
BOLETIN

del centro panamericano de fiebre aftosa

Nº 26, abril-junio, 1977.

No. 26, April-June, 1977.

contenido

contents

	p.
Patobiología de la fiebre aftosa en bovinos. Revisión	1
<i>John W. McVicar</i>	
The pathobiology of foot-and-mouth disease in cattle. A review	9
<i>John W. McVicar</i>	
Fiebre aftosa: reacción de cerdos convalecientes a la exposición de virus homólogos.	15
<i>Ivo Gomes</i>	
Foot-and-mouth disease: reaction of convalescent pigs to homologous virus exposure	19
<i>Ivo Gomes</i>	
Respuesta inmunitaria de bovinos adultos vacunados contra la fiebre aftosa con vacuna oleosa	23
<i>P. Augé de Mello; Vicente Astudillo; Ivo Gomes; J.T. Campos Garcia</i>	
Immune response of adult cattle vaccinated with oil adjuvanted foot-and-mouth disease vaccines	27
<i>P. Augé de Mello; Vicente Astudillo; Ivo Gomes; J.T. Campos Garcia</i>	

Prevalencia de anticuerpos VIA en bovinos del norte del Chocó, Colombia. 1975	31
<i>Cesar A. Lobo; Gustavo Arbelaez R.; Guillermo Restrepo S.; Juan G. Restrepo A.</i>	
The prevalence of VIA antibodies of foot-and-mouth disease in cattle in Northern Chocó, Colombia. 1975.....	37
<i>Cesar A. Lobo; Gustavo Arbelaez R.; Guillermo Restrepo S.; Juan G. Restrepo A.</i>	
Ensayos sobre posibles efectos colaterales del merthiolate, usado como conservador en vacunas antiaftosas inactivadas	43
<i>Daniel Abaracón</i>	
The effect of merthiolate on the immunogenicity of foot-and-mouth disease virus antigens	47
<i>Daniel Abaracón</i>	
Vacuna oleosa: cobertura inmunológica de las cepas del virus de la fiebre aftosa, tipo A, representativas de Sudámerica	49
<i>A. Alonso Fernández; M.S. Söndahl; Ivo Gomes; P. Augé de Mello</i>	
Oil adjuvanted vaccine: immunological coverage of representative strains of foot-and-mouth disease type A virus in South America.....	51
<i>A. Alonso Fernández; M.S. Söndahl; Ivo Gomes; P. Augé de Mello</i>	
Resúmenes - Abstracts	53
Bibliografía sobre enfermedades vesiculares - Vesicular diseases bibliography.....	57
Informaciones - News.....	59

CENTRO PANAMERICANO DE FIEBRE AFTOSA
Caixa Postal 589 ZC-00 - 20 000 Rio de Janeiro, RJ, Brasil

PATOBIOLOGIA DE LA FIEBRE AFTOSA EN BOVINOS. REVISION

John W. McVicar*

INTRODUCCION

En esta presentación revisaré la patobiología de la fiebre aftosa, tema que desde hace mucho tiempo ha sido objeto de trabajo para una gran cantidad de investigadores. Limitaré esta revisión a la especie bovina, porque la mayor parte de las investigaciones del trabajo ha sido realizada en esta especie. Aunque han sido descritas algunas semejanzas en otros rumiantes, no podemos afirmar que el proceso debe ser idéntico. Por ejemplo, informaciones recientes sobre trabajos realizados en cerdos, señalan nuevas diferencias entre la enfermedad en estos animales y en bovinos.

En esta publicación estamos utilizando los datos obtenidos en trabajos de otros investigadores, pero en beneficio de la brevedad y claridad, la mayoría de los nombres será omitida, aunque se pueden hallar en la bibliografía, que servirá de ayuda para quien desee ampliar el tema. Tres revisiones, realizadas por colegas británicos, nos fueron muy útiles y merecen ser destacadas: la de Hyslop (22) sobre epizootiología, la de Burrows (5) sobre primeras etapas de la infección vírica, y la de Sellers (31) sobre aspectos cuantitativos de la diseminación vírica. Sería una grave omisión no mencionar la excelente contribución de un colega alemán, Korn (23) quien, en 1957, publicó un trabajo en el que informa los sitios donde se producen las primeras multiplicaciones del virus y describe los cambios histopatológicos del tracto respiratorio superior; él llegó a la conclusión de que el sitio primario de multiplicación vírica es principalmente la membrana mucosa de los pasajes nasales donde

los virus se multiplican durante el estado previrémico, cuando las lesiones orales clásicas todavía no son detectables ni macroscópica ni microscópicamente. Esta idea está en contradicción con el concepto antiguo de que el virus de la fiebre aftosa entraba a través del epitelio de la boca donde producía vesículas que eran seguidas por viremia y lesiones secundarias en otros sitios de predilección. La hipótesis de Korn puede ser modificada a la luz de trabajos recientes, pero su idea de la infección por intermedio del aire forma la base de mucho de lo que sigue.

I. Ubicación del virus en la naturaleza

Antes de discutir las puertas de entrada habituales del virus es conveniente mencionar donde se ubica generalmente en el medio ambiente. La saliva (20), las heces (4), la leche (4,18), los mocos vaginal y uretral (4) y el semen (9) han demostrado contener virus durante el período prodromico. Generalmente mayores cantidades de virus se encuentran en esas áreas (6,9,18,27,30) durante el período estadio de la enfermedad; y a esa lista debe agregarse la orina (9), el contenido nasal (30), el epitelio y el líquido de las vesículas. La posibilidad de la infección a través del aire había sido considerada antes de los experimentos de Korn, pero el virus no había sido transmitido de bovino a bovino por este método bajo condiciones controladas hasta 1950, y no fue informada sino 10 años más tarde (13). Desde entonces, el virus ha sido detectado en el aire que rodea bovinos enfermos (21) y en estudios posteriores, en el aire que rodea

*Del Centro de Enfermedades de Animales de Plum Island, Servicio de Investigaciones en Agricultura, Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de América, Greenport, Nueva York 11944, EUA.

"La mención de productos de marca registrada o patente no significa que el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de América garantiza o auspicia su utilización y no implica su aprobación ni la exclusión de otros productos que también pueden ser adecuados".

bovinos, cerdos y ovejas antes de observarse signos clínicos (33). Una serie de estudios sobre contenido de virus en el aire y su capacidad potencial de transmitir la enfermedad ha sido publicada (31).

II. Puertas de entrada

Es lógico que los animales pueden ser expuestos a virus que provienen de una gran variedad de fuentes. Además existen varias puertas de entrada posibles. La excelente revisión de Sellers (31) sobre este tema puede ser resumida en la forma siguiente: experimentalmente, el epitelio de la lengua es susceptible a la infección por inoculación de mínimas cantidades de virus. Sucesivamente, mayores cantidades de virus son necesarias para infectar por vía intramuscular, subcutánea, traqueal, conjuntival, peritoneal, venosa, nasal, mamaria, uterina u oral. Sellers también resume datos que llevan a la conclusión de que es muy probable que el virus existente en el aire cause infección en condiciones naturales. Sin embargo, no debemos descartar todas las otras fuentes. Animales con soluciones de continuidad en el epitelio de la boca pueden infectarse directamente por la ingestión de materiales contaminados con virus; por lo contrario, los animales que no tienen abrasiones epiteliales son relativamente refractarios a la infección por esta vía (31). Una cantidad de virus tan pequeña como 100 unidades formadoras de placas (ufp), vertido en el saco conjuntival (38) o instilado por vía intranasal infecta al bovino (41). El hecho de que cabras que amamantan cabritos infectados pueden tener virus en la leche antes y en mayor cantidad que en la sangre, sugiere que la ruta de infección sea la vía mamaria (26). El semen proveniente de toros infectados contiene virus (9,32), y se han infectado vaquillonas experimentalmente por inseminación artificial con ese semen (9). El virus contenido en las secreciones vaginales de hembras infectadas (4) presumiblemente podría infectar toros, pero esto todavía no ha sido demostrado experimentalmente.

El virus puede utilizar cualquiera o todas las vías de infección mencionadas anteriormente pero ahora es ampliamente aceptado que, en el bovino, la puerta de entrada más usual es el tracto respiratorio. Si hiciéramos una analogía con lo que

ocurre en la especie humana (33), aproximadamente 90% del virus contenido en el aire que rodea animales infectados está asociado con partículas de un tamaño tal que le permitiría alojarse en el tracto respiratorio superior o en los bronquios. Ha sido demostrada la multiplicación de virus en el tracto respiratorio superior después de vaporizar por vía intranasal suspensiones de virus en animales susceptibles (23), así como también por instilación de suspensiones de virus en animales susceptibles inmunizados y hasta recuperados (24,41). El 10% restante de virus contenido en el aire puede llegar a los alvéolos pulmonares del animal receptor (33). Experimentalmente el virus se multiplica en tejido pulmonar (11), pero tal vez sea de mayor importancia la evidencia de que el virus que llega a los alvéolos puede pasar enseguida a la corriente circulatoria (39). Entonces el virus es distribuido por todo el organismo; algunas partículas llegan a sitios adecuados para su multiplicación mientras que otras son rápidamente eliminadas por los mecanismos de defensa naturales (40).

III. Lugares de multiplicación

El propósito de estudios recientes en el Centro de Enfermedades de Animales de Plum Island fue el de determinar los lugares iniciales de multiplicación vírica. Los bovinos fueron sacrificados en períodos variables después de la exposición a un animal infectado. Se tomaron muestras con hisopos de algodón de áreas seleccionadas de los tractos respiratorio y digestivo. También se tomaron muestras de tejidos de esos mismos lugares y de otros más.

En la primera serie de experimentos, 9 bovinos se expusieron al animal infectado durante 19 a 48 horas. Tres bovinos mostraron varias muestras de algodón positivas, principalmente las provenientes de la vía digestiva superior, pero todas las muestras de tejido fueron negativas. En uno de estos 3 animales se demostró viremia. Los restantes, que fueron expuestos por más tiempo, tuvieron mayor cantidad de muestras de tejidos positivas, especialmente en los epitelios de predilección y en los tejidos linfoides. Hubo más muestras positivas en el tracto digestivo que en el tracto respiratorio. Sólo 2 animales que tenían alto título de virus en

la sangre demostraron tener virus en las muestras de algodón retiradas de la mucosa nasal, observación ésta que no concuerda con los experimentos de Korn (23). La experiencia de Korn difiere sin embargo de la nuestra, en que él infectó los animales frotándoles la boca o el morro o vaporizando el morro con la suspensión vírica. En experimentos anteriores nosotros habíamos inoculado bovinos por vía intranasal con 10⁷ ufp de virus y matado y retirado muestras a intervalos de 1 hora. Aquí, como en las experiencias de Korn, las muestras de algodón retiradas de la mucosa nasal fueron positivas, lo que indica que la infección puede producirse cuando el virus se aloja en la mucosa nasal.

Como muy posiblemente, en los animales expuestos al contacto, el virus se disemina por la vía sanguínea a lugares donde se multiplica tempranamente (39), los animales de la serie siguiente fueron inoculados por vía intravenosa. La semejanza en la recuperación de virus en este grupo y en el grupo de los animales infectados por contacto fue sorprendente. La mayoría de los tejidos infectados correspondía al tracto digestivo o a los tejidos linfoides y solamente en animales sacrificados 6 días después de la inoculación la infección fue detectada en la piel y en varios órganos internos.

Es interesante la aparición temprana de virus en las muestras de algodón retiradas de la boca de los animales en contacto y de los animales expuestos por vía intravenosa. Previamente, nosotros habíamos observado títulos de virus relativamente altos en el líquido esófago-faríngeo (EF) de los animales expuestos por contacto, antes del comienzo del crecimiento continuo de virus en la faringe (39). Una posible explicación para este hecho sería el atrapamiento del virus del aire por el mucus respiratorio. Durante este mismo estudio observamos que se detectaba virus en el líquido EF inmediatamente después de la inoculación intravenosa de cantidades relativamente grandes de virus. Hay también un informe sobre la aparición de virus en muestras EF de animales dentro de las 4 horas de la inoculación de virus en la glándula mamaria (6). Aparentemente el virus puede entrar y salir de la circulación con bastante facilidad aunque no se conoce bien el mecanismo exacto de ese fenómeno.

Evidentemente, el virus puede llegar a todas las partes del organismo y se puede multiplicar en

muchos sitios. Títulos relativamente altos han sido hallados en los nódulos linfáticos (8). Después de inoculación experimental en la lengua, se ha detectado virus en los nódulos linfáticos de la cabeza hasta 4 horas antes de ser detectado en los nódulos del cuerpo. La conclusión fue de que si hay multiplicación vírica en los nódulos linfáticos debe ser escasa, ya que los títulos en la sangre son usualmente más altos que los obtenidos en los nódulos linfáticos. El virus se multiplica en la glándula mamaria después de una exposición por contacto y aparece virus en la leche antes de la aparición de los signos clínicos (6). El virus se multiplica probablemente en la glándula pituitaria (29). También se multiplica en el páncreas de los bovinos y se sugiere la hipótesis de que esa multiplicación conduciría a la desaparición de las células beta y al desarrollo de un síndrome tipo diabético (2). Se ha encontrado virus en los riñones de bovinos recuperados aún después de la aparición de los anticuerpos circulatorios (19). Se han encontrado altos títulos de virus en la piel de bovinos infectados, aún en áreas donde no habían lesiones anatómicas (14). El virus también se multiplica en el tejido muscular, especialmente en el músculo cardíaco (28).

IV. Papel de infecciones concurrentes

Un virus que se multiplica en tantos lugares tiene que llegar a sitios donde otros agentes víricos podrían ser encontrados. El papel de infecciones víricas concurrentes no ha sido completamente aclarado hasta ahora, pero algunas observaciones se han realizado en ese sentido. Bovinos inoculados con mezcla de 6 tipos de virus han desarrollado anticuerpos para todos mientras que sólo un tipo fue aislado de lesiones y otro u otros dos aparecieron en la sangre (7). Bovinos infectados con virus tipo A y luego reinfectados con tipo O produjeron virus con características de ambos tipos (12). Bovinos pre-inoculados con enterovirus bovino, inoculados 2 meses después con virus de la fiebre aftosa por vía intranasal, desarrollaron una fiebre aftosa de características benignas (15). Estudios *in vitro* han mostrado que cultivos de células infectadas con enterovirus bovino y virus de la fiebre aftosa produjeron partículas de virus

"transcapsidadas" conteniendo ácido ribonucleico de virus de fiebre aftosa y cápsula proteica de enterovirus bovino (42). La observación de infección latente de virus de la fiebre aftosa ha conducido a la hipótesis de que partículas similares "transcapsidadas" existen en la naturaleza como resultado de la exposición de bovinos infectados con enterovirus bovino a bajos niveles de virus de la fiebre aftosa (17).

En estudios no publicados del Centro de Enfermedades de Animales de Plum Island, en bovinos vacunados por vía intranasal con virus infectantes modificados de la rinotraqueitis bovina (IRB) e inoculados después por vía intranasal con virus de la fiebre aftosa, la aparición de signos clínicos de fiebre aftosa fue retardada. Se presume que la demora fue debido al interferón inducido por la vacuna IRB. En experimentos posteriores, bovinos infectados con virus de la fiebre aftosa que quedaron en estado de portadores fueron después infectados con virus virulento de IRB y esos animales no transmitieron virus aftoso a bovinos susceptibles en contacto (25). Al contrario, el virus de la fiebre aftosa se volvió rápidamente indetectable.

V. Patología

Hay pocos informes sobre modificaciones de los tejidos resultantes de la multiplicación del virus de la fiebre aftosa. Se ha descrito el desarrollo de lesiones en el epitelio de la lengua y de las patas (35). Esas lesiones se caracterizan como necrosis de las células del estrato espinoso que conduce al edema intercelular y, a menudo, a la separación de las capas superficiales para formar la vesícula. En algunas lesiones, esas capas no se separan; el líquido vesicular escapa a través de grietas de la capa córnea y se desarrolla una lesión necrótica seca. Hay también descripciones de lesiones degenerativas macro y microscópicas del tejido muscular (28). Otros investigadores han descrito lesiones, generalmente degenerativas, en varios órganos internos, pero su relación específica con el virus aftoso no siempre es clara (3,34). En lo que hay general acuerdo es que las lesiones, especialmente las lesiones macroscópicas, frecuentemente son observadas en los tejidos sometidos a intensa actividad o a traumas (28,35,36).

Se han descrito microlesiones en la piel (Gailunas, P., comunicación personal) y en otros lugares, pero son a menudo descritas como secundarias. Korn (23) describió lesiones microscópicas en la mucosa nasal; estas lesiones fueron caracterizadas por vacuolización, descamación y degeneración edematosas con infiltración leucocitaria. Sin embargo, afirmó que se pueden ver lesiones similares en animales no expuestos al virus de la fiebre aftosa y por tanto no se puede establecer una relación causal.

VI. Puertas de salida

Las puertas de salida naturales del virus incluyen todas las localizaciones de las cuales o a través de las cuales, material de lesiones o secreciones conteniendo virus pueden salir del animal infectado. Tal vez el menos manifiesto pero más importante medio de escape de virus sea el aerosol exhalado antes y durante la enfermedad clínica. El virus impregna el aire y contamina los alrededores y en esa forma establece condiciones que colocan al animal en contacto, en un ambiente altamente infeccioso. El pico de mayor contagiosidad se alcanza cuando el animal eliminador de virus está desarrollando signos clínicos, y cae rápidamente 4-5 días más tarde aunque las lesiones externas en ese momento todavía sean muy evidentes (16).

VII. Persistencia de la infección

La persistencia de la infección es considerada una secuela natural de la fiebre aftosa en rumiantes y conduce al llamado estado de portador. La transmisión de la infección por los portadores no ha sido probada hasta ahora, en condiciones controladas de laboratorio, pero muchas evidencias circunstanciales de campo muestran que realmente existe (37). Además, informes relacionados con la persistencia del virus en portadores indican algunas localizaciones de virus no muy evidentes. Se ha informado la presencia de virus en la sangre de animales recuperados hasta varios meses después de la infección. Algunos investigadores recuperaron virus de los eritrocitos (10) y otros del plasma (43). También se recuperó virus de la orina de animales convalecientes desde mucho tiempo (43).

También se ha informado recuperación de virus modificado (lapinizado) de la sangre, médula ósea, piel, páncreas, riñón y amígdalas de bovinos 20-62 días después de vacunación (1).

VIII. Resumen

La discusión precedente sobre fiebre aftosa indica algunas de las características del virus que lo muestran como un parásito bien adaptado. Indudablemente, la diversidad de puertas de entrada y de salida, los numerosos tejidos en los cuales se multiplica y el vasto expectro de las manifestaciones clínicas contribuyen para que su control no

sea fácil. El virus puede infectar fácilmente epitelio con soluciones de continuidad; puede entrar a la circulación sanguínea a través de los alvéolos pulmonares y de allí llegar a numerosos sitios de multiplicación; puede establecerse localmente hasta en tejidos de huéspedes considerados inmunes, o puede permanecer latente por largos períodos. Una vez establecido, el virus puede causar enfermedad clínica evidente o puede permanecer inadvertido sin producir enfermedad. Los rumiantes, por lo menos, frecuentemente quedan infectados por largos períodos. Esas características hacen más comprensible la persistencia de la enfermedad en el mundo.

REFERENCIAS

1. AUGE DE MELLO, P.; HONIGMAN, M.N.; FERNANDES, V. Supervivencia en bovinos del virus modificado de la fiebre aftosa. *Bull. Off. int. Epizoot.* 65: 2091-2106, 1966.
2. BARBONI, E.; MANOCCHIO, L. Severe diffuse changes in pancreas with disappearance of B cells. *Arch. Vet. Italiano* 13: 477, 1962.
3. BHALLA, R.C.; SHARMA, G.L. Pathogenesis of foot-and-mouth disease in endocrine glands of experimentally infected goats. *Indian J. Vet. Sci.* 37: 287-297, 1967.
4. BURROWS, R. Excretion of foot-and-mouth disease virus prior to the development of lesions. *Vet. Rec.* 82: 387-388, 1968.
5. BURROWS, R. Early stages of virus infection studies *in vivo* and *in vitro*. Twenty-second symposium of the society for general microbiology, Imperial College, London (1972) Cambridge Univ. Press 303-332.
6. BURROWS, R.; MANN, J.A.; GREIG, A.; CHAPMAN, W.G.; GOODRIDGE, D. The growth and persistence of foot-and-mouth disease virus in the bovine mammary gland. *J. Hyg. (Camb.)* 69: 307-321, 1971.
7. COTTRAL, G.E.; GAILIUNAS, P. Experimental multiple infection of animals with foot-and-mouth disease virus. *U.S. Animal Health Assoc. Proc.* 75: 441-465, 1971.
8. COTTRAL, G.E.; GAILIUNAS, P.; CAMPION, R.L. Detection of foot-and-mouth disease virus in lymph nodes of cattle throughout course of infection. *U.S. Livestock Sanitary Assoc. Proc.* 67: 463-472, 1963.
9. COTTRAL, G.E.; GAILIUNAS, P.; COX, B.F. Foot-and-mouth disease virus in semen of bulls and its transmission by artificial insemination. *Arch. ges. Virusforsch.* 23: 362-377, 1968.
10. EPIFANOV, G.F.; SHALASHOV, L.V. Duration of retention of virus in the blood of animal which have recovered from foot-and-mouth disease. *Veterinariya, Moscow* 3: 34-35, 1968.
11. ESKILDSEN, M.K. Experimental pulmonary foot-and-mouth disease infection of cattle. Europe Comm. Contr. FMD Rep. Meet. Res. Group. Standing Tech. Comm., Lindholm, Denmark, Rome, FAO UN 124 pp, 1969.
12. FELLOWES, O.N.; SUTMÖLLER, P. Foot-and-mouth disease virus biological characteristics of virus from bovine carriers. *Arch. ges. Virusforsch.* 30: 173-180, 1970.
13. FOGEDBY, E.G.; MALMQUIST, W.A.; OSTEEN, O.L.; JOHNSON, M.L. Air-borne transmission foot-and-mouth disease virus. *Nord. Vet. Med.* 12: 490-498, 1960.
14. GAILIUNAS, P.; COTTRAL, G.E. Presence and persistence of foot-and-mouth disease virus in bovine skin. *J. Bacteriol.* 91: 2333-2338, 1966.
15. GRAVES, J.H.; MCVICAR, J.W.; SUTMÖLLER, P. The spectrum of clinical foot-and-mouth disease in steers. *U.S. Animal Health Assoc. Proc.* 74: 199-207, 1970.

16. GRAVES, J.H.; MCVICAR, J.W.; SUTMÖLLER, P.; TRAUTMAN, R. Contact transmission of foot-and-mouth disease from infected to susceptible cattle. *J. Infect. Dis.* 123 (4): 386-391, 1971.
17. GRAVES, J.H.; MCVICAR, J.W.; SUTMÖLLER, P.; TRAUTMAN, R.; WAGNER, G.G. Latent viral infection in transmission of foot-and-mouth disease by contact between infected and susceptible cattle. *J. Infect. Dis.* 124: (3): 270-276, 1971.
18. HEDGER, R.S. Foot-and-mouth disease virus in milk: An epidemiological study. *Vet. Rec.* 87: 180-188, 1970.
19. HESS, W.R.; BACHRACH, H.L.; CALLIS, J.J. Persistence of foot-and-mouth disease virus in bovine kidneys and blood as related to the occurrence of antibodies. *Am. J. Vet. Res.* 21: 1104-1108, 1960.
20. HYSLOP, N. ST. G. Secretion of foot-and-mouth disease virus and antibody in the saliva of infected and immunized cattle. *J. Comp. Pathol.* 75: 111-117, 1965.
21. HYSLOP, N. ST. G. Air-borne infection with the virus of foot-and-mouth disease. *J. Comp. Pathol.* 75: 119-126, 1965.
22. HYSLOP, N. ST. G. The epizootiology and epidemiology of foot-and-mouth disease. *Advn. Vet. Sci. Comp. Med.* 14: 261-307, 1970.
23. KORN, G. Experimentelle untersuchungen zum virusnachweis im inkubationsstadium der maul-und-klauseuse und zu ihrer pathogenese. *Arch. Exp. Veterinaermed.* 11: 637-649, 1957.
24. MCVICAR, J.W.; SUTMÖLLER, P. Growth of foot-and-mouth disease virus in the upper respiratory tract of non-immunized, vaccinated, and recovered cattle after intranasal inoculation. *J. Hyg. (Camb.)* 76: 467-481, 1976.
25. MCVICAR, J.W.; MCKERCHER, P.D.; GRAVES, J.H. The influence of infectious bovine rhinotracheitis virus on the foot-and-mouth disease carrier state. *U.S. Animal Health Assoc. Proc.* 80: 254-261, 1977.
26. MCVICAR, J.W.; SUTMÖLLER, P. Foot-and-mouth disease in sheep and goats: Early virus growth in the pharynx and udder. *U.S. Animal Health Assoc. Proc.* 76: 194-199, 1972.
27. PARKER, J. Presence and inactivation of foot-and-mouth disease virus in animal feces. *Vet. Rec.* 19: 659-662, 1971.
28. POTEL, K. Recent results in the area of the experimental pathology of foot-and-mouth disease. *Monatsh. Veterinaermed.* 13: 401-405, 1958.
29. SCOTT, F.W.; COTTRAL, G.E.; GAILUNAS, P. Presence of foot-and-mouth disease virus in the pituitary and central nervous system of experimentally infected cattle. *U.S. Livestock Sanitary Assoc. Proc.* 69: 67-75, 1965.
30. SCOTT, F.W.; COTTRAL, G.E.; GAILUNAS, P. Persistence of foot-and-mouth disease virus in external lesions and saliva of experimentally infected cattle. *Am. J. Vet. Res.* 27: 1531-1536, 1966.
31. SELLERS, R.F. Quantitative aspects of the spread of foot-and-mouth disease. *Vet. Bull.* 41: 431-439, 1971.
32. SELLERS, R.F.; BURROWS, R.; MANN, J.A.; DAWE, P. Recovery of virus from bulls affected with foot-and-mouth disease. *Vet. Rec.* 83: 303, 1968.
33. SELLERS, R.F.; PARKER, J. Air-borne excretion of foot-and-mouth disease virus. *J. Hyg. (Camb.)* 67: 671-677, 1969.
34. SHUBIN, V.A. Pathomorphology of malignant foot-and-mouth disease of lambs. *Veterinarii.* 24: 87-92, 1961.
35. SEIBOLD, H.R. A revised concept of the lingual lesions in cattle with foot-and-mouth disease. *Am. J. Vet. Res.* 24: 1123-1130, 1963.
36. SKINNER, H.H.; KNIGHT, E.H. Environmental factors influencing the response of guinea pigs to modified strains of foot-and-mouth disease virus. *Bull. Off. int. Épisoot.* 61: 1523-1543, 1964.
37. SUTMÖLLER, P.; COTTRAL, G.E.; MCVICAR, J.W. A review of the carrier state in foot-and-mouth disease. *U.S. Livestock Sanitary Assoc. Proc.* 71: 386-395, 1967.
38. SUTMÖLLER, P.; MCVICAR, J.W. Foot-and-mouth disease: Growth of virus after conjunctival inoculation of cattle. *Arch. ges. Virusforsch.* 43: 284-287, 1973.
39. SUTMÖLLER, P.; MCVICAR, J.W. Pathogenesis of foot-and-mouth disease: The lung as an additional portal of entry of the virus. *J. Hyg. (Camb.)* 77 (2): 235-243, 1976.
40. SUTMÖLLER, P.; MCVICAR, J.W. Pathogenesis of foot-and-mouth disease: Clearance of the virus from the circulation of cattle and goats during experimental viremia. *J. Hyg. (Camb.)* 77 (2): 245-253, 1976.
41. SUTMÖLLER, P.; MCVICAR, J.W.; COTTRAL, G.E. The epizootiological importance of foot-and-mouth disease carriers. I. Experimentally produced foot-and-mouth disease carriers in susceptible and immune cattle. *Arch. ges. Virusforsch.* 23: 227-235, 1968.

-
42. TRAUTMAN, R.; SUTMÖLLER, P. Detection and properties of a genomic masked viral particle consisting of foot-and-mouth disease virus nucleic acid in bovine enterovirus protein capsid. *Virology* 44: 537-543, 1971.
43. WALDMAN, O.; TRAUTWEIN, K.; PYL, F. Die persistenz des maul und klauenseuche virus im korper durch gesuchter tiere und seine ausscheidung. *Zentralblatt. f. Bakt. Par. U. Infekkr.* 121: 19-32, 1931.

THE PATHOBIOLOGY OF FOOT-AND-MOUTH DISEASE IN CATTLE. A REVIEW

*John W. McVicar**

INTRODUCTION

In this presentation, I will review the pathobiology of foot-and-mouth disease, a subject that has been the object of work by a great number of people over a long period of time. I will limit this review to cattle, because most of the work has been done in this species. Although some similarities have been described in other ruminants, one must not assume the process to be identical. For example, work recently reported in pigs suggests additional differences between the disease in these animals and that in cattle.

The work of other researchers will be relied upon extensively throughout this paper; but in the interest of brevity and clarity, most names will be omitted. These will be found in the bibliography, which should be of help to anyone wishing to pursue the subject further. Three reviews, all by our British colleagues, were most helpful and are worthy of special note. These are Hyslop's (22) on epizootiology, Burrow's (5) on early stages of virus infection, and Sellers' (31) on quantitative aspects of virus spread. I would also be remiss if I did not mention the very special contribution of a German colleague. In 1957, Korn (23) published a paper in which he reported sites of early virus multiplication and described histopathologic changes in the upper respiratory tract. He concluded that the primary site of virus multiplication was predominantly in the mucous membrane of the nasal passages and that virus multiplied during a pre-viremic state when the classic oral lesions were as yet undetectable either macroscopically or microscopically. This idea contradicted the earlier concept

that foot-and-mouth disease (FMD) virus gained entrance through the oral epithelium and caused vesicles there that were followed by viremia and secondary lesions at other predilection sites. Korn's hypothesis may be altered in light of recent work, but his idea of an air-borne infection forms the basis of much of what is to follow.

I. Location of virus in nature

A brief listing of the possible locations of the virus in the environment is in order before the usual portals of entry are discussed. During the prodromal period, saliva (20), feces (4), milk (4,18), vaginal and urethral mucus (4), and semen (9) have been shown to contain virus. Usually larger amounts of virus are present in all of the above areas (6,9,18,27,30) during frank disease; and urine (9), nasal discharge (30), and, vesicular epithelium and fluid should be added to the list. The possibility of air-borne infection had been considered before Korn's experiments, but the virus was not transmitted from cow to cow by this method under controlled conditions until 1950 and not reported until 10 years later (13). Since then, virus has been detected in the air surrounding diseased cattle (21) and, in subsequent studies, in the air surrounding cattle, pigs and sheep before clinical signs were observed (33). A series of studies on air-borne virus and its potential for disease transmission have been published (31).

II. Portals of entry

Clearly, animals may be exposed to virus from a

*From the Plum Island Animal Disease Center, Agricultural Research Service, U.S. Department of Agriculture, Greenport, New York 11944, USA.

"Mention of a trademark or proprietary product does not constitute a guarantee or warranty of the product by the U.S. Department of Agriculture and does not imply its approval to the exclusion of other products that may also be suitable".

variety of sources. There are also a number of possible portals of entry. Sellers' (31) excellent review of this subject may be summarized as follows: experimentally, the epithelium of the tongue is susceptible to infection by inoculation of the least amount of virus. Successively greater amounts of virus are needed to infect when the virus is inoculated by the muscular, subcutaneous, tracheal, conjunctival, peritoneal, venous, nasal, mammary, uterine or oral route. Sellers also summarized data that lead to the conclusion that air-borne virus is most likely to cause infection under natural conditions. We may not, however, dismiss all of the other routes. Animals with breaks in the continuity of the oral epithelium can be directly infected by ingesting virus contaminated materials; however, cattle lacking epithelial injuries are relatively refractory to infection in this manner (31). As little as 100 plaque forming units (pfu) of virus dropped into the conjunctival sack (38) or instilled intranasally will infect cattle (41). The fact that goats nursing infected kids may have earlier and higher virus titres in milk than in blood suggests intramammary infusion to be a natural route (26). Semen from infected bulls contains virus (9,32), and heifers have been experimentally infected by artificial insemination with their semen (9). Virus in vaginal secretions of infected cattle (4) could presumably infect bulls, but this has yet to be shown experimentally.

The virus may use any or all of these preceding routes of infection, but it is now quite generally agreed that, in the bovine, the usual portal of entry for the virus is by the respiratory tract. If an analogy can be drawn from observations in man (33), approximately 90% of the air-borne virus in the vicinity of the infected animals is associated with particles of a size that would become lodged in the upper respiratory tract or bronchi. Virus growth in the upper respiratory tract has been shown after intranasal spraying of susceptible cattle (23) or instillation of viral suspensions in susceptible, immunized or even recovered cattle (24, 41). The other 10% of the air-borne virus is able to penetrate to the alveoli of recipient cattle (33). Experimentally, the virus will multiply in lung tissue (11), but perhaps of greater importance is the

evidence that virus that reaches the alveoli can pass readily into the blood stream (39). Virus is then distributed throughout the body; some reaches sites suitable for multiplication and some are rapidly cleared by natural defense mechanisms (40).

III. Multiplication sites

The purpose of recent studies at the Plum Island Animal Disease Center was to determine the initial sites of virus multiplication. Cattle were killed at varying periods of time after exposure to infected donor cattle. Swab samples were taken from selected areas of the respiratory and digestive tracts. Tissue samples were taken from these locations as well as from a number of others.

In the first series of experiments, nine cattle were exposed to infected donor cattle for 19 to 48 hours. Three cattle had a number of positive swab samples, mainly from the upper digestive tract, but all tissue samples were negative. One of these three cattle was viremic. Subsequent cattle exposed for longer periods of time had increasing numbers of virus-positive tissue samples, mostly from epithelial predilection sites and lymphoid tissues. The digestive tract tended to have more positive tissue samples than the respiratory tract. Only two cattle, which had high viremia titers, had positive swab samples from the nasal mucosa, an observation that is in contrast to the results of Korn's experiments (23). His differed from ours, however, in that the cattle were infected by wiping the mouth or muzzle or spraying the muzzle with virus suspension. In earlier experiments, we had inoculated cattle intranasally with 10^7 pfu of virus and killed and sampled them at hourly intervals. Here, as with Korn's experimental animals, nasal swabs were positive and thus indicated that infection can result when virus lodges in the nasal mucosa.

Because virus is likely distributed to early multiplication sites via the blood stream (39) in contact exposed cattle, the next series of cattle were inoculated intravenously. The similarities in pattern of virus recovery between this group and that of the cattle exposed by contact is striking. Most infected tissues were from the digestive tract or lymphoid tissues, and the infection was detected

in the skin and several of the internal organs only in the cattle killed 6 days after inoculation.

The early appearance of virus in oral swab samples from the contact and intravenously exposed cattle is of interest. Previously, we observed relatively high virus titers in the oesophageal-pharyngeal (OP) fluid of contact exposed cattle before the start of the continued pharyngeal growth of the virus (39). Entrapment of air-borne virus in the respiratory mucus was suggested as a possible explanation. During that same study, we observed that virus was detected in OP fluid soon after intravenous inoculation of relatively large amounts of virus. There is also a report of the appearance of virus in pharyngeal samples of cattle within 4 hours of its infusion into the mammary gland (6). Apparently, the virus can pass into and out of the circulation with comparative ease although the exact mechanism involved is not completely understood.

Clearly, the virus can reach all parts of the body and can multiply in many locations. Relatively high titers have been reported in the lymph nodes (8). After experimental tongue inoculation, virus was detected in the lymph nodes of the head up to 4 hours before it was detected in body nodes. The conclusion was that little, if any, virus multiplication occurred in the lymph nodes because viremia titers were usually higher than titers of virus in the lymph nodes. Virus multiplies in the mammary gland after contact exposure and virus appears in the milk before clinical signs develop (6). The virus likely multiplies in the pituitary gland (29). Growth of the virus in the pancreas of cattle is hypothesized to lead to the disappearance of the beta cells and development of a diabetes-like syndrome (2). Virus has been recovered from the kidney of recovered cattle even after the appearance of circulatory antibody (19). Virus reaches high titers in the skin of infected cattle even in areas where there are no gross lesions (14). The virus also multiplies in muscle tissue, especially that of the heart (28).

IV. Role of concurrent infection

A virus that multiplies in so many locations must reach places where other viral agents might

be found. The role of concurrent viral infections has not been completely made clear to date, but some pertinent observations have been made. Cattle inoculated with mixtures of 6 virus types have developed antibody to all while one type selectively grew in lesions and one or two others appeared in the blood (7). Cattle infected with type A virus and superinfected with type O yielded virus with characteristics of both types (12). Cattle preinoculated with a bovine enterovirus had mild clinical FMD when FMD virus was inoculated intranasally as long as 2 months later (15). *In vitro* studies have shown that cell cultures cointfected with bovine enterovirus and FMD virus produced transcapsidated virus particles containing FMD-ribonucleic acid and bovine enterovirus coat protein (42). The observation of latent FMD virus infection has led to the hypothesis that similar transcapsidated particles exist in nature as a result of exposing cattle infected with bovine enterovirus to low levels of FMD virus (17).

In unpublished studies at the Plum Island Animal Disease Center, the appearance of clinical signs of FMD was delayed in cattle vaccinated intranasally with modified infectious bovine rhinotracheitis (IBR) virus and then inoculated intranasally with FMD virus. The delay was presumed to be the result of interferon induced by the IBR vaccine. In subsequent experiments, cattle persistently infected with FMD virus when superinfected with virulent IBR virus failed to transmit FMD virus to susceptible cattle in contact (25). On the contrary, the FMD virus rapidly became undetectable.

V. Pathology

Reports of the pathologic changes that result in tissues in which FMD virus multiplies are not numerous. The development of lesions in the epithelium of the tongue and feet has been described (35). These lesions are characterized by necrosis of the cells in the stratum spinosum leading to intercellular edema and, usually, separation of the superficial layers to form a vesicle. In some lesions, these layers do not separate; vesicular fluid leaks out through cracks in the stratum corneum, and a dry necrotic lesion develops. There are also descriptions of both gross and

microscopic degenerative lesions in muscle tissue (28). Other workers have described lesions, usually degenerative, in a number of the internal organs, but the specific relationship to the virus is not always clear (3,34). One area of agreement is that lesions, especially gross lesions, are most frequently observed in tissues that are subject to vigorous activity or trauma (28,35,36).

Micro lesions have been described in the skin (Gailunas, P., personal communication) and in other locations but are often described as, secondary. Korn (23) described microscopic lesions in the nasal mucosa; these lesions were characterized by vacuolization, desquamation, and ballooning degeneration with infiltration of leukocytes. He pointed out, however, that similar lesions were seen in cattle not exposed to FMD virus and that a causal relationship could not be firmly established.

VI. Portals of exit

The natural portals of exit of the virus include all of those locations from or through which lesion material or virus containing secretions or excretions may leave the infected host. Perhaps the least obvious but most important means of virus escape is in aerosols that are exhaled before and during clinical disease. Virus fills the air and contaminates the surroundings and thus establishes conditions that place the contact animal under high infectious pressure. The degree of contagiousness peaks when the donor animal is developing clinical signs and drops rapidly 4-5 days later even though external lesions are still very evident (16) at that time.

VII. Persistent infection

Persistent infection is considered to be a natural

sequela to FMD in ruminants and leads to the so-called carrier state. Transmission of infection from carriers has not yet been proven under laboratory conditions, but considerable circumstantial field evidence shows that it does happen (37). Also, reports concerning persistently infected cattle point to some less obvious virus locations. Virus has been reported in the blood of recovered cattle up to several months after infection. Some workers recovered virus from the erythrocytes (10), and others have recovered it from the plasma (43). Virus was also recovered from the urine of long term convalescent cattle (43). Recovery of modified (lapinized) virus from the blood, bone marrow, skin, pancreas, kidney and tonsil of cattle 20-62 days after vaccination has also been reported (1).

VIII. Summary

The above discussion of FMD indicates some of the characteristics of the virus which make it such a well-adapted parasite. Undoubtedly, the diversity of portals of exit and entry, the numerous tissues in which it will multiply, and the extreme range of clinical manifestations all contribute to control problems. The virus can readily infect abraded epithelium, can gain entrance to the bloodstream via the alveoli of the lung and thereby reach numerous multiplication sites, can establish itself locally even in tissues of nominally immune host or can remain latent for long periods. Once established, the virus can cause full-blown disease or no disease at all. Ruminants, at least, frequently become persistently infected. These characteristics, make the worldwide persistence of this disease somewhat easier to understand.

REFERENCES

1. AUGE DE MELLO, P.; HONIGMAN, M.N.; FERNANDES, V. Supervivencia en bovinos del virus modificado de la fiebre aftosa. *Bull. Off. int. Epizoot.* 65: 2091-2106, 1966.
2. BARBONI, E.; MANOCCHIO, L. Severe diffuse changes in pancreas with disappearance of B cells. *Arch. Vet. Italiano* 13: 477, 1962.

3. BHALLA, R.C.; SHARMA, G.L. Pathogenesis of foot-and-mouth disease in endocrine glands of experimentally infected goats. *Indian J. Vet. Sci.* 37: 287-297, 1967.
4. BURROWS, R. Excretion of foot-and-mouth disease virus prior to the development of lesions. *Vet. Rec.* 82: 387-388, 1968.
5. BURROWS, R. Early stages of virus infection studies *in vivo* and *in vitro*. Twenty-second symposium of the society for general microbiology, Imperial College, London (1972) Cambridge Univ. Press 303-332.
6. BURROWS, R.; MANN, J.A.; GREIG, A.; CHAPMAN, W.G.; GOODRIDGE, D. The growth and persistence of foot-and-mouth disease virus in the bovine mammary gland. *J. Hyg. (Camb.)* 69: 307-321, 1971.
7. COTTRAL, G.E.; GAILIUNAS, P. Experimental multiple infection of animals with foot-and-mouth disease virus. *U.S. Animal Health Assoc. Proc.* 75: 441-465, 1971.
8. COTTRAL, G.E.; GAILIUNAS, P.; CAMPION, R.L. Detection of foot-and-mouth disease virus in lymph nodes of cattle throughout course of infection. *U.S. Livestock Sanitary Assoc. Proc.* 67: 463-472, 1963.
9. COTTRAL, G.E.; GAILIUNAS, P.; COX, B.F. Foot-and-mouth disease virus in semen of bulls and its transmission by artificial insemination. *Arch. ges. Virusforsch.* 23: 362-377, 1968.
10. EPIFANOV, G.F.; SHALASHOV, L.V. Duration of retention of virus in the blood of animal which have recovered from foot-and-mouth disease. *Veterinariya, Moscow* 3: 34-35, 1968.
11. ESKILDSEN, M.K. Experimental pulmonary foot-and-mouth disease infection of cattle. Europe Comm. Contr. FMD Rep. Meet. Res. Group. Standing Tech. Comm., Lindholm, Denmark, Rome, FAO UN 124 pp, 1969.
12. FELLOWES, O.N.; SUTMÖLLER, P. Foot-and-mouth disease virus biological characteristics of virus from bovine carriers. *Arch. ges. Virusforsch.* 30: 173-180, 1970.
13. FOGEDBY, E.G.; MALMQVIST, W.A.; OSTEEN, O.L.; JOHNSON, M.L. Air-borne transmission foot-and-mouth disease virus. *Nord. Vet. Med.* 12: 490-498, 1960.
14. GAILIUNAS, P.; COTTRAL, G.E. Presence and persistence of foot-and-mouth disease virus in bovine skin. *J. Bacteriol.* 91: 2333-2338, 1966.
15. GRAVES, J.H.; MCVICAR, J.W.; SUTMÖLLER, P. The spectrum of clinical foot-and-mouth disease in steers. *U.S. Animal Health Assoc. Proc.* 74: 199-207, 1970.
16. GRAVES, J.H.; MCVICAR, J.W.; SUTMÖLLER, P.; TRAUTMAN, R. Contact transmission of foot-and-mouth disease from infected to susceptible cattle. *J. Infect. Dis.* 123 (4): 386-391, 1971.
17. GRAVES, J.H.; MCVICAR, J.W.; SUTMÖLLER, P.; TRAUTMAN, R.; WAGNER, G.G. Latent viral infection in transmission of foot-and-mouth disease by contact between infected and susceptible cattle. *J. Infect. Dis.* 124: (3): 270-276, 1971.
18. HEDGER, R.S. Foot-and-mouth disease virus in milk: An epidemiological study. *Vet. Rec.* 87: 180-188, 1970.
19. HESS, W.R.; BACHRACH, H.L.; CALLIS, J.J. Persistence of foot-and-mouth disease virus in bovine kidneys and blood as related to the occurrence of antibodies. *Am. J. Vet. Res.* 21: 1104-1108, 1960.
20. HYSLOP, N. ST. G. Secretion of foot-and-mouth disease virus and antibody in the saliva of infected and immunized cattle. *J. Comp. Pathol.* 75: 111-117, 1965.
21. HYSLOP, N. ST. G. Air-borne infection with the virus of foot-and-mouth disease. *J. Comp. Pathol.* 75: 119-126, 1965.
22. HYSLOP, N. ST. G. The epizootiology and epidemiology of foot-and-mouth disease. *Advn. Vet. Sci. Comp. Med.* 14: 261-307, 1970.
23. KORN, G. Experimental untersuchungen zum virusnachweis im inkubationsstadium der maul-und-klaue-sucht und zu ihrer pathogenese. *Arch. Exp. Veterinaarmed.* 11: 637-649, 1957.
24. MCVICAR, J.W.; SUTMÖLLER, P. Growth of foot-and-mouth disease virus in the upper respiratory tract of non-immunized, vaccinated, and recovered cattle after intranasal inoculation. *J. Hyg. (Camb.)* 76: 467-481, 1976.
25. MCVICAR, J.W.; MCKERCHER, P.D.; GRAVES, J.H. The influence of infectious bovine rhinotracheitis virus on the foot-and-mouth disease carrier state. *U.S. Animal Health Assoc. Proc.* 80: 254-261, 1977.
26. MCVICAR, J.W.; SUTMÖLLER, P. Foot-and-mouth disease in sheep and goats: Early virus growth in the pharynx and udder. *U.S. Animal Health Assoc. Proc.* 76: 194-199, 1972.
27. PARKER, J. Presence and inactivation of foot-and-mouth disease virus in animal feces. *Vet. Rec.* 19: 659-662, 1971.
28. POTEL, K. Recent results in the area of the experimental pathology of foot-and-mouth disease. *Monatsh. Veterinaarmed.* 13: 401-405, 1958.

29. SCOTT, F.W.; COTTRAL, G.E.; GAILUNAS, P. Presence of foot-and-mouth disease virus in the pituitary and central nervous system of experimentally infected cattle. *U.S. Livestock Sanitary Assoc. Proc.* 69: 67-75, 1965.
30. SCOTT, F.W.; COTTRAL, G.E.; GAILUNAS, P. Persistence of foot-and-mouth disease virus in external lesions and saliva of experimentally infected cattle. *Am. J. Vet. Res.* 27: 1531-1536, 1966.
31. SELLERS, R.F. Quantitative aspects of the spread of foot-and-mouth disease. *Vet. Bull.* 41: 431-439, 1971.
32. SELLERS, R.F.; BURROWS, R.; MANN, J.A.; DAWE, P. Recovery of virus from bulls affected with foot-and-mouth disease. *Vet. Rec.* 83: 303, 1968.
33. SELLERS, R.F.; PARKER, J. Air-borne excretion of foot-and-mouth disease virus. *J. Hyg. (Camb.)* 67: 671-677, 1969.
34. SHUBIN, V.A. Pathomorphology of malignant foot-and-mouth disease of lambs. *Veterinarii.* 24: 87-92, 1961.
35. SEIBOLD, H.R. A revised concept of the lingual lesions in cattle with foot-and-mouth disease. *Am. J. Vet. Res.* 24: 1123-1130, 1963.
36. SKINNER, H.H.; KNIGHT, E.H. Environmental factors influencing the response of guinea pigs to modified strains of foot-and-mouth disease virus. *Bull. Off. int. Epizoot.* 61: 1523-1543, 1964.
37. SUTMÖLLER, P.; COTTRAL, G.E.; MCVICAR, J.W. A review of the carrier state in foot-and-mouth disease. *U.S. Livestock Sanitary Assoc. Proc.* 71: 386-395, 1967.
38. SUTMÖLLER, P.; MCVICAR, J.W. Foot-and-mouth disease: Growth of virus after conjunctival inoculation of cattle. *Arch. ges. Virusforsch.* 43: 284-287, 1973.
39. SUTMÖLLER, P.; MCVICAR, J.W. Pathogenesis of foot-and-mouth disease: The lung as an additional portal of entry of the virus. *J. Hyg. (Camb.)* 77 (2): 235-243, 1976.
40. SUTMÖLLER, P.; MCVICAR, J.W. Pathogenesis of foot-and-mouth disease: Clearance of the virus from the circulation of cattle and goats during experimental viremia. *J. Hyg. (Camb.)* 77 (2): 245-253, 1976.
41. SUTMÖLLER, P.; MCVICAR, J.W.; COTTRAL, G.E. The epizootiological importance of foot-and-mouth disease carriers. I. Experimentally produced foot-and-mouth disease carriers in susceptible and immune cattle. *Arch. ges. Virusforsch.* 23: 227-235, 1968.
42. TRAUTMAN, R.; SUTMÖLLER, P. Detection and properties of a genomic masked viral particle consisting of foot-and-mouth disease virus nucleic acid in bovine enterovirus protein capsid. *Virology* 44: 537-543, 1971.
43. WALDMAN, O.; TRAUTWEIN, K.; PYL, F. Die persistenz des maul und klauenseuche virus im korper durch geseuchter tiere und seine ausscheidung. *Zentralblatt f. Bakt. Par. U. Infekkr.* 121: 19-32, 1931.

FIEBRE AFTOSA: REACCION DE CERDOS CONVALECIENTES A LA EXPOSICION DE VIRUS HOMOLOGOS

*Ivo Gomes**

COMUNICACION BREVE

Los cerdos son más difíciles de proteger con vacunas antiaftosas inactivadas que los bovinos u ovinos (4, 6, 7). Los resultados obtenidos con cerdos convalecientes, exponiéndolos al virus homólogo de la fiebre aftosa, han sido variables. Cunliffe (2) estudió el nivel de anticuerpos de cerdos convalecientes por reexposición con virus homólogos a los 28 y 128 días respectivamente después de la infección inicial. Solamente 1 de 10 cerdos del último grupo enfermó clínicamente. Sin embargo, McKercher y Giordano (8) han publicado que de 12 cerdos convalecientes (90 a 180 días después de la infección), 6 mostraron lesiones en el hocico o en una o más patas. Ambos autores utilizaron como sistema de exposición el contacto con animales infectados, pues se considera que con este método los animales son infectados naturalmente.

Lucam *et al.* (5) llamaron la atención sobre el problema de determinar si una vesícula en una pata no inoculada debería ser considerada signo de generalización o una lesión local causada por virus del ambiente que entra a través de abrasiones de la piel.

En pruebas de potencia de vacunas, donde se usa el criterio de generalización, tales lesiones pueden llevar a falsas conclusiones.

En el presente estudio de reexposición de cerdos convalecientes, hemos encontrado que un alto porcentaje de animales, mismo aquellos con muy altos niveles de anticuerpos protectores, pueden desarrollar vesículas en una o más patas no inoculadas. Originalmente, 64 cerdos Landrace de 30-35 kilos fueron infectados por inoculación en el talón derecho posterior (9) con $10^{4.6}$ dosis letales ratón de virus de la fiebre aftosa subtipo O₁ cepa Caseros de origen bovino. La mayoría de los

cerdos inoculados reveló una vesícula en el sitio de inoculación dentro de las primeras 24 horas. Al tercer día todos mostraban lesiones de fiebre aftosa (FA) en los talones, bandas coronarias, hocico y rodillas. Murieron 8 animales de FA o a consecuencia de traumatismos durante las sangrías en esta fase del experimento. Los 56 animales restantes se recuperaron sólo después de 45-50 días.

Todos los animales fueron sangrados por punción precaval con intervalos de un mes y sus sueros fueron sometidos a la prueba de seroprotección según Cunha *et al.* (1), utilizando la misma cepa de virus O₁ Caseros. Los resultados son expresados como índices de seroprotección (ISP). Esos mismos animales fueron reexpuestos al virus homólogo, por inoculación en el talón, agregando en cada ocasión grupos de animales en la misma forma.

La tabla 1 muestra los resultados obtenidos en 4 reexposiciones efectuadas con intervalos de 3 meses. A los 90 días solamente 2 de los cerdos convalecientes fueron completamente negativos y ni siquiera revelaron vesículas en el sitio de inoculación. A los 180 días el número de animales negativos fue mayor. Solamente 9 de 24 fueron completamente negativos a la reexposición realizada a los 270 y 360 días. 25 animales negativos tenían un alto ISP (>4.0) con excepción de uno en el grupo de 180 días y uno en el grupo de 270 días con ISP de 1,3 y 3,5 respectivamente. Ninguno de los 17 cerdos que revelaron solamente una lesión en el sitio de infección tenía un ISP menor de 4,0.

La tabla 2 muestra los datos de los 14 cerdos convalecientes que revelaron lesiones en otros sitios que los inoculados. Puede ser observado que, como regla general, las lesiones aparecen más tarde en los convalecientes que en los controles. Lesiones más extensas fueron observadas en el animal

* Centro Panamericano de Fiebre Aftosa, Caixa Postal 589, ZC-00, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

nº 10 del grupo de 270 días, con lesiones en 3 patas, que aparecieron en el tercer día. Dos cerdos tenían un ISP relativamente bajo (nºs 9 y 12), pero todos los demás tenían niveles de anticuerpos por encima de aquellos que demostrarían una sólida protección en bovinos (3).

El elevado número de cerdos que reveló lesiones en el sitio de inoculación a pesar del alto nivel de anticuerpos sugiere que en un ambiente altamente contaminado pueden aparecer vesículas cuya puerta de entrada sea abrasiones de la piel. Si tales

"lesiones locales" fueran reveladas en un grupo de cerdos sometidos a una prueba de potencia de vacuna y ellas fueran consideradas como lesiones de generalización se tendrá una falsa impresión de la calidad de esa vacuna. Aunque en general, en animales convalecientes, las lesiones se muestran menos severas que en animales susceptibles, el uso de ese criterio para pruebas de potencia de vacuna sería subjetivo. Los resultados sugieren que la prueba serológica en cerdos vacunados puede ser más confiable que el método de exposición.

TABLA 1. Desarrollo de vesículas de fiebre aftosa en cerdos convalecientes y controles después de la inoculación intradérmica en el talón de una pata

Días convaleciente	Cerdos inoculados	Negativos	Cerdos con vesículas	
			Solamente en el sitio de la inoculación	Pata no inoculada
90	16	2	9	5
180	16	14	0	2
270	12	5	4	3
360	12	4	4	4
0*	40	0	0	40

* Cerdos control susceptibles agregados a cada grupo de convalecientes en el momento de la reexposición.

TABLA 2. *Cerdos con lesiones en otros sitios además de la pata inoculada*

Cerdo N°	Días convaleciente	Días postinoculación cuando aparecieron lesiones						ISP
		3	4	5	6	7		
1	90	-*	-	-	+	-	3,8	
2		-	-	-	+	-	5,0	
3		-	-	-	++	-	> 5,0	
4		-	-	-	+	-	> 5,0	
5		-	-	-	+	-	> 5,0	
6	180	-	-	-	+	-	3,0	
7		-	-	-	+	-	5,4	
8	270	+	-	-	-	-	3,6	
9		-	+	-	-	-	1,4	
10		+++	-	-	-	-	2,7	
11	360	-	-	++	-	-	> 4,4	
12		-	-	+	-	-	1,9	
13		-	-	-	-	+	> 4,4	
14		-	-	++	-	-	> 4,4	
Controles**	0	+++	-	-	-	-	0,0 - 0,1	

ISP = Índice de seroprotección en el momento de la inoculación.

* Lesiones en patas no inoculadas, + = 1 pata, ++ = 2 patas, +++ = 3 patas, -- = clínicamente normal.

** Cerdos control susceptibles agregados a cada grupo de convalecientes en el momento de la reexposición.

REFERENCIAS

1. 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.* 19 (110): 243-267, 1957.
2. CUNLIFFE, H.R. Antibody response in a group of swine after infection with foot-and-mouth disease virus. *Can. J. comp. Med. Sci.* 26 (8): 182-185, 1962.
3. GOMES, I.; ASTUDILLO, V. Foot-and-mouth disease: evaluation of mouse protection test results in relation to cattle immunity. *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 17-18: 9-16, 1975.
4. GRAVES, J.H.; MCKERCHER, P.D.; FARRIS JR., H.E.; COWAN, K.M. Early response of cattle and swine to inactivated foot-and-mouth disease vaccine. *Res. vet. Sci.* 9 (1): 35-40, 1968.

-
5. LUCAM, F.; DHENNIN, L.; DHENNIN, L.; FEDIDA, M. Essais de vaccination antiaphteuse intradermique chez le porc. Resultats obtenus au laboratoire. *Bull. Off. int. Epizoot.* 57 (5-6): 924-936, 1962.
 6. MCKERCHER, P.D.; FARRIS JR., H.E. Foot-and-mouth disease in swine: response to inactivated vaccines. *Arch ges. Virusforsch.* 22 (3-4): 451-461, 1967.
 7. MCKERCHER, P.D.; GAILUNAS, P. Response of swine to inactivated foot-and-mouth disease vaccine. Duration of immunity and local tissue reaction. *Arch. ges. Virusforsch.* 28 (2): 165-176, 1969.
 8. MCKERCHER, P.D.; GIORDANO, A.R. Foot-and-mouth disease in swine. I. The immune response of swine to chemically-treated and non-treated foot-and-mouth disease virus. *Arch. ges. Virusforsch.* 20 (1): 39-53, 1967.
 9. PLUM ISLAND ANIMAL DISEASE CENTER AND PAN-AMERICAN FOOT-AND-MOUTH DISEASE CENTER. Foot-and-mouth disease vaccines. I. Comparison of vaccines prepared from virus inactivated with formalin and adsorbed on aluminum hydroxide gel with saponin and virus inactivated with acetyleneimine and emulsified with incomplete Freund's adjuvant. *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa 19-20:* 9-16, 1975.

FOOT-AND-MOUTH DISEASE: REACTION OF CONVALESCENT PIGS TO HOMOLOGOUS VIRUS EXPOSURE

Ivo Gomes*

BRIEF REPORT

Pigs are more difficult to protect against foot-and-mouth disease (FMD) with inactivated virus vaccines than cattle or sheep (4, 6, 7). Also the results of exposure of convalescent pigs to homologous FMD virus have been variable. Cunliffe (2) studied the antibody level of FMD convalescent pigs and re-exposed them to the homologous virus 28 days or 128 days after the initial infection, respectively. Only one of 10 pigs of the last group became clinically ill at re-exposure. However, McKercher and Giordano (8) reported that at re-exposure, from 12 convalescent pigs (90-180 days after infection), 6 showed lesions on the snout or on one or more feet. These authors used contact exposure with FMD-infected pigs as a mean of re-exposure, since this method was considered the one by which pigs would naturally be infected.

Lucam *et al.* (5) pointed to the problem of determining whether one vesicle on an uninoculated foot should be considered as a sign of generalization or as a local lesion caused by virus in the environment entering the body through skin abrasions.

In vaccine potency tests, where generalization is used as the criterion such lesions could lead to false conclusions.

In a recent study of re-exposed convalescent pigs we found that a high percentage of pigs, even those with very high levels of protective antibodies, developed vesicles on one or more of the uninoculated feet. Sixty-four Landrace pigs of 30-35 kg were originally infected by heel inoculation (9) of $10^{4.6}$ mouse LD₅₀ in the right hind foot with FMD virus subtype O₁ strain Caseros of bovine origin. Most of the inoculated pigs developed a vesicle at the inoculation site within 24 hours. At

Day 3 all pigs had generalized typical foot-and-mouth disease with lesions of the heel and coronary band of all feet, snout and knees. Eight pigs died from FMD during this phase of the experiment or as a consequence of trauma during bleeding. The 56 remaining animals recovered completely only after 45-50 days.

All animals were bled from the precaval vein at monthly intervals, and sera were assayed by the mouse protection test as described by Cunha *et al.* (1) using the same O₁ virus strain, with the results expressed as the mouse protection index (MPI). The pigs were re-exposed to the homologous virus by the same route. Groups of 10 susceptible control pigs were similarly inoculated on each occasion.

Table 1 presents the results obtained in four re-exposure experiments at trimonthly intervals. At 90 days only 2 of the convalescent pigs were completely negative upon re-exposure and did not develop vesicles at the inoculated foot or at any other site. The number of negative animals was highest at 180 days, but only 9 out of 24 pigs were completely negative at re-exposure at 270 and 360 days. Twenty-five negative pigs had high MPIs (> 4.0), with the exception of one in the 180-day group and one in the 270-day group with MPI of 1.3 and 3.5 respectively. None of the 17 pigs which developed only one lesion at the infection site had an MPI less than 4.0.

Table 2 summarizes the data of the 14 convalescent pigs which developed lesions at sites other than the inoculated foot. The lesions generally appeared later in the convalescent than in the control pigs. The most extensive lesions were observed in one pig (No. 10) in the 270-day group which had lesions on 3 feet appearing on Day 3. Two pigs had relatively low MPIs (Nos. 9 and 12) but all others had antibody levels above those which

* Pan American Foot-and-Mouth Disease Center, Caixa Postal 589, ZC-00, Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

would have protected cattle well (3).

The large number of pigs which developed lesions at the site of inoculation in spite of high antibody levels suggests that in a heavily contaminated environment vesicles may develop at the site of a skin abrasion. If pigs with such "local" lesions had been subjects of a vaccine potency test and their reactions scored as generalizations, a false impres-

sion of the potency of the vaccine would have been obtained. Even though in general recovered pigs showed less severe lesions than susceptible pigs, the use of this criterion for vaccine potency tests is subjective. The results suggest that the serum assay of vaccinated pigs for protective antibodies may be more reliable than the challenge method.

TABLE 1. *Development of foot-and-mouth disease vesicles in convalescent and control pigs after intradermal heel inoculation of one foot*

Days convalescent	No. of pigs inoculated	No. of pigs with vesicles		
		Negative	At inoculation site only	Uninoculated feet
90	16	2	9	5
180	16	14	0	2
270	12	5	4	3
360	12	4	4	4
0*	40	0	0	40

* Susceptible control pigs added to each of the convalescent groups at time of re-exposure.

TABLE 2. Pigs with lesions at sites other than the inoculated foot

Pig No.	Days convalescent	Days after inoculation when lesions appeared						MPI
		3	4	5	6	7		
1	90	-*	-	-	+	-	3.8	
2		-	-	-	+	-	5.0	
3		-	-	-	++	-	> 5.0	
4		-	-	-	+	-	> 5.0	
5		-	-	-	+	-	> 5.0	
6	180	-	-	-	+	-	3.0	
7		-	-	-	+	-	5.4	
8	270	+	-	-	-	-	3.6	
9		-	+	-	-	-	1.4	
10		+++	--	-	-	-	2.7	
11	360	-	-	++	-	-	> 4.4	
12		-	-	+	-	-	1.9	
13		-	-	-	-	+	> 4.4	
14		-	-	++	-	-	> 4.4	
Controls**	0	+++	-	-	-	-	0.0 - 0.1	

MPI = Mouse protection index at time of inoculation.

* Lesions on uninoculated feet, + = 1 foot, ++ = 2 feet, +++ = 3 feet, - = clinically normal.

** Susceptible control pigs added to each of the convalescent groups at time of re-exposure.

REFERENCES

- 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.* 19 (110): 243-267, 1957.
- CUNLIFFE, H.R. Antibody response in a group of swine after infection with foot-and-mouth disease virus. *Can. J. comp. Med. Sci.* 26 (8): 182-185, 1962.
- GOMES, I.; ASTUDILLO, V. Foot-and-mouth disease: evaluation of mouse protection test results in relation to cattle immunity. *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 17-18: 9-16, 1975.
- GRAVES, J.H.; MCKERCHER, P.D.; FARRIS JR., H.E.; COWAN, K.M. Early response of cattle and swine to inactivated foot-and-mouth disease vaccine. *Res. vet. Sci.* 9 (1): 35-40, 1968.

5. LUCAM, F.; DHENNIN, L.; DHENNIN, L.; FEDIDA, M. Essais de vaccination antiaphteuse intradermique chez le porc. Resultats obtenus au laboratoire. *Bull. Off. int. Epizoot.* 57 (5-6): 924-936, 1962.
6. McKERCHER, P.D.; FARRIS JR., H.E. Foot-and-mouth disease in swine: response to inactivated vaccines. *Arch ges. Virusforsch.* 22 (3-4): 451-461, 1967.
7. McKERCHER, P.D.; GAILIUNAS, P. Response of swine to inactivated foot-and-mouth disease vaccine. Duration of immunity and local tissue reaction. *Arch. ges. Virusforsch.* 28 (2): 165-176, 1969.
8. McKERCHER, P.D.; GIORDANO, A.R. Foot-and-mouth disease in swine. I. The immune response of swine to chemically-treated and non-treated foot-and-mouth disease virus. *Arch. ges. Virusforsch.* 20 (1): 39-53, 1967.
9. PLUM ISLAND ANIMAL DISEASE CENTER AND PAN-AMERICAN FOOT-AND-MOUTH DISEASE CENTER. Foot-and-mouth disease vaccines. I. Comparison of vaccines prepared from virus inactivated with formalin and adsorbed on aluminum hydroxide gel with saponin and virus inactivated with acetyleneimine and emulsified with incomplete Freund's adjuvant. *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa 19-20:* 9-16, 1975.

RESPUESTA INMUNITARIA DE BOVINOS ADULTOS VACUNADOS CONTRA LA FIEBRE AFTOSA CON VACUNA OLEOSA

P. Augé de Mello; Vicente Astudillo*; Ivo Gomes*; J.T. Campos Garcia***

RESUMEN

Bovinos de 2 años, que ya habían recibido tres vacunaciones contra la fiebre aftosa - una cada seis meses - con vacunas inactivadas de adyuvante oleoso, mantuvieron una respuesta inmunitaria muy satisfactoria, con una expectativa porcentual de protección superior al 80% a los 12 meses de la cuarta vacunación.

Se sugiere el siguiente esquema para inmunizar a los bovinos con este tipo de vacuna: en animales jóvenes, aplicar una dosis cada 6 meses hasta 2 años de edad y efectuar las vacunaciones siguientes con intervalos de un año.

INTRODUCCION

En un trabajo anterior (1) fue descrita la respuesta inmunitaria de bovinos jóvenes de 5-7 meses de edad, vacunados y revacunados con vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso e inactivada por medio de acetiletileneimina (AEI). Los resultados de este trabajo demostraron que este tipo de vacuna induce un elevado nivel de anticuerpos circulantes que persiste por largo tiempo, lo que permite la inmunización de bovinos jóvenes vacunándolos cada 6 meses.

También ya fue estudiada la respuesta inmunitaria a la vacunación con vacuna oleosa de bovinos adultos en galpones de aislamiento (6,7). En este trabajo se estudia la respuesta inmunitaria de un grupo de hembras adultas, en condiciones de campo controladas, frente a dos procedimientos de vacunación con vacuna oleosa. El objetivo final de este estudio es establecer el esquema de vacunación más indicado para la población bovina.

MATERIALES Y METODOS

Para los estudios sobre la vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso fue seleccionada la estación experimental "Cinco Cruzes", perteneciente a la "Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias" (EMBRAPA) del Ministerio de Agricultura de Brasil (1).

Se tomaron 40 hembras bovinas adultas, 5/8 Aberdeen-Angus y 3/8 Nelore, seleccionadas al azar a partir de un grupo de 128, con una media de edad de 2 años. Este grupo había sido vacunado cada 6 meses con vacuna antiaftosa inactivada, con adyuvante oleoso y mantenido en las mismas condiciones de ambiente y de manejo.

Los 40 animales fueron divididos al azar en 2 grupos de 20. Los del grupo 1 fueron revacunados cada 6 meses y los del grupo 2 solamente una vez al año.

La vacuna fue elaborada con virus de la fiebre aftosa, subtipos O₁ Campos, A₂₄ Cruzeiro y C₃ Resende, cultivados en células BHK-21 C13 (5) e inactivados con 0,05% de AEI. Los detalles sobre el método de preparación de la vacuna ya fueron descritos (1).

Cada 2 meses se tomaron muestras de sangre y los niveles de anticuerpos contra la fiebre aftosa fueron determinados a través de la prueba de seroprotección en ratón lactante (2). La expectativa porcentual de protección (EPP) correspondiente a los índices de seroprotección fue calculada según Gomes y Astudillo (3).

RESULTADOS

La tabla 1 muestra un resumen de los resultados del nivel inmunitario expresados en EPP para los

* Centro Panamericano de Fiebre Aftosa, Caixa Postal 589, ZC-00, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

** Ministerio de Agricultura de Brasil - EMBRAPA, Cinco Cruzes, Bagé, RS, Brasil.

tres tipos de virus aftoso. En ambos grupos la expectativa porcentual de protección, a los 6 y 12 meses después de la vacunación, está por encima del 80% de protección, valor indicativo de un nivel de inmunidad poblacional aceptable (3). El grupo 2 muestra un nivel de protección más alto y una menor variación en los resultados. Para el virus subtipo O₁, se observan diferencias mayores entre los grupos.

DISCUSION

La vacunación y revacunación de bovinos jóvenes con una vacuna antiaftosa inactivada de adyuvante oleoso, aplicada cada 6 meses, produce un estado inmunitario satisfactorio (1), lo que no se observa con una vacuna de adyuvante hidróxido de aluminio y/o saponina. Es más difícil inmunizar contra la fiebre aftosa bovinos jóvenes que adultos (4).

Cabe esperar que los bovinos vacunados sistemáticamente desde jóvenes con una vacuna de adyuvante oleoso, cuando adultos, tengan un estado inmunitario que permita aumentar el intervalo entre las vacunaciones. Los resultados demuestran que los bovinos adultos, con 3 vacunaciones como mínimo de vacuna de adyuvante oleoso, tienen un nivel de protección muy satisfactorio que hace innecesario continuar vacunándolos cada 6 meses.

Con el uso de la vacuna de adyuvante oleoso parece factible utilizar el siguiente esquema de vacunación en la especie bovina: en animales jóvenes, hasta 2 años de edad, se aplica la vacuna cada 6 meses y a partir de esta edad se prosigue revacunando cada 12 meses. Sin embargo, la utilización definitiva de este esquema deberá ser evaluada en un estudio masivo en la población bovina que indique además su aceptación por parte de los productores y los servicios oficiales.

TABLA 1. Expectativa porcentual de protección de hembras bovinas adultas después de la revacunación contra la fiebre aftosa con vacuna oleosa

Virus de la fiebre aftosa	Grupo*	Meses después de la revacunación		
		0 **	6	12
O ₁	1	86 ± 6	93 ± 6	83 ± 7
	2	94 ± 3	96 ± 3	93 ± 3
A ₂₄	1	96 ± 4	96 ± 4	99
	2	99	99	99
C ₃	1	88 ± 9	94 ± 6	94 ± 5
	2	90 ± 6	96 ± 4	95 ± 3

* Grupo 1: vacunación cada 6 meses.
Grupo 2: vacunación cada 12 meses.

** Al iniciarse el estudio todos los animales tenían 3 vacunaciones (una cada 6 meses) con vacuna inactivada de adyuvante oleoso.

REFERENCIAS

1. AUGÉ DE MELLO, P.; ASTUDILLO, V.; GOMES, I.; CAMPOS GARCIA, J.T. Aplicación en el campo de vacuna antiaftosa oleosa e inactivada: vacunación y revacunación de bovinos jóvenes. *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 19-20: 31-38, 1975.
2. CUNHA, R.G.; BAPTISTA JUNIOR, J.A.; SERRÃO, U.; 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.* 19 (110): 243-267, 1957.
3. GOMES, I.; ASTUDILLO, V. Foot-and-mouth disease: Evaluation of mouse protection test results in relation to cattle immunity. *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 17-18: 9-16, 1975.
4. HONIGMAN, M.N.; GOMES, I.; ABREU M., I. de; LOMBARDO, R.A. Persistencia en terneros de la inmunidad postvacunal contra el virus aftoso. *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 2: 12-20, 1971.
5. MACPHERSON, I.; STOKER, M. Polyoma transfor-
-
- mation of hamster cell clones: an investigation of genetic factors affecting cell competence. *Virology* 16 (2): 147-150, 1962.
6. RIVENSON, S.; IBARRA, O.; GAGGINO, O.P.; GARCIA OLANO, J.; PIZZI, J.C.; MARAUGUNICH, L. Estudio comparativo con un nuevo tipo de vacuna antiaftosa oleosa en bovinos. *Revta Investn Agropec.* 9 (2): 53-80, 1972.
7. UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE AND PAN-AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. Foot-and-mouth disease vaccines. I. Comparison of vaccines prepared from virus inactivated with formalin and adsorbed on aluminum hydroxide gel with saponin and virus inactivated with acetyleneimine and emulsified with incomplete Freud's adjuvant. Collaborative research Plum Island Animal Disease Center and Pan-American Foot-and-Mouth Disease Center. *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 19-20: 9-16, 1975.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a los Drs. Luiz Ernani Anadon Cardozo, Cláudio Alano da Silveira y Victor Hugo Conde del Grupo Ejecutivo de Combate a la Fiebre Aftosa (GECOFA) de Rio Grande do Sul, Brasil, por su valiosa asistencia.

IMMUNE RESPONSE OF ADULT CATTLE VACCINATED WITH OIL ADJUVANTED FOOT-AND-MOUTH DISEASE VACCINES

P. Augé de Mello; Vicente Astudillo*; Ivo Gomes*; J.T. Campos Garcia***

SUMMARY

Two-year old cattle which had been vaccinated 3 times against foot-and-mouth disease at 6-month intervals with inactivated oil adjuvanted vaccines showed a very satisfactory immune response with an expected percentage of protection over 80% during 12 months following the fourth revaccination.

These results suggest the following vaccination scheme for this type of vaccine: vaccination at 6-month intervals of cattle up to 2 years of age followed by a yearly revaccination.

INTRODUCTION

An earlier paper (1) described the immune response of young, 5-7 month old cattle after vaccination and revaccination with oil adjuvanted foot-and-mouth disease (FMD) vaccine. These vaccines were prepared from virus suspensions inactivated with acetyleneimine (AEI). The results of these experiments showed that this type of vaccine induces a high level of circulating antibody which persists for long periods. It was possible therefore to vaccinate young cattle every 6 months.

Earlier papers (6,7) reported on the immune response of adult cattle to oil adjuvanted vaccine maintained under controlled laboratory conditions. In the present work the immune response of a group of cows under controlled field conditions was studied. Two vaccination schemes of oil adjuvanted vaccination were tested in order to establish the most efficient vaccination scheme for a cattle population.

MATERIALS AND METHODS

The oil adjuvanted vaccine studies were done at the experimental station "Cinco Cruzes" of the "Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias" Brazilian Agricultural Research Agency, (EMBRAPA) of the Ministry of Agriculture of Brazil (1).

From a group of 128 adult cattle (5/8 Aberdeen-Angus and 3/8 Nelore) 40 cattle were randomly selected for the study. The mean age of the group was 2 years. All had been vaccinated with inactivated oil adjuvanted FMD vaccine at 6-month intervals and were kept under the same management and ambient conditions.

The 40 selected cattle were divided randomly into 2 groups of 20. The cattle of Group 1 were revaccinated every 6 months and those of Group 2 were vaccinated once a year.

The vaccine was prepared with FMD virus sub-type O₁ strain Campos, A₂₄ strain Cruzeiro and C₃ strain Resende, grown in BHK-21 C13 cells (5) and inactivated with AEI as described (1).

The cattle were bled every 2 months, and circulating antibodies were assayed by the mouse protection test (2). The expected percentage of protection (EPP) was calculated from the mouse protection test results according to Gomes and Astudillo (3).

RESULTS

Table 1 summarizes the results, expressed in EPP, for the 3 FMD virus strains. For both groups the mean EPPs at 6 and 12 months after vaccination indicate a protection of more than 80%, a

* Pan American Foot-and-Mouth Disease Center, Caixa Postal 589, ZC-00, Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

** Ministerio de Agricultura de Brasil - EMBRAPA, Cinco Cruzes, Bagé, RS, Brasil.

value which is considered an acceptable population immunity (3). Group 2 had a higher protection level and a smaller degree of variation. The largest differences between the groups were observed for virus O₁.

DISCUSSION

Contrary to FMD vaccines with aluminum hydroxide adjuvant with or without the addition of saponin, the vaccination and revaccination at 6-month intervals of young cattle with inactivated oil adjuvanted FMD vaccine produce a satisfactory immune status in those animals (1). Moreover, it is more difficult to vaccinate young cattle against FMD than adults (4).

Therefore, it can be expected that young cattle which have been systematically vaccinated with oil adjuvanted vaccines will have an immune status which permits longer vaccination intervals. The results show that adult cattle which have been vaccinated as calves and heifers at least 3 times show a highly satisfactory immunity which makes it unnecessary to continue with 6-monthly vaccinations.

With the use of oil adjuvanted vaccines it appears feasible to use the following vaccination scheme in young cattle: up to 2 years of age, vaccination at 6-month intervals; from that age on, revaccination at yearly intervals. The practical use of this scheme, and its acceptance by the agricultural community, should be tested in a large field experiment.

TABLE 1. *Mean expected percentage of protection of adult cows after revaccination with oil adjuvant FMD vaccine*

FMD Virus	Group*	Months after revaccination		
		0**	6	12
O ₁	1	86 ± 6	93 ± 6	83 ± 7
	2	94 ± 3	96 ± 3	93 ± 3
A ₂₄	1	96 ± 4	96 ± 4	99
	2	99	99	99
C ₃	1	88 ± 9	94 ± 6	94 ± 5
	2	90 ± 6	96 ± 4	95 ± 3

* Group 1: vaccination 6-month intervals.

Group 2: vaccination 12-month intervals.

** At the start of the study all cattle had received 3 vaccinations with oil adjuvant FMD vaccine at 6-month intervals.

REFERENCES

1. AUGÉ DE MELLO, P.; ASTUDILLO, V.; GOMES, I.; CAMPOS GARCIA, J.T. Aplicación en el campo de vacuna antiaftosa oleosa e inactivada: vacunación y revacunación de bovinos jóvenes. *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 19-20: 31-38, 1975.
2. CUNHA, R.G.; BAPTISTA JUNIOR, J.A.; SERRÃO, U.; 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.* 19 (110): 243-267, 1957.
3. GOMES, I.; ASTUDILLO, V. Foot-and-mouth disease: Evaluation of mouse protection test results in relation to cattle immunity. *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 17-18: 9-16, 1975.
4. HONIGMAN, M.N.; GOMES, I.; ABREU M., I. de; LOMBARDO, R.A. Persistencia en terneros de la inmunidad postvacunal contra el virus aftoso. *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 2: 12-20, 1971.
5. MACPHERSON, I.; STOKER, M. Polyoma transformation of hamster cell clones: an investigation of genetic factors affecting cell competence. *Virology* 16 (2): 147-150, 1962.
6. RIVENSON, S.; IBARRA, O.; GAGGINO, O.P.; GARCIA OLANO, J.; PIZZI, J.C.; MARAUGUNICH, L. Estudio comparativo con un nuevo tipo de vacuna antiaftosa oleosa en bovinos. *Revta Investnes Agropec.* 9 (2): 53-80, 1972.
7. UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE AND PAN-AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. Foot-and-mouth disease vaccines. I. Comparison of vaccines prepared from virus inactivated with formalin and adsorbed on aluminum hydroxide gel with saponin and virus inactivated with acetylethyleneimine and emulsified with incomplete Freud's adjuvant. Collaborative research Plum Island Animal Disease Center and Pan-American Foot-and-Mouth Disease Center. *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 19-20: 9-16, 1975.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors wish to thank Drs. Luiz Ernani Anadon Cardozo, Cláudio Alano da Silveira and Victor Hugo Conde of the Foot-and-Mouth Disease Combat Group (GECOFA) of Rio Grande do Sul, Brazil, for their kind assistance.

PREVALENCIA DE ANTICUERPOS VIA EN BOVINOS DEL NORTE DEL CHOCÓ, COLOMBIA. 1975

Cesar A. Lobo*; Gustavo Arbelaez R.*; Guillermo Restrepo S.*; Juan G. Restrepo A.**

RESUMEN

La evidencia que entre los bovinos con anticuerpos contra VIA (enzima RNA-dependiente-RNA polimerasa, asociada con la infección), se encuentran los portadores sanos del virus de la fiebre aftosa, dio lugar a que se realizara un estudio serológico mediante la prueba de difusión doble en agar. Se buscaba conocer la prevalencia de dichos reactores y su localización en la parte norte del Chocó, primer área colombiana declarada libre de la infección aftosa manifiesta, como trabajo orientador en la detección de portadores sanos.

En 1975, siguiendo el diseño de función binomial y con base en una prevalencia crítica pre establecida del 0,5%, se tomó una muestra al azar de 496 bovinos, y se determinó una prevalencia del 12% bovinos con anticuerpos contra el VIA.

Estos datos proporcionarán la base para futura evaluación de la presencia o ausencia del virus de la fiebre aftosa en el Chocó.

INTRODUCCION

En el control de la fiebre aftosa (FA) en países afectados, reviste una singular importancia la creación y mantenimiento de áreas libres de la infección, lo cual, además de reducir las pérdidas económicas ocasionadas por la presencia de la enfermedad, facilita el avance metódico y paulatino de la campaña de control a nuevas áreas y abre el camino al libre comercio de exportación de ganado y sus productos a países libres de la infección.

Sin embargo, los pasos iniciales de eliminación

de la infección clínica en dichas áreas deben estar apoyados con un sistema que permita detectar animales infectados por FA, que podrían dar lugar a la aparición de epizootias con un serio compromiso de la situación sanitaria de la región y de la efectividad de las medidas de seguridad de la campaña de control.

En el presente trabajo se describen los resultados de una encuesta serológica para la determinación de la prevalencia de bovinos con anticuerpos contra VIA (antígeno asociado a la infección viral) (2, 7) en la región norte del Chocó. Esta es la primera área liberada de la enfermedad en Colombia como paso preliminar a la detección y eliminación de eventuales portadores sanos del virus de la FA.

MATERIALES Y METODOS

1. Área de estudio

El área N° 1, parte norte del Chocó (Figura 1), con extensión territorial de 17.000 km², es una de las ocho áreas en las cuales se ha dividido la llamada Zona I (Costa Atlántica) y que en la actualidad concentra gran parte de los recursos físicos y humanos de la Campaña Nacional de Control de la Fiebre Aftosa (3). Su población bovina, calculada a través de información censal a nivel de predio en 1974, es de 18.463 (N) cabezas de ganado principalmente cebú y de cruces de bajo mestizaje.

Las fincas de explotación ganadera, distribuidas en forma irregular en los municipios de

* Médicos Veterinarios Programa Nacional de Enfermedades Vesiculares.

** Médico Veterinario del Convenio Sanitario de Urubá con sede en Acandí (Chocó).

NOTA: Las opiniones emitidas en este trabajo expresan exclusivamente el criterio de sus autores.

Acandí, Bahía Solano, Bojayá, Juradó y Riosucio, se caracterizan por tener asiento en un terreno pantanoso y cenagoso por la fuerte intensidad

pluviométrica y la gran cantidad de riachuelos que atraviesan la región, factores que dificultan la construcción de vías de comunicación.

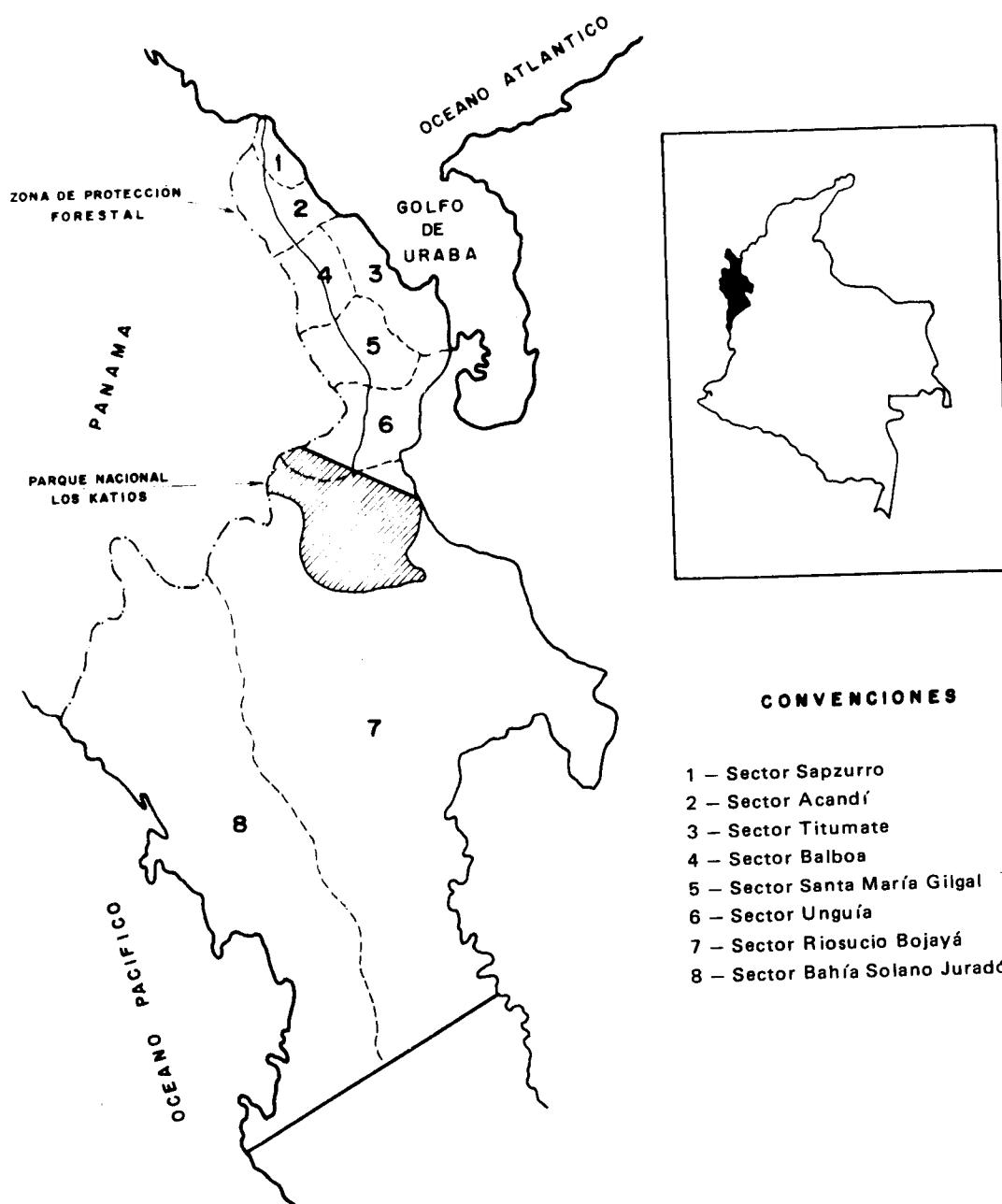


FIGURA 1: División sectorial del Área 1 (norte del Chocó) de la Campaña Nacional de Control de la Fiebre Aftosa, en la cual se realizó el estudio de prevalencia de reactores positivos del antígeno VIA.

2. Selección de la muestra

Para determinar el tamaño de la muestra (n), a través del modelo binomial, se establecieron ciertos supuestos como una prevalencia crítica de reactores de 0,5%, o sea $p = 0,005$ y un nivel de significación del 10% (1). La ecuación para calcular n , para una prevalencia crítica de 0,5%, es:

$$n = \log \alpha / \log q$$

Aplicando la fórmula a las condiciones del presente estudio:

$\alpha = 0,1$; $p = 0,005$; $q = 0,995$; se tiene:

$$n = \frac{\log (0,1)}{\log (0,995)} = \frac{-1}{-0,0021769} = n = 459$$

Se acordó aumentar el tamaño de la muestra en un ocho porciento (8%), con lo cual se logra una mayor precisión en los resultados quedando un tamaño de muestra definitivo de 496 animales. La fracción de muestreo (f) es la siguiente:

$$f = \frac{n}{N} = \frac{496}{18.463} = \frac{1}{37.2237} = 0,02686 \text{ o } 2,7\%$$

Respecto a la selección de la muestra se aplicó un sistema de selección en dos etapas. En la primera se seleccionaron las fincas con probabilidad proporcional al número de bovinos. En ellas la selección de animales en cada finca se llevó a cabo utilizando procedimientos aleatorios.

3. Pruebas de anticuerpos VIA

Los sueros fueron obtenidos en el curso del año de 1975 y procesados en el Laboratorio de Investigaciones Médicas Veterinarias (LIMV) en Bogotá.

La técnica seguida corresponde al enfrentamiento de cada suero con el VIA por prueba de inmunodifusión doble cuyo montaje e interpretación han sido descritos en otras publicaciones (4, 5, 7).

RESULTADOS

Para una probabilidad del 95% de confianza se obtuvo una prevalencia del 12% \pm 2,8% de reactores positivos al VIA (Tabla 1), y se reunieron dentro de la categoría de positivos los sueros con franca reacción de precipitación y aquellos

TABLA 1. *Bovinos con anticuerpos contra VIA en los diferentes sectores del área 1 (parte norte del Chocó), Colombia*

Sector	Fincas		Bovinos muestreados	Resultados	
	Analizadas	Positivas		Positivos	Negativos
Acandí	103	16 (15%)	151	18 (12%)	133 (88%)
Titumate	9	0 (0%)	19	0 (0%)	19 (100%)
Balboa	28	5 (18%)	41	7 (17%)	34 (83%)
Santa María	28	3 (11%)	70	3 (4%)	67 (96%)
Unguía	49	10 (20%)	132	18 (14%)	114 (86%)
Riosucio—Bojayá	24	3 (12%)	59	14 (24%)	45 (76%)
Bahía Solano—Juradó	24	1 (4%)	25	1 (4%)	24 (96%)
Total	265	38 (14%)	497	61 (12%)	436 (88%)

considerados como sospechosos con la formación de bandas débiles (5, 7). Los resultados discriminados por sector aparecen también en la Tabla 1. Se observa que en algunos sectores el número de los animales positivos fue mayor que en otros, tal como sucedió con Riosucio—Bojayá, seguido en orden por los sectores de Balboa, Unguía, Acandí, Santa María y Bahía Solano—Juradó. En el sector de Titumate no se detectó ningún positivo en la muestra seleccionada.

Respecto al número de fincas, en las cuales se detectaron reaccionantes positivos, se puede observar en la Tabla 1 que su ordenamiento corresponde con la distribución anterior si se exceptúa el sector de Unguía que ofreció el mayor número de fincas positivas y que en consecuencia pasó a ocupar el primer lugar en la lista y el sector de Riosucio—Bojayá que se ubicó a continuación del sector de Acandí.

DISCUSION

Se encontró una prevalencia de un 12% de bovinos con anticuerpos contra el VIA en la región norte del Chocó, cifra que excede el valor previamente fijado de una prevalencia crítica de un 0,5%, y que demuestra claramente la presencia de un número significativo de reaccionantes positivos en la población bovina del Área 1.

Las cifras de prevalencia encontradas en cada uno de los sectores y en la muestra total pueden deberse a infecciones pasadas (el último brote de la enfermedad causado por el virus A se registró en mayo de 1974) o a la presencia de algunos bovinos

portadores. No se debiera descartar la posibilidad de persistencia de un cierto número de positivos a consecuencia de las múltiples vacunaciones con vacuna producida según el método Frenkel (9) de uso en la población del área 1 hasta enero de 1974. En esa fecha se suspendió el programa de vacunaciones para continuar con un proceso estricto de vigilancia epidemiológica. Especialmente vacunas insuficientemente inactivadas pueden inducir la formación de anticuerpos contra VIA en un determinado porcentaje de animales que han recibido varias vacunaciones (6, 8); sin embargo, los trabajos en proceso indican que los anticuerpos contra VIA producidos en animales vacunados desaparecen más rápidamente que los originados a consecuencia de una infección activa, aparente o inaparente (6).

Con la discontinuación del programa de vacunaciones, las futuras encuestas serológicas para determinar la prevalencia y distribución de animales con anticuerpos contra VIA deberían dar una buena indicación de una eventual actividad viral o ausencia de actividad viral en el Chocó. La validez del presente trabajo, respecto a la existencia de portadores sanos en animales de áreas liberadas de la infección aparente y sometidos a las condiciones anteriormente expuestas, sólo podrá ser evaluado a través de ensayos correlativos de aislamiento de virus de mucosa esófago-faríngea (10) y de determinaciones de la presencia de anticuerpos contra VIA en grupos de animales serológicamente positivos y negativos. Este ensayo se realiza en la actualidad en varias localidades del área 1 y sus resultados serán publicados próximamente.

REFERENCIAS

1. CENTRO PANAMERICANO DE ZOONOSIS. Nota técnica nº 18: 35, julio de 1973.
2. COWAN, K.M.; GRAVES, J.H. A third antigenic component associated with foot-and-mouth disease infection. *Virology* 30: 528-540, 1966.
3. ESTUPIÑAN, J. Plan sanitario para el control y erradicación de la fiebre aftosa en Colombia. *Boletín Técnico ICA* 32: 1-11, 1975.
4. LOBO, C.A.; GUTIERREZ, A.; MARIÑO, O. Evaluation d'anticorps induits par infection par le virus de la fièvre aphteuse. I. Preparation de l'antigène VIA et mise en oeuvre dans des épreuves sur le terrain. *Bull. Off. int. Epizoot.* 81 (3-4): 287-303, 1974.
5. LOBO, C.A.; HANSON, R.P.; GUTIERREZ, A.; BELTRAN, L.E. Serological detection of natural

- foot-and-mouth disease infection in cattle and pigs.
En preparación.
- 6. LOBO, C.A.; RESTREPO, G.; ARBELAEZ, G. Especificidad y sensibilidad de la prueba de precipitación en agar respecto a la detección de reactores al antígeno VIA. En preparación.
 - 7. McVICAR, J.W.; SUTMÖLLER, P. Foot-and-mouth disease: The agar gel diffusion precipitin tests for antibody to virus infection associated antigen as a tool for epidemiologic surveys. *Am. J. Epid.* 92 (4): 273-278, 1970.
 - 8. McVICAR, J.W. Comunicación personal. Plum Island Animal Disease Center, 1975.
 - 9. SIRONI, A.; LASERNA, B.; TURRIANO, G.; MORALES, A. Producción de la vacuna antiaftosa en Colombia. *Vet. Colomb.* 2 (2): 121-148, 1967.
 - 10. SUTMÖLLER, P.; COTTRAL, G.E. Improved techniques for the detection of foot-and-mouth disease virus in carrier cattle. *Arch. ges. Virusforsch.* 21: 170-177, 1967.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la magnífica colaboración del señor Hernando Guerrero M. en la elaboración del diseño estadístico y a los doctores Zúñiga y Eduardo Pardo en el proceso de sistematización y toma de muestras. Igualmente agradecen la asistencia técnica de los señores Enrique Puerto y Miguel A. López en el montaje de las pruebas de laboratorio.

THE PREVALENCE OF VIA ANTIBODIES OF FOOT-AND-MOUTH DISEASE IN CATTLE IN NORTHERN CHOCO, COLOMBIA. 1975.

Cesar A. Lobo; Gustavo Arbelaez R.*; Guillermo Restrepo S.*; Juan G. Restrepo A.***

SUMMARY

Healthy foot-and-mouth disease (FMD) carriers may be found among cattle with antibodies against VIA (virus-infection-associated antigen). A serological survey was made using the double agar gel diffusion test to detect such antibodies. The prevalence and localization of cattle with antibodies against VIA in the North part of the Chocó was determined. This is the first Colombian area declared free of clinical foot-and-mouth disease. The survey was made as a preliminary step to detect healthy virus carriers.

A random sample of 496 cattle was taken in 1975 according to a binomial design based on a critical prevalence level of 0.5%. This survey established a prevalence rate of 12% of cattle with VIA antibody.

This data will provide a basis for future evaluation of the presence or absence of FMD virus in the Chocó.

INTRODUCTION

The creation and maintenance of areas free of foot-and-mouth disease (FMD) within an affected country is important for the eventual free exportation of cattle and meat products to FMD-free countries.

However, the initial phase of eliminating clinical infection in such areas must be supported by a system which permits the detection of FMD-infected cattle, since their presence could lead to epidemics and seriously jeopardize the

effectiveness of the control campaign.

This paper describes the results of a serological survey carried out to determine the prevalence of cattle with VIA (virus-infection-associated antigen) antibodies (2, 7) in the Northern part of the Chocó, Colombia. The Chocó, located near the border with Panama, is the first FMD-free area in Colombia; this survey was the first step in detecting healthy FMD-virus carriers in that region.

MATERIALS AND METHODS

1. Study area

Area N° 1, in the Northern part of the Chocó (Figure 1), includes 17,000 sq kms. A large part of the physical and human resources of the National Foot-and-Mouth Disease Control Campaign (3) is presently concentrated in this area. The cattle population, calculated from the 1974 census, is 18,463 head, mostly zebu or mixture crosses.

The cattle farms are distributed unevenly among the municipalities of Acandí, Bahía Solano, Bojayá, Juradó and Riosucio, and are characterized by low terrain which floods during the rainy season and a large number of streams which cut through the region. These factors make the construction of roads difficult.

2. Selection of the sample

In order to determine sample size using the binomial model, certain assumptions were made, such as a critical prevalence rate of positive

* Veterinarians, National Program of Vesicular Diseases.

** Veterinarian, Sanitary Agreement of Urubá, located in Acandí (Chocó).

NOTE: The opinions issued in this paper express exclusively the criterion of the authors.

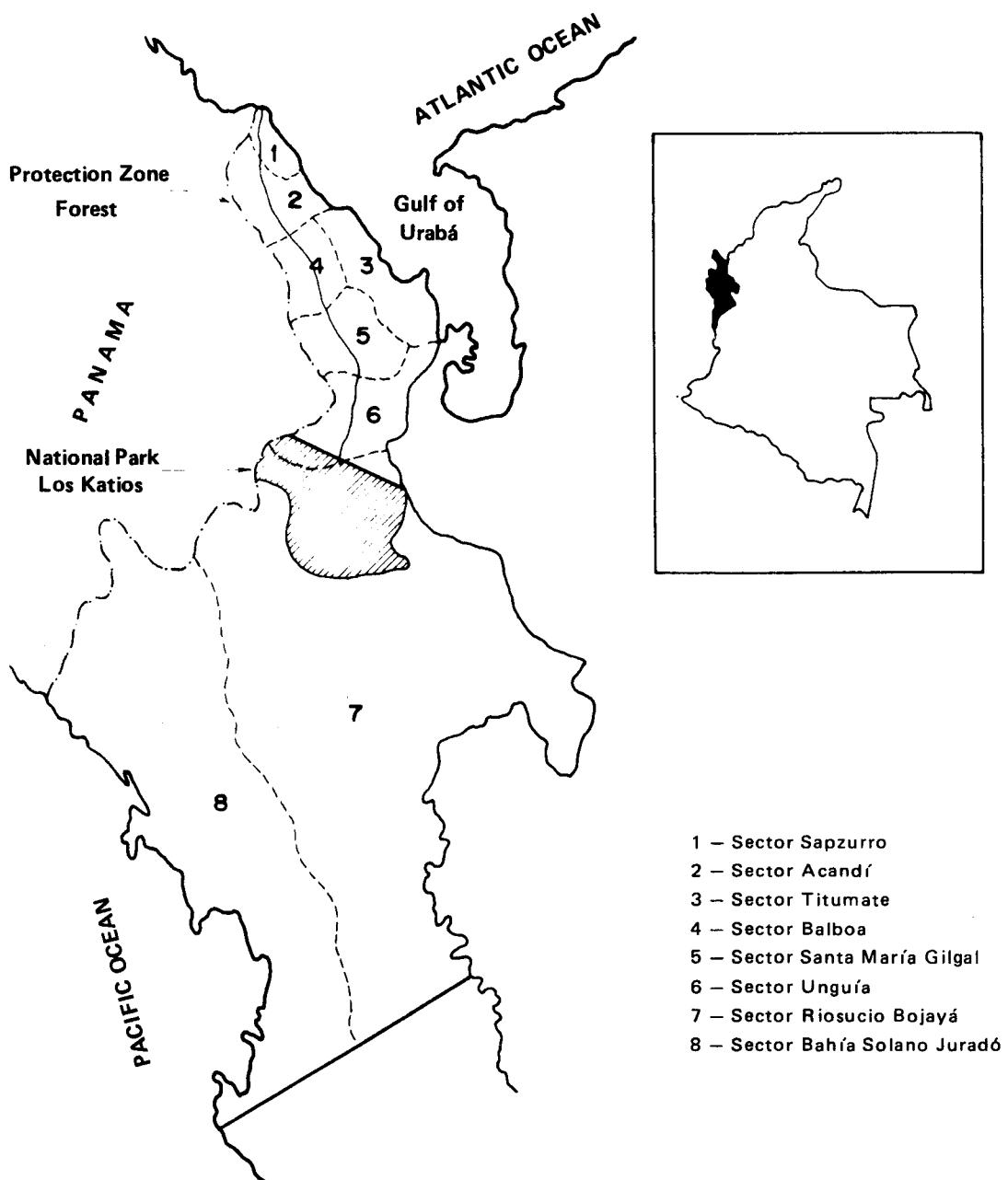


FIGURE 1: Sectorial divisions of Area 1 (Northern Chocó) of the National Foot-and-Mouth Disease Control Campaign, site of the study of prevalence of VIA-positive reactors.

reactors of 0.5%, that is, $p = 0.005$ at a 10% significance level (1). Thus, the equation for calculating n is:

$$n = \log \alpha / \log q$$

Applying the equation to the conditions of the present study:

$\alpha = 0.1$; $p = 0.005$; $q = 0.995$; and thus:

$$n = \frac{\log (0.1)}{\log (0.995)} = \frac{-1}{-0.0021769} = n = 459$$

The sample size was increased by 8%, which resulted in a greater precision of the results. Final sample size was 496 animals. The sample proportion (f) was calculated as follows:

$$f = \frac{n}{N} = \frac{496}{18,463} = \frac{1}{37,2237} = 0.02686 \text{ or } 2.7\%$$

A two-step selection system was used. First, the farms were selected with a probability proportional to the number of cattle. Then, within each

farm the cattle were selected randomly.

3. VIA antibody tests

Sera were obtained during 1975 and processed at the Laboratorio de Investigaciones Médicas Veterinarias (LIMV) in Bogotá.

Each serum was tested against VIA in the double immunodiffusion test, as described elsewhere (4, 5, 7).

RESULTS

A prevalence rate of $12\% \pm 2.8\%$ (95%) of positive reactors was obtained (Table 1). Included in this category were positive sera which produced clear precipitation bands, as well as those scored as "suspect", which showed formation of weak bands (5, 7). The results divided by sector are also shown in Table 1. Some sectors showed a higher number of positive cattle, as in the case of Riosucio-Bojayá, and were followed in decreasing order by Balboa, Unquía, Acandí, Santa María and Bahía

TABLE 1. *Cattle with VIA antibodies in different sectors of area 1 (Northern Chocó), Colombia*

Sector	Farms		Cattle sampled	Results	
	Tested	Positive		Positive	Negative
Acandí	103	16 (15%)	151	18 (12%)	133 (88%)
Titumate	9	0 (0%)	19	0 (0%)	19 (100%)
Balboa	28	5 (18%)	41	7 (17%)	34 (83%)
Santa María	28	3 (11%)	70	3 (4%)	67 (96%)
Unquía	49	10 (20%)	132	18 (14%)	114 (86%)
Riosucio-Bojayá	24	3 (12%)	59	14 (24%)	45 (76%)
Bahía Solano-Juradó	24	1 (4%)	25	1 (4%)	24 (96%)
Totals	265	38 (14%)	497	61 (12%)	436 (88%)

Solano-Juradó. In Titumate no positive sera were found.

Table 1 shows that the number of farms in which positive animals were detected corresponds to the above-mentioned distribution, with the exceptions of Unguía, which had the largest number of positive farms, and of Riosucio-Bojayá which placed after Acandí.

DISCUSSION

A prevalence rate of 12% of cattle with VIA antibodies was observed in the Northern region of the Chocó. This figure exceeds the values previously fixed (critical prevalence of 0.5%), clearly demonstrating the presence of a significant number of positive reactors in Area 1 cattle.

The prevalence rates in each of the sectors and in the total sample could be caused by past infections -- the last outbreak of the disease, caused by virus A, was registered in May 1974 -- or by the presence of some carrier cattle. Cattle in Area 1 were vaccinated with a vaccine produced by the Frenkel method (9), which was used in the Area

until January 1974. The vaccination program was discontinued at that time and replaced by a system of strict epidemiological surveillance. The possibility of persistence of a certain number of positive animals as a consequence of these vaccinations cannot be excluded. Specifically, insufficiently inactivated vaccines may induce the formation of VIA antibodies in some animals that have been vaccinated several times (6, 8); however, work in progress indicates that VIA antibodies produced by vaccination disappear more rapidly than those produced by apparent or inapparent infection (6).

Future serological surveys to determine the prevalence and distribution of VIA-positive cattle should indicate more accurately any virus activity in the Chocó. With regard to the existence of healthy carriers in areas free of apparent infection and having the above-mentioned conditions, the validity of this experiment can only be evaluated through further testing for virus from oesophageal-pharyngeal fluid (10), combined with the determination of the presence of VIA antibodies in groups of serologically positive and negative animals. Such a test is presently being carried out within Area 1, and results will be published in due course.

REFERENCES

1. CENTRO PANAMERICANO DE ZOONOSIS. Nota técnica n° 18: 35, julio de 1973.
2. COWAN, K.M.; GRAVES, J.H. A third antigenic component associated with foot-and-mouth disease infection. *Virology* 30: 528-540, 1966.
3. ESTUPIÑAN, J. Plan sanitario para el control y erradicación de la fiebre aftosa en Colombia. *Boletín Técnico ICA* 32: 1-11, 1975.
4. LOBO, C.A.; GUTIERREZ, A.; MARIÑO, O. Evaluation d'anticorps induits par infection par le virus de la fièvre aphteuse. I. Preparation de l'antigène VIA et mise en oeuvre dans des épreuves sur le terrain. *Bull. Off. int. Epizoot.* 81 (3-4): 287-303, 1974.
5. LOBO, C.A.; HANSON, R.P.; GUTIERREZ, A.; BELTRAN, L.E. Serological detection of natural foot-and-mouth disease infection in cattle and pigs. In preparation.
6. LOBO, C.A.; RESTREPO, G.; ARBELAEZ, G. Especificidad y sensibilidad de la prueba de precipitación en agar respecto a la detección de reactores al antígeno VIA. In preparation.

7. McVICAR, J.W.; SUTMÖLLER, P. Foot-and-mouth disease: The agar gel diffusion precipitin tests for antibody to virus infection associated antigen as a tool for epidemiologic surveys. *Am. J. Epid.* 92 (4): 273-278, 1970.
8. McVICAR, J.W. Personal communication. Plum Island Animal Disease Center, 1975.
9. SIRONI, A.; LASERNA, B.; TURRIANO, G.; MORALES, A. Producción de la vacuna antiaftosa en Colombia. *Vet. Colomb.* 2 (2): 121-148, 1967.
10. SUTMÖLLER, P.; COTTRAL, G.E. Improved techniques for the detection of foot-and-mouth disease virus in carrier cattle. *Arch. ges. Virusforsch.* 21: 170-177, 1967.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors wish to thank Mr. Hernando Guerrero M. for his excellent cooperation in the development of the statistical design, and Drs. Zúñiga and Eduardo Pardo for their assistance in the process of systematization and sampling. They also thank Messrs. Enrique Puerto and Miguel A. López for their technical assistance in mounting the laboratory tests.

**ENSAYOS SOBRE POSIBLES EFECTOS COLATERALES DEL
MERTHIOLATE, USADO COMO CONSERVADOR EN
VACUNAS ANTIASFOSAS INACTIVADAS**

*Daniel Abaracón**

COMUNICACION BREVE

El merthiolate es ampliamente usado como conservador de vacunas antiaftosas por los productores industriales.

Experiencias realizadas con vacunas inactivadas contra la poliomielitis han demostrado que productos de degradación del merthiolate pueden afectar al antígeno vírico durante la conservación de las vacunas (1). El efecto deletéreo de esos subproductos de degradación podría ser contrarrestado por tratamiento con un agente quelante, el EDTA (saltetrasódica). Este mismo agente no afectaría las propiedades bacteriostáticas ni fungísticas del merthiolate (1). Ensayos sobre reacciones de precipitación en gel de agar, también demostraron efectos perjudiciales del merthiolate sobre el virus aftoso (2).

El propósito de estas pruebas es estudiar si el uso del merthiolate como conservador en vacunas antiaftosas inactivadas ejerce algún efecto perjudicial sobre la conservación de las mismas. Esto es de particular importancia, sobre todo teniendo en cuenta que para disponer de vacunas en la cantidad que las campañas lo requieren, es necesario guardar las vacunas en stock por períodos relativamente prolongados.

En la primera serie de ensayos las vacunas fueron monovalentes tipo O₁, y en la segunda fueron trivalentes tipos O₁, A₂₄ y C₃.

Las vacunas fueron producidas con virus cultivados sobre células BHK 21 inactivadas con AEI al 0,05% adyuvadas con hidróxido de aluminio en la primera serie, y con hidróxido de aluminio y saponina en la segunda serie.

Las vacunas de ambas series fueron divididas en cuatro fracciones y sometidas a los siguientes

tratamientos: a) Vacuna básica sin agregado de merthiolate. b) Vacuna básica con adición de merthiolate al 1/30.000. c) Vacuna básica con adición de merthiolate al 1/10.000. d) Vacuna básica con adición de merthiolate al 1/10.000 más EDTA (10 mols de EDTA por 1 mol de merthiolate).

Las vacunas de la primera serie fueron ensayadas en bovinos a los 30 y 90 días después de su elaboración. Las de la segunda serie fueron ensayadas a los 8 y 12 meses después de su elaboración, siendo conservadas en cámara fría a 4° C.

Los bovinos usados fueron de raza Hereford, de 18 a 22 meses de edad, criados y mantenidos durante la prueba en un establecimiento donde no se constató fiebre aftosa por más de 8 años. La distribución de los bovinos previa a la vacunación fue realizada por un procedimiento de sorteo. Los bovinos recibieron 1 dosis de vacuna y fueron sangrados para medición de anticuerpos en el momento de la vacunación y de 21 a 26 días después de la misma.

La inmunidad postvacunal fue evaluada por los títulos de seroneutralización en tubos, usando el método de suero variable y virus fijo. Los resultados son expresados como log₁₀ de la recíproca de las diluciones que protegen 50% de los cultivos contra 100 DICT 50%.

RESULTADOS

En la primera serie de ensayos se usó una vacuna monovalente tipo O₁ cepa Campos y no se observó diferencias significativas en la respuesta obtenida por las vacunas sometidas a los diferentes tratamientos, tanto a los 30 como a los 90 días postvacunación (Tabla 1).

* Centro Panamericano de Fiebre Aftosa, Caixa Postal 589, ZC-00, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

En la segunda serie de ensayos realizados con una vacuna trivalente, tampoco se observaron diferencias en la valencia O₁ en el comportamiento de las 4 fracciones de vacuna sometidas a los diferentes tratamientos, tanto a los 8 como a los 12 meses. En todos los casos se observó a los 12 meses un decaimiento de los valores, tal vez debidos al envejecimiento de las vacunas (Tabla 2).

En las valencias tipo A₂₄ y C₃ se observó que la vacuna tratada con merthiolate al 1/30.000 dio

resultados inferiores a la vacuna sin tratamiento con merthiolate. La vacuna tratada con merthiolate al 1/10.000 dio valores aún inferiores. La vacuna tratada con merthiolate al 1/10.000 y EDTA en la forma usada por Davisson (1) resultó en pérdida de inmunogenicidad en las valencias A y C.

Concentraciones de merthiolate mayores de 1/30.000 no serían aconsejables, y su incorporación sólo debe hacerse en el momento de envase final de las vacunas.

TABLA 1: *Media de los títulos de seroneutralización de los bovinos
21 días postvacunación con vacuna monovalente tipo O₁*

	Conservación de la vacuna	
	1 mes	3 meses
Sin merthiolate	1,0	1,4
Merthiolate 1/30.000	1,0	1,2
Merthiolate 1/10.000	1,3	1,4
Merthiolate 1/10.000 + EDTA	1,2	1,4

TABLA 2: *Media de los títulos de seroneutralización de los bovinos
25 días postvacunación con vacuna trivalente*

	O ₁		A ₂₄		C ₃	
	Conservación de la vacuna en meses					
	8	12	8	12	8	12
Sin merthiolate	1,9	1,6	1,8	1,6	1,4	1,1
Merthiolate 1/30.000	2,1	1,7	1,3	1,2	1,3	1,0
Merthiolate 1/10.000	2,1	1,6	1,2	0,9	1,4	0,7
Merthiolate 1/10.000 + EDTA	2,0	1,5	0,3	<0,4	1,0	<0,6

REFERENCIAS

1. DAVISSON, E.O.; POWELL, H.M.; MACFARLANE, J.O. The preservation of poliomyelitis vaccine with stabilized merthiolate. *J. Lab. Med.* 47 (1): 8-19, 1956.
2. COWAN, K.M. Effect of merthiolate on agar gel diffusion precipitin reactions with foot-and-mouth disease virus. *J. Immun.* 97 (5): 647-653, 1966.

THE EFFECT OF MERTHIOLATE ON THE IMMUNOGENICITY OF FOOT-AND-MOUTH DISEASE VIRUS ANTIGENS

*Daniel Abaracón**

BRIEF REPORT

Merthiolate is commonly used as a preservative in commercial inactivated foot-and-mouth disease (FMD) vaccines.

However, experiments with inactivated polio-myelitis vaccines have shown that degradation products of merthiolate can affect the virus antigen during storage of the vaccine (1). The effect of merthiolate can be neutralized by treatment with EDTA (trisodium salt of ethylene diamine tetra-acetic acid). Precipitation reactions in agar gel with FMD virus also show deleterious effects of merthiolate (2).

To test the effect of merthiolate in different concentrations on inactivated FMD virus antigens, inactivated FMD aluminum hydroxide gel vaccine without saponin, was prepared with O₁ type antigens produced in BHK cell cultures.

The vaccine was divided in 4 batches. No merthiolate was added to the first batch. Merthiolate was added to batches 2 and 3 at concentrations of 1/10,000 and 1/30,000, respectively. To the fourth batch merthiolate 1/10,000 and a solution of EDTA at a ratio of 10 mol EDTA per 1 mol of merthiolate was added. Groups of 6-8 cattle were inoculated with each of the batches after 1 and 3 months of storage at 4° C respectively.

These cattle were unvaccinated, 18-22 month old Hereford, with no specific circulating neutralizing antibodies. The farm where these cattle were bred and kept during the trial had been free of FMD for several years.

At 21 days after vaccination serum neutralization titers were determined in a tube test with

BHK cell cultures using the variable serum and fixed virus method, with results expressed as the log₁₀ of the reciprocal of the dilution protecting 50% of the cultures against 100 TCID₅₀ of type O₁ virus.

RESULTS

The results of this experiment are summarized in Table 1; they showed that subtype O₁ strain Campos was stable for as long as 3 months after the preparation of the vaccines.

In a second experiment, a trivalent inactivated aluminum hydroxide saponised vaccine was also divided into four batches and treated in the same way as the monovalent O vaccine. Groups of 7-9 cattle were vaccinated with the vaccines stored for 8 and 12 months. The sera were collected at the moment of vaccination and 25 days later, and tested against 3 virus types. The results, as shown in Table 2, demonstrate differences between the stability of the antigens in relation to the presence of merthiolate.

The immunogenicity of subtypes A₂₄ strain Cruzeiro and C₃ strain Resende was unfavorably influenced by merthiolate, particularly after 12 months of storage of the vaccines. The addition of EDTA as used by Davisson (1) in polio vaccines resulted in loss of immunogenicity of the A and C antigens, but did not affect the O antigen.

Thus, concentrations of merthiolate in FMD vaccines higher than 1/30,000 are not recommendable. The addition of merthiolate should be done just prior to bottling of the vaccine.

*Pan American Foot-and-Mouth Disease Center, Caixa Postal 589, ZC-00, Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

TABLE 1: *Mean serum neutralization titer of cattle 21 days post-vaccination with a monovalent type O₁ vaccine*

	Storage of vaccine	
	1 month	3 months
No merthiolate	1.0	1.4
Merthiolate 1/30,000	1.0	1.2
Merthiolate 1/10,000	1.3	1.4
Merthiolate 1/10,000 + EDTA	1.2	1.4

TABLE 2: *Mean serum neutralization titer of cattle 25 days after vaccination with a trivalent vaccine*

	O ₁	A ₂₄		C ₃		
	Storage of vaccine in months					
	8	12	8	12	8	12
No merthiolate	1.9	1.6	1.8	1.6	1.4	1.1
Merthiolate 1/30,000	2.1	1.7	1.3	1.2	1.3	1.0
Merthiolate 1/10,000	2.1	1.6	1.2	0.9	1.4	0.7
Merthiolate 1/10,000 + EDTA	2.0	1.5	0.3	<0.4	1.0	<0.6

REFERENCES

- DAVISON, E.O.; POWELL, H.M.; MACFARLANE, J.O. The preservation of poliomyelitis vaccine with stabilized merthiolate. *J. Lab. Med.* 47 (1): 8-19, 1956.
- COWAN, K.M. Effect of merthiolate on agar gel diffusion precipitin reactions with foot-and-mouth disease virus. *J. Immun.* 97 (5): 647-653, 1966.

VACUNA OLEOSA: COBERTURA INMUNOLOGICA DE LAS CEPAS DEL VIRUS DE LA FIEBRE AFTOSA, TIPO A, REPRESENTATIVAS DE SUDAMERICA

A. Alonso Fernández*; M.S. Söndahl*; Ivo Gomes*; P. Augé de Mello*

COMUNICACION PREVIA

En 1976 había en Sudamerica tres subtipos del tipo A del virus de la fiebre aftosa con importancia epidemiológica en el campo. El A₂₄ diseminado en los países del cono sur, el A₂₇ en la parte norte del continente y el A₃₂ en Venezuela (1).

En Brasil, durante ese año, fueron identificadas las cepas A Caçapava (Brasil/76), A Venceslau (Brasil/76) y A Pedregulho (Brasil/76) (2). La primera es serológicamente semejante al A Bagé (Brasil/76) y ambas tienen significación epidemiológica en el estado de Río Grande do Sul. Las dos últimas fueron diagnosticadas en São Paulo pero sólo la A Venceslau es diagnosticada habitualmente en el campo.

Prácticamente todos los países de Sudamérica elaboraron las vacunas inactivadas con virus del subtipo A₂₄ Cruzeiro (Brasil/55), a excepción de Colombia que utiliza el A₂₇ Colombia/67 y Brasil donde el A Bagé y A Venceslau fueron incorporados a la vacuna.

El presente trabajo muestra los resultados de una prueba de inmunidad cruzada en bovinos, realizada entre las cepas representativas del campo y las utilizadas en la producción de vacunas en Sudamérica.

Con las cepas A₂₄ Cruzeiro, A₂₇ Colombia, A₃₂ Venezuela, A Caçapava, A Venceslau y A Pedregulho se prepararon vacunas con adyuvante

oleoso (3), que fueron inoculadas en 11 bovinos mestizos cebú entre 6-12 meses de edad, sin anticuerpos o antecedentes de fiebre aftosa, ni vacunaciones previas. Estos animales fueron mantenidos en establecimientos donde no había habido fiebre aftosa por varios años.

Los resultados de la prueba de seroprotección (4), obtenidos con los sueros de los bovinos a los 120 días después de la vacunación, están expresados en expectativas porcentuales de protección (EPP) (5) en la tabla 1.

Estos resultados muestran que las vacunas de adyuvante oleoso inducen una elevada inmunidad homóloga con todas las cepas estudiadas. Esto mismo puede decirse de las cepas A₂₇ Colombia, A₃₂ Venezuela y A Caçapava con relación a la inmunidad heteróloga. La cepa A₂₄ Cruzeiro tiene una amplia cobertura para todos los virus heterólogos con excepción del A Venceslau. A su vez, la A Venceslau presenta baja cobertura inmunológica frente al A₂₇ Colombia y A Venezuela. La de menor cobertura es la cepa A Pedregulho.

Para interpretar estos resultados debe tenerse en cuenta que las vacunas fueron elaboradas con adyuvante oleoso. Una cobertura heteróloga similar se obtuvo utilizando vacunas oleosas con virus tipo C (6).

Con vacunas de hidróxido de aluminio-saponina se obtuvo una cobertura inmunológica mucho más pobre (Centro Panamericano de Fiebre Aftosa, datos no publicados).

* Centro Panamericano de Fiebre Aftosa, Caixa Postal 589, ZC-00, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

TABLA 1. Expectativa porcentual de protección de bovinos 120 días después de vacunados contra la fiebre aftosa con vacunas de excipiente oleoso y virus tipo A

Virus	Vacunas					
	A ₂₄ Cruzeiro	A ₂₇ Colombia	A ₃₂ Venezuela	A Caçapava	A Venceslau	A Pedregulho
A ₂₄ Cruzeiro	93 ± 14*	97 ± 2	99 ± 1	88 ± 14	88 ± 8	70 ± 13
A ₂₇ Colombia	94 ± 10	99 ± 0	88 ± 6	88 ± 11	75 ± 14	66 ± 15
A ₃₂ Venezuela	93 ± 10	81 ± 11	99 ± 1	83 ± 12	72 ± 11	55 ± 10
A Caçapava	89 ± 12	83 ± 12	83 ± 14	99 ± 0	82 ± 10	82 ± 10
A Venceslau	60 ± 21	87 ± 12	97 ± 2	88 ± 13	98 ± 1	80 ± 7
A Pedregulho	92 ± 10	94 ± 8	85 ± 12	96 ± 5	90 ± 14	93 ± 13

* Intervalo de confianza al 95%.

REFERENCIAS

1. ALONSO FERNANDEZ, A. Types and subtypes of foot-and-mouth disease virus currently found in South America. *Br. vet. J.* 134 (1): 53, 1978.
2. ALONSO FERNANDEZ, A.; SÖNDALH, M.S.; PRADO, J.A.P.; KOTAIT, I.; SOUZA, J.V.L. Comportamiento antigenico entre muestras de producción de vacunas y de campo del virus de la fiebre aftosa, tipo A, aisladas en el sur de Brasil. (Antigenic behaviour of vaccine strains of foot-and-mouth disease virus type A from the South of Brazil). Resúmenes-Abstracts *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 23-24: 67-68, 1976.
3. AUGÉ DE MELLO, P.; ASTUDILLO, V.; GOMES, I.; CAMPOS GARCIA, J.T. Aplicación en el campo de vacuna antiaftosa oleosa e inactivada: Vacunación y revacunación de bovinos jóvenes. (Field application of inactivated oil adjuvanted foot-and-mouth disease virus vaccine: Vaccination and revaccination of young cattle). *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 19-20: 31-38, 39-47, 1975.
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.* 19 (110): 243-267, 1975.
5. GOMES, I.; ASTUDILLO, V. Foot-and-mouth disease: Evaluation of mouse protection test results in relation to cattle immunity. *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 17-18: 9-16, 1975.
6. ALONSO FERNANDEZ, A.; SÖNDALH, M.S.; GOMES, I.; AUGÉ DE MELLO, P. Inmunidad cruzada en bovinos entre varias cepas del virus de la fiebre aftosa tipo C. Comunicación Previa. (Cross immunity of cattle with C strains of foot-and-mouth disease. Preliminary Report.) *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 23-24: 33-35, 1976.

OIL ADJUVANTED VACCINE: IMMUNOLOGICAL COVERAGE OF REPRESENTATIVE STRAINS OF FOOT-AND-MOUTH DISEASE TYPE A VIRUS IN SOUTH AMERICA

A. Alonso Fernández*; M.S. Söndahl*; Ivo Gomes*; P. Augé de Mello*

PRELIMINARY REPORT

In 1976, there were three subtypes of foot-and-mouth (FMD) type A virus which were epidemiologically important in South America. Subtype A₂₄ affected the countries of the southern cone; A₂₇ occurred in the northern part of the continent and A₃₂ in Venezuela (1).

In Brazil, the following strains were identified during 1976: A Caçapava (Brazil/76), A Venceslau (Brazil/76) and A Pedregulho (Brazil/76) (2). The first strain is serologically similar to A Bagé (Brazil/76) and both are of epidemiological importance in the state of Rio Grande do Sul. The latter two strains were first diagnosed in São Paulo but only A Venceslau now occurs regularly in the field.

Practically all South American countries produce vaccine with subtype A₂₄ strain Cruzeiro (Brazil/ 55), with the exception of Colombia where A₂₇ Colombia/67, and Brazil where the A Bagé and A Venceslau were incorporated in the vaccine.

This report shows the results of a cross-immunity test in cattle, using representative field samples as well as those used in vaccine production in South America.

Oil adjuvanted vaccines (3) were prepared with strains A₂₄ Cruzeiro, A₂₇ Colombia, A₃₂

Venezuela, A Caçapava, A Venceslau and A Pedregulho. These vaccines were used to immunize groups of 11 mixed zebu cattle 6-12 months old. These cattle had not been vaccinated previously, were free of FMD virus antibodies and were kept on a farm where for several years FMD had not occurred.

The results of the mouse protection test (4) using sera of these cattle 120 days after vaccination, given in Table 1, are expressed as the expected percentage of protection (EPP) (5).

The results show that the oil adjuvanted vaccine gave satisfactory homologous immune response against all the strains studied. Similar heterologous coverage was obtained with A₂₇ Colombia, A₃₂ Venezuela and A Caçapava. Strain A₂₄ Cruzeiro has a broad coverage for all heterologous viruses with the exception of A Venceslau, which has a low immunological coverage for A₂₇ Colombia and A Venezuela. The poorest results were obtained with A Pedregulho.

In interpreting these results it should be noted that oil adjuvanted vaccines were used. Similar good heterologous coverage was obtained using oil adjuvanted vaccines with type C virus (6).

Less immunological coverage was obtained when aluminum hydroxide-saponin adjuvanted vaccines were used (Pan-American Foot-and-Mouth Disease Center, unpublished data).

* Pan American Foot-and-Mouth Disease Center, Caixa Postal 589, ZC-00, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

TABLE 1. Mean expected percentage of protection of cattle 120 days after vaccination with type A virus oil adjuvanted foot-and-mouth disease vaccines

Virus	Vaccines					
	A ₂₄ Cruzeiro	A ₂₇ Colombia	A ₃₂ Venezuela	A Caçapava	A Venceslau	A Pedregulho
A ₂₄ Cruzeiro	93 ± 14*	97 ± 2	99 ± 1	88 ± 14	88 ± 8	70 ± 13
A ₂₇ Colombia	94 ± 10	99 ± 0	88 ± 6	88 ± 11	75 ± 14	66 ± 15
A ₃₂ Venezuela	93 ± 10	81 ± 11	99 ± 1	83 ± 12	72 ± 11	55 ± 10
A Caçapava	89 ± 12	83 ± 12	83 ± 14	99 ± 0	82 ± 10	82 ± 10
A Venceslau	60 ± 21	87 ± 12	97 ± 2	88 ± 13	98 ± 1	80 ± 7
A Pedregulho	92 ± 10	94 ± 8	85 ± 12	96 ± 5	90 ± 14	93 ± 13

* 95% Confidence interval.

REFERENCES

1. ALONSO FERNANDEZ, A. Types and subtypes of foot-and-mouth disease virus currently found in South America. *Br. vet. J.* 134 (1): 53, 1978.
2. ALONSO FERNANDEZ, A.; SÖNDAHL, M.S.; PRADO, J.A.P.; KOTAIT, I.; SOUZA, J.V.L. Comportamiento antigenico entre muestras de producción de vacunas y de campo del virus de la fiebre aftosa, tipo A, aisladas en el sur de Brasil. (Antigenic behaviour of vaccine strains of foot-and-mouth disease virus type A from the South of Brazil). Resúmenes-Abstracts *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 23-24: 67-68, 1976.
3. AUGÉ DE MELLO, P.; ASTUDILLO, V.; GOMES, I.; CAMPOS GARCIA, J.T. Aplicación en el campo de vacuna antiaftosa oleosa e inactivada: Vacunación y revacunación de bovinos jóvenes. (Field application of inactivated oil adjuvanted foot-and-mouth disease virus vaccine: Vaccination and revaccination of young cattle). *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 19-20: 31-38, 39-47, 1975.
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.* 19 (110): 243-267, 1975.
5. GOMES, I.; ASTUDILLO, V. Foot-and-mouth disease: Evaluation of mouse protection test results in relation to cattle immunity. *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 17-18: 9-16, 1975.
6. ALONSO FERNANDEZ, A.; SÖNDAHL, M.S.; GOMES, I.; AUGÉ DE MELLO, P. Inmunidad cruzada en bovinos entre varias cepas del virus de la fiebre aftosa tipo C. Comunicación Previa. (Cross immunity of cattle with C strains of foot-and-mouth disease. Preliminary Report.) *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 23-24: 33-35, 1976.

resúmenes

abstracts

FORMAN, A.J.

Texto en inglés. *J. Hyg. (Camb.)* 74: 215-225, 1975. (*FMD Bull. Wellcome* 14 (4): 32, 1975). [Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England]

Comparación de algunos métodos inmunológicos para la diferenciación de cepas del virus aftoso

Se dan los resultados de pruebas comparativas efectuadas con dos cepas del virus aftoso (A 6003 y A 6900), que habían sido previamente diferenciadas mediante la prueba de fijación del complemento, para demostrar diferencias mediante pruebas de seroneutralización cinética, mediante las pruebas de microneutralización y de protección cruzada en cobayo. En las pruebas de protección en cobayo utilizando vacunas purificadas elaboradas con las dos cepas, valores 'r' de 0,33 (A 6003) y 0,36 (A 6900) fueron obtenidos y la relación de la protección cruzada, R(PC), fue del 34%. En las pruebas de seroneutralización cinética con antisueros contra la A 6003 y contra la A 6900, los valores medios para 'r' fueron 0,37 (antisuero contra A 6003) y 0,56 (antisuero contra A 6900). La relación de la neutralización cinética, R(NC), fue de 46%. En la prueba de microneutralización, los valores medios para 'r' fueron de 0,36 (antisuero contra la A 6003) y 0,27 (antisuero contra la A 6900). La relación de neutralización cruzada, R(R), fue de 32%. Se concluyó que todas estas pruebas eran capaces de diferenciar las cepas de los virus aftos. El hecho de que diferencias similares fueron encontradas mediante todos los métodos sugirió que, las comparaciones hechas mediante la fijación del complemento cruzada, neutralización cruzada o protección cruzada, involucraban la medición de las mismas acciones recíprocas de antígeno/anticuerpo.

A comparison of some immunological methods for the differentiation of strains of foot-and-mouth disease virus

The results are given of comparative tests carried out with two strains of foot-and-mouth disease (FMD) virus (A 6003 and A 6900), which had previously been differentiated by complement fixation test, to demonstrate differences by kinetic serum neutralization tests, by micro-neutralization tests and by a guinea pig cross-protection test. In guinea pig protection tests using purified vaccines made from the two strains, 'r' values of 0.33 (A 6003) and 0.36 (A 6900) were obtained and the cross-protection relationship, R(CP), was 34%. In kinetic serum neutralization tests with antisera to A 6003 and to A 6900, mean values for 'r' were 0.37 (A 6003 antiserum) and 0.56 (A 6900 antiserum). The kinetic neutralization relationship, R(KN), was 46%. In the micro-neutralization test, mean values for 'r' were 0.36 (A 6003 antiserum) and 0.27 (A 6900 antiserum). The cross-neutralization relationship, R(MN) was 32%. It was concluded that these tests were all capable of FMD virus strain differentiation. The fact that similar differences were found by all methods suggested that comparisons made by cross-complement fixation, cross-neutralization or cross-protection involved measurement of the same antigen/antibody interactions.

FORMAN, A.J.

Texto en inglés. *J. Hyg. (Camb.)* 74: 227-232, 1975. (*FMD Bull. Wellcome* 14 (4): 32-33, 1975).

[Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England]

La clasificación del subtipo de cepas del virus aftoso

Se presentan resultados de un gran número de pruebas de fijación del complemento cruzada, efectuadas entre las cepas de un tipo para obtener una indicación del carácter y grado de variación antigenica dentro de un tipo. Se emplearon dieciséis cepas del tipo SAT 1, incluyendo una de cada subtipo de acuerdo con la clasificación del Laboratorio Mundial de Referencia. La serie de valores R obtenidos fue amplia, sugiriendo una gradación continua desde una identidad virtual (96%) hasta 2% o menor. No hubo un patrón claro de variación, desde que las cepas que estaban más separadas geográficamente, o en período de aislamiento, no eran necesariamente aquellas que mostraban las diferencias más grandes. No hubo ninguna indicación de que las cepas podían ser fácil y exclusivamente clasificadas en grupos de cepas más estrechamente relacionadas. Mediante la consideración de las cepas estudiadas, se sugirió que la clasificación de éstas podría ser mejor lograda nominando una cepa de referencia para cada subtipo. Otras, serían clasificadas como cepas relacionadas en uno o más grupos de subtipos, de acuerdo con sus relaciones con la cepa de referencia.

The subtype classification of strains of foot-and-mouth disease virus

Results are presented of a large number of cross-complement fixation tests carried out between strains of one type to obtain an indication of the character and the range of antigenic variation within a type. Sixteen strains of type SAT 1 were used, including one of each subtype as classified by the World Reference Laboratory. The range of R values obtained was large and suggested a continuous gradation from virtual identity (96%) to 2% or less. There was no clear pattern of variation, in that strains which were furthest apart geographically or in time of isolation were not necessarily those showing the greatest differences. There was no indication that the strains could be readily classified exclusively into groups of more closely related strains. By consideration of the strains studied, it was suggested that the classification of strains might best be achieved by nominating a reference strain for each subtype. Others would be classified as related strains in one or more subtype groups according to their relationships with the reference strain.

GORREAU, J.M.; DHENNIN, L.; LABIE, J.

Texto en francés. *Recl. Méd. Vét. (Alfort)* 151 (2): 85-89, 1975. (*FMD Bull. Wellcome* 14 (5): 47, 1975). [Laboratoire Central de Recherches Vétérinaires, 22 rue Pierre-Curie, 94700 Maisons-Alfort, France]

Vacuna inactivada contra la enfermedad vesicular del cerdo

Se prepararon vacunas empleando dos cepas de campo del virus de la enfermedad vesicular del cerdo. La primera cepa era de baja patogenicidad para el cerdo, la segunda, era sumamente patogénica. Ambos virus fueron propagados en células IB-RS-2 en frascos Roux de 1L. Las vacunas fueron inactivadas empleando 0,64% de betapropiolactona por 12 horas a 4° C. Un adyuvante de emulsión oleosa (Adyuvante 65) fue agregado a la

An inactivated vaccine against swine vesicular disease.

Vaccines were prepared using two field strains of swine vesicular disease virus. The first strain was of low pathogenicity for the pig, the second was extremely pathogenic. Both viruses were grown in IB-RS-2 cells in 1L Roux bottles. The vaccines were inactivated using 0.64% beta-propiolactone for 12 hours at 4° C. An oil emulsion adjuvant (Adjuvant 65) was added to the inactivated virus suspension. The vaccines were used to

suspensión viral inactivada. Las vacunas fueron empleadas para inocular grupos de cerdos por la vía intramuscular en el cuello, en dosis que variaban entre 0,5 ml a 4,0 ml. Los experimentos de exposición indicaron que la inmunidad se producía entre el sexto y octavo día de la vacunación. Títulos de anticuerpos serológicos, antes de la exposición fluctuaban de 1:256 a 1:1024. Se observó que estos anticuerpos no podían ser detectados mediante inmunofluorescencia, en contraste con los anticuerpos que se formaron después de la enfermedad clínica. Niveles significativos de anticuerpos (1:256) podían ser detectados aún, mediante la prueba de seroneutralización a los seis meses de postvacunación. Los cerdos vacunados por la vía subcutánea no resistieron la exposición, así como tampoco los cerdos a los que se administró la vacuna sin el adyuvante oleoso.

inoculate groups of pigs intramuscularly in the neck in doses ranging from 0.5 ml to 4.0 ml. Challenge experiments indicated that immunity developed between six and eight days following vaccination. Serum antibody titers prior to challenge ranged from 1:256 to 1:1024. It was noted that these antibodies could not be detected by immunofluorescence, in contrast to the antibodies which developed after clinical disease. Significant levels of antibody (1:256) could still be detected by serum neutralizations test at six months post-vaccination. Pigs vaccinated by the subcutaneous route failed to resist challenge as did pigs given vaccine without the oil adjuvant.

bibliografía sobre enfermedades vesiculares**vesicular diseases bibliography****KEAY, L.**

Medios de cultivo celulares libres de suero, autoclavables y de bajo costo. Desarrollo de células L y BHK en peptonas. *Texto en inglés.* (Autoclavable low cost serum-free cell culture media. The growth of L cells and BHK cells on peptones). *Biotech. Bioeng.* 17 (5): 745-764, 1975. (*FMD Bull. Wellcome* 14 (7): 64, 1975). [Dept. Microbiology, Washington University, St. Louis, Missouri 63110, USA]

MACKENZIE, J.S.

Virulencia de los mutantes termo-sensibles del virus aftoso. *Texto en inglés.* (Virulence of temperature-sensitive mutants of foot and mouth disease virus). *Arch. Virol.* 48 (1): 1-8, 1975. (*FMD Bull. Wellcome* 14 (7): 63, 1975). [Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England]

SYUSYUKIN, A.A.; TSVETKOVA, N.E.; EFIMOV, N.I.; SERODZHEV, A. T.; SHVETSOVA, P.B.; ZYRIANOVA, N.I.

Cultivo del virus aftoso en células continuas de riñón porcino. *Texto en ruso.* (Culture of foot and mouth disease virus in continuous pig kidney cells). *Veterinariya* (Moscow) 1: 33-35, 1975. (*FMD Bull. Wellcome* 14 (5): 45, 1975).

SYUSYUKIN, A.A.; URVANTSEV, N.M.; SERGEEV, V.A.; PROKHOROV, V.V.; ZHOKHOVA, T.I.; TSVETKOVA, N.E.

Preparación y prueba de las cepas A₂₂ atenuadas del virus aftoso en relación a su inmunogenicidad. *Texto en ruso.* (Preparation and testing of attenuated A₂₂ strains of foot and mouth disease virus in relation to their immunogenicity). *Sel'skokhoz. Biol.* 9 (6): 912-916, 1974. (*FMD Bull. Wellcome* 14 (7): 62, 1975).

STAPLE, R.F.

Eliminación de la acetiletileneimina de suspensiones del virus aftoso inactivado. *Texto en inglés.* (Removal of acetyleneimine from suspensions of inactivated foot-and-mouth disease virus). *Lab. Pract.* 24: 404-406, 1975. (*FMD Bull. Wellcome* 14 (7): 60-61, 1975). [Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England]

WISNIEWSKI, J.; KOBUSIEWICZ, T.; SZKILNIK, S.; BARONOWSKI, C.; JANKOWSKA, J.; LABECKA, W.

Evaluación de las vacunas antiaftosas en términos de los valores de DP₅₀. *Texto en polaco.* (Evaluation of foot and mouth disease vaccines in terms of PD₅₀ values). *Medycyna Wet.* 30 (3): 142-145, 1974. (*FMD Bull. Wellcome* 14 (1): 2, 1975).

informaciones

news

Décimo Congreso Mundial de Buiatría

El Dr. Fernando Hidalgo Terán, Secretario de la Comisión Organizadora del X Congreso Mundial de Buiatría nos ha solicitado la publicación en este Boletín del anuncio siguiente:

"Décimo Congreso Mundial de Buiatría, organizado por la Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos. Agosto 16-19, 1978, Unidad de Congresos del "IMSS" México, D.F. Los temas a tratar son: Reproducción; Problemas de producción del ganado lechero; Mastitis; Producción de carne y de leche en el trópico (Limitantes y soluciones); Nutrición y Temas Libres. Habrá traducción simultánea (Español, Inglés, Alemán y Francés). Dr. Jorge Avila García, Morelos 20 Desp. 707, México 1, D.F. (Méjico)".

Tenth World Congress of Buiatrics

Dr. Fernando Hidalgo Terán, Secretary, Organizing Committee, X World Congress of Buiatrics, has requested that the following be announced to Boletín readers:

"Tenth World Congress of Buiatrics, organized by the Mexican Association of Veterinarians Specialized in Cattle, August 16-19, 1978. Conference Unit of the "IMSS", Mexico City, D.F. Topics: Reproduction, Problems of Dairy Cattle Production, Mastitis, Beef and Dairy Production in the Tropics (Limiting Factors and Solutions), Nutrition, and Open Discussions. Simultaneous translations will be available (Spanish, English, German and French). Dr. Jorge Avila García, Morelos 20 Desp. 707, Mexico 1, D.F., Mexico".

Sextas Jornadas Internacionales de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata

La Universidad Nacional de La Plata está organizando las SEXTAS JORNADAS INTERNACIONALES de la FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS que tendrán lugar en dicha Facultad del 5 al 11 de noviembre de 1978. - El temario abarca los siguientes capítulos: Higiene de los Alimentos; Microbiología y Parasitología Veterinaria; Patología y Clínica Veterinaria; Producción Animal, Reproducción Animal y Comunicaciones libres. Del 13 al 15 de noviembre habrá una reunión complementaria sobre educación veterinaria.

El Dr. Emilio J. Gimeno es el Presidente de la Comisión Organizadora y el Dr. R. Pérez Azurmendi es el Secretario. La dirección es Av. 60 y 118; (1900) La Plata, Argentina.

VI International Meeting of the School of Veterinary Sciences, the National University of La Plata.

The National University of La Plata will hold its VI INTERNATIONAL MEETING of the SCHOOL OF VETERINARY SCIENCES, 5-11 November 1978. Topics will include Food Health; Veterinary Microbiology and Parasitology; Veterinary Pathology and Diagnostics; Animal Production, Animal Reproduction, and open discussions. A complementary meeting on veterinary education will take place 13-15 November.

Dr. Emilio J. Gimeno is chairman of the organizing committee, and Dr. R. Pérez Azurmendi its secretary. The committee's address is Av. 60 y 118; (1900) La Plata, Argentina.

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

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

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

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

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

Trabajo de revisión: Formato flexible.

INSTRUCCIONES A LOS AUTORES

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

COMITE EDITORIAL

Dr. Paul Sutmöller, Jefe de los Laboratorios
Dr. Roberto Goić, Jefe de Asesoría de Campo
Dr. Horacio Mónaco, Jefe de Adiestramiento e Información
Srta. Patricia Chain, Oficial de Comunicaciones

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

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

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

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

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

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

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

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

EDITORIAL COMMITTEE

Dr. Paul Sutmöller, Chief of Laboratories
Dr. Roberto Goić, Chief of Field Services
Dr. Horacio Mónaco, Chief of Training and Information
Ms. Patricia Chain, Communications Officer