

---

# BOLETIN

del centro panamericano  
de fiebre aftosa

---

Nºs 23-24, julio-diciembre, 1976.  
Nos. 23-24, July-December, 1976.

contenido

contents

	p.
<i>In memoriam, Dr. Joaquín de Freitas</i> .....	1
Respuesta inmunitaria en bovinos vacunados con vacunas antiaftosas inactivadas, producidas con 5 cepas del subtipo O <sub>1</sub>	
Immune response of cattle after vaccination with inactivated foot-and-mouth disease vaccine of 5 strains of subtype O <sub>1</sub> .....	3
<i>Daniel Abaracón; Ivo Gomes</i>	
Relaciones serológicas e inmunológicas entre algunas cepas de subtipos del virus de la fiebre aftosa	
Serological and immunological relationship of some strains of foot-and-mouth disease virus subtypes .....	11
<i>Ivo Gomes; P. Augé de Mello; A. Alonso Fernández</i>	
Costo de la vacunación antiaftosa en Paraguay	
The cost of foot-and-mouth disease vaccination in Paraguay .....	17
<i>Vicente M. Astudillo; María T. de Gauto; Melba Wanderley; Blanca Caballero</i>	

	p.
Precisión de la prueba de seroprotección en la evaluación del nivel de anticuerpos de fiebre aftosa	
Precision of the mouse protection test in evaluating foot-and-mouth disease antibody levels .....	25
<i>Vicente M. Astudillo; Ivo Gomes; Melba Wanderley</i>	
Inmunidad cruzada en bovinos entre varias cepas del virus de la fiebre aftosa tipo C	
Cross immunity of cattle with type C strains of foot-and-mouth disease virus .....	33
<i>A. Alonso Fernández; Magnus Stael Söndahl; Ivo Gomes; P. Augé de Mello</i>	
Una vacuna mixta para el cerdo. Una ayuda para el control de la fiebre aftosa y de la enfermedad vesicular del cerdo	
A mixed vaccine for swine. An aid for control of foot-and-mouth and swine vesicular diseases .....	37
<i>P.D. McKercher; H.H. Graves</i>	
Observaciones sobre el riesgo de ocurrencia de fiebre aftosa	
Observations on the risk of occurrence of foot-and-mouth disease .....	51
<i>Hernán Málaga; Melba Wanderley; H. de la Canal; V. Saraiva; R. Azeredo; A Peleteiro; F. Dora; J.C. Coelho; W. Santos; C. Remigio</i>	
Resúmenes - Abstracts .....	67
Bibliografía sobre enfermedades vesiculares	
Vesicular disease bibliography .....	75

## JOAQUIN DE FREITAS



En momentos de estar en prensa este número del BOLETIN recibimos la infausta noticia del fallecimiento de Joaquín de Freitas ocurrido el 22 de junio de 1977 y nos apresuramos a rendir un justiciero homenaje a la memoria de quien, hasta ayer, fuera distinguido funcionario de la Organización Panamericana de la Salud y dilecto amigo de cuantos tuvieron oportunidad de conocerlo y de tratarlo.

Graduado de médico veterinario en 1941 - contaba a la sazón 23 años - ingresó al Ministerio de Agricultura de Uruguay para desarrollar lo que habría de ser una brillante carrera de 30 años de valiosos servicios prestados a su país.

Forjado en la escuela de insignes maestros de la profesión veterinaria de Uruguay y de América como Rubino, Tortorella y Freire Muñoz, de Freitas recibió en el Instituto de Biología Animal una sólida formación profesional, pero junto con ella adquirió una dimensión espiritual cuyos rasgos constituyeron durante toda su vida caracteres esenciales de su personalidad: sinceridad consigo mismo y con los demás, celo de su quehacer, conciencia de su responsabilidad, comprensión de las opiniones ajenas, tolerancia en las situaciones difíciles, virtudes todas que se amalgamaban bajo el común denominador de servir y de brindar todo aquello que había recibido de sus mayores, aquilatado con el fruto de su experiencia, de su sano criterio, de su inteligencia preclara.

Fue un destacado investigador. Trabajó primero con Rubino y Tortorella en investigaciones sobre virus vivo modificado de la fiebre aftosa, posteriormente con Tortorella y Freire Muñoz dio los primeros pasos para la preparación de la vacuna de Waldmann en el Uruguay. También realizó investigaciones en influenza porcina, peste porcina y otras enfermedades infecciosas. La vastedad de sus conocimientos, la ponderación y la serenidad de su juicio lo llevaron a ocupar sucesivamente los cargos de Jefe de Servicio de Fiebre Aftosa y otras Enfermedades Virales, Asesor Técnico del

Ministerio de Agricultura y Ganadería y Director del Centro de Investigaciones Veterinarias Miguel C. Rubino.

Al crearse la Dirección de Lucha contra la Fiebre Aftosa en el Uruguay fue designado Director, lo que le brindó la oportunidad de organizar el programa de control de esa enfermedad en su país e imprimir al naciente organismo los rasgos de su personalidad y su mística de trabajo, pilares en que se fundamentan su actual relieve y jerarquía.

La Organización Panamericana de la Salud lo incorporó a sus filas en 1970 designándolo para brindar los frutos de su experiencia a la naciente campaña antiaftosa de Paraguay, donde aportó su trabajo serio, tesonero y constante. A partir de 1974 fue transferido a Porto Alegre, para prestar su concurso en el programa de Salud Animal de Rio Grande do Sul, Brasil. Tampoco allí conoció el desfallecimiento o el descanso. Conviviendo día y noche con la responsabilidad y el sentido del deber, la muerte lo sorprendió en un viaje de trabajo.

Pero todas estas cualidades puestas al servicio de su profesión y sus funciones, aún siendo excepcionales, palidecen frente a la perspectiva de su personalidad humana. Su figura física grande, recia y viril encerraba un alma de una bondad y una ternura propias de quien sólo alberga en su corazón los más puros y nobles sentimientos. Su enfoque alegre de la vida y de las cosas, su memoria prodigiosa, su locuacidad, el modo con que movía los personajes de sus anécdotas y sus cuentos hacían de él una persona de trato cautivante.

Con el fallecimiento de Joaquín de Freitas la Organización Panamericana de la Salud ha perdido un funcionario ejemplar y quienes disfrutaron del privilegio de conocerlo en su exacta dimensión humana han perdido un amigo inmejorable cuyo recuerdo habrá de perdurar como un ejemplo de quienes hacen de la hombría de bien una norma invariable de conducta a lo largo de toda su vida.

El Centro Panamericano de Fiebre Aftosa y el Centro Panamericano de Zoonosis rinden un sentido homenaje a su memoria.

RESPUESTA INMUNITARIA EN BOVINOS VACUNADOS CON VACUNAS  
ANTIAFTOSA INACTIVADAS, PRODUCIDAS  
CON 5 CEPAS DEL SUBTIPO O<sub>1</sub>

IMMUNE RESPONSE OF CATTLE AFTER VACCINATION WITH INACTIVATED  
FOOT-AND-MOUTH DISEASE VACCINE OF 5 STRAINS OF SUBTYPE O<sub>1</sub>

D. Abaracón\*, I. Gomes\*

INTRODUCCION

En 1971 se propagó en el sur del Brasil una onda epizootica de fiebre aftosa causada por la cepa O<sub>1</sub> Brasil/70, afectando también bovinos vacunados. La mayoría de las vacunas empleadas entonces eran elaboradas con la cepa de virus O<sub>1</sub> Campos, Brasil/1955.

El objetivo de este trabajo fue el estudio comparativo de vacunas elaboradas con diferentes cepas del virus subtipo O<sub>1</sub> de la fiebre aftosa que actúan en América del Sur y en particular, frente al virus denominado O<sub>1</sub> Brasil/70.

MATERIAL Y METODOS

*Cepas de virus*

Para la preparación de las vacunas experimentales fueron usadas las siguientes cepas de virus:

- a) O<sub>1</sub> Campos (Campos, Estado de Rio de Janeiro, Brasil, 1955).
- b) O<sub>1</sub> Brasil/70 (Bagé, Estado de Rio Grande do Sul, Brasil, 1970).

INTRODUCTION

In 1971 an epizootic of foot-and-mouth disease (FMD) of subtype O<sub>1</sub> strain Brazil/70 spread through the south of Brazil which also affected vaccinated cattle. Most vaccines used at the time were produced with O<sub>1</sub> strain Campos, Brazil/1955.

The objective of the present study was to make a comparative study of vaccines with different O<sub>1</sub> subtype strains occurring in South America to determine if this would give protection against O<sub>1</sub> Brazil/70.

MATERIALS AND METHODS

*Virus strains*

For experimental vaccine production the following virus strains were used:

- a) O<sub>1</sub> Campos (state of Rio de Janeiro, Brazil, 1955).
- b) O<sub>1</sub> Brazil/70 (Bagé, State of Rio Grande do Sul, Brazil, 1970).

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

c) O<sub>1</sub> Caseros (Caseros, Santa Fe, República Argentina, 1967) usada en Argentina para la producción de vacunas.

d) O<sub>1</sub> Urubamba (Perú 1963) usada en Perú y Ecuador para la producción de vacunas.

e) O<sub>1</sub> Pacheco (Florida, Uruguay, 1962) usada en Uruguay para la producción de vacunas.

#### *Antígenos*

Todos los cultivos de células BHK-21 se produjeron con una misma semilla de células en botellas de Roux. En el momento de la inoculación de los virus cada botella contenía entre 80 y 90 millones de células. Se empleó el medio de MacPherson & Stoker (1) con 10% de suero bovino como medio de crecimiento.

Para cada virus se utilizaron cinco botellas de Roux. Se agregó 90 ml de medio de manutención sin suero, de tal forma que a cada mililitro correspondiese aproximadamente  $10^{6,0}$  células de la monocamada celular. Los cultivos fueron cosechados después de observar el efecto citopático completo, lo que ocurrió entre las 20 y 26 horas postinfección.

Las suspensiones víricas fueron inactivadas con acetiletileimine (AEI) al 0,05% durante 24 horas a 37° C (2 y 3).

#### *Adyuvantes*

Hidróxido de aluminio: Se utilizó una suspensión coloidal de hidróxido de aluminio, ajustada a una concentración de 2% de Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.

Saponina\*: Se preparó en solución acuosa al 5% y se ajustó el pH a 8,0 con buffer glicocólica.

c) O<sub>1</sub> Caseros (Santa Fe, Republic of Argentina, 1967) used for vaccine production in Argentina.

d) O<sub>1</sub> Urubamba (Peru, 1963) used for vaccine production in Peru and Ecuador.

e) O<sub>1</sub> Pacheco (Uruguay, 1962) used for vaccine production in Uruguay.

#### *Antigens*

All BHK-21 cell cultures used were produced from the same cell stock, grown in Roux bottles. The cultures contained 80-90 million cells at the time of use. The growth medium was McPherson & Stoker (1) with 10% bovine serum.

Five culture bottles were inoculated with each of the virus stocks. A volume of 90 ml maintenance medium without serum was added. The cultures were harvested when cytopathic effect was observed, 20-26 hours after infection.

The virus suspensions were inactivated with 0.05% acetyl-ethyleneimine (AEI) for 24 hours at 37° C (2, 3).

#### *Adjuvants*

Aluminum hydroxide: a colloid suspension of aluminum hydroxide was used at a concentration adjusted to 2% Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.

Saponin\*: a 5% aqueous solution was prepared and the pH adjusted to 8.0 with glycol buffer.

#### *Vaccines*

Of the inactivated virus suspension, 750 ml were mixed with 250 ml of the aluminum hydroxide suspension. This mixture was

\* Partida PQ 7, 7/7/69 obtenida de Food Industries Ltd. 89/93 New Zealand Ave. Walton on Thames, Surrey, England.

### *Vacunas*

Se mezclaron 750 ml de la suspensión de virus inactivado y 250 ml de hidróxido de aluminio. Esta mezcla se agitó durante 2 horas a 4° C y luego se dejó en reposo durante 48 horas para permitir la sedimentación del Al (OH)<sub>3</sub>. Entonces se retiró el líquido sobrenadante en la cantidad necesaria para que, después de agregar glicerina, saponina y mertiolate, cada dosis monovalente de 2,5 ml tuviese 3,75 ml de la suspensión vírica original, 1,25 ml de hidróxido de aluminio, 5% de glicerina neutra, 0,1% de saponina y 1:30.000 de mertiolate.

### *Bovinos*

Se usó un lote de 48 novillos de raza Hereford, de 18 a 20 meses de edad, con un peso medio de 250 kg. Estos animales nunca habían sido vacunados y fueron criados y mantenidos en un establecimiento sin ocurrencia de fiebre aftosa por más de 8 años. Durante todo el experimento los animales fueron mantenidos en el establecimiento de origen. El día de la vacunación los bovinos fueron sorteados para formar cinco grupos. Dos grupos de 12 bovinos cada uno recibieron, respectivamente, las vacunas elaboradas con los virus O<sub>1</sub> Campos y O<sub>1</sub> Brasil/70. Las otras tres vacunas se probaron en grupos de 8 bovinos.

### *Vacunación*

A cada bovino se le aplicó 2,5 ml de vacuna por vía subcutánea, 90 días después se revacunaron con la misma vacuna los grupos vacunados con O<sub>1</sub> Campos y O<sub>1</sub> Pacheco.

shaken for 2 hours at 4° C. After 48 hours of sedimentation sufficient supernatant fluid was removed so that after addition of glycerin, saponin and merthiolate, each monovalent dose of 2.5 ml contained the equivalent of 3.75 ml of the original virus suspension. Each dose also contained 1.25 ml of aluminum hydroxide suspension, 5% neutral glycerin, 0.1% saponin and 1:30,000 merthiolate.

### *Cattle*

A total of 48 Hereford cattle 18-20 months old weighing an average of 250 kg were used. These cattle had never been vaccinated and were raised and maintained on a farm where FMD had not occurred for 8 years. During the experiment the animals remained on the farm. On the day of vaccination the cattle were randomly divided into 5 groups. Two groups of 12 cattle each were vaccinated with O<sub>1</sub> Campos and O<sub>1</sub> Brazil/70 vaccines, respectively. The other 3 vaccines were tested on 3 groups of 8 cattle each.

### *Vaccination*

Cattle were vaccinated subcutaneously with 2.5 ml of vaccine. At 90 days cattle groups vaccinated with O<sub>1</sub> Campos and O<sub>1</sub> Pacheco were revaccinated with the same vaccine.

### *Antibody assay*

Sera were collected at 0, 21 and 90 days post-vaccination (DPV) and also at 90 days post-revaccination. The mouse protection test (4) was used to determine immune response of

*Prueba de anticuerpos*

Se colectó suero a los 0,21 y 90 días postvacunación (DPV) y a los 90 días después de la revacunación. La respuesta inmunitaria de los bovinos se midió con la prueba de protección en ratones (4) y los resultados se expresaron como los porcentajes de expectativa de protección (PEP) (5).

the cattle and results expressed as the expected percentages of protection (EPP) (5).

## RESULTADOS

La Tabla 1 muestra los títulos de fijación de complemento y de infecciosidad de las suspensiones víricas.

## RESULTS

Table 1 shows complement fixation titers as well as infectivity titers of the virus suspensions.

TABLA 1: *Títulos de fijación del complemento y infectividad de las cepas de virus usadas en la producción de las vacunas*

TABLE 1: *Complement fixation and infectivity titers of FMD virus strains used for the production of the experimental vaccines*

Cepa/strain	FC*/CF*	Título/titer**
O <sub>1</sub> Campos	1/20	7,2
O <sub>1</sub> Urubamba	1/8	7,6
O <sub>1</sub> Caseros	1/11	8,1
O <sub>1</sub> Pacheco	1/15	7,0
O <sub>1</sub> Brasil/70	1/12,5	6,9

\* Fijación del complemento 90 minutos con 3 unidades de complemento.

\* Complement fixation at 90 minutes with 3 units of complement.

\*\* Log<sub>10</sub> ID<sub>50</sub> en cultivo celular/ml.

\*\* Log<sub>10</sub> cell culture ID<sub>50</sub>/ml.

La Tabla 2 muestra el PEP de los virus homólogos 21 días postvacunación (DPV). Se observa sólo una pequeña diferencia entre los virus. A los 90 DPV los niveles de anticuerpos

The EPP are listed in Table 2. At 21 DPV all strains protected well against the homologous virus, but at 90 DPV protection decreased considerably. The vaccine O<sub>1</sub> Campos



bajaron considerablemente, observándose para la vacuna O<sub>1</sub> Campos un PEP de 56%, seguida por la vacuna O<sub>1</sub> Pacheco con 44%. Con respecto a las vacunas O<sub>1</sub> Urubamba, O<sub>1</sub> Caseros y O<sub>1</sub> Brasil/70 los PEP fueron inferiores. En relación a la respuesta inmunológica frente a la cepa heteróloga O<sub>1</sub> Brasil/70, todas las muestras en estudio presentaron PEP bastante elevados a los 21 DPV. Sin embargo, a los 90 días esos valores cayeron significativamente y sólo la vacuna de virus O<sub>1</sub> Campos alcanzó valores de PEP de 49%.

produced an EPP of 56% followed by vaccine O<sub>1</sub> Pacheco with 44%. The EPP of the other vaccine, O<sub>1</sub> Urubamba, O<sub>1</sub> Caseros and O<sub>1</sub> Brazil/70, were lower. All strains produced high levels of protection against the O<sub>1</sub> Brazil/70 at 21 DPV. However by 90 DPV the EPP values had decreased considerably and only the vaccines with strain O<sub>1</sub> Campos gave some degree of residual protection (EPP 49%).

TABLE 2: *Porcentaje de expectativa de protección de bovinos vacunados con vacunas del subtipo O<sub>1</sub>, frente a la cepa homóloga de producción y la cepa O<sub>1</sub> Brasil/70, a los 21 y 90 días postvacunación*

TABLE 2: *Expected percentage of protection of cattle vaccinated with vaccines of subtype O<sub>1</sub> against the homologous production strain and strain O<sub>1</sub> Brazil/70 at 21 and 90 days post-vaccination*

Vacunas/Vaccines	Cepa/Strain			
	Homóloga/Homologous		O <sub>1</sub> Brasil/70	
	21 DPV*	90 DPV	21 DPV	90 DPV
O <sub>1</sub> Campos	100	56	98	49
O <sub>1</sub> Urubamba	94	32	95	14
O <sub>1</sub> Caseros	84	32	82	12
O <sub>1</sub> Pacheco	99	44	100	29
O <sub>1</sub> Brasil/70			88	25

\* Días postvacunación/Days post-vaccination.

En vista de los resultados más promisorios encontrados con las cepas O<sub>1</sub> Campos y O<sub>1</sub> Pacheco, fue de interés conocer los PEP que las vacunas producidas con estos virus podrían presen-

In view of the more promising results obtained with the vaccine of strains O<sub>1</sub> Campos and Pacheco, the 21 DPV sera of these vaccines were also tested against the other O<sub>1</sub> strains.

tar frente a las demás cepas en estudio, además de la cepa O<sub>1</sub> Brasil/70. Como se puede observar en la Tabla 3, la amplitud de la cobertura inmunológica fue excelente también para las cepas O<sub>1</sub> Caseros y Urubamba.

Como se puede observar en la Tabla 4, en la revacunación a los 90 días, la cepa O<sub>1</sub> Campos presentó un PEP superior a 80% frente a si misma, a la cepa O<sub>1</sub> Pacheco y a la O<sub>1</sub> Brasil/70, mientras que la O<sub>1</sub> Pacheco presentó resultados satisfactorios frente a la O<sub>1</sub> Brasil/70, pero fue inferior cuando enfrentada a si misma y a la cepa O<sub>1</sub> Campos.

As shown in Table 3 both vaccines also gave excellent immunological coverage for strains O<sub>1</sub> Caseros and Urubamba.

As can be seen from Table 4, at 90 days after revaccination strain O<sub>1</sub> Campos produced a mean EPP of more than 80% for the homologous virus as well as for strains O<sub>1</sub> Pacheco and Brazil/70. The vaccine with strain O<sub>1</sub> Pacheco gave satisfactory results against O<sub>1</sub> Brazil/70 but was inferior when tested against the homologous virus and O<sub>1</sub> Campos.

TABLA 3: *Porcentaje de expectativa de protección de bovinos vacunados con vacunas producidas con las cepas O<sub>1</sub> Campos y O<sub>1</sub> Pacheco frente a los virus O<sub>1</sub> Caseros y O<sub>1</sub> Urubamba, a los 21 días postvacunación*

TABLE 3: *Expected percentage of protection of cattle vaccinated with vaccines produced with strains O<sub>1</sub> Campos and O<sub>1</sub> Pacheco against strain O<sub>1</sub> Caseros and O<sub>1</sub> Urubamba at 21 days post-vaccination*

Vacunas/Vaccines	V i r u s	
	O <sub>1</sub> Caseros	O <sub>1</sub> Urubamba
O <sub>1</sub> Campos	100	89
O <sub>1</sub> Pacheco	98	95

TABLA 4: *Porcentaje de expectativa de protección de bovinos 90 días después de la revacunación con vacunas de las cepas O<sub>1</sub> Campos y O<sub>1</sub> Pacheco, frente a las cepas homólogas y O<sub>1</sub> Brasil/70*

TABLE 4: *Expected percentage of protection of cattle 90 days after revaccination with vaccine produced with strains O<sub>1</sub> Campos and O<sub>1</sub> Pacheco against the homologous strain and O<sub>1</sub> Brazil/70*

Vacunas/Vaccines	V i r u s		
	O <sub>1</sub> Campos	O <sub>1</sub> Pacheco	O <sub>1</sub> Brasil/70
O <sub>1</sub> Campos	81	87	96
O <sub>1</sub> Pacheco	53	64	83

## DISCUSION Y CONCLUSIONES

A los 21 días todas las vacunas, menos la preparada con O<sub>1</sub> Caseros, protegieron bien frente a los respectivos virus homólogos y a la cepa O<sub>1</sub> Brasil/70. Esas vacunas también fueron mejores que la vacuna O<sub>1</sub> Brasil/70.

A los 90 DPV, la cepa O<sub>1</sub> Campos dio una protección satisfactoria contra el virus O<sub>1</sub> Brasil/70 y asimismo, una protección excelente 90 días después de la revacunación.

En este tipo de experimento, es importante notar, que la prolongación del período de observación por 90 días después de la vacunación o de la revacunación, permite una diferenciación más clara entre las respuestas inmunitarias provocadas por las distintas cepas en estudio.

Puede concluirse que vacunas producidas con la cepa O<sub>1</sub> Campos darían en los bovinos una respuesta inmunitaria aceptable contra la cepa O<sub>1</sub> Brasil/70, causante del brote de 1971 y que no había ventaja en usar la cepa Brasil/70 en lugar de O<sub>1</sub> Campos.

## DISCUSSION AND CONCLUSIONS

At 21 DPV all vaccines except that prepared with O<sub>1</sub> Caseros protected well against the homologous virus and strain O<sub>1</sub> Brazil/70. These vaccines were also superior to that produced with O<sub>1</sub> Brazil/70.

At 90 DPV strain O<sub>1</sub> Campos gave satisfactory protection against O<sub>1</sub> Brazil/70 and excellent protection at 90 days after revaccination.

It is important to note that, in this type of experiment, extending the observation period to 90 days after vaccination or revaccination allows for a clearer differentiation among immune responses produced by the various strains under study.

It can be concluded that vaccines produced with strain O<sub>1</sub> Campos would give an acceptable immune response in cattle against strain O<sub>1</sub> Brazil/70 which caused the outbreak in 1971; there would thus be no advantage in using strain Brazil/70 instead of O<sub>1</sub> Campos.

## REFERENCIAS - REFERENCES

1. STOKER, M.; MACPHERSON, I. Syrian hamster fibroblast cell line BHK-21 and its derivatives. *Nature* 203: 1355-1357, 1964.
2. BROWN, F.; ERICK, J. Application of agar-gel diffusion analysis to a study of the antigenic structure of inactivated vaccines prepared from the virus of foot-and-mouth disease. *J. Immunol.* 82: 444-447, 1959.

3. BROWN, F.; HYSLOP, N. St. G.; ERICK, J; MORROW, A.W.  
The use of acetyleneimine in the production of inactivated foot-and-mouth disease vaccines. *J. Hyg.* 61 (3): 337-344, 1963.
4. CUNHA, R.G.; BAPTISTA JUNIOR, 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.
5. GOMES, I.; ASTUDILLO, V.  
Foot-and-mouth disease: evaluation of mouse protection test results in relation to cattle immunity. *Bltm Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 17-18: 9-16, 1975.

RELACIONES SEROLOGICAS E INMUNOLOGICAS ENTRE ALGUNAS CEPAS DE  
SUBTIPOS DEL VIRUS DE LA FIEBRE AFTOSA

SEROLOGICAL AND IMMUNOLOGICAL RELATIONSHIP OF SOME  
STRAINS OF FOOT-AND-MOUTH DISEASE VIRUS SUBTYPES

I. Gomes, P. Augé de Mello, A. Alonso Fernández\*

COMUNICACION BREVE

Se ha demostrado que las vacunas antiaftosa inactivadas y con adyuvante del tipo oleoso, proporcionaron en bovinos una elevada y prolongada protección (3, 7). Sin embargo, distintas cepas de un mismo subtipo pueden inducir respuestas inmunitarias totalmente diferentes, con vacunas elaboradas básicamente con idénticos protocolos (3, 6), debido quizá a diferencias en la inmunogenicidad o en la estabilidad del antígeno.

El presente experimento analiza la inmunidad a corto y largo plazo, inducida por vacunas elaboradas con diferentes cepas de los subtipos O<sub>1</sub> y C<sub>3</sub>. Para tal fin, bovinos mestizos de lechería fueron inoculados con vacunas antiaftosa trivalentes inactivadas y con adyuvante oleoso, las cuales fueron preparadas con los subtipos A<sub>24</sub> y con una de 3 cepas del subtipo O<sub>1</sub> (Campos, São Paulo o Caseros) y otra del C<sub>3</sub> (Resende o Indaial). Las cepas O<sub>1</sub> Campos, O<sub>1</sub> São Paulo, C<sub>3</sub> Resende y C<sub>3</sub>

BRIEF REPORT

Inactivated oil adjuvanted foot-and-mouth disease (FMD) vaccines have been shown to afford a high degree of protection of long duration in cattle (3, 7). However, different strains of the same subtype may produce quite different results with basically the same vaccine production protocol (3, 6), possibly because of differences either in immunogenicity or in the stability of the antigen.

In this experiment crossbred dairy cattle were vaccinated with trivalent, oil adjuvanted vaccines prepared from FMD virus subtype A<sub>24</sub> with different combinations of 3 strains of subtype O<sub>1</sub> (Campos, São Paulo and Caseros) and 2 strains of subtype C<sub>3</sub> (Resende and Indaial/71) to study the short- and long-term protection that would be induced by each of these vaccines against the homologous subtypes O<sub>1</sub> and C<sub>3</sub>. The strains O<sub>1</sub> Campos, O<sub>1</sub> São Paulo, C<sub>3</sub> Resende and C<sub>3</sub> In-

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

Indaial fueron aisladas en Brasil en 1958, 1966, 1955 y 1971 respectivamente. La cepa O<sub>1</sub> Caseros fue aislada en Argentina en 1967.

La tabla 1 muestra la composición de cuatro diferentes partidas de vacuna trivalente con adyuvante oleoso preparadas para el experimento, así como los títulos infecciosos y de fijación del complemento (FC) de las cepas usadas. Los antígenos fueron obtenidos en monoestratos de células BHK 21 cultivadas en frascos rolantes. Todas las vacunas fueron elaboradas según protocolo ya descrito (3).

daial were isolated in Brazil in 1958, 1966, 1955 and 1971, respectively. O<sub>1</sub> Caseros was isolated in Argentina in 1967.

Table 1 shows the composition of the four different batches of the trivalent oil adjuvanted vaccine prepared for the experiment as well the infectivity and complement fixation (CF) titers of the strains used. The antigens were grown in BHK cells in roller bottles. The production protocol of the oil adjuvanted vaccines was the same as described elsewhere (3).

TABLA 1: *Composición de las vacunas experimentales trivalentes\* de fiebre aftosa*

TABLE 1: *Composition of experimental trivalent\* foot-and-mouth disease vaccines*

Lote Nº Batch No.	Antígenos/Antigens					
	O <sub>1</sub>			C <sub>3</sub>		
		UFP/dosis PFU/dose	FC CF		UFP/dosis PFU/dose	FC CF
1	Campos	7.8	1/12	Resende	7.7	1/25
2	São Paulo	7.8	1/7	Resende	7.7	1/25
3	Caseros	7.1	1/20	Resende	7.7	1/25
4	Campos	7.8	1/12	Indaial	7.8	1/20

UFP = Unidades formadoras de placas/dosis.

PFU = Plaque-forming units/dose.

FC/CF = Fijación del complemento/Complement fixation.

\* Los cuatro lotes de vacunas fueron preparados con virus de la fiebre aftosa, subtipo A<sub>24</sub>, cepa Cruzeiro con 8,3 UFP/dosis y una FC de 1/20.

\* The four batches of FMD vaccines were prepared with FMD virus subtype A<sub>24</sub> strain Cruzeiro with 8.3 PFU/dose and 1/20 CF.

Las relaciones antigénicas de las diferentes cepas de virus, obtenidas por medio de la fijación de complemento, están resumidas en la Tabla 2. Una es-

The antigenic relationship of the virus strains as measured by complement fixation are summarized in Table 2. A close relationship between the three

trecha relación fue demostrada entre las cepas del subtipo O<sub>1</sub>, lo que no ocurrió con las del C<sub>3</sub>, las cuales presentaron apreciables diferencias serológicas.

strains of subtype O<sub>1</sub> was shown but the C<sub>3</sub> strains were quite different.

TABLA 2: Parentescos serológicos (R) entre 3 cepas del virus de la fiebre aftosa del subtipo O<sub>1</sub> y 2 del subtipo C<sub>3</sub>

TABLE 2: Serological relationship (R) between 3 strains of FMD virus subtype O<sub>1</sub> and 2 strains subtype C<sub>3</sub>

Subtipo O <sub>1</sub> cepas Subtype O <sub>1</sub> strains	Sueros inmunes/Immune sera		
	Campos	São Paulo	Caseros
Campos	100*	96	94
São Paulo	96	100	92
Caseros	94	92	100
Subtipo/Subtype C <sub>3</sub>	Resende	Indaial/71	
Resende	100	63	
Indaial/71	63	100	

\*  $R = 100\sqrt{r_1 \times r_2}$  en la que  $r = \frac{\text{reacción heteróloga}}{\text{reacción homóloga}}$  (ref. 2).

\*  $R = 100\sqrt{r_1 \times r_2}$  in which  $r = \frac{\text{heterologous reaction}}{\text{homologous reaction}}$  (ref. 2).

Fueron utilizados 4 grupos de 15 bovinos con características cebuinas y de origen lechero, homogéneos en peso y edad (5-13 meses), los cuales no tenían anticuerpos de la fiebre aftosa ni historia de vacunación. La inoculación de la vacuna fue realizada por vía subcutánea con una dosis de 6 ml y los animales fueron sangrados mensualmente, como consta en la tabla 3. Los sueros se analizaron por la prueba de seroprotección (4) y los resultados

Four groups of 15 crossbred dairy cattle with predominant zebu characteristics were used. They had no antibodies to FMD and no history of vaccination. These groups were homogeneous with regard to sex and age (5-13 months). The cattle were inoculated with 6 ml of the vaccine subcutaneously and bled monthly as listed in Table 3. The mouse protection test (4) was performed on the sera and the results were used to calculate the expected percentage of

fueron expresados en porcentajes de la expectativa de protección (5) para cada una de las cepas de los subtipos O<sub>1</sub> y C<sub>3</sub> usadas en el experimento (Tabla 3).

protection (5) for each of the O and C virus strains used (Table 3).

TABLA 3: *Porcentajes de las expectativas de protección\* frente a virus homólogos de bovinos después de vacunados con vacunas de adyuvante oleoso*

TABLE 3: *Expected percentages of protection\* against homologous virus of cattle after vaccination with inactivated oil adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine*

Meses post- vacunación Mos. post- vaccination	Subtipo O <sub>1</sub> cepa Subtype O <sub>1</sub> strains			Subtipo C <sub>3</sub> cepa Subtype C <sub>3</sub> strains	
	Campos	São Paulo	Caseros	Resende	Indaial
1	88	87	64	93	87
2	80	80	52	89	85
3	62	72	48	83	79
4	64	68	42	77	82
6	63	65	23	60	74
8	66	70	24	62	71

\* Gomes, I.; ASTUDILLO, V.

*Bltm Centro Panamericano Fiebre Aftosa 17-18, 1975.*

Hubo poca diferencia entre la protección conferida a los bovinos vacunados con las cepas O<sub>1</sub> Campos y O<sub>1</sub> São Paulo, así como entre la C<sub>3</sub> Resende y C<sub>3</sub> Indaial. En estudios anteriores (1), realizados con las cepas O<sub>1</sub> Caseros, O<sub>1</sub> Campos y O<sub>1</sub> São Paulo, se supuso que las diferencias entre las cepas serían las responsables por la mejor respuesta inducida por las vacunas producidas con el antígeno O<sub>1</sub> Campos. Este experimento confirma que la cepa O<sub>1</sub> Caseros es definitivamente inferior a las otras dos estudiadas en lo que respecta a la inducción de anticuerpos protectores. Debe destacarse que el título fijador de complemento del antígeno no prevee tales diferencias.

There was little difference between the protection of the cattle vaccinated with strains O<sub>1</sub> Campos and O<sub>1</sub> São Paulo and between C<sub>3</sub> strains Resende and Indaial. In earlier studies (1) using the O<sub>1</sub> strains Caseros, Campos and São Paulo, it was supposed that strain differences might have been responsible for the better response produced by the vaccines containing the O<sub>1</sub> Campos antigen. This study confirms that the O<sub>1</sub> Caseros strain is definitely inferior to the other O<sub>1</sub> strains in terms of protective antibodies induced. It should be noted that the CF titer of the antigen did not indicate such difference.

An earlier experiment reported on the duration of protec-



En un trabajo anterior, utilizando bovinos de engorde (3), fue indicado que las vacunas con adyuvante oleoso conferían inmunidad prolongada después de una vacunación con las cepas O<sub>1</sub> Campos, A<sub>24</sub> Cruzeiro y C<sub>3</sub> Resende. Los resultados de el presente experimento demuestran que con este tipo de vacunas también puede conseguirse una elevada y prolongada protección con otras cepas de virus y en ganado de leche.

tion after a single vaccination of beef cattle with oil adjuvanted vaccines of strains O<sub>1</sub> Campos, A<sub>24</sub> Cruzeiro and C<sub>3</sub> Resende (3). The results of the present experiment show that with oil adjuvanted vaccines excellent protection of long duration may be also obtained with other FMD virus strains and crossbred dairy cattle.

#### REFERENCIAS - REFERENCES

1. ABARACON, D.; GOMES, I.  
Respuesta inmunitaria en bovinos vacunados con vacunas antiaftosas inactivadas, producidas con 5 cepas del subtipo O<sub>1</sub>. *Bltm Centro Panamericano Fiebre Aftosa 23*: 32-39, 1976.
2. ALONSO FERNANDEZ, A.; FEDERER, K.E.; GOMES, I.; VIEIRA, A.  
Comparación inmunológica y serológica de dos subtipos del virus aftoso tipo C Waldmann. *Bltm Centro Panamericano Fiebre Aftosa 4*: 19-20, 1971.
3. AUGÉ DE MELLO, P.; ASTUDILLO, V.; GOMES, I.; CAMPOS GARCIA, J.T.  
Foot-and-mouth disease virus vaccine: vaccination and revaccination of young cattle. *Bltm Centro Panamericano Fiebre Aftosa 19-20*: 39-47, 1975.
4. CUNHA, R.G.; BAPTISTA JR., J.A.; 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, 1967.
5. GOMES, I.; ASTUDILLO, V.  
Foot-and-mouth disease: evaluation of mouse protection test results in relation to cattle immunity. *Bltm Centro Panamericano Fiebre aftosa 17-18*: 9-16, 1975.
6. 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 acetyl-ethyleneimine and emulsified with incomplete Freund's adjuvant. Collaborative research Plum Island Animal Disease Center and Pan-American Foot-and-Mouth Disease Center. *Bltm Centro Panamericano Fiebre Aftosa 17-20*: 9-16, 1975.
7. UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE AND PAN-AMERICAN HEALTH ORGANIZATION  
Foot-and-mouth disease vaccines. II. Studies on the duration of immunity in cattle and pigs. Collaborative research Plum Island Animal Disease Center and Pan-American Foot-and-Mouth Disease Center. *Bltm Centro Panamericano Fiebre Aftosa 19-20*: 24-30, 1975.

## COSTO DE LA VACUNACION ANTIAFTOSA EN PARAGUAY

## THE COST OF FOOT-AND-MOUTH DISEASE VACCINATION IN PARAGUAY

Vicente M. Astudillo\*, María T. de Gauto\*\*,  
Melba Wanderley\*, Blanca Caballero\*\*

## INTRODUCCION

En la actualidad, los programas de control de la fiebre aftosa en América del Sur tienen sistemas tradicionales de contabilidad, por objeto del gasto y por departamento que realiza el gasto. Esta situación dificulta la programación presupuestaria cuando hay que elaborar un programa, por no conocerse el costo de cada una de las actividades que lo componen.

El objeto de esta nota es presentar, en forma resumida, una metodología simple de contabilidad de costos de la vacunación antiaftosa, que se pueda incorporar a los sistemas de información de los programas. Se espera que esta contribución facilite a los administradores de los programas un mejor manejo de los recursos.

La metodología que se propone ha sido experimentada en el programa oficial de control de la fiebre aftosa de Paraguay que cubre la región oriental del país. En esta región existe una población bovina de 2,7 millones, perteneciente a 81 mil propietarios. La vacunación antiaftosa es obligatoria cada 4 meses para los bovinos mayores de 4 meses. Cada una

## INTRODUCTION

Foot-and-mouth disease (FMD) control programs in South America have traditional accounting systems which record expenses by object and by department. This type of accounting makes budget planning for programs difficult, since the cost of each activity within the program is not available.

This work attempts to summarize a simple methodology for cost accounting of FMD vaccinations which can be included in the information systems of these programs. It is hoped that by using this methodology program administrators will be better able to use the resources available to them.

The methodology was tested in the official Paraguayan FMD control program, which covers the eastern part of the country. In this region, a cattle population of 2.7 million head exists and belongs to 81 thousand owners. FMD vaccination is compulsory every 4 months for all cattle over 4 months of age. Each of the three annual vaccination periods lasts an

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

\*\* Servicio Nacional de Lucha contra la Fiebre Aftosa (SENALFA). Taquarí 443-Edif. Patria, 4º piso, Asunción, Paraguay.

de las tres etapas anuales de vacunación demora un promedio de 60 días desde su programación hasta la elaboración de las estadísticas correspondientes. El servicio ejecutor del programa, Servicio Nacional de Lucha contra la Fiebre Aftosa (SENALFA), cubre la región oriental del país con una organización administrativa constituida por 23 oficinas regionales, agrupadas en 7 oficinas zonales. La vacuna es aplicada directamente por los propietarios (59%), vacunadores particulares autorizados (25%) y vacunadores oficiales (16%), (1).

#### METODOLOGIA

Para el cálculo del costo de la vacunación contra la fiebre aftosa se ha considerado la suma de los valores de bienes y servicios consumidos para desarrollar una etapa de vacunación (3). Los componentes del costo han sido los siguientes:

1. Materia prima: vacuna y combustible para movilización.

2. Mano de obra: salarios de funcionarios oficiales, remuneraciones de los vacunadores y de los peones que hacen el manejo de los animales para ser vacunados.

3. Gastos operacionales: de administración y depreciaciones. Algunos de los gastos incurridos en una etapa de vacunación son directos, como la adquisición de vacuna, aplicación de la vacuna, manejo de animales para ser vacunados y arriendo de caballos para ir a vacunar o fiscalizar. Sin embargo, otros gastos tienen que ser rateados, de acuerdo con el tiempo de duración de la etapa de vacunación, por ser costos indirectos, ya que son aplicados también en otras activida-

average of 60 days, from planning to compilation of statistics. The executing agency of the program, the National Service for the Control of FMD (SENALFA), covers the eastern part of the country through its 23 regional offices grouped into 7 zones. The vaccine is applied either directly by the owners (59%), by vaccinators (25%) or by official vaccinators (16%), (1).

#### METHODOLOGY

To calculate vaccination costs we considered the total value of goods and services used in one vaccination period (3). These were: 1) Material: vaccine and fuel for transportation. 2) Labor: salaries of official employees, payment to part-time vaccinators and to animal handlers. 3) Operational costs: administration and depreciation.

Some vaccination costs are direct, such as the acquisition of vaccine, application of the vaccine, handling of animals to be vaccinated and hiring of horses for travel to inaccessible farms. Other costs, however, must be calculated in proportion to the length of the vaccination period. These are indirect costs, since they are applied to other non-vaccination activities as well: salaries of employees, office rent, fuel for vehicles, administration costs and vehicle depreciation.

Some of the above-mentioned components are fixed costs of

des, como ser: salarios de funcionarios oficiales, arriendo de locales, combustible para vehículos, gastos de administración, depreciación de vehículos.

Por otra parte, algunos de los componentes ya indicados participan de la formación del costo de una etapa de vacunación antiaftosa en forma fija, como ser: salarios de funcionarios oficiales, arriendo de locales, gastos de administración y depreciación de vehículos. En cambio, otros componentes son variables, por depender de la cantidad de vacunaciones, como ser: gastos de combustible, compra de vacuna, aplicación de la vacuna, manejo de animales para ser vacunados y arriendo de caballos (Tabla 1).

an FMD vaccination period, such as salaries of official employees, office rent, administration costs and vehicle depreciation. Other components are variable and depend on the number of vaccinations: fuel costs, cost of vaccine, vaccine application, handling of animals to be vaccinated and the hiring of horses (Table 1).

## RESULTADOS

Los resultados que se presentan corresponden a la primera etapa de vacunación de 1975, que se inició en el mes de enero. El costo total de esa etapa de vacunación antiaftosa fue de EUA\$ 558,400 (Tabla 2), de lo que podría inferirse que el costo de la vacunación antiaftosa para ese año alcanzaría en Paraguay aproximadamente a EUA\$ 1,7 millones, si los costos se mantuviesen constantes durante el año.

Algo más de la mitad del costo de vacunación en una etapa está dado por la materia prima, y de ésta, la vacuna es la que tiene un marcado peso relativo (56%). Otro componente que contribuye en forma importante es la remuneración por aplicación de la vacuna (Tabla 3).

## RESULTS

The results presented correspond to the first FMD vaccination period of 1975, which started in January. The total cost of that vaccination period was US\$ 558,400 (Table 2), from which a total cost for the 1975 FMD vaccinations in Paraguay may be calculated at approximately US\$ 1.7 million, assuming costs to remain constant throughout the year.

Slightly more than half the cost for the period was for material, of which the vaccine itself represented approximately 56%. Payments for vaccine application accounted for another important portion of the cost (Table 3).

TABLA 1: *Componentes del costo de vacunación antiaftosa*TABLE 1: *Breakdown of FMD vaccination costs*

Rubros/Item	Materia prima Raw Material	Mano de obra Labor	Gastos operacionales Operational costs
Salarios funcionarios Employee salaries		(I,F)	
Arriendo locales Office rent			(I,F)
Arriendo caballos Hiring of horses			(D,V)
Combustible/Fuel	(I,V)		
Administración/Administration			(I,F)
Depreciación vehículos Vehicle depreciation			(I,F)
Vacuna/Vaccine	(D,V)		
Aplicación vacuna Application of vaccine		(D,V)	
Manejo animales Animal handling		(D,V)	

D: costo directo/direct cost.  
 I: costo indirecto/indirect cost.  
 F: costo fijo/fixed cost.  
 V: costo variable/variable cost.

TABLA 2: *Composición del costo de la vacunación antiaftosa en EUA\$. Paraguay. Enero de 1975*TABLE 2: *Breakdown of FMD vaccination costs in US\$. Paraguay. January 1975*

Componentes/Item	Miles de EUA\$ US\$ (thous)
Materia prima/Raw material	321,6
Mano de obra/Labor	218,9
Gastos operacionales Operational expenses	17,9
T o t a l	558,4

TABLA 3: *Composición proporcional del costo de vacunación anti-aftosa. Paraguay*

TABLE 3: *Percentage breakdown of FMD vaccination costs. Paraguay*

Componentes/Item	%
<u>Materia prima/Raw material</u>	<u>58</u>
Vacuna/Vaccine	56
Combustible/Fuel	2
<u>Mano de obra/Labor</u>	<u>39</u>
Salarios funcionarios/Employee salaries	9
Remuneración aplicación vacuna	
Salaries part-time vaccinators	24
Remuneración manejo animales	
Salaries animal handlers	6
<u>Gastos operacionales/Operational expenses</u>	<u>3</u>
Gastos administrativos/Administrative expenses	1
Depreciaciones/Depreciations	2
Arriendo locales/Office rent	0*
Arriendo caballos/Hiring horses	0*
<u>T o t a l</u>	<u>100</u>

\*  $\leq$  0,5%.

El costo unitario de vacunación, o sea, el correspondiente a un bovino vacunado, llega a EUA\$ 0,21 para la primera etapa de 1975. Se observaron variaciones en el costo de vacunación entre las diversas zonas en que se ha dividido la región oriental del Paraguay. Estas variaciones están en relación inversa con el tamaño de los rebaños. A medida que aumenta el tamaño de la población disminuye el costo por bovino vacunado (Figura 1).

Unit cost per vaccination—the cost per animal vaccinated—was US\$ 0.21 for the period. Vaccination costs varied among the several zones of the program area. These variations were inversely related to the size of the cattle population in the zones, that is, as the number of cattle increased, the unit cost decreased (Figure 1).

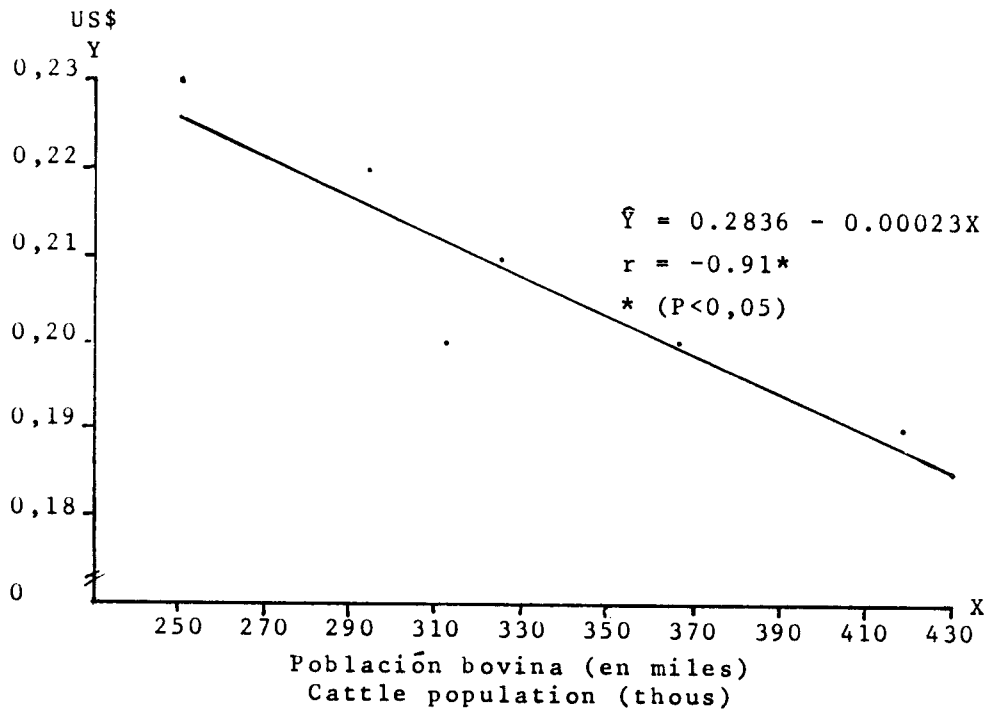


FIGURA 1: Costo unitario de vacunación antiaftosa y población bovina. Enero-1975. Paraguay.

FIGURE 1: Unit cost of FMD vaccination and cattle population. January-1975 - Paraguay.

#### DISCUSION

El costo de la vacunación antiaftosa en Paraguay en el año 1975 llega a ser más alto que el presupuesto anual del servicio ejecutor del programa, SENALFA (2). Esto explica la tendencia, que se observa no sólo en Paraguay sino también en otros países de América del Sur, a buscar una participación activa de la comunidad en los programas de control de la fiebre aftosa. Esto es especialmente notorio para la actividad vacunación antiaftosa, en que los servicios oficiales no se valen exclusivamente de sus recursos. En el caso de Paraguay la comunidad presta una expresiva contribución a esta

#### DISCUSSION

The cost of FMD vaccination in Paraguay in 1975 proved to be greater than the annual budget of the program's executing agency, SENALFA (2). This observation helps to explain the tendency, noted not only in Paraguay but also in other South American countries, to promote active community participation in FMD control programs, especially in their vaccination activities, where the official services do not depend completely on their own resources. In Paraguay the communities contribute heavily to vaccination programs, buying all the vaccine and applying about 84% of the vaccine themselves.

actividad, ya que compra la vacuna y la aplica bajo su responsabilidad en el 84% de los bovinos vacunados.

Es probable que en la formación del costo haya una subestimación de componentes propios del servicio oficial SENALFA. Por ejemplo, no se ha considerado el costo de las campañas de educación sanitaria y organización de la comunidad. Estas campañas, en gran medida, han sido orientadas a apoyar la vacunación antiaftosa.

Se debe tener cuidado con el uso de esta relación negativa, válida solamente para los valores poblacionales considerados. El comportamiento del costo unitario es primero a decrecer, por la razón ya dada y en seguida crece en función de la presión de los costos variables progresivos.

Este trabajo constituye una primera aproximación al tema de contabilidad de costos en los programas de control de la fiebre aftosa. Es posible desarrollar más la metodología de costos de vacunación, lo que será motivo de próximos trabajos. Se pretende que este tipo de estudios comience a ser más frecuente en el área de salud animal. De esta manera se facilitará la programación y el control de los programas, abordando con mayor objetividad indicadores administrativos que hasta hoy han sido tratados en forma demasiado especulativa.

It is probable that we underestimated SENALFA's costs in our calculation. We did not for example consider the costs of health education and community organization campaigns, which are to a great degree oriented toward support of the vaccination program.

Since vaccine and vaccinators' salaries accounted for a relatively large proportion of program costs, we may conclude that direct and variable costs are the most significant in vaccination programs.

Unit costs decrease as the size of the vaccinated population increases, since fixed costs are "diluted".

However it should be remembered that this negative relationship is valid only for the numbers of the population considered. The tendency of the costs is first to decrease for the above-mentioned reason, followed by an increase as a consequence of the variable progressive costs.

This paper represents a first attempt at cost accounting for FMD control programs. It is possible to develop further the methodology for calculating vaccination costs. It is hoped that this type of study will become more frequent in the field of animal health, since the information developed would facilitate more objective planning and administration of FMD control program.



## REFERENCIAS - REFERENCES

- \* 1. Boletín de Información Básica relacionada con el programa de fiebre aftosa. Región oriental, Paraguay. 1er. cuatrimestre. SENALFA, 1975.
2. Informe de SENALFA a la IX Reunión Interamericana sobre fiebre aftosa y otras zoonosis. Caracas, abril de 1975. ≡ ≡
3. LEONE, G.S.G. ≡  
Custos. Um enfoque administrativo. *Fundação Getúlio Vargas*, 1, 2ª edição. Rio de Janeiro, 1974.

PRECISION DE LA PRUEBA DE SEROPROTECCION EN LA EVALUACION  
DEL NIVEL DE ANTICUERPOS DE FIEBRE AFTOSA

PRECISION OF THE MOUSE PROTECTION TEST IN EVALUATING  
FOOT-AND-MOUTH DISEASE ANTIBODY LEVELS

Vicente M. Astudillo\*; Ivo Gomes\*;  
Melba Wanderley\*

RESUMEN

El índice de seroprotección (ISP) evalúa el nivel de anticuerpos circulantes contra la fiebre aftosa. Se estudian los límites de variación tolerable al repetir las determinaciones del ISP en un mismo suero bovino en condiciones ciegas. Los resultados muestran un alto nivel de semejanza ( $P < 0,01$ ) siendo la desviación estándar de  $\pm 0,24$ . Este valor tiene importancia en el control de calidad de las determinaciones del ISP.

ABSTRACT

The mouse protection index (MPI) evaluates the level of foot-and-mouth disease circulating antibodies. The tolerance limits of variation were studied in this paper by repeating MPI observations on the same cattle serum under blind conditions. The results showed a high degree of similarity ( $P < 0.01$ ) with a standard deviation of  $\pm 0.24$ . This value is important in the quality control of MPI observations.

INTRODUCCION

La prueba de seroprotección (SP) fue propuesta por Cunha *et al.* (1) para medir el nivel de anticuerpos circulantes y de esta manera evaluar la resistencia de los bovinos expuestos al virus de la fiebre aftosa (FA). Gomes y Astudillo (2) han verificado la validez de la SP para medir el estado inmunitario de una población bovina da-

INTRODUCTION

The mouse protection test (MPT) was proposed to measure the level of circulating antibodies in assessing resistance of cattle upon exposure to foot-and-mouth disease (FMD) virus by Cunha *et al.* (1). Gomes and Astudillo (2) tested the validity of the MPT to measure the immune state of a given cattle population through the

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

da, relacionando los valores de la SP con la expectativa porcentual de protección (EPP).

Las variaciones que los valores de la SP presentan pueden ser atribuidas a las diferencias inmunitarias de los individuos de la población estudiada o a los errores de medición. Esta última fuente incluye los errores de los observadores, de los instrumentos y de lo observado. Este trabajo pretende estudiar la precisión de la SP con el objetivo de establecer intervalos dentro de los cuales la variación de los resultados sea aceptable, o sea los márgenes de "tolerancia de los errores de medición". Las fuentes de variación mencionadas fueron reducidas por ser el mismo técnico el que llevó a cabo las repeticiones de esta prueba en el mismo suero.

#### MATERIAL Y METODOS

Fueron usados 64 bovinos Hereford, puros por cruce, 32 machos y 32 hembras. Tenían 17 a 18 meses de edad cuando la mitad de ellos fue vacunada contra la fiebre aftosa con vacuna trivalente inactivada. A los 21 días después de la vacunación se colectó suero de los 64 bovinos. Para cada suero se hicieron dos repeticiones del índice de seroprotección (ISP) para cada uno de los tres tipos de virus, en condiciones "ciegas". Se ha llamado "clase" a cada par de repeticiones para cada tipo de virus en cada suero.

Para medir la precisión se usaron dos indicadores. El primero, el coeficiente de semejanza ( $S_i$ ) mide el grado de uniformidad de los resultados

expected percentage of protection (EPP), associated with the individual values of the MPT.

Variations in MPT results may be attributed to actual individual differences within the population being studied, or to variations caused by errors of measurement. The latter include errors of the observer, the instruments, and the object being observed. This paper attempts to refine the precision of MPT results by establishing acceptable margins of variation, or "tolerance of errors of measurement", which represent the interval of values within which the results can normally fluctuate.

These sources of variation were minimized by having the same worker carry out replications on the same sera.

#### MATERIALS AND METHODS

The 64 cattle used were crossbred Herefords, 32 males and 32 females, 17-18 months old when half were vaccinated against FMD with an inactivated trivalent vaccine. Sera from all 64 cattle were collected 21 days after vaccination. Two mouse protection index (MPI) replications were made on each serum sample for the 3 types of virus under "blind" conditions. Each two paired replications were defined as a "class".

Two indicators were used to measure the precision of the results obtained. The first, the coefficient of similarity ( $S_i$ ) measured the degree of uniformity within each of the classes.  $S_i$  corresponds to an intraclass correlation coeffi-

dentro de cada clase. El  $S_i$  corresponde a un coeficiente de correlación intraclase. Puede ser calculado a partir de un análisis de varianza en el cual  $(\hat{\sigma}^2 + n\hat{\sigma}_c^2) = VE$  representa la variación entre las clases y  $\hat{\sigma}^2 = VD$  representa la variación dentro de las clases (3). En cada clase hay  $n = 2$  observaciones. La siguiente fórmula puede ser usada para calcular el coeficiente de semejanza:

$S_i$  can be calculated using an analysis of variance, in which  $(\hat{\sigma}^2 + n\hat{\sigma}_c^2) = VE$  is the variation between classes and  $\hat{\sigma}^2 = VD$  is the variation within classes (3). In each class there are  $n = 2$  observations. Thus, the following formula may be used to calculate the coefficient of similarity:

$$S_i = \frac{\hat{\sigma}_c^2}{\hat{\sigma}^2 + \hat{\sigma}_c^2} = \frac{VE - VD}{VE + (n - 1) VD}$$

El segundo indicador expresa en los mismos términos de ISP, la variación entre dos observaciones dentro de la misma clase:

The second indicator expresses in terms of the MPT the variation between two observations within the same class:

$$SD = \sqrt{\frac{d^2}{2}}$$

donde SD es la desviación estándar y  $d = (X_{i.1} - X_{i.2})$ . Dado que hay muchas clases (k), se propone aplicar una desviación estándar promedio (ASD) (4):

where SD is the standard deviation and  $d = (X_{i.1} - X_{i.2})$ . However, since there are many classes (k), an indicator of the averaged standard deviation ASD is proposed (4):

$$ASD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^K d_i^2}{2K}}$$

## RESULTADOS

Los sueros bovinos fueron clasificados en "altos" ( $ISP \geq 3,0$ ), "medianos" ( $1,0 < ISP < 3,0$ ) y "bajos" ( $ISP < 1,0$ ) de acuerdo con el valor índice de seroprotección.

Los valores altos del ISP presentan una gran homogeneidad dentro de las clases. Sin embargo, con frecuencia valores del ISP que alcanzan este nivel no tienen un "punto-final" definido. Por otra parte, los valores del  $ISP > 3,0$  tienen una expectativa porcentual de protección que alcanza a 100 (2).

Las replicaciones del ISP en los 32 sueros de bovinos no vacunados fueron "bajos" indicando que todos estos animales eran susceptibles a la FA (2).

La Tabla 1 resume los resultados de la aplicación de los indicadores de precisión a la SP. En ganado vacunado, con ISP altos, el grado de variación dentro de las clases fue pequeño y así el coeficiente de semejanza fue estadísticamente significativo ( $P < 0,01$ ). El error de medición correspondiente a este nivel fue  $\pm 0,18$ . En los ISP "medianos" la ASD muestra una importante diferencia con respecto al valor anterior, alcanzando a  $\pm 0,35$ . Para este nivel, si fue también estadísticamente significativo ( $P < 0,01$ ).

Los bovinos no vacunados presentaron una ASD =  $\pm 0,20$ , valor parecido al de los sueros de animales vacunados con ISP de nivel alto. El coeficiente de semejanza, aunque de valor menor que los dos anteriores, también es significativo desde el punto de vista estadístico ( $P < 0,01$ ).

Cuando todos los animales fueron considerados en conjun-

## RESULTS

Sera from vaccinated cattle were classified according to high ( $\geq 3.0$ ), median ( $1.0 \leq MPI < 3.0$ ) and low ( $< 1.0$ ) MPI levels. The high MPI values have great homogeneity within classes. However, for MPI values  $> 3.0$  the expected percentage of protection reaches 100 (2) and often many MPI observations which reach this level may not have a defined end-point.

The MPI replications on the sera of the 32 unvaccinated cattle were low, indicating that all animals were susceptible to FMD (2).

Table 1 summarizes the results of the precision indicators for the MPT: With vaccinated cattle with the high MPI level, the degree of variation within classes was small, and thus the coefficient of similarity was statistically significant ( $P < 0.01$ ). The error of measurement in MPI replications averaged  $\pm 0.18$ . With the median MPI level the ASD showed important differences in relation to high level. The average standard deviation was  $\pm 0.35$ . In this case also the coefficient of similarity was statistically significant ( $P < 0.01$ ).

Unvaccinated cattle presented an ASD of  $\pm 0.20$  which is similar to that of the sera with the higher MPI in the vaccinated cattle. The similarity coefficient, although less than the two other values, was also statistically significant ( $P < 0.01$ ).

When all the animals were considered together, the coefficient of similarity was very high and statistically significant ( $P < 0.01$ ). In this case, the indicator of the MPT's er-

to, el coeficiente de semejanza fue muy alto y estadísticamente significativo ( $P < 0,01$ ). Para esta situación la ASD correspondiente alcanzó a  $\pm 0,24$ .

La SD dentro del nivel "mediano" del ISP no presentó correlación con la media aritmética del mismo par de valores del ISP, dado que  $r = 0,12$  ( $P > 0,1$ )\*.

ror of measurement was  $\pm 0.24$ .

The SD within median level was not associated with the arithmetic mean of the same pair of MPI values, given that  $r = 0.12$  ( $P < 0.1$ )\*.

TABLA 1: *Indicadores de precisión del índice de seroprotección*  
TABLE 1: *Mouse protection index precision indicators*

Situaciones Situations		Coefficiente de semejanza Similarity coefficient	Desviación estándar promedio Averaged standard deviation
Bovinos vacunados Vaccinated cattle	Nivel alto High level	0,77**	0,18
	Nivel mediano Median level	0,74**	0,35
Bovinos no vacunados Unvaccinated cattle	Nivel bajo Low level	0,57**	0,20
	Conjunto Pooled	0,98**	0,24

\*\*  $P < 0,01$ .

#### DISCUSION

Cuando se hacen determinaciones de las SP repetidas en un grupo de sueros, la variación que presentan los resultados puede descomponerse en variación entre los sueros (VE) y variación dentro de los sueros (VD). Esta última corresponde

\* Coeficiente de correlación rectilíneo.

#### DISCUSSION

When repeated observations are made on a group of sera, the variations in results consist of variation between sera (VE) and variations within sera (VD), or the variations between repeated observations on the same serum. If there are no differences between the values

\* Correlation coefficient.

a la variación entre los ISP de determinaciones repetidas en un mismo suero. Si ninguna diferencia existe entre los valores de determinaciones repetidas para un mismo suero, entonces  $VD = 0$  y  $S_i = 1$ . El coeficiente de semejanza alcanza así su más alto valor cuando no hay variación entre determinaciones repetidas en un mismo suero.

Los niveles "alto" y "bajo" de valores del ISP varían sólo levemente, sea porque son valores límites, sea porque uno o ambos valores de una clase pueden alcanzar un "techo" artificial. En el nivel "mediano" los valores del ISP muestran gran variación. Por esa razón, para este nivel se estudió si existía correlación entre la media aritmética y la SD de las clases. Dado que estos dos estadísticos resultaron ser independientes no fue necesario hacer ajustes en la ASD correspondiente.

Cualquier determinación del ISP de un suero tiene una probabilidad de 95% de alejarse del valor verdadero en no más de 1,96 veces  $\pm 0,24$ , o sea  $\pm 0,47$ . Este valor puede ser considerado como la precisión de la SP y puede ser utilizado para el control de calidad de las mediciones de la SP.

obtained within sera, then  $VD = 0$ , and  $S_i = 1$ . The coefficient of similarity thus reaches its highest value when no variations exist between repeated observations within sera.

The high and low values of the MPI vary only slightly, since they are limiting values, and since at least one of the values or both may reach an artificial ceiling. The median MPI values show a greater variation. For this reason in the last-mentioned level, a correlation coefficient was calculated between the arithmetic mean and the SD. Adjustments in ASD are not necessary for different magnitudes of arithmetic means, because the two statistics are independent.

Any MPI observation has then a 95% probability of varying around the true value by no more than  $1.96 \times 0.24$ , or  $\pm 0.47$ . This value may be considered as the precision of the MPT, and it can be used to control the quality of measurement in the performance of this test.

#### REFERENCIAS - REFERENCES

1. CUNHA, R.G.; BAPTISTA JUNIOR, J.A.; SERRÃO, U.M.; TORTURELLA, I. El uso de los ratones lactantes en la evaluación de anticuerpos contra el virus de la fiebre aftosa y su significación inmunológica. *Gac. vet.*, B. Aires, 19 (110): 243-267, 1957.
2. 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.

- 
3. SNEDCOR, G.W.; COCHRAN, W.G.  
In *Statistical methods, 6th ed. Chapter 10*, the Iowa State University Press, Ames, Iowa, 1973.
  4. THORNER, R.M.; REMEIN, Q.R.  
Principles and procedures in the evaluation of screening for disease. *Public Health Monograph 67*, Washington, D.C., 1961.



INMUNIDAD CRUZADA EN BOVINOS ENTRE VARIAS CEPAS DEL  
VIRUS DE LA FIEBRE AFTOSA TIPO C

CROSS IMMUNITY OF CATTLE WITH TYPE C STRAINS OF  
FOOT-AND-MOUTH DISEASE VIRUS

Alonso Fernández, A.\*, Sondahl, M.S.\*,  
Gomes, I.\*, Augé de Melo, P.\*.

COMUNICACION PREVIA

El éxito de los programas de control de la fiebre aftosa, que entre sus actividades cuentan con la inmunización preventiva de la población susceptible, depende, en gran medida, de la calidad de las vacunas empleadas y de la cobertura inmunológica de las cepas utilizadas para la producción de las mismas. Por tanto, el uso de las cepas adecuadas para la elaboración de las vacunas es de importancia primordial. La selección de las cepas para la producción de vacunas presupone la realización de pruebas que determinen: 1) la dominancia antigénica (2), 2) la capacidad de replicación en los sistemas que posteriormente se utilizarán para la producción de antígenos y 3) la resistencia a la degradación durante los procesos de elaboración de las vacunas. Finalmente, se debe definir su cobertura inmunológica (1) frente a las cepas que tengan importancia epidemiológica en el campo. Del análisis de los resultados obtenidos en estas pruebas surgirá la cepa más apropiada para la producción de las vacunas.

PRELIMINARY REPORT

The success of foot-and-mouth disease (FMD) control programs, based on preventive vaccination of susceptible cattle populations, depends to a great extent on the quality of vaccines used and the immunological coverage of the vaccine production strains. Selection of adequate strains for vaccine production is thus extremely important and must be based on tests which determine: 1) the antigenic characteristics (2), 2) virus replication capacity in the antigen production systems, and 3) resistance to degradation during the vaccine production process. Finally, the immunological coverage (1) for epidemiologically important field strains must also be determined. An analysis of the above test results should suggest the most appropriate strain for vaccine production.

This preliminary report presents the results of a cross immunization study of vaccines produced with 6 different strains of type C virus isolated in South America and selected by serological test.

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

La presente comunicación presenta los resultados de una prueba de inmunización cruzada realizada con grupos de sueros de bovinos vacunados con diferentes cepas del tipo C aisladas en Sudamérica, seleccionadas por pruebas serológicas.

Antígenos de las cepas C<sub>3</sub> Resende (Brasil/55), C<sub>3</sub> Indaial (Brasil/71), C<sub>5</sub> Argentina/69, C<sub>2</sub> Pando (Uruguay/45), C São José dos Campos (Brasil/72) y C Chaco (Paraguay/74), obtenidos en células BHK e inactivados en igualdad de condiciones fueron utilizados para elaborar vacunas monovalentes oleosas (3). Cada vacuna fue inoculada en 12 bovinos mestizos cebú de 6 meses a 1 año de edad, sin antecedentes de fiebre aftosa ni vacunaciones previas.

Los sueros recolectados 180 días después de la vacunación fueron comprobados por seroprotección (4) con las 6 cepas estudiadas. Los resultados expresados en expectativas porcentuales de protección (EPP) (5) están indicados en la tabla 1.

Antigens of strains C<sub>3</sub> Resende (Brazil/55), C<sub>3</sub> Indaial (Brazil/71), C<sub>5</sub> Argentina/69, C<sub>2</sub> Pando (Uruguay/45), C São José dos Campos (Brazil/72) and C Chaco (Paraguay/74) were replicated in BHK cell culture and inactivated under similar conditions for use in monovalent oil adjuvanted vaccines (3). Each vaccine was inoculated in a group of 12 unvaccinated 6-12 month old crossbred cattle, which had no previous contact with FMD.

Sera were collected 180 days after vaccination and tested by the mouse protection test against the 6 strains studied. The results, expressed in expected percentages of protection (EPP), are listed in Table 1 (4, 5).

TABLA 1: Expectativas porcentuales de protección obtenidas con sueros de bovinos a los 180 días después de la inmunización con vacunas monovalentes oleosas

TABLE 1: Expected percentage of protection of cattle 180 days after immunization with monovalent oil adjuvanted vaccine

Virus	Vacunas/Vaccines					
	C <sub>3</sub> Res.	C <sub>3</sub> Ind.	C <sub>5</sub> Arg.	C <sub>2</sub> Pando	C S. José	C Chaco
C <sub>3</sub> Resende	88 ± 24*	69 ± 48	55 ± 35	71 ± 47	68 ± 24	72 ± 35
C <sub>3</sub> Indaial	73 ± 51	77 ± 55	60 ± 45	79 ± 27	67 ± 40	69 ± 43
C <sub>5</sub> Argentina	76 ± 31	54 ± 42	75 ± 34	57 ± 43	77 ± 21	58 ± 44
C <sub>2</sub> Pando	71 ± 47	84 ± 39	46 ± 46	92 ± 22	71 ± 44	90 ± 18
C São José	58 ± 38	68 ± 51	61 ± 44	52 ± 49	81 ± 54	88 ± 26
C Chaco	92 ± 16	86 ± 35	73 ± 43	86 ± 32	82 ± 47	94 ± 20

\* Intervalo de confianza al 95%.

\* 95% confidence interval.

Todas las cepas estudiadas presentaron a los 180 días post-vacunación un EPP de inmunidad homóloga superior al 75%, presentando las cepas C Pando y C Chaco los valores más elevados.

Con relación a la inmunidad heteróloga se apreció que la cepa C<sub>5</sub> Argentina es la que proporcionó menor cobertura inmunológica, mientras que las cinco restantes tuvieron un comportamiento inmunogénico similar. No obstante, las cepas C Pando y C Chaco muestran condiciones adecuadas para ser utilizadas en la producción de vacunas, una vez demostrada su elevada capacidad de replicación y estabilidad.

At 180 days post vaccination, all strains produced an EPP of more than 75% against the homologous strain. Highest values were obtained with strain C Pando and C Chaco.

With regard to the heterologous immunity, strain C<sub>5</sub> Argentina gave the least immunological coverage while the other strains were quite similar in this respect. However, the C Pando and C Chaco strains appear to be good candidates for vaccine production provided they also have adequate growth capabilities and stability.

#### REFERENCIAS - REFERENCES

1. ALONSO FERNANDEZ, A.; AUGÉ DE MELLO, P.; ROSENBERG, F.J. Serological and immunological relationship of foot-and-mouth disease viruses, type C in South America. *Report of the Res. Group of the Stand. Fech. Comm. of the European Comm. for the Control Foot-Mouth Dis.* Brescia/Padua, Italy 23-26 September, 138-147, 1975.
2. ALONSO FERNANDEZ, A.; SÖNDAHL, M.S.; PRADO, J.A.P.; KOTAIT, I.; SOUZA, J.V.L. Comportamiento antigénico entre muestras de producción de vacunas y de campo del virus de la fiebre aftosa, tipo A, aisladas en el sur de Brasil. *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa 23-24*: 67-68, 1976 (Resumen).
3. AUGÉ DE MELLO, P.; ASTUDILLO, V.; GOMES, I.; CAMPOS GARCIA, J.T. 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*: 39-47, 1975.
4. CUNHA, R.G.; BAPTISTA JR.; J.A.; SERRÃO, U.M.; TORTURELA, 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.
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.

UNA VACUNA MIXTA PARA EL CERDO: UNA AYUDA PARA EL CONTROL  
DE LA FIEBRE AFTOSA Y DE LA ENFERMEDAD VESICULAR DEL CERDO

A MIXED VACCINE FOR SWINE: AN AID FOR CONTROL OF  
FOOT-AND-MOUTH AND SWINE VESICULAR DISEASES

P.D. McKercher\*; J.H. Graves\*

RESUMEN

Los resultados indican que es factible para uso en cerdos una vacuna mixta con adyuvante oleoso contra la fiebre aftosa y la enfermedad vesicular del cerdo.

ABSTRACT

The results indicate the feasibility of a mixed foot-and-mouth disease and swine vesicular disease oil adjuvanted vaccine for use in swine.

INTRODUCCION

El control de recientes brotes de la enfermedad vesicular del cerdo (EVC) en el Reino Unido se ha basado en restricciones de movimiento, sacrificio de los cerdos infectados y desinfección de los establecimientos (1, 2). La estabilidad del virus de la EVC hace difícil el control de la enfermedad, de tal modo que la vacunación debe considerarse como una ayuda más. En países donde prevalece la EVC como la fiebre

INTRODUCTION

Control of swine vesicular disease (SVD) during recent outbreaks in the United Kingdom has relied upon restriction of movement, slaughter of infected pigs and disinfection of premises (1, 2). The stability of SVD virus has made control of the disease difficult; thus, vaccination might have to be considered as a further aid to control. In countries where both SVD and foot-and-mouth disease (FMD) are prevalent,

\* Plum Island Animal Disease Center, Northeastern Region, Agricultural Research Service, U.S. Department of Agriculture, Greenport New York 11944.

"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."

The views expressed in this paper are those of the authors and do not necessarily reflect those of the Pan-American Foot-and-Mouth Disease Center nor the Pan-American Health Organization.

aftosa (FA) ¿sería práctico una vacuna de EVC y de FA? Antiguamente dejaba mucho que desear la vacunación de cerdos contra la FA, pero, nuevas vacunas (3, 6) la hacen más factible. Los propósitos de los siguientes estudios fueron determinar si el cerdo puede protegerse mediante una vacuna preparada igual que las vacunas experimentales de FA y probar la conservación de antígenos de EVC y de FA.

#### MATERIAL Y METODOS

El antígeno de virus EVC usado inicialmente era la muestra de Hong Kong recibida por el Animal Virus Research Institute, Pirbright, en diciembre de 1972, y replicada en el Plum Island Animal Disease Center (PIADC), mediante pasajes en la línea celular PK-15 (1973). El virus producido en cultivos de tejidos (Tabla 1) fue tratado con 0,05% de acetiletileneimina (AEI) a 25° C durante 72 horas. La inactivación cinética se midió en muestras a los 0, 30, 60 y 90 minutos, de igual forma que para las muestras de virus de FA (7).

El segundo antígeno de virus EVC se preparó a partir de la muestra de virus UKG 27/72, también enviada por el Animal Virus Research Institute, Pirbright, y replicada en el PIADC en la línea celular MVPK (8), con 4 pasajes y concentrada 50 X con glicol polietileno (9). El material concentrado se inactivó de igual forma que el primer antígeno de EVC.

Los antígenos de virus de la FA consistieron de virus inactivados A<sub>24</sub>, Cruzeiro, O<sub>1</sub> Caseros y C<sub>3</sub> Resende, mantenidos en depósito a 4° C desde 1972 y

would a SVD and FMD vaccine be practical? Vaccination of swine with FMD vaccines formerly left much to be desired, but newer FMD vaccines (3, 4, 5, 6) have made vaccination of swine more feasible. The purposes of the following studies were to determine whether swine could be protected by a vaccine prepared similarly to some of the FMD experimental vaccines and to test shelf life of SVD and FMD antigens.

#### MATERIALS AND METHODS

##### *Antigens*

The SVD virus antigen used initially was the Hong Kong isolate received from the Animal Virus Research Institute, Pirbright, 12/72, and grown at the Plum Island Animal Disease Center (PIADC), 2 passages in the PK-15 cell line (1973). The virus produced by tissue culture (Table 1) was treated with 0.05% acetyleneimine (AEI) at 25° C for 72 hours. Inactivation kinetics were completed on samples taken at 0, 30, 60 and 90 minutes, similarly to those completed on FMD virus samples (7).

The second SVD virus antigen was prepared from SVDV UKG 27/72 isolate also received from the Animal Virus Research Institute, Pirbright, and grown at PIADC in MVPK cell line (8), 4th passage and concentrated 50X with polyethylene glycol (9). The concentrated material was then inactivated as described for the first SVD antigen.

FMD virus antigens consisted of stocks of inactivated A<sub>24</sub>, Cruzeiro, O<sub>1</sub> Caseros and C<sub>3</sub> Resende viruses stored at 4° C in 100X concentrated form since

concentrados 100X. El antígeno de virus de la FA O<sub>1</sub> Brugge era un virus inactivado, mantenido a 4°C desde 1971 (Tabla 1) (4).

1972. The FMD virus, O<sub>1</sub> Brugge antigen consisted of inactivated virus stock stored at 4°C since 1971 (Table 1) (4).

TABLA 1: *Títulos de unidades formadoras de placas (UFP) y de fijación de complemento (FC) del virus de la enfermedad vesicular del cerdo (VEVC) y del virus de la fiebre aftosa (VFA) utilizado para la producción de vacunas experimentales (Experimentos A y B)*

TABLE 1: *Plaque-forming units (PFU) and complement-fixation (CF) titers of swine vesicular disease virus (SVDV) and foot-and-mouth disease virus (FMDV) used for the production of experimental vaccines*

V i r u s	PFU/ml	CF titer
SVD (1)	9.0 X 10 <sup>7</sup>	1:24
SVD (2)	7.5 X 10 <sup>10</sup>	1:24
FMD, A <sub>24</sub> Cruzeiro*	6 X 10 <sup>7</sup>	1:56
FMD, O <sub>1</sub> Caseros*	3 X 10 <sup>8</sup>	1:64
FMD, C <sub>3</sub> Resende*	2 X 10 <sup>7</sup>	1:56
FMD, A <sub>24</sub> Cruzeiro**	N.A.***	1:120
FMD, O <sub>1</sub> Caseros**	N.A.*	1:120
FMD, C <sub>3</sub> Resende**	N.A.	1:240
FMD, O <sub>1</sub> Brugge	2.15 X 10 <sup>8</sup>	1:6400
FMD, O <sub>1</sub> Brugge**	N.A.	1:80

\* Antes de la inactivación y concentración.

\* Before inactivation and concentration.

\*\* Después de la inactivación de vacuna combinada.

\*\* After inactivation as used in combined vaccine.

\*\*\* No se aplica/Not applicable.

#### *Pruebas de inocuidad*

La inocuidad de todos los antígenos de virus de la FA se probó mediante la inoculación de 6 novillos; cada uno recibió 2 ml de inóculo en diversos lugares (10). Los antígenos de

#### *Safety tests*

All FMD virus antigens were safety tested by the inoculation of 6 steers; each steer received 2 ml of inoculum at multiple sites (10). SVD virus antigens were safety tested by

virus de la EVC se inocularon, por vía intravenosa, en 2 cerdos; cada uno recibió 2 ml del material tratado con AEI y se colocó junto con un cerdo no inoculado, manteniéndose bajo observación, para observar posibles síntomas de EVC, durante 14 días.

*Preparación de la vacuna de adyuvante oleoso*

El antígeno de EVC utilizado en los experimentos preliminares (A y B), comprendiendo sólo vacuna de EVC, se emulsificó en partes iguales con adyuvante incompleto de Freund, consistiendo de 9 partes de Marcol 52\* y una parte de Arlacel A\*\* en dosis de 2 ml y 1 ml, respectivamente (11). En el experimento C, combinando vacuna de EVC y de FA, los concentrados 100X de A<sub>24</sub> Cruzeiro, O<sub>1</sub> Caseros y C<sub>3</sub> Resende, fueron diluidos a una concentración de 5X en el antígeno EVC y emulsificados con adyuvante incompleto de Freund en una dosis de 2 ml. Las vacunas de EVC y de FA se ajustaron a un volumen similar.

En el experimento D, el virus purificado de FA O<sub>1</sub> Brugge se diluyó hasta contener aproximadamente 10 µg de antígeno por 0,25 ml, y el antígeno EVC concentrado 50X se ajustó para contener aproximadamente la misma masa antigénica, estimada por la prueba de fijación de complemento (FC). Los antígenos combinados (0,25 ml de EVC + 0,25 ml de FA) fueron emulsificados con adyuvante incompleto de Freund, hasta un volumen total de 1 ml. Las vacunas que sólo tenían antígenos de EVC o de FA se diluyeron en volúmenes similares con los tampones apropiados.

the inoculation of 2 swine intravenously; each swine received 2 ml of the AEI-treated material and were housed with 2 noninoculated swine and examined for evidence of SVD for 14 days.

*Oil adjuvanted vaccine preparation*

The SVD antigen employed in the preliminary experiments (A and B) involving SVD vaccine only were emulsified with equal parts of incomplete Freund's adjuvant, consisting of 9 parts Marcol 52\* and 1 part Arlacel A\*\* in a 2-ml and a 1-ml dose volume, respectively (11). In experiment C, involving the combined SVD and FMD vaccines, the 100X concentrated A<sub>24</sub> Cruzeiro, O<sub>1</sub> Caseros and C<sub>3</sub> Resende were diluted to a 5X concentration in the unconcentrated SVD antigen and emulsified with incomplete Freund's adjuvant to a 2-ml volume dose. The SVD vaccine and FMD vaccines were adjusted to a similar volume.

In experiment D, the purified FMDV O<sub>1</sub> Brugge was diluted to contain approximately 10 µg of antigen per 0.25 ml volume, and the 50X concentrated SVD antigen was adjusted to contain approximately the same antigen mass as estimated by the complement-fixation (CF) test. The combined antigens (0.25 ml of SVD + 0.25 ml of FMD) were emulsified with incomplete Freund's adjuvant to a total volume of 1 ml. The vaccines containing SVD and FMD antigens only were diluted with the appropriate buffer to a similar volume.

\* Esso.

\*\* Atlas.

### *Tratamiento de los animales*

En el experimento A, 2 cerdos se inocularon subcutáneamente en la cara dorsal de la oreja, con una dosis de 2 ml de la vacuna de EVC. Para una mayor seguridad de que los antígenos ya no eran infectantes, junto a los 2 cerdos vacunados se colocaron 2 cerdos como controles de contacto. A los 4 cerdos se les extrajeron muestras de sangre a los 0, 15, 30, 49 y 59 días postvacunación (DPV).

En el experimento B se inocularon 6 cerdos con una dosis de 1 ml de la vacuna preparada con el mismo antígeno EVC utilizado para elaborar la primer vacuna del experimento A. Cuatro de estos cerdos fueron inoculados en la cara dorsal de la oreja y 2 por vía intramuscular, en un lado del cuello. Se extrajeron muestras de sangre a los 0, 34, 66 y 99 DPV.

En el experimento C fueron vacunados 4 cerdos intramuscularmente con una dosis de 2 ml de la vacuna de FA; otros 4 cerdos con 2 ml de la vacuna de la EVC, y 16 con una dosis combinada de 2 ml de vacuna FA y EVC. Se tomaron muestras de sangre a los 0, 30, 60 y 90 DPV.

En el experimento D fueron vacunados 12 cerdos por vía intramuscular en el cuello, con las siguientes vacunas: 8 con la combinación de FA y EVC, 2 con FA y 2 con EVC. Se hicieron sangrías similares a las del experimento C.

### *Serología*

Los sueros de los cerdos de los experimentos A, B, C y D, se analizaron por la prueba de 70% de reducción de placas (12). Los gráficos 1 y 2 mues-

### *Animal treatment*

In experiment A, 2 swine were inoculated subcutaneously in the dorsal side of the ear with a 2 ml dose of SVD vaccine. Two swine were placed in isolation with the 2 vaccinated swine as contact controls to further ensure that the treated antigen was no longer infective. Blood samples were collected from the 4 swine at 0, 15, 30, 49 and 59 days postvaccination (DPV).

In experiment B, 6 swine were inoculated with a 1 ml dose of vaccine prepared with the same SVD antigen used to prepare the initial vaccine in experiment A. Four of these swine were inoculated on the dorsal side of the ear and 2 were inoculated intramuscularly on the side of the neck. Blood samples were collected at 0, 34, 66 and 99 DPV.

In experiment C, 4 swine each were vaccinated intramuscularly with a 2 ml dose of the FMD vaccine only, 4 swine each with 2 ml of SVD vaccine only, and 16 swine each with a 2 ml dose of the combined FMD and SVD vaccine. Blood samples were collected at 0, 30, 60 and 90 DPV.

In experiment D, all 12 swine were inoculated intramuscularly in the neck with a 1-ml volume dose of their respective vaccines; 8 were vaccinated with the combined FMD and SVD vaccine, and 2 each with the FMD and the SVD vaccines only. Blood samples were collected at 0 through 90 days, as indicated in experiment C.

### *Serology*

Serums from the swine in experiments A, B, C and D were assayed by the 70% plaque reduction test (12), and mean titers obtained for experiments



tran el título medio de los experimentos C y D.

#### *Prueba de inmunidad*

En el experimento A, los dos animales no vacunados se inocularon por vía intravenosa con 1,5 ml de virus EVC, PK-15 ( $9 \times 10^7$  unidades formadoras de placas [UFP]/ml) a los 59 DPV, dejando en contacto con ellos los cerdos vacunados con EVC.

En el experimento B, a los 99 DPV, los 6 cerdos no vacunados se colocaron juntos con los 6 vacunados y todos se inocularon con 1,5 ml del mismo virus EVC utilizado en el experimento A.

En el experimento C, a los 90 DPV, 8 de los 16 cerdos que habían recibido la vacuna polivalente o combinada de FA y EVC, y 4 de los que recibieron solamente la vacuna de FA, se juntaron con 3 controles no vacunados, 2 de los cuales fueron infectados mediante la inoculación de 40.000  $DI_{50}$  de virus de FA A<sub>24</sub> Cruzeiro, en la planta de una pata. De igual modo, los otros 8 cerdos tratados con la vacuna combinada de FA y de EVC y los 4 que se vacunaron sólo con EVC, fueron expuestos a 3 controles no vacunados, 2 de los cuales se infectaron, por vía intravenosa, con virus EVC.

En el experimento D, 90 DPV, los cerdos se dividieron lo mismo que en el experimento C y los 2 grupos se pusieron en contacto con cerdos infectados con FA o con EVC. Los animales se mantuvieron bajo observación durante 14 días.

C and D are shown in Figs. 1 and 2.

#### *Challenge of immunity*

In experiment A, the 2 non-vaccinated animals were inoculated intravenously with 1.5 ml of SVDV, PK-15 ( $9 \times 10^7$  plaque-forming units [PFU]/ml) at 59 DPV, and the 2 SVD-vaccinated swine were left in contact with the 2 inoculated intravenously.

In experiment B, at 99 DPV, 6 nonvaccinated swine were placed in contact with the 6 vaccinated swine, and all 12 swine were inoculated with 1.5 ml of the same SVD virus as used in experiment A.

In experiment C, at 90 DPV, 8 of the 16 swine that had received the polyvalent or combined FMD and SVD vaccine, and 4 that had received the FMD vaccine only were exposed to 3 nonvaccinated controls, 2 of which were infected by inoculation of 40,000  $ID_{50}$  of FMDV, A<sub>24</sub> Cruzeiro into the footpad of one foot. Similarly, the other 8 swine that had received the combined FMD and SVD vaccine and the 4 vaccinated with SVD only were exposed to 3 nonvaccinated controls, 2 of which were infected by intravenous inoculation of SVD virus.

In experiment D, at 90 DPV, the swine were divided similarly to those in experiment C, and the 2 groups were exposed to either FMD- or SVD-infected contact swine. All exposed swine were observed for 14 days.

## RESULTADOS

Los 8 cerdos vacunados en los experimentos A y B no tuvieron

## RESULTS

The 8 vaccinated swine from both experiments A and B did

EVC cuando se comprobó su inmunidad, mientras que los otros 8 animales no vacunados sufrieron una infección grave. En la Tabla 2 se presentan los títulos de reducción de placas de los respectivos sueros.

not develop SVD when their immunity was challenged whereas all 8 of the nonvaccinated animals were severely infected. Plaque reduction titers for the swine serums in the experiments are shown in Table 2.

TABLA 2: *Anticuerpos circulantes de cerdos vacunados con una vacuna inactivada de enfermedad vesicular del cerdo de adyuvante oleoso (Experimentos A y B)*

TABLE 2: *Circulatory antibody of swine vaccinated with an inactivated swine vesicular disease oil-adjuvanted vaccine (Experiments A and B)*

Swine ET No.	Días Postvacunación/Days Post-vaccination						
	15	30	34	49	59	66	99
2670	3.27*	3.34	-	3.86	3.86	-	-
2673	4.10	3.59	-	3.59	3.36	-	-
2533	-	-	2.74	-	-	>3.10	>3.80
2537	-	-	2.30	-	-	2.71	3.12
2535	-	-	2.51	-	-	>3.10	3.59
2624	-	-	2.19	-	-	2.60	3.00
2638	-	-	2.44	-	-	3.22	3.52
2636	-	-	2.51	-	-	3.33	3.28

\* Títulos reductores de placas (Enfermedad Vesicular del Cerdo).

\* Plaque reduction titers (Swine Vesicular Disease).

Los títulos de reducción de placas de los sueros obtenidos con las vacunas en los experimentos C y D figuran en la Tabla 3 y en los gráficos 1 y 2, respectivamente. A su vez, la protección conseguida con estas vacunas se muestra en las Tablas 4 y 5. En el experimento C (Tabla 4), la diferencia que se observa se obtiene por un sistema de puntaje de severidad

Plaque reduction serum titers obtained with the vaccines in experiments C and D are shown in Table 3 and Figs. 1 and 2, respectively. The protection produced by these vaccines is indicated in Tables 4 and 5, respectively. In experiment C (Table 4), the difference in response as shown is obtained by a system of scoring for severity on the scale of 0 to 4

en una escala de 0 a 4 para cada pata; de ese modo, el puntaje máximo para un cerdo con una infección generalizada que compromete las 4 patas sería de 16 (1). Se usó este método en vez del método de todo o nada, porque las lesiones de los cerdos vacunados, que no estaban completamente protegidos, eran menos y más pequeñas que las de los animales controles y porque todos los vacunados mostraron algún grado de protección.

for each foot; thus, the maximum score per pig with a generalized infection involving all 4 feet would be 16 (1). This method was used rather than the all-or-none method because lesions in the vaccinated pigs that were not completely protected were fewer and smaller than those of the nonvaccinated animals, and all the vaccinated animals showed some degree of protection.

TABLA 3: Anticuerpos circulantes de cerdos vacunados con vacunas inactivadas de virus de fiebre aftosa (VFA) y virus de la enfermedad vesicular del cerdo (VEFC) de adyuvante oleoso

TABLE 3: Circulatory antibody of swine vaccinated with inactivated foot-and-mouth disease virus (FMDV) and swine vesicular disease virus (SVDV) oil-adjuvanted vaccines (Experiment C)

Días postvacunación y vacuna Days post-vaccination and vaccine	Virus*				
	A <sub>24</sub>	Cruzeiro	O <sub>1</sub> Caseros	C <sub>3</sub> Resende	SVD
30: FMDV-SVDV		1.56**	1.59	0.96	2.12
FMDV		1.52	1.55	1.06	-
SVDV		-	-	-	2.80
60: FMDV-SVDV		1.98	1.49	1.25	2.49
FMDV		2.39	1.78	1.69	-
SVDV		-	-	-	3.52
90: FMDV-SVDV		2.13	N.T.	N.T.	3.05
FMDV		2.08	N.T.	N.T.	-
SVDV		-	-	-	3.57

\* Virus usado en prueba de neutralización por reducción de placas/Virus used in plaque reduction neutralization test.

\*\* Media del título reductor de placas/Mean plaque reduction titer.

N.T. = No examinado/Not tested.

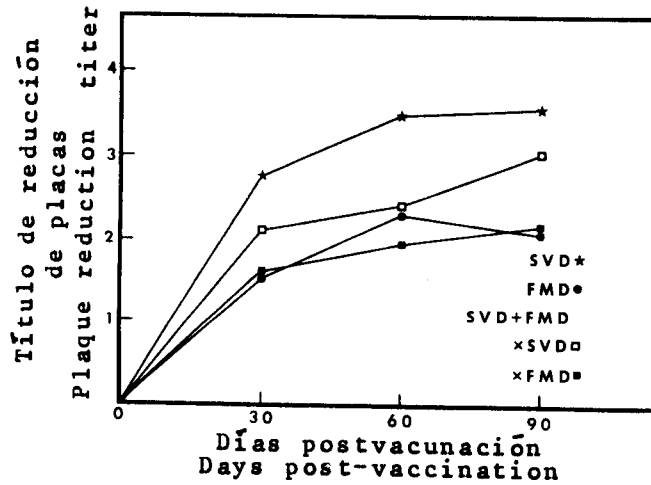


FIGURA 1: Títulos promedio de reducción de placas de sueros de cerdos (experimento C) vacunados con vacuna de la enfermedad vesicular del cerdo, con vacuna de fiebre aftosa (trivalente), y con una vacuna mixta de enfermedad vesicular del cerdo y fiebre aftosa.

FIGURE 1: Mean plaque-reduction titers of serums from swine (experiment C) vaccinated with swine vesicular disease vaccine, foot-and-mouth disease vaccine (trivalent), and a mixed swine vesicular disease and foot-and-mouth disease vaccine.

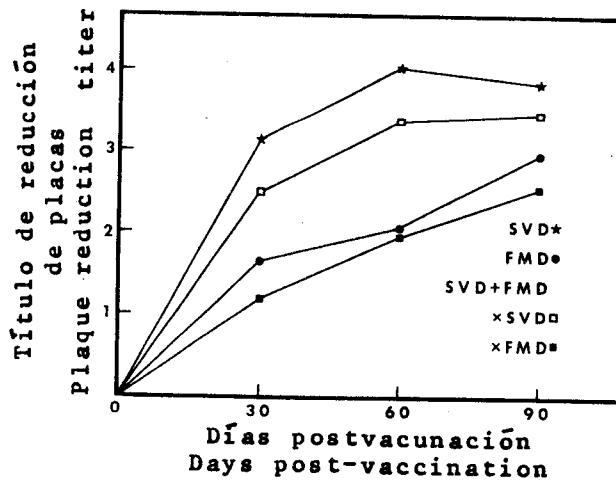


FIGURA 2: Títulos promedio de reducción de placas de sueros de cerdos (experimento D) vacunados con una vacuna mixta (enfermedad vesicular del cerdo y fiebre aftosa), con vacuna de la enfermedad vesicular del cerdo y con vacuna de fiebre aftosa.

FIGURE 2: Mean plaque-reduction titers of serums from swine (experiment D) vaccinated with a mixed vaccine (swine vesicular disease and foot-and-mouth disease), swine vesicular disease vaccine and foot-and-mouth disease vaccine.

TABLA 4: Comparación según puntaje entre cerdos vacunados y no vacunados (Experimento C)

TABLE 4: Comparison of responses between vaccinated and nonvaccinated swine as indicated numerically (Experiment C)

S u i n o s S w i n e	Puntaje medio* Mean score*
Controles (no vacunados) Controls (non-vaccinated)	16
Vacuna contra EVC (solamente) SVD vaccine (only)	2
Vacuna contra FA (solamente) Foot-and-mouth disease vaccine (only)	4
Vacunas combinadas x virus de la EVC Combined vaccines x SVDV	3.5
Vacunas combinadas x virus de la FA Combined vaccines x FMDV	4.5

- \* Puntaje - escala de 0 a 4 para cada pata; por ej., el puntaje máximo para un animal generalizado es 16.  
\* Score - scale 0 to 4 for each foot; i.e., maximum score for generalized animal is 16.

TABLA 5: Desafío de inmunidad de cerdos vacunados con vacuna monovalente o bivalente de adyuvante oleoso conteniendo virus inactivado de fiebre aftosa (VFA) y/o virus de la enfermedad vesicular del cerdo (VEVC) (Experimento D)

TABLE 5: Challenge of immunity of swine vaccinated with monovalent or a bivalent oil-adjuvanted vaccine containing inactivated foot-and-mouth disease virus (FMDV) and/or swine vesicular disease virus (SVDV) (Experiment D)

S u i n o s S w i n e	Días post- vacunación Days post- vaccination	Numero de protegidos Number protected
VEVC*/SVDV*		
No vacunados/Not vaccinated	90	0/3
Vacunados con VEVC/Vaccinated with SVDV	90	2/2
Vacunados con vacuna bivalente Vaccinated with bivalent vaccine	90	4/4
VFA*/FMDV*		
No vacunados/Not vaccinated	90	0/3
Vacunados con VFA/Vaccinated with FMDV	90	2/2
Vacunados con vacuna bivalente Vaccinated with bivalent vaccine	90	3/4

- \* Virus usado en la prueba de inmunidad.  
\* Virus used in challenge of immunity.

## DISCUSION

El efecto de la vacuna de EVC, emulsificada con adyuvante incompleto de Freund, parece adecuado para la protección del cerdo cuando se aplicó la muestra de Hong Kong o la UKG. En nuestros experimentos, a diferencia de los de Mowat *et al.* (1), los títulos máximos no se obtuvieron a los 7 DPV y en general, no mostraron un declinio durante 99 días.

Cuando se preparó una vacuna polivalente o combinada de FA y EVC, los cerdos reaccionaron de manera normal tanto a los antígenos de virus FA como EVC. En base a la masa antigénica indicada por la prueba de FC, podríamos esperar una protección de aproximadamente el 50% de los cerdos del experimento C. Según se indica en la Tabla 4, éste es aproximadamente el resultado obtenido.

En el experimento D se combinó un antígeno purificado de virus de EVC, en dosis de menor volumen. Como se observa en la Tabla 5, los resultados fueron satisfactorios. De acuerdo con la estimación de la prueba de FC, la dosis de antígeno hubiera dado una protección adecuada.

Los resultados obtenidos cuando 4 cerdos vacunados se pusieron en contacto con cerdos infectados de FA, revelaron que 3 estaban protegidos; sin embargo, el único enfermo sólo tuvo una pequeña lesión en la uña de una pata, que, conforme el método de puntaje presentado en la Tabla 4, le daría a este animal 2 puntos y al grupo un total de 0,5.

El antígeno de virus EVC incluido en la vacuna del experimento C, había sido inactivado 2 años antes y los antígenos de

## DISCUSSION

The response of the SVD oil adjuvanted vaccine appears adequate for the protection of the swine when either the Hong Kong or UKG isolate was tested. In our experiments, unlike those of Mowat *et al.* (1), peak titers were not reached at 7 DPV and in general did not show a decline through 99 days.

When a polyvalent or combined FMD and SVD vaccine was prepared, the swine responded to both FMD and SVD virus antigens in a normal manner. On the basis of the antigen mass as indicated by the CF test, one could expect that approximately 50% of the swine in experiment C would be protected. As indicated in Table 4, this is approximately the result obtained.

In experiment D, a purified FMD virus antigen was combined with a concentrated SVD virus antigen in smaller dose volumes, and results were satisfactory as indicated in Table 5. The antigen dose used as estimated by the CF test would be expected to provide adequate protection. The results obtained when 4 of the vaccinated swine were exposed to swine infected with FMD indicate that 3 of 4 were protected; however, the infected animal had only a small lesion on the claw of one foot which by the method of scoring in Table 4 would give this animal a score of 2 and a score of 0.5 for the group.

The SVD virus antigen included in the vaccine in experiment C had been inactivated 2 years previously, and the FMD virus antigens had been prepared 3 years previously and stored at 4° C. In both instances, the

virus de FA preparado 3 años antes y guardados a 4° C. En ambos casos, no se apreció una diferencia antigénica frente a la respuesta que se obtuvo cuando recién se prepararon (información no presentada). El antígeno purificado de virus de la FA, incluido en el experimento D, se elaboró 4 años antes, y la respuesta fue dentro del rango esperado. Aparentemente, cuando se inactivan estos antígenos con AEI y se guardan en forma acuosa a 4° C, son razonablemente estables. Antígenos de estas particulares cepas pueden conservarse en forma acuosa por considerable tiempo, antes de preparar vacunas.

Se observó que la inactivación del virus EVC con AEI sigue una reacción de primer orden (información no mostrada). Las pruebas de inocuidad del virus tratado confirmaron la inactivación del agente. De este modo, una vacuna simplificada puede ser útil como una medida más de control de la EVC, cuando ocurren brotes y la erradicación sola no elimina el problema. Los resultados, sin embargo, indican que es factible una vacuna mixta.

antigenic response to these antigens was not appreciably different from the responses obtained when they were first prepared (data not shown). The purified FMD virus antigen included in experiment D had been prepared 4 years previously, and the response was within the expectancy range. Apparently, these antigens when inactivated with AEI and stored in an aqueous form at 4° C are reasonably stable, and antigens for these particular strains could be stored in aqueous form for a considerable period of time before vaccine preparation.

The inactivation of the SVD virus with AEI was shown to follow a first-order reaction (data not shown), and innocuity tests of the treated virus confirmed the inactivation of the agent. Thus, as a further control method for SVD, where outbreaks occur and eradication alone does not eliminate the condition, a simplified vaccine could prove useful. The results indicate that a mixed FMD-SVD oil adjuvanted vaccine is at least feasible.

#### ACKNOWLEDGMENTS

The technical assistance of Messrs William Doroski and Nicholas J. Shuot and Mrs. Elizabeth King is acknowledged.

## REFERENCIAS - REFERENCES

1. MOWAT, G.N.; PRINCE, M.J.; SPIER, R.E.; STAPLE, R.F.  
Preliminary studies on the development of a swine vesicular disease vaccine. *Arch. ges. Virusforsch.* 44 (4): 350-360, 1974.
2. DHENNIN, L.; GOURREAU, J.M.; DHENNIN, L.  
Resultat d'un essai preliminaire de vaccination contre la maladie vesiculeuse du porc. *Proc. 41st General Session O.I.E. Commission*, Paris, May 1973.
3. BACHRACH, H.L.; MCKERCHER, P.D.  
Immunology of foot-and-mouth disease in swine: experimental inactivated virus vaccines. *J. Am. vet. med. Ass.* 160 (4). 521-526, 1972.
4. MCKERCHER, P.D.; BACHRACH, H.L.  
A foot-and-mouth disease vaccine for swine. *Can. J. comp. Med.* 40 (1): 67-74, 1976.
5. GIRARD, M.; LOQUERIE, R.; COLSON, X.; MARALL, A.; CASADEVALL, P.; PRUNET, P.  
An industrial vaccine against foot-and-mouth disease - used on sows - vaccination of piglets. *Proc. 3rd Int. Cong., Soc. Int. Med. Vet. Porcine* (Abstract), Lyon, France, 1974.
6. MOWAT, G.N.  
Quantities of purified antigen required to immunize swine against foot-and-mouth disease. *Bull. Off. int. Epiz.* 77 (5-6); 887-897, 1972.
7. GRAVES, J.H.; ARLINGHAUS, R.B.  
Acetyleneimine in the preparation of inactivated foot-and-mouth disease vaccines. *Proc. U.S. live Stk. sanit. Ass. 71st ann. mtg.*: 396-403, 1968.
8. MENGELING, W.L.  
Personal communication.
9. WAGNER, G.G.; CARD, J.L.; COWAN, K.M.  
Immunochemical studies of foot-and-mouth disease. VII. Characterization of foot-and-mouth disease virus concentrated by polyethylene glycol precipitation. *Arch. ges. Virusforsch.* 30 (4): 343-352, 1970.
10. HENDERSON, W.M.  
A comparison of different routes of inoculation of cattle for detection of the virus of foot-and-mouth disease. *J. Hyg. (Camb.)* 50 (2): 182-194, 1952.
11. MCKERCHER, P.D.; GIORDANO, A.R.  
Foot-and-mouth disease in swine. I. The immune response of swine to chemically-treated and nontreated foot-and-mouth disease virus. *Arch. ges. Virusforsch.* 20 (1): 39-53, 1967.
12. McVICAR, J.W.; SUTMÖLLER, P.; ANDERSEN, A.A.  
Foot-and-mouth disease virus: plaque reduction neutralization test. *Arch. ges. Virusforsch.* 44 (2): 168-172, 1974.



OBSERVACIONES SOBRE EL RIESGO DE OCURRENCIA DE FIEBRE AFTOSA\*  
OBSERVATIONS ON THE RISK OF OCCURRENCE OF FOOT-AND-MOUTH DISEASE\*

Málaga, H.<sup>1</sup>, Wanderley, M.<sup>1</sup>, De la Canal, H.<sup>2</sup>,  
Saraiva, V.<sup>3</sup>, Azeredo, R.<sup>3</sup>, Peleteiro, A.<sup>3</sup>,  
Dora, F.<sup>4</sup>, Coelho, J. C.<sup>4</sup>,  
Santos, W.<sup>5</sup>, Remigio, C.<sup>6</sup>

## RESUMEN

En 1974, el Ministério de Agricultura del Brasil, en colaboración con el Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (CPFA), efectuó un diagnóstico de situación de la fiebre aftosa para planificar el combate de la enfermedad en los estados de Goiás, Mato Grosso, Rio de Janeiro y Sergipe. El diagnóstico se hizo mediante un estudio retrospectivo por muestreo para los años 1972 y 1973, en 3.127 establecimientos con bovinos. Paralelamente, se analizaron algunas informaciones producidas por el sistema integrado de informaciones sobre fiebre aftosa del estado de Rio Grande do Sul.

Esos estudios revelaron un mayor riesgo de fiebre aftosa en las áreas sin programa de vacunación, en los municipios con mayor densidad bovina y,

## ABSTRACT

In 1974, the Brazilian Ministry of Agriculture, in cooperation with the Pan-American Foot-and-Mouth Disease Center (PAFMDC) carried out a diagnosis of the foot-and-mouth disease situation in order to serve as a basis in planning for the control of the disease in the states of Goiás, Mato Grosso, Rio de Janeiro and Sergipe. The diagnosis was carried out through a retrospective sample study for the years 1972 and 1973 on 3,127 cattle farms. As a comparison some of the information on foot-and-mouth disease produced by the integrated information system in the state of Rio Grande do Sul was also analyzed.

These studies showed a higher risk of FMD in the areas not having a vaccination program, in those municipalities with

\* Trabajo presentado en el XV Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária. Rio de Janeiro, 25-30 de outubro de 1976.

<sup>1</sup> Centro Panamericano de Fiebre Aftosa. Caixa Postal 589, ZC-00, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

<sup>2</sup> Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO).

<sup>3</sup> Ministério da Agricultura, Brasil.

<sup>4</sup> Secretaria da Agricultura, Rio Grande do Sul, Brasil.

<sup>5</sup> Secretaria da Agricultura, Mato Grosso, Brasil.

<sup>6</sup> Secretaria da Agricultura, Goiás, Brasil.

asimismo, una asociación positiva con el tamaño del rebaño. Las explotaciones lecheras declararon, comparativamente, menos episodios de la enfermedad que las de carne. La enfermedad puede ser estacional y su mayor frecuencia influida por la época de mayor tránsito de bovinos para mataderos.

greater cattle density, and similarly, a positive association with herd size. Dairy farms showed, in comparison, fewer outbreaks of the disease than beef cattle farms. The disease can be seasonal, with greatest frequency influenced by the period of greatest animal movement to slaughterhouses.

### INTRODUCCION

En 1971, Brasil comenzó la ejecución de la primera etapa, de 4 años, del Plan Nacional de Combate a la Fiebre Aftosa (PNCFA), en los estados de Bahía, Espírito Santo, Minas Gerais, Paraná, Rio Grande do Sul, Santa Catarina y São Paulo. Uno de los hechos más significativos de esa etapa fue la formulación y establecimiento de un sistema de información, asesorado por el CPFPA (1,2, 3), que ha permitido la operación de un Sistema Integrado de Información, el control de gestión y la evaluación del Plan.

En 1974 comenzó a planificarse la segunda etapa, para incorporar en el período 1975/78 los estados de Goiás, Mato Grosso, Rio de Janeiro y Sergipe. Para tal efecto, la Coordinación Nacional de Combate a la Fiebre Aftosa (CCFA), con la colaboración del CPFPA, realizó, entre enero y marzo de 1974, una serie de estudios retrospectivos, por muestreo, para estimar la situación de riesgo y la magnitud del problema de la fiebre aftosa en esos estados.

El objetivo de este trabajo es el de describir algunos tipos de datos y presentar algunas observaciones iniciales so-

### INTRODUCTION

In 1971, Brazil started the first 4-year stage of its National Plan for the Control of Foot-and-Mouth Disease (Plano Nacional de Combate à Febre Aftosa, PNCFA), in the states of Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais, Paraná, Rio Grande do Sul, Santa Catarina and São Paulo. One of the most significant events of this stage was the development of an information system, with the assistance of the Pan-American Foot-and-Mouth Disease Center (PAFMDC) (1, 2, 3) which led to an Integrated Information System, with data useful in evaluating and adapting the Plan.

In 1974, planning for the second stage began, for the incorporation of the states of Goiás, Mato Grosso, Rio de Janeiro and Sergipe in 1975-78. In order to estimate the situation of risk and the magnitude of the problem of FMD in those states, the National Coordination for the Control of FMD (Coordenação de Combate à Febre Aftosa, CCFA) with the cooperation of the PAFMDC, carried out, from January to March 1974, a series of retrospective sample studies.

The objective of this paper is to describe some types of

bre el riesgo de enfermar por fiebre aftosa en sentido espacial y temporal, proveniente de los sistemas integrados de información obtenidos por procedimientos ocasionales (encuestas retrospectivas de Goiás, Mato Grosso, Rio de Janeiro y Sergipe) y continuos (Rio Grande do Sul, estado que estableció el primer sistema de información) como término de comparación.

data and present some initial observations on the risk of FMD in space and time. The data was obtained from the integrated information systems collected by retrospective surveys in Goiás, Mato Grosso, Rio de Janeiro and Sergipe as well as by continuous procedures such as Rio Grande do Sul, which established the first information system.

#### MATERIAL Y METODOS

La tabla 1 contiene la distribución espacial de la población bovina objeto del estudio retrospectivo y del estado de Rio Grande do Sul, sujeto al sistema de información del PNCFA.

La información considerada fue la siguiente:

1. Relativa a la población bovina en la región: a) tamaño; b) densidad; c) cantidad de rebaños afectados; d) política sanitaria (estar o no en el PNCFA).

2. Relativa a los rebaños bovinos: a) tamaño; b) finalidad; c) cantidad de rebaños vacunados; d) calidad de la vacunación; e) conservación de la vacuna; f) intervalo entre vacunaciones; g) ocurrencia de la fiebre aftosa y mes de inicio del episodio; h) tránsito de animales.

Los procedimientos de recolección de la información fueron los siguientes:

1. Encuestas por muestreo, mediante entrevista de carácter retrospectivo en Goiás, Mato Grosso, Rio de Janeiro y Sergipe. La muestra se estratificó por micro regiones o

#### MATERIALS AND METHODS

Table 1 shows the spatial distribution of the cattle population, which was studied in the retrospective survey, as well as that of the state of Rio Grande do Sul which was under the PNCFA information system.

Information considered in both systems included:

1. Cattle population in the region: a) size; b) density; c) number of affected herds; d) animal health policy (covered or not covered in PNCFA).

2. Cattle herds: a) size; b) type of operation; c) number of vaccinated herds; d) quality of vaccination; e) vaccine conservation; f) interval between vaccinations; g) occurrence of FMD and month in which outbreak began; and h) animal movement.

Information was collected in sample surveys, through retrospective interviews in Goiás, Mato Grosso, Rio de Janeiro and Sergipe. The sample was stratified by micro-regions or areas, with allocation proportional to the size of the population. A total of 3,127 livestock owners (1.5%) were interviewed.

f TABLA 1: Superficie en km<sup>2</sup>, población bovina y rebaños existentes en los estados estudiados

TABLE 1: Area in km<sup>2</sup>, cattle population and existing herds in the states studied

Estado State	Superficie Area	Población (miles) Population (thous)	Rebaños Herds
Goiás	642.036	7.756 <sup>a</sup>	78.316
Mato Grosso	1.231.549	8.776 <sup>b</sup>	87.375
Sergipe	21.994	418 <sup>c</sup>	17.444
Rio de Janeiro	42.134	1.187 <sup>d</sup>	28.012
Rio Grande do Sul	267.528	12.145 <sup>e</sup>	359.252

a) Censo Agropecuario, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), 1970.

b) Censo Agropecuario IBGE, 1970 (Regiones del Pantanal y Sureste del Estado).

c) Cadastro de Imóveis Rurais, Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária (INCRA), 1972.

d) Levantamento Grupo Executivo de Combate à Febre Aftosa, Rio de Janeiro (GECOFA/RIO), 1968, IBGE, 1970.

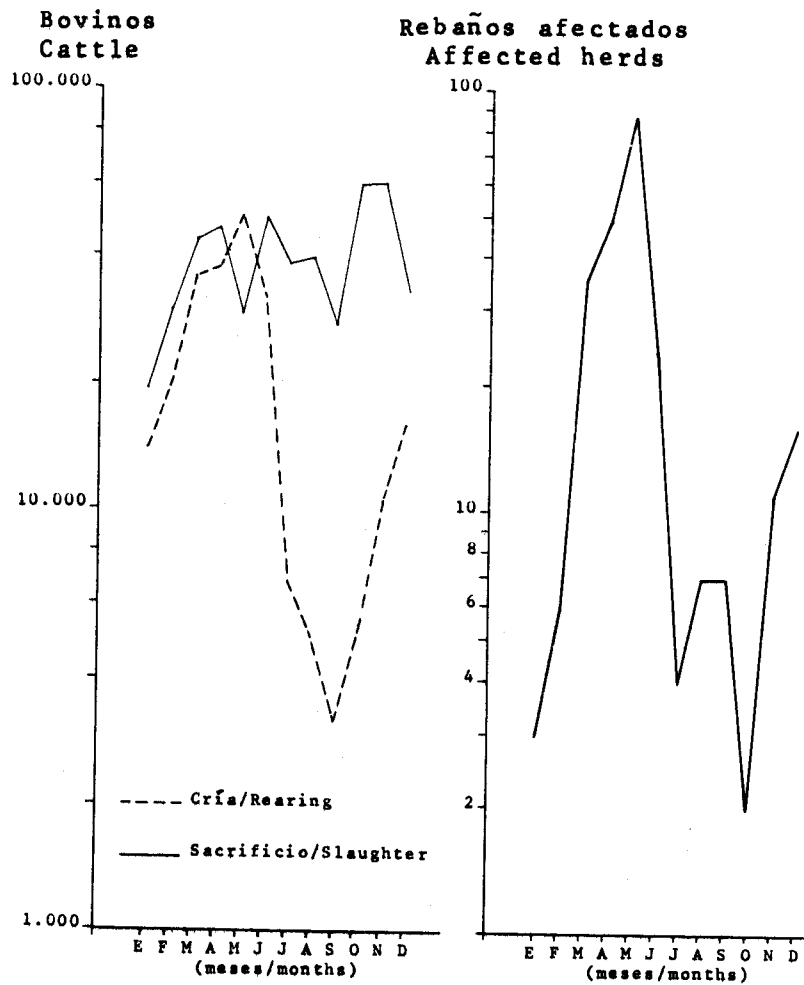
e) Ministério de Agricultura - Secretaria de Agricultura, dados sobre população bovina, 1973.

TABLA 2: Ocurrencia de fiebre aftosa en los rebaños encuestados según su condición de vacunar o no, estado do Rio de Janeiro - 1972

TABLE 2: Occurrence of foot-and-mouth disease in herds surveyed, according to whether they were vaccinated or not State of Rio de Janeiro - 1972

Vacunados Vaccinated	Ocurrencia/Occurrence					
	Con aftosa With FMD		Sin aftosa Without FMD		T o t a l	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Si/Yes	80	12	598	88	678	100
No	30	25	89	75	119	100
T o t a l	110	14	687	86	797	100

$\chi^2 = 15,30$  (P < 0,001).



FUENTE: Secretaria de Agricultura. Equipe de Combate à Febre Aftosa - Estado do Rio Grande do Sul.

FIGURA 1: Movimiento mensual de bovinos para sacrificio, cría y rebaños afectados por fiebre aftosa, regional de Bagé, 1973. Estado do Rio Grande do Sul.

FIGURE 1: Monthly movement of cattle for slaughter, rearing and herds affected by FMD, Bagé regional, 1973. State of Rio Grande do Sul.

áreas, con alocación proporcional al tamaño de la población. Se entrevistaron 3.127 ganaderos (1,5%).

2. Sistema de información del PNCFA (3, 4, 5, 6) para el estado de Rio Grande do Sul.

Data from the information system of the PNCFA (3, 4, 5, 6) for the state of Rio Grande do Sul provided a basis of comparison with the sample surveys data.

## RESULTADOS

Se realizó un análisis espacial de la enfermedad (Tablas 2 a 9) y un análisis temporal de la misma (Tablas 10 y 11 y Fig. 1).

## DISCUSION

### *Fiebre aftosa en el espacio geográfico*

1. Regiones y riesgo de fiebre aftosa en función de la política sanitaria:

En 1973, el sistema de información notificó en el área incluida en el programa, que comprendía aproximadamente 1 millón de rebaños, un 0,9% de rebaños afectados (7). En cambio, el estudio retrospectivo estimó, para el mismo año, en un área con 240.000 rebaños aproximadamente, un 16% de rebaños afectados en Goiás, un 30% en Mato Grosso, un 19% en Sergipe y un 12% en Rio de Janeiro.

Estas diferencias podrían ser atribuidas a los efectos de la implantación de los programas de aftosa, desde que cifras similares a las encontradas en los estados sin programa se habían estimado al inicio en los estados actualmente con programa.

2. Relaciones entre riesgo y vacunar o no a los rebaños:

## RESULTS

The results of a spatial analysis of the disease are listed in Tables 2-9. In Tables 10 and 11 and in Fig. 1 the results of the temporal analysis are summarized.

## DISCUSSION

### *FMD in geographic space*

1. Regions and risk of FMD as a function of animal health policy:

In 1973, data from the information system indicated that 0.9% of the approximately 1 million herds in the total program area were affected (7). Through the retrospective interviews for the same year, in an area of approximately 240,000 herds located outside the program area, it was estimated that 16% of the herds were affected in Goiás, 30% in Mato Grosso, 19% in Sergipe and 12% in Rio de Janeiro.

These differences may be attributed to the effects resulting from the introduction of the FMD program, since similar figures in the states without programs had been estimated in those states when the program started.

2. Relationship between FMD and vaccinating herds or not:

TABLA 3: *Ocurrencia de fiebre aftosa en los rebaños encuestados, según calidad de los procedimientos de vacunación\*, estado do Rio de Janeiro - 1972*

TABLE 3: *Occurrence of FMD in herds surveyed, according to the quality of vaccination procedures\* State of Rio de Janeiro - 1972*

Vacunar bien Vaccinate well	Con aftosa With FMD		Sin aftosa Without FMD		T o t a l	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Si/Yes	48	9	461	91	509	100
No	32	19	137	81	169	100
T o t a l	80	12	598	88	678	100

\* Definido por un intervalo de 4 en 4 meses y una correcta conservación de vacuna.

\* Defined as a 4-month interval and correct vaccine storage.  
 $\chi^2 = 11,01$  (P < 0,001).

TABLA 4: *Ocurrencia de fiebre aftosa en los rebaños encuestados según la periodicidad del intervalo de vacuna contra aftosa, estado de Mato Grosso - 1972*

TABLE 4: *Occurrence of FMD in herds surveyed, according to length of interval of FMD vaccination State of Mato Grosso - 1972*

Intervalo Interval	Ocurrencia/Occurrence					
	Con aftosa With FMD		Sin aftosa Without FMD		T o t a l	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
4 - 4	75	14	462	86	537	100
6 - 6	44	28	114	72	158	100
Año a año y esporádicos Yearly or sporadic	47	54	40	46	87	100
T o t a l	166	21	616	79	782	100

$\chi^2 = 78,2$  (P < 0,0001).

Según los datos obtenidos por encuestas retrospectivas (ej. estado de Rio de Janeiro), se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre grupos de establecimientos, según su característica de vacunar o no vacunar (Tabla 2).

3. Relación entre riesgo y calidad de los procedimientos de vacunación:

La diferencia anteriormente mencionada, se hizo más notable a favor de los rebaños "bien vacunados" (Tabla 3), al hacerse la comparación entre los que vacunaban bien y los que vacunaban mal.

4. Relaciones entre riesgo e intervalo de vacunación:

Al examinar la incidencia de fiebre aftosa, según el intervalo de aplicación de vacunas, se encontró una asociación positiva entre intervalos e incidencia (Tabla 4).

Los sistemas de información regulares también muestran la misma característica, es decir, una asociación positiva entre el período postvacunal y la mayor frecuencia de fiebre aftosa (Tabla 5).

*El riesgo en función de características de la población bovina*

1. Relación entre riesgo y la densidad regional:

En la definición de riesgo se debe destacar la importancia de la densidad de la comunidad bovina, pues como era de esperar, la enfermedad fue más frecuente en las regiones más densamente pobladas (Tabla 6).

2. Relación entre riesgo y tamaño del rebaño:

Los rebaños grandes mostraron mayor probabilidad de tener problemas que los rebaños pequeños (Tabla 7). Esta situación fue encontrada en regiones

According to data obtained in retrospective surveys (ie., the state of Rio de Janeiro), statistically significant differences were found between groups of farms which did or did not vaccinate (Table 2).

3. Relationship between risk and quality of vaccination procedures:

The difference noted above was emphasized even more in favor of "well vaccinated" herds (Table 3) when the comparison was made between those farms classified as "well vaccinated" and "poorly vaccinated".

4. Relationship between risk and vaccination interval:

When incidence of FMD was reviewed, in terms of the interval of vaccine applications, a positive association was found between increased interval and incidence (Table 4). Regular information systems also show the same characteristic, that is, a positive association between the increase in post-vaccination period and the greater frequency of FMD (Table 5).

*Risk as a function of cattle population characteristics*

1. Relationship between risk and regional density:

In the definition of risk, the importance of density within the cattle community should be mentioned, since, as supposed, the disease was more frequent in more densely populated regions (Table 6).

2. Relationship between risk and herd size:

Large herds showed a higher probability of having FMD than small herds (Table 7). This situation was found in regions where large herds predominated



TABLA 5: *Rebaños afectados según el período postvacunal, regional de Uruguayana, estado do Rio Grande do Sul, Octubre 1972 - Septiembre 1973*

TABLE 5: *Affected herds, by length of post-vaccination period, Uruguayana Region, state of Rio Grande do Sul, October 1972 - September 1973*

Período postvacunal (días) Post-Vaccination Period (days)	Rebaños afectados Affected herds	Tasa en % de rebaños afectados* Rate in % of affected herds*
<30	13	0,3
30 - 60	13	0,3
61 - 90	50	1,2
91 - 120	55	1,3
>120	14**	0,4
<b>T o t a l</b>	<b>145</b>	<b>3,6</b>

\* Estimado para una media de 4.000 rebaños en la región.

\* Estimated for an average of 4,000 herds in the region.

\*\* La disminución de la frecuencia en esta categoría se debe a que el programa establece un calendario de vacunaciones de 4 en 4 meses.

\*\* The decreasing frequency in this category is due to the fact that the program establishes a four-month vaccination timetable.

TABLA 6: *Ocurrencia de fiebre aftosa en los rebaños encuestados según densidad bovina del municipio, estado de Mato Grosso - 1973*

TABLE 6: *Occurrence of FMD in herds surveyed, according to cattle density in the municipality, State of Mato Grosso - 1973*

Densidad por municipio-km <sup>2</sup> Density by municipality-km <sup>2</sup>	Ocurrencia/Occurrence					
	Con aftosa With FMD		Sin aftosa Without FMD		T o t a l	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
<15	67	23	221	77	288	100
16 - 30	78	24	253	76	331	100
31 - 50	17	30	40	70	57	100
>50	109	47	125	53	234	100
<b>T o t a l</b>	<b>271</b>	<b>30</b>	<b>639</b>	<b>70</b>	<b>910</b>	<b>100</b>

$\chi^2 = 43.548$  (P < 0,0001).

donde predominaban los grandes rebaños (estado de Mato Grosso) así como también en regiones donde predominaban los rebaños pequeños (Rio de Janeiro).

El sistema de información de Rio Grande do Sul también detectó una situación similar en dos municipios de distinta predominancia, uno con rebaños pequeños (Estrela) y el otro con rebaños grandes (Bagé) (Tabla 8).

En este caso, se observó una menor frecuencia relativa en los rebaños muy grandes, que no se observó en los estudios retrospectivos. Esto podría deberse a que en los estudios retrospectivos, este tipo de rebaños estaría contenido en la clasificación de grandes, diluyéndose esta observación.

La influencia del número de animales que componen el rebaño y la densidad regional y su asociación con fiebre aftosa, ya fue observada por Hugh-Jones (8), quien explica dicha relación en función de la capacidad de "muestreo de aire". Así, un rebaño de 100 bovinos tendría 10 veces más capacidad de "muestreo de aire", que un rebaño de 10 bovinos.

### 3. Relación entre riesgo y finalidad del rebaño:

En las regiones estudiadas se observó una menor incidencia de fiebre aftosa en los rebaños lecheros (Tabla 9).

Esto refleja, posiblemente, diferencias en cuanto a antecedentes de inmunizaciones entre los diferentes tipos de rebaños. Los rebaños lecheros estarían mejor protegidos que los rebaños de carne. Además, los rebaños de carne y especialmente los dedicados a la fase de engorde tendrán mayor riesgo de exposición debido a la mayor

(state of Mato Grosso), as well as in regions where small herds predominated (Rio de Janeiro).

Through the information system of Rio Grande do Sul it was also possible to detect a similar situation in two municipalities having different predominance of herd size, one with small herds (Estrela) and the other with large herds (Bagé) (Table 8). In this case, a lesser frequency was observed relative to the very large herds, which was not observed in the retrospective studies. This could be due to the fact that in the retrospective studies this type of herd was contained within the classification of "large", obscuring this observation.

The influence of the number of animals in a herd and the regional density and its association with FMD has already been observed by Hugh-Jones (8), who explained this relationship as a function of the capacity of "air sampling". Thus, a herd with 100 cattle would have 10 times more capacity of "air sampling" than a herd of 10 cattle.

### 3. Relationship between risk and type of operation:

In the regions studied, a lower incidence was noted in dairy herds (Table 9).

This possibly reflects differences in the immunization history between the different types of herds. Dairy herds would be better protected than beef herds. Also, beef herds and especially those engaged in finishing operations would have a greater risk of exposure due to the greater frequency of new animals entering the herd.

TABLA 7: *Ocurrencia de fiebre aftosa en los rebaños encuestados según tamaños del rebaño, estado do Rio de Janeiro - 1973*

TABLE 7: *Occurrence of FMD in herds surveyed, according to size of herd State of Rio de Janeiro - 1973*

Rebaño Herd	Ocurrencia/Occurrence					
	Con aftosa With FMD		Sin aftosa Without FMD		T o t a l	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
1 - 150	81	12	600	88	681	100
151 - 400	8	9	86	91	94	100
401 - 500	8	36	14	64	22	100

$\chi^2 = 13,27$  (P < 0,01).

TABLA 8: *Distribución de rebaños existentes y afectados según su tamaño, estado do Rio Grande do Sul - 1973*

TABLE 8: *Distribution of herds existing and affected, according to their size State of Rio Grande do Sul - 1973*

Tamaño del rebaño Size of herd	Rebaños en Estrela Herds in Estrela			Rebaños en Bagé Herds in Bagé		
	Existentes Existing	Afectados Affected		Existentes Existing	Afectados Affected	
		Nº	%		Nº	%
1 - 50	47.821	1.237	2,6	11.146	46	4,0
51 - 100	341	19	5,6	1.687	30	1,8
101 - 500	97	11	11,3	1.213	102	8,4
>500	33	1	3,0	1.783	76	4,3
T o t a l	48.292	1.268	2,6	15.829	254	1,5

frecuencia de ingreso de animales.

#### *Fiebre aftosa en el tiempo*

Con relación al factor tiempo las enfermedades se ajustan a un modelo. Durante su primera fase existiría una tendencia al aumento, hasta que alcanza un estado de saturación de la población animal. Cuando ocurre esta saturación, se mantendrían con altas y bajas definidas por la renovación de la población susceptible. Dentro de este comportamiento, si la enfermedad es transmitida por contacto directo, por ejemplo aerosoles, como es el caso corriente de la fiebre aftosa (9), tendría patrones estacionales, si es que existieran períodos de mayor contacto entre los susceptibles.

Debido al corto período de tiempo cubierto por los estudios retrospectivos y por el riesgo que estudios de esta naturaleza tienen para reconocer una tendencia, o un comportamiento cíclico, sólo estudiamos sus características estacionales.

#### *Relaciones entre el riesgo temporal y el movimiento de animales*

Los estudios retrospectivos verificaron la estacionalidad de la fiebre aftosa y su mayor frecuencia, en el período de safra de Mato Grosso, que corresponde a la época de mayor movimiento de animales (Tabla 10).

Esta situación también se observó en el estado de Rio de Janeiro, en la época de entre-safras, en la que ingresa con mayor intensidad el ganado de otros estados para ser sacrificado en la región (Tabla 11).

#### *FMD in time*

In terms of the time factor, diseases adjust themselves to a model. During their first phase diseases tend to increase, until a saturation state within the animal population is reached. When this saturation occurs, its incidence is maintained with highs and lows as defined by the renovation of the susceptible population. If the disease is communicated through direct contact as is common with FMD and if there exist periods of greater contact among the susceptible population, then there also will be seasonal patterns.

Due to the short period of time covered by the retrospective studies, making it difficult to recognize a tendency or a cyclical behavior, we only studied the seasonal characteristics of the disease.

#### *Relationship between temporal risk and animal movement*

The retrospective studies verified the seasonal occurrence of FMD and its greater frequency in the period when the animals are brought to market in Mato Grosso, which corresponds to the time of greatest animal movement (Table 10). This situation also occurred in the state of Rio de Janeiro, in the periods when cattle from other states enter in large numbers to be slaughtered (Table 11).

The first type of relationship was observed in Bagé which does not receive animals, since an almost perfect concordance was shown with the movement of adult cattle destined for slaughter.

TABLA 9: *Ocurrencia de fiebre aftosa en los rebaños encuestados según finalidad del rebaño, estado de Goiás - 1973*

TABLE 9: *Occurrence of FMD in herds surveyed, according to type of operation State of Goiás - 1973*

Finalidad Type of operation	Ocurrencia/Occurrence					
	Con aftosa With FMD		Sin aftosa Without FMD		T o t a l	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Carne/Beef	62	25	183	75	245	100
Leche/Dairy	32	8	364	92	396	100
Mixto/Mixed	70	20	277	80	347	100

$X^2 = 33,37$  (P < 0,01).

TABLA 10: *Distribución de la incidencia de fiebre aftosa mensual en los rebaños encuestados, estado de Mato Grosso - 1973*

TABLE 10: *Distribution of monthly FMD incidence in surveyed herds State of Mato Grosso - 1973*

Mes / Month	Fiebre Aftosa/FMD	
	Frecuencia Frequency	%
	En./Jan.	16
Febr.	19	7
Mar.	21	8
Abr./Apr.	18	7
May.	20	7
Jun.	8	3
Jul.	14	5
Ago./Aug.	23	8
Set./Sept.	33	12
Oct.	32	12
Nov.	31	11
Dic./Dec.	37	14
T o t a l	272	100

TABLA 11: *Distribución de la incidencia de fiebre aftosa mensual en los rebaños encuestados, estado do Rio de Janeiro - 1973*

TABLE 11: *Distribution of monthly FMD incidence in surveyed herds State of Rio de Janeiro - 1973*

Mes / Month	Fiebre Aftosa/FMD	
	Frecuencia Frequency	%
En./Jan.	5	5
Febr.	5	5
Mar.	8	8
Abr./Apr.	4	4
May.	6	6
Jun.	10	10
Jul.	13	13
Ago./Aug.	15	16
Set./Sept.	14	14
Oct.	3	3
Nov.	4	4
Dic./Dec.	8	8
Sin información Without information	4	4
<b>T o t a l</b>	<b>99</b>	<b>100</b>

El primer tipo de relación se observó en Bagé (región no receptora de animales), pues mostró una concordancia casi perfecta coincidente con el movimiento de bovinos adultos con destino a la faena.

Por ser ésta una enfermedad que se transmite principalmente por contacto, la máxima posibilidad de contagio ocurriría cuando se incrementa el movimiento de animales adultos en tropas, aumentando posiblemente el número de partículas virales suspendidas en aerosoles.

No podemos descartar la influencia que podría tener la composición etaria de la población en el tiempo. En Rio Grande do Sul, las pariciones son estacionales (septiembre

Since FMD is principally transmitted by contact, the greatest possibility of contagion occurs when massive adult animal movement increases, increasing the possibilities of effective contact.

We cannot exclude the influence that may come from the age composition of the population in time. In Rio Grande do Sul, births are seasonal (September and October), and the period which has the greatest percentage of non-vaccinated calves less than one year coincides with the increase in frequency of FMD-affected herds. In Rio Grande do Sul, in January 1973, 8.5% of non-vaccinated cattle were registered; in May, 0.8%; in September, 4.9%; and in Jan-

y octubre) y la época en que existe el mayor porcentaje de terneros menores de 1 año no vacunados, coincide con el alza en la frecuencia de rebaños afectados por fiebre aftosa. En Rio Grande do Sul se registró en enero de 1973 un 8,5% de no vacunados; en mayo 0,8%; en septiembre 4,9% y en enero de 1974 un 7,4% y disminuyó en mayo a 1,6% (6) (en su mayoría terneros menores de 4 meses). El mayor volumen de población desprotegida se encuentra en los meses de marzo, abril y mayo.

#### CONCLUSIONES

Se demuestra que la fiebre aftosa, como toda enfermedad infecciosa, no se distribuye en forma homogénea sobre una población, sino que su presencia está influida por una serie de características ambientales y demográficas (política sanitaria, densidad bovina, tamaño de los rebaños, finalidad de los mismos y tránsito de bovinos) que determinan su mayor o menor frecuencia temporal y espacial.

Estas características deben ser tomadas en cuenta en la definición de estrategias de combate por los organismos encargados del control de la enfermedad.

uary 1974, 7.4%. This figure decreased in May to 1.6% (6) mostly in calves less than 4 months old. The greatest volume of unprotected population is found in the months of March, April and May.

#### CONCLUSIONS

It has been shown that FMD, like all infectious diseases, is not distributed homogeneously in a population. Rather, its presence is influenced by a series of environmental characteristics, as well as demographic (animal health policy, cattle density, herd size, type of operation, and cattle movement) which determine the disease's greater or lesser frequency in time and space.

This type of analysis should be carried out by agencies charged with FMD control in order to better choose strategies which can be used in the control of the disease.

#### REFERENCIAS - REFERENCES

1. ASTUDILLO, V.  
Información y control de ejecución de proyectos de fiebre aftosa, primeras experiencias. Centro Panamericano de Fiebre Aftosa, 47, 1973.

2. ASTUDILLO, V.; DEPPERMAN R.; GAUTO, M.T.  
Canales de comunicación y velocidad de transmisión en sistemas de información para fiebre aftosa. Doc. nº 3 Seminario Regional sobre Sistemas de Vigilancia Epidemiológica de Enfermedades Transmisibles y Zoonosis. OPS/OMS, Rio de Janeiro, 47, dic. 1973.
3. MINISTÉRIO DE AGRICULTURA DE BRASIL, COORDENAÇÃO DE COMBATE À FEBRE AFTOSA (CCFA)  
Informações sistema integrado, 98, Brasília, 1975.
4. SECRETARIA DE AGRICULTURA, ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL, CAMPANHA NACIONAL DE COMBATE À FEBRE AFTOSA  
Publicação mensal sobre febre aftosa. Porto Alegre, jan. 1973-dez. 1974.
5. SECRETARIA DE AGRICULTURA; ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL, CAMPANHA NACIONAL DE COMBATE À FEBRE AFTOSA  
Movimentação mensal de bovinos. Porto Alegre, jan. 1973 - dez. 1974.
6. MINISTÉRIO DE AGRICULTURA/SECRETARIA DE AGRICULTURA, ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL, CAMPANHA NACIONAL DE COMBATE À FEBRE AFTOSA  
Dados sobre população bovina e vacinação antiaftosa. Porto Alegre, jan. 1973 - maio 1974.
7. MINISTÉRIO DE AGRICULTURA, COORDENAÇÃO DE COMBATE À FEBRE AFTOSA (CCFA)  
Relatórios 1º y 2º semestre. Brasília.
8. HUGH-JONES, M.E.  
Epidemiological studies in the 1967-68 foot-and-mouth epidemic: attack rates and cattle density. *Res. vet. Sci.* 13: 411-417, 1972.
9. CALLIS, J.J.  
Fiebre aftosa en bovinos, algunas relaciones entre la patogenicidad y la epizootiología. *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 13-16: 9-17, 1974.



## r e s ú m e n e s

## a b s t r a c t s

ALONSO FERNANDEZ, A.; SÖNDAHL, M.S.; PRADO, J.A.P.; KOTAIT, I.; SOUZA, J.V.L.

Texto en portugués. XV Congresso Brasileiro de Veterinária, 25-30 de outubro, 1976, Rio de Janeiro. - Centro Panamericano de Fiebre Aftosa, Rio de Janeiro, Brasil\* -

*Comportamiento antigénico entre muestras de producción de vacunas y de campo del virus de la fiebre aftosa, tipo A, aisladas en el sur de Brasil*

Las variantes del virus de la fiebre aftosa tipo A, están ampliamente difundidas y ocurren más frecuentemente en este tipo de virus que en cualquiera de los otros tipos.

El apareamiento de nuevas cepas del tipo A en el campo está íntimamente relacionado con la incidencia de la fiebre aftosa. Por tanto en las áreas donde la enfermedad es epidémica y la inmunización de la población es deficiente, son creadas las condiciones ideales para el apareamiento de nuevas variantes, las cuales se caracterizan por presentar marcadas diferencias antigénicas con relación a la cepa usada en la producción de las vacunas. Se determinaron las relaciones serológicas de las siguientes cepas: A<sub>24</sub> Cruzeiro usada en la

\* Copias de este abstracto pueden ser obtenidas en la biblioteca del Centro Panamericano de Fiebre Aftosa.

*Antigenic behaviour of vaccine strains and field strains of foot-and-mouth disease virus type A from the South of Brazil*

Variants of foot-and-mouth disease (FMD) virus type A are widespread and occur more frequently with this type than with any of the other types.

The appearance of new field strains of type A is intimately related to the incidence of FMD. Thus, in areas where the disease is epidemic and the immunization of the cattle is deficient, ideal conditions are created for the emerging of new variants, which are characterized by marked antigenic differences with the strain used for vaccine production. The serological relationship of the following strains was determined: the vaccine strains A<sub>24</sub> Cruzeiro/55, and field strains A Brazil/70, Rio Grande/74, Alegrete/75, São Paulo/75, Veneslau/76, Caçapava/76 and Pedregulho/76. These field strains were selected as being the most representative of the many samples submitted for subtyping.

elaboración de vacunas y A Brasil/70, Rio Grande/70, Alegrete/75, São Paulo/75, Venceslau/76, Caçapava/76 y Pedregulho/76. Estas cepas de campo fueron seleccionadas por ser las más representativas de las muestras sometidas a subtipificación.

Apreciables diferencias serológicas fueron observadas entre las diferentes cepas. El suero A Cruzeiro tuvo menor capacidad fijadora del complemento que el A Brasil/70 para las cepas aisladas después de 1974. Merece destacarse que las nuevas cepas mantienen ciertas relaciones serológicas con la predominante en la última onda epidémica (A Brasil/70). Sin embargo, tienen escasa relación serológica con la cepa de producción de vacuna. Es preciso realizar pruebas inmunológicas para determinar la cobertura inmunológica de las cepas utilizadas en la producción de vacunas.

Appreciable differences were observed between the various strains. The strain A Cruzeiro serum had less complement fixing capacity than A Brazil/70 for the various strains isolated since 1974. It is interesting to note that the new strains maintained a certain serological relationship with the predominant one in the latter epidemic (A Brazil/70); however they had little serological relationship with the vaccine production strain. Further tests are indicated to determine the immunological coverage of the strain for vaccine production.

BERGER, J.; SCHERMBRUCKER, C.G.; PAY, T.W.F.

Texto en inglés. 14th Conf. O.I.E. Comm., Paris, Rep. No. 213, 1975. - Vaccine Production Laboratory, Wellcome Institute for Research on FMD, Nairobi, Kenia -

*La respuesta inmune obtenida con vacunas antiaftosa cuadrivalentes en el ganado bovino en Kenia*

Pruebas llevadas a cabo en Kenia con vacunas polivalentes que incorporaban componentes virales SAT 1 o SAT 2, han sido dadas a conocer. Estas fueron preparadas con virus propagado en suspensiones de células BHK, adsorbidas en hidróxido de aluminio y contenían saponina como

*The immune response obtained with quadrivalent foot-and-mouth disease vaccines in Kenya*

Trials carried out in Kenya with polyvalent vaccines incorporating SAT 1 or SAT 2 virus components are reported. All vaccines used were prepared from virus grown in BHK cell suspensions, adsorbed on aluminium hydroxide and contained saponin as adjuvant. In the first

adyuvante. En la primera prueba, vacunas mono, bi y cuadrivalentes, fueron preparadas con idénticas cantidades de antígeno por valencia. Además, se elaboró tres vacunas cuadrivalentes empleando cantidades seriales reducidas 4.5 veces de cada antígeno. Diversas cepas de los tipos SAT 1, SAT 2, O y A fueron utilizadas, cada antígeno monovalente habiendo sido previamente probado por potencia en bovinos. Las vacunas se utilizaron para vacunar ganado (que se creía no habían experimentado vacunación previa) y para revacunarlos a 3 y 27 semanas. Las respuestas a los tipos A y O fueron similares en los bovinos que recibieron la vacuna bivalente o la cuadrivalente. Después de la segunda y tercera vacunación, las respuestas de los tipos A y O a la vacuna con cantidades reducidas de antígeno, fueron comparables a las obtenidas con las vacunas bi y cuadrivalentes. Las respuestas al SAT 2 inducidas por las vacunas monovalentes fueron mayores en todos los casos que las inducidas por las otras vacunas. Las respuestas al tipo SAT 1 producidas por vacunas mono y bivalentes, después de la primera y también de la segunda vacunación, fueron muy inferiores a lo que se había previsto, tomando en cuenta los resultados de las pruebas de potencia. Otras respuestas a este tipo, presentaron un cuadro anómalo que resultó difícil de analizar.

El segundo experimento involucró cepas de los tipos A, O, C, SAT 1 y SAT 2. De nuevo, diversas vacunas monovalentes, bivalentes y cuadrivalentes fueron preparadas conteniendo idénticas cantidades de antígeno por valencia. Se vacunaron

trial, monovalent, bivalent and quadrivalent vaccines were prepared containing identical quantities of antigen per valency. In addition, three quadrivalent vaccines were prepared using serial 4.5-fold reduced quantities of each antigen. Various strains of types SAT 1, SAT 2, O and A were used, each monovalent antigen having previously been potency tested in cattle. The vaccines were used to vaccinate cattle (believed to have no previous vaccination experience) and to revaccinate at 3 and 27 weeks. Responses to types A and O were similar in cattle receiving either bivalent or the quadrivalent vaccine. Following the second and third vaccinations, the types A and O responses to the vaccine containing reduced quantities of antigen were comparable to those obtained with the bivalent and quadrivalent vaccines. The SAT 2 responses induced by monovalent vaccines were higher in all cases than the response induced by the other vaccines. Type SAT 1 responses produced by monovalent and bivalent vaccines after the first and second vaccinations were much poorer than would have been anticipated from the potency test results. Other responses to this type presented an anomalous picture which was difficult to analyse.

The second trial involved strains of types A, O, C, SAT 1 and SAT 2. Again, various monovalent, bivalent and quadrivalent vaccines were prepared containing identical quantities of antigen per valency. Groups of cattle were vaccinated with various combinations of vaccines (e.g. A/O bivalent and SAT 2/C bivalent at two inoculation sites) and revaccinated

grupos de bovinos con varias combinaciones de las vacunas (eg. A/O bivalente y SAT 2/C bivalente en dos puntos de inoculación), revacunándolos con la misma combinación vacunal a las cuatro semanas. Títulos de anticuerpos serológicos medios fueron calculados para cada grupo de bovinos, a la 4ª semana y a la 8ª semana. No se observaron diferencias significativas en la respuesta de anticuerpos, entre los diversos grupos de bovinos, en cuanto a cualquiera de los cinco tipos virales empleados, ya sea tras la primera o después de la segunda vacunación. Los resultados de la primera prueba indicaron que niveles satisfactorios de inmunidad pueden ser logrados con las vacunas polivalentes que contengan valencias del tipo SAT 1 y SAT 2. Los resultados de la segunda prueba, indicaron que no existía ninguna ventaja ni provecho en inocular a las bestias vacuna monoivalente en puntos diferentes.

with the same combination of vaccines at 4 weeks. Mean serum antibody titers were calculated for each group of cattle at week 4 and at week 8. No significant differences in antibody response were observed between the various groups of cattle for any of the five virus types employed, either after the first or after the second vaccination. The results of the first trial indicate that satisfactory levels of immunity can be achieved with polyvalent vaccines containing type SAT 1 and SAT 2 valencies. The results of the second trial indicated that there was no advantage to be gained in inoculating animals with monoivalent vaccine at different sites.

BLACKWELL, J.H.; GRAVES, J.H.; MCKERCHER, P.D.

Texto en inglés. *Br. vet. J.* 131: 317-323, 1975. - Plum Island Animal Disease Center, Greenport, New York 11944, U.S.A. -

*Inactivación química del virus de la enfermedad vesicular del cerdo*

Los efectos de diversas formulaciones químicas y desinfectantes sobre la cepa Hong Kong del virus de la peste vesicular porcina (PVP), fueron estudiados. Durante un período de exposición de hasta 30 minutos a 25° C, solo 5 de los 13 compuestos probados, inactivaron

*Chemical inactivation of swine vesicular disease virus*

The effects of various chemical formulations and disinfectants on the Hong Kong strain of swine vesicular disease (SVD) virus were studied. During an exposure period of up to 30 minutes at 25° C, only 5 of the 13 compounds tested completely inactivated the virus.

completamente al virus. De estos cinco, únicamente el hidróxido de sodio (0.5M, 2%), hipoclorito de sodio (0.005M, 0.04%) y formaldehído (2.6M, 8%), inactivaron al virus en menos de dos minutos bajo las condiciones de la prueba. Se notó que en la presencia de altas concentraciones de materia orgánica, la actividad de estos compuestos resulta disminuida, especialmente en el caso del hipoclorito de sodio.

Of these five, only sodium hydroxide (0.5M, 2%) sodium hypochlorite (0.005M, 0.04%) and formaldehyde (2.6M, 8%) inactivated the virus in less than two minutes under the test conditions. It was noted that in the presence of high concentrations of organic material, the activity of these compounds is decreased, considerably in the case of sodium hypochlorite.

BERNARD, S.; GROSCLAUDE, J.

Texto en francés. *Ann. Rech. vet.* 6 (1): 83-91, 1975. - Station de Recherches de Virologie et d'Immunologie, I.N.R.A., 78850 Thiverval-Grignon, France -

*Efectos de las condiciones de producción sobre la composición proteica del virus aftoso*

Trabajos anteriores sobre la estabilidad bioquímica del virus aftoso con enzimas hidrolíticas, sugirieron que la composición del cápside viral, podría ser alterada tras la incubación con lisado celular. El presente trabajo fue efectuado empleando un mutante clonado tipo 0 sulfato de dextrano positivo, que exhibía un rápido ciclo de replicación. Se cosechó virus a las 4,5 horas ("virus precoz") y a las 20 horas ("virus tardío") después de la infección inicial de cultivos de células BHK. La concentración y purificación del virus fueron efectuadas mediante tratamiento con glicol de polietileno y centrifugación isopícnica en cloruro de cesio. Las

*Effect on the protein composition of foot-and-mouth disease virus of the conditions of production*

Previous work on the biochemical stability of foot-and-mouth disease virus with hydrolytic enzymes suggested that the composition of the virus capsid might be altered after incubation with cellular lysate. The present work was carried out using a cloned, dextran sulphate-positive type, 0 mutant exhibiting a fast replication cycle. Virus was harvested at 4.5 hours ("early virus") and 20 hours ("late" virus) after initial infection of BHK cell cultures. Concentration and purification of the virus were effected by treatment with polyethylene glycol and isopycnic centrifugation in caesium chloride. The virus peaks, density 1.47 for "early"

cúspides virales, de 1.47 de densidad para el "virus precoz" y de 1.51, para el "virus tardío", fueron analizadas mediante electroforesis en gel de poli-acrilamida SDS. La incubación prolongada con lisado celular, dio por resultado una significativa modificación de las tres proteínas virales, Hubo una mayor concentración de proteína PV<sub>1</sub> (peso mol. 34,000) en el virus "precoz" que en el virus "tardío". Esta proteína ha sido implicada como un agente inmunogénico en la síntesis de anticuerpos neutralizantes. Por tanto, es posible que la cantidad de esta proteína, presente en un preparado viral, podría ser de gran importancia cuando se toman en cuenta los preparados vacunales.

virus and 1.51 for "late" virus, were analysed by polyacrylamide SDS gel electrophoresis. Prolonged incubation with cellular lysate resulted in a significant modification of the three viral proteins. There was a greater concentration of protein VP<sub>1</sub> (mol. wt. 34,000) present in "early" virus than in "late" virus. This protein has been implicated as an immunogenic agent in the synthesis of neutralising antibody. Therefore, it is possible that the quantity of this protein present in a viral preparation might be of great significance when vaccine preparations are considered.

CHAPMAN, W.G.; BUCKLEY, L.S.; BURROWS, R.

Texto en inglés. 14th Conf. O.I.E. Comm., Paris, Rep. No. 307, 1975. - Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England -

*Diagnóstico en el laboratorio de la peste vesicular porcina mediante los procedimientos de fijación del complemento y marcado del anticuerpo fluorescente*

Una serie de especímenes provenientes de brotes de peste vesicular porcina, sometidos a diagnóstico, fue examinada mediante la prueba indirecta de anticuerpos fluorescentes, además de la prueba estándar de fijación del complemento. En

*Laboratory diagnosis of swine vesicular disease by complement fixation and fluorescent antibody labelling procedures*

A series of specimens submitted for diagnosis from outbreaks of swine vesicular disease was examined by the indirect fluorescent antibody test (FAT) in addition to the standard complement fixation test (CFT). In the CFT, about 26%

la PFC, alrededor del 26% de los especímenes dieron resultados positivos después de 1 hora de fijación a 37° C, 37% después de 4 horas a 37° C y 47% después de 18 horas de fijación a 4° C. Un total de 43% de especímenes necesitaron uno o más pasajes en cultivo de tejido antes que el antígeno pudiese ser identificado por medio de la PFC. El contenido medio de virus de los especímenes que dieron una PFC positiva después de 1 ó 4 horas a 37° C, fue de  $10^{7.4}$  ufp/ml. Las muestras que requirieron 18 horas a 4° C o pasaje en cultivo de tejido, generalmente contenían menos virus infeccioso, pero algunos especímenes en estas categorías contenían hasta  $10^{7.4}$  ufp/ml de virus.

En el caso de la PAF, 40% de los especímenes dieron resultados positivos dentro de 5 horas y 77%, dentro de 8 horas. Los especímenes restantes, requirieron entre 10 y 26 horas post-inoculación antes de poder obtener una PAF positiva. El tiempo de aparición de la fluorescencia estaba directamente relacionado con la infecciosidad de la suspensión epitelial. No se detectaron reacciones cruzadas entre los virus de la peste vesicular porcina ni de la fiebre aftosa en los cultivos infectados, empleando antisueros de cobayos sin marcar contra el virus de la PVP y los siete tipos inmunológicos del virus aftoso. No se observó ninguna fluorescencia en los cultivos infectados con virus de la PVP ni de la FA, tratados con suero normal de cobayo sin marcar, o en cultivos celulares sin infectar tratados con suero normal de cobayo, o con anti-suero aftoso de cobayo, sin marcar.

of samples gave positive results after 1 hour fixation at 37° C, 37% after 4 hours at 37° C and 47% after 18 hours fixation at 4° C. A total of 43% of samples required one or more passages in tissue culture before CF antigen could be identified. The mean virus content of samples giving a positive CFT after 1 or 4 hours at 37° C was  $10^{7.4}$  pfu/ml. Samples requiring 18 hours at 4° C or passage in tissue culture generally contained less infective virus but some specimens in these categories contained up to  $10^{7.4}$  pfu/ml virus.

In the case of FAT, 40% of specimens gave positive results within 5 hours and 77% within 8 hours. Cultures inoculated with the remaining samples required between 10 and 26 hours post-inoculation before a positive FAT was obtained. The time of appearance of fluorescence was directly related to the infectivity of the epithelial suspension. No cross reactions between swine vesicular disease and foot-and-mouth disease viruses were found in infected cultures using unlabelled guinea pig antiserum against SVD virus and the seven immunological types of foot-and-mouth disease virus. No fluorescence was observed in either SVD or foot-and-mouth disease virus infected cultures treated with unlabelled normal guinea pig serum or in uninfected cell cultures treated with normal guinea pig serum or foot-and-mouth disease unlabelled guinea pig antiserum.

BERNAL, C.; GOMEZ, G.; RAMOS, P.; SUAREZ, E.

Texto en español. VIII Jornadas de Microbiología, 22-26 junio-1976, Mérida.

*Estudio de la termoestabilidad de las vacunas de virus vivo modificado contra las enfermedades vesiculares*

Los autores estudiaron la conservación de vacuna antiaftosa de virus vivo modificado, elaborada con diferentes diluciones de glicerina y guardada a diversas temperaturas.

Utilizaron muestras de virus del subtipo O<sub>1</sub> cepa Campos y A<sub>32</sub> cepa Bolívar, modificadas a través de pasajes en huevos embrionados, ratones lactantes y cultivos celulares. Las vacunas se prepararon con ratones lactantes, haciendo diluciones finales de glicerina del 20,30, 40 y 50%. Frascos de vacuna fueron guardados a temperatura de congelación (-20° C), refrigeración (4 a 6° C) y ambiental (19 a 20° C).

Bajo temperatura de congelación, ninguna vacuna sufrió variaciones del título infeccioso en ratón lactante, hasta los 135 días de prueba.

En temperatura de refrigeración el título se mantuvo sin modificaciones significativas hasta 14 días para la muestra del subtipo A<sub>32</sub> y 21 días para la muestra del subtipo O<sub>1</sub> con glicerina al 20%; 56 días en soluciones al 30% y hasta 140 días (período máximo de observación), tanto para soluciones al 40 como al 50%.

A temperatura de medio ambiente, sólo resistieron hasta 7 días las vacunas preparadas con un 50% de glicerina.

*Study of thermostability of attenuated live FMD vaccines*

The authors studied the problems related to storage of attenuated live foot-and-mouth disease virus vaccines, elaborated with different concentrations of glycerin, kept at different temperatures.

Strains O<sub>1</sub> Campos and A<sub>32</sub> Bolívar, modified by passages in chicken embryos, suckling mice and cell cultures were used. The vaccines were prepared from suckling mouse tissue in final dilutions of glycerin of 20, 30, 40 and 50%.

Bottled vaccine was stored at -20° C, 4-6° C and 14-20° C.

At -20° C no loss of titer for suckling mice was observed during a 135-day test period.

The titer of vaccine with 20% glycerin, stored at 4-6° C remained stable for 14 days for A<sub>32</sub> and for 21 days for O<sub>1</sub>.

Both viruses remained stable in 30% glycerin stored for 56 days and for 140 days (end of test period) in 40-50% glycerin.

At room temperature (10-20° C) the vaccines were stable only for 7 days when prepared with 50% glycerin.



## bibliografía sobre enfermedades vesiculares

## vesicular diseases bibliography

ANON

Aspectos epidemiológicos de la fiebre aftosa en las américas. *Texto en inglés*. (Epizootiological aspects of foot-and-mouth disease in the Americas). 14th Conf. O.I.E. Comm., Paris, Rep. No. 302, 1975. (*FMD Bull. Wellcome* 14 (6): 54, 1975). - Centro Panamericano de Fiebre Aftosa, Rio de Janeiro, Brasil -

BLACK, D.N.

Proteínas inducidas en células BHK mediante la infección por el virus aftoso. *Texto en inglés*. (Proteins induced in BHK cells by infection with foot-and-mouth disease virus). *J. gen. Virol.* 26 (1): 109-119, 1975. (*FMD Bull. Wellcome* 14 (2): 24, 1975). - Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England -

CHEVRIER, L.; DHENNIN, L.

Aspectos hematológicos de la vacunación antiaftosa. *Texto en francés*. (Hematological aspects of vaccination against foot-and-mouth disease). 14th Conf. O.I.E. Comm., Paris Rep. No. 204, 1975. (*FMD Bull. Wellcome* 14 (6): 60, 1975).

DONALDSON, A.I.; FERRIS, H.P.

La supervivencia del virus aftoso en condiciones de intemperie. *Texto en inglés*. (The survival of foot-and-mouth disease virus in open-air conditions). *J. Hyg., Camb.* 74 (3): 409-416, 1975. (*FMD Bull. Wellcome* 14 (7): 69, 1975). - Animal Virus Research Institute, Pirbright, Surrey, England -

GIBBS, E.P.J., MC DIARMIND, A.; ROWE, J.J.

Manejo del venado en estudios experimentales con el virus aftoso. *Texto en inglés*. (Management of deer for experimental studies with foot-and-mouth disease virus). *Vet. Rec.* 96 (23): 503-506, 1975. (*FMD Bull. Wellcome* 14 (7): 78, 1975). - Animal Virus Research Institute, Pirbright, Surrey, England -

KOSEKI, I.; ABUHAB, T.G.

Susceptibilidad al virus aftoso de las células expuestas previamente al virus Sendai inactivado. *Texto en portugués*. (Susceptibility to foot-and-mouth disease virus of cells previously exposed to inactivated sendai virus). *Arqs. Inst. Biol., S. Paulo* 41 (3): 105-113, 1974. (*FMD Bull. Wellcome* 14 (7): 90, 1975).

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; Agradecimientos y Referencias. 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 una 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, Coordinador,  
Dr. Roberto Goic, Jefe de Asesoría de Campo.  
Dr. Horacio Mónaco, Jefe de Adiestramiento e Información.  
Srta. Patricia Chain, Oficial de Comunicaciones, Secretaria.

PAN-AMERICAN FOOT-AND-MOUTH DISEASE CENTER BULLETIN

INVITATION TO CONTRIBUTORS

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

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

Brief Report: short (5-7 typewritten pages) complete scientific work: results and discussion can be presented with the data, which should be limited to 2 tables.

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

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

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

EDITORIAL COMMITTEE

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