
BOLETIN

del centro panamericano de fiebre aftosa

Nº 45-46, enero-diciembre 1982

No. 45-46, January-December 1982

contenido

contents

	p.
Sistema de prevención de enfermedades exóticas en la República de Cuba	3
System for prevention of exotic diseases in the Republic of Cuba . .	13
– <i>V. Bustamante Jova, A. Fernández Luciano, J.I. Mackey Freyre, R. Llánes Morffi</i>	
El uso de la vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso en áreas endémicas	23
The use of oil-adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine in endemic areas	33
– <i>P. Augé de Mello</i>	
Preparación de vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso usando antígenos adsorbidos sobre hidróxido de aluminio	43
Formulation of oil-adjuvanted foot-and-mouth disease vaccines containing antigen adsorbed to aluminum hydroxide	47
– <i>D. Abaracón, J.A. Mesquita, H. Giacometti, S. Sallúa, R. Pérez Rama</i>	
Emulsificante Montanide 888 para la preparación de vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso	51
Montanide 888 emulsifying agent for preparation of oil-adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine	55
– <i>D. Abaracón, J.A. Mesquita, S. Sallúa, R. Pérez Rama</i>	

SISTEMA DE PREVENCIÓN DE ENFERMEDADES EXÓTICAS EN LA REPÚBLICA DE CUBA

V. Bustamante Jova¹; A. Fernández Luciano²; J.I. Mackey Freyre³; R. Llánes Morffi⁴

INTRODUCCIÓN

La República de Cuba es un país libre de fiebre aftosa, peste bovina, peste equina, peste aviar, peste porcina africana, perineumonía contagiosa de los bóvidos y otras enfermedades contagiosas de los animales. Al mismo tiempo, el servicio veterinario se esfuerza por controlar o erradicar otras enfermedades como la brucelosis, anaplasmosis, piroplasmosis, la rabia, etc.

De la realidad de tal situación zoonosaria se desprende la necesidad de mantenerla y mejorarla mediante un sistema que permita una protección adecuada en la frontera, principalmente contra las enfermedades exóticas (Cuadro 1), pero además, el sistema debe ser lo suficientemente amplio para incluir cualesquiera otras enfermedades de los animales y dentro de éstas las zoonosis.

La prevención de las enfermedades de los animales es un elemento dinámico que basa sus principios en criterios objetivos de trabajo dependientes de las necesidades del país.

La promulgación de regulaciones legales que dispongan la adopción de medidas en la frontera y su ejecución no es el único objetivo preventivo de la sanidad animal por cuanto el mejor sistema no hace a un país absolutamente invulnerable; cuando más lo hace menos vulnerable. El sistema debe incluir providencias serias que permitan la detección de la vía posible de introducción de

una enfermedad y el diagnóstico para estimar su curso probable y sus consecuencias.

Es obvio que los riesgos son inherentes a las operaciones internacionales. La sanidad animal interviene en los movimientos de animales y productos y por definición considera como posibles portadores de enfermedad a los pasajeros, las mercancías, los aviones, los buques, las áreas de frontera, y como tal los trata. Al propio tiempo, los organismos de comercio y distribución y los dedicados al servicio de transporte aéreo y marítimo y de carga y descarga, adquieren la responsabilidad de coordinar sus operaciones con la sanidad animal y ésta a su vez, es responsable de orientar y adecuar las medidas en forma tal que no estorben los fines de esas gestiones.

Por último, el mantenimiento de un estado zoonosario óptimo no es, en definitiva, un deber nacional solamente; también lo es internacional. En este trabajo se exponen, en forma resumida, los criterios y experiencias fundamentales sobre la profilaxis de la fiebre aftosa en Cuba tomando en cuenta que, aunque jamás se ha visto afectada por esta enfermedad, está expuesta a riesgos a través de los cuales podría intruducirse la misma.

I. UNIVERSO DE TRABAJO

De acuerdo con las regulaciones dadas por ley, el universo de trabajo de los Servicios Veterinarios de Frontera (SVF) lo constituyen las operaciones de importación y exportación de animales y productos, los puertos, aeropuertos y aduanas.

Los riesgos sanitarios son inherentes a las operaciones internacionales. En general, están sujetos a las regulaciones preventivas, además de los animales y productos, los transportes marítimos y aéreos, las operaciones portuarias y aeroportuarias que ofrezcan riesgos a la sanidad animal, y los bulos postales internacionales.

El territorio nacional de Cuba está formado por un archipiélago constituido por la isla principal

¹ Dirección actual: Médico Veterinario Principal. Empresa Nacional de Genética Porcina, Calzada de Bejucal y Calle 100, Ciudad de La Habana, Cuba.

² Dirección actual: Dirección Principal de la Avicultura, Calle 15 N° 851 esquina a 4, Vedado, Habana 4, Cuba.

³ Jefe del Departamento de los Servicios Veterinarios de Fronteras, Instituto de Medicina Veterinaria, Calle 15 N° 1011, Vedado, Habana 4, Cuba.

⁴ Especialista de los Servicios Veterinarios de Fronteras, Dirección Provincial Ciudad de La Habana. Instituto de Medicina Veterinaria.

CUADRO 1: *Relación de las principales enfermedades exóticas a la República de Cuba*

1. Aborto enzoótico de la oveja	27. Fiebre Q
2. Acariasis de las abejas	28. Gastroenteritis trasmisible de los cerdos
3. Agalaxia contagiosa	29. Gusano barrenador
4. Arteritis viral equina	30. Heartwater
5. Brucelosis (<i>Brucella melitensis</i>)	31. Hepatitis virótica de los patos
6. Carbunco bacteridiano	32. Herpes virus abortion of horses
7. Dermatitis nodular	33. Ibaraki disease
8. Durina	34. Lengua azul
9. Encefalitis japonesa	35. Linfangitis epizoótica
10. Encefalomiелitis equina	36. Maedi Visna
11. Enfermedad de Borna	37. Melioidosis
12. Enfermedad de Jembrana	38. Metritis contagiosa equina
13. Enfermedad de Wesselsbron	39. Muermo
14. Enfermedad de Teschen	40. Nagana
15. Enfermedad de las mucosas	41. Nosemosis de las abejas
16. Enfermedad nairobiense de las ovejas	42. Perineumonía contagiosa bovina
17. Enfermedad dermopática bovina	43. Peste aviar clásica europea
18. Estomatitis vesiculosa específica	44. Peste bovina
19. Exantema vesiculoso genital	45. Peste equina
20. Enfermedad vesicular porcina	46. Peste de los pequeños rumiantes
21. Fiebre aftosa	47. Pleuroneumonía contagiosa caprina
22. Fiebre catarral maligna	48. Scrapie
23. Fiebre del Valle de Rift	49. Surra
24. Fiebre de la costa oriental	50. Trichinosis
25. Fiebre efímera	51. Viruela ovina
26. Fiebre porcina africana	

y más de 1600 cayos (menores que islotes), islotes e islas distribuidos en cuatro grupos, situados dos en la costa norte y dos en la costa sur.

Tiene una superficie de 114.524 km² aproximadamente, siendo su longitud de 1.255 km desde el Cabo de San Antonio hasta la Punta Quemados y una anchura máxima de 191 km, siendo su parte más estrecha de sólo 31 km. La fauna doméstica y silvestre está constituida por algunas especies de animales susceptibles a la fiebre aftosa y a otras enfermedades inexistentes en el país.

1. OBJETIVOS DE VIGILANCIA

La vigilancia se realiza en: 34 puertos internacionales, 5 aeropuertos internacionales, 1 aduana de correos, 1 clínica de cuarentena, 10 áreas protegidas y 6 cayos.

2. RECURSOS

Para realizar esta tarea se cuenta con: 3 veteri-

narios a nivel nacional, 43 veterinarios de base, 15 veterinarios complementarios, 38 técnicos medios, 8 oficinistas, 5 lanchas de abordaje, 4 autos, 12 jeep y 4 motos.

3. IMPORTACIONES SUJETAS A INSPECCION

Las siguientes importaciones son objeto de inspección sanitario-veterinaria:

- animales domésticos para fines de reproducción, sacrificio, investigación, ceba, deporte y ornamento;
- animales silvestres para cotos de caza, ornamento, circos, parques zoológicos y bioterios;
- carnes frescas, refrigeradas, congeladas, enlatadas, en embutidos, o en cualquier forma, de las especies bovina, porcina, caprina, ovina, equina;
- leche y sus derivados (leche fresca, en polvo, condensada, evaporada, queso, maritequilla);
- otros productos y subproductos de origen

animal (grasa de cerdo, sangre, huevos fértiles, semen, cascos, pezuñas, cuernos, cueros, pelos, cerdas, plumas, vísceras, artículos ornamentales);

- productos biológicos (sueros, hormonas, fermentos, enzimas, etc.);
- productos farmacéuticos para uso veterinario;
- materias primas para la preparación de concentrados alimenticios para consumo animal.

4. FUNCIONES GENERALES DE LOS SVF

Los SVF están encargados de:

- inspección de motonaves y aeronaves, puertos y aeropuertos;
- inspección de pasajeros;
- inspección de animales y productos de importación;
- cuarentena de animales de importación y exportación;
- control y certificación de animales y productos de exportación;
- control de la vitualla de motonaves y aeronaves;
- control de destino de animales y productos de importación;
- vigilancia de la morbilidad y mortalidad en los territorios de frontera;
- vigilancia de las medidas de protección en puertos y aeropuertos;
- análisis y denuncia de los riesgos epizooticos;
- inspección de bultos postales;
- registro de información y elaboración de información estadística;
- asesoría a organismos nacionales.

Además de las funciones de protección que desarrolla el personal de base, el nivel central de la actividad, dividido en las secciones de puertos, aeropuertos y aduanas, importaciones y exportaciones e información, se ocupa de:

- recopilar, organizar, clasificar y analizar la información zoonosanitaria mundial;
- asesorar a organismos y organizaciones estatales;
- elaborar los requisitos para las importaciones y satisfacer los requisitos exigidos por el país importador para las exportaciones;
- actualizar los mecanismos de cuarentena;

– organizar y coordinar la actividad a nivel central con los otros frentes del servicio veterinario estatal y con otros organismos y organizaciones estatales;

- dictar las normas de procedimientos mediante instrucciones al efecto;
- supervisar las medidas de vigilancia y el sistema de protección;
- preparar y coordinar el adiestramiento de los funcionarios de los Servicios Veterinarios de Frontera, y de los veterinarios oficiales y empresariales en materia de enfermedades exóticas;
- emitir boletines zoonosanitarios y epidemiológicos con información nacional e internacional;
- brindar conferencias, encuentros técnicos y actividades divulgativas en materia de protección sanitaria.

II. COMPONENTES DEL SERVICIO DE PROTECCION VETERINARIO-SANITARIA

Las regulaciones de sanidad animal se basan, a los efectos de la prevención, en el conocimiento más moderno, técnico y científico del comportamiento epidemiológico de las enfermedades para enfrentar los distintos riesgos y se incorporan a la táctica que se debe seguir para conseguir los objetivos estratégicos de salud en su conjunto.

En la prevención de enfermedades de los animales se contemplan dos complejos conjuntos de medidas: el primero, consiste en disponer de las normas y dispositivos para evitar la penetración de una enfermedad exótica en un territorio dado y estimar y pronosticar, para eliminar, las vías posibles de introducción; el segundo, consiste en disponer de las normas y dispositivos para evitar la propagación de la enfermedad, de resultar su introducción, o para controlarla con el objetivo de eliminarla. A tales efectos, en Cuba se establecen dos barreras de protección: una primera barrera o barrera externa, y la segunda barrera o barrera interna.

La primera barrera consta de la información zoonosanitaria mundial, la inspección fronteriza y el control de importaciones, y la segunda barrera de la información zoonosanitaria nacional, la vigilancia de la población animal y las campañas sanitarias.

Como la prevención de enfermedades de los animales es un complejo dinámico que basa sus principios en criterios objetivos de trabajo dependientes de la estrategia de salud del estado, en general, las regulaciones de prevención se aplican en un rango lo suficientemente amplio como para que comprendan todas las posibilidades de vehiculización de enfermedades y también los elementos a tener en cuenta en la protección sanitaria: base legislativa, estrategia sanitaria definida, estructura sanitaria, personal calificado, caracterización sanitaria de las áreas, adiestramiento sistemático, facilidades de diagnóstico, facilidades de cuarentena, recursos materiales y financieros, comunicaciones, sistema de registro y estadísticas, divulgación sanitaria, jerarquización, programas de emergencia, y pronóstico de riesgo.

Para el reconocimiento de la eficiencia del sistema de protección es necesario tomar en cuenta de forma compleja los elementos de análisis referidos a los fines de la protección sanitaria. En la República de Cuba, tal hecho se comporta de la siguiente manera:

1. BASE LEGISLATIVA

— Entre el 28 de marzo de 1900 y el 26 de noviembre de 1951 se dictaron más de 22 regulaciones sanitario-veterinarias de frontera.

— El 29 de abril de 1952 se dictó la Ley-Decreto No. 38 sobre la prevención de fiebre aftosa, peste bovina y otras enfermedades exóticas.

— El 28 de febrero de 1958 se publicó el reglamento para la aplicación de la Ley-Decreto No. 38 citada.

— El 26 de noviembre de 1962 se emitió la Resolución I-256 del Instituto Nacional de Reforma Agraria sobre medidas de protección.

— Entre 1963 y 1981 se emitieron ocho Resoluciones y quince Instrucciones, se decretaron cuatro estados de alerta y dos de emergencia nacional.

— Las regulaciones de protección sanitaria de frontera son las emitidas por el Consejo de Estado, Consejo de Ministros, Ministerio de la Agricultura, Ministerio del Transporte, Ministerio de la Pesca, y el Instituto de Medicina Veterinaria.

— El 23 de diciembre de 1980, la Dirección General del Instituto de Medicina Veterinaria emitió

una instrucción relativa a los procedimientos de notificación para enfermedades exóticas y al plan de acción para su eliminación.

— La Asamblea Nacional del Poder Popular tiene para su aprobación un Proyecto de Ley del Servicio Veterinario.

2. ESTRATEGIA SANITARIA

Debido a la situación epizootológica mundial siempre cambiante, los dispositivos de protección sanitaria en Cuba son adaptados a la situación zoonosanitaria actual con el objetivo de efectuar las operaciones comerciales y de otra índole que se producen por las distintas áreas de frontera con el mínimo de riesgo, y en correspondencia con los intereses del Estado, enfrentar el riesgo que estos movimientos involucran evitando, en lo posible, que las medidas regulatorias sanitarias aplicables en la frontera dificulten o limiten los mismos.

VIGILANCIA EPIZOOTIOLÓGICA

a) Control de movimiento internacional

En todos los puntos de movimiento internacional, el Instituto de Medicina Veterinaria dispone de funcionarios de los SVF, quienes controlan los riesgos producidos por los transportes, las mercancías, los pasajeros, los bultos postales y demás movimientos internacionales mediante la aplicación de las medidas que cada caso requiera.

Las regulaciones contemplan medidas específicas de desinfección, desinfestación, disposición de basuras y desperdicios internacionales, sellaje de neveras de motonaves, y otras aplicables a la llegada de los transportes y durante su estancia en el territorio nacional.

b) Control de importaciones

Importaciones de animales: las importaciones de animales se realizan con base en requisitos establecidos en las regulaciones legales y que comprenden medidas desde el origen hasta la llegada a un puerto autorizado, durante el período de cuarentena establecido en instalaciones aprobadas por el servicio veterinario, y durante el cual se realizan los exámenes diagnósticos correspondientes.

Se prohíbe la importación de animales susceptibles desde países afectados por fiebre aftosa,

y cualquier animal de importación permitida deberá venir acompañado por certificación veterinaria oficial.

Importaciones de productos: sólo se permite la importación desde países afectados por la fiebre aftosa de productos cárnicos enlatados y esterilizados, leche en polvo, leche condensada y evaporada, mantequilla, quesos maduros, manteca fundida, pieles y cueros curtidos, harinas de sangre y hari-

nas de huesos procesadas a alta temperatura. No obstante, cualesquiera productos de importación permitida deben venir acompañados por certificación veterinaria oficial.

Además de todos los requisitos planteados anteriormente, para estas importaciones se toman otras medidas en la barrera externa en dependencia del tipo de importación (animales o productos) (Cuadro 2).

CUADRO 2. *Esquema del control de importaciones de animales y productos*

Importación	En el país de origen	En Cuba
Animales	1) Análisis de la situación sanitaria del país de origen	1) Inspección al arribo
	2) Organización, estructura y cobertura del servicio veterinario	2) Cuarentena
	3) Posibilidades de diagnóstico	3) Réplica de pruebas diagnósticas
	4) Cuarentena	4) Decisión de liberación de cuarentena
	5) Selección sanitaria	
	6) Precauciones sanitarias durante la transportación	
Productos	1) Análisis de la situación sanitaria del país de origen	1) Inspección sanitario-veterinaria
	2) Organización, estructura y cobertura del servicio veterinario	2) Muestreo representativo
	3) Posibilidades de diagnóstico	3) Decisión sobre liberación para consumo
	4) Inspección de mataderos, empacadoras y frigoríficos	

c) Medidas reglamentarias

Todo lo preceptuado en las regulaciones sanitarias de frontera es de cumplimiento obligatorio y las violaciones son tratadas adecuadamente; algunas, incluso, son sancionadas pecuniariamente con independencia de la responsabilidad que se derive, desde el punto de vista penal, por su comisión.

Las unidades veterinarias de frontera se comunican mutuamente las condiciones de los transportes, los tratamientos efectuados, las incidencias sanitarias, y las recomendaciones que estimen pertinentes, lo que les permite tener un historial desde

el punto de vista preventivo, de los movimientos de los transportes y mercancías en cada lugar y momento.

Una medida de particular importancia es el control que se realiza sobre la utilización de desperdicios de alimentos para la alimentación de animales, especialmente porcinos. Se prohíbe absolutamente la alimentación de animales con desperdicios producidos a bordo de transportes marítimos o aéreos. Los desperdicios generados internamente, sólo pueden ser utilizados para ese fin, previo tratamiento térmico y con control y autorización del servicio veterinario.

d) **Comisión Nacional para Prevención de Enfermedades Exóticas**

Por una decisión del gobierno se creó la Comisión Nacional para la Prevención de Enfermedades Exóticas, un hecho que evidencia el apoyo y la preocupación institucional con relación a las actividades de protección sanitaria. La comisión está constituida por representantes de la mayoría de los organismos centrales del Estado y están representadas también las organizaciones de masas. De tal forma, no sólo se encuentra extendida la vigilancia sino que también se garantiza una adecuada capacidad de movilización desde el punto de vista preventivo.

En este sentido, los Servicios Veterinarios establecen relaciones y coordinaciones de trabajo con la mayoría de los organismos e instituciones nacionales y, en especial, con el Ministerio de Salud Pública, el Ministerio del Interior, el Ministerio de Relaciones Exteriores, Comercio Exterior, Centro Nacional de Salud Animal, Academia de Ciencias y Defensa Civil.

3. ESTRUCTURA SANITARIA

El servicio de protección sanitaria es, en esencia, bastante comprensivo, aunque aún creemos le falta por alcanzar otros logros. No obstante, el análisis comparativo en el tiempo indica que, de acuerdo con las misiones que debe cumplir, su desarrollo se mantiene positivo.

El propósito del servicio de protección es el de ir elevando continuamente, en calidad y cantidad, su nivel técnico, proporcionalmente a los riesgos potenciales dados por el incremento de los movimientos internacionales y el desarrollo de los recursos agropecuarios.

En este sentido, la infraestructura cuarentenaria tiende constantemente a mantener un equilibrio con la situación y circunstancias epizootiológicas del país, principalmente después de la experiencia adquirida con los brotes de peste porcina africana en el año 1971.

4. PERSONAL CALIFICADO. ADIESTRAMIENTO SISTEMÁTICO

El personal que se destina al servicio de protección sanitaria se selecciona y se forma de acuerdo con las misiones técnicas que enfrentarán, toman-

do en cuenta las características particulares del medio donde desenvolverán sus funciones y en el que se manifiesta, inclusive, una psicología especial: la de frontera.

Los médicos veterinarios de frontera reciben un entrenamiento que comprende: legislación de cuarentena, epizootiología especial, utilización de mapas cartográficos y topográficos, técnicas y procedimientos de frontera, y programas de emergencia. Estas materias se imparten en cuatro cursos que se desarrollan en diferentes etapas. Los técnicos medios se adiestran en la Escuela Nacional del Instituto de Medicina Veterinaria donde se les imparte, para su nivel, asignaturas tales como: epizootiología general y especial, legislación de cuarentena, geografía de Cuba, geografía económica, inspección de alimentos, desinfección y lucha antivectorial. Además los funcionarios de los SVF, médicos veterinarios e inspectores, asisten a seminarios programados sobre Control Sanitario Internacional, Sanidad Vegetal, Técnica y Legislación Aduanal, y otras especialidades portuarias y aeroportuarias, y se encuentran obligados a elevar su nivel cultural y adquirir el conocimiento de un idioma extranjero. Además participan en consejos y encuentros de conocimientos técnicos.

5. CARACTERIZACIÓN SANITARIA DE LAS ÁREAS DE FRONTERA

Las caracterizaciones sanitarias de las áreas de frontera constituidas por los puertos, aeropuertos, aduanas, islas y cayos, sirven para proporcionar una imagen básica y funcional de esos objetivos sanitarios para una aplicación eficiente en ellos de las medidas regulativas de sanidad animal. Por ello la caracterización se define como la proyección de la anatomía, fisiología y patología de las áreas sanitarias de frontera.

La caracterización permite conocer: la problemática particular del lugar, brechas sanitarias y vínculos a distancia, necesidades reales de personal y recursos, y forma de aplicar medidas en casos de emergencia.

Los componentes de la caracterización son: historia operativa y sanitaria, situación geográfica, accidentes geográficos, corrientes marinas, características operativas, caminos, carreteras, vías férreas, comunicaciones, zona de vigilancia.

La caracterización se actualiza una vez al año, y en ella se contemplan las relaciones del Instituto de Medicina Veterinaria con los organismos e instituciones nacionales a los efectos de las coordinaciones necesarias para lograr eficiencia en la prevención.

6. POSIBILIDADES DE DIAGNOSTICO Y CUARENTENA

El posible diagnóstico de la fiebre aftosa se realizará por los especialistas del Centro Nacional de Salud Animal (CENSA), pero además se cuenta con otros laboratorios y centros que participarían en esta actividad, entre ellos el Laboratorio Central de Diagnóstico, el Laboratorio Central de Bromatología, y el Laboratorio de Control Estatal de Productos Veterinarios.

Se proyecta construir un laboratorio de alta seguridad para el diagnóstico de la fiebre aftosa y otras enfermedades exóticas. Igualmente existe el proyecto de construcción de una moderna estación de cuarentena para animales mayores.

7. RECURSOS MATERIALES Y FINANCIEROS

Los recursos materiales ya han sido descritos en el transcurso de esta exposición.

El financiamiento del sistema de protección, que incluye todas las actividades que se realizan en las áreas de frontera así como la prepara-

ción de los funcionarios, supervisión de las medidas sanitarias, equipos, y divulgación entre otros aspectos asciende a la suma de trescientos mil pesos anuales (\$300.000,00) aproximadamente, y con las perspectivas de trabajo del servicio de protección, éste necesariamente irá en aumento.

8. COMUNICACIONES

En todas las provincias existe comunicación telefónica y mediante telex con el nivel central, y mediante estas vías las distintas áreas se comunican entre sí. A todas las áreas portuarias y aeroportuarias se llega por caminos y carreteras, siendo cada una de ellas de fácil acceso por estas vías.

9. SISTEMA DE REGISTRO Y ESTADISTICAS

Todas las actividades que los SVF realizan son registradas de acuerdo con modelos estadísticos, con el objetivo de procesar dicha información y someterla a evaluación y al análisis correspondiente que permita, en un momento dado, aplicar una acción sanitaria o de otra índole según el resultado lo indique (Cuadro 3).

Además de los aspectos que se recogen en los modelos oficiales, en cada área se registran y controlan cualquier tipo de actividad o incidencias que sirva de información útil a los fines de la prevención sanitaria.

CUADRO 3. Modelos oficiales de los Servicios Veterinarios de Frontera (SVF)

SVF - 1	Despacho de motonaves	SVF - 10	Despacho de Aeronaves
SVF - 2	Registro de ocurrencias	SVF - 11	Consecutivo de Animales Importados y Exportados
SVF - 3	Certificado Sanitario Veterinario de Escala	SVF - 12	Control de Carga Regulada
SVF - 4-E	Notificación de penalidad (español)	SVF - 13	Acta (liberar, retener, decomisar, destruir)
SVF - 4-I	Notificación de penalidad (inglés)	SVF - 14	Reporte de Inspección en Almacén de Carga Internacional
SVF - 5	Acta de Violación	SVF - 15	Registro de Cuarentena primario
SVF - 6	Warning (inglés y español)	SVF - 16	Registro de Cuarentena diario
SVF - 7	Recibo de Cobro	SVF - 17	Registro diario de trabajo
SVF - 8	Factura		
SVF - 9	Autorizo Extracción de Averías, Derrames y Barreduras		

10. DIVULGACION SANITARIA

La divulgación sanitaria de las medidas de prevención forma parte de un plan sistemático dirigido a sensibilizar a la población y a elevar su nivel de conocimiento y actuación sanitaria. Para ello se emplean diversos procedimientos y medios, de acuerdo con el lugar y el nivel cultural de aquellos a quienes va dirigida: conferencias, charlas, exhibición de documentales, diapositivas, plegables de enfermedades exóticas, reportajes en prensa, radio, televisión, y exposiciones.

11. JERARQUIZACION

Una premisa importante para el desarrollo del sistema de prevención de enfermedades es el apoyo y la preocupación que el Estado cubano presta a la aplicación y cumplimiento de las medidas de protección sanitario-veterinaria. Debido a ello, en el Programa Nacional de Prevención de Enfermedades Exóticas, el Gobierno participa activamente en la ejecución y desarrollo de éste, por lo que las regulaciones son de estricto cumplimiento por todos los ciudadanos. Además, el Instituto de Medicina Veterinaria, por ley, tiene la autoridad competente para la emisión de resoluciones e instrucciones sanitarias que asimismo son de cumplimiento obligatorio en todo el territorio nacional.

12. PROGRAMAS DE EMERGENCIA

Los dispositivos de protección de un país para evitar la introducción de enfermedades exóticas no resultan una garantía absoluta. Ello justifica que se haya previsto anticipadamente un programa de emergencia que ante esta contingencia defina las medidas de forma precisa, así como los recursos para erradicar del territorio nacional cualquier enfermedad exótica. En vista de ello existe un personal técnico que se adiestra sistemáticamente y una organización ejecutiva y eficaz, ya que si ocurriese un brote, la rapidez y eficiencia con que se actúe son requisitos fundamentales para tener éxito en su control y erradicación. Así, con estos programas se evitan improvisaciones. Para cumplimentar con éxito estos programas, las necesidades que se precisan son de dos órdenes:

a) Barrera de protección eficiente

La barrera de protección eficiente está representada por el estricto control y cumplimiento de las medidas con respecto a los riesgos controlables, por el conocimiento más extenso y profundo de los riesgos incontrolables, por una correcta legislación y además por un adecuado servicio de información.

b) Providencias necesarias

Mantenimiento de providencias que permiten la ejecución de la acción con la mínima cantidad de dificultades, con mayor celeridad, y con mejores logros.

13. PRONOSTICO DE RIESGO

Desde hace algún tiempo, y con relación al desarrollo del país, se han estado manifestando movimientos internacionales que implican riesgos de introducción y propagación de enfermedades. A pesar de las medidas de vigilancia y protección contraepizoótica, el peligro es real, y aunque no es posible medirlo cuantitativamente por la condición de país libre, sí es necesario analizar, evaluar y pronosticar la responsabilidad contraída con el objetivo de disminuir al mínimo los riesgos.

A tales efectos, y teniendo en cuenta las posibilidades reales de vehiculización a través de los transportes marítimos, así como a la distribución mundial de enfermedades, se valoran los riesgos y peligrosidad a que están sometidas las áreas de frontera, y en correspondencia con estos aspectos, se aplican consecuentemente las medidas contraepizoóticas necesarias de forma activa.

III. CONCLUSIONES

Las bases científico-técnicas actuales del trabajo de prevención en Cuba se han nutrido de la experiencia histórica acumulada y de los trabajos de investigación realizados en el mundo por personas dedicadas a la noble tarea de poner al descubierto los mecanismos mediante los cuales se transmiten las enfermedades. Además, para la aplicación de las medidas preventivas en el país se toma en cuenta la recomendación de los organismos internacionales de salud animal.

En todo lo expuesto, se describen sucintamente los principios seguidos para la prevención exitosa de la fiebre aftosa y otras enfermedades exóticas en la República de Cuba, a partir de la aplicación de medidas para evitar su penetración, y para erradicarlas.

Actualmente ha sido necesario fortalecer los mecanismos de protección fronteriza y las medidas de protección interna, lo que implica dedicar extraordinarios esfuerzos y recursos al logro de esos objetivos.

En dos ocasiones hemos tenido que enfrentar brotes de peste porcina africana que ocasionaron notables perjuicios a la ganadería porcina. Para lograr los objetivos de erradicación, que en ambas ocasiones resultó exitosa, hubo la necesidad de movilizar al servicio veterinario, recursos financieros extraordinarios, así como a las organizaciones de masas y el pueblo, en general, en los territorios afectados.

En el sentido de la prevención y, sobre todo, cuando se trata de enfermedades graves de la ganadería, el papel de la comunidad, representada por sus organizaciones de masas, es el más importante. En el caso de Cuba, la capacidad

de movilización y respuesta de los Comités de Defensa de la Revolución, la Asociación Nacional de Agricultores Pequeños, la Central de Trabajadores de Cuba y la Federación de Mujeres Cubanas constituyen un valioso e insustituible baluarte en la vigilancia, denuncia y lucha contra las enfermedades.

Por ello, se puede resumir, que en todos estos años de trabajo, la experiencia obtenida permite llegar a las siguientes conclusiones:

— La labor preventiva en la frontera, que deviene en complejo sistema de cuarentena, es un constante esfuerzo por posibilitar y lograr el establecimiento de una favorable dinámica de salud influenciada por el medio ambiente y el trabajo humano.

— La vigilancia epizootiológica, engarzada en una estructura y organización consecuentes, con criterios definidos de salud animal, y basada en los resultados del trabajo científico-técnico, constituye el principal pilar del complejo que contempla, esencialmente, los aspectos sanitarios en relación directa con los aspectos económicos y sociales del país y con las necesidades internacionales de salud animal.

SYSTEM FOR THE PREVENTION OF EXOTIC DISEASES IN THE REPUBLIC OF CUBA

*V. Bustamante Jova*¹; *A. Fernández Luciano*²; *J.I. Mackey Freyre*³; *R. Llánes Morffi*⁴;

INTRODUCTION

The Republic of Cuba is a country free from foot-and-mouth disease, rinderpest, horse sickness, fowl plague, African swine fever, contagious bovine peripneumonia and other contagious animal diseases. At the same time, the veterinary service attempts to control or eradicate other diseases like brucellosis, anaplasmosis, pyroplasmiasis, rabies, etc.

The reality of such an animal health situation indicates the necessity of maintaining and improving it by means of a system that permits suitable protection at the border level. While this is quite relevant to the exotic diseases (Table 1), the system should also be broad enough to include any other animal diseases, including zoonoses.

The prevention of animal diseases is a dynamic, on-going effort whose principles are based on objective criteria of work in accordance with the country's needs.

The promulgation of legal regulations that provide for the adaption and execution of measures at the borders is not the only preventive goal of animal health. The best protection system does not render a country absolutely invulnerable; at best, it only renders the country less vulnerable. The system must therefore include serious dispositions to permit the detection of the possible routes of disease introduction, as well as the

diagnosis required to estimate its possible course and consequences.

The element of risk is obviously inherent in international operations. Animal health intervenes in the movement of animals and products and by definition considers as possible disease carriers all passengers, goods, aircraft, ships, border areas, and thus treats them as such. At the proper time the trade and distribution entities and those which provide air and sea transportation and loading and unloading, acquire the responsibility of coordinating their operations with the animal health services. And Animal Health, in turn, is responsible for guiding the measures and making them suitable so that they do not conflict with the goals of those operations.

Finally, maintaining an optimal animal health status is certainly not only a national duty; it is also an international responsibility. This report summarizes, in brief form, the fundamental criteria and experiences regarding the prophylaxis of foot-and-mouth disease in Cuba. It must be remembered that although Cuba has never been affected by that animal disease, the nation is exposed to risks that could introduce the disease within its borders.

I. SCOPE OF WORK

In accordance with the legal regulations, the Border Veterinary Service's scope of work comprises the importation and exportation of animals and of products, plus ports, airports and custom-houses.

Sanitary risks are inherent to international operations. In addition to the animals and products, the ocean and air transportation, the port and airport operations that may offer risks to animal health, and international mail, are also generally subject to preventive regulations.

The national territory of Cuba comprises an archipelago that includes the main island and

¹ Current address: Médico Veterinario Principal. Empresa Nacional de Genética Porcina, Calzada de Bejucal y Calle 100, Ciudad de La Habana, Cuba.

² Current address: Dirección Principal de la Avicultura, Calle 15 No. 851 esquina a 4, Vedado, Habana 4, Cuba.

³ Head of the: Departamento de los Servicios Veterinarios de Fronteras, Instituto de Medicina Veterinaria, Calle 15 N^o 1011, Vedado, Habana 4, Cuba.

⁴ Specialist in the: Servicios Veterinarios de Fronteras, Dirección Provincial Ciudad de la Habana. Instituto de Medicina Veterinaria.

more than 1600 keys (smaller than islets), islets and isles distributed in four groups, of which two are located on the northern coast and two on the southern coast.

The Republic of Cuba has a total surface area of approximately 114,524 km². It is 1255 km long from the Cape of San Antonio to Point Quemados, and varies from 191 km at the widest point to 31 km at the narrowest. The domestic animals and wildlife include some species of animals susceptible to foot-and-mouth disease and to other diseases not found in Cuba.

1. OBJECTIVES OF SURVEILLANCE

Surveillance is maintained at the following sites: 34 international seaports, 5 international airports, 1 central post office, 1 quarantine clinic, 10 protected areas and 6 keys.

2. RESOURCES

Total personnel and equipment assigned to the surveillance operation are 3 veterinarians at the national level, 43 base veterinarians, 15 complementary veterinarians, 38 mid-level technicians, 8 office personnel, 5 inspection motor launches, 4 automobiles, 12 jeeps and 4 motorcycles.

3. IMPORTS SUBJECT TO INSPECTION

The following imports are subject to inspection by the animal health authorities:

- domestic animals for breeding, slaughter, research, fattening out, sports and ornamental purposes;
- wild animals for hunting reserves, show, circuses, zoos and laboratory animal colonies;
- fresh, refrigerated, chilled, frozen or canned

TABLE 1. Listing of the main exotic diseases in the Republic of Cuba

1. Enzootic abortion of sheep	27. Q fever
2. Acariasis of bees	28. Transmissible gastroenteritis of swine
3. Contagious agalactiae	29. Borer worm disease
4. Equine viral arteritis	30. Heartwater
5. Brucellosis (<i>Brucella melitensis</i>)	31. Viral hepatitis in ducks
6. Anthrax	32. Herpes virus abortion of horses
7. Lumpy skin disease	33. Ibaraki disease
8. Durina (contagious horse disease)	34. Bluetongue
9. Japanese encephalitis	35. Epizootic linfangitis
10. Equine encephalomyelitis	36. Maedi (contagious pneumonia of sheep)
11. "Borna" disease	37. Melioidosis
12. "Jembrana" disease	38. Contagious equine metritis
13. Wesslsbron disease	39. Glanders
14. Teschen disease	40. Nagana (<i>Trypanosoma brucei</i>)
15. Mucosal disease of cattle	41. "Nosemosis" of bees
16. Nairobi sheep disease	42. Contagious bovine pleuroneumonia
17. Bovine dermopathy disease	43. Classical European birds' pest
18. Specific vesicular stomatitis	44. Rinderpest
19. Genital vesicular exanthema	45. Equine plague
20. Swine vesicular disease	46. Plague of small ruminants
21. Foot-and-mouth disease	47. Contagious pleuropneumonia of goat
22. Malignant catarrhal fever	48. Scrapie
23. Rift valley fever	49. Surra (from East India)
24. East coast fever	50. Trichinosis
25. Ephemeral fever	51. Sheepox
26. African swine fever	

meats, in sausage form or in any form, from cattle, pigs, sheep, goats or horses;

- milk and by-products thereof (fresh, powdered, condensed milks, cheese, butter);

- other products and by-products of animal origin (pig fat, blood, fertile eggs, semen, hooves, horns, hides, skins, bristles, feathers, viscera, ornamental articles);

- biological products (sera, hormones, enzymes, yeasts and leavening, etc.);

- pharmaceutical products for veterinary use;

- raw materials for preparation of animal feeds.

4. GENERAL FUNCTIONS OF THE BVS

The Border Veterinary Services (BVS) are responsible for the following activities:

- inspection of ships and aircraft, ports and airports;

- inspection of passengers;

- inspection of imported animals and products;

- quarantine of imported and exported animals;

- control and certification of export animals and products;

- control of the provisions of ships and aircraft;

- control of the destination of imported animals and products;

- surveillance of morbidity and mortality in the border territories;

- surveillance of the protection measures in ports and airports;

- analysis and reporting of epizootic risks;

- inspection of postal parcels;

- maintaining of records and compilation of statistical data and information;

- advisory assistance to national agencies.

In addition to the protection services developed by the base personnel, the central level of activity is divided into the ports, airports and customs sections, imports, exports and information, and is in charge of:

- compilation, organization, classification and analysis of the world animal health information;

- advisory assistance to state agencies and organizations;

- preparation of importation requirements and meeting the import requirements of countries to which Cuban products are bound;

- updating of quarantine mechanisms;

- organization and coordination of the central-level activities with the other state veterinary service fronts and with other state agencies and organizations;

- issue the procedural guidelines by means of the appropriate instructions;

- supervision of the surveillance measures and the protection system;

- preparation and coordination of the exotic diseases training programs of the BVS staff and of the official and non-official veterinarians;

- issuance of animal health and epidemiological bulletins containing national and international data;

- organization of conferences, technical meetings, and activities related to promoting sanitary protection programs.

II. COMPONENTS OF THE ANIMAL HEALTH AND VETERINARY PROTECTION SERVICE

For prevention purposes, the animal health regulations are based on the most up-to-date technical and scientific knowledge of the epidemiological behavior of the diseases in order to confront the risks. The regulations are an integral part of the tactic to be followed to achieve all the strategic health objectives.

The prevention of animal health diseases considers two complex sets of measures. The first consists of providing the standards and mechanisms to prevent an exotic disease from penetrating the borders of a given territory, and to estimate and forecast, for purposes of elimination, the possible routes of introduction. The second consists of providing the standards and mechanisms needed to prevent the spread of the disease, if it is introduced, or to control it in order to eliminate it. Two protective barriers have been set up in Cuba for this purpose: the first is the external barrier, the second the internal barrier.

The first barrier includes world animal-health information, border inspection and control of imports. The second barrier comprises national

animal-health information, surveillance of the animal population, and sanitary campaigns.

The prevention of animal health diseases is a dynamic complex whose principles are based on objective action criteria in accordance with the state's health strategy. In general, the prevention regulations are applied on a sufficiently broad scale so that they encompass all the possibilities of disease transmission, and also the elements to be borne in mind in sanitary protection: legislative base, a defined sanitary strategy, sanitary information, qualified personnel, sanitary characterization of the areas, systematic training, diagnosis facilities, quarantine facilities, financial and material resources, communications, records and statistics system, emergency programs, publication and dissemination of sanitary promotional information, participating governmental agencies, and risk forecasting.

The efficiency of the protection system can be assessed from a more complex, fuller description of the various elements involved in or composing the system as it functions in Cuba:

1. LEGISLATIVE BASE

— More than 22 border veterinary and sanitary regulations were issued between March 28, 1900, and November 26, 1951.

— Decree-Law No. 38, directed toward the prevention of foot-and-mouth disease, rinderpest and other exotic diseases, was issued on April 29, 1952.

— The regulation for application of Decree-Law No. 38 was published on February 28, 1958.

— Resolution I-256, regarding protection measures, was issued on November 26, 1962, by the National Agrarian Reform Institute.

— Between 1963 and 1981, eight Resolutions and fifteen Instructions were issued, and four states of alert and two states of national emergency were declared.

— The border animal health protection regulations are issued by the State Council, the Council of Ministers, the Ministry of Agriculture, Ministry of Transportation, Ministry of Fishing, and the Institute of Veterinary Medicine.

— On December 23, 1980, the Directors of the Institute of Veterinary Medicine issued an instruc-

tion concerning procedures for the notification of exotic diseases and the plan of action for the eradication thereof.

A Bill concerning the Veterinary Service is now under consideration for approval by the National Peoples Assembly (Asamblea Nacional del Poder Popular).

2. SANITARY STRATEGY

Due to the constantly changing character of the world epizootiological situation, the animal health protection mechanisms in Cuba are adapted to the current animal health situation, and aim to conduct the commercial and other operations developed by the various border areas with minimal risk and, in consonance with State interests, confront the risk inherent in these movements. The protection mechanisms also seek to prevent, as far as possible, that the animal health regulatory measures applicable on the border restrict or hamper said movements.

EPIZOOTIOLOGIC SURVEILLANCE

a) Control of international movements

The Institute of Veterinary Medicine maintains BVS personnel at all the points of international movements. Such personnel are responsible for controlling the risks arising from transportation, cargo, passengers, mail and other international elements, by applying the measures required in each particular case.

The regulations contemplate specific measures for disinfection, disinfestation, disposal of international garbage and wastes, sealing up of ships' coolers, and other measures applicable at the time of arrival of the transport and for the duration of its presence in Cuban territory.

b) Control of importation

Importation of animals: the imports of animals are subject to requirements established in the legal regulations, including measures extending from the country of origin through to arrival at an authorized port, during the established quarantine period in installations approved by the veterinary service, and during which the required diagnosis examinations are conducted.

The importation of susceptible animals from

countries affected with foot-and-mouth disease is prohibited. Any animal whose importation is allowed shall be accompanied by an official veterinary certificate.

Importation of products: from countries affected by foot-and-mouth disease, importation is restricted to canned and sterilized meat products, powdered milk, condensed and evaporated milks, butter, cured cheeses, melted fats, tanned

hides and skins, blood meals and bone meals processed at high temperatures. All products whose importation is permitted shall be accompanied by an official veterinary affidavit.

In addition to all the requirements previously mentioned, such imports shall be subject to other additional external barrier measures, according to the type of importation (animals or products) (Table 2).

TABLE 2. Outline of import controls on animal and animal products

Import item	In country of origin	In Cuba
Animals	1) Analysis of animal health situation in country of origin	1) Inspection at arrival
	2) Organization, structure & coverage of the veterinary service	2) Quarantine
	3) Diagnosis possibilities	3) Replication of diagnostic tests
	4) Quarantine	4) Decision of release from quarantine
	5) Sanitary selection	
	6) Sanitary precautions during transportation	
Products	1) Analysis of the sanitary situation in country of origin	1) Veterinary & sanitary inspection
	2) Organization, structure & coverage of the veterinary service	2) Representative sampling
	3) Diagnosis possibilities	3) Decision of release for consumption
	4) Inspection of slaughterhouses, packing plants & meat plants	

c) Regulatory measures

Compliance with all border sanitary regulations is mandatory, and violations are dealt with accordingly. Some violations are subject to fines, independently of the applicable penal liabilities.

The border veterinary units exchange information of the conditions of the means of transport, the treatments carried out, the sanitary occurrences, and the recommendations they deem pertinent. Thus they are able to maintain a preventive record of the movement of transport and goods at all locations and at all times.

A measure of particular importance is the

control of the use of food waste and garbage for feeding to animals, especially to pigs. The use of food wastes produced on board aircraft or ships is absolutely prohibited. Garbage generated domestically may be fed to animals only after subjected to heat treatment and when duly controlled and authorized by the veterinary service.

d) National Commission for the Prevention of Exotic Diseases

The National Commission for the Prevention of Exotic Diseases was created by governmental decision. This fact is evidence of the support and

institutional concern for the activities developed by the animal health protection services. The Commission is composed of representatives from the majority of the State central agencies. The peoples' organizations are also represented on the Commission. Therefore not only is surveillance enforced, but a suitable capability of mobilization from the preventive standpoint is likewise ensured.

In this regard the Veterinary Services establish working relationships and coordination with most of the national organisms and institutions, especially with the Ministry of Public Health, Ministry of the Interior, Ministry of Foreign Relations, Foreign Trade, National Animal Health Center, Academy of Sciences, and Civil Defense.

3. SANITARY STRUCTURE

Although the sanitary protection service is essentially quite comprehensive, we believe it still lacks certain aspects that will permit the achieving of other goals. Nevertheless, comparative analysis in time indicates that it maintains positive development in accordance with the missions that it must fulfill.

The goal of the protection service is to raise its technical level continually, in terms of quality and quantity, proportionately to the potential risks arising from increased international movements and the national development of livestock and agricultural activities.

In this regard, the quarantine infrastructure tends constantly to maintain a balance with the country's epizootiological situation and circumstances. This is especially true after the experience acquired as a result of the outbreaks of African swine fever in 1971.

4. QUALIFIED PERSONNEL. SYSTEMATIC TRAINING

The sanitary protection personnel is selected and trained according to the technical missions to which they will be assigned. Also taken into consideration are the particular characteristics of the environment where they will develop their functions and in which there is a special psychology: the border psychology.

The veterinary doctors assigned to border protection services receive training that includes

quarantine laws, special epizootiology, use of topographical and geographical maps, border procedures and techniques, and emergency programs. This training is given in four courses offered at different stages. The midlevel technical personnel is trained at the National School of the Veterinary Medicine Institute, where they undertake subjects for application at their respective levels: general and special epizootiology, quarantine legislation, geography of Cuba, economic geography, food inspection, disinfection and control and elimination of vectors. Additionally, the BVS personnel, inspectors and veterinarians attend the seminars programmed on International Sanitary Control, Plant Health, Customs Techniques and Legislation, and other port and airport specialties. They are likewise obligated to improve their cultural level and to learn a foreign language. They also sit on councils and participate in technical meetings.

5. SANITARY CHARACTERIZATION OF THE BORDER AREAS

The sanitary characterizations of the border areas comprising the ports, airports, custom-houses, islands and keys, serve to provide a basic and functional idea of those sanitary objectives for efficient application therein of the animal health regulatory measures. The characterization is therefore defined as the projection of the anatomy, physiology and pathology of the border sanitary areas.

The characterization provides a knowledge of the particular problems of the place, sanitary gaps and long distance ties, actual personnel and resource needs, and the form of applying measures in emergency cases.

The components of the characterization are: the sanitary and operational history, geographical location, geographical features and accidents, ocean currents, operational characteristics, roads, highways, railroads, communications, surveillance area.

The characterization is updated annually. It considers the relations between the Institute of Veterinary Medicine and the national agencies and institutions regarding the coordination required to achieve prevention efficiency.

6. DIAGNOSIS AND QUARANTINE POSSIBILITIES

The possible diagnosis of foot-and-mouth disease will be conducted by the specialists at the National Animal Health Center (CENSA). Other laboratories and centers would also share in this activity, such as the Central Diagnosis Laboratory, the Central Bromatology Laboratory, and the State Laboratory of Control of Veterinary Products.

Plans are underway for the construction of a high-security laboratory for diagnosis of foot-and-mouth disease and other exotic diseases. Also under consideration is a project to erect a modern quarantine station for large animals.

7. MATERIAL AND FINANCIAL RESOURCES

Material resources have been discussed elsewhere in this description.

Funds allocated for the protection system, including all the activities conducted in the border areas as well as the training of personnel, supervision of the sanitary measures, equipment, and dissemination of information, among other aspects, amounts to approximately three-hundred thousand pesos annually (\$300,000,00). This allocation will necessarily be increased as the protection service's scope of work expands.

8. COMMUNICATIONS

Telephone and telex communications exist

between all the provinces and the central office, and the various areas use these means of communication among themselves. All the ports and airports are easily accessible by road or highway.

9. RECORDS AND STATISTICS SYSTEM

All the BVS' activities are recorded according to appropriate official statistics models. Such data then can be processed and submitted for the required analysis and evaluation so that at a given moment an appropriate sanitary action or other action may be implemented as required (Table 3).

In addition to the data collected on the official forms, each area records and controls any type of activity or incidents that might provide useful data for sanitary prevention.

10. SANITARY PUBLICATIONS AND DISSEMINATION

The publication and dissemination of preventive sanitary measures is part of a systematic plan to make the public aware of the sanitary activities and to raise the overall level of sanitary awareness and participation. To this end various procedures and means are employed in accordance with the area and the cultural level of the public for which the information is intended: conferences, talks, exhibition of documents, slides, folders of exotic diseases, reports in the press, on the radio and on television, expositions.

TABLE 3. *Official forms used by the Border Veterinary Services*

SVF- 1	Dispatch of ships	SVF- 10	Dispatch of aircraft
SVF- 2	Record of occurrence	SVF- 11	List of Imported & Exported Animals
SVF- 3	Port Veterinary Service Certificate	SVF- 12	Control of Regulated Cargo
SVF- 4-E	Notice of Penalty (Spanish)	SVF- 13	Report (release, retain, confiscate, destroy)
SVF- 4-I	Notice of Penalty (English)	SVF- 14	Report of Inspection of International Cargo Warehouse
SVF- 5	Notice of Violation	SVF- 15	Primary Record of Quarantine
SVF- 6	Warning (English & Spanish)	SVF- 16	Daily Record of Quarantine
SVF- 7	Receipt of Payment	SVF- 17	Daily Work Record
SVF- 8	Invoice		
SVF- 9	Authorization to Remove Damaged Goods, Spills and Sweepings		

SVF = Servicios Veterinarios de Frontera.

11. SUPPORT AT GOVERNMENTAL LEVELS

An important premise for the development of the disease prevention system is the support and concern on the part of the Government, regarding the application of and compliance with the veterinary and sanitary protection measures. The Government therefore actively participates in the execution and development of the National Exotic Disease Prevention Program, whereby all citizens are to comply strictly with all the regulations. In addition, the Institute of Veterinary Medicine has been designated as the competent authority for the issuance of sanitary resolutions and instructions whose compliance is mandatory throughout the national territory.

12. EMERGENCY PROGRAMS

The country's sanitary protection mechanisms are designed to prevent the introduction of exotic diseases, but do not provide an absolute guarantee. Thus it is necessary to set up emergency programs to cover any contingency. The emergency measures have been precisely outlined, as well as the resources required to eradicate any exotic disease from the national territory. Technical personnel systematically undergo training and an efficient organization has been set up to provide the swift, efficient action which, in the event of an outbreak, is the basic requirement for successful disease control and eradication. These programs preclude the need for improvised emergency action; their success depends on the following two aspects:

a) **Efficient protection barrier**

The efficient protection barrier encompasses the strict control and compliance with the measures concerning controllable risks, the broadest and best knowledge of the uncontrollable risks, a correct legislation and, furthermore, an adequate information service.

b) **Required measures**

Maintenance of measures that enable action to be implemented with minimum difficulty, maximum speed, and optimal results.

13. RISK FORECASTING

For some time, and as a result of the Nation's

development, there have been international movements that increase the risk of disease introduction and spreading. Despite the epizootic surveillance and protection measures, the danger is real. Although they cannot be measured quantitatively because Cuba is a disease-free country, the risk must be analyzed, evaluated and forecasted in order to be minimized.

To this effect, and bearing in mind the worldwide distribution of diseases and the real possibility that diseases can be brought into Cuba through contact with maritime trade, the risks and dangers to the border areas are assessed and, depending on those aspects, the required anti-epizootic measures are actively applied.

III. CONCLUSIONS

The current technical and scientific bases of the disease prevention work in Cuba have been built up from the accumulated historical experience and from the research work accomplished throughout the world by persons dedicated to the noble task of discovering the mechanisms through which diseases are transmitted. Moreover, the recommendations of the world animal health organizations and agencies are consulted for the application of preventive measures in Cuba.

The foregoing is a succinct description of the principles followed for the successful prevention of foot-and-mouth disease and other exotic diseases in the Republic of Cuba, based on the application of measures to prevent their penetration and to eradicate them.

It has been necessary to strengthen both the border protection mechanisms and the internal protection measures, which has meant expending extra efforts and resources to attain the aforesaid objectives.

On two occasions we have had to confront outbreaks of African swine fever that resulted in substantial losses to the national hog-raising sector. In order to accomplish the goal of eradication, which on both occasions was successful, it was necessary to mobilize the veterinary service, extra financial resources, the general public and the various peoples' organizations in the affected areas.

With regard to prevention, and especially when grave animal diseases are involved, the role of the community --represented by the peoples' organizations-- is of utmost importance. In Cuba, the mobilization and response capability of the Committees for the Defense of the Revolution, the National Association of Small Farmers, the Central Committee of Workers of Cuba, and the Federation of Cuban Women constitute a valuable and irreplaceable factor in the surveillance locating and campaigns against the diseases.

In summary, as a result of all these years of work, the acquired experience leads to the following conclusions:

– The preventive effort on the nation's borders, which has become a complex system of quarantine, is a constant effort to render possible and achieve a favorable and dynamic animal health situation influenced by the environment and human work.

– The epizootiological surveillance --anchored on a broad structure and organization with definite animal health criteria and based on the results of scientific and technical endeavor-- forms the main pillar of the complex that essentially considers the sanitary aspects as directly related to the country's social and economic well-being and to international animal health requirements.

EL USO DE LA VACUNA ANTIAFTOSA CON ADYUVANTE OLEOSO EN AREAS ENDEMICAS¹

P. Augé de Mello²

RESUMEN

El uso de la vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso induce una protección más adecuada al rebaño vacunado y mayor duración de inmunidad. El menor número de vacunaciones representa un gran beneficio económico debido a la reducción substancial del costo operacional de los programas.

En la novena reunión de la Comisión Sudamericana para la Lucha Contra la Fiebre Aftosa (COSALFA) fue aprobado el documento "Política y Estrategias del Combate de la Fiebre Aftosa en Sudamérica para la Década 1981-1990" que establece las metas para el control y erradicación de la fiebre aftosa en el continente, prevé la reorganización de las estrategias de combate con base en los estudios de la regionalización epidemiológica de la enfermedad, y la necesidad de incorporar a los programas vacunas de mayor poder inmunogénico.

El Banco Interamericano de Desarrollo (BID) aprobó un proyecto que hace parte del Programa de Adiestramiento en Salud Animal en América Latina (PROASA), sobre vacuna con adyuvante oleoso contra la fiebre aftosa elaborado por el Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (CPFA) con el propósito de divulgar los resultados obtenidos con este tipo de vacuna y establecer los criterios estratégicos, tácticos y operativos para su uso en los países de América del Sur.

En junio de 1982, se realizó el primer seminario del PROASA y se concluyó que los órganos oficiales deben orientar el uso de vacuna oleosa prioritariamente para las áreas de mayor importancia epidemiológica, como las endémicas primarias, y en los convenios de frontera donde el movimiento de

animales o las condiciones epidemiológicas representan un alto riesgo de difusión de la enfermedad entre los países. Se incluye un resumen del diagnóstico de situación de cada país referente al uso de la vacuna con adyuvante oleoso.

ANTECEDENTES

Los trabajos experimentales de laboratorio con vacuna antiaftosa inactivada preparada con adyuvante de Freund incompleto (vacuna oleosa), realizados por el CPFA en colaboración con el Centro de Enfermedades Animales de Plum Island del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de América, demostraron que este tipo de formulación induce un mayor y más prolongado efecto inmunitario, tanto en bovinos como en cerdos y ovinos.

Los resultados de esta fase de estudios, concluida a fines de la década de 1970, destacaron la importancia que este tipo de vacuna podría traer a los programas oficiales de control de la fiebre aftosa en América del Sur.

Se podría esperar una más adecuada protección del rebaño susceptible y mayor duración de inmunidad, particularmente en la especie bovina, lo que tornaría factible alcanzar un nivel inmunitario de la población susceptible de áreas endémicas de difícil manejo. La disminución del número de vacunaciones anuales, donde fuese justificable esa práctica, traería un gran beneficio económico a través de la reducción substancial del costo operacional de los programas.

Ante tal perspectiva el CPFA dio prioridad a los estudios de vacuna oleosa en bovinos. Con la colaboración del Ministerio de Agricultura de Brasil, en abril de 1972 se inició un proyecto de campo de tres años de duración cuyo objetivo era evaluar el comportamiento inmunológico de la vacuna oleosa en un rebaño bovino bajo control estricto y la factibilidad de los procedimientos de vacunación en condiciones de campo.

¹Presentado en el III Congreso Nacional de Veterinaria, Sociedad de Med. Veterinaria del Uruguay. Nov. 1982.

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

Para realizar el experimento se seleccionó la Estación Experimental "Cinco Cruces" de la "Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária" (EMBRAPA), vinculada al Ministerio de Agricultura de Brasil, localizada en el municipio de Bagé, estado de Rio Grande do Sul, por poseer una excelente infraestructura técnico-administrativa y por las características de su rebaño constituido por 3.000 bovinos destinados a la selección zootécnica.

Los resultados alcanzados al término del proyecto confirmaron el excelente comportamiento inmunogénico de la vacuna oleosa, obtenido anteriormente en condiciones experimentales. Fue posible inmunizar de forma satisfactoria el rebaño bovino utilizando un esquema de vacunación cada 6 meses para bovinos jóvenes hasta completar 2 años de edad y solamente una aplicación cada 12 meses a partir de esa edad en bovinos previamente vacunados.

La vacuna fue aplicada por vía intramuscular profunda en el tercio superior del pescuezo y no se observaron reacciones locales, trastornos de orden general, efectos colaterales o complicaciones secundarias. La producción del rebaño en lo que se refiere a ganancia de peso y producción de leche no fue alterada y tampoco hubo problemas en la inspección veterinaria.

Las vacunaciones durante la fase de duración del proyecto se realizaron concomitantemente con otros tipos de manejo rutinarios en el establecimiento, como son: marcación, castración, baño garrapaticida, administración de vermífugos, vacunación contra la brucelosis y en una oportunidad fue hecha una aplicación simultánea con vacuna antirrábica (ERA). En ninguno de los casos mencionados la respuesta inmunogénica de la vacuna oleosa fue afectada por estos procedimientos.

Los resultados logrados en la primera etapa de campo fueron altamente promisorios lo que estimuló al CPFA a ampliar las observaciones a un número mayor de bovinos, expuestos a diferentes grados de riesgo, tipos de explotación y manejo.

El primer proyecto masivo de tipo demostrativo tuvo inicio en 1976 con la inclusión de varios establecimientos vecinos a la Estación Experimental "Cinco Cruces", y en el municipio de Valença, estado de Rio de Janeiro, en una población forma-

da por bovinos mestizos de raza holandesa con cebú.

A medida que se incorporaban nuevos proyectos demostrativos en otros países, se inició en el CPFA el desarrollo de la producción de vacuna oleosa en escala semi-industrial y se extendieron los estudios respectivos sobre las pruebas de eficacia y potencia de las vacunas con la colaboración de la Dirección de Lucha contra la Fiebre Aftosa (DILFA), Uruguay, del Servicio de Laboratorios (SELAB) del Servicio Nacional de Sanidad Animal (SENASA), Argentina y del "Laboratório Regional de Apoio Animal" (LARA) del Ministerio de Agricultura de Brasil.

El Cuadro 1 presenta una síntesis de los proyectos demostrativos de campo en los que actualmente se aplica vacuna oleosa elaborada por el CPFA. Todos los proyectos son ejecutados por los organismos oficiales de cada país siendo que en la cuenca lechera de Montevideo participa también la Cooperativa de Productores de Leche del Uruguay (CONAPROLE).

CUADRO 1. *Proyectos demostrativos con vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso en América del Sur*

País/proyecto	Inicio del proyecto	Nº bovinos ^a
Argentina/Hipólito Irigoyen	1976 ^b	30.000
Bolivia/Cochabamba	1979	37.200
Brasil/Bagé	1976	397.000
Brasil/Valença	1976 ^c	46.300
Brasil/Distrito Federal	1979	61.500
Brasil/Roraima	1979	110.000
Colombia/Leticia	1980	6.000
Colombia/Llanos		3.000
Colombia/Urabá	1981	35.000
Paraguay/Paraguarí	1980	33.600
Perú/Lima	1978	3.000
Perú/San Martín		35.000
Urug./Cuenca Lech. de Montevideo	1977	52.200
Venezuela/Monagas	1982	50.000
Total		899.800

^aHasta junio de 1982.

^bProyecto INTA con la colaboración del CPFA.

^cTérmino en 1980.

En junio de 1982 estos proyectos fueron evaluados y las principales conclusiones fueron las siguientes:

- induce una mayor y más prolongada respuesta inmunitaria en la población bovina joven y adulta;
- proporciona a las poblaciones expuestas un elevado grado de protección, produciéndose una morbilidad menor de la enfermedad;
- no se observaron efectos indeseables o complicaciones secundarias sobre la salud de los animales, sobre la producción del rebaño o en la inspección veterinaria;
- no se producen dificultades en el manejo de la vacuna, lo que permite garantizar la factibilidad de su empleo en condiciones de campo y de manera masiva;
- permite aplicar diferentes esquemas de vacunación con intervalos mayores lo que representa importante factor de reducción de costos;
- proporciona un nivel inmunitario satisfactorio a la población bovina de áreas endémicas de difícil manejo;
- presenta menos riesgo de reacciones alérgicas en los animales debido a la menor frecuencia de vacunación y a las características del adyuvante.

Se concluyó el desarrollo de la tecnología semi-industrial para la formulación y emulsificación de la vacuna oleosa y los métodos de control. En el momento, la tecnología de producción del CPFA está siendo transferida a los laboratorios de producción industrial oficiales y privados.

PERSPECTIVAS DE USO DE LA VACUNA OLEOSA EN LOS PROGRAMAS DE CONTROL Y ERRADICACION DE LA FIEBRE AFTOSA, EN AMERICA DEL SUR

En la década del 60 se iniciaron los programas oficiales de combate a la fiebre aftosa en América del Sur. La estrategia adoptada fue uniforme en todos los países, con prioridad para la inmunización cada 4 meses de toda la población bovina susceptible por medio de vacunación sistemática con vacunas inactivadas, conteniendo hidróxido de aluminio y saponina como adyuvantes. Venezuela optó por vacunas de virus vivo atenuado con un esquema de vacunación cada 6 meses.

La vacunación masiva de toda la población susceptible cada 4 meses fue una meta muy ambiciosa y de elevado costo operacional, siendo prácticamente imposible su logro en muchas áreas del con-

tinente donde el manejo frecuente de los bovinos es difícil debido a las condiciones ambientales o climáticas, aun cuando los países han logrado establecer una infraestructura de servicios de salud animal necesaria para permitir que los programas oficiales alcancen una buena cobertura geográfica.

La menor frecuencia observada de ondas epidémicas de alta morbilidad y mortalidad, comunes de las décadas anteriores a la del 60, la marcada reducción de la incidencia de la enfermedad observada en varios países y la relativa benignidad de los casos clínicos pueden ser indicadores de una importante modificación de los aspectos mórbidos de la enfermedad, lograda gracias a los efectos de los programas oficiales. Un efecto de mayor alcance ha sido la reciente erradicación de la fiebre aftosa de Chile, sin duda el logro más significativo en estos últimos 20 años en América del Sur. Sin embargo, la estrategia de combate adoptada en este caso, no fue la tradicional uniforme, sino la de dar prioridad a los esfuerzos en las áreas de cría, identificadas por la información epidemiológica como responsables por el origen de las ondas epidémicas en el país y por la introducción y la manutención del agente en las poblaciones de bovinos localizadas en las regiones de engorde y de leche. También debe destacarse el adecuado equilibrio y efectividad con que se ejecutaron las acciones de control como utilizar vacuna inactivada de valor inmunogénico reconocido por medio de pruebas de eficacia, controlar estrictamente el tránsito de ganado, intensificar la educación sanitaria y hacer un buen acompañamiento de los resultados del programa, modificando significativamente las estrategias cuando fuese necesario.

Como resultado de la organización de los programas en los países se establecieron, a través del sistema de información y vigilancia epidemiológica implantados en el ámbito nacional y continental, las bases para caracterizar la conducta epidemiológica de la enfermedad. De esa forma se reconoció la existencia de por lo menos 4 ecosistemas de fiebre aftosa bien definidos (libres, esporádicos, endémicos secundarios y endémicos primarios), siendo posible establecer estrategias específicas de combate de acuerdo con los ecosistemas. En el Cuadro 2 se describen las principales

características de los ecosistemas indentificados y las estrategias de combate recomendadas para cada caso particular.

Por ocasión de la novena reunión de la COSALFA fue aprobado el documento "Política y Estrategias del Combate de la Fiebre Aftosa en Sudamérica para la Década 1981-1990", que establece las nuevas metas para el control y erradicación de la fiebre aftosa en el continente para la presente década. En líneas generales este documento prevé la reorganización de las estrategias de lucha, tomando por base los estudios sobre la regionalización epidemiológica de la enfermedad y la necesidad de incorporar a los programas vacunas de mayor poder inmunogénico.

Con este nuevo enfoque de control de la fiebre aftosa orientado hacia la erradicación de la enfermedad, es evidente que la vacuna con adyuvante oleoso, con características inmunogénicas que permiten utilizar diferentes esquemas de vacunación menos frecuentes tanto para bovinos jóvenes como adultos, será de gran utilidad para las áreas endémicas primarias donde es necesaria una sólida cobertura inmunológica de la población susceptible, difícil de ser alcanzada con las vacunas hoy disponibles que necesitan una aplicación cada 4 meses.

Teniendo en cuenta estas nuevas estrategias de combate y la perspectiva de poder utilizar una vacuna con adyuvante oleoso que satisfaga plenamente los requisitos de una mayor capacidad inmunogénica, el BID aprobó un proyecto sobre vacuna oleosa contra la fiebre aftosa elaborado por el CPFA cuyo propósito es divulgar los resultados obtenidos con este tipo de vacuna y establecer las bases para su empleo.

Este proyecto hace parte del PROASA y tiene como objetivo terminal establecer los criterios estratégicos, tácticos y operativos para el uso de este tipo de vacuna en los países de América del Sur.

El primer seminario del PROASA fue realizado en junio de 1982 en la sede del CPFA, con la participación de los jefes de los programas nacionales de todos los países sudamericanos y los asesores del Centro. Del informe final de dicho seminario se extrajo el resumen que aparece en el Cuadro 3,

donde se presenta un diagnóstico de situación de cada país, referente a la vacuna de adyuvante oleoso y su uso.

Como en las nuevas estrategias de combate no se considera la utilización de vacuna de forma masiva y sistemática de manera uniforme en toda la población bovina, sería posible la incorporación gradual de la vacuna con adyuvante oleoso, según la disponibilidad que tengan los órganos oficiales, a través de los laboratorios oficiales y/o privados. Se concluyó que los órganos oficiales deben usar este producto prioritariamente en las áreas de mayor importancia epidemiológica, como por ejemplo, en las áreas endémicas primarias y en los convenios de frontera donde el movimiento de animales o las condiciones epidemiológicas impliquen un alto riesgo de difusión de la enfermedad entre los países limítrofes.

CONCLUSION

Si bien es cierto que solamente el uso de vacunas, aun de elevado poder inmunogénico, por sí solo no garantiza la eliminación de la fiebre aftosa, la posibilidad de poder contar con una vacuna con las características de alto poder de protección y duración de inmunidad satisface los deseos y perspectivas de las autoridades sanitarias y de los ganaderos. La incorporación de la vacuna oleosa en los programas oficiales permitirá la utilización de esquemas de vacunación alternativos que pueden ser adaptados de acuerdo con las características epidemiológicas regionales, dando prioridad a las áreas endémicas primarias, tal como se plantea en el documento sobre la "Política y Estrategias del Combate de la Fiebre Aftosa en Sudamérica para la Década de 1981-1990".

Actualmente hay un gran interés en los países sudamericanos por aumentar la eficiencia y eficacia de los programas de control de la fiebre aftosa con el objetivo de erradicarla. Por otro lado, existe una marcada necesidad de alcanzar una mayor racionalización en el uso de los recursos y, por lo tanto, los avances metodológicos y tecnológicos presentados se dirigen hacia el logro de esos objetivos.

CUADRO 2. Estrategias para control y erradicación de la fiebre aftosa en América del Sur.

Ecosistemas identificados	Principales características	Ejemplo típico	Estrategias de combate
Endémicos primarios	<ul style="list-style-type: none"> • Presencia del agente en forma permanente; • Cría extensiva con predominio de razas o cruza productoras de carne; • Pasturas naturales; • Baja densidad poblacional; • Exportadora de terneros y novillos terminados; • Escasa introducción de susceptibles. 	Pantanal mato-grosense, Brasil	<ul style="list-style-type: none"> • Combinación de acciones destinadas a una sólida cobertura inmunológica de la población con vacunas de mayor poder inmunológico; • Fuerte protección y estricto control sanitario de la salida de los animales; • Vigilancia epidemiológica por cuadrante para el control de la salida; • Educación sanitaria (movimiento controlado).
Endémicos secundarios	<ul style="list-style-type: none"> • Presencia del agente asegurada por el ingreso de fuentes de infección y susceptibles; • Predominio de establecimiento de tamaño medio; • Intensa movilización de los animales; • Pasturas mejoradas; • Infraestructura vial es generalmente buena; • Frigoríficos y mataderos. 	Pampa húmeda, Argentina	<ul style="list-style-type: none"> • Control de ingreso de ganado, acompañamiento, vacunaciones locales; • Vacunación masiva y sistemática; • Oportuna eliminación de los focos; • Vigilancia epidemiológica de acuerdo con el movimiento de los animales; • Educación sanitaria (notificación de focos).
Esporádicos	<ul style="list-style-type: none"> • El agente es introducido circunstancialmente a través del ingreso de animales o subproductos; • Cuencas lecheras, ganadería marginal, complementaria o de subsistencia; • Renovación poblacional lenta. 	Cuenca lechera de Montevideo, Uruguay	<ul style="list-style-type: none"> • Eliminación de la enfermedad; • Reemplazar gradualmente la vacunación masiva y sistemática por otras medidas preventivas; • Introducir la vacunación estratégica o emergencial; • Intensificar la vigilancia epidemiológica, mayor sensibilidad; • Educación sanitaria (notificación, alerta, ingreso de animales).
Libres	<ul style="list-style-type: none"> • Ausencia del agente en las poblaciones susceptibles. 	<ul style="list-style-type: none"> • Chile • Guyana • Suriname • Guay. Franc. • Sur Patagonia 	<ul style="list-style-type: none"> • Consolidación y ampliación de las áreas libres; • Rigurosa vigilancia epidemiológica; • Educación sanitaria; • Programa de prevención.

FUENTE: — Política y estrategias del combate de la fiebre aftosa en Sudamérica para la década de 1981-1990, COSALFA 1981.

— OBIAGA, J.A., ROSENBERG, F.J., ASTUDILLO, V., GOIC M., R. Las características de la producción pecuaria como determinantes de los ecosistemas de fiebre aftosa. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 33-34: 33-42, 1979.

La selección de diferentes estrategias de combate, de acuerdo con las características epidemiológicas y el uso de la vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso según esas estrategias, son dos importantes cambios que se vislumbran a corto plazo en América del Sur, lo que debe producir un menor costo

operacional, mayor efectividad de los programas, contribuir a dar mayor crédito a los servicios de salud animal, mayor confianza a los funcionarios de salud animal y a la comunidad en general que ya no aceptan convivir con la enfermedad y mantener las tradicionales estrategias de combate.

CUADRO 3. Estado actual de las perspectivas de producción industrial y estrategias para el uso de la vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso en áreas endémicas

Países	Producción industrial	Estrategias para el uso
ARGENTINA	<ul style="list-style-type: none"> • Los órganos oficiales han promovido y estimulado la producción; • Existe reglamentación para el registro; • Un laboratorio privado produce vacuna con aprobación oficial para ser aplicada cada 4 meses. 	<ul style="list-style-type: none"> • Se está utilizando en una región de alta incidencia en un total de 30.000 bovinos (Plan Hipólito Irigoyen); • Se ha establecido que en una fase inicial podrá ser utilizada en cualquier región del país. Posteriormente se reorientará a áreas epidemiológicamente importantes.
BOLIVIA	<ul style="list-style-type: none"> • No produce vacuna; • Las necesidades futuras serán cubiertas con vacunas importadas. 	<ul style="list-style-type: none"> • Se está utilizando en un proyecto demostrativo en el valle central de Cochabamba con un total de 40.000 bovinos; • Se utilizará en el departamento del Beni, área endémica primaria con un población aproximada de 2 millones de cabezas.
BRASIL	<ul style="list-style-type: none"> • Los órganos oficiales tienen gran interés en la producción de vacunas oleosas; • Hay reglamentación para registro; • Siete laboratorios privados están realizando trabajos sobre vacunas oleosas y 2 ya presentaron partidas para registro; • Existe un convenio entre el Ministerio de Agricultura y la OPS/CPFA para la instalación de un laboratorio en Campinas que se encuentra en fase adelantada de montaje; • La Secretaría de Agricultura del estado de Río Grande do Sul también está concluyendo otro laboratorio de carácter oficial; • Se considera que será cumplida la demanda de vacuna para las estrategias de control de la fiebre aftosa. 	<ul style="list-style-type: none"> • Hay varios proyectos demostrativos en diferentes regiones del país que cubren una población superior a 600.000 bovinos; • La estrategia del uso se basará en la regionalización epidemiológica. Las áreas prioritarias serán las de características endémicas primarias; • El uso de vacuna será orientado por el Ministerio de Agricultura y no será utilizada a nivel nacional; • Se estima que la vacuna cubrirá una población de 20-30 millones de bovinos; • También se ha previsto el uso de la vacuna en cerdos en las regiones de mayor riesgo; • Se estima vacunar los bovinos del Pantanal Matogrosense con una población prevista de 300.000 animales.

Cont.

CUADRO 3. (Cont.)

Países	Producción industrial	Estrategias para el uso
COLOMBIA	<ul style="list-style-type: none"> • El laboratorio oficial VECOL ya hizo el montaje adicional para la producción de vacuna oleosa; • Ya está en producción de lotes preindustriales; • Para efectos de registro y aprobación se están siguiendo normas preliminares suministradas por el CPFA. 	<ul style="list-style-type: none"> • Hay varios proyectos de pequeña escala, 3.000 bovinos en los llanos y 6.000 en Leticia; • Se ha previsto utilizar la vacuna en la zona uno de la costa Atlántica en una población de 12 millones de bovinos; • También se prevé la utilización en otras regiones del país por medio de áreas demostrativas orientadas a promover el uso de esta vacuna; • Se realizó una vacunación primaria en 35.000 bovinos en Urabá.
ECUADOR	<ul style="list-style-type: none"> • La producción de vacuna antiaftosa es oficial; • No hay previsiones de producción a corto plazo; • Se considera que en un futuro habrá capacidad de laboratorio para la producción de vacuna oleosa. 	<ul style="list-style-type: none"> • Se ha previsto el uso de vacuna oleosa en el área del convenio fronterizo con Colombia; • Se considera que el uso puede ser fácilmente orientado.
PARAGUAY	<ul style="list-style-type: none"> • No hay producción de vacuna oleosa; • Hay mucho interés por parte de los órganos oficiales; • Tienen varias alternativas para la obtención de la vacuna: <ol style="list-style-type: none"> a) se está tramitando ante el CPFA el suministro de 500.000 dosis anuales; b) existe la posibilidad de adaptar el laboratorio oficial de SENACSA; c) laboratorios privados tienen la intención de producir vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso. • El control de calidad de la vacuna oleosa será hecho con base en las normas preliminares suministradas por el CPFA. 	<ul style="list-style-type: none"> • Hay un plan piloto en los distritos de Quyuquyhó y Caapucú con aproximadamente 35.000 animales; • Hay un proyecto de utilizar 500.000 dosis en la región occidental en las áreas endémicas primarias; • También se prevé su uso en el área del convenio fronterizo con Brasil, en el estado de Paraná.
PERU	<ul style="list-style-type: none"> • La producción de vacuna antiaftosa es oficial; • Se considera que el laboratorio podrá ser fácilmente adaptado para la producción de vacuna oleosa. 	<ul style="list-style-type: none"> • Hay un plan piloto en el departamento de San Martín, considerado área endémica primaria en una población de 35.000 bovinos y 3.000 en Lima; • La estrategia prevé el uso de vacuna oleosa en las áreas endémicas primarias; • También se ha previsto la aplicación en situaciones de emergencia en áreas fronterizas.

Cont.

CUADRO 3. (Cont.)

Países	Producción industrial	Estrategias para el uso
URUGUAY	<ul style="list-style-type: none"> • En el momento no hay producción industrial; • Dos de los cuatro laboratorios privados tienen tecnología para la elaboración de la vacuna oleosa y otro está en condiciones de adoptar la tecnología del CPFA; • El criterio oficial sobre el control de calidad es el de aprobar las vacunas que confieren inmunidad por seis meses o más independientes de su composición. 	<ul style="list-style-type: none"> • Hay un plan piloto con 52.000 cabezas en la cuenca lechera de Montevideo. Se estima una meta de 150.000 bovinos; • La estrategia es utilizar vacunas que confieren inmunidad por períodos de seis meses en cualquier región del país.
VENEZUELA	<ul style="list-style-type: none"> • La producción de la vacuna antiaftosa es oficial con base en virus vivo atenuado; • Está en proceso de financiamiento la construcción de un laboratorio para producir vacuna oleosa mediante convenio con la OPS/CPFA. 	<ul style="list-style-type: none"> • Hay un área demostrativa en el estado de Monagas con 50.000 bovinos; • Se prevé el uso de vacuna oleosa en el área oriental que es endémica primaria; • La meta de uso para 1984 es de 5 millones de dosis.

FUENTE: Seminario de divulgación de los mecanismos técnicos y operativos para el uso de la vacuna con adyuvante oleoso en los programas de lucha contra la fiebre aftosa en América del Sur. Rio de Janeiro, Brasil, mayo 31 - junio 4, 1982.

BIBLIOGRAFIA DE CONSULTA

1. ABARACON, D., ALONSO FERNANDEZ, A., MAGALLANES, N., CHARLES, E.G., DURINI, L.A. Protección de bovinos después de vacunados con vacunas antiaftosa con adyuvante oleoso. (Protection of cattle following vaccination with oil-adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa 37-38: 41-43, 45-47, 1978.*
2. 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). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa 37-38: 17-20, 21-24, 1980.*
3. ALONSO FERNANDEZ, A., SÖNDAHL, M.S., GOMES, I., AUGÉ DE MELLO, P. Vacuna oleosa: cobertura inmunológica de las cepas del virus de la fiebre aftosa, tipo A, representativas de Sudamérica. (Oil adjuvanted vaccine: immunological coverage of representative strains of foot-and-mouth disease type A virus in South America). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa 26: 49-50, 51-52, 1977.*
4. ASTUDILLO, V. & AUGÉ DE MELLO, P. Análisis del costo y de la efectividad de dos procedimientos de vacunación antiaftosa. (Cost and effectiveness analysis of two foot-and-mouth disease vaccination procedures). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa 37-38: 49-55, 57-63, 1980.*
5. 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). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa 23-24: 17-24, 1976.*
6. AUGÉ DE MELLO, P. Consideraciones sobre la profilaxis de la fiebre aftosa en la especie porcina. (Reflections on the prevention of foot-and-mouth disease in swine). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa 35-36: 55-58, 59-61, 1979.*
7. 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). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 19-20: 31-38, 39-47, 1975.
8. 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). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 26: 23-25, 27-29, 1977.
 9. 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). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 37-38: 5-9, 11-15, 1980.
 10. AUGÉ DE MELLO, P. & GOMES, I. Respuesta anamnésica en bovinos a la revacunación con vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso. (Anamnestic response in cattle after revaccination with oil adjuvanted foot-and-mouth disease vaccines). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 27-28: 49-54, 55-60, 1977.
 11. 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). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 31-32: 1-6, 7-12, 1978.
 12. AUGÉ DE MELLO, P., GOMES, I., ALONSO FERNANDEZ, A., MASCARENHAS, J.C. Vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso para cerdos. II. Vacuna 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). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 31-32: 13-19, 21-27, 1978.
 13. AUGÉ DE MELLO, P., SUTMÖLLER, P., COSTA, K. de F., MILLAN, A. Persistencia de anticuerpos en respuesta a la revacunación con vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso. (Persistence of antibody response after revaccination with oil-adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 37-38: 37-38, 39-40, 1980.
 14. CASAS OLASCOAGA, R. Summary of current research of the Pan American Foot-and-Mouth Disease Center on oil adjuvanted vaccines. *Bull. Off. int. Epiz.* 89 (11-12): 1015-1054, 1978.
 15. CASAS OLASCOAGA, R. Resumen de las investigaciones actuales realizadas en el Centro Panamericano de Fiebre Aftosa sobre vacunas de adyuvante oleoso. CPFA, 1978. 33p.
 16. CASAS OLASCOAGA, R. Resumen de las investigaciones actuales en el Centro Panamericano de Fiebre Aftosa sobre vacunas de adyuvante oleoso. Presentado en el 25º Aniversario de los Laboratorios Sobrino S.A., el 30 de mayo de 1980 en la Academia de Ciencias Veterinarias de Barcelona, España.
 17. CENTRO DE ENFERMEDADES DE LOS 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 acetiltileneimina 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 with incomplete Freund's adjuvant). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 19-20: 1-8, 9-16, 1975.
 18. CENTRO DE ENFERMEDADES DE LOS ANIMALES DE PLUM ISLAND, CENTRO PANAMERICANO DE FIEBRE AFTOSA. Vacunas contra la fiebre aftosa. II. Estudios sobre duración de la inmunidad en bovinos y porcinos. (Foot-and-mouth disease vaccines. II. Studies on the duration of immunity in cattle and pigs). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 19-20: 17-23, 24-30, 1975.
 19. CENTRO PANAMERICANO DE FIEBRE AFTOSA. Manual de procedimientos para el control de vacuna antiaftosa. *Ser. Man. Técn.* CPFA, 2, 1980. 47p.
 20. CENTRO PANAMERICANO DE FIEBRE AFTOSA. Evaluación de proyectos de vacunación de bovinos con vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso del Centro Panamericano de Fiebre Aftosa. Junio, 1981, 148p.
 21. CENTRO PANAMERICANO DE FIEBRE AFTOSA. Situación de los programas de control de la fiebre aftosa. América del Sur, 1981. 42p.
 22. 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 pre-

- parada 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 in guinea pigs and cattle). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 29-30: 55-59, 61-65, 1978.
23. COMISION SUDAMERICANA PARA LA LUCHA CONTRA LA FIEBRE AFTOSA. Política y estrategias del combate de la fiebre aftosa en Sudamérica para la década 1981-1990. CPFA, 1981. 16p.
 24. GOMES, I. Aplicación de vacuna de adyuvante oleoso para el control de un brote de fiebre aftosa en porcinos del municipio de Campos, RJ, Brasil. (Use of oil-adjuvant foot-and-mouth disease vaccine for the control of an outbreak in swine in the municipality of Campos, RJ, Brazil). *Inf. Epid. Mensual CPFA* 11 (7): 82-84, 1979.
 25. GOMES, I. Persistencia de anticuerpos circulantes en porcinos revacunados con vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso. Comunicación breve. (Persistence of circulating antibodies in swine revaccinated with oil-adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine. Short communication). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 39-40: 43-45, 47-49, 1980.
 26. GOMES, I. & AUGÉ DE MELLO, P. Comparación de vacunas con adyuvante oleoso preparadas con Arlancel A y Montanide 80. (Comparison of oil adjuvanted vaccines prepared with Arlancel A and Montanide 80). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 31-32: 41-42, 43-44, 1978.
 27. GOMES, I., AUGÉ DE MELLO, P., ALONSO FERNANDEZ, A., COSTA, K. de F. Vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso para cerdos. III. Respuesta inmunitaria con vacunas emulsificadas por vibración ultrasónica o por agitación mecánica. (Foot-and-mouth disease oil adjuvanted vaccines for pigs. III. Immune response of vaccines emulsified by ultrasonic or mechanical equipment). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 35-36: 19-25, 27-33, 1979.
 28. GOMES, I., SUTMÖLLER, P., CASAS OLASCOAGA, R. Respuesta en bovinos a la exposición del virus de la fiebre aftosa un año después de inmunizados con vacuna con adyuvante oleoso. (Response of cattle to foot-and-mouth disease (FMD) virus exposure one year after immunization with oil adjuvanted FMD vaccine). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 37-38: 25-29, 31-35, 1980.
 29. OBIAGA, J.A., ROSENBERG, F.J., ASTUDILLO, V., GOIC M., R. Las características de la producción pecuaria como determinantes de los ecosistemas de fiebre aftosa. (Characteristics of livestock production as determinant of foot-and-mouth disease ecosystems). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 33-34: 33-42, 43-52, 1979.
 30. ROSENBERG, F.J. & ASTUDILLO, V. Evaluación de estrategias alternativas para el control de la fiebre aftosa en Paraguay. (Evaluation of alternative strategies for foot-and-mouth disease control in Paraguay). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 31-32: 45-52, 53-60, 1978.
 31. ROSENBERG, F.J., ASTUDILLO, V., GOIC M., R. Regional strategies for the control of foot-and-mouth disease: An ecological outlook. *In: Proc. II. Symp. Vet. Epidem. and Econ., Canberra, Australia*, 587-596, 1979.
 32. SUTMÖLLER, P. The prospects of oil adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine in South America. *In: Inter. Symp. Foot-Mouth Dis., Lyon, 1976. Develop. biol. Standard.* 35: 135-138, 1977.

THE USE OF OIL-ADJUVANTED FOOT-AND-MOUTH DISEASE VACCINE IN ENDEMIC AREAS¹

*P. Augé de Mello*²

SUMMARY

The use of oil-adjuvanted foot-and-mouth disease (FMD) vaccine provides the vaccinated herd with a more adequate protection and longer-lasting immunity. The lower number of required vaccinations represents a great economic benefit due to the programs' significantly lower operating costs.

The document "Policy and Strategies for the Control of Foot-and-Mouth Disease in South America in the Ten-year Period 1981-1990" was approved at the Ninth Meeting of the South American Commission for the Control of Foot-and-Mouth Disease (COSALFA). That document sets forth the goals for the control and eradication of FMD on the continent, provides for the reorganization of the control strategies based on the disease's regional epidemiological characteristics, and states the need to incorporate vaccines having greater immunogenic potency into the programs.

As part of the Animal Health Training Program in Latin America (PROASA), the Inter-American Development Bank (IDB) approved a project involving experimentation with oil-adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine prepared at the Pan American Foot-and-Mouth Disease Center (PAFMDC). The project aims to make known the results obtained with this type of vaccine and to establish the strategic, tactical and operational criteria for its use in South America.

The first PROASA seminar was held in June, 1982. The conclusion reached was that the official bodies should recommend the use of oil-adjuvanted vaccine as a priority in the areas of major

epidemiological importance, such as the primary endemic areas, and in border agreements where the movement of animals or the epidemiological conditions represent a high risk of spreading the disease among the countries. A summary of the situational diagnosis of each of the countries with respect to the use of oil-adjuvanted vaccine is included.

ANTECEDENTS

The laboratory experiments involving inactivated FMD vaccine prepared with Freund's incomplete adjuvant (oil-adjuvanted vaccine), conducted by the PAFMDC in cooperation with the United States Department of Agriculture's Plum Island Animal Disease Center, have shown that this type of formulation induces a better and longer-lasting immune effect in cattle as well as in pigs and sheep.

The results of that phase of studies, concluded at the end of the 1970's, highlighted the importance that this type of vaccine could have in the official FMD control programs in South America.

A more adequate protection of the susceptible herd and longer-lasting immunity, especially in the bovine species, could be expected in endemic areas where frequent vaccinations are difficult to administer. The reduced number of annual vaccinations, wherever this practice is justifiable, would likewise bring economic benefits by substantially cutting the operating costs of the programs.

With this perspective in mind, the PAFMDC gave priority attention to studies of oil-adjuvanted vaccine in cattle. In cooperation with the Brazilian Ministry of Agriculture, a 3-year field project was initiated in April, 1972. The project's objective was to evaluate both the immunological behavior of oil-adjuvanted vaccine in cattle under strict control and the feasibility of the vaccination procedures in the field.

¹Presented at the III National Veterinary Congress, Veterinary Med. Society of Uruguay, Nov., 1982.

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

The "Cinco Cruzes" Experimental Station was chosen as the site of the experiment. Operated by the Brazilian Agricultural and Livestock Research Company (EMBRAPA), which is subjunct to the Ministry of Agriculture, the Station is located in the municipality of Bage, State of Rio Grande do Sul. It was selected for its excellent technical and administrative infrastructure, as well as for the characteristics of its herd of 3000 head of cattle intended for breeding purposes.

The results achieved by the end of the project confirmed the excellent immunogenic behavior of the oil-adjuvanted vaccine previously obtained in experimental conditions. Satisfactory immunization of the bovine herd was achieved by vaccinating the young cattle every six months up to the age of two years, followed by vaccination of previously vaccinated cattle once every twelve months thereafter.

The vaccine was administered by the deep intramuscular route in the upper third flat part of the neck. No local or general reactions, collateral effects or secondary complications were observed. The herd yield in terms of weight gain and milk production was not affected at all, nor were any problems encountered during veterinary inspection at slaughter.

The vaccinations administered during the project were given concomitantly with other types of routine handling at the Station, such as: branding, castrating, deticking baths, deworming and brucellosis vaccination. On one occasion the cattle were simultaneously vaccinated against rabies (ERA). At no time was the immunogenic response of the oil-adjuvanted vaccine affected by any of the foregoing procedures.

The results attained in the first field stage were highly promising. The PAFMDC was therefore encouraged to expand the observations to a larger number of cattle exposed to different degrees of risk in varying types of cattle-raising and management techniques.

The first massive demonstration project was started in 1976 with the inclusion of several farm properties neighboring the "Cinco Cruzes" Experimental Station. A population composed of cross-bred Holstein-Zebu cattle in the Municipality of Valença, State of Rio de Janeiro, was also included.

As other demonstration projects in other countries were brought into the project, the PAFMDC began to develop the production of oil-adjuvanted vaccine on a semi-industrial scale. Research on the vaccine efficacy and potency tests were also expanded with the cooperation of the Foot-and-Mouth Disease Control Board of Uruguay (DILFA), the Laboratory Service (SELAB) of the National Animal Health Service of Argentina (SENASA), and the Regional Animal Support Laboratory (LARA) of Brazil's Ministry of Agriculture.

Table 1 presents a summary of the field demonstration projects which currently administer oil-adjuvanted vaccine prepared by the PAFMDC. All the projects are conducted by the official bodies of each country. In the milk-shed area of Montevideo the Milk Producers Cooperative of Uruguay (CONAPROLE) also participates.

TABLE 1. *Demonstration Projects with oil-adjuvanted vaccine in South America*

Country/Project	Project begun	No of cattle ^a
Argentina/Hipolito Irigoyen	1976 ^b	30,000
Bolivia/Cochabamba	1979	37,200
Brazil/Bage	1976	397,000
Brazil/Valença	1976 ^c	46,300
Brazil/Federal District	1979	61,500
Brazil/Roraima	1979	110,000
Colombia/Leticia	1980	6,000
Colombia/Llanos		3,000
Colombia/Uraba	1981	35,000
Paraguay/Paraguari	1980	33,600
Peru/Lima	1978	3,000
Peru/San Martin		35,000
Uruguay/Montevideo Milk-Shed	1977	52,200
Venezuela/Monagas	1982	50,000
Total		899,800

^aUntil June 1982.

^bINTA project PAFMDC collaboration.

^cEnded 1980.

In June, 1982, the projects were evaluated and the following main conclusions were reached:

- induces a greater and longer-lasting immune response in young and adult bovines;
- provides the exposed populations with a high degree of protection, thereby producing a lower FMD morbidity rate;
- no undesirable effects or secondary complications were noted on the animals' health, herd yield or during veterinary inspection at slaughter;
- no difficulties are encountered in handling the vaccine, thereby assuring the feasibility of its use both in field conditions and massively;
- permits different vaccination schemes with longer intervals between vaccinations, thereby significantly reducing costs;
- provides a satisfactory immune level for cattle populations in endemic areas where management and handling are difficult;
- presents less risk of allergic reactions due to the reduced vaccination frequency and the adjuvant's characteristics.

The development of the semi-industrial technology for the formulation and emulsification of oil-adjuvanted vaccine and its control methods was completed. The production technology developed at the PAFMDC is currently being transferred to the official and private industrial production laboratories.

OUTLOOK FOR THE USE OF OIL-ADJUVANTED VACCINE IN THE FMD CONTROL AND ERADICATION PROGRAMS IN SOUTH AMERICA

The official foot-and-mouth disease control programs in South America got underway in the 1960's. A uniform strategy was adopted for all countries. Priority was directed to immunization of all the susceptible cattle population every four months. The systematic vaccination utilized inactivated vaccines containing aluminum hydroxide and saponin as the adjuvants. Venezuela elected to use attenuated live virus vaccines applied every six months.

The massive vaccination of the entire susceptible population every four months was a very

ambitious goal with high operating costs. It was practically impossible to accomplish in many areas of the continent where frequent vaccination of the cattle is difficult because of climatic and environmental conditions. This held true even when the countries were successful in establishing an animal health infrastructure that enabled the official programs to achieve a good geographical coverage.

The lower frequency observed in the epidemic waves of high morbidity and mortality, common in the years prior to the 1960's; the striking reduction in FMD incidence observed in various countries; and the fact that clinical cases have been relatively mild, may all be indicators of an important change in the disease's morbid aspects. These accomplishments are some of the effects of the official programs. One of the major successes in the recent eradication of foot-and-mouth disease in Chile, undoubtedly the most significant achievement in the past 20 years in South America. However, the control strategy applied in that case was not the traditional uniform approach. Rather, priority effort concentrated on the breeding areas identified by the epidemiological information as being responsible for the origin of the epidemic waves in Chile, and for the introduction and maintenance of the agent in the cattle populations located in the finishing and milk-producing areas.

Also of foremost importance to the successful efforts in Chile was the adequate balance and effectiveness with which the control action was carried out, such as: utilization of inactivated vaccine whose immunogenic value was ascertained by means of efficacy tests; strict control of cattle transit; intensification of animal health and sanitary education; effective monitoring and follow-up of the program's results, with subsequent changes in strategy when so required.

As a result of the organization of the programs in the countries, the bases for the characterization of the disease's epidemiological behavior were established through the epidemiological surveillance and information systems implemented at the national and continental levels. This approach disclosed the existence of at least four well-defined FMD ecosystems (free, sporadic, secondary

endemic, and primary endemic). Specific control strategies could therefore be established in accordance with the ecosystems. Table 2 summarizes the main characteristics of the identified ecosystems and the control strategies recommended for each particular case.

At the 9th Meeting of COSALFA, the document entitled "Policy and Strategies for the Control of Foot-and-Mouth Disease in South America in the Ten-year Period 1981-1990" was approved. It sets forth the new goals for the control and eradication of FMD on the continent for the current ten-year period. Generally, the document provides for the reorganization of the campaign strategies based on the studies of the disease's regional epidemiology and the need for the programs to incorporate vaccines possessing greater immunogenic potency.

Thanks to its immunogenic characteristics, which permit less frequent vaccination of both young and adult cattle, the oil-adjuvanted vaccine will evidently play a major role in this new approach to FMD control oriented toward eradicating the disease. This factor is of great importance in the primary endemic areas where a solid immunological coverage of the susceptible population is required, but is difficult to achieve with current vaccines that must be administered every 4 months.

Taking into account these new control strategies and the outlook of being able to utilize an oil-adjuvanted vaccine that fully meets the requirements of a greater immunogenic capability, the IDB approved a project involving oil-adjuvanted vaccine prepared by the PAFMDC. The objective is to make known the results obtained with this type of vaccine and to establish the bases for its use.

This project is part of PROASA. Its end purpose is to establish the strategic, tactical and operational criteria for the use of this type of vaccine in the South American countries.

The first PROASA seminar, held in June, 1982, at the PAFMDC headquarters in Rio de Janeiro, was attended by the Center's advisors and the heads of the national FMD programs of all the South American countries. The final report issued by the Seminar provided the information

in Table 3, which summarizes a diagnosis of the country-by-country situation of the production and use of oil-adjuvanted vaccine.

Whereas the new control strategies do not contemplate the massive or systematic utilization of vaccine uniformly in the entire cattle population, the use of oil-adjuvanted vaccine can be gradually implemented as it becomes available to the official organizations from the official and/or private laboratories. The Seminar likewise decided that the official bodies should give priority to this product's use in the areas of major epidemiological importance, such as in the primary endemic areas and the border agreement areas where animal movement or epidemiological conditions imply a high risk of spreading the disease among the common-border countries.

CONCLUSION

Even though it is certainly true that the use of vaccines, albeit of high immunogenic effect, does not suffice to ensure the elimination of foot-and-mouth disease, the possibility of relying on a vaccine that induces a high level of protection and longer-lasting immunity in the vaccinated animals meets the wishes and perspectives of both animal health authorities and cattlemen. The inclusion of the oil-adjuvanted vaccine in the official programs will permit the use of alternative vaccination schemes that can be adapted to the regional epidemiological characteristics. Priority can be given to the primary endemic areas, as proposed in the document "Policy and Strategies for the Control of Foot-and-Mouth Disease in South America in the Ten-year Period 1981-1990."

At present, the South American countries are very interested in increasing the efficiency and efficacy of the FMD control programs, with the aim of eradicating the disease. On the other hand, there is a striking need to achieve greater rational use of the resources. Hence, the methodological and technological advances presented are directed toward the accomplishment of those objectives.

TABLE 2. *Estrategies for control and eradication of foot and-mouth disease in South America*

Ecosystems identified	Main characteristics	Typical example	Control strategies
Primary endemic	<ul style="list-style-type: none"> • Agent permanently present; • Extensive breeding with predominance of pure or crossbred beef stock; • Natural pastures; • Low populational density; • Exports calves and finished steers; • Slight introduction of susceptible animals. 	Pantanal in Mato Grosso, Brazil	<ul style="list-style-type: none"> • Combination of action to produce a solid immunological cover of the population with vaccines having greater immunogenic effect; • Strong protection and strict sanitary control of exiting animals; • Epidemiological surveillance by grid map for exit control; • Sanitary education (controlled movement);
Secondary endemic	<ul style="list-style-type: none"> • Presence of agent ensured by entry of infection sources and susceptibles; • Predominance of medium-size properties; • Intense mobilization of the animals; • Improved pastures; • Road infrastructure generally good; • Slaughterhouses & packinghouses. 	Humid Pampa, Argentina	<ul style="list-style-type: none"> • Control of incoming cattle, monitoring, local vaccinations; • Massive, systematic vaccination; • Timely elimination of the foci; • Epidemiological surveillance according to the movements of the animals; • Sanitary training (notification of foci).
Sporadic	<ul style="list-style-type: none"> • Agent is introduced circumstantially by means of incoming animals or by-products; • Milk sheds, marginal, complementary of subsistence cattle-raising; • Slow population renewal. 	Milk-shed area around Montevideo, Uruguay	<ul style="list-style-type: none"> • Elimination of the disease; • Gradually replace massive & systematic vaccination by other preventive measures; • Introduce strategic or emergency vaccination; • Intensify epidemiological surveillance, greater sensitivity; • Sanitary training (notification, alert, entry of animals).
Free	<ul style="list-style-type: none"> • Absence of the agent in the susceptible populations. 	<ul style="list-style-type: none"> • Chile • Guyana • Surinam • French Guiana • South Patagonia 	<ul style="list-style-type: none"> • Consolidation and expansion of the free areas; • Rigorous epidemiological surveillance; • Sanitary training; • Prevention program.

SOURCES: — Policy and strategies of control of foot-and-mouth disease in South America in the ten-year period 1981-1990, COSALFA, 1981.

— OBIAGA, J.A., ROSENBERG, F.J., ASTUDILLO, V., GOIC M., R. Characteristics of Livestock Production as Determinant of Foot-and-Mouth Disease Ecosystems. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 33-34: 43-52, 1979.

The application of different control strategies, selected according to the epidemiological characteristics, and the use of oil-adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine in accordance with those strategies, are two important short-term changes envisaged in South America. These changes are expected to lower operating costs and increase

program effectiveness, while likewise raising the credibility of the animal health services. Confidence should consequently increase among the animal-health personnel and within the community at large, both of which no longer accept coexisting with the disease or maintaining the traditional control strategies.

TABLE 3. *Present status of the outlook for industrial production and strategies for the use of oil-adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine in endemic areas*

Countries	Industrial production	Strategies for use
ARGENTINA	<ul style="list-style-type: none"> • The official bodies have promoted and encouraged production; • Registration regulations exist; • A private laboratory produces vaccine with official approval for application every 4 months. 	<ul style="list-style-type: none"> • Is being used in a high-incidence region, on a total of 30,000 cattle (Hipólito Irigoyen Plan); • It has been established that, in an initial phase, the vaccine could be utilized in any region of the country. Later, use will be redirected to epidemiologically important areas.
BOLIVIA	<ul style="list-style-type: none"> • Does not produce vaccine; • Future needs will be covered by imported vaccines. 	<ul style="list-style-type: none"> • Is being used in a demonstration project in the central valley of Cochabamba, in a total of 40,000 cattle; • Will be used in the department of Beni, an endemic (primary) area having a population of roughly 2 million head.
BRAZIL	<ul style="list-style-type: none"> • The official bodies are very interested in producing oil-adjuvanted vaccines; • Registration regulations exist; • Seven private labs are engaged in work on oil-adjuvanted vaccines; two of them have already submitted batches for registration; • The Ministry of Agriculture and the PAHO/PAFMDC have entered into an agreement to set up a laboratory in Campinas, a project nearing completion; • The Rio Grande do Sul State Secretariat of Agriculture is also presently concluding another official laboratory; • It is believed that the demand for vaccine for the FMD control strategies will be met. 	<ul style="list-style-type: none"> • Several demonstration projects are underway in different regions of the country, covering over 600,000 head of cattle; • The strategy of use will be based on the regional epidemiological characterization, with primary endemic areas considered as priority areas; • The Ministry of Agriculture will orient the use of vaccine, which will not be utilized at the national level; • It is estimated that the vaccine will cover a bovine population of 20-30 million; • Plans also call for using the vaccine on pigs in the major risk areas; • It is estimated to vaccinate cattle population in the Mato Grosso Pantanal area.

Cont.

TABLE 3 (Cont.)

Countries	Industrial production	Strategies for use
COLOMBIA	<ul style="list-style-type: none"> • The official laboratory (VECOL) has installed the additional equipment to produce the oil-adjuvanted vaccine; • Preindustrial batches are already being produced; • Preliminary standards provided by the PAFMDC are being followed for registration and approval purposes. 	<ul style="list-style-type: none"> • There are several small-scale projects, 3000 bovines in the uplands (llanos) and 6000 in Leticia; • It is intended to use the vaccine in zone one, on the Atlantic coast, in a population of 12 million cattle; • Utilization in other regions is also planned, in demonstration areas oriented to promote the use of this vaccine; • Primary vaccination was conducted, involving 35,000 cattle in Urabá.
ECUADOR	<ul style="list-style-type: none"> • Production of FMD vaccine is official; • There are no plans for production over the short term; • It is believed that in the future there will be laboratory capacity for the production of oil-adjuvanted vaccine. 	<ul style="list-style-type: none"> • The use of oil-adjuvanted vaccine is planned in the border area with Colombia; • It is believed that the sector can be easily oriented to the use of the vaccine.
PARAGUAY	<ul style="list-style-type: none"> • No oil-adjuvanted vaccine is produced; • The official bodies are deeply interested; • They have various alternatives for obtaining the vaccine. <ol style="list-style-type: none"> a) negotiations are underway for a supply of 500,000 doses annually from the PAFMDC; b) there exists the possibility of adapting the official SENACSA laboratory; c) private laboratories are interested to produce oil-adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine. • Quality control of the oil-adjuvanted vaccine will be based on the preliminary standards set by the PAFMDC. 	<ul style="list-style-type: none"> • There is a pilot plan covering approximately 35,000 animals in the districts of Quyuquyhó and Caapucú; • There is a project to utilize 500,000 doses in the western region in the primary endemic areas; • Vaccine use is also planned for the border agreement area with Brazil, in the State of Paraná.
PERU	<ul style="list-style-type: none"> • Production of FMD vaccine is official. • It is believed that the laboratory can be easily adapted to produce oil-adjuvanted vaccine. 	<ul style="list-style-type: none"> • There is a pilot plan in the department of San Martín, considered as a primary endemic area, on a population of 35,000 bovines and 3000 in Lima; • Strategy plans to use oil-adjuvanted vaccine in the primary endemic areas; • Also planned is the use in emergency situations in border areas.

Cont.

TABLE 3. (Cont.)

Countries	Industrial production	Strategies for use
URUGUAY	<ul style="list-style-type: none"> • There is no industrial production at the moment; • Two of the four private laboratories possess the technology to prepare oil-adjuvanted vaccine, and another is ready to adopt the PAFMDC technology; • Official criteria regarding quality control extends approval to vaccines conferring immunity for six or more months regardless of their composition. 	<ul style="list-style-type: none"> • There is a pilot plan with 52,000 head in the milkshed area of Montevideo. The target is an estimated population of 150,000 cattle; • The strategy is to use vaccines that provide immunity for 6-month periods in any region of Uruguay.
VENEZUELA	<ul style="list-style-type: none"> • Production of FMD vaccine is official, based on attenuated live virus; • A process is underway to obtain financing for construction of a laboratory to produce oil-adjuvanted vaccine through an agreement with the PAHO/PAFMDC. 	<ul style="list-style-type: none"> • There is a demonstration area with 50,000 bovines in the state of Monagas; • Use of oil-adjuvanted vaccine is planned in the primary endemic eastern area; • The goal for 1984 is 5 million doses applied.

SOURCE: Seminario de divulgación de los mecanismos técnicos y operativos para el uso de la vacuna con adyuvante oleoso en los programas de lucha contra la fiebre aftosa en América del Sur. Rio de Janeiro, Brazil. May 31-June 4, 1982.

BIBLIOGRAPHY

1. ABARACON, D., ALCNSO FERNANDEZ, A., MAGALLANES, N., CHARLES, E.G., DURINI, L.A. Protección de bovinos después de vacunados con vacunas antiaftosa con adyuvante oleoso. (Protection of cattle following vaccination with oil-adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa 37-38*: 41-43, 45-47, 1978.
2. 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). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa 37-38*: 17-20, 21-24, 1980.
3. ALONSO FERNANDEZ, A., SÖNDAHL, M.S., GOMES, I., AUGÉ DE MELLO, P. Vacuna oleosa: cobertura inmunológica de las cepas del virus de la fiebre aftosa, tipo A, representativas de Sudamérica. (Oil adjuvanted vaccine: immunological coverage of representative strains of foot-and-mouth disease type A virus in South America). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa 26*: 49-50, 51-52, 1977.
4. ASTUDILLO, V. & AUGÉ DE MELLO, P. Análisis del costo y de la efectividad de dos procedimientos de vacunación antiaftosa. (Cost and effectiveness analysis of two foot-and-mouth disease vaccination procedures). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa 37-38*: 49-55, 57-63, 1980.
5. 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). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa 23-24*: 17-24, 1976.
6. AUGÉ DE MELLO, P. Consideraciones sobre la profilaxis de la fiebre aftosa en la especie porcina. (Reflections on the prevention of foot-and-mouth disease in swine). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa 35-36*: 55-58, 59-61, 1979.
7. 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). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 19-20: 31-38, 39-47, 1975.
8. 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). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 26: 23-25, 27-29, 1977.
 9. 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). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 37-38: 5-9, 11-15, 1980.
 10. AUGÉ DE MELLO, P. & GOMES, I. Respuesta anamnésica en bovinos a la revacunación con vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso. (Anamnestic response in cattle after revaccination with oil adjuvanted foot-and-mouth disease vaccines). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 27-28: 49-54, 55-60, 1977.
 11. 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). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 31-32: 1-6, 7-12, 1978.
 12. AUGÉ DE MELLO, P., GOMES, I., ALONSO FERNANDEZ, A., MASCARENHAS, J.C. Vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso para cerdos. II. Vacuna 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). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 31-32: 13-19, 21-27, 1978.
 13. AUGÉ DE MELLO, P., SUTMÖLLER, P., COSTA, K. de F., MILLAN, A. Persistencia de anticuerpos en respuesta a la revacunación con vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso. (Persistence of antibody response after revaccination with oil-adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine). *Bol. Centr. Panam. Fiebre aftosa* 37-38: 37-38, 39-40, 1980.
 14. CASAS OLASCOAGA, R. Summary of current research of the Pan American Foot-and-Mouth Disease Center on oil adjuvanted vaccines. *Bull. Off. int. Epiz.* 89 (11-12): 1015-1054, 1978.
 15. CASAS OLASCOAGA, R. Resumen de las investigaciones actuales realizadas en el Centro Panamericano de Fiebre Aftosa sobre vacunas de adyuvante oleoso. CPFA, 1978. 33p.
 16. CASAS OLASCOAGA, R. Resumen de las investigaciones actuales en el Centro Panamericano de Fiebre Aftosa sobre vacunas de adyuvante oleoso. Presentado en el 25º Aniversario de los Laboratorios Sobrino S.A., el 30 de mayo de 1980 en la Academia de Ciencias Veterinarias de Barcelona, España.
 17. CENTRO DE ENFERMEDADES DE LOS 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 acetiltileneimina 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 with incomplete Freund's adjuvant). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 19-20: 1-8, 9-16, 1975.
 18. CENTRO DE ENFERMEDADES DE LOS ANIMALES DE PLUM ISLAND, CENTRO PANAMERICANO DE FIEBRE AFTOSA. Vacunas contra la fiebre aftosa. II. Estudios sobre duración de la inmunidad en bovinos y porcinos. (Foot-and-mouth disease vaccines. II. Studies on the duration of immunity in cattle and pigs). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 19-20: 17-23, 24-30, 1975.
 19. CENTRO PANAMERICANO DE FIEBRE AFTOSA. Manual de procedimientos para el control de vacuna antiaftosa. *Ser. Man. Técn.* CPFA, 2, 1980. 47p.
 20. CENTRO PANAMERICANO DE FIEBRE AFTOSA. Evaluación de proyectos de vacunación de bovinos con vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso del Centro Panamericano de Fiebre Aftosa. Junio, 1981, 148p.
 21. CENTRO PANAMERICANO DE FIEBRE AFTOSA. Situación de los programas de control de la fiebre aftosa. América del Sur, 1981. 42p.
 22. 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 pre-

- parada 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 in guinea pigs and cattle). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 29-30: 55-59, 61-65, 1978.
23. COMISION SUDAMERICANA PARA LA LUCHA CONTRA LA FIEBRE AFTOSA. Política y estrategias del combate de la fiebre aftosa en Sudamérica para la década 1981-1990. CPFA, 1981. 16p.
 24. GOMES, I. Aplicación de vacuna de adyuvante oleoso para el control de un brote de fiebre aftosa en porcinos del municipio de Campos, RJ, Brasil. (Use of oil-adjuvant foot-and-mouth disease vaccine for the control of an outbreak in swine in the municipality of Campos, RJ, Brazil) *Int. Epid. Mensual CPFA* 11 (7): 82-84, 1979.
 25. GOMES, I. Persistencia de anticuerpos circulantes en porcinos revacunados con vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso. Comunicación breve. (Persistence of circulating antibodies in swine revaccinated with oil-adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine. Short communication) *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 39-40: 43-45, 47-49, 1980.
 26. GOMES, I. & AUGÉ DE MELLO, P. Comparación de vacunas con adyuvante oleoso preparadas con Arlacel A y Montanide 80. (Comparison of oil adjuvanted vaccines prepared with Arlacel A and Montanide 80). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 31-32: 41-42, 43-44, 1978.
 27. GOMES, I., AUGÉ DE MELLO, P., ALONSO FERNANDEZ, A., COSTA, K. de F. Vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso para cerdos. III. Respuesta inmunitaria con vacunas emulsificadas por vibración ultrasonica o por agitación mecánica. (Foot-and-mouth disease oil adjuvanted vaccines for pigs. III. Immune response of vaccines emulsified by ultrasonic or mechanical equipment). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 35-36: 19-25, 27-33, 1979.
 28. GOMES, I., SUTMÖLLER, P., CASAS OLASCOAGA, R. Respuesta en bovinos a la exposición del virus de la fiebre aftosa un año después de inmunizados con vacuna con adyuvante oleoso. (Response of cattle to foot-and-mouth disease (FMD) virus exposure one year after immunization with oil adjuvanted FMD vaccine). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 37-38: 25-29, 31-35, 1980.
 29. OBIAGA, J.A., ROSENBERG, F.J., ASTUDILLO, V., GOIC M., R. Las características de la producción pecuaria como determinantes de los ecosistemas de fiebre aftosa. (Characteristics of livestock production as determinant of foot-and-mouth disease ecosystems). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 33-34: 33-42, 43-52, 1979.
 30. ROSENBERG, F.J. & ASTUDILLO, V. Evaluación de estrategias alternativas para el control de la fiebre aftosa en Paraguay. (Evaluation of alternative strategies for foot-and-mouth disease control in Paraguay). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 31-32: 45-52, 53-60, 1978.
 31. ROSENBERG, F.J., ASTUDILLO, V., GOIC M., R. Regional strategies for the control of foot-and-mouth disease: An ecological outlook. *In: Proc. II. Symp. Vet. Epidem. and Econ., Canberra, Australia*, 587-596, 1979.
 32. SUTMÖLLER, P. The prospects of oil adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine in South America. *In: Inter. Symp. Foot-Mouth Dis., Lyon*, 1976. *Develop. Biol. Standard.* 35: 135-138, 1977.

PREPARACION DE VACUNA ANTIAFTOSA CON ADYUVANTE OLEOSO USANDO ANTIGENOS ADSORBIDOS SOBRE HIDROXIDO DE ALUMINIO

D. Abaracón¹; J.A. Mesquita¹; H. Giacometti¹; S. Sallúa²; R. Pérez Rama³

COMUNICACION BREVE

El Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (CPFA) ha publicado varios trabajos sobre vacunas con adyuvante oleoso. Estas vacunas consisten en una emulsión primaria, tipo agua-en-aceite, del virus de la fiebre aftosa multiplicado en células BHK₂₁ en botellas rotantes o en suspensión e inactivado con etilenimina binaria (BEI) (2, 5) y emulsionado, en la fase oleosa, con 90% de Marcol 52³ y 10% de mono-oleato de manitol (1, 3, 4, 6). Este tipo de vacuna es usado en bovinos por vía intramuscular a la dosis de 5 ml.

La vacuna así producida contiene 2,5 ml de la mezcla trivalente de antígenos inactivados por dosis, lo que de no usarse algún procedimiento de concentración, limita la masa antigénica a ser incorporada a la vacuna. La concentración del antígeno antes de la preparación de la vacuna ofrece ciertas ventajas que deben ser consideradas. Por ejemplo, la reducción del volumen de antígeno por concentración permite reducir la capacidad necesaria de las cámaras a 4°C, lo cual es una consideración importante en producción industrial, y también permite aumentar la cantidad de virus por dosis de vacuna, en caso de que esto sea indicado por las circunstancias epidemiológicas, como por ejemplo cuando las cepas actantes en el campo son parcialmente heterólogas a las usadas en las vacunas. Finalmente los antígenos concentrados pueden ser usados en una relación agua-en-aceite que resulte en emulsiones menos viscosas.

En esta comunicación se informa sobre la preparación de vacuna con antígenos adsorbidos sobre hidróxido de aluminio. Esta técnica es simple, bien conocida por los laboratorios productores de vacunas y muy efectiva ya que aproximadamente el 99,9% del virus es adsorbido, mientras que la mayor parte de las proteínas no víricas son eliminadas con el líquido sobrenadante.

Se describen los resultados obtenidos en varios experimentos realizados en bovinos con vacunas en las que el antígeno fue adsorbido en esta forma.

La fórmula básica de estas vacunas experimentales consistió en una emulsión primaria tipo agua-en-aceite, en la cual el antígeno adsorbido sobre el hidróxido de aluminio fue emulsificado en un volumen doble de la fase oleosa (90% de Marcol 52 y 10% de mono-oleato de manitol). La relación de las fases así como el volumen de la dosis variaron levemente en los varios experimentos.

En todos los experimentos se usó una vacuna de referencia, formulada de acuerdo con el procedimiento estándar del CPFA, conteniendo la misma masa antigénica que las vacunas experimentales. En las vacunas experimentales el antígeno fue mezclado con AL(OH)₃ (al 2,0% de AL₂O₃) en proporción de 92 partes de virus y 8 partes de hidróxido. Luego de hecha la adsorción se concentró en forma que cada dosis de vacuna de 2 ó 3 ml equivaliera a 2,5 ml de la mezcla trivalente de virus OAC, igual que en la dosis de 5 ml de las vacunas de referencia.

Los animales usados en los experimentos tenían edad variable entre 6 a 18 meses, siendo homogéneos dentro de cada experimento. Nunca habían sido vacunados y procedían de establecimientos libres de fiebre aftosa durante varios años. Los anticuerpos antes y después de la vacunación o revacunación fueron evaluados por seroprotección en ratones lactantes (7) y los resultados expresados como expectativas porcentuales de protección (EPP) (8).

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

²Dirección de Lucha Contra la Fiebre Aftosa (DILFA), Ruta Brig. Gral. Juan Antonio Lavalleja, Km 29, Pando, Canelones, Uruguay.

³Marcol 52 - Exxon Corporation, U.S.A.

En 7 experimentos (Cuadros 1, 2 y 3) en los cuales 208 bovinos fueron vacunados con vacuna oleosa, se comprobó que los antígenos que produjeron buenas vacunas en la formulación de referencia tuvieron por lo menos igual comportamiento luego de adsorbidos sobre hidróxido de aluminio en las vacunas experimentales. La reducción de la dosis de vacuna posibilitada por concentración del antígeno ofrece además la ventaja de requerir menores cantidades de aceite y emulsificante, ambos productos importados y de precio relativamente

elevado. Sin embargo, la dosis no debe ser demasiado pequeña porque crearía dificultades operativas en el momento de la vacunación. Por otro lado, el hidróxido de aluminio en las concentraciones en que fue incorporado a las vacunas experimentales no produjo efectos colaterales indeseables.

En el experimento N° 8 (Cuadro 4), tanto las vacunas experimentales como las de referencia, conservadas por 1 año a 4°C, no demostraron pérdida detectable de potencia.

CUADRO 1. Expectativas porcentuales de protección (EPP) en bovinos vacunados con vacunas de adyuvante oleoso, con o sin concentración del antígeno con hidróxido de aluminio

Experimento N°	Vacuna	Dosis bovina (ml)	Antígeno trivalente por dosis bovina (ml)	N° animales por grupo	Virus	EPP			
						0	1	3	6
1	Exper. ^a	2	2,5	12	O	< 30	90	87	
					A	< 30	98	91	
					C	< 30	98	87	
	Control ^b	5	2,5	12	O	< 30	99	83	
					A	< 30	91	90	
					C	< 30	99	83	
2	Exper.	3	2,5	12	O	< 30	79	68	
					A	< 30	88	88	
					C	< 30	97	81	
	Control	5	2,5	12	O	< 30	90	83	
					A	< 30	91	88	
					C	< 30	98	89	
3	Exper.	3	2,5	10	O	< 30	99	85	
					A	< 30	95	95	
					C	< 30	98	91	
	Control	5	2,5	10	O	< 30	99	77	
					A	< 30	96	94	
					C	< 30	96	88	
4	Exper.	3	2,5	12	O	< 30	99	70	60
					A	< 30	98	89	79
					C	< 30	97	74	75
	Control	5	2,5	12	O	< 30	89	52	46
					A	< 30	89	85	75
					C	< 30	95	63	62

^aVacuna experimental oleosa, con antígeno adsorbido sobre Al(OH)₃, relación fases acuosa + oleosa 1 + 2.

^bVacuna oleosa estándar, relación fases acuosa + oleosa 1 + 2.

MPV = Meses posvacunación.

CUADRO 2. Expectativas porcentuales de protección (EPP) en bovinos vacunados y revacunados a los 6 meses con vacunas de adyuvante oleoso, con o sin concentración del antígeno con hidróxido de aluminio

Experi- mento Nº	Vacuna	Dosis bovina (ml)	Antígeno trivalente por dosis bovina (ml)	Nº animales por grupo	Virus	EPP						
						MPV	0	1	2	4	6	
5	Exper. ^a	2	2,5	12	O	22	95	88	77	47	97	98
					A	22	99	98	98	96	96	98
					C	29	98	89	60	64	85	90
	Control ^b	5	2,5	12	O	24	84	85	58	55	85	91
					A	21	98	99	98	97	97	95
					C	30	95	82	65	69	85	81

^a Vacuna experimental con antígeno adsorbido sobre $Al(OH)_3$, relación fases acuosa + oleosa = 1 + 2.

^b Vacuna oleosa estándar, relación fases acuosa + oleosa = 1 + 1.

MPV = Meses posvacunación.

MPR = Meses posrevacunación.

CUADRO 3. Expectativas porcentuales de protección (EPP) en bovinos vacunados y revacunados a los 3 meses, con vacunas de adyuvante oleoso, con o sin concentración del antígeno con hidróxido de aluminio

Experi- mento Nº	Vacuna	Dosis bovina (ml)	Antígeno trivalente por dosis bovina (ml)	Nº animales por grupo	Virus	EPP					
						MPV	0	1	3	6	12
6	Exper. ^a	2	2,5	10	O	< 30	97	91	96	82	76
					A	< 30	99	99	87	95	84
					C	< 30	92	95	96	92	91
	Control ^b	5	2,5	10	O	< 30	98	93	95	79	84
					A	< 30	99	99	95	89	94
					C	< 30	99	99	95	89	94
7	Exper.	3	2,5	12	O	< 30	92	81	91	86	73
					A	< 30	88	87	91	84	62
					C	< 30	92	81	95	89	78
	Control	5	2,5	12	O	< 30	82	69	91	88	78
					A	< 30	82	80	93	87	62
					C	< 30	87	76	94	82	81

^a Vacuna experimental con antígeno adsorbido sobre $Al(OH)_3$, relación fases acuosa + oleosa = 1 + 2.

^b Vacuna oleosa estándar, relación fases acuosa + oleosa = 1 + 1.

MPV = Meses posvacunación.

MPR = Meses posrevacunación.

Para evaluar la reacción local producida por las vacunas oleosas con antígenos adsorbidos sobre hidróxido de aluminio frente a las vacunas oleosas de referencia, se usaron varios cientos de bovinos de diferentes edades y razas, a los que se aplicó un tipo de vacuna en cada lado del pescuezo por vía

intramuscular o subcutánea. Cuando se usó la vía intramuscular no se observaron reacciones locales. Por vía subcutánea, la vacuna conteniendo hidróxido mostró una leve tendencia a dar reacción persistente, pero la conclusión más evidente de estos

ensayos es que la reacción local depende más del individuo que del tipo de vacuna. Los animales que mostraron una reacción mayor de lo normal frente a un tipo de vacuna, también lo mostraron frente a la otra.

CUADRO 4. Resultados de las expectativas porcentuales de protección (EPP) a los 30 días posvacunación con vacunas experimentales y estándar recién preparadas y luego de conservadas a 4°C por 12 meses.

Experimento Nº	Vacuna	Dosis bovina (ml)	Antígeno por dosis bovina (ml)	Meses de conservación a 4°C	EPP ^a		
					Virus		
					O	A	C
8	Exper. ^b	2,0	2,5	1	95	99	98
				12	99	96	98
	Control ^c	5,0	2,5	1	84	98	95
				12	93	96	87

^a Grupos de 12 animales.

^b Vacuna experimental con antígeno adsorbido sobre Al(OH)₃, relación fases acuosa + oleosa = 0,7 + 1,3.

^c Vacuna oleosa estándar, relación fases acuosa + oleosa = 1 + 1.

REFERENCIAS

- ABARACON, D., ALONSO FERNANDEZ, A., MAGALLANES, N., CHARLES, E.G., DURINI, L.A. Protección de bovinos después de vacunados con vacunas antiaftosas con adyuvante oleoso. (Protection of cattle following vaccination with oil-adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 37-38: 41-43, 45-47, 1978.
- 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). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 33-34: 1-5, 7-11, 1979.
- AUGE 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 FMD vaccine: vaccination and revaccination of young cattle). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 19-20: 31-38, 39-47, 1975.
- AUGE DE MELLO, P., ASTUDILLO, V., GOMES, I., CAMPOS GARCIA, J.T. Respuesta inmunitaria de bovinos adultos vacunados contra la fiebre aftosa con vacuna oleosa. (Immune response of adult cattle vaccinated with oil adjuvanted foot-and-mouth disease vaccines). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 26: 23-25, 27-29, 1977.
- 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.
- CASAS OLASCOAGA, R. Summary of current research on the Pan American Foot-and-Mouth Disease Center on oil adjuvanted vaccines. *Bull. Off. int. Épiz.* 89 (11-12): 1015-1054, 1978-79.
- 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.
- GOMES, I., ASTUDILLO, V. Foot-and-mouth disease: Evaluation of mouse protection test results in relation to cattle immunity. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 17-18: 9-16, 1976.

FORMULATION OF OIL-ADJUVANTED FOOT-AND-MOUTH DISEASE VACCINES CONTAINING ANTIGEN ADSORBED TO ALUMINUM HYDROXIDE

D. Abaracón¹; J.A. Mesquita¹; H. Giacometti¹; S. Sallúa²; R. Pérez Rama³

SHORT COMMUNICATION

Several papers have been published by workers of the Pan American Foot-and-Mouth Disease Center (PAFMDC) on oil-adjuvanted foot-and-mouth disease (FMD) vaccines. These vaccines consist of primary emulsions type water-in-oil with the FMD antigens replicated on BHK₂₁ cells in roller bottles or suspension and inactivated with binary ethylenimine (BEI) (2, 5) in the aqueous phase and the oily phase of 90% Marcol 52³ and 10% of mannide monooleate (1, 3, 4, 6). This vaccine is used in cattle intramuscularly in a 5 ml dose.

Since, therefore the volume of antigen suspension is fixed at 2.5 ml per dose it is necessary to use some sort of antigen concentration technique in case a higher antigenic mass is to be incorporated in the vaccine. Also the concentration of antigens offers certain advantages which must be considered. For instance, the reduction of the volume of antigen by concentration requires less storage capacity of the 4°C cold rooms which is an important consideration in industrial production. Also concentration of antigen permits increasing the antigenic mass in the vaccine which may be important if the vaccines must be used against a new emerging strain which deviates from the vaccine strains. Finally, the concentrated antigens can be used in formulations with a lower water-in-oil ratio, which result in more fluid emulsions.

This communication reports on the formulation of vaccines with antigens adsorbed to aluminum

hydroxide gel. This technique is simple and well known in the FMD vaccine production laboratories and is very efficient since 99.9% of the FMD antigen is adsorbed while the major part of the non viral proteins are discarded with the supernatant.

Results of various cattle experiments with vaccines which contained antigens concentrated in this form are described.

The basic formulation of the experimental vaccines consisted of a water-in-oil type emulsion consisting of an aqueous phase, containing the antigen adsorbed to aluminum hydroxide gel and a double volume of the oily phase (90% Marcol 52 and 10% of mannide monooleate). The oil-aqueous phase ratio and dose volume varied somewhat in the various experiments.

In all experiments a reference control vaccine was used which was formulated according to described standard techniques of the PAFMDC and which contained the same antigenic mass as the experimental vaccines. For the experimental vaccines the inactivated virus suspensions were mixed with AL(OH)₃ (at 2.0% of AL₂O₃) in a proportion of 92 parts of virus suspension and 8 parts hydroxide. After adsorption the supernatant was discarded to arrive at vaccine which at 2 or 3 ml of the final dose contained an equal amount of antigens than the 5 ml dose of the reference vaccine.

All experiments were done on farms with cattle free of FMD for several years and which were kept under continuous surveillance for continuous FMD viral activity. The experimental cattle which were free of FMD antibody were of rather homogeneous in age within the experiments but varied between experiments from 6 to 18 months at the moment of first vaccination. Antibody assays were made by the mouse protection test (7) and the results evaluated as expected percentages of protection (EPP) (8).

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

² Dirección de Lucha Contra la Fiebre Aftosa (DILFA), Ruta Brig. Gral. Juan Antonio Lavalleja, Km 29, Pando, Canelones, Uruguay.

³ Marcol 52 - Exxon Corporation, U.S.A.

In 7 experiments (Tables 1, 2 and 3) in which 208 cattle were vaccinated with oil vaccines it was shown that antigens which performed well with regular oil-adjuvanted vaccines performed at least as well when adsorbed to aluminum hydroxide. A reduction of the vaccine dose, which was possible because of the concentration of the antigens may be a further advantage in addition to those already mentioned. It results in substantial savings of oil and emulsifier both of which are relatively expensive imported products. However, if the

dose is too small a large portion of the vaccine may be lost because of back flow at the time of vaccination under field conditions. The aluminum hydroxide incorporated in the experimental vaccines in the concentration used did not produce unusual undesirable side effects.

In experiment No. 8 (Table 4) vaccines containing either antigens adsorbed to aluminum hydroxide or free antigens (control vaccine) stored for 1 year at 4°C did not have any detectable loss of potency.

TABLE 1. *Expected percentages of protection (EPP) of cattle vaccinated with oil-adjuvanted vaccine, with or without concentration to aluminum hydroxide*

Experiment No.	Vaccine	Cattle dose (ml)	Trivalent antigen per cattle dose (ml)	Cattle per group	Virus	EPP			
						MPV			
						0	1	3	6
1	Exper. ^a	2	2.5	12	O	< 30	90	87	
					A	< 30	98	91	
					C	< 30	98	87	
	Control ^b	5	2.5	12	O	< 30	99	83	
					A	< 30	91	90	
					C	< 30	99	83	
2	Exper.	3	2.5	12	O	< 30	79	68	
					A	< 30	88	88	
					C	< 30	97	81	
	Control	5	2.5	12	O	< 30	90	83	
					A	< 30	91	88	
					C	< 30	98	89	
3	Exper.	3	2.5	10	O	< 30	99	85	
					A	< 30	95	95	
					C	< 30	98	91	
	Control	5	2.5	10	O	< 30	99	77	
					A	< 30	96	94	
					C	< 30	96	88	
4	Exper.	3	2.5	12	O	< 30	99	70	60
					A	< 30	98	89	79
					C	< 30	97	74	75
	Control	5	2.5	12	O	< 30	89	52	46
					A	< 30	89	85	75
					C	< 30	95	63	62

^aExperimental oil vaccine adsorbed to AL(OH)₃, aqueous + oil phases relationship = 1 + 2.

^bStandard oil vaccine, aqueous + oil phases relationship = 1 + 2.

MPV = Months post-vaccination.

TABLE 2. Expected percentages of protection (EPP) of cattle vaccinated and revaccinated at 6 months with oil-adjuvanted vaccine, with or without concentration to aluminum hydroxide

Experiment No.	Vaccine	Cattle dose (ml)	Trivalent antigen dose (ml) per cattle	Cattle per group	Virus	EPP						
						MPV	0	1	2	4	6	
												MPR
5	Exper. ^a	2	2,5	12	O	22	95	88	77	47	97	98
					A	22	99	98	98	96	96	98
					C	29	98	89	60	64	85	90
	Control ^b	5	2,5	12	O	24	84	85	58	55	85	91
					A	21	98	99	98	97	97	95
					C	30	95	82	65	69	85	81

^a Experimental vaccine adsorbed to AL(OH)₃, aqueous + oil phases relationship = 1 + 2.

^b Standard oil vaccine, aqueous + oil phases relationship = 1 + 1.

MPV = Months post-vaccination.

MPR = Months post-revaccination.

TABLE 3. Expected percentages of protection (EPP) of cattle vaccinated and revaccinated at 3 months with oil-adjuvanted vaccine, with or without concentration to aluminum hydroxide

Experiment No.	Vaccine	Cattle dose (ml)	Trivalent antigen dose (ml) per cattle	Cattle per group	Virus	EPP					
						MPV	0	1	3	6	12
6	Exper. ^a	2	2.5	10	O	< 30	97	91	96	82	76
					A	< 30	99	99	87	95	84
					C	< 30	92	95	96	92	91
	Control ^b	5	2.5	10	O	< 30	98	93	95	79	84
					A	< 30	99	99	95	89	94
					C	< 30	99	99	95	89	94
7	Exper.	3	2.5	12	O	< 30	92	81	91	86	73
					A	< 30	88	87	91	84	62
					C	< 30	92	81	95	89	78
	Control	5	2.5	12	O	< 30	82	69	91	88	78
					A	< 30	82	80	93	87	62
					C	< 30	87	76	94	82	81

^a Experimental vaccine adsorbed to AL(OH)₃, aqueous + oil phases relationship = 1 + 2.

^b Standard oil vaccine, aqueous + oil phases relationship = 1 + 1.

MPV = Months post-vaccination.

MPR = Months post-revaccination.

To evaluate the local reactions which the oil vaccines containing aluminum hydroxide might cause, several hundred of cattle were injected with

aluminum hydroxide vaccine on one side of the neck and with the control vaccine in the other side either intramuscularly or subcutaneously. No local

reactions were observed with the intramuscular route. Slightly more reaction was observed with the vaccines containing aluminum hydroxide after subcutaneous injection. However, these experiments with cattle vaccinated with both types of

vaccines showed that the degree of local reaction depends much on the individual animal. Cattle which got a local reaction from the vaccine containing aluminum hydroxide usually also reacted with the control vaccine to some degree.

TABLE 4. Expected percentages of protection (EPP) at 30 days post-vaccination with experimental and standard vaccines recently formulated and after storage for 1 year at 4° C.

Experiment No.	Vaccine	Cattle dose (ml)	Antigen per cattle dose (ml)	Months of storage at 4° C	EPP ^a		
					Virus		
					O	A	C
8	Exper. ^b	2.0	2.5	1	95	99	98
				12	99	96	98
	Control ^c	5.0	2.5	1	84	98	95
				12	93	96	87

^a Groups of 12 cattle.

^b Experimental vaccine adsorbed to Al(OH)₃, aqueous + oil phases relationship = 0.7 + 1.3.

^c Standard oil vaccine, aqueous + oil phases relationship = 1 + 1.

REFERENCES

- ABARACON, D., ALONSO FERNANDEZ, A., MAGALLANES, N., CHARLES, E.G., DURINI, L.A. Protección de bovinos después de vacunados con vacunas antiaftosas con adyuvante oleoso. (Protection of cattle following vaccination with oil-adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 37-38: 41-43, 45-47, 1978.
- 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). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 33-34: 1-5, 7-11, 1979.
- AUGE 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 FMD vaccine: vaccination and revaccination of young cattle). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 19-20: 31-38, 39-47, 1975.
- AUGE DE MELLO, P., ASTUDILLO, V., GOMES, I., CAMPOS GARCIA, J.T. Respuesta inmunitaria de bovinos adultos vacunados contra la fiebre aftosa con vacuna oleosa. (Immune response of adult cattle vaccinated with oil adjuvanted foot-and-mouth disease vaccines). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 26: 23-25, 27-29, 1977.
- 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.
- CASAS OLASCOAGA, R. Summary of current research on the Pan American Foot-and-Mouth Disease Center on oil adjuvanted vaccines. *Bull. Off. int. Épiz.* 89 (11-12): 1015-1054, 1978-79.
- 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.
- GOMES, I., ASTUDILLO, V. Foot-and-mouth disease: Evaluation of mouse protection test results in relation to cattle immunity. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 17-18: 9-16, 1976.

EMULSIFICANTE MONTANIDE 888 PARA LA PREPARACION DE VACUNA ANTIAFTOSA CON ADYUVANTE OLEOSO

D. Abaracón¹; J.A. Mesquita¹; S. Sallúa²; R. Pérez Rama²

COMUNICACION BREVE

La producción de vacunas con adyuvante oleoso (adyuvante incompleto de Freund) implica el uso de un antígeno en suspensión acuosa, de un aceite mineral blanco y de un agente emulsificante que permita la dispersión del antígeno inactivado (suspensión acuosa) en el seno del aceite mineral, formando una emulsión estable de tipo agua-en-aceite.

En el Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (CPFA) se usa antígeno producido en cultivos de células BHK₂₁, clon 13, en monocamada o suspensión (7) y un aceite mineral blanco USP (Marcol 52³). Inicialmente se usó el mono-oleato de manitol (Arlacel A⁴) como emulsificante y posteriormente fue sustituido por oleato de monoanhidro y deanhidromanitol (Montanide 80⁵). En ensayos comparativos realizados con vacunas en el CPFA, el Montanide 80 demostró poseer las mismas propiedades del Arlacel A (6) y está garantizado por una información técnica más completa de la firma productora.

La formulación de la vacuna elaborada en el CPFA consta de 50% de fase acuosa y 50% de la fase oleosa compuesta por 90% de Marcol 52 y 10% de agente emulsificante. La mezcla es finamente emulsificada por un proceso mecánico, en un aparato emulsificador industrial⁶ especialmente desarrollado para ese fin, quedando el producto final con una viscosidad elevada.

Para solucionar ese problema, y a pedido del CPFA, la firma SEPPIC desarrolló el octododecanoato de anhidromanitol, un nuevo emulsificante lipofílico, con un balance hidrofílico/lipofílico (HLB) de 5,0 (Montanide 888⁷); que supera todas las pruebas físicas y biológicas exigidas para productos de esta clase y permite producir emulsiones primarias de tipo agua-en-aceite de baja viscosidad, lo que facilita su manejo.

La viscosidad de la vacuna preparada con Montanide 888, medida en el viscosímetro Bröokkfield modelo LVT con la muestra a 25°C y el aparato ajustado a 12 rev/min es de aproximadamente 300 cps frente a 2400 cps que presentan las vacunas elaboradas con Arlacel A o Montanide 80, determinadas con el mismo viscosímetro ajustado a la misma velocidad y temperatura.

Cuando se centrifugan muestras de ambas vacunas a 1000 g por 60 minutos se observa un cuadro similar, sin separación de antígeno en el fondo del tubo y con una pequeña separación de aceite en la parte superior, que en la preparación con Montanide 888 es algo menor y más turbia. La estabilidad a 4°C es superior a dos años con ambas vacunas. La estabilidad a 37°C es de más de seis meses para las vacunas con Montanide 888 y de aproximadamente 30 días para las vacunas con Montanide 80.

En un ensayo preliminar realizado en el CPFA, una vacuna preparada con una muestra de Montanide 888 fue comparada con otra vacuna preparada con Montanide 80, y al ser aplicadas en bovinos jóvenes ambas mostraron un comportamiento inmunológico similar durante seis meses posvacunación, siendo la primera menos viscosa (3).

En la investigación efectuada, para confirmar el comportamiento y estabilidad inmunológicos,

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

²Dirección de Lucha Contra la Fiebre Aftosa (DILFA), Ruta Brig. Gral. Juan Antonio Lavalleja, Km 29, Pando, Canelones, Uruguay.

³Marcol 52 - Exxon Corporation, U.S.A.

⁴Arlacel A - ICI American Inc. Atlas Chemicals Division, U.S.A.

⁵Montanide 80 - SEPPIC, París, Francia.

⁶Caldeiraria e Mecânica INOX. Mauá-SP, Brasil.

⁷Montanide 888 - SEPPIC, París, Francia.

se realizaron varios experimentos en los que se compararon vacunas producidas con cuatro partidas diferentes de Montanide 888 frente a vacunas producidas con la misma composición antigénica y el mismo aceite mineral, pero con una partida ya conocida de Montanide 80, tomada como referencia. En algunos ensayos las vacunas fueron preparadas en volúmenes de 2,0 litros usando un emulsificador⁸ de mesa y en otras en volúmenes de 360 litros con el emulsificador industrial antes mencionado.

En el experimento 2 las vacunas con ambos emulsificantes fueron producidas con la fase acuosa formada por virus inactivado adsorbido sobre hidróxido de aluminio (2). En la preparación final había una parte de fase acuosa para 2 partes de fase oleosa.

Las pruebas fueron realizadas en bovinos susceptibles de 9 a 18 meses de edad, nunca vacunados contra la fiebre aftosa y la inmunidad fue evaluada por seroprotección según Cunha y colaboradores (4) y expresada en expectativas porcentuales de protección (EPP) según Gomes y Astudillo (5).

Las pruebas en cobayos fueron hechas por dosis protectoras 50% en cobayos vacunados por vía intramuscular con 1/20 de la dosis bovina con vacunas diluidas en diluyente activo (emulsión igual a la vacuna pero sin virus), y comprobados a los 30 días posvacunación.

Los resultados observados en las seis pruebas en bovinos (Cuadro 1) no muestran diferencias significativas entre los dos emulsificantes, tanto en vacunas recién elaboradas como conservadas a 4°C por hasta 24 meses. Esta observación vale tanto para las vacunas de tipo oleoso como para las vacunas con antígeno adsorbido sobre hidróxido de aluminio (aceite/hidróxido). Los valores observados en cobayos son en media siempre superiores a los de las vacunas preparadas con Montanide 80.

Como consecuencia de estos ensayos, las vacunas con adyuvante oleoso producidas en el CPFA pasaron a ser preparadas con Montanide 888 desde septiembre de 1982, con excelentes resultados en las pruebas de control regular de vacunas y en la respuesta serológica de los bovinos de campo.

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). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 33-34: 1-5, 7-11, 1979.
2. ABARACON, D., MESQUITA, J.A., GIACOMETTI, H., SALLUA, S., PEREZ RAMA, R. Preparación de vacuna anti-aftosa con adyuvante oleoso usando antígenos adsorbidos sobre hidróxido de aluminio. (Formulation of oil-adjuvanted foot-and-mouth disease vaccines containing antigen adsorbed to aluminum hydroxide). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 45-46: 43-46, 47-50, 1982.
3. CENTRO PANAMERICANO DE FIEBRE AFTOSA. Informe Anual 1980, pág. 32.
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. GOMES, I., ASTUDILLO, V. Foot-and-mouth disease: evaluation of mouse protection test results in relation to cattle immunity. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 17-18: 9-16, 1975.
6. GOMES, I., AUGÉ DE MELLO, P. Comparación de vacunas con adyuvante oleoso preparadas con Arlancel A y Montanide 80. (Comparison of oil adjuvanted vaccines prepared with Arlancel A and Montanide 80). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 31-32: 41-42, 43-44, 1978.

⁸Silverson-Machine (Sales) Ltd. London, England.

CUADRO 1. Comparación entre Montanide 888 y Montanide 80. Ensayos con vacunas recién elaboradas y luego de conservadas a 4°C por hasta 24 meses.

Experi- mento Nº	Vacunas	Tipo de vacuna Dosis bovino	Meses conserv. a 4°C	EPP ^a						DPC ₅₀ ^b		
				O		Virus A		C		O	Virus A	C
				30 ^c	90	30	90	30	90	30 ^c	30	30
1	Vacuna N° 1 Mont. 80	Oleosa 5 ml	1	79	60	85	70	93	72	32	64	51
	Vacuna N° 2 Mont. 888 (Part. 1)	Oleosa 5 ml	1	90	88	86	93	97	92	79	128	64
	"	"	24	99	99	92	90	99	97	-	-	-
2	Vacuna N° 3 Mont. 80	Aceite/ hidróxido 2,0 ml	9	84	76	94	75	95	75	27	32	12
	Vacuna N° 4 Mont. 888 (Part. 1)	Aceite/ hidróxido 2,0 ml	9	93	89	93	71	98	92	32	27	19
	"	"	24	99	98	97	89	99	90	-	-	-
3	Vacuna N° 5 Mont. 80	Oleosa 5,0 ml Prod. Ind.	3	99	83	91	90	99	83	110	128	32
	Vacuna N° 6 Mont. 888 (Part. 2)	Oleosa 5,0 ml Prod. Ind.	3	90	86	82	85	97	85	128	200	128
4	Vacuna N° 7 Mont. 80	Oleosa 5,0 ml	2	77	76	80	69	95	88	-	-	-
	Vacuna N° 8 Mont. 888 (Part. 3)	Oleosa 5,0 ml	2	83	93	72	84	99	96	-	-	-
5	Vacuna N° 9 Mont. 80	Oleosa 5,0 ml Prod. Ind.	1	98	-	96	-	98	-	≥32	≥32	16
	Vacuna N° 10 Mont. 888 (Part. 3)	Oleosa 5,0 ml Prod. Ind.	1	99	-	99	-	98	-	≥32	≥32	≥32
6	Vacuna N° 11 Mont. 80	Oleosa 5,0 ml Prod. Ind.	1	98	98	94	93	99	97	16	≥32	≥32
	Vacuna N° 12 Mont. 888 (Part. 4)	Oleosa 5,0 ml Prod. Ind.	1	99	99	97	99	99	99	≥32	≥32	16

^a Expectativa porcentual de protección.

^b Dosis protectora cobayo 50%.

^c Días posvacunación.

MONTANIDE 888 EMULSIFYING AGENT FOR PREPARATION OF OIL-ADJUVANTED FOOT-AND-MOUTH DISEASE VACCINE

D. Abaracon¹; J.A. Mesquita¹; S. Sallua²; R. Perez Rama²

SHORT COMMUNICATION

The production of oil-adjuvanted vaccines (Freund's incomplete adjuvant) requires the use of an antigen in aqueous suspension, a light mineral oil and an emulsifying agent that permits dispersion of the inactivated antigen (aqueous suspension) throughout the mineral oil in order to form a stable water-in-oil emulsion.

The Pan American Foot-and-Mouth Disease Center (PAFMDC) uses antigen produced in BHK₂₁ and Clon 13 cell cultures on monolayers or in suspension (7) and a USP light mineral oil (Marcol 52³). The emulsifying agent originally used was mannide monooleate (Arlacel A⁴), but it was later replaced by monoanhydrous oleate and deanhidromannide (Montanide 80⁵). Comparative tests with vaccines conducted at the PAFMDC showed that Montanide 80 possessed the same properties as Arlacel A (6) and is guaranteed by more complete technical information from the manufacturer.

The formulation of the vaccine produced at the PAFMDC contains 50% aqueous phase and 50% oily phase composed of Marcol 52 (90%) and emulsifying agent (10%). The mixture is thoroughly emulsified by a mechanical process in an industrial emulsifier⁶ especially developed for the purpose. The end-product has a high viscosity level.

In order to resolve that problem, and by

request of the PAFMDC, SEPPIC developed anhydromannide octodocenate, a new lipophilic emulsifying agent having a 5.0 hydrophilic/lipophilic balance (HLB). The emulsifying agent, Montanide 888⁷, meets all the physical and biological tests required for products of this class. It also permits the production of easier to handle low-viscosity, water-in-oil primary emulsions.

The viscosity of the vaccine prepared with Montanide 888, measured in the Brookfield LVT viscosity meter with the sample at 25°C and the machine set at 12 RPM, is approximately 300 cps. This is significantly lower than the 2400 cps recorded for the vaccines prepared with Arlacel A or Montanide 80. The viscosity meter was set at the same speed and temperature for all cases.

When samples of both vaccines are centrifuged at 1000 g for 60 minutes, similar results are recorded: no antigen is separated to the bottom of the tube, but the slight separation observed in the upper part is somewhat less and also more turbid in the preparation with Montanide 888. Both vaccines exceed 2 years' stability at 4°C. Stability at 37°C is greater than 6 months for the vaccines with Montanide 888 and is approximately 30 days for the vaccines prepared with Montanide 80.

In a preliminary test conducted at the Pan American Foot-and-Mouth Disease Center, a vaccine prepared with a sample of Montanide 888 was compared with a vaccine prepared with Montanide 80. Both vaccines were administered to young cattle and produced similar immunological performance during 6 months post-vaccination. The first vaccine was less viscous (3).

In the research carried out, immunological performance and stability were checked through several experiments in which vaccines produced from four different batches of Montanide 888

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

² Dirección de Lucha Contra la Fiebre Aftosa (DILFA), Ruta Brig. Gral. Juan Antonio Lavalleja, Km 29, Pando, Canelones, Uruguay.

³ Marcol 52 - Exxon Corporation, U.S.A.

⁴ Arlacel A - ICI American Inc. Atlas Chemicals Division, U.S.A.

⁵ Montanide 80 - SEPPIC, Paris, France.

⁶ Caldeiraria e Mecânica INOX, Mauá, SP, Brasil.

⁷ Montanide 888 - SEPPIC, Paris, France.

were compared with vaccines produced with the same antigenic composition and the same mineral oil, but taking a known batch of Montanide 80 as reference. In some tests the vaccines were prepared in 2.0-liter volumes in a benchtop emulsifier⁸, while others were produced in 360-liter volumes in the industrial emulsifier mentioned above.

In experiment 2 the vaccines with both emulsifying agents were produced with the aqueous phase formed of inactivated virus adsorbed to aluminum hydroxide (2). The final preparation had one part aqueous phase per two parts oily phase.

The tests were performed on 9- to 18-month-old susceptible cattle that had never been vaccinated against foot-and-mouth disease. The serum protection test as per Cunha *et al.* (4) was used to assess immunity, which was expressed in expected percentages of protection (EPP) according to Gomes and Astudillo (5).

The guinea pig tests utilized PD₅₀ in guinea pigs vaccinated intramuscularly with 1/20th of the bovine dose with vaccines diluted in active diluent (emulsion equal to the vaccine, but without virus). They were challenged at 30 days post-vaccination.

The results observed in the six tests in cattle (Table 1) show no significant differences between the two emulsifying agents, whether in recently prepared vaccines or those stored at 4°C for up to 24 months. This observation holds true for both the oil-adjuvanted vaccines and those prepared with antigen adsorbed in aluminum hydroxide (oil/hydroxide). The values recorded in guinea pigs always average higher than the values of vaccines prepared with Montanide 80.

As a consequence of these tests, the PAFMDC

began to use Montanide 888 in the preparation of its oil-adjuvanted vaccines, as of September 1982. Excellent results have been recorded in the regular vaccine-control tests and in the serological response of field cattle.

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). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 33-34: 1-5, 7-11, 1979.
2. ABARACON, D., MESQUITA, J.A., GIACOMETTI, H., SALLUA, S., PEREZ RAMA, R. Preparación de vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso usando antígenos adsorbidos sobre hidróxido de aluminio. (Formulation of oil-adjuvanted foot-and-mouth disease vaccines containing antigen adsorbed to aluminum hydroxide). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 45-46: 43-46, 47-50, 1982.
3. CENTRO PANAMERICANO DE FIEBRE AFTOSA. Informe Anual 1980, pág. 32.
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. GOMES, I., ASTUDILLO, V. Foot-and-mouth disease: evaluation of mouse protection test results in relation to cattle immunity. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 17-18: 9-16, 1975.
6. GOMES, I., AUGÉ DE MELLO, P. Comparación de vacunas con adyuvante oleoso preparadas con Arlcel A y Montanide 80. (Comparison of oil adjuvanted vaccines prepared with Arlcel A and Montanide 80). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 31-32: 41-42, 43-44, 1978.

⁸Silverson-Machine (Sales) Ltd. London, England.

TABLE 1. Comparison between Montanide 888 and Montanide 80. Tests with fresh vaccines and vaccines stored at 4°C for up to 24 months

Experiment No.	Vaccines	Type of vaccine Bovine dose	Months stored at 4°C	EPP ^a						GPPD ₅₀ ^b			
				O		Virus A		C		O	Virus A		C
				30 ^c	90	30	90	30	90	30 ^c	30	30	
1	Vaccine No. 1 Mont. 80	Oily 5 ml	1	79	60	85	70	93	72	32	64	51	
	Vaccine No. 2 Mont. 888 (Part. 1)	Oily 5 ml	1	90	88	86	93	97	92	79	128	64	
	"	"	24	99	99	92	90	99	97	—	—	—	
2	Vaccine No. 3 Mont. 80	Oil/ hydroxide 2.0 ml	9	84	76	94	75	95	75	27	32	12	
	Vaccine No. 4 Mont. 888 (Part. 1)	Oil/ hydroxide 2.0 ml	9	93	89	93	71	98	92	32	27	19	
	"	"	24	99	98	97	89	99	90	—	—	—	
3	Vaccine No. 5 Mont. 80	Oily 5.0 ml Ind. Prod.	3	99	83	91	90	99	83	110	128	32	
	Vaccine No. 6 Mont. 888 (Part. 2)	Oily 5.0 ml Ind. Prod.	3	90	86	82	85	97	85	128	200	128	
4	Vaccine No. 7 Mont. 80	Oily 5.0 ml	2	77	76	80	69	95	88	—	—	—	
	Vaccine No. 8 Mont. 888 (Part. 3)	Oily 5.0 ml	2	83	93	72	84	99	96	—	—	—	
5	Vaccine No. 9 Mont. 80	Oily 5.0 ml Ind. Prod.	1	98	—	96	—	98	—	≥32	≥32	16	
	Vaccine No. 10 Mont. 888 (Part. 3)	Oily 5.0 ml Ind. Prod.	1	99	—	99	—	98	—	≥32	≥32	≥32	
6	Vaccine No. 11 Mont. 80	Oily 5.0 ml Ind. Prod.	1	98	98	94	93	99	97	16	≥32	≥32	
	Vaccine No. 12 Mont. 888 (Part. 4)	Oily 5.0 ml Ind. Prod.	1	99	99	97	99	99	99	≥32	≥32	16	

^a Expected percentage of protection.^b Guinea pig protective dose 50%.^c Days postvaccination.

Informaciones

J.K.B. Little Symposium sobre "Variación en Fiebre Aftosa"

Los días 20-21 de septiembre de 1982 se realizó en la Universidad de Surrey, Guildford, Inglaterra, el J.K.B. Little Symposium sobre "VARIACION EN FIEBRE AFTOSA", en el cual investigadores de varios laboratorios presentaron trabajos. Por invitación del Dr. R.F. Sellers, Director del Animal Virus Research Institute, al final de la reunión el Dr. Raúl Casas Olascoaga, Director del Centro Panamericano de Fiebre Aftosa, presentó un resumen del evento, que a continuación se transcribe del original en inglés:

"RESUMEN

En la mañana del 19 de septiembre, Lord Adrian inauguró el LITTLE SYMPOSIUM dando la bienvenida a los participantes al último simposio financiado por la fallecida Miss J.K.B. Little.

El Dr. J.B. BROOKSBY presentó un histórico del desarrollo de los estudios de variación en fiebre aftosa iniciados en 1926 con pruebas en cobayos. Recordó la época cuando los estudios de variación dependían exclusivamente de experimentos en animales. También dio énfasis a la importancia del logro alcanzado con las pruebas de fijación del complemento (FC) que permitieron realizar estudios de la relación entre los hallazgos serológicos y los resultados de vacunación, demostrándose un grado de correlación que posteriormente fue sorprendente a la luz del conocimiento adquirido sobre la complejidad del sistema antigénico del virus.

El Dr. Brooksby mencionó la importancia de la aplicación de la prueba de FC en las epidemias de 1946-52 en México.

También se refirió a la variación en la virulencia, que hasta ahora casi no ha sido tratada en términos de avances bioquímicos del comportamiento del virus, y confía que el problema de la variación de la virulencia pronto logrará el mismo avance bioquímico obtenido con la variación antigénica.

El Dr. R.C. KNUDSEN primero resumió el trabajo realizado por diversos investigadores en el mundo sobre variación en cultivo celular. Señaló que el pasaje del virus de la fiebre aftosa en cultivos celulares resulta en variaciones de la antigenicidad del virus, su viru-

lencia y otras características. Una variante no patogénica que tenga una baja o pobre afinidad de unión podría ser seleccionada por su deficiencia en adsorberse a los tejidos hospederos. Esta variación podría propagarse en cultivo celular por una técnica de adsorción por pasaje. Otro pasaje del virus en otra línea celular restauró su patogenicidad y afinidad de unión.

El Dr. M. LOMBARD describió la variación en fiebre aftosa mostrada por la prueba de FC, el primer método serológico usado en la tipificación del virus aftoso. Informó que la prueba de FC es la base de todas las investigaciones serológicas específicas y aún es la más confiable en todo el mundo para el diagnóstico de las muestras de campo y en las pruebas de virus producidos para elaboración de vacuna. La mayoría de los subtipos han sido caracterizados por la prueba de FC, de acuerdo con el sistema propuesto por el Dr. Brooksby en 1967.

El Dr. M. RWEYEMAMU presentó un trabajo sobre la variación antigénica estudiada por neutralización y propuso la metodología para diferenciar las cepas de virus de la fiebre aftosa.

Sugirió que la reacción para neutralizar el virus debería formar la base de un sistema de prueba de referencia *in vitro* contra el cual otros sistemas de diferenciación, tales como los métodos serológicos y bioquímicos, podrían ser padronizados. Resumió las desventajas de los criterios actuales y agregó que su propuesta está respaldada por el conocimiento disponible de la estructura/función antigénica del virus de la fiebre aftosa. Las cepas vacunales de referencia deberían ser seleccionadas entre las menores posibles, con un amplio espectro antigénico y con inmunogenicidad probada. Las mismas cepas de virus podrían formar las cepas de referencia llave para la clasificación epidemiológica.

El Dr. J. CROWTHER resumió el trabajo realizado con las pruebas ELISA y RIA. Informó que en la mayoría de los laboratorios la prueba RIA es nueva pero que la prueba ELISA es más popular pues es una excelente herramienta para el examen de las interacciones virus/anticuerpo, además de ser versátil, sensible y poder ser usada en el examen de un gran número de muestras. En la discriminación de aislamientos de virus

se han aplicado con éxito los inmunoensayos con la prueba indirecta de doble pared (sandwich), con enzimas de competición. La prueba ELISA es apropiada para examinar y desarrollar ensayos usando anticuerpos monoclonales que prueban ser muy útiles, en un futuro próximo, para la comparación de aislamientos de virus de la fiebre aftosa.

El Dr. A. KING informó sobre la variación de la carga proteica entre los virus de la fiebre aftosa. La electroforesis en un gradiente de pH (electroenfocado) es una técnica simple para detectar la sustitución o modificación del residuo de aminoácido en una proteína. Por esta técnica se ha obtenido información en cuatro áreas:

1. En el mecanismo de evolución. La evolución del virus de la fiebre aftosa se manifiesta en mutación por una serie de cambios discretos en la carga del polipéptido.
2. En la estructura y función. Los polipéptidos se desarrollan a tasas muy diferentes. VP1 y VP3 muestran la mayor variación en carga y ésta parece estar correlacionada con el grado de exposición sobre la superficie del cápside.
3. Fuente de infección.
4. Protección cruzada.

El Dr. King comunicó que durante 1981 el método de electroenfocado de polipéptidos inducidos fue utilizado para identificar cepas de varios brotes de fiebre aftosa ocurridos en ganados europeos. Concluyó que el método tiene un gran potencial en la caracterización de los virus de la fiebre aftosa y que su aplicación forzará a los productores de la necesidad de tener vacunas más seguras.

El Dr. D. ROWLANDS describió la secuencia VP1 en tres formas. La secuencia comparativa de VP1 muestra pocas áreas de elevada variabilidad, algunas de las cuales están en regiones hidrofílicas y coinciden con regiones antigénicas. Los péptidos 141-160 y 200-213 originan los anticuerpos neutralizantes, pero no ocurre el mismo con los péptidos en otras áreas. Los péptidos 141-160 son los más activos y pueden proteger al cobayo después de una única dosis. Los anticuerpos de los péptidos 141-160 se asemejan más al antisuero del virus que los antisueros aislados de VP1. Las vacunas con péptidos sintetizados orgánicamente han demostrado estimular niveles significativos de anticuerpo neutralizante en bovino. También informó que los péptidos de diferentes tipos de virus de la fiebre aftosa dan una respuesta similar.

El secuenciamiento sería un método de aplicación general para resolver problemas de variación de virus. Podría ser usado para nuevos aislamientos y los resul-

tados estarían disponibles dos o tres semanas después del recibimiento de las muestras.

El Dr. G. SCHILD presentó un trabajo sobre variación en polio. La caracterización del anticuerpo monoclonal del poliovirus tipo 3 indicó que algunos eran específicos para el antígeno D, otros eran específicos para el antígeno C, y otros reaccionaron con ambos antígenos C y D. Los anticuerpos monoclonales que reaccionaron con C y D invariablemente neutralizaron la infectividad del virus. Los específicos para el antígeno D neutralizaron la infectividad en sólo el 50% de los casos. Los anticuerpos monoclonales específicos a C no neutralizaron la infectividad. El análisis de los mutantes antigénicos de virus tipo 3 reveló un único sitio antigénico implicado en la neutralización del virus y localizado en VP1. Los mapas oligonucleótidos de T1 del ARN del poliovirus fueron de gran utilidad en estudios epidemiológicos, proveyendo una base inequívoca para distinguir entre la vacuna Sabin y los virus relacionados, y las cepas salvajes. Se han identificado anticuerpos monoclonales que neutralizaron sólo el poliovirus que dieron los mapas oligonucleótidos del virus Sabin. Finalmente mencionó que las fallas en la vacuna antipolio no resultan de cambios en el virus; ésta es una diferencia importante de la vacuna anti-aftosa.

La Dra. M. PEREIRA informó sobre la variación en el virus de la influenza. Declaró que los mayores o menores cambios antigénicos observados en el virus de la influenza A hacen con que sea un agente de la enfermedad altamente efectivo, capaz de vencer la inmunidad de la población y diseminarse ampliamente en todo el mundo. La gran cantidad de reservorios de virus de influenza A en el reino animal que podrían actuar como fuentes de nuevos subtipos y las frecuentes alteraciones en la composición antigénica de las cepas relacionadas con cambios en las secuencias de los aminoácidos de la hemaglutinina, han dificultado el control por medio de vacunas. Finalmente expresó el punto de vista de que las cepas vacunales necesitan asemejarse a los virus circulantes, lo que demanda un constante monitoreo de los virus en todo el mundo.

El Dr. T. PAY informó sobre la aplicación de la variación. Comunicó que hay cuatro áreas principales dentro de las cuales la variación del virus puede producir efectos en la formulación de la vacuna anti-aftosa: preparación de la "semilla" de los antígenos de la vacuna; interpretación de los datos serológicos en la evaluación de la relación antigénica entre la cepa vacunal y la cepa de campo; variación antigénica, tanto de la cepa vacunal como de las cepas de desafío; y,

finalmente, los efectos de la variación antigénica de un virus de campo en el desempeño de la vacuna en condiciones de campo.

Con relación a estas cuatro principales áreas problemáticas, presentó cuatro conclusiones:

1. La pérdida de inmunogenicidad, como resultado de la variación antigénica durante la adaptación del virus de la vacuna con el método de cultivo, no ha sido un problema.

2. La base para la evaluación y selección de las cepas vacunales ha mejorado sustancialmente.

3. La diseminación antigénica de la cepa vacunal podría ser controlada por el uso de métodos de selección de semilla.

4. Las nuevas variantes antigénicas en el campo generalmente pueden ser controladas por el uso apropiado de cepas vacunales disponibles.

El Dr. H.G. PEREIRA presentó 'Aplicación a la Epidemiología' y expresó el punto de vista de que la epidemiología de una enfermedad viral puede ser muy alterada por la variación de diversas propiedades virales, tales como: a) composición antigénica, b) patogenicidad y c) gama de huéspedes. Las variaciones de estas propiedades no tienen la misma importancia en todas las infecciones virales. Por tanto, cambios antigénicos, lo suficientemente grandes para alterar la epidemiología de la fiebre aftosa o de la influenza, podrían no afectar otros virus. Nuevamente, la variación antigénica no siempre está seguida por cambios en el comportamiento epidemiológico, mismo en la fiebre aftosa o en la influenza.

El Dr. Pereira informó que otras propiedades, como la patogenicidad y la gama de huéspedes, juegan un papel importante en la epidemiología y pueden explicar el apareamiento de 'nuevas' enfermedades virales.

La presentación de los trabajos motivó una amplia discusión. Finalmente, el Dr. R. Casas Olascoaga agradeció a todos los participantes por su activa contribución al simposio, así como a los investigadores que presentaron 15 ponencias sobre investigación en variación."

LISTA DE PONENCIAS

1. A. ARROWSMITH & R. OSBORNE. Serological comparison of FMDV type O strains from Europe, North Africa and the Middle East, 1981-82
2. B. CARTWRIGHT, W. CHAPMAN, F. BROWN. Differences in antibodies produced to FMDV and its substructures.
3. B. CLARKE, A. CARROLL, D. ROWLANDS. Analysis of antigenic variation in FMDV by a rapid nucleotide sequencing method.
4. B. CLARKE, A. CARROLL, D. ROWLANDS. Nucleotide sequence of RNA region coding for the genome-linked proteins of FMDV.
5. J.B. CLARKE & R.E. SPIER. Variation in susceptibility of BHK cells to different strains of FMDV
6. C. HAMBLIN, R. ARMSTRONG, R. HEDGER. ELISA - its use in FMDV diagnosis
7. N. KNOWLES & R. HEDGER. Polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) for strain differentiation of FMDV.
8. A. MURDIN, T. DOEL, R. SPIER. Purification of capsid proteins of FMDV by chromatofocusing.
9. R. OSBORNE & J. CROWTHER. Use of an indirect ELISA technique for differentiation of some type A vaccine strains.
10. E. OULDRIDGE, P. BARNETT, P. HINGLEY. Differentiation of FMDV strains using an indirect sandwich ELISA saturation model.
11. N. PARRY & M. RWEYEMAMU. Plaque variation in FMDV.
12. D. ROWLANDS, D. MORRELL, F. BROWN. Immunogenic synthetic peptides of FMDV VP₁.
13. M. RWEYEMAMU, E. OULDRIDGE, M. HEAD, T. PAY. A system for FMDV classification based on the virus neutralisation reaction: Evaluation of the variation within type A viruses from Asia.
14. B. UNDERWOOD & F. BROWN. The 1982 FMD outbreaks in Denmark and Germany: A comparison of the strains involved, using ID and 2D-T₁ oligonucleotide mapping.
15. M. RWEYEMAMU, E. OULDRIDGE, M. HEAD, G. WEST, R. LARTER, P. HINGLEY, A. BONE. Computerisation of FMD strain relationship data.

News

J.K.B. Little Symposium on "Variation in Foot-and-Mouth Disease"

On September 20-21, 1982, at the University of Surrey, Guildford, England, it was held the J.K.B. Little Symposium in which investigators of several international laboratories submitted papers on "Variation in foot-and-mouth disease". At the end of the meeting, Dr. R.F. Sellers, Director of the Animal Virus Research Institute, invited Dr. Raúl Casas Olascoaga, Director of the Pan American Foot-and-Mouth Disease Center, to present a summary which is transcribed as follows:

"SUMMING UP"

The LITTLE SYMPOSIUM was inaugurated during the morning of September 19 at the University of Surrey by Lord Adrian, who welcomed the participants to the latest symposium supported by the late Miss J.K.B. Little.

Dr. J.B. BROOKSBY presented historical aspects of the development of variation studies on foot-and-mouth disease (FMD) virus which started in 1926 with tests in guinea-pigs. He recalled the time when the study of variation depended entirely on experiments in animals. He also emphasised the importance of the achievement of the complement fixation (CF) test. This led to studies on the relation between serological findings and the results of vaccination. A degree of correlation was demonstrated, which later on was surprising in the light of later knowledge of the complexity of the antigenic system of the virus.

Dr. Brooksby mentioned the importance of applications of the CF test in the Mexican epidemics of 1946-52.

He also referred to variation in virulence, a subject as yet almost untouched in terms of the biochemical approach to virus behaviour and hoped that the problem of variation in virulence would soon be given the same biochemical approach as was now given to antigen variation.

Dr. R.C. KNUDSEN first summarised the work done by different investigators in the world on variation in cell culture. He pointed out that passage of FMD virus in cell cultures results in variation in virus antigenicity, virulence and other characteristics. A

non-pathogenic variant of poor cell binding affinity could be selected by its failure to adsorb to host tissues. This variation could be propagated in cell culture by an adsorption passage technique. Further passage of the virus in another cell line restored its pathogenicity and binding affinity.

Dr. M. LOMBARD described the variation in FMD shown by the complement fixation test, the earliest serological method used in typing FMD virus. He said that the CF test is the basis of all specific serology research and is still the most reliable for worldwide use in the diagnosis of field samples and in testing viruses produced for vaccine manufacture. Most of the subtypes have been characterised by CF test on the basis of the system proposed by Dr. Brooksby in 1967.

Dr. M. RWEYEMAMU presented a paper on antigenic variation studied by neutralisation and proposed the methodology for the differentiation of FMD strains. He suggested that the virus neutralisation reaction should form the basis of an *in vitro* reference test system against which other differentiation systems, such as serological and biochemical, could be standardised. He summarised the drawbacks on current criteria and added that his proposal is supported by the available knowledge of antigenic structure/function of FMD virus. Reference vaccine strains should be selected from the smallest possible candidates with broad antigenic spectrum and of proven immunogenicity. The same virus strains could form key reference strains for epidemiological classification.

Dr. J. CROWTHER summarised the work done on ELISA and RIA tests. He said that in most laboratories the RIA test is new but that ELISA is more popular because it provides an excellent tool for the examination of virus/antibody interactions, in being versatile, sensitive and capable of being used in testing large numbers of samples. Indirect, sandwich and competition enzyme immunoassays have been applied successfully in the discrimination of virus isolates. The ELISA is suited to the testing and development of assays using monoclonal antibodies, which should prove very useful in the near future for the comparison of FMD virus isolates.

Dr. A. KING reported on variation in protein charge among FMD viruses. Electrophoresis in a pH gradient (electrofocusing) is a simple technique for detecting the substitution or modification of amino acid residue in a protein. The technique has given information in four areas:

1. In the mechanism of evolution. FMD virus evolution is revealed in mutation by a series of discrete shifts in polypeptide charge.
2. In structure and function. Polypeptides evolve at very different rates. VP1 and VP3 exhibit the most variability in charge and this appears to be correlated with the degree of exposure on the capsid surface.
3. Source of infection.
4. Cross protection.

Dr. King said that during 1981 the pattern of electrofocusing of induced polypeptides had been used to identify the strains from several FMD outbreaks involving European livestock. He concluded that the method has great potential in the characterisation of FMD virus and that its application will put great pressure on manufacturers through the need to have safe vaccines.

Dr. D. ROWLANDS described the sequencing of VP1 in three ways. Comparative sequencing of VP1 shows a few areas of high variability, some of which are in hydrophilic regions and coincide with antigenic regions. Peptides 141-160 and 200-213 raise neutralising antibodies but peptides in other regions do not. Peptides 141-160 are the most active and are able to protect guinea-pigs after a single dose. Antisera to peptides 141-160 resemble anti-virus serum more than anti-isolated VP1 serum. Vaccines with organically synthesised peptides have been shown to stimulate significant levels of neutralising antibody in cattle. He also stated that peptides from different types of FMD virus are giving a similar response.

Sequencing would be a method of general applicability in solving problems of virus variation. It could be used for new isolates, the results being available two to three weeks after receiving the samples.

Dr. G. SCHILD presented the paper on variation in polio. Characterisation of monoclonal antibody to poliovirus type 3 indicated that some were specific for D antigen, a proportion were specific for C antigen and others reacted with both C and D antigen. C and D reactive monoclonal antibodies invariably neutralised virus infectivity. Those specific for D antigen neutralised infectivity in only 50% of cases. C-specific monoclonal antibodies did not neutralise infectivity. Analysis of antigenic mutants of type 3 virus revealed

a single antigen site involved in virus neutralisation. This was located in VP1. T₁ RNA oligonucleotide maps of poliovirus were of great value for epidemiological purposes, providing an unequivocal basis for distinguishing between Sabin vaccine and related viruses and wild strains. Monoclonal antibodies had been identified which neutralised only polioviruses that gave Sabin virus oligonucleotide maps. Finally, he mentioned that vaccine failures in polio do not result from a shift in the virus; this is an important difference from FMD.

Dr. M. PEREIRA reported on variation in influenza virus. She said that the major and minor antigenic changes seen with influenza A virus makes this a highly effective disease agent, able to overcome population immunity and to spread widely throughout the world. The large reservoir of influenza A viruses in the animal kingdom, which could act as a source of new subtypes, and the frequent alterations in the antigenic composition of the strains which correlate with changes in the amino acid sequences of the haemagglutinin, have made control by vaccines difficult. Finally, she expressed the view that vaccine strains need to match the circulating viruses, thus demanding a constant monitoring of the viruses throughout the world.

Dr. T. PAY reported on application to variation. He said that there are four main areas within which virus variation may produce effects in the manufacture of FMD vaccine: preparation of vaccine seed viruses; interpretation of serological data in the evaluation of the antigenic relationship between a vaccine strain and a field virus strain; antigenic variation of either vaccine virus strain or the challenge strains; and, finally, the effects of antigenic variation of a field virus on the performance of a vaccine in field conditions.

He presented four conclusions in relation to the four main problem areas:

1. Loss of immunogenicity as a result of antigenic variation during adaptation of vaccine virus to culture system has not been a problem.
2. The basis for the evaluation and selection of vaccine strains has improved substantially.
3. Antigenic drift of a vaccine strain could be controlled by the use of seed lot systems.
4. New antigenic variants in the field can usually be brought under control by the appropriate tactical use of available vaccine strains.

Dr. H.G. PEREIRA presented 'Application to Epidemiology' and expressed the view that the epidemiology of virus disease can be greatly altered by

variation in several viral properties such as (a) antigenic composition, (b) pathogenicity and (c) host range. Variations of these properties are not important to the same extent in all virus infections. Thus, antigenic changes great enough to alter the epidemiology of FMD or influenza may have no effect on other viruses. Again, antigenic variation is not invariably followed by changes in epidemiological behaviour, even in FMD or influenza.

Dr. Pereira said that other properties such as pathogenicity and host range play important roles in epidemiology and may explain the emergence of 'new' virus diseases.

The papers gave rise to a stimulating discussion. Finally, Dr. R. Casas Olascoaga thanked all participants for their active contributions to the symposium as well as the investigators who presented 15 posters on research in variation."

LIST OF POSTERS

1. A. ARROWSMITH & R. OSBORNE. Serological comparison of FMDV type O strains from Europe, North Africa and the Middle East, 1981-82.
2. B. CARTWRIGHT, W. CHAPMAN, F. BROWN. Differences in antibodies produced to FMDV and its substructures.
3. B. CLARKE, A. CARROLL, D. ROWLANDS. Analysis of antigenic variation in FMDV by a rapid nucleotide sequencing method.
4. B. CLARKE, A. CARROLL, D. ROWLANDS. Nucleotide sequence of RNA region coding for the genome-linked proteins of FMDV.
5. J.B. CLARKE & R.E. SPIER. Variation in susceptibility of BHK cells to different strains of FMDV.
6. C. HAMBLIN, R. ARMSTRONG, R. HEDGER. ELISA - its use in FMDV diagnosis.
7. N. KNOWLES & R. HEDGER. Polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) for strain differentiation of FMDV.
8. A. MURDIN, T. DOEL, R. SPIER. Purification of capsid proteins of FMDV by chromatofocusing.
9. R. OSBORNE & J. CROWTHER. Use of an indirect ELISA technique for differentiation of some type A vaccine strains.
10. E. OULDRIDGE, P. BARNETT, P. HINGLEY. Differentiation of FMDV strains using an indirect sandwich ELISA saturation model.
11. N. PARRY & M. RWEYEMAMU. Plaque variation in FMDV.
12. D. ROWLANDS, D. MORRELL, F. BROWN. Immunogenic synthetic peptides of FMDV VP₁.
13. M. RWEYEMAMU, E. OULDRIDGE, M. HEAD, T. PAY. A system for FMDV classification based on the virus neutralisation reaction: Evaluation of the variation within type A viruses from Asia.
14. B. UNDERWOOD & F. BROWN. The 1982 FMD outbreaks in Denmark and Germany: A comparison of the strains involved, using 1D and 2D-T₁ oligonucleotide mapping.
15. M. RWEYEMAMU, E. OULDRIDGE, M. HEAD, G. WEST, R. LARTER, P. HINGLEY, A. BONE. Computerisation of FMD strain relationship data.

resúmenes

abstracts

ABU ELZEIN, E.M.E. & CROWTHER, J.R.

Texto en inglés. *J. Virol. Methods* 3 (6): 355-365, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (3): 82/23, 1982). [Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England]

Diferenciación de cepas de virus aftoso utilizando una prueba de competición de enzima ligada a un inmunosorbente

El trabajo descrito es una evaluación del uso de pruebas de competición para estimar las relaciones antigénicas entre aislamientos de virus aftoso. Fueron comparados los resultados de pruebas de competición de fase sólida y de enzima ligada a inmunosorbente indirecta con los de pruebas de fijación del complemento convencionales. Se obtuvieron relaciones parecidas entre las cepas examinadas utilizando pruebas de fijación del complemento y de micro-ELISA. La prueba de competición era más diferencial y los resultados no siempre correlacionaban con las otras dos pruebas. Las ventajas de la prueba indirecta ELISA consistían en que podía utilizarse anticuerpos de cualquier especie animal para establecer relaciones en la prueba y en una sensibilidad significativamente mayor que con la prueba de fijación del complemento.

Differentiation of foot-and-mouth disease virus strains using a competition enzyme-linked immunosorbent assay

The work described is an evaluation of the use of competition assays in the assessment of antigenic relationships between foot-and-mouth disease virus isolates. Results of solid-phase competition and indirect microenzyme-linked immunosorbent assays were compared with those of conventional complement fixation tests. Similar relationships between the strains tested were obtained using the micro ELISA and complement fixation tests. The competition assay was more discriminating and the results did not always correlate with the other two assays. The advantages of the indirect ELISA were that any animal species antibody could be used to establish relationships in the test and a significantly greater sensitivity than the complement fixation test.

BAXT, B. & BACHRACH, H.L.

Texto en inglés. *Virology* 116: 391-405, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (2): 82/20, 1982). [Plum Island Animal Disease Center, Greenport, New York 11944, USA]

La adsorción y degradación del virus aftoso por membranas plásmicas aisladas de células BHK 21

Fue examinado virus aftoso de tipo A con relación a su habilidad de adsorberse específicamente a membranas plásmicas aisladas de células BHK. Las membranas fueron preparadas mediante el método polietilenglicol-dextrano y se caracterizaron por aumentos en actividad específica de ouabain-sensible Na^+K^+ -ATPase y 5'-nucleotidase y por enriquecimiento en ^3H -fucosa sobre homogenatas sin fraccionar. Las membranas adsorbidas

The adsorption and degradation of foot-and-mouth disease virus by isolated BHK 21 cell plasma membranes

Foot-and-mouth disease virus of type A was examined for its ability to adsorb specifically to plasma membranes isolated from BHK cells. The membranes were prepared by the polyethylene glycol-dextran method and characterized by increases in specific activity of ouabain-sensitive Na^+K^+ -ATPase and 5'-nucleotidase, and by enrichment in ^3H -fucose over unfractionated homogenates. The membranes adsorbed purified, labelled

purificadas marcaron el virus con características cinéticas correspondientes a las de las células intactas. Las membranas preparadas de células previamente tratadas con tripsina fueron incapaces de adsorber virus. La adsorción de virus marcado fue inhibida por la presencia de virus sin marcar. El tratamiento del virus con tripsina, que divide el cápside 3 de la proteína, redujo en bastante su habilidad para adsorber tanto a las membranas plásmicas como a las células intactas. La incubación a 37°C resultó en rápida elución de virus adsorbido previamente a 4°C. Incubación del complejo membrana-virus a 33°C bajo condiciones salinas bajas degradó las partículas de virus del ARN viral fragmentado e intacto y las subunidades proteicas 12S. No ocurrió degradación vírica inducida por membrana a 4°C pero fue observada a los cinco minutos de un cambio a 33°C. Así pues, membranas plásmicas procedentes de células BHK retuvieron receptores para virus que poseían el cápside 3 de la proteína sin dividir. El eclipse y despojamiento de cobertura de virus en células intactas ocurre probablemente en la membrana plásmica y en una sola etapa, sin la producción de partículas subvéricas intermedias.

virus with kinetics characteristic of those of intact cells. Membranes prepared from cells pre-treated with trypsin were unable to adsorb virus. Adsorption of labeled virus was inhibited by the presence of unlabeled virus. Treatment of the virus with trypsin, which cleaves capsid protein 3, greatly reduced its ability to adsorb to either plasma membranes or intact cells. Incubation at 37°C resulted in rapid elution of virus previously adsorbed at 4°C. Incubation of the membrane-virus complex at 33°C under low salt conditions degraded the virus particles to intact and fragmented viral RNA and 12S protein subunits. Membrane-induced viral degradation did not occur at 4°C but was observed within five minutes of shifting to 33°C. Thus, isolated plasma membranes from BHK cells retained receptors for virus possessing uncleaved capsid protein 3. The eclipse and uncoating of virus in intact cells probably occurs at the plasma membrane and occurs in a single step without the production of intermediate subviral particles.

BELLHOUSE, R., BAKER, K.B., HEDGER, R.S.

Texto en inglés. *Vet. Rec.* 110 (15): 357-358, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (4): 82/38, 1982). [Veterinary Investigations Centre, Quarry Dene, Weetwood Lane, Leeds, England]

Contrainmuno-electroforesis en el diagnóstico y vigilancia serológica de la enfermedad vesicular del cerdo

Ha sido comparada la prueba de contrainmuno-electroforesis (CIEF) con las pruebas de seroneutralización y de inmunodifusión doble para el diagnóstico y vigilancia serológica de la enfermedad vesicular del cerdo. En la comparación se utilizaron dos grupos de sueros. Un grupo de 908 sueros fue probado a ciegas por CIEF y el otro grupo (778 sueros) consistía de muestras de campo procedentes de predios infectados y sospechosos. En general, las pruebas CIEF y de inmunodifusión doble resultaron menos sensibles que las de seroneutralización. Sin embargo, la sensibilidad

Counter immunoelectrophoresis in the diagnosis and serological surveillance of swine vesicular disease

The counter immunoelectrophoresis test (CIEPT) has been compared with serum neutralization and double immunodiffusion tests for the diagnosis and serological surveillance of swine vesicular disease. Two groups of sera were used in the comparison; a group of 908 sera was tested blind by CIEPT and the other group (778 sera) comprised field samples from infected and suspect premises. Overall, CIEPT and double immunodiffusion were less sensitive than serum neutralization. However, the sensitivity of CIEPT could be improved by increasing the size of the

de CIEF podía ser aumentada ampliando el tamaño de las cavidades serológicas en el gel a 3mm de diámetro. En general, la CIEF fue realizada fácilmente y dio resultados dentro de dos horas. También era económica en el uso de reactivos. De los 1686 sueros examinados no se detectaron resultados positivos falsos.

serum wells in the gel to 3mm diameter. In general, the CIEPT was simple to perform and gave results within two hours. It was also economical in the use of reagents. No false-positive results were detected out of the 1686 sera tested.

BURROWS, R., MANN, J.A., GARLAND, A.J.M., GRIEG, A., GOODRIDGE, D.

Texto en inglés. *J. comp. Path.* 91: 599-609, 1981. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (1): 82/1, 1982). [Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England]

La patogénesis de la infección aftosa natural y simulada en ganado

Han sido investigadas las etapas primarias de la localización de virus aftoso y su multiplicación en bovinos por medio de muestra secuencial procedente de la faringe y mediante titulaciones de tejido tras sacrificio de los animales. Fue recuperado virus de la faringe de 30 de los 37 bovinos expuestos por contacto directo o indirecto o a aerosoles víricos durante uno o más días antes de la detección de viremia. En comparación con otras regiones, sólo fueron recuperadas pequeñas cantidades de virus de la mucosa nasal de 4 de los 14 animales sacrificados antes del comienzo de la viremia y de 6 de 12 animales virémicos. Es probable que la mucosa nasal sea un sitio secundario y no primario del desarrollo de virus. Las cantidades de virus recuperadas de la tráquea, bronquios y pulmones no fueron suficientes para sugerir desarrollo de virus en el tracto respiratorio inferior. Fueron recuperadas cantidades relativamente grandes de virus de los tejidos linfoides y mucosa de la región faríngea. Estos descubrimientos apoyaron la opinión de que la trayectoria principal de entrada de virus y el lugar de infección primaria se encontraban en la región faríngea.

The pathogenesis of natural and simulated natural foot-and-mouth disease infection in cattle

The early stages of foot-and-mouth disease virus localization and multiplication in cattle have been investigated by sequential sampling from the pharynx and by tissue titrations following slaughter. Virus was recovered from the pharynx of 30 of 37 cattle exposed by direct or indirect contact or to virus aerosols for one or more days before detection of viraemia. By comparison with other regions, only small amounts of virus were recovered from the nasal mucosae of 4 of 14 cattle killed prior to the onset of viraemia and from 6 of 12 viraemic animals. It was likely that the nasal mucosae were secondary and not primary sites of virus growth. The quantities of virus recovered from trachea, bronchi and lungs were not sufficient to suggest virus growth in the lower respiratory tract. Relatively large amounts of virus were recovered from the mucosae and lymphoid tissues of the pharyngeal region. These findings supported the view that the main pathway of virus entry and the site of primary infection was in the pharyngeal region.

CLARKE, J.B.

Texto en inglés. Ph. D. Thesis, University of Reading, 1981. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (4): 82/37; 1982). [Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England]

La susceptibilidad de las células BHK a infección con distintas cepas de virus de la fiebre aftosa

Las poblaciones celulares en suspensión y de

The susceptibility of BHK cells to infection with different strains of foot-and-mouth disease virus

The BHK monolayer and suspension cell

monocapa BHK mantenidas en distintos laboratorios variaron en su susceptibilidad con relación a distintas cepas de virus aftoso. Estudios de clonización indicaron que poblaciones de BHK consistían de tipos de células que podían expresar cada uno, distinta capacidad para producir virus. La susceptibilidad general de una población es una función del número relativo de células susceptibles y no susceptibles presentes. Cepas de virus variaban en su habilidad para replicar en las distintas poblaciones BHK clonizadas y sin clonizar. Pérdida de susceptibilidad por una población BHK originalmente susceptible no necesariamente estaba relacionada con su nivel de pasaje. Aunque la susceptibilidad baja a los virus correlacionaba con niveles elevados de transformación, existían niveles intermedios. La replicación de virus en células resistentes no estaba restringida por la falta de unión del virión a la superficie celular. La eficacia reducida de penetración del virión podría contribuir a un descenso en la eficacia de la producción de virus. Sin embargo, la restricción principal sobre el crecimiento de virus ocurrió durante la síntesis y el proceso de macromoléculas y/o las primeras etapas de su formación.

populations maintained in different laboratories varied in their susceptibility to different strains of foot-and-mouth disease virus. Cloning studies indicated that BHK populations consisted of cell types which could each express a different capacity to produce virus. The overall susceptibility of a population is a function of the relative numbers of susceptible and insusceptible cells present. Virus strains varied in their ability to replicate in the different cloned and uncloned BHK populations. Loss of susceptibility by an originally susceptible BHK population was not necessarily related to its passage level. Although low susceptibility to viruses correlated with high levels of transformation, there were intermediate levels. Virus replication in resistant cells was not restricted by lack of virion attachment at the cell surface. Reduced efficiency of virion penetration may contribute to lowered efficiency of virus production. However, the main restriction on virus growth occurred during the synthesis and processing of viral macromolecules and/or the earliest stages of their assembly.

DOEL T.R. & COLLEN, T.

Texto en inglés. *J. Biol. Stand.* 10: 69-81, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (6): 82/56, 1982). [Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England]

Valoración cualitativa de partículas 146S de virus aftoso en preparaciones destinadas para vacunas

Se examinó una serie de preparaciones de virus de la fiebre aftosa con relación a la proteólisis de la proteína vírica VP₁. Generalmente, la degradación de VP₁ fue observada solamente en preparaciones víricas concentradas que habían sido conservadas a 4°C. La adición del inhibidor de enzima proteolítica Trasylol o el 1% de suero de buey a los concentrados inhibieron la proteólisis de VP₁ en algunas preparaciones. El tratamiento de la cepa O₁ BFS 1860 con una gama de enzimas mostró que la división de VP₁ estaba siempre asociada con una reducción en la potencia en cobayos de la vacuna preparada del virus. Se obtuvieron resultados similares con otras seis cepas de virus tratadas con tripsina.

Qualitative assessment of 146S particles of foot-and-mouth disease virus in preparation destined for vaccines

A range of foot-and-mouth disease virus preparations have been examined for proteolysis of the viral protein VP₁. In general, degradation of VP₁ was observed only in concentrated virus preparations which had been stored at 4°C. The addition of the proteolytic enzyme inhibitor Trasylol or 1% ox serum to the concentrates inhibited the proteolysis of VP₁ in some preparations. Treatment of the O₁ BFS 1860 strain with a range of enzymes showed that cleavage of VP₁ was always associated with a reduction in potency in guinea pigs of vaccine prepared from the virus. Similar results were obtained with six other virus strains treated with trypsin.

DONALDSON, A.I., GLOSTER, J., HARVEY, L.D.J., DEANS, D.H.

· Texto en inglés. *Vet. Rec.* 110: 53-57, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (2): 82/12, 1982). [Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England]

Uso de modelos de predicción para el pronóstico y análisis de propagación por el aire durante los brotes de fiebre aftosa en Bretaña, Jersey y la Isla de Wight

Entre el 4 y el 26 de marzo de 1981 en Francia se registró una serie de 14 brotes de fiebre aftosa de tipo O; 13 en Bretaña y uno en Normandía. El 19 de marzo ocurrieron brotes de tipo O en Jersey y el 22 de marzo en la Isla de Wight. Investigaciones indicaron que la enfermedad clínica podía haber estado presente en la granja de la Isla de Wight desde el 17 de marzo o por lo menos desde el 18. La probabilidad de una propagación por el aire secundaria desde el Reino Unido fue analizada por medio del modelo de predicción numérico de corto alcance. La dirección del viento durante el tiempo estimado de emisión de virus y la densidad de bovinos situados en dirección al viento, sugirió que la probabilidad de propagación era mínima. Cuando se utilizó un modelo numérico de largo alcance fue demostrado que todas las condiciones que se creían necesarias para propagación de virus aérea de larga distancia (e.g. desde Bretaña a Jersey y la Isla de Wight) resultaron satisfactorias. Además, la investigación bioquímica no reveló diferencia alguna entre las cepas de virus aisladas de Francia, Jersey y la Isla de Wight.

Use of prediction models to forecast and analyze airborne spread during the foot-and-mouth disease outbreaks in Brittany, Jersey and the Isle of Wight

Between March 4 and 26, 1981 a series of 14 outbreaks of foot-and-mouth disease type O were recorded in France; 13 in Brittany and one in Normandy. Outbreaks of type O disease occurred in Jersey on March 19 and in the Isle of Wight on March 22. Investigations indicated that clinical disease could have been present on the Isle of Wight farm since March 17 or 18 at least. The probability of secondary airborne spread from the U.K. outbreaks was analyzed by the short range numerical prediction model. Wind direction during the estimated time of virus emission and the density of cattle downwind suggested that the probability of spread was low. When a long range numerical model was used it was shown that all the conditions believed necessary for long distance windborne spread of virus (i.e. from Brittany to Jersey and the Isle of Wight) had been satisfied. Furthermore, biochemical investigation failed to reveal any differences between the virus strains isolated from France, Jersey and the Isle of Wight.

DUCHESNE, M., GUERCHE, J., LEGRAND, B., PROTEAU, M., COLSON, X.

· Texto en inglés. *Dev. Biol. Stand.* 50: 249-259, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (3): 82/27, 1982). [Laboratoire Roger Bellon, Centre de Recherches Veterinaires, B.P. 31, F-37190, Azay-le-Rideau, France]

Uso de virus de la fiebre aftosa altamente concentrados y purificados (por un método a gran escala) y conservados en nitrógeno líquido a largo plazo para la preparación de vacunas: control de calidad físico-química y pruebas de potencia tras conservación

La técnica a escala industrial para la concentración y purificación de virus abarcó la adsorción de partículas virales a un compuesto formado por

The use of highly concentrated purified (by a large scale method) and long term liquid nitrogen stored foot-and-mouth disease viruses for the preparation of vaccines: physicochemical quality controls and potency tests after storage

The industrial-scale technique for concentration and purification of virus involved adsorption of virus particles to a compound formed of ethylene

polímero óxido etileno y calcio. El complejo fue luego separado específicamente por agentes cálcicos. Mediante repetición de este ciclo de adsorción/elución tres veces, el virus resultante es concentrado aproximadamente 1000 veces y el grado de pureza vírica es más de 50%. Virus inactivado en gran cantidad preparado de esta forma fue conservado en vapor de nitrógeno líquido hasta ser utilizado para la formulación de la vacuna. Ahora se ha demostrado que antígeno aftoso purificado y conservado en esta forma durante varios años puede ser utilizado para formular vacunas eficaces. El virus conservado no mostró ninguna pérdida en la concentración de la partícula 140S ni degradación de la proteína inmunogénica VP₁. La antigenicidad e inmunogenicidad de las preparaciones fueron retenidas después de la conservación.

oxide polymer and calcium. The complex was then dissociated specifically by calcium chelating agents. By repeating this adsorption/elution cycle three times, the resulting virus is concentrated approximately 1000-fold and the degree of viral purity is greater than 50%. Bulk inactivated virus prepared in this way was stored in liquid nitrogen vapour until required for vaccine formulation. It has now been shown that purified foot-and-mouth disease antigen stored in this way for several years can be used to formulate effective vaccines. The stored virus showed no loss in 140S particle concentration and no degradation of the immunogenic protein, VP₁. The antigenicity and immunogenicity of the preparation were retained after storage.

GLOSTER, J., SELLERS, R.F., DONALDSON, A.I.

Texto en inglés. *Vet. Rec.* 110: 47-52, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (2): 82/13, 1982). [Meteorological Office, Bracknell, Berkshire, England]

Transporte a larga distancia de virus de la fiebre aftosa sobre el mar

Las condiciones necesarias para el transporte de virus aftoso en la atmósfera por largas distancias y en concentración suficiente para causar infección en animales expuestos son: elevada producción de virus; poca dispersión de virus; elevada sobrevivencia de virus; gran número de ganado susceptible expuesto al virus durante muchas horas. De acuerdo con estos factores se investigaron 23 brotes de fiebre aftosa en Europa, donde los brotes originales fueron separados de brotes posteriores por un pasaje marítimo. En brotes en Dinamarca y Suecia en 1960 y en Francia y en las Islas Normandas en 1964, también se cumplieron las condiciones y se demostró que virus transportado por el aire era la causa más probable de la infección secundaria. En la actualidad se practica el uso de estos requisitos para calcular el riesgo de enfermedad con respecto al Reino Unido, cuando existe un foco de infección en el continente cercano.

Long-distance transport of foot-and-mouth disease virus over the sea

The conditions which need to be satisfied for the transport of foot-and-mouth disease virus in the atmosphere over long distances and in sufficient concentration to cause infection in exposed animals are high virus output; low virus dispersion; high virus survival; large numbers of susceptible livestock exposed to virus for many hours. A series of 23 outbreaks of foot-and-mouth disease in Europe, where the original outbreaks were separated from later outbreaks by a sea passage, have been investigated in the light of these factors. In outbreaks in Denmark and Sweden in 1960 and in France and the Channel Islands in 1964, the conditions were satisfied and it has been shown that airborne virus was the most probable cause of secondary infection. It is now standard practice to use these requirements to assess the disease risk for the United Kingdom when there is a source of infection on the near Continent.

LA TORRE, J.L., UNDERWOOD, B.O., LEDENDIKER, M., GORMAN, B.M., BROWN, F.

Texto en inglés. *Infect. Immun.* 36 (1): 142-147, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (5): 82/46, 1982). [Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England]

Aplicación de análisis de RNasa T₁ mono y bidimensional a la identificación rápida de virus de la fiebre aftosa

Se describe el análisis de varios aislamientos de virus aftoso de importancia epizootológica actual mediante "fingerprintings" del RNasa T₁ del ARN P³² marcado. El uso del ARN 35S inducido en vez de partícula de virus ARN fue ventajoso porque se incorpora 40 veces más radioactividad al ARN inducido y además, el ARN puede prepararse con mucha más rapidez, aumentando de ese modo el valor de la técnica en el diagnóstico rápido. Mapas de una dimensión, en los cuales los oligonucleótidos RNasa T₁ son separados de acuerdo con el tamaño, han mostrado proporcionar un método analítico muy valioso para distinguir entre los virus. Los virus que proporcionaron mapas de una dimensión parecidos también dieron mapas bidimensionales iguales. Se están considerando las ventajas del uso de la longitud del tracto del ácido policitidílico del virus como un instrumento para el diagnóstico.

Application of RNase T₁ one-and two-dimensional analyses to the rapid identification of foot-and-mouth disease viruses

The analysis of several isolates of foot-and-mouth disease virus of current epizootological significance by RNase T₁ fingerprinting of the ³²P-labelled RNA is described. The use of the 35S induced RNA instead of virus particle RNA was advantageous because some 40-times more radioactivity is incorporated into the induced RNA and, in addition, the RNA can be prepared much more rapidly, thus increasing the value of the technique in rapid diagnosis. One-dimensional maps in which the RNase T₁ oligonucleotides are separated according to size, have been shown to provide a valuable screening method for distinguishing between viruses. Those viruses which gave similar one-dimensional maps also gave similar two-dimensional maps. The advantages of using the length of the polycytidylic acid tract of the virus as a diagnostic tool are considered.

OULDRIDGE, E.J., FRANCIS, M.J., BLACK, L.

Texto en inglés. *Res. vet. Sci.* 32: 327; 331, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (6): 82/54, 1982). [Wellcome FMD Vaccine Laboratory, Ash Road, Pirbright, Woking, Surrey, England]

Respuesta de anticuerpo en cerdos a la vacuna antiaftosa de emulsión oleosa. Los tipos de anticuerpo implicados

Se investigó la respuesta de anticuerpo humoral de cerdos a la vacunación primaria y a repeticiones con vacuna antiaftosa y las clases de anticuerpos implicadas identificadas. Fueron inoculados grupos de cerdos con vacuna con adyuvante oleoso y reinoculados a los 21 ó 148 ó 106 días más tarde. Se tomaron muestras de suero periódicamente, siendo fraccionadas en elementos pesados y ligeros sobre gradientes de densidad de sucrosa. La fracción más pesada contenía IgM y la más ligera IgG e IgA. Fueron descubiertos anticuerpos neutralizantes por primera vez a los 8 días después de la inoculación inicial, alcanzando su punto más alto

Antibody response of pigs to foot-and-mouth disease oil emulsion vaccine. The antibody classes involved

The humoral antibody response of pigs to primary and repeat vaccinations with foot-and-mouth disease vaccine has been investigated and the antibody classes involved identified. Groups of pigs were inoculated with oil adjuvanted vaccine and revaccinated at either 21 or 148 or 106 days later. Serum samples were taken periodically and fractionated into heavy and light elements on sucrose density gradients. The heavier fraction contained IgM and the lighter fraction IgG and IgA. Neutralizing antibodies were first detected at 8 days following initial inoculation and reached a peak between 14 and 21 days. The titres remained

entre los 14 y 21 días. Los títulos permanecieron a un nivel relativamente alto hasta la revacunación. A los 8 días fue atribuido anticuerpo neutralizante a IgM pero a los 10 hasta los 14 días, tanto IgM como IgG se encontraban presentes. A los 35 días y más tarde después de una sola inoculación, toda la actividad neutralizante en el suero fue debida a la IgG. La revacunación resultó en una subida de todos los títulos neutralizantes séricos y en cada caso, se acusó la presencia tanto de IgM como de IgG.

at relatively high levels until revaccination. Neutralizing antibody at 8 days was attributed to IgM but by 10 to 14 days, both IgM and IgG were involved. At 35 days and later after a single vaccination, all the neutralizing activity in the sera was due to IgG. Revaccination resulted in a rise in the whole serum neutralizing titres and in each case both IgM and IgG class antibodies were involved.

POLATNICK, J. & WOOL, S.

Texto en inglés. *J. Virol.* 40 (3): 881-889, 1981. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (2): 82/21, 1982). [Plum Island Animal Disease Center, Greenport, New York 11944, USA]

Caracterización de una polimerasa de ácido poliuridílico 70S aislada de células infectadas con virus aftoso

Se han realizado estudios sobre las propiedades y componentes de un complejo de polimerasa de ácido poliuridílico aislado de células BHK infectadas con virus aftoso. El complejo sedimentó a 70S en un gradiente de sucrosa y apareció en el volumen de exclusión de una columna agarosa cuyo punto aislante de peso molecular era 5×10^6 . La extracción de fenol del complejo produjo una banda heterogénea de ARN de virus-específico y un aparente huésped de célula derivado del ARN 4.5S a 5S, siendo ambos ARNs esencialmente de una sola cadena. Ninguno de estos ARNs sirvió como plantilla en un sistema enzimático libre de célula. Análisis en gel de poliacrilamida reveló cinco polipéptidos con pesos moleculares de 50.000, 56.000, 60.000, 70.000 y 74.000 respectivamente y proporciones molares de 1:2:2:1:1 respectivamente. Una técnica autoradiográfica mostró que P56 era el único polipéptido principal inducido por virus; las otras proteínas aparentemente eran originarias de la célula huésped. Estudios de microscopio electrónico sugirieron la forma de rueda de carro con respecto al complejo de polimerasa, que se disoció al añadirse ácido poliadenílico. Las unidades 70S fueron agregadas por el anticuerpo que previamente había mostrado inhibir la actividad enzimática.

Characterization of a 70S polyuridylic acid polymerase isolated from foot-and-mouth disease virus-infected cells

Studies have been made on the properties and components of a polyuridylic acid polymerase complex isolated from foot-and-mouth disease virus-infected BHK cells. The complex sedimented at 70S in a sucrose gradient and appeared in the exclusion volume of an agarose column whose molecular weight cut-off point was 5×10^6 . Phenol extraction of the complex yielded a heterogeneous band of virus-specific RNA and an apparently host cell-derived 4.5S to 5S RNA, both of which were essentially single-stranded. Neither of these RNA's served as a template in a cell-free enzyme system. Polyacrylamide gel analysis revealed five polypeptides with molecular weights of 50,000, 56,000, 60,000, 70,000 and 74,000 respectively and molar ratios of 1:2:2:1:1 respectively. An autoradiographic technique showed that P56 was the only major virus-induced polypeptide; the other proteins being, apparently, of host cell origin. Electron microscope studies suggested a cartwheel shape for the polymerase complex which was observed to dissociate as polyadenylic acid was added. Antibody which had previously been shown to inhibit enzyme activity aggregated the 70S units.

PRESTON, K.J., OWENS, H., MOWAT, G.N.

Texto en inglés. *J. Biol. Stand.* 10: 35-45, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (3): 82/24, 1982). [Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England]

Fuentes de variación encontradas durante la selección y producción de tres cepas de virus aftoso para el desarrollo de vacuna a ser utilizada en Nigeria

Se describe la formulación de una vacuna anti-aftosa trivalente para ser usada en Nigeria y la incorporación de cepas de virus local. Ha sido desarrollado un procedimiento de selección para la investigación de aislamientos de virus con el propósito de identificar los más adaptables a la producción de antígeno en métodos de cultivo celular. Fueron examinadas cepas de virus de los tipos A, SAT 1 y SAT 2 aisladas en Nigeria o países vecinos. La selección fue basada en la habilidad de una cepa para producir $10^{6.0}$ o más UFP por ml al tercer pasaje consecutivo en monocapas celulares BHK o IB-RS-2. Existía muy poca dificultad en desarrollar cepas vacunales de los tipos A y SAT 1. En cambio, las cepas SAT 2 se desarrollaron pobremente en cultivo de tejido. Existían grandes variaciones en la producción de antígeno procedente de cepas desarrolladas en BHK a distintos niveles de pasaje y las características de placa de algunas cepas cambiaron durante la adaptación al desarrollo en cultivos celulares en suspensión. Una prueba de campo de pequeña escala en Nigeria, indicó que la vacuna trivalente protegería el 95% del ganado contra el desafío por vía intradermolingual con virus de los tipos A y SAT 2. Sin embargo, las reacciones al componente SAT 1 fueron pobres.

Sources of variation encountered during the selection and production of three strains of foot-and-mouth disease virus for the development of vaccine for use in Nigeria

The formulation of a trivalent foot-and-mouth disease vaccine for use in Nigeria and incorporating local virus strains is described. A selection procedure for the screening of virus isolates so as to identify those most suited to antigen production in tissue culture systems has been developed. Virus strains of types A, SAT 1 and SAT 2 isolated in Nigeria or neighbouring countries were screened. Selection was based on the ability of a strain to produce $10^{6.0}$ or more PFU per ml by the third consecutive passage in BHK or IB-RS-2 cell monolayers. There was little difficulty in developing vaccines strains of A and SAT 1 types. However, SAT 2 strains grew poorly in tissue culture. There were large variations in antigen yield from strains growing in BHK at different passage levels and the plaque characteristics of some strains changed during adaptation to growth in suspension cell cultures. A small-scale field trial in Nigeria indicated that the trivalent vaccine would protect 95% of cattle against intradermolingual challenge with type A and SAT 2 viruses. However, responses to the SAT 1 component were poor.

SHARMA, S.K. & MURTY, D.K.

Texto en inglés. *Indian J. Anim. Sci.* 51 (1): 61-66, 1981. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (6): 82/48, 1982). [College of Veterinary Science and Animal Husbandry Chandrashekhar Azad University of Agriculture and Technology, Mathur, Uttar Pradesh 281 002, India]

La fiebre aftosa en ovinos. Norma de excreción y distribución vírica en animales infectados experimentalmente

Fueron expuestos al virus aftoso grupos de ovejas de 8 a 18 meses de edad mediante inoculación en la banda coronaria (BC), por vía

Foot-and-mouth disease in sheep. Pattern of virus excretion and distribution in experimentally infected animals

Groups of sheep aged 8 to 18 months were exposed to foot-and-mouth disease virus by inoculation in the coronary band (CB), by

intradermolingual (IDL), por instilación nasal (IN) o mediante contacto con ovejas infectadas. El intervalo entre la exposición y la aparición del virus en secreciones y excreciones dependió del método de exposición. Se detectó virus en los fluidos del esófago y faringe de 6 a 8 horas después de exposición y pudo ser detectada viremia 6 horas después. Fueron descubiertos títulos víricos menores en secreciones nasales y lagrimales y éstas fueron de duración más corta. En ovejas infectadas mediante contacto, la viremia o se retrasó hasta las 120 horas o no fue detectable durante el período de observación de 7 días. Sin embargo, el virus aparecía consistentemente en secreciones nasales entre las 24 horas y 6 días después de exposición. El virus apareció en la saliva 6 a 8 horas antes que en secreciones lagrimales. Aunque todos los animales expuestos excretaron virus en secreciones del esófago, faringe y secreción nasal, 4 animales no mostraron ninguna lesión de la enfermedad. En otras ovejas, se encontró virus en secreciones y excreciones entre 2 a 36 horas antes de la aparición de lesiones.

intradermolingual (IDL) injection, by nasal instillation (NI) or by contact with infected sheep. The interval between exposure and appearance of virus in secretions and excretions depended on the method of exposure. Virus could be detected in oesophageal-pharyngeal fluids at 6 to 8 hours after exposure and viraemia could be detected 6 hours later. Lower virus titers were detected in nasal and lacrimal secretions and these were of shorter duration. In sheep infected by contact, viraemia was either delayed until 120 hours or was not detectable during the 7 day observation period. However, virus was consistently recorded in nasal secretions between 24 hours and 6 days after exposure. Virus appeared in saliva 6 to 8 hours earlier than in lacrimal secretions. Although all the exposed sheep excreted virus in oesophageal-pharyngeal and nasal secretions, 4 animals did not show any lesions of disease. In other sheep, virus was present in secretions and excretions 2 to 36 hours prior to the appearance of lesions.

SHARPE, R.T., LANGLEY, A.M., MOWAT, G.N., MACASKILL, J.A., HOLMES, P.H.

Texto en inglés. *Res. vet. Sci.* 32: 289-293, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (6): 82/55, 1982). [Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England]

Inmunosupresión en tripanosomiasis bovina: respuesta de ganado infectado con *Trypanosoma congolense* a vacunación antiaftosa y subsiguiente desafío de virus vivo

Fueron investigadas respuestas primaria y secundaria a la vacuna antiaftosa en ganado infectado con *Trypanosoma congolense* y la reacción de algunos animales al desafío con virus vivo. El ganado infectado con tripanosoma tuvo reacciones de anticuerpo algo menores que el ganado sin infectar tras vacunación primaria, pero los títulos de anticuerpo no fueron presionados significativamente hasta después de la inoculación secundaria. Los niveles permanecieron presionados durante todo el período experimental (183 días). La terapia tripanocidal con aceturate diminazene en el momento de la inoculación no mejoró significativamente la respuesta de anticuerpo a la vacunación primaria. La respuesta consiguiente al desafío con virus vivo

Immunosuppression in bovine trypanosomiasis: response of cattle infected with *Trypanosoma congolense* to foot-and-mouth disease vaccination and subsequent live virus challenge

Primary and secondary response to foot-and-mouth disease vaccine were investigated in cattle infected with *Trypanosoma congolense* and the response of some of these animals to challenge with live virus was assessed. Trypanosome-infected cattle had somewhat lower antibody response than uninfected control cattle following primary vaccination but the antibody titers were not significantly depressed until after the secondary vaccination. The levels remained depressed for the duration of the experiment (183 days). Trypanocidal therapy with diminazene aceturate at the time of vaccination did not significantly improve the antibody response to primary vaccination. The subsequent response to live virus

fue equívoca pues el número de animales protegidos no fue muy diferente en comparación a controles infectados sin tratar y no infectados. Se concluyó que ganado infectado con tripanosoma no produce respuestas óptimas a la vacunación antiaftosa. De todas formas, los títulos de anticuerpo son generalmente superiores a aquellos considerados adecuados para ofrecer un 98% de protección contra el desafío por inoculación.

challenge was equivocal in that the number of animals protected was not significantly different in comparison to intreated infected and uninfected controls. It was concluded that trypanosome-infected cattle do not produce optimal responses to foot-and-mouth disease vaccination. Nevertheless, the antibody titers are generally above those considered adequate to confer 98% protection against challenge by inoculation.

SPIER, R.E.

Texto en inglés. *J. Chem. Tech. Biotechnol.* 23: 304-312, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (4): 82/36, 1982). [Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England]

Tecnología de célula animal: una revisión

Esta revisión describe los distintos tipos de equipos que se utilizan para desarrollar grandes cantidades de monocapa (o dependiente de superficie) celular y células en suspensión (o independientes de superficie). Se describen las metodologías que se utilizan para obtener un funcionamiento digno de confianza, como también algunos ejemplos de la aplicación de microprocesores para observar y controlar parámetros operacionales. Se da una lista de la clase de productos que son obtenidos en la actualidad de células animales y se discute el potencial futuro de células prokarióticas y células animales logradas genéticamente.

Animal cell technology: an overview

This review describes the different kinds of equipment which are used to grow large quantities of monolayer (or surface-dependent) cells and suspension (or surface-independent) cells. The methodologies which are used to obtain reliable performance are described as are some examples of the application of microprocessors to monitor and control operational parameters. The kinds of product which are currently obtained from animal cells are listed and the future potential of genetically engineered animal and prokaryotic cells is discussed.

STAPLE, R.F. & DOEL, T.R.

Texto en inglés. *J. Biol. Stand.* 10: 147-156, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (6): 82/57, 1982). [Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England]

Interacciones entre saponina y partículas 146S de virus de la fiebre aftosa

Se ha examinado el efecto de la saponina sobre las propiedades de distintas cepas de virus aftoso. La saponina a una concentración de 1,7 mg/ml causó que los virus O₁ BFS 1860, A Cruzeiro y SAT 3 Bec 1/65 se agregaron mientras que los virus del subtipo C no fueron afectados. El experimento realizado con virus radioactivos purificados indicó que la saponina cruda no causó degradación significativa de las partículas 146S. Ninguno de

Interactions between saponin and 146S particles of foot-and-mouth disease virus

The effect of saponin on the properties of different strains of foot-and-mouth disease virus have been examined. Saponin at a concentration of 1.7 mg/ml caused O₁ BFS 1860, A Cruzeiro and SAT 3 Bec 1/65 viruses to aggregate whereas virus of the C serotype were not affected. Work with purified radioactive viruses indicated that crude saponin did not cause significant degradation of 146S particles. None of the viruses tested

los virus examinados fue afectado por el tratamiento con 1,5 mg/ml del componente de saponina purificado, Quil A. Hubo evidencia de que las partículas 146S "vivas" eran menos afectadas por la saponina que las partículas 146S inactivadas por acetiltileneimina. Esto sugirió que la AEI modifica un poco las propiedades superficiales de las partículas víricas.

were affected by treatment with 1.5 mg/ml of the purified saponin component, Quil A. There was evidence that 'live' 146S particles were less affected by saponin than acetylethyleneimine-inactivated 146S particles. This suggested that AEI modified slightly the surface properties of virus particles.

TERRY, G.M., CLARK, R.P., RWEYEMAMU, M.M.

Texto en inglés. *Arch. Virol.* 71: 333-341, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (5): 82/45, 1982). [Wellcome FMD Vaccine Laboratory, Pirbright, Woking, Surrey, England]

Variaciones en la densidad boyante de cepas de virus aftoso

Se investigaron los efectos del período de centrifugación, fuente de virus y tripsina sobre la densidad boyante del virus aftoso en cloruro de cesio. Bajo condiciones normales, se descubrió que las densidades boyantes de una serie de cepas de virus de vacuna, representando los siete serotipos, no estaban relacionadas con su capacidad para ser formuladas en vacunas eficaces. No obstante, los virus podían asignarse a grupos un tanto arbitrarios sobre la base de densidad boyante. El grupo de virus de densidad más baja contenía solamente virus que generalmente producían vacunas de baja potencia en la inoculación primaria. El segundo grupo contenía solamente virus de los tipos O, A y C que producen normalmente vacunas de alta potencia. El grupo de mayor densidad contenía todos los virus SAT 2 examinados, un virus tipo A, un virus Asia 1. La mayoría de los virus en este grupo también produjeron vacunas de elevada eficacia. En algunas cepas de virus se observó una pequeña cantidad de componentes de alta y/o baja densidad ocurridos naturalmente.

Variations in the buoyant density of foot-and-mouth disease virus strains

The effects of centrifugation time, source of virus and trypsin on the buoyant density of foot-and-mouth disease virus in caesium chloride have been investigated. Under standard conditions, the buoyant densities of a range of vaccine virus strains, representing all seven serotypes, were found to be unrelated to their potential of being formulated into effective vaccines. However, viruses could be assigned to somewhat arbitrary groups on the basis of buoyant density. The lowest density group of viruses contained only viruses which generally produced vaccines of low potency on primary vaccination. The second group contained only types O, A and C viruses which regularly produce vaccines of high potency. The highest density group contained all the SAT 2 viruses examined, one type A virus and one Asia 1 virus. Most of the viruses in this group also produced vaccines of high potency. In some virus strains, a small amount of naturally occurring high and/or low density components were observed.

WEGEN, A.

Texto en holandés. *Zuivelzicht.* 73 (4-5): 80-81, 1981. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (3): 82/22, 1982.) [Directie Veehouderij en Zuivel, Min. van Landbouw, The Hague, Netherlands]

¿Puede garantizarse que los productos lácteos procedentes de los Países Bajos estén libres de virus aftoso?

Desde 1953, todo el ganado en los Países Bajos

Can dairy products exported from the Netherlands be guaranteed free from foot-and-mouth disease virus?

All cattle in the Netherlands over four months

ha sido vacunado anualmente contra la fiebre aftosa. La última epidemia de esta enfermedad en vacas lecheras tuvo lugar en 1963. Trabajo previo ha sugerido que no es probable que las vacas inoculadas con regularidad excreten virus en la leche y que cualquier pequeña cantidad que pasara a la leche, probablemente sería destruida por el procedimiento de pasteurización rutinario. Aunque es muy poco probable que los productos lácteos exportados por los Países Bajos contengan virus aftoso, algunos países de importación exigen que la leche sea tratada por técnicas que garanticen completamente la destrucción del virus. Experimentos recientes han establecido las combinaciones de temperatura/tiempo necesarias para la inactivación del virus a concentraciones muy elevadas en la leche de vacas infectadas experimentalmente. El procedimiento consta de calentamiento por 3 minutos a 110°C, 30 segundos a 120°C ó 17 segundos a 135°C en un esterilizador continuo con calor indirecto.

of age have been vaccinated annually against foot-and-mouth disease since 1953. The last outbreak of disease in dairy cattle was in 1963. Previous work has suggested that regularly vaccinated cattle are unlikely to excrete virus in milk and that any small amounts which did pass into the milk would probably be destroyed by the routine pasteurization process. Although it is very unlikely that dairy products exported from the Netherlands would contain foot-and-mouth disease virus, some importing countries demand that the milk is treated by techniques which guarantee complete destruction of virus. Recent experiments have established the temperature/time combinations required to inactivate the virus at very high concentration in milk of experimentally infected cows. The procedure involves heating for 3 minutes at 110°C, 30 seconds at 120°C or 17 seconds at 135°C in a continuous sterilizer with indirect heating.

bibliografía sobre enfermedades vesiculares**vesicular diseases bibliography**

ABU ELZEIN, E.M.E. & NEWMAN, B.J.

Subtipificación de cepas de virus aftoso tipo O en el Sudán, 1970-1980. *Texto en inglés*. (Subtyping of strains of foot-and-mouth disease virus type O in Sudan, 1970-1980). *Bull. Off. int. Epiz. 92* (11-12): 1185-1191, 1980. (*FMD Bull. Wellcome 21* (2): 82/11, 1982). [FMDV Laboratory, Soba, Khartoum, P.O. Box 193, Sudan]

AHUJU, K.L., RAMAKANT, S., TEWARI, S.C., PRASAD, S., GOEL, M.C., SHARMA, V.K.

Nota sobre la epidemiología de fiebre aftosa en el noroeste de la India. *Texto en inglés*. (Note on the epidemiology of foot-and-mouth disease in northwest of India). *Indian J. anim. Sci.* 51 (10): 938-987, 1981. (*FMD Bull. Wellcome 21* (5): 82/39, 1982). [College of Veterinary Sciences, Haryana Agricultural University, Hissar, Haryana 125 004, India]

BOOTHROYD, J.C., HARRIS, T.J.R., ROWLANDS, D.J., LOWE, P.A.

Secuencia nucleótida del código del ADNc para la proteína estructural del virus aftoso. *Texto en inglés*. (The nucleotide sequence of cDNA coding for the structural protein of foot-and-mouth disease virus). *Gene 17*: 153-161, 1982. (*FMD Bull. Wellcome 21* (5): 82/42, 1982). [Department of Immunochimistry, Wellcome Research Laboratories, Langley Court, Beckenham, Kent, England]

CARTWRIGHT, B., CHAPMAN, W.G., SHARP, R.T.

Estímulo mediante antígenos heterotípicos de anticuerpos del virus de la fiebre aftosa en ganado inoculado. *Texto en inglés*. (Stimulation by heterotypic antigens of foot-and-mouth disease virus antibodies in vaccinated cattle). *Res. vet. Sci.* 32: 338-342, 1982. (*FMD Bull. Wellcome 21* (6): 82/52, 1982). [Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England]

CHARAN, S. & PRASAD, S.

Estudios sobre la vacunación de cerdos con virus aftoso atenuado pasado en cerebro de ratón. *Texto en inglés*. (Studies on vaccination of pigs with attenuated foot-and-mouth disease virus passaged in mouse brain). *Indian J. anim. Sci.* 51 (11) 1070-1074, 1981. (*FMD Bull. Wellcome 21* (6): 82/53, 1982). [College of Veterinary Sciences, Haryana Agricultural University, Hissar, Haryana 125 004, India]

DIMITRIADIS, I.A.

Contagio del hombre por la enfermedad vesicular del cerdo. *Texto en griego*. (Contagiousness of swine vesicular disease to man). *Delt. Hellen. Ktn. Etai.* 32 (3): 206-220, 1981. (*FMD Bull. Wellcome 21* (1): 82/9, 1982). [Foot and Mouth Disease Institute, Aghios Paraskevi, Attiki, Greece]

HAMBLIN, C & CROWTHER, J.R.

Una prueba rápida de enzima ligada a un inmunosorbente para la confirmación serológica de la enfermedad vesicular del cerdo. *Texto en inglés*. (A rapid enzyme-linked immunosorbent assay for the serological confirmation of swine vesicular disease). *Brit. vet. J.* 138: 247-252, 1982. (*FMD Bull. Wellcome 21* (6): 82/58, 1982). [Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England]

KING, A.M.Q., McCAHON, D., SLADE, W.R., NEWMAN, J.W.I.

Evidencia bioquímica de recombinación dentro del genoma del ARN sin segmentar del virus de la fiebre aftosa. *Texto en inglés*. (Biochemical evidence of recombination within the unsegmented RNA genome of aphthovirus). *J. Virol.* 41 (1): 66-77, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (3): 82/25, 1982). [Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England]

KLEID, D.G., YANSURA, D., SMALL, B., DOWBENKO, D., MOORE, D.M., GRUBMAN, M.J., McKERCHER, P.D., MORGAN, D.O., ROBERTSON, B.H., BACHRACH, H.L.

Vacuna proteica vírica clonizada para la fiebre aftosa: reacciones en bovinos y porcinos. *Texto en inglés*. (Cloned viral protein vaccine for foot-and-mouth disease: responses in cattle and swine). *Science* 214: 1125-1129, 1981. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (1): 82/4, 1982). [Department of Molecular Biology, Genentech Inc., South San Francisco, California 94080, USA]

LAL, S.M., VASANTHA, S., MATHUR, B.B.L., KATHURA, B.K., NEGI, B.S., PANDEY, M.C.

Respuesta inmunitaria y de anticuerpo de bovinos a la vacuna antiaftosa tipo A. *Texto en inglés*. (Immune and antibody response of cattle to foot-and-mouth disease type A vaccine). *Indian vet. J.* 57: 714-718, 1980. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (1): 82/7, 1982). [Indian Veterinary Research Institute, Hebbal, Bangalore, Karnataka 560 024, India]

MATHUR, B.B.L., BUTCHIAH, G., VASANTHA, S., LAL, S.M., JOSHI, S.V., NARAYANASWAMY, M.

Nota sobre la respuesta de anticuerpo de bovinos a la vacuna antiaftosa monovalente de tipo O. *Texto en inglés*. (Note on antibody response of cattle to foot-and-mouth disease monovalent type O vaccine). *Indian J. anim. Sci.* 51 (1): 109-110, 1981. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (4): 82/34, 1982). [Indian Veterinary Research Institute, Hebbal, Bangalore, Karnataka 560 024, India]

MEHROTRA, P.K., SHARMA, K.N., MEHROTRA, P.N.

Nota sobre anticuerpos fijadores del complemento y proteínas séricas principales de terneros lactantes cruzados tras inoculación antiaftosa. *Texto en inglés*. (Note on complement fixing antibodies and principal serum proteins of crossbred suckling cow calves following foot-and-mouth disease vaccination). *Indian J. anim. Sci.* 51 (7): 737-739, 1981. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (2): 82/15, 1982). [College of Veterinary and Animal Science, University of Udaipur, Bikaner, Rajasthan 334 001, India]

MISHRA, S.C., SHARMA, K.N., MEHROTRA, P.N.

Aparición de anticuerpos precipitantes de tipo específico en terneros cruzados tras inoculación antiaftosa. *Texto en inglés*. (Appearance of type specific precipitin antibodies in cross-bred calves following foot-and-mouth disease vaccination). *Agric. Sci. Digest (India)* 1 (1): 51-52, 1981. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (6): 82/51, 1982). [Department of Veterinary Microbiology, College of Veterinary and Animal Science, Bikaner, Rajasthan 334 001, India]

PAPPOUS, C., VERBELIS, P., DIMITRIADIS, I.

Cultivos de suspensión celular BHK y producción de virus aftoso para vacunas. *Texto en griego*. (BHK cell suspension cultures and foot-and-mouth disease virus production for vaccines). *Delt. Hellen. Ktn. Etai.* 32 (3): 195-205, 1981. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (1): 82/5, 1982). [Foot-and-Mouth Disease Institute, Aghios Paraskevi, Attiki, Greece]

POLATNICK, J. & WOOL, S.H.

Localización de la síntesis del ARN de fiebre aftosa sobre vacuolas membranosas celulares suaves recién formadas. *Texto en inglés.* (Localization of foot-and-mouth disease RNA synthesis on newly formed cellular smooth membranous vacuoles). *Arch. Virol.* 71: 207-215, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (5): 82/41, 1982). [Plum Island Animal Disease Center, Greenport, Long Island, New York 11944, USA]

RAUF, A.M., KHAN, N.A., AHMED, M.

Estudio tipográfico del virus de la fiebre aftosa en Pakistán. *Texto en inglés.* (Typographic study of foot-and-mouth disease virus in Pakistan). *Pakistan vet. J.* 1 (1): 13-14, 1981. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (4): 82/33, 1982). [Veterinary Research Institute, Hareekay Road, Lahore, Pakistan]

SHANKAR, H. & UPPAL, P.K.

Anticuerpos calostrales contra el virus aftoso en terneros recién nacidos. *Texto en inglés.* (Colostrum antibodies for foot-and-mouth disease virus in new born calves). *Indian J. anim. Sci.* 51 (1): 29-34, 1981. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (4): 82/35, 1982). [Indian Veterinary Research Institute, Mukteswar-Kumaon, Uttar Pradesh 263 138, India]

SHARMA, K.N. & MEHROTRA, P.N.

Nota sobre el comportamiento biológico de una cepa de virus aftoso tipo O de cerdo. *Texto en inglés.* (Note on the biological behavior of a swine strain of foot-and-mouth disease type O). *Indian J. anim. Sci.* 51 (10): 1007-1009, 1981. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (5): 82/40, 1982). [College of Veterinary and Animal Science, University of Agriculture, Udaipur, Bikaner, Rajasthan 334 001, India]

SINGH, V.P., SINGH, P.P., SHARMA, S.K., SINGH, G.R.

Infección cruzada en un laboratorio de virus: informe de un caso. *Texto en inglés.* (Cross-infection in a virus laboratory: a case report). *Vet. Res. J.* 3 (2): 129-130, 1980. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (1): 82/10, 1982). [Department of Bacteriology, College of Veterinary Science and Animal Husbandry, Mathura 281 002, India]

STROHMAIER, K., FRANZE, R., ADAM, K.H.

Localización y caracterización de la porción antigénica de la proteína inmunizadora del virus aftoso. *Texto en inglés.* (Location and characterization of the antigenic portion of the foot-and-mouth disease virus immunizing protein) *J. gen. Virol.* 59: 295-306, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (5): 82/44, 1982). [Federal Research Institute for Animal Virus Diseases, Paul Ehrlich Strasse 28, Tübingen, Federal Republic of Germany]

WHITESIDE, J.P., BARNET, I.T.R., DOEL, T.R., SPIER, R.E.

Producción y uso de virus de enfermedad vesicular del cerdo procedente de monocapas de células de riñón porcino desarrolladas sobre la superficie de esferas de cristal de 3mm. *Texto en inglés.* (The production and use of swine vesicular disease virus from pig kidney monolayer cells grown on the surface of 3mm diameter glass spheres). *Biotech. Bioeng.* 24: 245-249, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (3): 82/29, 1982). [Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England]

BOLETIN DEL CENTRO PANAMERICANO DE FIEBRE AFTOSA

INVITACION A LOS AUTORES

El BOLETIN del Centro Panamericano de Fiebre Aftosa es una revista trimestral, bilingüe (español e inglés) del Centro Panamericano de Fiebre Aftosa. En ella se publican trabajos que se juzgan de interés para las actividades relacionadas con los programas de prevención o de lucha contra las enfermedades vesiculares de los animales. Los autores que deseen publicar sus trabajos en esta revista deberán someterlos a la consideración del Comité Editorial, en cualquiera de los siguientes formatos o presentaciones:

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

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

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

Trabajo de revisión: Formato flexible.

INSTRUCCIONES A LOS AUTORES

1. Todos los trabajos que se presenten para su publicación en el BOLETIN deben estar escritos a máquina, a doble espacio, en un sola cara del papel, tamaño carta (28 x 22 cm).
2. En una hoja separada se detallarán: Apellido y nombre o iniciales del autor (o autores), cargo oficial y nombre de la institución (si pertenece a alguna) y dirección.
3. Las ilustraciones y cuadros, numerados con números arábigos, con sus respectivas leyendas y títulos, se incluirán en páginas aparte, numerados en forma consecutiva y agrupados al final del trabajo, con indicación del lugar donde deben ser incluidos.
4. Las referencias citadas deben presentarse en lista separada, por orden alfabético y con los números que les corresponden en el texto.
5. Los trabajos pueden enviarse en inglés o español o, de preferencia, en ambos idiomas. Los trabajos que se presenten en un solo idioma serán traducidos al otro por disposición del Comité Editorial, el que se reserva el derecho de aprobar las traducciones.
6. El Comité Editorial se reserva también el derecho de aceptar o rechazar la publicación de un trabajo, así como de realizar cualquier modificación editorial, como ser: la condensación u omisión de parte del texto, cuadros, ilustraciones o anexos. Los originales no se devuelven en ningún caso.
7. Publicado el trabajo, cada autor recibirá gratuitamente 25 separatas del mismo.

COMITE EDITORIAL

Dr. Raúl Casas Olascoaga, Director
Dr. Paul Suttmöller, Jefe de los Laboratorios
Dr. Juan Zapatel, Planif. y Evaluac. de Programas Antiaftosos
Dr. Felix J. Rosenberg, Epidemiólogo
Sra. Perla Vaccaro, Secretaria

PAN-AMERICAN FOOT-AND-MOUTH DISEASE CENTER BULLETIN**INVITATION TO CONTRIBUTORS**

The BOLETIN is a quarterly bi-lingual journal of the Pan-American Foot-and-Mouth Disease Center. It publishes articles relating to all aspects of work in laboratory, field and program activities of vesicular diseases in animals. The Director invites contributors to submit their work to the Editorial Committee in the most appropriate of the following formats:

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

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

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

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

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

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

EDITORIAL COMMITTEE

Dr. Raúl Casas Olascoaga, Director
Dr. Paul Suttmöller, Chief of Laboratories
Dr. Juan Zapatel, Planning and Evaluation FMD Programs
Dr. Felix J. Rosenberg, Epidemiologist
Ms. Perla Vaccaro, Secretary