.; DENOYA, C.D.; VASQUEZ, C.; LA TORRE, J.L.

Un nuevo método para el aislamiento del ARN específico de virus aftoso de células BHK infectadas. *Texto en inglés*. (A new method for the isolation of FMD virus specific RNA from infected BHK cells). *Arch. Virol.* 62: 253-262, 1979. (*FMD Bull. Wellcome* 18 (12): 132, 1979). [Centro de Virología Animal, Serrano 661, 1414 Buenos Aires, Argentina]

SEN, A.K.; UPPAL, P.K.

Estudios sobre pruebas de reducción de placas en animales vacunados contra la fiebre aftosa. *Texto en inglés*. (Studies on plaque reduction test in foot-and-mouth disease vaccinated animals). *Indian vet. J.* 56 (1): 6-9, 1979. (*FMD Bull. Wellcome* 18 (10): 59, 1979). [Regional Station, Indian Veterinary Research Institute, Hebbal, Bangalore-560 024, India]

TRAUTMAN, R.

La resolución de neutralización en bloque de curvas de prueba en componentes del sistema del virus aftoso. *Texto en inglés*. (Resolution of block neutralization test curves into components of the foot-and-mouth disease virus system). *Arch. Virol.* 60: 257-264, 1979. (*FMD Bull. Wellcome* 18 (9): 53, 1979). [Plum Island Animal Disease Center, P.O. Box 848 Greenport, New York, 11944, U.S.A.]

VASQUEZ, C.; DENOYA, C.D.; LA TORRE, J.L.; PALMA, E.L.

La estructura del cápside del virus aftoso. *Texto en inglés*. (Structure of foot-and-mouth disease virus capsid). *Virology* 97: 195-200, 1979. (*FMD Bull. Wellcome* 18 (9): 51, 1979). [Centro de Virología Animal, Serrano 661, 1414 Buenos Aires, Argentina]

WHITESIDE, J.P.; WHITING, B.R.; SPIER, R.E.

Desarrollo de una metodología para la producción de virus aftoso de monocapas de células BHK C13 cultivadas en un propagador de esferas de cristal 100L (20m²). *Texto en inglés*. (Development of a methodology for the production of foot-and-mouth disease from BHK C13 monolayer cells grown in a 100L (20m²) glass sphere propagator). *Dev. Biol. Stand.* 42: 113-119, 1979. (*FMD Bull. Wellcome* 18 (8): 48, 1979). [Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England]

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

Morfogénesis del virus aftoso. 1. Función desempeñada por los procápsides como precursores del virión. *Texto en inglés*. (Morphogenesis of foot-and-mouth disease virus. 1. Role of procapsids as virion precursors). *J. Virol.* 30 (3): 643-649, 1979. (*FMD Bull. Wellcome* 18 (8): 44, 1979). [Centro de Virología Animal, Serrano 661, 1414 Buenos Aires, Argentina]

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. Paul Sutmöller, Jefe de los Laboratorios
Dr. Roberto Goic, Jefe de Asesoría de Campo
Dr. Jaime Estupiñán, Jefe de Adestramiento e Información
Srta. Patricia Chain, Oficial de Comunicaciones

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. Paul Suttmöller, Chief of Laboratories
Dr. Roberto Goić, Chief of Field Services
Dr. Jaime Estupifán, Chief of Training and Information
Ms. Patricia Chain, Communications Officer