

## LA IMPORTANCIA DE PANAFTOSA EN LOS PROGRAMAS DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO PARA EL CONTROL Y ERRADICACIÓN DE LA FIEBRE AFTOSA EN LAS AMÉRICAS

V. ASTUDILLO, T.R. DOEL, V.M. VARELA-DÍAZ

*Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (OPS/OMS)*

Caixa Postal 589, 20001-970 Rio de Janeiro, RJ, Brasil

**RESUMEN.** La contribución del Centro Panamericano de Fiebre Aftosa para el conocimiento de las enfermedades vesiculares de los animales, especialmente la fiebre aftosa, ha sido de gran trascendencia para los programas de control iniciados durante las últimas cuatro décadas. En esta revisión se examina la importancia de la investigación en el pasado y los enfoques futuros para la investigación y el desarrollo sobre el control y erradicación de la enfermedad de las Américas.

El Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (PANAFTOSA), ubicado en Rio de Janeiro, Brasil, forma parte de la Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud (OPS/OMS). Desde su creación en 1951 por la Organización de los Estados Americanos, con el apoyo de la Oficina Sanitaria Panamericana y del Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, el Centro ha hecho importantes contribuciones para el control de la fiebre aftosa en América Latina a través de numerosas actividades. Entre ellas se incluye el rol del Laboratorio de Referencia para Enfermedades Vesiculares para las Américas, el apoyo en cooperación técnica y coordinación de programas nacionales e internacionales dirigidos a la prevención, control y erradicación de la fiebre aftosa en América Latina, la producción de vacuna antiaftosa, la investigación y desarrollo. En 1968, PANAFTOSA pasó a ser administrado por la OPS.

En 1958, la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y el Laboratorio Mundial de Referencia (WRL), en Pirbright, Reino Unido, reconocieron oficialmente a PANAFTOSA como organismo coordinador para las campañas antiaftosa en América del Sur y como canal de comunicación entre los países y el WRL. La Oficina Internacional de Epizootias, en su Sesión General XXVIII, aceptó este estado.

En 1969, los Ministros de Agricultura de la región, por la Resolución X de la II Reunión Interamericana a Nivel Ministerial sobre Fiebre Aftosa y Otras Zoonosis (RICAZ) realizada en Brasil, reconocieron a PANAFTOSA como el Laboratorio de Referencia para las Américas para el diagnóstico de la fiebre aftosa (42), y en 1979, por la Resolución V de la RICAZ XII, en Curaçao, reconocieron PANAFTOSA como Laboratorio Regional de Referencia para el control de calidad de las vacunas antiaftosa (43). En 1992, la XIX Reunión Ordinaria de la Comisión Sudamericana para la Lucha contra la Fiebre Aftosa (COSALFA), en Argentina, en su Resolución V

---

Solicitar separatas al :  
Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (OPS/OMS).

indicó PANAFTOSA como el Laboratorio de Referencia para la región para la vigilancia epidemiológica de las enfermedades vesiculares (45).

## DIRECCIÓN POLÍTICA Y TÉCNICA

En las Américas hay tres foros que son esenciales para el establecimiento de directivas políticas y técnicas para los programas de prevención, control y erradicación en el hemisferio:

1. La Reunión Interamericana de Salud Animal a Nivel Ministerial (RIMSA, conocida como RICAZ hasta 1979), que se realiza cada dos años para discutir las políticas de salud animal en la región. Típicamente (41), estas reuniones operan con los antecedentes de documentos de trabajo provistos por la OPS y las resoluciones de reuniones como COSALFA y COHEFA (ver abajo), y culminan en resoluciones emanadas por los representantes de los países miembros. Como consecuencia, las solicitudes y recomendaciones deben dirigirse a la OPS o a los países miembros para implementar o cursar una acción. La RIMSA además analiza los programas y presupuestos de los Centros de la OPS para los próximos dos años y hace recomendaciones al Director de la OPS para sus futuras actividades.
2. El Comité Hemisférico para la Erradicación de la Fiebre Aftosa (COHEFA) está formado por representantes de los sectores público (Ministros de Agricultura) y privado (productores) de seis regiones de las Américas. Se reúne cada dos años en la misma época que las RIMSA y trata, principalmente, de los aspectos técnicos de los programas de prevención, control y erradicación de la fiebre aftosa (44) en las Américas y, además, prevé el financiamiento del Plan Hemisférico para la Erradicación de la Fiebre Aftosa. Las resoluciones del COHEFA son presentadas en la RIMSA para su discusión y recomendación a los países miembros, COSALFA u OPS, según sea apropiado.
3. La COSALFA, formada para los directores de salud animal de los países de América del Sur, se reúne anualmente y actúa como un cuerpo consultivo para el Director del Centro, que es su Secretario ex officio. Los objetivos de la COSALFA son promover, coordinar y evaluar los programas nacionales, los proyectos subregionales y los

acuerdos fronterizos sobre la fiebre aftosa en los países de la región (26).

Los proyectos de investigación y las actividades técnicas del Centro son, además, evaluadas por un Comité Científico Asesor ad hoc formado por científicos de renombre internacional que someten sus conclusiones y recomendaciones al Director de la OPS.

## BASES OPERACIONALES DE PANAFTOSA

Los trabajos realizados por PANAFTOSA se dividen en dos áreas. La primera, Servicios de Campo, interactúa directamente con los países miembros y proporciona apoyo de varias maneras, incluyendo la operación del sistema continental de vigilancia de las enfermedades vesiculares, consulta y servicios de asesoría y asistencia técnica sobre diferentes aspectos de los programas de control y adiestramiento e información.

La segunda, Servicios de Laboratorio, abarca investigación, desarrollo y servicios técnicos. A su vez, esta área es apoyada por servicios de mantenimiento esenciales, como los provistos por grupos de pequeños y grandes animales de experimentación, y por el laboratorio de cultivo de tejidos. En determinados aspectos, estos servicios de laboratorio no se encuentran al alcance directo de los usuarios, o sea, las autoridades veterinarias de los países miembros, pero esto no minimiza la importancia de este trabajo. La sección siguiente, en la cual los avances científicos del Centro son examinados, muestra el importante papel que la investigación y el desarrollo han desempeñado en el diagnóstico y el control de la fiebre aftosa en las Américas.

## PROGRESOS Y ACTIVIDADES FUTURAS DE LOS SERVICIOS DE LABORATORIO

El personal de los laboratorios de investigación de PANAFTOSA ha contribuido para nuestro conocimiento con una amplia variedad de tópicos sobre enfermedades vesiculares de los animales, con especial referencia al diagnóstico y control de la fiebre aftosa. El Centro publicó recientemente

un catálogo de publicaciones de 1952 a 1993 con un resumen de las actividades científicas de PANAFTOSA durante cuatro décadas (25). A través de la estrecha interacción y colaboración entre los laboratorios de diagnóstico y producción de vacuna, varios de los progresos obtenidos en las investigaciones han sido transferidos efectivamente a aplicaciones prácticas.

Como se mencionó, PANAFTOSA tiene el papel de Laboratorio de Referencia para las Américas y, por lo tanto, una de sus funciones principales es analizar muestras enviadas por los países miembros. Estas muestras pueden ser de sueros para uso en pruebas de anticuerpos o muestras de tejidos/fluidos vesiculares para pruebas de detección de virus. Solo en la última década, el laboratorio de diagnóstico examinó 38.582 muestras, y claramente desempeña un importante papel en el servicio de vigilancia de enfermedades vesiculares realizado en el Centro. Debido a la necesidad de un conocimiento adecuado de las cepas de fiebre aftosa actuantes en el campo y a su relación con las cepas vacunales, los investigadores en este sector han realizado activos estudios sobre la caracterización serológica de cepas de fiebre aftosa actuantes en América Latina, usando varias técnicas (6,8,21,28,34). Desde mediados de la década de los ochenta, se realizaron estudios básicos de caracterización suplementados por técnicas de biología molecular, incluyendo mapeo de oligonucleotídeos y secuenciamiento del ácido nucleico (21,23), así como una aplicación seleccionada de anticuerpos monoclonales desarrollados contra las cepas principales de fiebre aftosa (11). Se puede anticipar que la elevada definición a ser alcanzada con las técnicas serológicas y de biología molecular más modernas harán que en el futuro el diagnóstico de rutina sea más fidedigno que actualmente. Además, se espera que la investigación adicional sobre epidemiología molecular jugará un papel más importante cuando el número de brotes de fiebre aftosa sea reducido por la efectiva implementación de los programas de control.

La investigación sobre vacunas antiaftosa siempre ha sido primordial en las actividades de PANAFTOSA (40). Los primeros estudios sobre la

susceptibilidad de diferentes células fueron seguidos por la adopción y explotación de la producción de virus por el método de Frenkel y células BHK-21 (4,38,39). Durante este período, también se realizaron extensos estudios con formas atenuadas de virus debido al considerable éxito obtenido con otras vacunas de virus atenuado (35). Sin embargo, los numerosos problemas asociados al uso de vacunas antiaftosa atenuadas llevaron al desarrollo y uso exclusivo de formulaciones inactivadas. Sobre esto, el Centro estuvo al frente y realizó invalorable contribuciones en las áreas de cinética de inactivación y adyuvantes. Las deficiencias de la inactivación con formaldehído fueron rápidamente reconocidas y el problema para obtener el inactivante preferido, la acetiltileneimina, estimuló la evaluación de alternativas considerando el uso de la etileneimina binaria (BEI) como el más exitoso (18,19). La BEI es un inactivante muy eficaz siempre que sea usado correctamente y se desarrolló un procedimiento colorimétrico para examinar la síntesis del reaccionante poco después de su uso a nivel industrial. Actualmente, la BEI se utiliza en todo el mundo, casi que exclusivamente, en la producción de vacunas antiaftosa. El Centro también es conocido por su trabajo pionero sobre adyuvantes para vacunas antiaftosa, especialmente las preparaciones oleosas (1,2,3,5,14,15,16,17,32,33,36,40). Numerosas publicaciones sobre calidad y duración de inmunidad en bovinos vacunados con diferentes preparaciones culminaron en la producción, en PANAFTOSA, de vacunas antiaftosa con adyuvante oleoso debido a su superioridad sobre las formulaciones de hidróxido de aluminio/saponina clásicas. Por estas razones, este tipo de vacuna también ha recibido mayor aceptación mundial. Además, las vacunas oleosas han sido utilizadas en cerdos. La justificativa para la investigación sobre el desarrollo de esta vacuna es simple. Las vacunas contra la fiebre aftosa, especialmente las formulaciones de hidróxido de aluminio/saponina, tenían que ser aplicadas regularmente para alcanzar niveles elevados y durables de inmunidad en un rebaño. Consideraciones económicas y logísticas hicieron que el desarrollo de vacunas antiaftosa fuese una alta prioridad y, en ese sentido, el Centro mantendrá su

cometido en esta área sobre estudios de adyuvantes y sistemas de envío, y realizando investigaciones sobre vacunas recombinantes. Estas últimas tienen la ventaja considerable de que están libres de contaminación potencial con virus vivo, un problema especialmente identificado en Europa luego de la reducción de brotes de la enfermedad debido a carne y ganado contaminados (20).

El Centro, junto con otros laboratorios de fiebre aftosa, se encuentra en proceso de establecer una reserva significativa (banco) de antígenos de fiebre aftosa concentrados e inactivados que son almacenados a temperaturas muy bajas. Estos antígenos serán reservados para la formulación de vacuna para atender situaciones de emergencia, cuando no se disponga de suministros convencionales. Por lo tanto, estos bancos de antígenos son especialmente importantes para el plan hemisférico de erradicación de la fiebre aftosa debido a la generación de extensas áreas libres de la enfermedad y la correspondiente pérdida de incentivo para el comercio y los laboratorios oficiales para continuar la producción de vacuna antiaftosa.

Las pruebas de potencia y seguridad de vacunas realizadas tanto por el Centro como en otras unidades de producción han sido una importante área de trabajo. La prueba de seroprotección ha sido realizada como una alternativa más económica para las pruebas de desafío de virus vivo en bovinos. Estudios similares han examinado otros enfoques que incluyen cantidad de anticuerpos seroneutralizantes y su correlación con la potencia en bovinos (9,12,13,27,29,31,48,49). Sobre esto, el Centro tiene una importante ventaja sobre otros laboratorios de fiebre aftosa debido al gran número de sueros y cantidad de datos de potencia de bovinos disponibles a través de su papel en América Latina. La seguridad de las vacunas antiaftosa, especialmente sobre las respuestas alérgicas en bovinos, también ha formado la base de estudios realizados por el personal del Centro (24).

Una preocupación continua entre las autoridades de salud animal en el mundo es la persistencia de la fiebre aftosa en bovinos después de recuperados de la infección o desafío de campo de ganado vacunado, y numerosos estudios en el

Centro y en otras instituciones (30,46,47) han respondido estas cuestiones. De hecho, hay poca evidencia de transmisión de animales "portadores" a bovinos totalmente susceptibles a pesar de considerables esfuerzos para demostrar esto experimentalmente. Sin embargo, las autoridades de salud animal percibieron el riesgo limitado, y la detección de persistencia en bovinos permanece un importante desafío. Esto se ha realizado clásicamente, y continuará a realizarse en el futuro previsible por el cultivo de fluidos de probang con células susceptibles.

En PANAFTOSA se han llevado a cabo otros enfoques para aumentar las pruebas de infectividad, incluyendo la medición de títulos de anticuerpos contra una de las proteínas no estructurales del virus, el denominado antígeno VIA (7,10). Esta prueba da algunas evidencias de si un animal ha sido vacunado y/o infectado. Sin embargo, como todas las técnicas serológicas, la prueba VIA tiene sus limitaciones y es solo una de las diversas pruebas realizadas en el Centro para alcanzar el estado inmunitario de un animal. Una nueva prueba actualmente en estudio examina los niveles de anticuerpos contra todas las proteínas no estructurales del virus (22,37). Las proteínas individuales, que son purificadas de bacterias recombinantes, son ensayadas por electroforesis en geles de poliacrilamida y luego marcadas en tiras de nitrocelulosa. A seguir, las tiras son embebidas en un pequeño volumen de sueros bovinos, seguido por anticuerpos antiespecies y las bandas teñidas positivamente son detectadas por conjugados ELISA clásicos y substratos. Debido al objetivo global de erradicar la fiebre aftosa del hemisferio por una combinación de vacunación y medidas zoonositarias, esta área asumirá cada vez más importancia para discriminar entre ganado infectado por virus y libre de virus. La aceptación internacional de estas pruebas tendrá profundas implicaciones para la exportación de carcasas y ganado en América Latina.

## CONCLUSIONES

Esta breve revisión del rol de los Servicios de Laboratorio de PANAFTOSA no tiene la intención

de ser didáctica, sino que destaca las contribuciones pasadas y presentes del Centro a la investigación en el esquema global para controlar y erradicar la fiebre aftosa en las Américas. Para el futuro, se espera que el programa de investigación del Centro sea altamente flexible y dinámico para alcanzar las necesidades de los Servicios de Campo de PANAFTOSA, así como las de los países afectados por la enfermedad. Las diferentes situaciones epidemiológicas que ocurrirán, como consecuencia de la erradicación progresiva de esta enfermedad altamente contagiosa, crearán nuevas preguntas y servirán de estímulo para nuevos enfoques en el diagnóstico y el control. El rol de los Servicios de Laboratorio de PANAFTOSA será decisivo para la erradicación de la fiebre aftosa y el mantenimiento del estado de libre de la enfermedad.

## REFERENCIAS

1. CHARLES, E.G., DURINI, L.A., FRICK, E., DEGIORGI DE BURGHI, E., RADISICH, T. Vida útil de una vacuna antiaftosa inactivada con adyuvante oleoso./Shelf life of inactivated oil-adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa*, 37-38: 17-24, 1980.
2. ABARACÓN, D., MESQUITA, J.A., SALLÚA, S., PÉREZ RAMA, R. Emulsificante Montanide 888 para la preparación de vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso./Montanide 888 emulsifying agent for preparation of oil-adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa*, 45-46: 51-57, 1982.
3. ABARACÓN, D., MESQUITA, J.A., GIACOMETTI, H., SALLÚA, S., PÉREZ RAMA, R. Preparación de vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso usando antígenos adsorbidos sobre hidróxido de aluminio./Formulation of oil-adjuvanted foot-and-mouth disease vaccines containing antigen adsorbed to aluminum hydroxide. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa*, 45-46: 43-50, 1982.
4. ABREU MARTINS, I. Producción económica de virus aftoso para fabricación de vacunas por el método Frenkel. *Cienc. Vet., México*, 5 (6): 489-496, 1960.
5. ABREU MARTINS, I. Vacunas antiaftosas hidróxido-saponinadas inactivadas por el formol. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa*, 1: 1-19, 1971.
6. ALONSO, A. Types and subtypes of foot-and-mouth disease virus currently found in South America. *Br. Vet. J.*, 134: 53-57, 1978.
7. ALONSO, A., AUGÉ DE MELLO, P., GOMES, I., ROSENBERG, F.J. El uso del antígeno asociado a la infección viral (VIA) en la detección de ganado expuesto al virus de la fiebre aftosa./The use of virus-infection-associated antigen (VIA) in the detection of cattle exposed to foot-and-mouth disease virus. (Brief report). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa*, 17-18: 17-22, 1975.
8. ALONSO, A., AUGÉ DE MELLO, P., ROSENBERG, F.J. Serological and immunological relationship of FMD viruses type C in South America. In: *FAO. Rep. Res. Gp. Stand. Techn. Com. Eur. Comm. Control FMD*. Brescia/Padua, Italy, 23-26 September 1975. p. 138-147.
9. ALONSO, A., CASAS OLASCOAGA, R., BAHNEMANN, H.G., ASTUDILLO, V., SÖNDAHL, M.S., GOMES, I., BALTAR, J., FERNÁNDEZ, G. Producción y control de calidad de la vacuna antiaftosa en América del Sur./ Production and quality control of foot-and-mouth disease vaccines in South America. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa*, 51: 3-22, 1985.
10. ALONSO, A., GOMES, M.P.D., MARTINS, M.A., SÖNDAHL, M.S. Detection of foot-and-mouth disease virus infection-associated antigens antibodies: comparison of the enzyme-linked immunosorbent assay and agar gel immunodiffusion tests. *Prev. Vet. Med.*, 9: 233-240, 1990.
11. ALONSO, A., GOMES, M.P.D., RAMALHO, A.K., ALLENDE, R., BARAHONA, H., SÖNDAHL, M.S., OSORIO, F.A. Characterization of foot-and-mouth disease virus by monoclonal antibodies. *Viral Immunology*, 6 (3): 210-228, 1993.
12. ALONSO, A., GOMES, I., VIEIRA, A. Control de vacunas antiaftosas. Relación entre el índice K (modificado) y los índices de seroprotección y seroneutralización. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa*, 6: 1-16, 1971.
13. ASTUDILLO, V., GOMES, I., WANDERLEY, M. 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. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa*, 23-24: 25-31, 1976.
14. AUGÉ DE MELLO, P., ASTUDILLO, V., GOMES, I., CAMPOS GARCIA, J.T. Aplicación en el campo de vacuna antiaftosa oleosa e inactivada: vacunación y revacunación de bovinos jóvenes./Field application of inactivated oil

- adjuvanted foot-and-mouth disease virus vaccine: vaccination and revaccination of young cattle. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa*, 19-20: 31-47, 1975.
15. AUGÉ DE MELLO, P., ASTUDILLO, V., GOMES, I., CAMPOS GARCÍA, J.T. Respuesta inmunitaria de bovinos adultos vacunados contra la fiebre aftosa con vacuna oleosa./Immune response of adult cattle vaccinated with oil adjuvanted foot-and-mouth disease vaccines. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa*, 26: 23-29, 1977.
  16. AUGÉ DE MELLO, P. GOMES, I. Respuesta anamnésica en bovinos a la revacunación con vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso./Anamnestic response in cattle after revaccination with oil adjuvanted foot-and-mouth disease vaccines. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa*, 27-28: 49-60, 1977.
  17. AUGÉ DE MELLO, P., GOMES, I. Vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso para cerdos. I. Vacuna de emulsión doble aplicada por diferentes vías./Foot-and-mouth disease oil adjuvanted vaccines for pigs. I. Double emulsion vaccine applied by different routes. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa*, 31-32: 1-12, 1978.
  18. BAHNEMANN, H.G. Empleo de la etileneimina y la propileneimina como agentes inactivantes del virus de la fiebre aftosa./The inactivation of foot-and-mouth disease virus by ethylenimine and propylenimine. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa*, 7: 41, 1972.
  19. BAHNEMANN, H.G., AUGÉ DE MELLO, P., ABARACÓN, D., GOMES, I. Immunogenicity in cattle of foot-and-mouth disease vaccines inactivated with binary ethylenimine. *Bull. Off. Int. Epizoot.*, 81 (11-12): 1335-1343, 1974.
  20. BECK, E., STROHMAIER, K. Subtyping of European foot-and-mouth disease virus strains by nucleotide sequence determination. *J. Virol.*, 61 (5): 1621-1629, 1987.
  21. BERGMANN, I.E., AUGÉ DE MELLO, P., ALONSO, A., SCODELLER, E.A., CASAS OLASCOAGA, R., LA TORRE, J.L. Caracterización bioquímica y serológica de diferentes cepas de campo de virus de la fiebre aftosa aisladas en América del Sur./Biochemical and serological characterization of different field aphthovirus strains isolated in South America. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa*, 51: 31-34, 1985.
  22. BERGMANN, I.E., AUGÉ DE MELLO, P., NEITZERT, E., GOMES, I. Diagnosis of cattle with persistent aphthovirus infections and their differentiation from vaccinated animals by enzyme-linked immunoelectrotransfer blot using bioengineered nonstructural antigens. *Am. J. Vet. Res.*, 54: 825-831, 1993.
  23. BERGMANN, I.E., TIRABOSCHI, B.H., BOLLER, M.A.A., MALIRAT, V., PEREIRA, P.J.V., AUGÉ DE MELLO, P. Desarrollo de un método más simple y rápido para el análisis bidimensional de oligonucleótidos del virus de la fiebre aftosa: minifingerprinting de ARN./Development of a more rapid and simple procedure for two-dimensional oligonucleotide analysis of foot-and-mouth disease virus: RNA minifingerprinting. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa*, 55: 35-42, 1989.
  24. BULMAN, C.M. Hipersensibilidad post vacunal en la inmunización antiaftosa. *Gac. Vet. (B. Aires)*, 40 (330): 285-292, 1978.
  25. CENTRO PANAMERICANO DE FIEBRE AFTOSA. Catálogo de Publicaciones 1952-1993. Rio de Janeiro, PANAF-TOSA, 1994. 90 p.
  26. CENTRO PANAMERICANO DE FIEBRE AFTOSA. Resoluciones y Recomendaciones de la Comisión Sudamericana para la Lucha contra la Fiebre Aftosa. 1973-1981. Rio de Janeiro, PANAF-TOSA, 1982. p. (Serie de Monografías Científicas y Técnicas, 9).
  27. CUNHA, R.G. Demonstration of immune response to FMD vaccine in protection test in young adult mice. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 103 (4): 700-703, 1960.
  28. FEDERER, K.E., SAILE, J., HONIGMAN, M.N. Identification d'un nouveau sous-type A de virus aphteux. *Bull. Off. Int. Epizoot.*, 57 (7/8): 1171-1190, 1962.
  29. FERREIRA, M.E.V. Prueba de microneutralización para estudios de anticuerpos de la fiebre aftosa./Microtiter neutralization test for the study of foot-and-mouth disease antibodies. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa*, 21-22: 17-24, 1976.
  30. GEBAUER, F., LA TORRE, J., GOMES, I., MATEU, M.G., BARAHONA, H., TIRABOSCHI, H., BERGMANN, I.E., AUGÉ DE MELLO, P. Rapid selection of genetic and antigenic variants of foot-and-mouth disease virus during persistence in cattle. *J. Virol.*, 62: 2041-2049, 1988.
  31. GOMES, I., ASTUDILLO, V. Foot-and-mouth disease: evaluation of mouse protection test results in relation to cattle immunity. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa*, 17-18: 9-16, 1975.
  32. GOMES, I., SUTMÖLLER, P., CASAS OLASCOAGA, R. Respuesta en bovinos a la exposición del virus de la fiebre aftosa un año después de inmunizados con vacuna con adyuvante oleoso./Response of cattle to foot-and-mouth dis-

- ease (FMD) virus exposure one year after immunization with oil adjuvanted FMD vaccine. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa*, 37-38:25-35, 1980.
33. GOMES, I. Persistencia de anticuerpos circulantes en porcinos revacunados con vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso./Persistence of circulating antibodies in swine revaccinated with oil adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa*, 39-40: 43-49, 1980.
  34. GOMES, M.P.D., SÖNDAHL, M.S., MARTINS, M.A., CASAS OLASCOAGA, R., ALONSO, A. Aplicación de la técnica inmunoenzimática (ELISA) para el diagnóstico de los virus de la fiebre aftosa y estomatitis vesicular en comparación con la prueba de fijación del complemento./Application of enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of foot-and-mouth disease virus and vesicular stomatitis in comparison with the complement fixation. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa*, 55: 15-25, 1989.
  35. HENDERSON, W.M., CUNHA, R.G. Le contrôle de la production des vaccins anti-aphteux à virus vivant atténué. In: *Symp. Int. Virol. Vet., Lyon, France*, 1962. p. 101-107.
  36. MAES, R., FERNANDES, M.V. Viability of foot-and-mouth disease virus in oil emulsions. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 132 (2): 447-449, 1969.
  37. NEITZERT, E., BECK, E., AUGÉ DE MELLO, P., GOMES, I., BERGMANN, I. Expression of the aphthovirus RNA polymerase gene in *Escherichia coli* and its use together with other bioengineered nonstructural antigens in detection of late persistent infections. *Virology*, 184 (2): 799-804, 1991.
  38. NORAMBUENA, M.A. SERRÃO, U.M., GAGGERO, A.C. Vacuna contra la fiebre aftosa preparada de virus cultivado en células renales. *Bull. Off. Int. Epizoot.*, 57 (5/6): 618-619, 1962.
  39. NOTTEBOHN, A., GAGGERO, A.C., GOMES, I., CUNHA, R.G. Examen antigénique d'un vaccin anti-aphteux inactivé (type "A" Vallée) préparé avec du virus cultivé sur des cellules BHK 21. *Bull. Off. Int. Epizoot.*, 61 (9/10): 919-933, 1964.
  40. OLASCOAGA, R.C., AUGÉ DE MELLO, P., ABARACÓN, D., GOMES, I., ALONSO F.A., MESQUITA, J., DARSIE, G.C., PINKOSKI, D.I., DEAK, J.G., GUBEL, J.G., BARBOSA, J.R. Producción y control de vacunas antiaftosa con adyuvante oleoso, en el Centro Panamericano de Fiebre Aftosa y en el Laboratorio Regional de Apoyo Animal del Ministerio de Agricultura y Reforma Agraria, Brasil./Production and control of oil-adjuvanted foot-and-mouth disease vaccines at the Pan American Foot-and-Mouth Disease Center and the Regional Support Laboratory for Animal Health of the Ministry of Agriculture and Agrarian Reform, Brazil. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa*, 56: 3-51, 1990.
  41. PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. *Inter-American Meeting, at the Ministerial Level, on Animal Health: final reports of the IV, V, VI and VII Meetings. (1985-1991)*. Washington, D.C., OPS, 1992.
  42. PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. *Inter-American Meeting, at the Ministerial Level, on Foot-and-Mouth Zoonoses Control*. Rio de Janeiro, Brazil, 14-17 March, 1969.
  43. PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. *XII Inter-American Meeting, at the Ministerial Level, on Foot-and-Mouth Disease and Zoonoses Control*. Willemstad, Curacao, 17-20 April, 1979.
  44. PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. *IV Meeting of the Hemispheric Committee for the Eradication of Foot-and-Mouth Disease (COHEFA)*. Washington, D.C., 2 April 1992. Final Report.
  45. XIX REGULAR MEETING OF THE SOUTH AMERICAN COMMISSION FOR THE CONTROL OF FOOT-AND-MOUTH DISEASE, Montevideo, Uruguay, March 25-26, 1992. Final Report.
  46. SUTMÖLLER, P., AUGÉ DE MELLO, P., HONIGMAN, M.N., FEDERER, K.E. Infectivity for cattle and pigs of three strains of foot-and-mouth disease virus isolated from carrier cattle. *Am. J. Vet. Res.*, 28 (122): 101-105, 1967.
  47. SUTMÖLLER, P., GAGGERO, A.C. Foot-and-mouth disease carriers. *Vet. Rec.*, 77 (33): 968-969, 1965.
  48. SUTMÖLLER, P., VIEIRA, A. Relación de títulos de anticuerpos neutralizantes y la protección de bovinos frente al virus de la fiebre aftosa./The relationship of neutralizing antibody titers for foot-and-mouth disease virus and the protection of cattle. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa*, 39-40: 51-62, 1980.
  49. VIANNA FILHO, Y.L., ASTUDILLO, V., GOMES, I., FERNÁNDEZ, G., ROZAS, C.E.E., RAVISON, J.A., ALONSO, A. Potency control of foot-and-mouth disease vaccine in cattle. Comparison of the 50% protective dose and the protection against generalization. *Vaccine*, 11 (14): 1424-1428, 1993.