
BOLETIN

del centro panamericano de fiebre aftosa

Nº 47-48, enero-diciembre 1983

No. 47-48, January-December 1983

contenido

contents

	p.
Preparación de un suero polivalente para el diagnóstico del virus de la fiebre aftosa por fijación del complemento	3
Preparation of a polyvalent antiserum for diagnosis of foot-and-mouth disease virus by complement fixation.	7
— <i>A. Alonso Fernández, Magnus S. Söndahl, Maria E.V. Ferreira</i>	
Variabilidad antigénica e inmunogénica del virus de la fiebre aftosa	11
Antigenic and immunogenic variability of the foot-and-mouth disease virus	17
— <i>A. Alonso Fernández, M.S. Söndahl, F.J. Rosenberg, V.M. Astudillo</i>	
La variación del virus de la fiebre aftosa y su influencia en la elección de las cepas de producción de vacunas en Argentina.	23
Variability of the foot-and-mouth disease virus and its influence on the selection of strains for vaccine production in Argentina.	29
— <i>L.A.E. Durini, G. Fernández, G. Mazzuca, A. Alonso Fernández</i>	

Respuesta inmunitaria inducida por vacuna antiaftosa oleosa en bovinos de áreas tropicales de Colombia.	35
Immune response induced by oil-adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine in cattle in tropical areas of Colombia.	45
— <i>Jairo R. Rocha R., José del C. Barrera V., Myriam Q. de Bustos</i>	
Uso de un banco de datos computarizado para hacer el seguimiento de antígenos de la fiebre aftosa almacenados por largos períodos de tiempo.	55
Use of a computer database to monitor foot-and-mouth disease antigens in long-term storage	61
— <i>C. House, R. Monsell, D. Soroka</i>	
Resúmenes — Abstracts	65
Bibliografía sobre enfermedades vesiculares — Vesicular diseases bibliography.	80

PREPARACION DE UN SUERO POLIVALENTE PARA EL DIAGNOSTICO DEL VIRUS DE LA FIEBRE AFTOSA POR FIJACION DEL COMPLEMENTO¹

A. Alonso Fernández², Magnus S. Söndahl², Maria E.V. Ferreira²

RESUMEN

La fiebre aftosa es una enfermedad altamente contagiosa, por lo que un diagnóstico rápido es fundamental para su control o erradicación. Es causada por 7 tipos de virus inmunológicamente diferentes, con más de 65 subtipos y varias cepas. De los siete tipos el que más varía es el A, del que con frecuencia aparecen nuevas cepas en el campo, algunas de ellas son muy diferentes a las conocidas, por lo que su identificación por fijación del complemento, utilizando sueros hiperinmunes convencionales es difícil y demorada. Para subsanar este problema se ha propuesto la utilización de diferentes mezclas de sueros hiperinmunes. En el presente trabajo se describe la producción de un suero hiperinmune polivalente por hiperinmunización de cobayos con diferentes cepas del tipo A. El suero hiperinmune obtenido tiene mayor amplitud antigénica que los sueros individuales o la mezcla de éstos. Esta mayor amplitud antigénica hace de él un elemento de diagnóstico valiosísimo para elevar el número de resultados positivos obtenidos directamente de las muestras de campo, eliminando de esa manera los pasajes en cultivos celulares o en ratones para aumentar la concentración de antígeno.

Sueros así elaborados están siendo ampliamente utilizados en la mayoría de los laboratorios de diagnóstico de las enfermedades vesiculares de América del Sur.

INTRODUCCION

La fiebre aftosa es producida por 7 tipos de virus inmunológicamente diferentes, los cuales agrupan más de 65 subtipos, como lo ha demostrado el Laboratorio Mundial de Referencia, en Pirbright, Inglaterra. Este elevado número de subtipos y cepas muestra la gran plasticidad del virus que hace que continuamente surjan mutantes en el campo, muchas de ellas con marcadas diferencias antigénicas con las ya identificadas, principalmente dentro del tipo A que es el que más varía (4).

El apareamiento de nuevas variantes es favorecido por la replicación del virus en poblaciones hospederas con diferentes niveles inmunológicos (2, 3). Por este motivo, los laboratorios de diagnóstico de fiebre aftosa situados en áreas endémicas y sometidas a vacunaciones sistemáticas reciben con frecuencia muestras de virus que son identificadas con dificultad en la prueba de fijación del complemento (FC) (6) utilizando los sueros hiperinmunes normales. Para resolver este inconveniente es necesario aumentar la capacidad fijadora de los sueros, sea utilizando mezclas de los mismos (7) o usándolos en forma de monovalentes, pero en altas concentraciones, poniendo en riesgo su especificidad.

Este trabajo describe la producción en cobayos de un suero hiperinmune polivalente del tipo A, y analiza su espectro antigénico, comparándolo con los sueros monovalentes o con la mezcla de éstos.

MATERIALES Y METODOS

Virus

Para la preparación de los diferentes sueros hiperinmunes fueron utilizadas las cepas de virus A₂₄ Cruzeiro-Brasil/55, A₂₆ Argentina/66,

¹Este trabajo fue publicado previamente en Proc. III Intern. Symp. Veter. Lab., Ames, Iowa, USA, Vol. 1, pp. 205-211, 1983. Reproducción autorizada.

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

A Brasil/70, A Ecuador/75, A Magé-Br/76 y A Venceslau-Brasil/76, del cepario del Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (CPFA).

Producción de los sueros hiperinmunes monovalentes

Con epitelio bovino infectado con cada una de las cepas de virus mencionadas anteriormente, fue preparada una suspensión viral 1:5 en medio de Earle e inoculada por vía intradermoplantar en las dos patas posteriores de 5 cobayos adultos, a razón de 0,1 ml por animal. Los pasajes se continuaron hasta que todos los animales desarrollaron generalización podal.

A las seis semanas después de infectados, todos los cobayos que presentaron generalización podal fueron hiperinmunizados con la misma cepa utilizada en la infección. Las hiperinmunizaciones fueron realizadas con antígeno 1:5 en Earle con 0,1% de saponina preparado con el virus adaptado a esta especie, inoculando cada cobayo con 0,2 ml por vía intradermoplantar y subcutánea en una pata. Una semana después fue realizada la segunda hiperinmunización inoculando la otra pata, igual a como se hizo en la primera. Transcurrida una semana desde la última hiperinmunización, los animales fueron sangrados por punción intracardíaca. El suero de todos los cobayos inoculados con la misma cepa fue mezclado, inactivado a 56°C durante 30 minutos, fraccionado en alícuotas de 3,0 ml y conservado a -20°C.

Producción de suero hiperinmune polivalente

La infección de los cobayos fue hecha individualmente igual a como se ha indicado en la producción de los sueros monovalentes. Sin embargo, las hiperinmunizaciones fueron realizadas con una mezcla de antígenos preparada como sigue: el epitelio plantar de las vesículas formadas en el punto de inoculación de todos los cobayos infectados con las 6 cepas fue mezclado y diluido 1:5 en Earle, con 0,1% de saponina. Las inoculaciones fueron realizadas de la misma manera a como fue descrito en la preparación del suero hiperinmune monovalente.

Los sueros de los cobayos infectados con la misma cepa fueron mezclados, así se obtuvieron 6 sueros denominados prepolivalentes. Posterior-

mente, se mezcló una alícuota de cada uno de ellos para obtener el suero hiperinmune polivalente.

Por tanto, la única diferencia en la preparación de los sueros monovalentes y polivalente radicó en que las hiperinmunizaciones del primero fueron hechas con los antígenos individuales, mientras que para el suero polivalente se utilizó una mezcla de 6 antígenos.

Preparación del suero hiperinmune mezcla

Los 6 sueros hiperinmunes monovalentes fueron mezclados en partes inversamente proporcionales al título fijador de complemento 50% (TFC₅₀) obtenido frente al antígeno homólogo. De esa manera, por unidad de volumen del suero mezcla había la misma proporción de anticuerpos FC de cada uno de los sueros monovalentes que componían la mezcla.

Determinación de la capacidad fijadora del complemento 50%

La antigenicidad de los sueros hiperinmunes fue determinada calculando las relaciones serológicas de cada uno de ellos. Para tal fin fueron titulados por FC₅₀ en tubo frente a las cepas de virus utilizadas en la producción y a varias otras heterólogas, utilizando la metodología ya descrita (7, 5).

RESULTADOS

En primer lugar fueron obtenidas las relaciones serológicas de los sueros monovalentes y prepolivalentes frente a los antígenos utilizados para la preparación de los mismos (Cuadro 1). En todos los casos se observa que los valores de las *r* son más elevados en los sueros prepolivalentes que en los monovalentes, lo que indica que tienen mayor amplitud FC.

Posteriormente, se comparó la capacidad FC del suero hiperinmune mezcla y el polivalente (Cuadro 2). En estas pruebas fueron usados además de los antígenos homólogos a los utilizados para la preparación de los sueros, otros correspondientes a varias cepas de virus de fiebre aftosa de diferentes partes del mundo. Merece destacar que las relaciones proporcionadas por el suero mezcla con las cepas homólogas son más elevadas que las del

CUADRO 1. Relaciones serológicas (*r*) obtenidas por fijación del complemento con los sueros hiperinmunes monovalentes y prepolivalentes

Antígenos	Sueros hiperinmunes											
	A ₂₄ Cruzeiro		A ₂₆ Arg.		A Br/70		A Ecuador		A Magé		A Venceslau	
	Mono. ^a	Prep. ^b	Mono.	Prep.	Mono.	Prep.	Mono.	Prep.	Mono.	Prep.	Mono.	Prep.
A ₂₄ Cruzeiro-Br/55	1.00	1.00	0.49	0.94	0.46	0.77	0.10	0.37	0.09	0.21	0.14	0.28
A ₂₆ Argentina/66	0.24	0.28	1.00	1.00	0.37	0.57	0.12	0.30	0.16	0.16	0.08	0.12
A Brasil/70	0.37	0.67	0.38	0.79	1.00	1.00	0.21	0.52	0.18	0.25	0.23	0.32
A Ecuador/75	0.19	0.31	0.11	0.44	0.40	0.56	1.00	1.00	0.14	0.26	0.08	0.09
A Magé-Br/76	0.12	0.33	0.15	0.67	0.25	0.38	0.34	0.52	1.00	1.00	0.17	0.36
A Venceslau-Br/76	0.22	0.50	0.25	0.54	0.46	0.60	0.11	0.46	0.23	0.47	1.00	1.00

^aMono. = Suero hiperinmune monovalente producido en cobayos por infección e hiperinmunización con la misma cepa.

^bPrep. = Suero hiperinmune prepolivalente producido en cobayos por infección con una cepa e hiperinmunización con una mezcla de antígenos de las 6 cepas relacionadas en el cuadro.

CUADRO 2. Relaciones serológicas (*r*) obtenidas por fijación del complemento con los sueros hiperinmunes mezcla y polivalente

Antígenos	Suero hiperinmune	
	Mezcla	Polivalente
A ₂₄ Cruzeiro-Br/55	1.00	1.00
A ₂₆ Argentina/66	0.92	0.66
A Brasil/70	0.96	1.00
A Ecuador/75	0.88	0.71
A Magé-Br/76	0.92	0.76
A Venceslau-Br/76	0.92	0.85
A ₅ Westerwald/47	0.48	0.69
A ₁₁ Pirbright-Alem/29	0.14	0.25
A ₂₅ Argentina/59	0.29	0.50
A ₂₇ Colombia/67	0.38	0.50
A ₂₉ Perú/69	0.58	0.78
A ₃₀ Pando-Urug/50	0.18	0.50
A Argentina/68	0.34	0.50
A Alegrete-Br/76	0.34	0.69

suero polivalente frente a estos mismos antígenos. Sin embargo, cuando ambos sueros fueron titulados con antígenos heterólogos, el polivalente proporcionó sistemáticamente valores *r* más elevados. Para obtener las relaciones de ambos sueros fue

considerado como antígeno homólogo el A₂₄ Cruzeiro-Br/55.

DISCUSION

Analizando las relaciones serológicas obtenidas con los sueros hiperinmunes monovalentes y prepolivalentes (Cuadro 1) se aprecia que los primeros son altamente específicos, ya que proporcionan valores próximos a cero para la mayoría de los antígenos, a excepción del que fue utilizado para su producción, que obviamente es de uno. Por el contrario, los sueros prepolivalentes proporcionan valores *r* sistemáticamente más elevados, lo que indica que tienen mayor espectro antigénico que los monovalentes.

Las relaciones serológicas próximas a la unidad obtenidas con el suero mezcla, cuando fue titulado por FC₅₀ frente a los antígenos A₂₄ Cruzeiro, A₂₆ Argentina, A Brasil/70, A Ecuador/75, A Magé/76 (Cuadro 2), se deben a que tienen por unidad de volumen una cantidad similar de anticuerpos de los sueros monovalentes correspondientes a esos antígenos, por lo que su capacidad fijadora es elevada y semejante para todos ellos. Por el contrario, los valores *r* frente a los antígenos no

utilizados para su elaboración son sistemáticamente más bajos. Esto es debido a la alta especificidad de los sueros monovalentes que lo constituyen. Por tanto, el suero mezcla es adecuado para fijar los antígenos de los que procede, pero no lo es tanto para identificar otros antígenos.

El suero hiperinmune polivalente proporciona valores r más bajos que el de mezcla para los antígenos utilizados en la producción. Sin embargo tiene más capacidad FC que este, para los antígenos no usados en su elaboración. Esto se debería a que la hiperinmunización de cobayos con una mezcla de antígenos originaría poblaciones de anticuerpos más heterogéneas y, por tanto, con mayor capacidad para reconocer nuevos determinantes antigénicos. Por el contrario, la hiperinmunización con el mismo antígeno usado para la infección, tal como se hace para la preparación de los sueros monovalentes, da origen a sueros de alta especificidad y la mezcla de estos sigue manteniendo esa característica.

Los resultados obtenidos demuestran que el suero polivalente es más efectivo que el de mezcla para ser usado en los laboratorios de diagnóstico, principalmente, si están situados en áreas donde la fiebre aftosa es endémica y con vacunación sistemática de la población susceptible, donde se dan las condiciones ideales para el apareamiento de nuevos subtipos o variantes (2, 3), hecho que es más evidente para el virus del tipo A (4).

Este mayor espectro antigénico del suero polivalente hace que el número de resultados negativos a partir del análisis directo por FC de las muestras de campo sea menor. De esa manera, se disminuyen los pasajes de materiales de campo en ratones lactantes o en cultivos celulares para aumentar la concentración de antígenos. Por otro lado, el

TFC₅₀ del suero polivalente fue dos veces más elevado que el de mezcla, lo que hace que también tenga mayor rendimiento.

Sueros así elaborados están siendo ampliamente utilizados con gran eficiencia en la mayoría de los laboratorios de diagnóstico de las enfermedades vesiculares de América del Sur.

REFERENCIAS

1. ALONSO FERNANDEZ, A., FEDERER, K.E., GOMES, I., VIEIRA, A. Comparación inmunológica y serológica de dos subtipos del virus aftoso tipo C Waldmann. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 4: 9-20, 1971.
2. ANDERSON, E.C., DOUGHT, W.J., ANDERSON, J., BABER, D. *In vitro* comparison of foot-and-mouth disease virus subtype variants causing disease in vaccinated cattle. *J. Hyg. (Camb.)* 80: 451-459, 1978.
3. FEDERER, K.E., ALONSO FERNANDEZ, A., PUSTIGLIONE NETTO, L., PINTO, A.A. Développement d'un nouveau sous-type du virus de la fièvre aphteuse par passages en séries sur bovins partiellement immuns. *Int. Symp. FMD Variants & Immunity, Lyon, 1967. Symp. Ser. Immun. Stand.* 8: 65-72 (Karger, Basel/NY, 1968).
4. PEREIRA, H.G. Subtyping of foot-and-mouth disease. *Int. Symp. FMD Lyon, 1976. Develop. biol. Stand.* 35: 167-174. S. Karger, Basel, 1977.
5. RESOLUTIONS. *Int. Symp. FMD Variants & Immunity, Lyon, 1967. Ser. Symp. Immun. Stand.* 8: 169-170 (Karger, Basel/NY, 1968).
6. TRAUB, E. *et. al.* Typebestimmung bei Maul-und-Klauenseuche mit Meerschweinchen-serum und Rinderantigen. *Zntr. Bl. Bkt.* 150 (146): 289-300, 1946.
7. YEDLOUTSCHNIG, R.J. Complement-fixation test for diagnosis of foot-and-mouth disease and vesicular stomatitis using polyvalent guinea pig antiserums. *U.S. Animal Health Assoc. Proc.* 76: 172-182, 1972.

PREPARATION OF A POLYVALENT ANTISERUM FOR DIAGNOSIS OF FOOT-AND-MOUTH DISEASE VIRUS BY COMPLEMENT FIXATION¹

A. Alonso Fernández², Magnus S. Söndahl², Maria E.V. Ferreira²

SUMMARY

Foot-and-mouth disease is a highly contagious disease and therefore a rapid laboratory confirmation of the clinical diagnosis is fundamental for its control and eradication. There are 7 immunological types of FMD virus, more than 65 subtypes and many strains. The most variable are the A strains, of which frequently new strains appear in the field. Some of those strains are different enough from the known strains to which the conventional antisera are prepared to be difficult to identify by the complement fixation test. To overcome this problem the use of different mixtures of antisera against subtypes of A virus has been proposed. The present paper describes the production of polyvalent guinea pig hyperimmune serum against different strains of type A. This serum has a broad antigenic spectrum and is a valuable diagnostic tool to increase the number of positive identifications of field materials, thus eliminating the need for virus passages to obtain a larger viral mass.

In our laboratory and in the national diagnostic laboratories in the South American countries, where such serum is used extensively it has resulted in increased efficiency and savings of time and materials.

INTRODUCTION

The World Reference Laboratory in Pirbright,

England, has demonstrated that foot-and-mouth disease (FMD) is produced by 7 different immunological types of viruses encompassing more than 65 subtypes. This high number of subtypes and strains is evidence of the virus' great variability, which enables new strains to appear continually in the field. Antigenically, many of the strains differ strikingly from the known strains; this is especially true with regard to type A virus, which is the most variable (4).

The appearance of new variants is favored by virus replication in host populations having different immunological levels (2, 3). Hence, the FMD diagnostic laboratories located in endemic areas subject to systematic vaccinations frequently receive virus samples that are difficult to identify by the complement fixation test (6) when the usual hyperimmune sera are used. In order to resolve this problem, the sera's fixation capability must be increased by utilizing mixtures thereof (7) or by using monovalent sera. But the high concentration of the monovalent sera required may jeopardize their specificity.

This paper describes the production of a polyvalent guinea pig hyperimmune serum against type A virus and analyzes its antigenic spectrum by comparison with monovalent sera or a mixture thereof.

MATERIALS AND METHODS

Virus

The different hyperimmune sera were prepared with the following virus strains from the strain collection at the Pan American Foot-and-Mouth Disease Center (PAFMDC): A₂₄ Cruzeiro-Brazil/55, A₂₆ Argentina/66, A Brazil/70, A Ecuador/75, A Magé-Brazil/76, and A Venceslau-Brazil/76.

Production of the monovalent hyperimmune sera

Using bovine epithelium infected with each of

¹This paper was previously published in the Proc. III Symp. Veter. Lab., Ames, Iowa, USA, Vol. 1, pp. 205-211, 1983. Reproduction authorized.

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

the virus strains mentioned above, a virus suspension was prepared and diluted 1:5 in Earle's medium. The antigen was inoculated into the footpad of both rear feet of 5 adult guinea pigs at the rate of 0.1 ml per animal. Passages continued until all animals developed generalized foot lesions.

At six weeks postinfection all the guinea pigs that developed foot lesions were hyperimmunized with the same strain used for infection. Hyperimmunization was accomplished with antigen diluted 1:5 in Earle's medium with 0.1% saponin prepared with the virus adapted to the species. Each guinea pig was given intradermo-plantar and subcutaneous inoculations of 0.2 ml in the footpad of one foot. A week later the guinea pigs were hyperimmunized again exactly the same way in the other foot. A week after the second hyperimmunization the animals were bled by cardiac puncture. The serum from all the guinea pigs inoculated with the same strain was mixed, inactivated at 56°C for 30 minutes, divided into 3.0 ml aliquotes and stored at -20°C.

Production of polyvalent hyperimmune serum

The guinea pigs were infected individually in exactly the same way as indicated for the production of the monovalent sera. However, the hyperimmunizations were accomplished with a mixture of strains prepared as follows: the footpad epithelium from the vesicles formed at the inoculation sites of all guinea pigs infected with the 6 strains was mixed and diluted 1:5 in Earle's medium with 0.1% saponin. The inoculations were administered in the same way as described in the preparation of the monovalent hyperimmune serum.

The sera from the guinea pigs infected with the same strain were mixed, producing 6 prepolyvalent sera. Later an aliquote of each of the sera was mixed to produce the polyvalent hyperimmune serum.

Hence, the only difference between the preparation of the monovalent and polyvalent sera was that the hyperimmunizations of the former were produced with the individual antigens, whereas a mixture of 6 antigens was used for the polyvalent serum.

Preparation of the hyperimmune serum mixture

The 6 monovalent hyperimmune sera were mixed in parts inversely proportional to the CF_{50} titer obtained against the homologous antigen. Therefore, each unit volume of the serum mixture contained the same proportion of CF antibodies of each of the monovalent sera used in the mixture.

Determination of the 50% complement fixation capacity

The antigenicity of the hyperimmune sera was determined by calculating the serological relationships of each of the sera. For this purpose they were titered by CF_{50} in tube tests against the virus strains utilized in their production and against other heterologous strains, according to the described method (1, 5).

RESULTS

First, the serological relationships of the monovalent and prepolyvalent sera were obtained against the antigens utilized in their preparation (Table 1). In all cases the r values of the prepolyvalent sera are seen to be higher than for the monovalent sera, thus indicating that the former possess a broader CF coverage.

Subsequently the CF capacity of the hyperimmune serum mixtures and the polyvalent serum were compared (Table 2). The tests utilized not only the antigens homologous to those utilized in the preparation of the sera, but also several FMD strains from different parts of the world. It is worth noting that the relationships produced by the serum mixture with the homologous strains are higher than those of the polyvalent serum titered against those same antigens. However, when both sera were titered with heterologous antigens, the polyvalent serum systematically yielded higher r values. The A₂₄ Cruzeiro-Brazil/55 virus strain was considered as the homologous antigen to obtain the relationships of both sera.

DISCUSSION

Analysis of the serological relationships obtained with the monovalent and prepolyvalent

TABLE 1. Serological relationships (*r*) obtained by complement fixation with monovalent and prepolyvalent hyperimmune antisera

Antigens	Hyperimmune sera											
	A ₂₄ Cruzeiro		A ₂₆ Arg.		A Br/70		A Ecuador		A Magé		A Venceslau	
	Mono. ^a	Prep. ^b	Mono.	Prep.	Mono.	Prep.	Mono.	Prep.	Mono.	Prep.	Mono.	Prep.
A ₂₄ Cruzeiro-Br/55	1.00	1.00	0.49	0.94	0.46	0.77	0.10	0.37	0.09	0.21	0.14	0.28
A ₂₆ Argentina/66	0.24	0.28	1.00	1.00	0.37	0.57	0.12	0.30	0.16	0.16	0.08	0.12
A Brazil/70	0.37	0.67	0.38	0.79	1.00	1.00	0.21	0.52	0.18	0.25	0.23	0.32
A Ecuador/75	0.19	0.31	0.11	0.44	0.40	0.56	1.00	1.00	0.14	0.26	0.08	0.09
A Magé-Br/76	0.12	0.33	0.15	0.67	0.25	0.38	0.34	0.52	1.00	1.00	0.17	0.36
A Venceslau-Br/76	0.22	0.50	0.25	0.54	0.46	0.60	0.11	0.46	0.23	0.47	1.00	1.00

^aMono. = Monovalent hyperimmune serum produced in guinea pigs by infection and hyperimmunization with the same virus strain.

^bPrep. = Prepolyvalent hyperimmune serum produced in guinea pigs by infection with one strain and hyperimmunization with a mixture of antigens of the six strain listed above.

TABLE 2. Serological relationships (*r*) obtained by complement fixation with mixed and polyvalent hyperimmune antisera

Antigens	Hyperimmune serum	
	Mixture	Polyvalent
A ₂₄ Cruzeiro-Br/55	1.00	1.00
A ₂₆ Argentina/66	0.92	0.66
A Brazil/70	0.96	1.00
A Ecuador/75	0.88	0.71
A Mage-Br/76	0.92	0.76
A Venceslau-Br/76	0.92	0.85
A ₅ Westerwald/47	0.48	0.69
A ₁₁ Pirbright-Alem/29	0.14	0.25
A ₂₅ Argentina/59	0.29	0.50
A ₂₇ Colombia/67	0.38	0.50
A ₂₉ Peru/69	0.58	0.78
A ₃₀ Pando-Urug/50	0.18	0.50
A Argentina/68	0.34	0.50
A Alegrete-Br/76	0.34	0.69

hyperimmune sera (Table 1) reveals that the former are highly specific and yield near-zero values for most of the antigens. The only exception was the antigen utilized to produce the serum, whose value is obviously 1. On the other hand, the

prepolyvalent sera systematically yield higher *r* values, thereby indicating that they possess a broader antigenic spectrum than the monovalent sera.

The near-unit serological relationships obtained with the sera mixture when it was titered by CF₅₀ against the antigens (A₂₄ Cruzeiro, A₂₆ Argentina, A Brazil/70, A Ecuador/75, A Mage/76) are due to the fact that per unit volume they have a like quantity of the antibodies of the monovalent sera corresponding to those antigen (Table 2). Hence, their CF capacity is higher and similar for all of them. On the other hand, the *r* values obtained against the antigens not utilized in their preparation are systematically lower, due to the high specificity of the constituent monovalent sera. The serum mixture is therefore suitable to fix the antigens of the sera used to prepare it, but less suitable to identify other antigens.

The polyvalent hyperimmune serum yields lower *r* values than the serum mixture for the antigens used in the production thereof. However, it possesses a greater CF capacity than that serum mixture with respect to the antigens not used in its preparation. This is because the hyperimmunization of guinea pigs with a mixture of antigens

would induce more heterogeneous populations of antibodies with greater ability to recognize new antigenic determinants. On the other hand, hyperimmunization with the same antigen as used for the infection --as in the preparation of the monovalent sera-- results in high-specificity sera whose mixture maintains that characteristic.

The results obtained demonstrate that the polyvalent serum is more effective than the sera mixture for use in the diagnostic laboratories. This is especially true in laboratories located in areas where FMD is endemic and systematic vaccination of the susceptible population creates ideal conditions for the emergence of new subtypes or variants (2, 3). This fact is most evident for the type A virus (4).

This broader antigenic spectrum of the polyvalent serum reduces the number of negative results based on the direct analysis of the field samples by complement fixation. Consequently, there is a reduction of field materials that have to be passaged in suckling mice or cell cultures to increase the concentration of antigens. On the other hand, the CFT₅₀ of the polyvalent serum was twice as high as the titer of the serum mixture, which also means greater yield.

Sera prepared in this manner are being extensively used with great efficiency in most of the vesicular disease diagnostic laboratories in South America.

REFERENCES

1. ALONSO FERNANDEZ, A., FEDERER, K.E., GOMES, I., VIEIRA, A. Comparación inmunológica y serológica de dos subtipos del virus aftoso tipo C Waldmann. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 4: 9-20, 1971.
2. ANDERSON, E.C., DOUGHT, W.J., ANDERSON, J., BABER, D. *In vitro* comparison of foot-and-mouth disease virus subtype variants causing disease in vaccinated cattle. *J. Hyg. (Camb.)* 80: 451-459, 1978.
3. FEDERER, K.E., ALONSO FERNANDEZ, A., PUSTIGLIONE NETTO, L., PINTO, A.A. Développement d'un nouveau sous-type du virus de la fièvre aphteuse para passages en séries sur bovins partiellement immuns. *Int. Symp. FMD Variants & Immunity, Lyon, 1967. Symp. Ser. Immun. Stand.* 8: 65-72 (Karger, Basel/NY, 1968).
4. PEREIRA, H.G. Subtyping of foot-and-mouth disease. *Int. Symp. FMD Lyon, 1976. Develop. biol. Stand.* 35: 167-174. S. Karger, Basel, 1977.
5. RESOLUTIONS. *Int. Symp. FMD Variants & Immunity, Lyon, 1967. Ser. Symp. Immun. Stand.* 8: 169-170 (Karger, Basel/NY, 1968).
6. TRAUB, E. *et. al.* Typebestimmung bei Maul-und-Klauenseuche mit Meerschweinchen-serum und Rinderantigen. *Zntr. Bl. Bkt.* 150 (146): 289-300, 1946.
7. YEDLOUTSCHNIG, R.J. Complement-fixation test for diagnosis of foot-and-mouth disease and vesicular stomatitis using polyvalent guinea pig antiserums. *U.S. Animal Health Assoc. Proc.* 76: 172-182, 1972.

VARIABILIDAD ANTIGENICA E INMUNOGENICA DEL VIRUS DE LA FIEBRE AFTOSA¹

A. Alonso Fernández², M.S. Söndahl², F.J. Rosenberg², V.M. Astudillo²

RESUMEN

La elevada contagiosidad de la fiebre aftosa y la alta plasticidad del virus son factores que inciden negativamente en el control de la enfermedad. Por esa razón, los países libres imponen severas barreras a la importación de productos de origen animal procedentes de los países afectados por la fiebre aftosa, agravando los problemas socioeconómicos de estos últimos y obligándolos a adoptar enérgicas medidas para controlar y posteriormente erradicar la enfermedad. Para que dichas medidas sean eficaces deben surgir del convencimiento de todos aquellos que, de una u otra forma, se dedican al combate de la enfermedad.

Los programas de control deben estar integrados por los ganaderos, los servicios de campo y los laboratorios de diagnóstico, producción y control, manteniendo entre ellos una activa y continua información referente a las características de los virus actuantes en el campo, comportamiento de las vacunas y situación de campo. Además, el programa deberá hacer lo posible para implantar nuevas técnicas que estudian las características antigénicas e inmunogénicas del virus y las modificaciones de su ácido nucleico para su mejor identificación, que permitan acelerar el proceso de erradicación de la enfermedad.

INTRODUCCION

La fiebre aftosa es una de las enfermedades más importantes de los animales por su impacto económico y es causada por un virus aislado por primera vez en 1897. Desde entonces han sido identifica-

dos 7 tipos con propiedades antigénicas e inmunogénicas diferentes, denominados O Vallée, A Vallée, C Waldmann, SAT 1, SAT 2 y SAT 3 y ASIA 1. Las diferencias inmunológicas entre ellos son de tal magnitud que animales convalecientes de un tipo no están protegidos para otro.

Dentro de cada tipo han sido reconocidos grupos de virus o subtipos que, aun perteneciendo al mismo tipo, no son capaces de conferir una sólida inmunidad frente a otros subtipos del mismo tipo.

Los virus que integran los subtipos son denominados cepas. Normalmente se designan indicando el tipo y subtipo a que pertenecen y el lugar, país y año de aislamiento.

Los países libres de la enfermedad, América del Norte y Central, Panamá, países del Caribe, Chile, Australia, Nueva Zelandia, Japón, Gran Bretaña e Irlanda, para mantenerse indemnes adoptan severas medidas restrictas a la importación de productos de origen animal procedentes de los países infectados.

Los países afectados de forma esporádica, como es el caso de Europa Occidental, de igual forma restringen las importaciones.

El presente trabajo trata de la clasificación antigénica e inmunogénica del virus de la fiebre aftosa orientada a apoyar los programas de control de la enfermedad y considera las medidas que deben ser adoptadas para reducir el impacto económico que ocasiona.

ESTRUCTURA DEL VIRUS

El virus de la fiebre aftosa pertenece a los enterovirus y está clasificado dentro de la familia *Picornaviridae*. En suspensiones virulentas, además del virus completo o virión, con un coeficiente de sedimentación (s) de 140S, han sido encontradas otras tres partículas: a) la cápside viral vacía, así llamada por no poseer ácido ribonucleico (ARN) por lo que no es infecciosa, pero tiene propiedades inmunogénicas semejantes a la partícula 140S;

¹Este trabajo fue publicado previamente en el Simp. Estructura y Replicación Viral. 1er Congr. Argentino Virol.: 15-22, 1983. Reproducción autorizada.

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

b) las subunidades de la cápside con 12S, y c) la polimerasa viral, que constituye el antígeno asociado a la infección viral (VIA) tiene una tasa de sedimentación de 4.5. El virión posee un único filamento de ARN cubierto por una capa proteica con 12 capsómeros, que forman una cápside icosaédrica simétrica con un diámetro de 25 nm.

La cápside está constituida por unidades de cuatro polipéptidos estructurales, VP1, VP2, VP3 y VP4. De las cuatro proteínas, la más importante es la VP1. Está situada en la parte externa de los vértices del icosaedro, según ha sido demostrado tratando el virus con tripsina y comparando la capacidad de unión de la IgM antes y después del tratamiento. Las propiedades antigénicas e inmunizantes del virus están íntimamente ligadas a la integridad y secuencia de los aminoácidos de los determinantes antigénicos superficiales de esta proteína.

VARIABILIDAD DEL VIRUS

La capacidad de variación del virus de la fiebre aftosa se debe a su alta tasa de mutación (9), a su recombinación genética y a la presión selectiva ejercida en el campo por la replicación del virus en animales con niveles inadecuados de anticuerpos neutralizantes, lo que origina poblaciones virales distintas a las que iniciaron la infección (4). Estos procesos ocasionan cambios en la secuencia de los nucleótidos del ARN viral, que serían transmitidos a las proteínas de la cápside, modificando la secuencia de los aminoácidos y cambiando, entre otros aspectos, las propiedades antigénicas e inmunogénicas de los determinantes antigénicos del virus.

En un principio, los estudios de la variabilidad recayeron en la antigenicidad del virus por fijación del complemento (10), es decir, se analizó la capacidad de unión de los determinantes antigénicos de la superficie de la cápside a los anticuerpos. Posteriormente fue comparada la inmunogenicidad, midiendo la capacidad de inducir anticuerpos por pruebas de seroprotección o seroneutralización en el suero de los animales inoculados (3).

El empleo de las técnicas de ELISA (1) y de los anticuerpos monoclonales (8), junto con la implantación de las técnicas bioquímicas modernas, como

los mapas T1 del ARN genómico viral (6) y el electroenfocado de las proteínas de la cápside (7) permitieron realizar estudios más precisos del virus y de toda su problemática.

El uso de las nuevas técnicas de biotecnología, como el clonado y secuenciamiento del ARN viral (5) y la síntesis de pequeños péptidos con relevancia inmunológica (2), en combinación con las técnicas convencionales de diagnóstico, unido a un conocimiento más preciso de los mecanismos básicos de variabilidad viral, podrán ayudar a predecir las propiedades biológicas de los virus que irán a aparecer en el campo, permitiendo que los programas de control de la enfermedad se anticipen a los hechos.

CLASIFICACION DEL VIRUS

La gran variabilidad del virus hace que continuamente surjan nuevas cepas que deben ser clasificadas de acuerdo con normas preestablecidas para evitar confusión. Los actuales criterios de clasificación surgieron de la necesidad de apoyar a los programas de control de la enfermedad. Por tanto, el conocimiento de las características antigénicas e inmunogénicas de las cepas vacunales y las de campo, y la importancia de estas últimas, hasta el momento han sido los elementos fundamentales para catalogar las nuevas cepas.

Las primeras normas de clasificación fueron establecidas por el Laboratorio Mundial de Referencia (LMR) en el Simposio Internacional sobre Variantes e Inmunidad, realizado en Lyon, en 1967. Consisten en la titulación por fijación del complemento 50% (FC_{50}) de los sueros hiperinmunes frente a los antígenos homólogo y heterólogo. A partir de los títulos fijadores de complemento 50% (TFC_{50}) se establecen las relaciones (r) y parentescos (R) serológicos o antigénicos (Cuadro 1), según el siguiente procedimiento:

$$r = \frac{TFC_{50} \text{ frente a antígenos heterólogo}}{TFC_{50} \text{ frente a antígeno homólogo}}$$

$$R = 100 \sqrt{r_1 \times r_2}$$

r_1 = Relación correspondiente al suero hiperinmune

r_2 = Relación correspondiente al antígeno

Límite de valores:

	$R = r_1 \times r_2$	$R = 100 \sqrt{r_1 \times r_2}$
1. Tipos	$\leq 0,01$	$\leq 10\%$
2. Subtipos muy diferentes	$> 0,01$ a $0,1$	> 10 a 32%
3. Subtipos diferentes	$> 0,1$ a $0,5$	> 32 a 70%
4. Cepas	$> 0,5$ a 1	$> 70\%$

CUADRO 1. Relaciones serológicas (r_1 y r_2) de las cepas de virus de fiebre aftosa del tipo A más representativas del Cono Sur

Antígenos (r_2)	Sueros hiperinmunes (r_1)				
	A ₂₄ Cruz.	A ₂₄ Arg.	A Venc.	A Arg/79	A Br/79
A ₂₄ Cruzeiro-Br/55	1.00	0.52	0.08	0.45	0.32
A ₂₄ Argentina/68	0.50	1.00	0.24	0.56	0.61
A Venceslau-Br/76	0.22	0.30	1.00	0.60	0.37
A Argentina/79	0.23	0.42	0.30	1.00	0.95
A Brasil/79	0.24	0.30	0.44	0.93	1.00

En otro Simposio Internacional sobre Fiebre Aftosa realizado en Lyon, en 1976, se propuso no tener en cuenta los parentescos y considerar únicamente las relaciones. Además, se propuso que la designación de un virus como un nuevo subtipo sólo recaería en las cepas con importancia epidemiológica y después de comprobar que existían diferencias inmunológicas con las cepas usadas en la producción de la vacuna. Estas recomendaciones no están siendo aplicadas, ya que ciertos países consideran cualquier nueva cepa como un nuevo subtipo.

ESTUDIO DE ANTIGENICIDAD E INMUNOGENICIDAD

Con base en las recomendaciones del LMR fueron calculadas las relaciones r y R por FC_{50} de las cepas del tipo A representativas de las muestras de campo del Cono Sur de América del Sur, aisladas a partir de 1960 (Cuadro 1). También fue establecida la cobertura inmunológica por seroneutralización en sueros de bovinos vacunados y revacunados con vacunas de hidróxido de aluminio-saponinadas, colectados a los 30 días posvacunación

(DPV) y a los 30 y 90 días después de la revacunación (DPR) (Cuadro 2).

El análisis de los datos del Cuadro 1 indica que todas las cepas estudiadas, a excepción del A Arg/79 y A Br/79, debieran ser clasificadas dentro de subtipos diferentes o muy diferentes. Dentro de una misma cepa también se aprecia que las relaciones correspondientes al suero (r_1) son, en muchos casos, bastante diferentes a las proporcionadas por el antígeno (r_2).

En pruebas de este tipo es muy común observar que un antígeno puede tener relaciones muy altas para una cepa y muy bajas para otra, perteneciendo ambas al mismo subtipo. También se aprecia con frecuencia que un mismo antígeno proporciona relaciones altas y semejantes con cepas de diferentes subtipos.

El número de cepas incluidas en un subtipo depende de la antigenicidad de la cepa de referencia para ese subtipo. Cuanto mayor amplitud antigénica mayor número de muestras tendrán relación serológica y por tanto serán incluidas en ese subtipo. La cepa A Arg/79 tiene un amplio espectro, por lo que presenta relaciones antigénicas con muestras que no tienen ninguna conexión

CUADRO 2. *Títulos medios de seroneutralización para virus de la fiebre aftosa tipo A obtenidos con sueros de bovinos a los 30 DPV y 30 y 90 DPR*

Virus	Sueros de bovinos revacunados														
	A ₂₄ Cruz.			A Arg/68			A Venc.			A Arg/79			A Br/79		
	DPV	DPR		DPV	DPR		DPV	DPR		DPV	DPR		DPV	DPR	
	30	30	90	30	30	90	30	30	90	30	30	90	30	30	90
A ₂₄ Cruzeiro	<u>2.7</u>	<u>3.1</u>	<u>3.3</u>	2.3	3.0	3.0	≤ 1.4	2.3	2.3	≤ 1.0	2.3	2.0	≤ 1.4	2.1	1.9
A ₂₄ Argentina/68	2.4	3.6	2.9	<u>3.0</u>	<u>3.3</u>	<u>3.2</u>	≤ 1.4	2.5	2.0	1.8	2.2	2.2	≤ 1.5	2.4	2.2
A Venceslau	≤ 1.6	2.4	2.8	2.2	2.4	2.7	<u>3.0</u>	<u>3.5</u>	<u>3.3</u>	2.4	2.6	2.6	2.3	2.9	2.6
A Argentina/79	≤ 1.5	2.9	2.4	2.0	2.4	2.5	2.1	2.6	2.6	<u>2.3</u>	<u>3.0</u>	<u>2.6</u>	2.2	3.1	2.8
A Brasil/79	≤ 1.5	2.9	2.4	2.0	2.4	2.4	2.3	2.6	2.5	2.4	2.9	2.7	<u>2.2</u>	<u>2.8</u>	<u>2.7</u>

DPV = Días después de la vacunación.

DPR = Días después de la revacunación.

epidemiológica. Todos estos aspectos demuestran la complejidad de la variabilidad del virus y la dificultad de clasificarlo sólo con base en las pruebas antigénicas.

Las pruebas inmunológicas del Cuadro 2 muestran que las cinco cepas estudiadas corresponden a dos grupos inmunológicos diferentes. Uno estaría integrado por las dos primeras y el otro por las tres últimas. Vacunas formuladas con una cepa de cada grupo proporcionarían una cobertura inmunológica amplia porque ambas cepas se complementan.

Los valores de la seroneutralización obtenidos con los sueros de los bovinos revacunados indican que las revacunaciones disminuyen las diferencias entre las cepas. Estas observaciones también deben ser consideradas para la clasificación de nuevos subtipos.

ANTIGENICIDAD E INMUNOGENICIDAD DE LAS CEPAS EN EL CAMPO

La caracterización antigénica de los virus de campo efectuada por los laboratorios nacionales de América del Sur y por el Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (CPFA) ha mostrado que la persistencia de las cepas en el campo varía de unas a otras. Los estudios de laboratorio y de campo han demostrado que una misma cepa no ocasiona más de una onda epidémica en la misma área.

En la caracterización sistemática de las muestras

de una región, durante los períodos epidémicos e interepidémicos, se observa que las cepas constantemente modifican sus propiedades biológicas. A veces, una cepa de campo deja de pertenecer a un subtipo de forma gradual. Sin embargo, en otras ocasiones aparecen marcadas diferencias antigénicas de forma brusca.

La velocidad y el área de difusión de una cepa están íntimamente ligadas al movimiento de animales y a las características físicas de la región. En el Cono Sur normalmente las cepas afectan a grandes extensiones. Por el contrario, en países con barreras naturales importantes y con muchas regiones independientes, como es el caso de Colombia, Ecuador y Perú, una determinada cepa afecta a una pequeña extensión bien delineada. En estas condiciones es frecuente la identificación de cepas diferentes en las distintas regiones de un país en el mismo período. Por el contrario, en el Cono Sur es habitual la predominancia de una sola cepa en una extensa área, muchas veces más allá de los límites de un país.

La constante mutación de las propiedades biológicas de los virus en el campo y la facilidad para mantener la estabilidad, antigenicidad e inmunogenicidad en el laboratorio, permiten diferenciar cuando un foco o un brote son consecuencia del virus de campo o han sido debidos a un escape de virus de los laboratorios de diagnóstico, control, producción o investigación. En

estas circunstancias, los mapas T1 del ARN viral (6) aportan gran apoyo.

Las cepas identificadas dentro de una misma epidemia presentan diferencias antigénicas de pequeña magnitud. Los virus muestran en los períodos interepidémicos diferencias mayores que en ocasiones pueden alcanzar el rango de subtipos. Este fenómeno es consecuencia de que los períodos interepidémicos son de mayor duración y existirán brotes independientes originados por cepas diferentes.

En muestras procedentes de áreas donde los bovinos son vacunados sistemáticamente con vacunas de aceptable calidad, y por tanto con anticuerpos específicos a las cepas vacunales, se ha observado que el virus tiende a alejarse antigénica e inmunogénicamente de la cepa utilizada en la producción, debido a la continua selección ejercida por los anticuerpos de los bovinos. Las ondas epidémicas producidas por cepas con características antigénicas e inmunogénicas similares a las usadas en las vacunas son una clara demostración de que la vacuna es de baja calidad inmunogénica o está siendo inadecuadamente manejada o existen poblaciones susceptibles.

VARIABILIDAD DEL VIRUS DEL TIPO A EN EL CONO SUR

Un análisis del comportamiento en el campo de las cepas del tipo A, con base en los estudios antigénicos e inmunogénicos realizados con muestras del Cono Sur, demuestra que la variación del virus de la fiebre aftosa en un principio estuvo muy ligada al desarrollo de los métodos de producción de las vacunas.

El primer subtipo identificado fue el A₁₃ Santos-Br/60 (3). El apareamiento de este virus se debió a la producción de antígeno por el método de Waldmann para la elaboración de vacunas en el matadero de Santos, Brasil. Posteriormente, y también debido a la producción de vacuna del tipo Waldmann, fueron diagnosticados los subtipos A₁₆ Belém-Br/59 y A₁₇ Guarulhos-Br/59. Los tres subtipos no tuvieron difusión en el campo, pero por tratarse de muestras con gran especificidad antigénica e inmunogénica inducían una inmunidad de limitada amplitud, originando una escasa protección.

En Argentina, la producción de vacunas por el método de Waldmann también dio lugar al apareamiento del A₁₉ Suipacha-Arg/62. Al igual que las tres anteriores, tenía una alta especificidad antigénica e inmunogénica y tampoco causó una onda epidémica. Otra característica común a estos subtipos es la de poseer gran capacidad de replicación y tener poca estabilidad.

En un trabajo retrospectivo realizado en el CPFA, en un foco de campo en la provincia de Córdoba, Argentina, en 1961, se identificó un virus similar al A₁₀ Kemron. También se comprobó que un laboratorio productor de vacunas en Argentina utilizaba esta cepa en la producción. Este virus es usado en Holanda para la elaboración de vacunas. En el mismo estudio fue identificado el A₂₅ Argentina/59. Esta cepa también era utilizada por algunos laboratorios en la producción de vacunas y su aislamiento en el campo tuvo lugar de forma esporádica entre los años de 1959 a 1967. Sin embargo, las cepas que predominaron en el campo en el Cono Sur desde 1960 hasta 1975 pertenecían al subtipo A₂₄.

A finales de 1975 y durante todo el año de 1976 el estado de Rio Grande do Sul, Brasil, padeció una onda epidémica causada por la cepa A Bagé-Br/76 encuadrada dentro del grupo formado por los virus A Venceslau-Br/76, A Arg/79 y A Br/79. Esta cepa también causó una onda epidémica a finales de 1976 y primeros meses de 1977 en Uruguay, y de agosto a noviembre de 1977 en Argentina. En ese período en São Paulo y Paraná, Brasil, afectaba el A Venceslau.

A partir de julio de 1980 hasta agosto de 1981 en Argentina fue detectada otra onda epidémica ocasionada por la cepa A Arg/79, como consecuencia de la modificación en el campo del A Bagé-Br/76. Cepas similares a la Argentina/79 también fueron identificadas en Brasil y Uruguay.

CONCLUSIONES

Los países afectados por la fiebre aftosa necesitan erradicar esa enfermedad para librarse de las pérdidas económicas que ocasiona. Esto presupone adoptar una serie de medidas que han de surgir del convencimiento de los gobiernos, de los ganaderos y de todos aquellos que de alguna manera

estén relacionados con la actividad agropecuaria.

Los programas de control y erradicación de la enfermedad han de conseguir una estrecha unión entre los ganaderos, la vigilancia epidemiológica y los laboratorios de diagnóstico, producción y control de vacunas.

En lo que se refiere al agente causal, el programa continuamente deberá estar informado sobre el comportamiento del virus en el campo y conocer la cobertura antigénica e inmunogénica de las cepas vacunales frente a las predominantes en el campo para adoptar las medidas oportunas en caso necesario.

En los países del Cono Sur, donde la fiebre aftosa es endémica, la tecnología moderna, que analiza nuevos aspectos del virus, debe colaborar con la estructura existente para acelerar el proceso de control y posterior erradicación de la enfermedad.

REFERENCIAS

1. ABU ELZEIN, E.M.E. & CROWTHER, J.R. Enzyme-labelled immuno-labelled immunosorbent assay techniques in foot-and-mouth disease virus research. *J. Hyg. (Camb.)* 80: 391-399, 1978.
2. BITTLE, J.L., HOUGHTEN, R.A., ALEXANDER H., SHINNICK, T.M., SUTCLIFFE, J.L., LERNER, R.A., ROWLANDS, D.J., BROWN, F. Protection against foot-and-mouth disease by immunization with a chemically synthesized peptide predicted from the viral nucleotide sequence. *Nature (London)* 298: 30-33, 1982.
3. FEDERER, K.E., SAILE, J., HONIGMAN, M.N. Identification d'un nouveau sous-type A du virus aphteux. *Bull. off. int. Epiz.* 57 (7-8): 1171-1190, 1962.
4. HYSLOP, N.St.G. & FAGG, R.N. Isolation of variants during passage of strains of foot-and-mouth disease virus in partly immunized cattle. *J. Hyg. (Camb.)* 63: 357-368, 1965.
5. KÜPPER, H., KELLER, W., KURZ, C., FORSS, C., SCHALLER, H., FRANZE, R., STROHMAIER, K., MARQUARDT, O., ZASLAVSKY, V.G., HOFSCHEIDER, P.H. Cloning of cDNA of major antigen of foot-and-mouth disease virus and expression in *E. coli*. *Nature (London)* 189: 555-559, 1981.
6. LA TORRE, J.L., UNDERWOOD, B.O., LEBENDIKER, M., GORMAN, B.M., BROWN, F. Application of rNase T₁ one-and-two dimensional analyses to the rapid identification of foot-and-mouth disease virus. *Inf. and Imm.* 36 (1): 142-147, 1982.
7. McCAHON, D., KING, A.M.Q., NEWMAN, J.W.I. Rapid identification of FMD virus isolates by electrofocussing of their induced proteins. In: Working papers 16th Conference of FMD, 14-17 Sept. 1982. pp.189-198, 1982.
8. MILSTEIN, C., GALFRÉ, G., SECHER, D.S., SPRINGER, T. Monoclonal antibodies and cell surface antigens. *Ciba Foundation Symposia*, 66: 251-276, 1979.
9. PRINGLE, C.R. Genetic aspects of the thermal inactivation properties of foot-and-mouth disease virus strains. *Bull.off.int.Epiz.* 61 (7-8): 619-628, 1964.
10. TRAUB, E. & MÖHLMANN, H. Typebestimmung bei maul und Klauenseuche mit hiffe der komplement bindungsprobe. I. Mitterlung. Versuche mit geren und antigenen von Meerschweinchen. *Zbl. Bakt.I.* 150 (6): 289-300, 1943.

ANTIGENIC AND IMMUNOGENIC VARIABILITY OF THE FOOT-AND-MOUTH DISEASE VIRUS¹

A. Alonso Fernandez², M.S. Söndahl², F.J. Rosenberg², V.M. Astudillo²

SUMMARY

The high contagiousness of foot-and-mouth disease (FMD) and the great variability of the virus are factors that negatively affect the control of the disease. The disease-free countries therefore impose severe restrictions on the importation of animal products from countries affected by FMD. This situation thus aggravates the socio-economic problems of the affected countries and compels them to adopt strong measures to control and then eradicate the disease. In order for those measures to be effective, they must originate from the united determination of all those who, in one way or another, are dedicated to control the disease.

The control programs must unite the efforts of the livestock producers, the veterinary field services and the diagnosis, production and control laboratories, and must likewise maintain among them an active, continuous information regarding the characteristics of the viruses active in the field, the performance of the vaccines and the epidemiologic field situation. Additionally, FMD-control programs must put forth every effort to implement new techniques to study the antigenic and immunogenic characteristics of the virus and the changes in its nucleic acid for its better identification. Thus will the process of eradicating the disease be accelerated.

INTRODUCTION

Foot-and-mouth disease (FMD), one of the

¹This paper was previously published in the *Simp. Estructura y Replicación Viral*. 1er. Congr. Argentino Virolog.: 15-22, 1983. Reproduction authorized.

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

most important animal diseases because of its economic impact, is caused by a virus first isolated in 1897. Since then seven types with different antigenic and immunogenic properties have been identified and named: O Vallee, A Vallee, C Waldmann, SAT 1, SAT 2 and SAT 3, and ASIA 1. Their immunological differences are of such magnitude that animals recovering from one type are not protected against any other type.

Whithin each type virus groups or subtypes have been recognized which, although belonging to the same type, are not capable of conferring a solid immunity against other subtypes of the same type.

The viruses composing the subtypes are known as strains. They are usually designated by indicating the type and subtype to which they belong, and the place, country and year in which they were first isolated.

In order to remain free from the disease, the disease-free countries --North and Central America, Panama, the Caribbean countries, Chile, Australia, New Zealand, Japan, Great Britain and Ireland--adopt severe restrictions on the importation of animal products from the infected countries.

The countries that are sporadically affected, such as Western Europe, also restrict imports.

This paper discusses the antigenic and immunogenic classification of FMD virus, intending to support the disease-control programs. The measures that should be adopted to reduce the economic impact of the diseases are also considered.

STRUCTURE OF THE VIRUS

The FMD virus is an enterovirus and is classified as a member of the *Picornaviridae* family.

In addition to the virion or complete virus with a sedimentation coefficient of 140S, three other particles have been found in suspensions of virulent virus: (a) the empty viral capsid, so named

because it is devoid of ribonucleic acid (RNA) and is therefore not infectious, but has immunogenic properties similar to the 140S particle; (b) the 12S subunits of the capsid, and (c) the virus-infection-associated antigen (VIA) which is the viral polymerase with a sedimentation rate of 4.5. The virion has a single filament of RNA covered by a protein envelope of 12 capsomeres that form a symmetric icosahedric capsid having a diameter of 25nm.

The capsid is constituted of units of four structural polypeptides --VP1, VP2, VP3 and VP4. The VP1 is the most important of the four proteins. It is found on the outer part of the vertexes of the icosahedron, as has been demonstrated by treating the virus with trypsin and comparing the binding capacity of the IgM before and after the treatment. The antigenic and immunizing properties of the virus are closely linked to the integrity and sequence of the amino acids of the surface protein antigenic determinants.

VIRUS VARIABILITY

The FMD virus variation is due to its high rate of mutation (9), to genetic recombination, and to the selective pressure exerted in the field by virus replication in animals having inadequate levels of neutralizing antibodies. This gives rise to virus populations different from those that initiated the infection (4). These processes cause changes in the sequence of the nucleotides of the virus RNA, which would be transmitted to the capsid proteins, thereby modifying the sequence of the amino acids and, among other aspects, changing the antigenic and immunogenic properties of the viral antigenic determinants.

In the beginning, the variability studies relied on a determination of the viral antigenicity by complement fixation (10); that is, analysis focused on the capacity of the capsid surface antigenic determinants to bind with antibodies. The immunogenicity was later compared by measuring the antibody-inducing capacity by means of serum protection or serum neutralization tests in sera of the vaccinated animals (3).

The use of the ELISA (1) and of monoclonal antibodies (8) techniques, together with the implementation of modern biochemical techniques

such as the T1 maps of the viral genomic RNA (6) and the electrofocusing of the capsid's proteins (7), led to more accurate studies of the virus and its full complexity.

The use of the new biological techniques such as the cloning and sequencing of the viral RNA (5) and the synthesis of small peptides with immunological relevance (2), in conjunction with the conventional diagnosis techniques and a more precise knowledge of the basic mechanism of virus variability, may enable researchers to predict the biological properties of the viruses that will appear in the field. The disease-control programs may thereby be able to anticipate the facts.

VIRUS CLASSIFICATION

The great variability of the FMD virus continually produces new strains that must be classified according to pre-established standards in order to avoid confusion. The current classification criteria originated from the need to support the disease-control programs. Therefore, the knowledge of the antigenic and immunogenic characteristics of the vaccine strains and field strains, and the importance of the latter, have to date been the fundamental elements for classifying the new strains.

The first classification standards were established in 1967 by the World Reference Laboratory at the International Symposium on Variants and Immunity, held in Lyon, France. Accordingly, the hyperimmune sera are titered by the 50% complement fixation method (CF₅₀) against the homologous and heterologous antigens. Based on the 50% complement fixation titers (CFT₅₀), the serological or antigenic relationships (r) and parentages (R) are established (Table 1), according to the following procedure:

$$r = \frac{\text{CFT}_{50} \text{ relative to heterologous antigen}}{\text{CFT}_{50} \text{ relative to homologous antigen}}$$

$$R = 100 \sqrt{r_1 \times r_2}$$

r_1 = Relationship corresponding to the hyper-immune serum

r_2 = Relationship corresponding to the antigen

Limit of values:

	$R = r_1 \times r_2$	$R = 100 \sqrt{r_1 \times r_2}$
1. Types	≤ 0.01	$\leq 10\%$
2. Very different subtypes	> 0.01 to 0.1	> 10 to 32%
3. Different subtypes	> 0.1 to 0.5	> 32 to 70%
4. Strains	> 0.5 to 1	$> 70\%$

TABLE 1. Serological relationships (r_1 and r_2) of the most representative strains of FMD virus type A in the Southern Cone of South America

Antigens (r_2)	Hyperimmune sera (r_1)				
	A ₂₄ Cruz.	A ₂₄ Arg.	A Venc.	A Arg/79	A Br/79
A ₂₄ Cruzeiro-Br/55	1.00	0.52	0.08	0.45	0.32
A ₂₄ Argentina/68	0.50	1.00	0.24	0.56	0.61
A Venceslau-Br/76	0.22	0.30	1.00	0.60	0.37
A Argentina/79	0.23	0.42	0.30	1.00	0.95
A Brasil/79	0.24	0.30	0.44	0.93	1.00

At the 1976 International Foot-and-Mouth Disease Symposium held in Lyon, it was proposed to disregard the parentages and to consider only the relationships. Moreover, it was added that a virus would thereafter be designated as a new subtype only when the strains were epidemiologically important, and only after it had been proved that immunological differences did exist between those strains and the strains used in producing the vaccine. These recommendations are not currently being applied, in so far as certain countries regard any new strain as a new subtype.

STUDY OF ANTIGENICITY AND IMMUNOGENICITY

Based on the recommendations of the World Reference Laboratory the CF₅₀ method was utilized to determine the r and R relationships of the type A strains representative of the field samples found in the Southern Cone of South America, and isolated beginning in 1960 (Table 1). The immunological coverage was also established by serum neutralization of sera from bovines vaccinated and revaccinated with saponin-aluminum hydroxide

vaccines; the sera were collected at 30 days post-vaccination (DPV) and at 30 and 90 days post-revaccination (DPR) (Table 2).

Analysis of the data in Table 1 indicates that all the strains studied, excepting A Arg/79 and A Br/79, should be classified as a different or very different subtypes. It is also observed that within a single strain the relationships corresponding to the serum (r_1) are, in many cases, quite different from those provided by the antigen (r_2).

In tests of this type, it is commonly observed that an antigen may have very high relationships with one strain and very low relationships with another, although both strains belong to the same subtype. It is also frequently observed that an antigen shows high and similar relationships with strains of different subtypes.

The number of strains included in a given subtype depends on the antigenicity of the reference strain for that subtype. The greater the antigenic spectrum, the larger the number of samples that will have serological relationships and will therefore be included in that subtype. The A Arg/79 strain has a broad spectrum and

TABLE 2. Mean serum neutralization titers for FMD virus type A obtained with bovine sera at 30 DPV and 90 DPR

Virus	Sera from revaccinated cattle														
	A ₂₄ Cruz.			A Arg/68			A Venc.			A Arg/79			A Br/79		
	DPV	DPR		DPV	DPR		DPV	DPR		DPV	DPR		DPV	DPR	
	30	30	90	30	30	90	30	30	90	30	30	90	30	30	90
A ₂₄ Cruzeiro	2.7	3.1	3.3	2.3	3.0	3.0	< 1.4	2.3	2.3	< 1.0	2.3	2.0	< 1.4	2.1	1.9
A ₂₄ Argentina/68	2.4	3.6	2.9	3.0	3.3	3.2	< 1.4	2.5	2.0	1.8	2.2	2.2	< 1.5	2.4	2.2
A Venceslau	< 1.6	2.4	2.8	2.2	2.4	2.7	3.0	3.5	3.3	2.4	2.6	2.6	2.3	2.9	2.6
A Argentina/79	< 1.5	2.9	2.4	2.0	2.4	2.5	2.1	2.6	2.6	2.3	3.0	2.6	2.2	3.1	2.8
A Brasil/79	< 1.5	2.9	2.4	2.0	2.4	2.4	2.3	2.6	2.5	2.4	2.9	2.7	2.2	2.8	2.7

DPV = Days post vaccination.

DPR = Days post revaccination.

therefore presents antigenic relationships with samples not having any epidemiological connection. All these aspects demonstrate the complexity of the variability of the virus and the difficulty of classifying it based only on antigenicity tests.

The immunological tests in Table 2 show that the five strains studied correspond to two different immunological groups. One group would comprise the first two strains and the second would include the last three. Vaccines formulated with a strain from each group would provide a broad immunological coverage because both strains are complementary.

The serum neutralization values obtained with the sera from the revaccinated cattle indicated that the revaccinations diminish the differences among the strains. These observations must also be taken into account for the classification of new subtypes.

ANTIGENICITY AND IMMUNOGENICITY OF THE FIELD STRAINS

The antigenic characterization of the field viruses conducted by the national laboratories in South America and by the Pan American Foot-and-Mouth Disease Center (PAFMD), have shown that the persistence of the strains in the field varies from one strain to another. Laboratory and field studies have demonstrated that a given

strain causes no more than one epidemic in the same area.

In the systematic characterization of the samples collected in a single region during the epidemic and inter-epidemic periods, it has been observed that the strains constantly modify their biological properties. Sometimes a virus gradually ceases to belong to a subtype. However, on other occasions striking antigenic differences appear suddenly.

A strain's speed and the size of the area over which it spreads are closely linked to the movement of animals and to the regions's physical features. In the Southern Cone of South America, the strains affect extensive areas. Conversely, in countries having important natural barriers and many independent regions, such as in Colombia, Ecuador and Peru, a given strain affects a small, well-defined area. Under these conditions different strains are frequently identified in the country's different regions over the same time period. On the other hand, in the Southern Cone a single strain is habitually predominant in an extensive area which often extends beyond a country's borders.

The constant mutation of the biological properties of the viruses in the field and the facility for maintaining the stability, antigenicity and immunogenicity in the laboratory enable one to distinguish whether a focus or an outbreak is the

consequence of a new field virus or escape of virus from the diagnosis, control, production or research laboratories. In such circumstances, the Viral RNA T₁ maps (6) are highly useful.

The strains identified within the same epidemic present small antigenic differences. During the inter-epidemic periods, greater differences are detected in viruses and new subtypes may be found. This phenomenon is due to the fact that the inter-epidemic periods are longer lasting and independent outbreaks originated by different strains will exist.

In samples collected in areas where the cattle are systematically vaccinated with vaccines of an acceptable quality, and therefore with antibodies specific to the vaccine strains, it has been observed that the virus tends to deviate antigenically and immunogenically from the strain utilized in the production. This is due to the continuous selection by the cattles' antibodies. The epidemic waves produced by strains having antigenic and immunogenic characteristics similar to those used in the vaccines clearly indicate that the vaccine is either of low immunogenic quality or is being inadequately handled or there are susceptible populations.

VARIABILITY OF VIRUS TYPE A IN THE SOUTHERN CONE

An analysis of the behavior of the virus type A strains in the field, based on the antigenic and immunogenic studies conducted with samples collected in the Southern Cone, demonstrates that the variation of FMD virus was formerly closely linked to the development of the vaccine production methods.

The A₁₃ Santos-Br/60 (3) was the first subtype identified. The virus' appearance was due to the production of antigen by the Waldmann method for vaccine preparation at the slaughterhouse in Santos, Brazil. Later, and also due to the production of Waldmann type vaccine, diagnosis revealed the subtypes A₁₆ Belém-Br/59 and A₁₇ Guarulhos-Br/59 subtypes. The three subtypes did not spread in the field, but because they were samples with great antigenic and immunogenic specificity they induced an immunity of limited coverage and yielded only slight protection.

In Argentina, the production of vaccines by the Waldmann method also led to the appearance of the A₁₉ Suipacha-Arg/62 subtype. Like the other three subtypes, it possessed high antigenic and immunogenic specificity and likewise did not cause an epidemic. Another common characteristic of these subtypes is that they possess great replication capability and slight stability.

In a retrospective study conducted at the PAFMDC, involving an FMD focus in the province of Cordoba, Argentina, in 1961, an FMD virus similar to A₁₀ Kemron was identified. It was also proven that a vaccine-production laboratory in Argentina was utilizing that strain to produce vaccine. The virus is used in Netherland for vaccine preparation. The same study identified the A₂₅ Argentina/59 strain, which is also utilized by some vaccine-producing laboratories. The strain was sporadically isolated in the field during the 1959-1967 period. Nevertheless, the strains which predominated in the field in the Southern Cone from 1960 to 1975 belonged to the virus subtype A₂₄.

At the end of 1975 and during 1976, Brazil's southernmost state of Rio Grande do Sul suffered from an epidemic caused by the A Bagé-Br/76 strain belonging to the group comprising the A Venceslau-Br/76, A Arg/79 and A Br/79 viruses. That strain also caused an epidemic in late 1976 and early 1977 in Uruguay, and from August to November 1977, in Argentina. The Venceslau A type affected São Paulo and Paraná, Brazil, during that same period.

Another epidemic wave caused by the A Arg/79 strain was detected in Argentina from July 1980 to August 1981, as a consequence of the modification of the A Bagé-Br/76 type in the field. Strains similar to the Argentina/79 were also identified in Brazil and Uruguay.

CONCLUSIONS

The countries affected by FMD must eradicate the disease in order to prevent economic losses. Therefore they must adopt a series of measures originating in the common determination of the governments, the livestock producers and all those who in some way or another are involved in the agricultural and livestock-raising activity.

The FMD control and eradication programs must forge a close bond of interaction among the livestock producers, epidemiological surveillance and the diagnosis, production and vaccine-control laboratories.

With regard to the causative agent, the programs must be continually informed of the virus behavior in the field, and be familiar with the antigenic and immunogenic coverage of the vaccine strains for protection against the dominant field strains, in order to adopt timely measures when required.

In the countries of the Southern Cone where FMD is endemic, modern technology, which analyzes the virus' new aspects must collaborate with the existing structure to accelerate the control process and subsequent eradication of the disease.

REFERENCES

1. ABU ELZEIN, E.M.E. & CROWTHER, J.R. Enzyme-labelled immuno-labelled immunosorbent assay techniques in foot-and-mouth disease virus research. *J. Hyg. (Camb.)* 80: 391-399, 1978.
2. BITTLE, J.L., HOUGHTEN, R.A., ALEXANDER H., SHINNICK, T.M., SUTCLIFFE, J.L., LERNER, R.A., ROWLANDS, D.J., BROWN, F. Protection against foot-and-mouth disease by immunization with a chemically synthesized peptide predicted from the viral nucleotide sequence. *Nature (London)* 298: 30-33, 1982.
3. FEDERER, K.E., SAILE, J., HONIGMAN, M.N. Identification d'un nouveau sous-type A du virus aphteux. *Bull. off. int. Epiz.* 57 (7-8): 1171-1190, 1962.
4. HYSLOP, N.St.G. & FAGG, R.N. Isolation of variants during passage of strains of foot-and-mouth disease virus in partly immunized cattle. *J. Hyg. (Camb.)* 63: 357-368, 1965.
5. KÜPPER, H., KELLER, W., KURZ, C., FORSS, C., SCHALLER, H., FRANZE, R., STROHMAIER, K., MARQUARDT, O., ZASLAVSKY, V.G., HOFSCHEIDER, P.H. Cloning of cDNA of major antigen of foot-and-mouth disease virus and expression in *E. coli*. *Nature (London)* 189: 555-559, 1981.
6. LA TORRE, J.L., UNDERWOOD, B.O., LEBENDIKER, M., GORMAN, B.M., BROWN, F. Application of rNase T₁ one-and-two dimensional analyses to the rapid identification of foot-and-mouth disease virus. *Inf. and Imm.* 36 (1): 142-147, 1982.
7. McCAHON, D., KING, A.M.Q., NEWMAN, J.W.I. Rapid identification of FMD virus isolates by electrofocussing of their induced proteins. *In: Working papers 16th Conference of FMD, 14-17 Sept. 1982.* pp.189-198, 1982.
8. MILSTEIN, C., GALFRÉ, G., SECHER, D.S., SPRINGER, T. Monoclonal antibodies and cell surface antigens. *Ciba Foundation Symposia*, 66: 251-276, 1979.
9. PRINGLE, C.R. Genetic aspects of the thermal inactivation properties of foot-and-mouth disease virus strains. *Bull.off.int.Epiz.* 61 (7-8): 619-628, 1964.
10. TRAUB, E. & MÖHLMANN, H. Typebestimmung bei Maul und Klauenseuche mit Hilfe der Komplement Bindungsprobe. I. Mitterlung. Versuche mit Geren und Antigenen von Meerschweinchen. *Zbl. Bakt.* 150 (6): 289-300, 1943.

LA VARIACION DEL VIRUS DE LA FIEBRE AFTOSA Y SU INFLUENCIA EN LA ELECCION DE LAS CEPAS DE PRODUCCION DE VACUNAS EN ARGENTINA¹

L.A.E. Durini², G. Fernández², G. Mazzuca², A. Alonso Fernández³

RESUMEN

El éxito en el control de la fiebre aftosa depende, en parte, de la calidad de la vacuna usada por los programas. La eficacia de las vacunas está íntimamente ligada a la cantidad y calidad del antígeno y a la relación entre las cepas de producción y de campo.

Las cepas usadas en la producción de las vacunas, además de estar relacionadas con las de campo, deben tener un espectro antigénico amplio, ser estables, tener una buena capacidad de replicación y ser inmunogénicamente dominantes.

INTRODUCCION

Los países afectados por la fiebre aftosa basan los programas de control de la enfermedad en una adecuada inmunización de la población susceptible, apoyada por una eficaz vigilancia epidemiológica, acompañada de una detallada caracterización antigénica del agente etiológico y seguida de un buen control de focos.

La capacidad inmunogénica de las vacunas frente a las cepas de campo depende de la cantidad y calidad del antígeno y de la relación entre la cepa usada en la producción de la vacuna y las de campo. Por otro lado, el virus de la fiebre aftosa posee una alta capacidad para continuamente modifi-

car sus propiedades biológicas en condiciones de laboratorio y de campo (3, 4, 6, 8 y 9).

Esta característica del virus unido a la necesidad de disponer de vacunas de alta calidad, obliga a los responsables por el diagnóstico, control y producción de la vacuna antiaftosa a establecer continuamente las relaciones antigénicas e inmunogénicas entre las cepas de campo y las usadas en la producción de la vacuna.

El presente trabajo describe los criterios que han sido utilizados para la elección de las cepas usadas en distintas épocas en la Argentina en la producción de la vacuna antiaftosa. A la vez, muestra el espectro antigénico de las diferentes cepas del tipo A usadas en la producción desde 1960 a 1983.

MATERIALES Y METODOS

Virus

Fueron estudiadas las cepas de virus de la fiebre aftosa A₁₀ Argentina/61 (1), A₂₄ Cruzeiro-Brasil/55, A₂₄ (8345) Argentina/68 (2), A₂₅ Argentina/59 (1), A Argentina/79 (2). También se incluye la cepa A Argentina/81 que fue identificada durante 1981.

Subtipificación

Los estudios antigénicos fueron realizados por fijación del complemento 50% (FC₅₀) mediante la prueba de subtipificación, utilizando la siguiente metodología: suspensiones virulentas de las diferentes cepas, en la dilución que contenía 2,5 unidades fijadoras de complemento 50% (UFC₅₀), fueron enfrentadas a 2,5 UFC₅₀ de los sueros hiperinmunes subtipos, en presencia de 4 unidades hemolíticas de complemento 50% (UHC₅₀). Después de una incubación de 30' a 37°C se agregó el sistema hemolítico y se continuó la incubación por otros 30' a 37°C. El porcentaje de FC₅₀ fue determinado por lectura en espectrofotómetro.

¹Este trabajo fue publicado previamente en el Simp. Estructura y Replicación Viral. 1er. Congr. Argentino Virol.: 23-30, 1983. Reproducción autorizada.

²Servicio de Laboratorios (SELAB) del Servicio Nacional de Sanidad Animal, Chorroarín 134, Buenos Aires, Argentina.

³Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (OPS/OMS), Caixa Postal 589, 20001 Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Relaciones serológicas (*r*)

La antigenicidad también fue establecida por las relaciones *r* aplicando normas ya establecidas (10), según el siguiente procedimiento: los sueros hiperinmunes fueron enfrentados por FC₅₀ a diluciones de antígenos homólogos y heterólogos que contenían 2,5 UFC₅₀, en la presencia de 4 UHC₅₀ y con tiempos de incubación y hemólisis de 30' a 37°C para cada período. A partir del título FC₅₀ fueron calculadas las relaciones *r* mediante la siguiente fórmula:

$$r = \frac{\text{Títulos FC}_{50} \text{ frente al antígeno heterólogo}}{\text{Título FC}_{50} \text{ frente al antígeno homólogo}}$$

Índice de seroprotección (ISP)

Los estudios de inmunogenicidad fueron realizados por seroprotección (5) en sueros de bovinos vacunados y revacunados.

Dosis protectoras bovino 50% (DPB₅₀)

Las relaciones inmunogénicas fueron calculadas mediante las DPB₅₀ (7), según metodología del Servicio de Laboratorios SELAB, así resumidas: vacunas hidróxido-saponinadas fueron diluidas 1:3 y 1:9 en el diluyente inerte. Para cada virus de comprobación, 5 bovinos de la Patagonia con más de 18 meses de edad fueron vacunados con la vacuna pura y con cada dilución. A los 21 días después de la vacunación (DPV) fueron inoculados por vía intradermolingual con 10⁴ DI₅₀ del virus de comprobación. Las DPB₅₀ fueron calculadas por el método de Spearman-Kärber a partir de la protección a la generalización podal a los 7 días después de la inoculación.

RESULTADOS

Determinación del espectro antigénico

El espectro antigénico que orienta sobre la cobertura inmunológica de las cepas fue hecho por subtipificación y por las relaciones *r*.

El Gráfico 1 muestra el espectro antigénico establecido por subtipificación de varias muestras del tipo A recolectadas en 1979, en Argentina y evidencia que las cepas n^o 27439 y 27915

(A Arg/79) son las más amplias antigénicamente. El Gráfico 2 compara el espectro antigénico de la cepa A Argentina/79 obtenido por la subtipificación y por las relaciones *r*. Este último procedimiento hace más evidente los determinantes antigénicos no muy aparentes en la prueba de subtipificación, como es el caso de las reacciones con los sueros A₂₄, A₂₇, A₃₂ y A₇₆. Por el contrario, marcadas reacciones en la subtipificación corresponden a menores valores de *r*, como muestran los datos de los sueros A Caçapava, A Bagé y A Venceslau.

Determinación de la cobertura inmunogénica

La cobertura inmunogénica de las cepas vacunales frente a las de campo fueron establecidas mediante la técnica de seroprotección en ratones lactantes (5) con sueros de bovinos vacunados y revacunados. Este procedimiento permite, a bajo costo, conocer la protección conferida por las cepas de la vacuna frente a muchas cepas de campo. La seroprotección demostró que sueros de bovinos colectados a los 30 DPV con A₂₄ Cruzeiro, A Bagé y A Venceslau proporcionaban una aceptable cobertura para el A Arg/79 y muy buena a los 30 días de revacunados. La cepa A₂₄ Arg/68 tuvo un comportamiento ligeramente inferior.

Las relaciones y la dominancia inmunológica fueron establecidas por la DPB₅₀ (7). Los resultados de esta prueba, usando las vacunas y los virus de comprobación A Arg/68 y A Arg/79, están indicados en el Cuadro 1, donde se aprecia que la cepa A Arg/79 predomina con relación a la Arg/68 por proporcionar un valor *r* de 0,34, comparado con el de ≤0,18 de la vacuna A Arg/68.

Relaciones serológicas de las cepas vacunales

El Cuadro 2 indica las relaciones serológicas obtenidas por FC₅₀ de las cepas del tipo A usadas en Argentina desde 1960 para la producción de la vacuna antiaftosa. Debe mencionarse que el tipo A es el más mutable con aparición de mayor número de variantes.

Dentro del tipo O han sido utilizadas las cepas O₁ Campos-Brasil/55 y O₁ Caseros-Argentina/67 y para el tipo C siempre fue usado el C₃ Resende-Brasil/55.

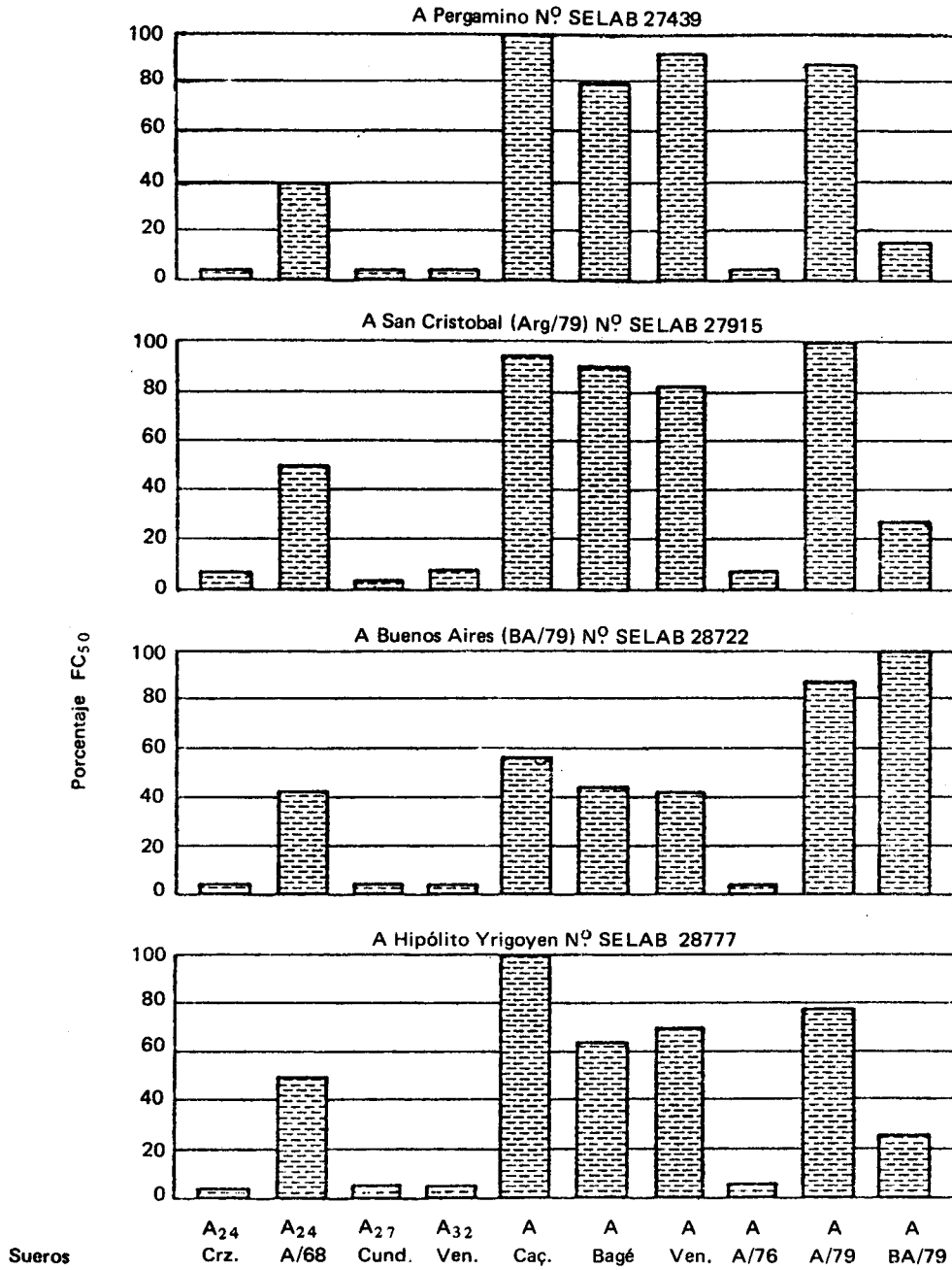


GRAFICO 1. Espectro antigénico por subtipificación de cuatro muestras de campo del tipo A recolectadas durante la onda epidémica de 1979.

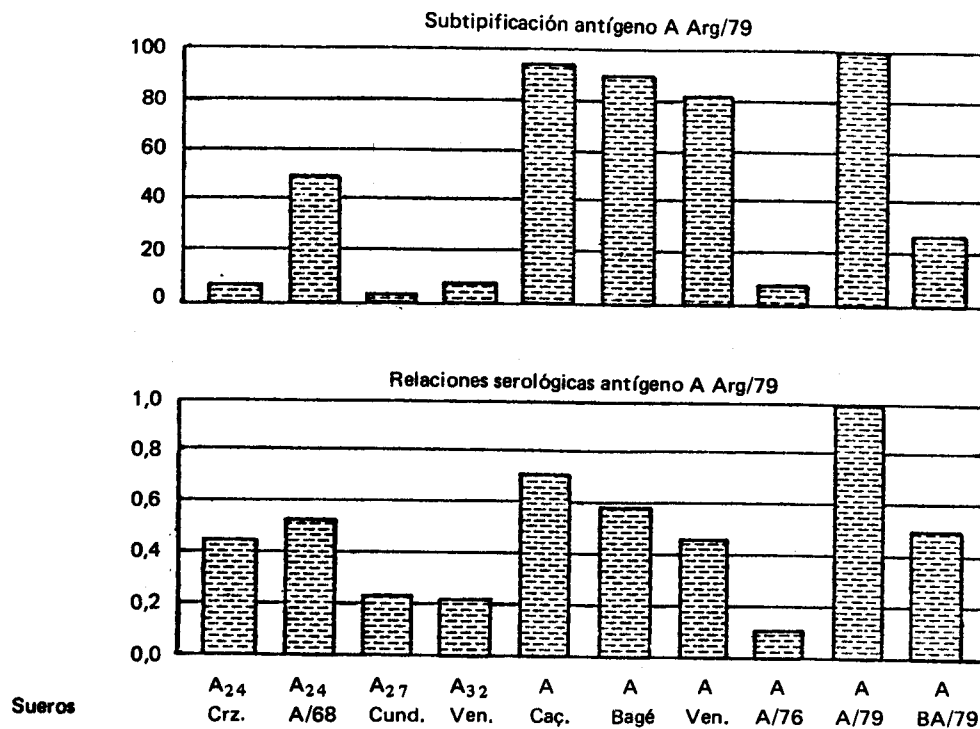


GRAFICO 2. Espectro antigénico por subtipificación y por las relaciones serológicas de la cepa A Argentina/79.

CUADRO 1. Prueba cruzada de DPB₅₀ entre las cepas A Argentina/68 y A Argentina/79

Dilución de la vacuna	Vac. A ₂₄ Arg/68		Vac. A Arg/79	
	A Arg/68	A Arg/79	A Arg/79	A Arg/68
1/1	5/5 ^a	4/5	5/5	4/5
1/3	5/5	1/5	5/5	2/5
1/9	4/5	1/5	1/5	0/5
Control	0/2	0/2	—	—
DPB ₅₀	> 12.5	2.2	6.5	2.2
Relación inmrológica	= $\frac{2.2}{>12.5} = < 0.18$		= $\frac{2.2}{6.5} = 0.34$	

^a Bovinos protegidos/utilizados.

DISCUSION

La utilización en la producción de cepas estables, con alta capacidad de replicación y con buena cobertura inmunogénica frente a los virus de campo, es de suma importancia para disponer de vacunas de buena calidad.

La alta capacidad de mutación del virus de la fiebre aftosa en bovinos (3, 6, 7) hace que en las áreas donde la enfermedad tiene presentación endémica y la población susceptible es sometida a vacunaciones sistemáticas, continuamente surjan nuevas cepas de virus. La imposibilidad de predecir las características de las nuevas mutantes obliga, a los responsables por el diagnóstico, control y producción de vacunas, a determinar cuando las

CUADRO 2. Relaciones serológicas de las cepas de virus de la fiebre aftosa del tipo A usadas para el control y la producción de vacunas en Argentina

Antígeno (r ₂)	Suero hiperinmune (r ₁)					
	A ₁₀ Arg/61	A ₂₄ Cruz.	A ₂₄ Arg/68	A ₂₅ Arg/59	A Arg/79	A Arg/81
A ₁₀ Argentina/61	1.00	0.28	0.25	0.12	0.05	0.05
A ₂₄ Cruzeiro-Br/55	0.05	1.00	0.52	0.26	0.45	0.05
A ₂₄ Argentina/68	0.23	0.50	1.00	0.46	0.56	0.05
A ₂₅ Argentina/59	0.10	0.28	0.50	1.00	0.12	0.05
A Argentina/79	0.09	0.23	0.42	0.16	1.00	0.05
A Argentina/81	0.05	0.05	0.05	0.05	0.13	1.00

r₁ = Relaciones serológicas correspondientes al suero.

r₂ = Relaciones serológicas correspondientes al antígeno.

cepas vacunales no tienen cobertura para las nuevas mutantes de campo.

Durante los primeros años de la década del 60, algunos laboratorios usaban para la producción de la vacuna las cepas O₁ Campos, A₁₀ Arg/61 y C₃ Resende. Otros empleaban el A₂₅ Arg/59 o el A₂₄ Cruzeiro en vez del A₁₀. En esa época, la selección de las cepas de producción se hacía de acuerdo con la capacidad de replicación para producir antígenos por los métodos de Waldmann, Frenkel y neonato bovino.

La dificultad de realizar las pruebas de potencia en los controles oficiales, por utilizar tres cepas dentro de la valencia A y la falta de correlación de estos virus con los de campo, a excepción de la cepa A₂₄ Cruzeiro, hicieron que el laboratorio oficial de control de calidad de la vacuna antiaftosa iniciara en 1968, junto con el Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (CPFA), una serie de experimentos destinados a seleccionar cepas adecuadas para la producción y el control de vacunas. El primer estudio recayó en la cepa A₂₄ Arg/68 y la selección de la misma se hizo con base en: a) que era representativa de las cepas de campo, b) que tenía mayor cobertura antigénica que la A₁₀, A₂₄ Cruzeiro y A₂₅ (Cuadro 2) y c) que replicaba adecuadamente en ratón lactante, cultivos de células BHK, cobayos y bovinos y se había adaptado con facilidad al método de Frenkel. A partir de aquí todas las vacunas fueron elaboradas con las cepas O₁ Caseros, A₂₄ Arg/68 y C₃ Resende.

En 1976 se detectó en el campo un virus del

tipo A con características antigénicas diferentes al A₂₄ Arg/68. Estas diferencias se hicieron más evidentes en 1979. Los estudios antigénicos fueron confirmados por pruebas de seroprotección con sueros de bovinos vacunados con A₂₄ Arg/68 enfrentando al virus homólogo y al de campo (Cuadro 1), lo que motivó un trabajo para la selección de una cepa adecuada para la producción y el control de vacunas.

El experimento tuvo la siguiente secuencia: a) selección por subtipificación de cuatro cepas de campo con espectros antigénicos amplios (Gráfico 1); b) elección de entre las cepas anteriores la que tenía mejor estabilidad a pH 6,8 y a 39°C. Fue seleccionada la cepa A Arg/79; c) obtención de las relaciones serológicas de la cepa A Arg/79 (Gráfico y Cuadro 2); d) estudio de la capacidad de replicación en Frenkel, cultivos celulares, cobayos y bovinos, y e) determinación de la dominancia inmunogénica.

Los trabajos de laboratorio demostraron que la cepa A Arg/79 era adecuada para la producción y el control. Los estudios de campo indicaron que había predominancia de la cepa A Argentina/79 y, a la vez, también existían muestras con características de A₂₄. Por ese motivo, se decidió utilizar en la producción las dos cepas del tipo A (A₂₄ Arg/68 y A Arg/79) junto con el O₁ Caseros y el C₃ Resende.

En 1981 fue identificada en el campo otra cepa del tipo A que presentaba diferencias antigénicas con las usadas en la producción y se percibió que

no se diagnosticaban virus con características de A₂₄. Estudios de antigenicidad, estabilidad y replicación indicaron que la cepa A Arg/81 del partido de Leandro N. Alem era adecuada para la producción y el control, por lo que a partir de 1981 las cepas O₁ Caseros, A Arg/79, A Arg/81 y C₃ Resende fueron utilizadas en producción y control.

REFERENCIAS

1. ALONSO FERNANDEZ, A., AUGÉ DE MELLO, P., FEDERER, K.E. Diagnóstico y referencia en la fiebre aftosa. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 11: 1-12, 1974.
2. ALONSO FERNANDEZ, A., VIANNA FILHO, Y.L., DURINI, L.A.E., SUTMÖLLER, P. Los virus de la fiebre aftosa usados en la producción y control de vacunas en América del Sur. (Foot-and-mouth disease viruses used in vaccine production and control in South America). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 43-44: 21-28, 29-36, 1981.
3. ANDERSON, E.C., DOUGHTY, W.J., ANDERSON, J., BABER, D. *In vitro* comparison of foot-and-mouth disease virus subtype variants causing disease in vaccinated cattle. *J. Hyg. (Camb.)* 80: 451-459, 1978.
4. ARROWSMITH, A.E.M. Variants among strains of type A foot-and-mouth disease virus in the Eastern Mediterranean region 1964-1972. *J. Hyg. (Camb.)* 75: 387-397, 1975.
5. CUNHA, R.G., BAPTISTA Jr., J.A., SERRÃO, U.M., TORTURELLA, I. El uso de los ratones lactantes en la evaluación de los anticuerpos contra el virus de la fiebre aftosa y su significación inmunológica. *Gac. vet., B.Aires* 19 (110): 243-267, 1957.
6. FEDERER, K.E., ALONSO FERNANDEZ, A., PUSTIGLIONE NETTO, L., PINTO, A.A. Développement d'un nouveau sous-type du virus de la fièvre aphteuse par passages en séries sur bovins partiellement immuns. Int. Symp. FMD Variants and Immunity, Lyon, 1967. Symp. Ser. Immun. Stand. 8: 65-72 (Karger, Basel/NY, 1968).
7. HENDERSON, W.M. Significance of tests for non-infectivity of foot-and-mouth disease vaccines. *J. Hyg. (Camb.)* 50 (2): 192-208, 1952.
8. HYSLOP, N. St. G. Isolation of variant strains from foot-and-mouth disease virus propagated in cell cultures containing antiviral sera. *J. gen. Microb.* 41: 135-142, 1965.
9. HYSLOP, N.St.G. & FAGG, R.H. Isolation of variants during passage of a strain of foot-and-mouth disease virus in partly immunized cattle. *J. Hyg. (Camb.)* 63: 357-368, 1965.
10. RESOLUTIONS. Int. Symp. FMD Variants and Immunity. Lyon, 1967. Symp. Ser. Immun. Stand. 8: 169-170 (Karger, Basel/NY, 1968).

VARIABILITY OF THE FOOT-AND-MOUTH DISEASE VIRUS AND ITS INFLUENCE ON THE SELECTION OF STRAINS FOR VACCINE PRODUCTION IN ARGENTINA¹

L.A.E. Durini², G. Fernandez², G. Mazzuca², A. Alonso Fernandez³

SUMMARY

The success of foot-and-mouth disease control depends partially on the quality of the vaccine used in the programs. The efficacy of the vaccines is closely linked to the quantity and quality of the antigen and to the relationship between the production and field strains.

In addition to being related to the field strains, the strains utilized in producing the vaccines must be stable, have a broad antigenic spectrum and a good replication capacity, and be immunogenically dominant.

INTRODUCTION

The countries affected by foot-and-mouth disease (FMD) base their disease-control programs on an adequate immunization of the susceptible population, supported by an efficacious epidemiological surveillance accompanied by detailed antigenic characterization of the etiological agent and by good control of foci.

The immunogenic capacity of the vaccines in relation to the field strains depends on the quantity and quality of the antigen and on the relationship between the field strains and the strains used in producing the vaccine. On the other hand, the FMD virus exhibits a high capacity for continually modifying its biological properties in

both laboratory and field conditions (3, 4, 6, 8 and 9).

This characteristic of the virus, coupled with the need to make high-quality vaccines available, obliges those responsible for FMD vaccine diagnosis, control and production to monitor continually the antigenic and immunogenic relationship between the field strains and those strains used in producing the vaccine.

This study describes the criteria that have been utilized for the selection of the strains employed at different times for the production of foot-and-mouth disease vaccine in Argentina. The antigenic spectrum of the different type A strains used in vaccine production from 1960 to 1983 are also shown.

MATERIALS AND METHODS

Virus

The following FMD virus strains were studied: A₁₀ Argentina/61 (1), A₂₄ Cruzeiro-Brazil/55, A₂₄ (8345) Argentina/68 (2), A₂₅ Argentina/59 (1), A Argentina/79 (2). The A Argentina/81 strain, identified in 1981, is also included.

Subtyping

The antigenic studies were conducted by means of 50% complement fixation (CF₅₀), using the subtyping test according to the following methodology: suspensions of virulent virus of the different strains, in a dilution containing 2.5 50% complement-fixation units (CFU₅₀) were challenged by 2.5 CFU₅₀ of the subtype hyperimmune sera in the presence of four 50% hemolytic complement-fixation units (HCFU₅₀). After incubation for 30 minutes at 37°C the hemolytic system was added and incubation continued for another 30 minutes at 37°C. The percentage of CF₅₀ was determined by spectrophotometric readings.

¹This paper was previously published in the Simp. Estructura y Replicación Viral. 1er. Congr. Argentina Virol.: 23-30, 1983. Reproduction authorized.

²Servicio de Laboratorios (SELAB). Servicio Nacional de Sanidad Animal, Chorroarín 134, Buenos Aires, Argentina.

³Pan American Foot-and-Mouth Disease Center (PAHO/WHO). Caixa Postal 589, 20001 Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Serological relationships (*r*)

The antigenicity was also established by the relationships (*r*) by applying established standards (10). The procedure was as follows: the hyperimmune sera were challenged by CF₅₀ dilutions of homologous and heterologous antigens containing 2.5 CFU₅₀, in the presence of four HCFU₅₀ and with incubation and hemolysis times of 30 minutes at 37°C for each period. The *r* relationships were calculated from the CF₅₀ titer according to the following formula:

$$r = \frac{\text{CF}_{50} \text{ titered against the heterologous antigen}}{\text{CF}_{50} \text{ titered against the homologous antigen}}$$

Serum protection index (SPI)

The immunogenicity studies were conducted by means of the serum protection test (5) using sera from vaccinated and revaccinated cattle.

50% bovine protection dose (BPD₅₀)

The immunogenic relationships were calculated by means of the BPD₅₀ (7) in accordance with Laboratory Service (SELAB) methodology, as follows: saponin-hydroxide vaccines were diluted 1:3 and 1:9 in inert diluent. For each challenge virus, five bovine cattle from Patagonia, aged 18 months or older, were vaccinated with the pure vaccine and with each dilution. At 21 days post-vaccination (DPV) the cattle were inoculated intradermolingually with 10⁴ ID₅₀ of the test virus. The Spearman-Kärber method was used to calculate the BPD₅₀ from the protection against the development of foot lesions at 7 days post inoculation.

RESULTS

Determination of the antigenic spectrum

The antigenic spectrum that indicates the immunological coverage of the strains was determined by subtyping and by the *r* relationships.

Graph 1 shows the antigenic spectrum established by subtyping the various samples of virus type A collected in Argentina in 1979. It is observed that virus strains 27439 and 27915 (A

Arg/79) are antigenically the broadest. Graph 2 compares the antigen spectrum of the Arg/79 type A virus strain obtained by subtyping and by the *r* relationships. Through this latter procedure the antigenic determinants not very apparent in the subtyping test are rendered more evident. This is the case of the reactions with the A₂₄, A₂₇, A₃₂ and A₇₆ sera. Conversely, striking reactions in the subtyping correspond to lower *r* values, as shown by the data relative to the A Caçapava, A Bagé and A Venceslau sera.

Determination of the immunogenic coverage

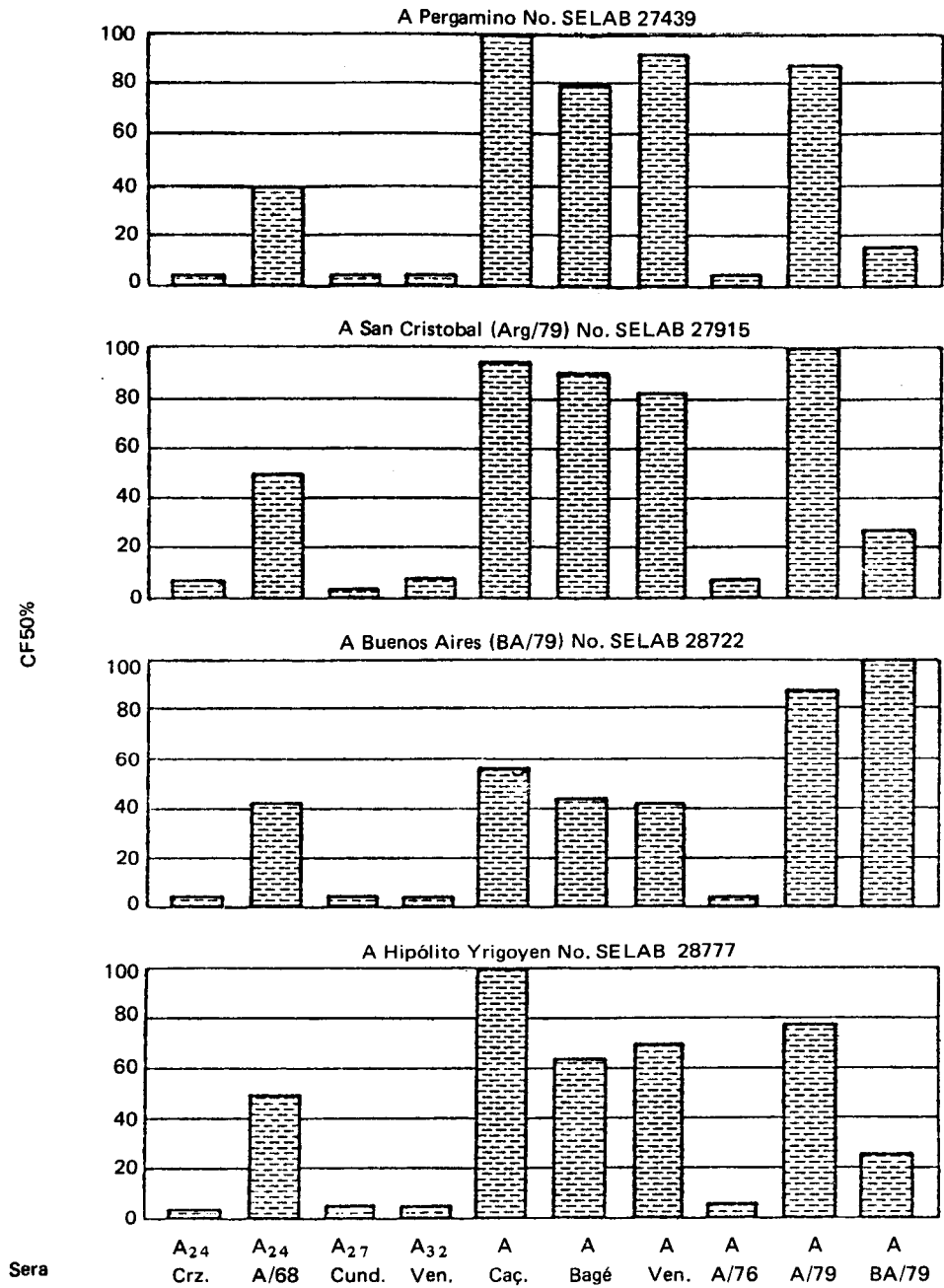
The immunogenic coverage of the vaccine strains when challenged by field strains were established by means of the serum protection test on suckling mice (5) using sera from vaccinated and revaccinated cattle. This procedure provides low-cost identification of the protection conferred by the vaccine strains against many field strains. The serum protection demonstrated that bovine sera collected at 30 DPV with A₂₄ Cruzeiro, A Bagé and A Venceslau provided acceptable coverage against the A Argentina/79 virus and very good coverage at 30 days post-revaccination. The A₂₄ Arg/68 strain showed a slightly lower performance.

The relationships and the immunological dominance were determined by the BPD₅₀ (7) test. Table 1 shows the results of this test, using the vaccines and the challenge viruses A Arg/68 and A Arg/79. It is observed that the A Arg/79 virus strain predominates in relation to the Arg/68 strain, providing an *r* value of 0.34 compared to the ≤ 0.18 value of the A Arg/68 vaccine.

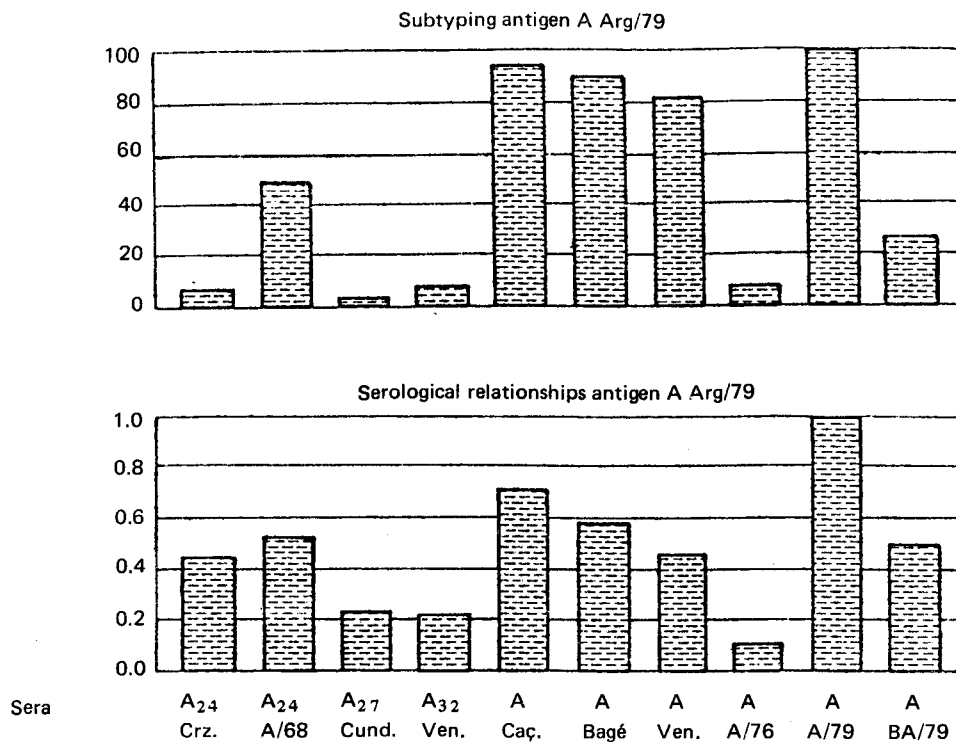
Serological relationships of the vaccine strains

Table 2 indicates the serological relationships obtained by CF₅₀ of the type A virus strains used since 1960 for the production of FMD vaccines in Argentina. It should be mentioned that type A is the most mutable with a greater appearance of variances.

The O₁ Campos-Brazil/55 and the O₁ Caseros-Argentina/67 strains have been utilized within type O, while C₃ Resende-Brazil/55 always has been used for the type C virus vaccine.



GRAPH 1. Antigenic spectrum by subtyping of four field samples of type A virus collected during the 1979 epidemic.



GRAPH 2. Antigenic spectrum by subtyping and by the serological relationships of the A Argentina/79 virus strain.

TABLE 1. Crosstesting of BPD₅₀ between the A Argentina/68 and the A Argentina/79 strains

Vaccine dilution	Vac. A ₂₄ Arg/68		Vac. A Arg/79	
	Virus		Virus	
	A Arg/68	A Arg/79	A Arg/79	A Arg/68
1/1	5/5 ^a	4/5	5/5	4/5
1/3	5/5	1/5	5/5	2/5
1/9	4/5	1/5	1/5	0/5
Control	0/2	0/2	—	—
BPD ₅₀	≥ 12.5	2.2	6.5	2.2
Immunolog. relationship	= $\frac{2.2}{\geq 12.5} = \leq 0.18$		= $\frac{2.2}{6.5} = 0.34$	

^aBovines protected/utilized.

DISCUSSION

The utilization of stable strains having high replication capacity and good immunogenic coverage against the field viruses is of utmost importance in the production of good quality vaccines.

The FMD vaccine's great capacity for mutation in cattle (3, 6, 7) leads to the continuous appearance of new virus strains in the areas where the disease is endemic and the susceptible population is submitted to systematic vaccinations. The impossibility of predicting the characteristics of the new mutants obliges those responsible for the diagnosis, control and production of vaccines to determine when the vaccine strains do not

TABLE 2. Serological relationships of the FMD type A strains used for the control and production of vaccines in Argentina

Antigen (r ₂)	Hyperimmune serum (r ₁)					
	A ₁₀ Arg/61	A ₂₄ Cruz.	A ₂₄ Arg/68	A ₂₅ Arg/59	A Arg/79	A Arg/81
A ₁₀ Argentina/61	1.00	0.28	0.25	0.12	0.05	0.05
A ₂₄ Cruzeiro-Br/55	0.05	1.00	0.52	0.26	0.45	0.05
A ₂₄ Argentina/68	0.23	0.50	1.00	0.46	0.56	0.05
A ₂₅ Argentina/59	0.10	0.28	0.50	1.00	0.12	0.05
A Argentina/79	0.09	0.23	0.42	0.16	1.00	0.05
A Argentina/81	0.05	0.05	0.05	0.05	0.13	1.00

r₁ = Serological relationships corresponding to the serum.

r₂ = Serological relationships corresponding to the antigen.

provide coverage against the new mutants in the field.

During the early 1960's some laboratories used the O₁ Campos, A₁₀ Arg/61 and C₃ Resende strains for the production of vaccines. Others utilized the A₂₅ Arg/59 or the A₂₄ Cruzeiro instead of the A₁₀. During that time, selection of the production strains was based on the replication capacity for producing antigens by the Waldmann and Frenkel methods and bovine neonate.

But the official controls encountered difficulty in conducting potency tests, due to the usage of three strains within the A valence, and the lack of correlation between those viruses and the field viruses (with exception of the A₂₄ Cruzeiro strain). Thus, in 1968, the official FMD vaccine quality-control laboratory and the Pan American Foot-and-Mouth Disease Center (PAFMDC) jointly undertook a series of experiments aimed to select suitable strains for vaccine production and control. The first study decided on the A₂₄ Arg/68 strain, whose selection was based on the fact that it: (a) was representative of the field strains; (b) provided a broader antigenic coverage than the A₁₀, A₂₄ Cruzeiro and A₂₅ (Table 2); (c) replicated suitably in suckling mice, BHK cell cultures, guinea pigs and bovine cattle, and (d) had likewise adapted easily to the Frenkel method. From then on all vaccines were prepared with the O₁ Caseros, A₂₄ Arg/68 and C₃ Resende strains.

In 1976 a type A field virus was detected

having antigenic characteristics differing from the A₂₄ Arg/68 virus. Those differences became more evident in 1979. The antigenic studies were confirmed by serum protection tests using sera from cattle vaccinated with A₂₄ Arg/68 challenged by the homologous virus and the field virus (Table 1). This led to a study to select a strain suitable for the production and control of vaccines.

The sequence of the experiment was as follows: (a) four field strains having broad antigenic spectra were selected by subtyping (Graph 1); (b) the A Arg/79 strain was selected as the one having the best stability to pH 6.8 and at 39°C; (c) the serological relationships of the A Arg/79 strain were obtained (Graph and Table 2); (d) the replication capacity was assessed by the Frenkel method, cell cultures, guinea pigs and cattle; and (e) the immunogenic dominance was determined.

The laboratory studies demonstrated that the A Arg/79 strain was suitable for production and control. The field studies indicated a predominance of the A Arg/79 strain and, likewise, that there existed samples with A₂₄ characteristics. Hence, it was decided to use the two type A virus strains in production (A₂₄ Arg/68 and A Arg/79) together with the O₁ Caseros and C₃ Resende strains.

In 1981 another type A strain was identified in the field. The new strain had antigenic characteristics differing from those strains used in vaccine production. It was also observed that

viruses with A₂₄ characteristics were not being diagnosed. Antigenicity, stability and replication studies indicated that the A Arg/81 strain from the Leando N. Alem batch was suitable for production and control. Therefore, beginning in 1981, the O₁ Caseros, A Arg/79, A Arg/81 and C₃ Resende virus strains have been utilized for protection and control purposes.

REFERENCES

1. ALONSO FERNANDEZ, A., AUGÉ DE MELLO, P., FEDERER, K.E. Diagnóstico y referencia en la fiebre aftosa. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 11: 1-12, 1974.
2. ALONSO FERNANDEZ, A., VIANNA FILHO, Y.L., DURINI, L.A.E., SUTMÖLLER, P. Los virus de la fiebre aftosa usados en la producción y control de vacunas en América del Sur. (Foot-and-mouth disease viruses used in vaccine production and control in South America). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 43-44: 21-28, 29-36, 1981.
3. ANDERSON, E.C., DOUGHTY, W.J., ANDERSON, J., BABER, D. *In vitro* comparison of foot-and-mouth disease virus subtype variants causing disease in vaccinated cattle. *J. Hyg. (Camb.)* 80: 451-459, 1978.
4. ARROWSMITH, A.E.M. Variants among strains of type A foot-and-mouth disease virus in the Eastern Mediterranean region 1964-1972. *J. Hyg. (Camb.)* 75: 387-397, 1975.
5. CUNHA, R.G., BAPTISTA Jr., J.A., SERRÃO, U.M., TORTURELLA, I. El uso de los ratones lactantes en la evaluación de los anticuerpos contra el virus de la fiebre aftosa y su significación inmunológica. *Gac. vet., B.Aires* 19 (110): 243-267, 1957.
6. FEDERER, K.E., ALONSO FERNANDEZ, A., PUSTIGLIONE NETTO, L., PINTO, A.A. Développement d'un nouveau sous-type du virus de la fièvre aphteuse par passages en séries sur bovins partiellement immuns. *Int. Symp. FMD Variants and Immunity, Lyon, 1967. Symp. Ser. Immun. Stand.* 8: 65-72 (Karger, Basel/NY, 1968).
7. HENDERSON, W.M. Significance of tests for non-infectivity of foot-and-mouth disease vaccines. *J. Hyg. (Camb.)* 50 (2): 192-208, 1952.
8. HYSLOP, N. St. G. Isolation of variant strains from foot-and-mouth disease virus propagated in cell cultures containing antiviral sera. *J. gen. Microb.* 41: 135-142, 1965.
9. HYSLOP, N.St.G. ? FAGG, R.H. Isolation of variants during passage of a strain of foot-and-mouth disease virus in partly immunized cattle. *J. Hyg. (Camb.)* 63: 357-368, 1965.
10. RESOLUTIONS. *Int. Symp. FMD Variants and Immunity. Lyon, 1967. Symp. Ser. Immun. Stand.* 8: 169-170 (Karger, Basel/NY, 1968).

RESPUESTA INMUNITARIA INDUCIDA POR VACUNA ANTIAFTOSA OLEOSA EN BOVINOS DE AREAS TROPICALES DE COLOMBIA¹

Jairo R. Rocha R.², José del C. Barrera V.², Myriam Q. de Bustos²

RESUMEN

La respuesta inmunitaria inducida por vacuna de tipo oleoso contra la fiebre aftosa fue evaluada por la determinación de los títulos de anticuerpos séricos neutralizantes a los 2, 4, 6, 7, 9, 12, 15 y 18 meses siguientes a la aplicación de 1 y 2 dosis de vacuna en grupos de vacas, novillas y terneras bajo condiciones diversas de manejo y con antecedentes de vacunación periódica realizada con vacuna hidróxido-saponinada.

Se aplicaron 6000 dosis de vacuna oleosa preparadas por el Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (Rio de Janeiro, Brasil) con las cepas virales A₂₇-Cundinamarca/75-8046 y O₁-Campos/Brasil. Cuatro predios de diferentes regiones tropicales fueron seleccionados para la aplicación de 3000 dosis iniciales seguidas de una segunda aplicación a los 6 y 12 meses. En cada etapa de sangría se tomaron 430 muestras de sueros.

Las vacas y novillas mostraron títulos altos de anticuerpos a los 2 meses después de la primera vacunación frente a los dos tipos de virus O y A. A los 4 y 6 meses se observó una disminución de los títulos, con una diferencia no superior a 1 log en relación con los títulos obtenidos inicialmente a 2 meses. Igualmente, esta diferencia no fue mayor de 1,5 log con relación al valor obtenido finalmente a los 12 meses. Fue evidente la obtención de títulos superiores y más persistentes durante 12 meses después de la aplicación de una segunda dosis de vacuna oleosa.

Con base en los resultados obtenidos se sugiere un mínimo de tres vacunaciones con intervalos de 6 meses en los bovinos menores de 18 meses, seguidos de vacunación anual. En el caso de bovinos de 18 a 36 meses, se sugiere la aplicación de la segunda dosis a los 6 meses para continuar con vacunación anual. Las poblaciones de bovinos adultos con antecedentes de inmunización periódica cada 4 meses con vacuna de tipo hidróxido-saponinada podrán recibir una dosis cada año.

INTRODUCCION

Estudios cooperativos de evaluación de la inmunidad inducida por vacuna de la fiebre aftosa (FA) con adyuvante oleoso han sido realizados por el Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (CPFA) en Brasil, el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) en Argentina, y el Centro de Enfermedades de los Animales de Plum Island (PIADC) en los Estados Unidos de América, (5, 9). Con la aplicación de vacuna oleosa en bovinos y en cerdos se obtuvieron títulos de anticuerpos neutralizantes más altos durante períodos prolongados, en comparación con los inducidos por vacunas convencionales con hidróxido de aluminio (10).

El CPFA ha venido investigando, tanto en laboratorio como en el campo, diferentes aspectos relativos a la producción y efecto inmunológico de la vacuna antiaftosa de tipo oleoso, considerando entre otros, poblaciones bovinas y porcinas, tipo de explotación, razas, edades, vías de aplicación, cepas virales, pruebas de potencia y eficacia, etc., con resultados promisorios de protección para las poblaciones de bovinos y porcinos bajo las condiciones de América del Sur (5).

En el Instituto Zooprofiláctico, en Colombia, se realizaron estudios preliminares de evaluación de adyuvantes oleosos (11). Una vacuna preparada por el CPFA con cepas virales colombianas fue

¹ Contribución del Programa Nacional de Enfermedades Vesiculares. División de Ciencias Veterinarias. Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), Colombia.

² Respectivamente: Médico Veterinario M.S. Director Programa; Médico Veterinario y Microbióloga. Laboratorio de Investigaciones Médicas Veterinarias (LIMV). Apartado aéreo 29743, Bogotá, Colombia.

aplicada a un grupo de 1000 bovinos en una hacienda localizada en el área (Urabá-Antioqueño) del Programa Cooperativo Instituto Colombiano Agropecuario (ICA)-Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA). La respuesta inmunitaria determinada por evaluación de títulos de anticuerpos neutralizantes a los 4, 6, 8 y 12 meses posvacunación (MPV) indicó que se puede inducir una inmunidad uniforme y duradera con una o dos aplicaciones de vacuna oleosa al año (6).

El presente trabajo tuvo por objeto conocer a diferentes MPV la respuesta, en títulos de anticuerpos séricos neutralizantes, inducida por vacuna oleosa contra la FA en grupos de bovinos jóvenes y adultos de tres sitios diferentes de Colombia, con antecedentes de vacunación sistemática aplicada cada cuatro meses con vacuna nacional hidróxido-saponinada.

MATERIALES Y METODOS

Localización

El estudio se realizó en cuatro predios ubicados en diferentes regiones ganaderas del país, cuya situación geográfica es la siguiente: "Bejuquillo" situada en el municipio de Mutatá y "La Patria" en Turbo, departamento de Antioquia, a una altitud de 20 a 30 metros sobre el nivel del mar (m.s.n.m.); finca "La Romelia" situada en el municipio de Chinchiná, departamento de Caldas, a una altitud de 1500 a 2000 m.s.n.m., y el Centro Nacional de Investigaciones "Carimagua", departamento del Meta, a una altitud de 150 a 175 m.s.n.m.

Vacuna

La vacuna con adyuvante oleoso (Serie OL-135) fue preparada por el CPFA con las cepas A₂₇-Cundinamarca/75-8046 (Colombia) y O₁-Campos (Brasil) en cantidad de 6000 dosis/bovino. Los resultados a la prueba de potencia en cobayos fueron de 64 y 51 dosis protectoras cobayo 50% (DPC₅₀) por 0,25 ml de vacuna frente a los virus homólogos O y A respectivamente.

Vacunación y sangría

En las fincas "Bejuquillo" y "La Patria", en la primera vacunación se aplicaron 2100 dosis

a grupos de 840 y 1260 bovinos de raza cebú, puros y cruzados, menores y mayores de 2 años, respectivamente.

La segunda vacunación se realizó sobre los mismos grupos de bovinos a los 6 meses. Para la evaluación de un período inicial de inmunización de 6 meses, a los 0, 2, 4 y 6 meses se tomaron muestras de suero sanguíneo de 132 bovinos <2 años y de 90 bovinos >2 años. La evaluación a los 12 meses después de la segunda vacunación, se realizó en los mismos grupos de bovinos con muestras de suero tomadas a 1 y 6 meses. En estas dos fincas, por salida de los bovinos de la región, no se cumplió con la evaluación total programada de 12 meses.

En el Centro Nacional de Investigaciones de "Carimagua", en la primera vacunación se aplicaron 300 dosis a grupos de 85 terneras, 114 novillas y 101 vacas de raza cebú cruzado. A los 6 meses se aplicó la segunda vacunación al 50% de los bovinos (57 novillas y 50 vacas) y los restantes recibieron la segunda vacunación a los 12 meses. El grupo de 85 terneros fue revacunado dos veces a intervalos de 6 meses.

Los sueros sanguíneos fueron tomados de 41 terneros, 61 novillas y 56 vacas a los 0, 2, 4 y 6 meses después de la primera vacunación. Para obtener una evaluación de un período inicial de inmunización de 12 meses, de estos grupos totales de bovinos, 29 novillas y 28 vacas que no fueron revacunadas a los 6 meses, se tomaron muestras de suero a los 9 y 12 meses. A estos mismos grupos de bovinos se les tomó suero sanguíneo a 1, 3 y 6 meses después de la segunda vacunación realizada a los 12 meses de la primera. Los grupos de bovinos que fueron revacunados a los 6 meses, 32 novillas y 28 vacas, se sangraron a 1, 3, 6, 9 y 12 meses para una evaluación anual. Los 41 terneros fueron sangrados a los 2, 4 y 6 meses durante los tres períodos de seis meses siguientes a las vacunaciones.

En la finca "La Romelia" se aplicaron en la primera vacunación 300 dosis a grupos de 160 vacas, 60 novillas y 80 terneros Holstein y Pardo Suizo.

A los seis meses se aplicó la segunda vacunación a la totalidad de los grupos indicados. Se tomaron sueros sanguíneos de 15 vacas y 15 novillas a los 2, 4 y 6 meses después de la primera vacunación

y 1, 3, 6 y 12 meses después de la segunda vacunación. Un grupo de 20 terneras fue sangrado a los 2, 4 y 6 meses después de la primera vacunación, a 1, 3 y 6 meses de la segunda vacunación y a 6 meses después de la tercera vacunación.

Anticuerpos séricos neutralizantes

Los títulos de anticuerpos neutralizantes se determinaron según la técnica de microneutralización (MN) en células de la línea BHK₂₁ (7) enfrentando diluciones seriadas dobles de los sueros y 10^{1,7} dosis infectantes cultivo de tejido 50% (DICT₅₀) de los virus homólogos a los utilizados en la preparación de la vacuna. El título neutralizante de los sueros se obtuvo según el método de Spearman-Kärber (12).

RESULTADOS

Los resultados obtenidos durante el período inicial de evaluación de seis meses siguientes a la primera vacunación en las fincas "Bejuquillo" y "La Patria" con sangrías a 0, 2, 4 y 6 meses, indicaron para los dos grupos de edad y a los 2 meses, altos títulos de anticuerpos frente a las dos cepas virales tipos A y O. Sin embargo, se observa un descenso progresivo de los títulos a los 4 y 6 meses, con un promedio final muy próximo al log 2. Durante los 6 meses siguientes a la segunda vacunación, al mes se obtuvo una respuesta en promedio más alta con un descenso menos pronunciado de los títulos durante los seis meses, en comparación con lo observado después de la primera vacunación en los dos grupos de edad, frente a los dos tipos de virus (Cuadro y Figura 1).

El estudio realizado en "Carimagua" muestra que para los grupos de vacas y novillas, los títulos de anticuerpos séricos neutralizantes fueron, durante el período de seis meses siguiente a la primera vacunación, considerablemente altos con promedios superiores al log 3 y con una tendencia en descenso menos pronunciada frente a ambos tipos de virus. Los grupos de vacas y novillas estudiados durante 12 meses después de la primera vacunación mostraron a los 2 meses una respuesta en promedio superior al log 3 con un descenso progresivo, cuyo valor promedio final a los 12 meses sobrepasó el log 2. Estos mismos grupos mostraron

títulos superiores y más estables durante los 6 y 12 meses después de la segunda dosis de vacuna. El grupo de terneras presentó, durante el primer período siguiente a la primera vacunación, títulos de anticuerpos neutralizantes con tendencia a disminuir de manera más pronunciada, con valores finales bastante inferiores al log 2. Sin embargo, se observó una mayor respuesta y persistencia en los títulos con la aplicación de dos vacunaciones más, cada seis meses (Cuadros y Figuras 2 y 3).

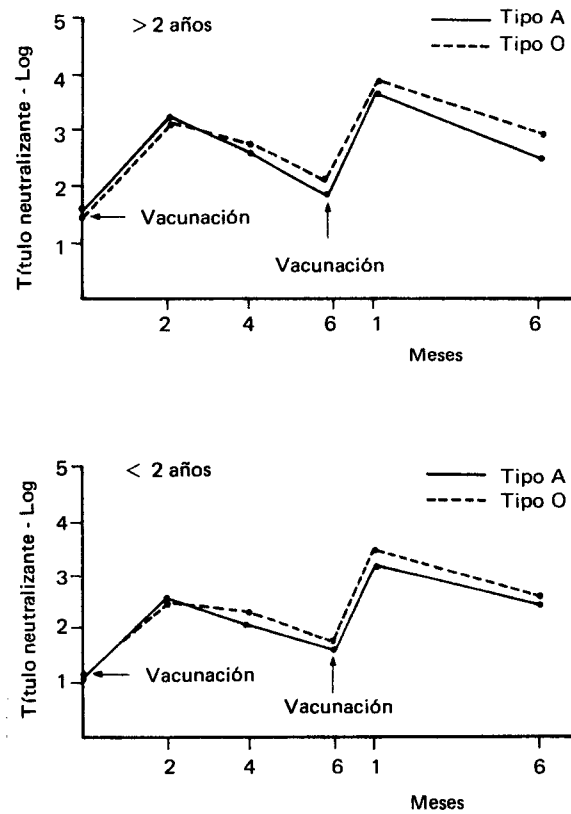


FIGURA 1. Promedio de los títulos de anticuerpos séricos neutralizantes contra los virus tipos A y O de la fiebre aftosa, inducidos con vacuna oleosa en bovinos de las fincas "Bejuquillo" y "La Patria" (Antioquia), Colombia, 1982.

CUADRO 1. Promedio de los títulos de anticuerpos séricos neutralizantes contra los virus tipo A y O de la fiebre aftosa, inducidos con vacuna oleosa en bovinos de las fincas "La Patria" y "Bejuquillo" (Antioquia), Colombia, 1982.

Edad (años)	Número de sueros	Meses posvacunación					
		0	2	4	6	1	6
Virus A₂₇-Cundinamarca/75-8046							
>2	90	1.64 ± 0.54	V 3.20 ± 0.27	2.55 ± 0.20	1.85 ± 0.67	V 3.58 ± 0.28	2.45 ± 0.64
<2	132	1.04 ± 0.27	V 2.61 ± 0.51	2.01 ± 0.37	1.68 ± 0.61	V 3.10 ± 0.35	2.45 ± 0.48
Virus O₁-Campos/Brasil							
>2	90	1.56 ± 0.56	V 3.15 ± 0.47	2.85 ± 0.18	2.10 ± 0.35	V 3.72 ± 0.30	2.91 ± 0.59
<2	132	1.07 ± 0.28	V 2.59 ± 0.41	2.34 ± 0.39	1.73 ± 0.48	V 3.45 ± 0.28	2.75 ± 0.60

V = Vacunación.

CUADRO 2. Promedio de los títulos de anticuerpos séricos neutralizantes contra los virus tipos A y O de la fiebre aftosa, inducidos con vacuna oleosa en bovinos del Centro Nacional de Investigaciones "Carimagua" (Meta), Colombia, 1982.

Bovinos	Número de sueros	Meses posvacunación									
		0	2	4	6	9	12	1	3	6	
Virus A₂₇-Cundinamarca/75-8046											
Vacas	28	1.92 ± 0.45	V 3.36 ± 0.38	2.99 ± 0.57	2.56 ± 0.56	2.21 ± 0.34	2.00 ± 0.36	V 3.64 ± 0.20	3.54 ± 0.23	3.20 ± 0.45	
Novillas	29	1.54 ± 0.41	V 3.12 ± 0.39	2.31 ± 0.47	1.92 ± 0.30	V 3.32 ± 0.32	3.28 ± 0.34				
		0	2	4	6	2	4	6	2	6	
Terneras	41	1.06 ± 0.23	V 2.67 ± 0.40	2.18 ± 0.30	1.67 ± 0.22	V 3.24 ± 0.38	2.61 ± 0.37	2.21 ± 0.30	V 3.19 ± 0.41	2.75 ± 0.25	
		0	2	4	6	9	12	1	3	6	
Virus O₁-Campos/Brasil											
Vacas	28	1.96 ± 0.31	V 3.55 ± 0.31	3.20 ± 0.37	2.96 ± 0.46	2.28 ± 0.27	2.05 ± 0.21	V 3.98 ± 0.10	3.66 ± 0.12	3.68 ± 0.12	
Novillas	29	1.39 ± 0.51	V 3.15 ± 0.40	2.82 ± 0.58	2.11 ± 0.55	V 3.60 ± 0.23	3.46 ± 0.25				
		0	2	4	6	2	4	6	2	6	
Terneras	41	0.77 ± 0.48	V 2.70 ± 0.49	2.35 ± 0.27	2.00 ± 0.32	V 3.28 ± 0.34	3.01 ± 0.22	2.38 ± 0.30	V 3.60 ± 0.22	2.83 ± 0.28	

V = Vacunación.

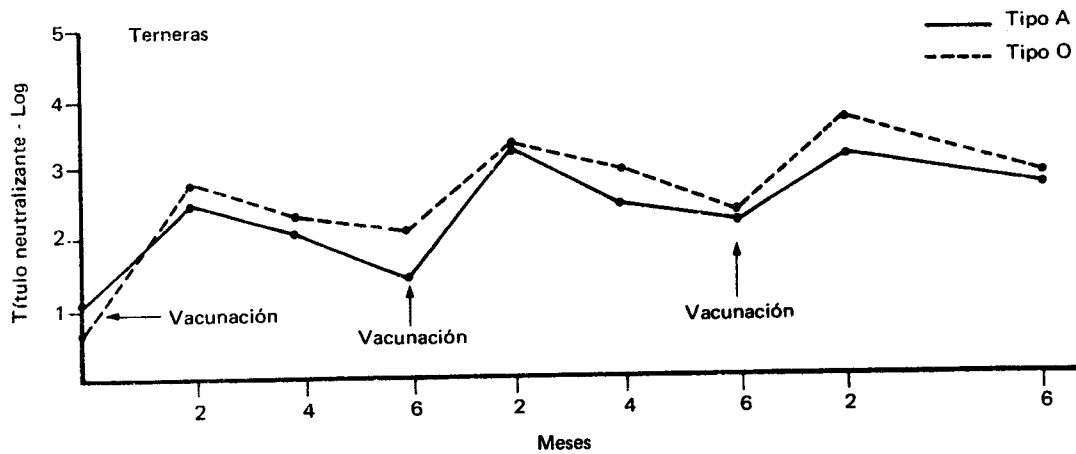
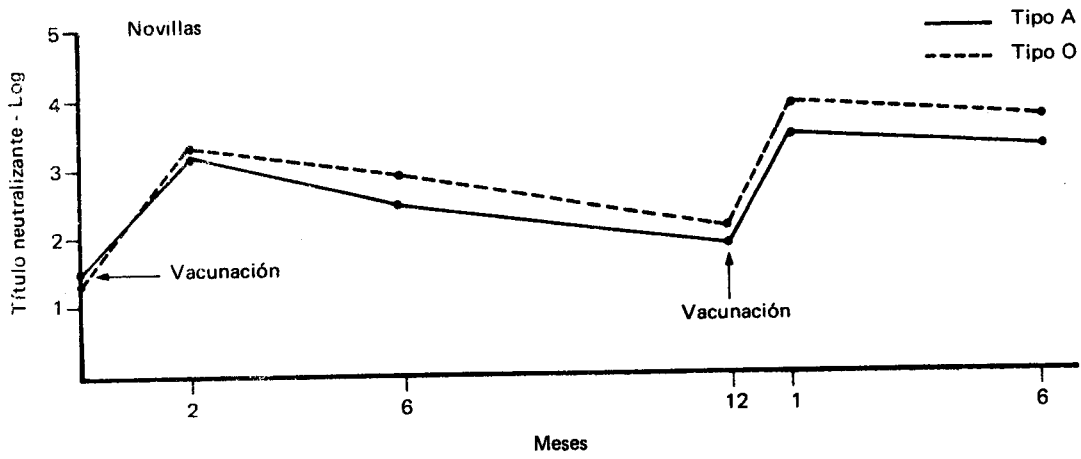
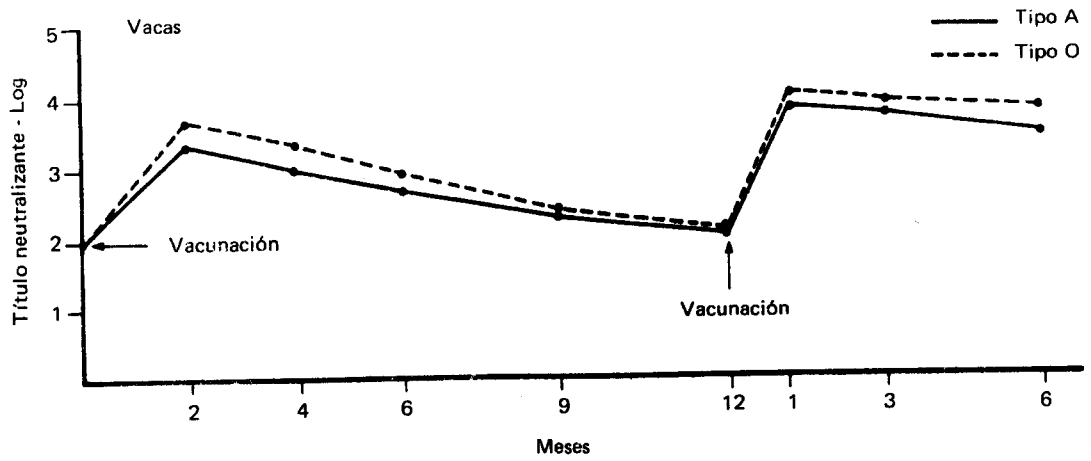


FIGURA 2. Promedio de los títulos de anticuerpos séricos neutralizantes contra los virus tipos A y O de la fiebre aftosa inducidos con vacuna oleosa en bovinos del Centro Nacional de Investigaciones "Carimagua" (Meta), Colombia, 1982.

CUADRO 3. Promedio de los títulos de anticuerpos séricos neutralizantes contra los virus tipos A y O de la fiebre aftosa, inducidos con vacuna oleosa en bovinos del Centro Nacional de Investigaciones "Carimagua" (Meta), Colombia, 1982.

Bovinos	Número de sueros	Meses posvacunación									
		0	2	4	6	1	3	6	9	12	
Virus A₂₇-Cundinamarca/75-8046											
Vacas	28	1.76 ± 0.54	V 3.19 ± 0.49	3.12 ± 0.49	2.12 ± 0.67	V 3.70 ± 0.16	3.53 ± 0.26	3.45 ± 0.33	2.81 ± 0.35	2.70 ± 0.33	
Novillas	32	1.45 ± 0.50	V 3.23 ± 0.34		2.20 ± 0.39	V 3.50 ± 0.25		3.38 ± 0.21		2.78 ± 0.21	
Virus O₁-Campos/Brasil											
Vacas	28	1.48 ± 0.48	V 3.29 ± 0.36	3.07 ± 0.43	2.87 ± 0.50	V 3.68 ± 0.20	3.43 ± 0.25	3.49 ± 0.25	3.07 ± 0.31	2.54 ± 0.31	
Novillas	32	1.21 ± 0.58	V 3.09 ± 0.35		2.69 ± 0.51	V 3.64 ± 0.18		3.37 ± 0.34		3.32 ± 0.51	

V = Vacunación.

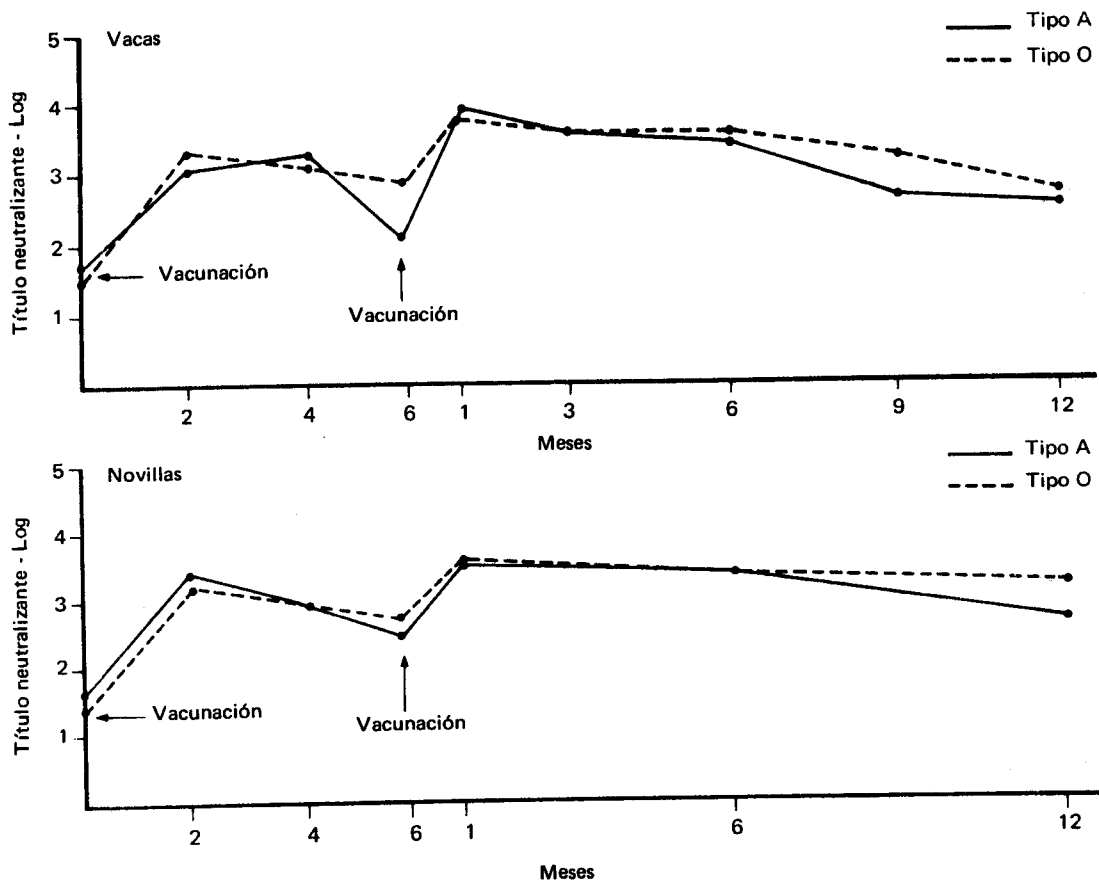


FIGURA 3. Promedio de los títulos de anticuerpos séricos neutralizantes contra los virus tipos A y O de la fiebre aftosa inducidos con vacuna oleosa en bovinos del Centro Nacional de Investigaciones "Carimagua" (Meta), Colombia, 1982.

Los resultados correspondientes a los grupos de vacas, novillas y terneras de la finca "La Romelia" fueron similares en intensidad y persistencia a los títulos observados en los grupos de bovinos de "Carimagua". La segunda aplicación de la vacuna oleosa realizada para los tres grupos a los 6 meses de la primera, indujo títulos más altos y persistentes frente a los dos tipos de virus. A los 12 meses se observó un promedio superior al log 2. La revacunación de las terneras cada 6 meses indujo un incremento de los títulos caracterizados cada vez por mayor persistencia (Cuadro y Figura 4).

En ninguno de los grupos de bovinos y razas se observó reacción indeseable cuando fueron aplicadas las dosis de vacuna con adyuvante oleoso.

DISCUSION

Los resultados de títulos de anticuerpos séricos neutralizantes, inducidos por una vacuna preparada con adyuvante oleoso aplicada a grupos de bovinos de diferentes edades y que habían sido vacunados cada cuatro meses con vacuna hidróxido-saponinada, demostraron una vez más la obtención de períodos prolongados de inmunidad caracterizada por la presencia de títulos de anticuerpos bastante uniformes. Estupifañ y colaboradores (6) obtuvieron una respuesta inmunitaria similar cuando determinaron los títulos de anticuerpos neutralizantes en dos grupos de bovinos, mayores y menores de 2 años que habían recibido una vacuna oleosa. La respuesta fue determinada a los 4, 6, 8 y 12 MPV, con la

CUADRO 4. Promedio de los títulos de anticuerpos séricos neutralizantes contra los virus tipos A y O de la fiebre aftosa, inducidos con vacuna oleosa en bovinos de la finca "La Romelia" (Caldas), Colombia, 1982.

Bovinos	Número de sueros	Meses posvacunación							
		0	2	4	6	1	3	6	12
Virus A ₂₇ -Cundinamarca/75-8046									
Vacas	15	1.94 ± 0.55	3.30 ± 0.39	2.54 ± 0.38	2.24 ± 0.25	3.44 ± 0.15	2.99 ± 0.30	2.96 ± 0.47	2.62 ± 0.38
Novillas	15	1.57 ± 0.16	2.95 ± 0.34	2.57 ± 0.39	2.33 ± 0.40	3.25 ± 0.40	3.03 ± 0.33	2.79 ± 0.33	2.42 ± 0.39
Terneras	20	0.74 ± 0.15	2.58 ± 0.41	2.13 ± 0.44	1.76 ± 0.24	3.43 ± 0.28	2.78 ± 0.23	2.10 ± 0.38	3.21 ± 0.32
Virus O ₁ -Campos/Brasil									
Vacas	15	1.44 ± 0.31	3.29 ± 0.32	2.90 ± 0.24	2.66 ± 0.49	3.65 ± 0.17	3.08 ± 0.24	3.20 ± 0.32	2.83 ± 0.42
Novillas	15	1.21 ± 0.22	3.21 ± 0.15	3.16 ± 0.11	2.80 ± 0.26	3.69 ± 0.15	3.12 ± 0.21	3.46 ± 0.28	2.89 ± 0.37
Terneras	20	0.72 ± 0.18	2.75 ± 0.25	2.24 ± 0.32	1.85 ± 0.22	3.41 ± 0.22	3.21 ± 0.31	2.25 ± 0.30	3.44 ± 0.23

V = Vacunación.

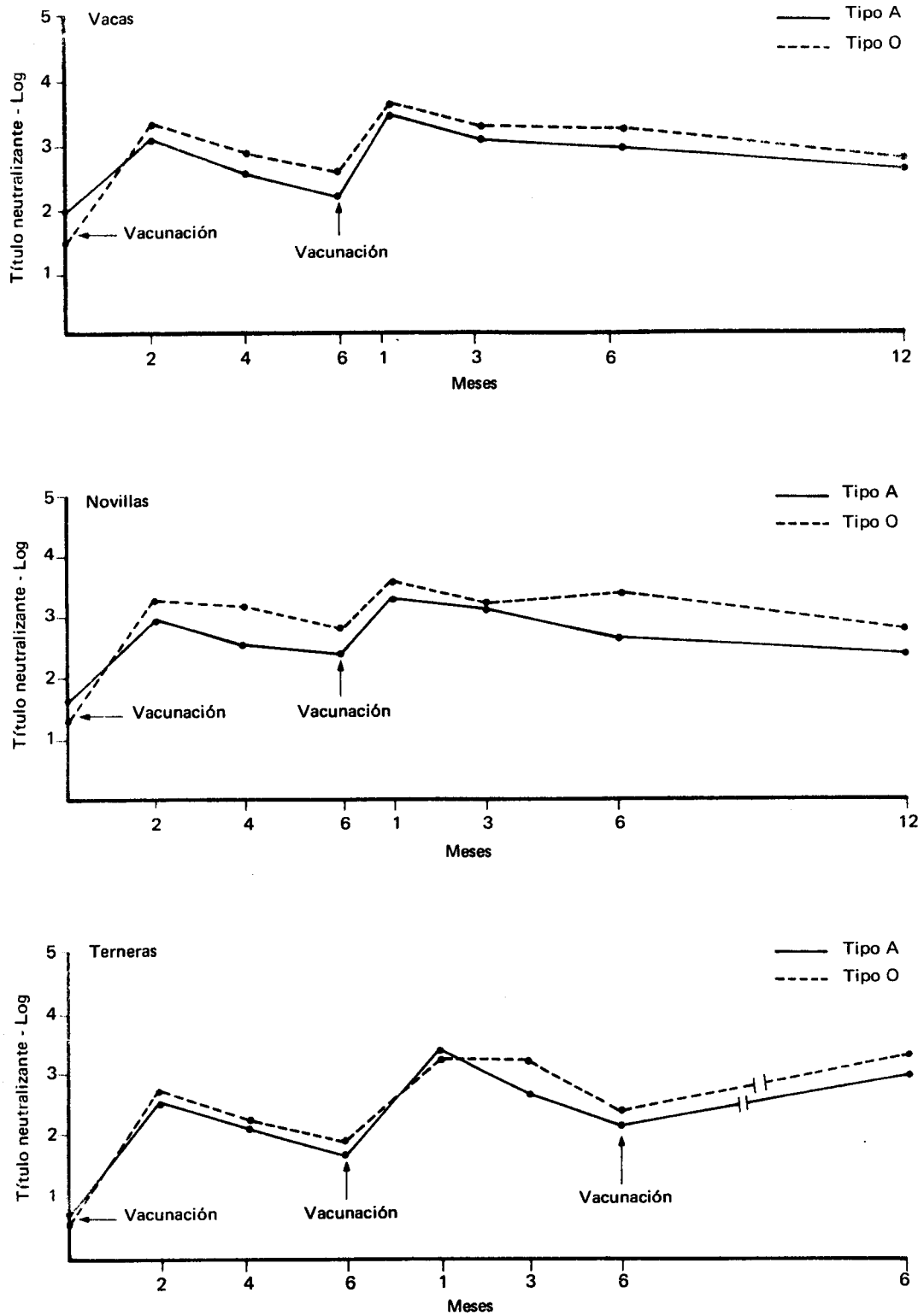


FIGURA 4. Promedio de los títulos de anticuerpos séricos neutralizantes contra los virus tipos A y O de la fiebre aftosa inducidos con vacuna oleosa en bovinos de la finca "Romelia" (Caldas), Colombia, 1982.

obtención de anticuerpos superiores a los observados en otros estudios de evaluación de vacunas con hidróxido de aluminio.

Los resultados encontrados en grupos de novillas y terneros ofrecen una condición muy promisoría en la obtención de una sólida inmunidad. Sin embargo es necesario aplicar refuerzos cada seis meses con el propósito de mantener el nivel inmunitario que tiende a descender considerablemente en los bovinos jóvenes. Un estudio realizado por Honigman y colaboradores (8) sobre la inmunidad posvacunal contra el virus de la fiebre aftosa en terneros, utilizando vacuna hidróxido-saponinada, demostró que los bovinos de 6 a 9 meses de edad (al principio del experimento) vacunados 3 veces a intervalos de 4 meses tuvieron una respuesta inmunitaria 50% inferior que la de los bovinos vacunados 5 veces a intervalos 2 meses. Según estudios efectuados por Augé de Mello y colaboradores (3) con la aplicación de vacuna antiaftosa inactivada tipos oleosa e hidróxido de aluminio, utilizando grupos de bovinos jóvenes en el campo y sometidos a vacunación y revacunación, se encontró que los bovinos inoculados con la vacuna con hidróxido de aluminio a los 30 días posvacunación (DPV) presentaban una expectativa porcentual de protección (EPP) entre el 60 y 70%. A los 60 DPV este valor cayó por debajo del 50% y a los 90 DPV era el mismo de los testigos. Con la vacuna oleosa, a los 30 DPV la EPP fue superior al 70% y continuó subiendo hasta los 60 días después de la vacunación cuando alcanzó entre el 80 y 90%. A los 6 meses, aún había una EPP considerable, no inferior al 54%. Las EPP alcanzadas por la vacuna oleosa fueron altas y persistentes por mayor tiempo en comparación con la vacuna tipo hidróxido de aluminio.

Según observaciones obtenidas del presente trabajo, las poblaciones de bovinos adultos con antecedentes de vacunación sistemática desde jóvenes con vacuna de tipo hidróxido-saponinada ofrecen resultados satisfactorios de inmunidad cuando han recibido por lo menos dos dosis de vacuna con adyuvante oleoso cada 6 meses, permitiendo aumentar los intervalos entre las vacunaciones hasta por un año. Los títulos de anticuerpos observados en los grupos de vacas, novillas y terneras de las cuatro fincas seleccionadas fueron similares tanto

en el grado de respuesta inicial como en la persistencia de los títulos frente a los tipos de virus O y A. De manera general se obtuvo una tendencia en descenso de los títulos durante el período de 12 meses siguientes a la primera vacunación, con una diferencia no superior a 1 log entre el valor a los 2 meses y el obtenido a los 6 MPV. Igualmente, esta diferencia no fue mayor que 1,5 log con relación al valor final obtenido a los 12 meses. Fue evidente la obtención de títulos superiores y más persistentes durante 6 y 12 meses, después de la aplicación de la segunda dosis de vacuna oleosa.

Un estudio realizado en bovinos vacunados tres veces con vacuna oleosa, a intervalos de 6 meses, confirmó la presencia de una sólida inmunidad 12 meses después de inmunizados con virus de la fiebre aftosa. Sólo uno de los 20 bovinos desarrolló fiebre aftosa generalizada. Los elevados niveles de anticuerpos observados en este estudio son comparables a los encontrados por Gomes y colaboradores (7) quienes demostraron protección a la exposición del virus por vía intradermolingual y al contacto con bovinos y cerdos infectados. En un estudio similar realizado por Augé de Mello y colaboradores (2) en bovinos de 2 años, que habían recibido tres vacunaciones contra la fiebre aftosa a intervalos de 6 meses con vacuna inactivada de adyuvante oleoso, se encontró una respuesta inmunitaria muy satisfactoria, con una EPP superior al 80% a los 12 meses de la cuarta vacunación. Trabajos similares de protección fueron realizados en bovinos a 1, 3, 6 y 12 MPV contra la fiebre aftosa, utilizando vacunas con los tipos O, A y C en adyuvante oleoso. Resultados de inmunidad satisfactoria fueron obtenidos en los diferentes tiempos con descargas de los virus tipos O y A (4, 9).

De manera similar a la observación obtenida por Augé de Mello y colaboradores (2) se puede sugerir, con base en los resultados obtenidos en este estudio, el siguiente esquema inicial de inmunización con vacuna antiaftosa de tipo oleoso: una vacunación cada 12 meses, para las poblaciones de bovinos adultos si tienen antecedentes de vacunación periódica cada 4 meses con vacuna hidróxido-saponinada en un alto número de animales de la región; de lo contrario, se debe aplicar una segunda dosis a los 6 MPV para continuar cada 12 meses. En el caso de los bovinos de 18 a 36 meses de

edad, cualquiera que sean sus antecedentes de inmunización, se debe aplicar la segunda dosis a los 6 meses para continuar cada 12 meses. Los bovinos menores de 18 meses deberán ser sometidos como mínimo a la aplicación de tres vacunaciones cada 6 meses para continuar con aplicaciones de vacuna cada 12 meses.

Es importante destacar que el éxito de una campaña de control regional de la fiebre aftosa, utilizando vacuna de tipo oleoso, depende en gran parte de la calidad de los antígenos utilizados y del alto porcentaje de cobertura de vacunación.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la colaboración prestada por el Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (Brasil) en la preparación y suministro de la vacuna contra la fiebre aftosa tipo oleoso; al Fondo Colombiano de Investigaciones Científicas y Proyectos Especiales "Francisco José de Caldas" (COLCIENCIAS) por el aporte financiero, y a los Drs. Efraín Benavides, Rafael Aragón, Walter Ríos, Obed García, Alberto Pérez y Jairo Escobar por su contribución en las actividades desarrolladas en el campo.

REFERENCIAS

- ARBELAEZ, G., DE BUSTOS, M., DE GERARDINO, A., LOBO, C.A., ESTUPIÑAN, J., BARRERA, J. Estandarización de la técnica de microneutralización para anticuerpos de virus de fiebre aftosa. *Rev. ICA*, Bogotá, 14 (2): 87-92, 1979.
- AUGÉ DE MELLO, P., ASTUDILLO, V., GOMES, I., CAMPOS GARCIA, J.T. Respuesta inmunitaria de bovinos adultos vacunados contra la fiebre aftosa con vacuna oleosa. (Immune response of adult cattle vaccinated with oil adjuvanted foot-and-mouth disease vaccines). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 26: 23-25, 27-29, 1977.
- 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: 31-38, 39-47, 1975.
- BAREI, S., PANINA, G.F., ORFEI, Z., NARDELLI, L., CASTELLI, S. Comparison of the potency for cattle of trivalent FMD vaccines adjuvant by aluminum hydroxide-saponin or oil emulsion. *Zbl. Vet. Med. B*, 26: 454-460, 1979.
- CASAS OLASCOAGA, R. Resumen de las investigaciones actuales realizadas en el Centro Panamericano de Fiebre Aftosa sobre vacunas de adyuvante oleoso. Presentado en el 25º Aniversario de los Laboratorios Sobrino S.A. Academia de Ciencias Veterinarias de Barcelona, España, 1980. 49p.
- ESTUPIÑAN, J., RESTREPO, G., ARBELAEZ, G., BARRERA, J., MORGAN, D., JIMENEZ, J.A., LOPEZ, J.I., ESCOBAR, J. Resultados preliminares de la evaluación de vacunas oleosas contra la fiebre aftosa en Colombia. *Rev. ACOVEZ*, Bogotá, 3 (10): 16-26, 1979.
- GOMES, I., SUTMÖLLER, P., CASAS OLASCOAGA, R. Respuesta en bovinos a la exposición del virus de la fiebre aftosa un año después de inmunizados con vacuna con adyuvante oleoso. (Response of cattle to foot-and-mouth disease (FMD) virus exposure one year after immunization with oil-adjuvanted FMD vaccine). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 37-38: 25-29, 31-35, 1980.
- HONIGMAN, M.N., GOMES, I., ABREU MARTINS, I. de, LOMBARDO, R.A. Persistencia en terneros de la inmunidad post-vacunal contra el virus aftoso. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 2: 12-20, 1971.
- INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGIA AGROPECUARIA—INTA (RIVENSON, S. *et al.*) & PLUM ISLAND ANIMAL DISEASE CENTER—PIADC (CALLIS, J.J. *et al.*). Vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso: Estudio cooperativo. (Oil adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine. A cooperative study). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 31-32: 29-34, 35-40, 1978.
- McKERCHER, P.D. & GRAVES, J.H. A review of the current status of oil adjuvants in foot-and-mouth disease vaccines. *In: Int. Symp. on FMD*. Lyon, 1976. *Develop. Biol. Standard*. Basel, S. Karger, 1977. v.35, pp. 107-112.
- SIRONI, A. Estudio comparativo del poder inmunógeno de 10 vacunas antiaftosas preparadas con inactivantes y adyuvantes clásicos y recientes. I. Ensayos preliminares en curí. *In: Instituto Zoonosológico Colombiano y Laboratorio Biocol. VI Congreso Nacional de Medicina Veterinaria y Zootecnia*. Bogotá, agosto 28-31, 1967. v.2, p.1-12.
- SPERMAN, C. The method of right and wrong cases (constant stimuli) without gause's formulae. *British J. Psychology* 2: 227-242, 1908.

IMMUNE RESPONSE INDUCED BY OIL-ADJUVANTED FOOT-AND-MOUTH DISEASE VACCINE IN CATTLE IN TROPICAL AREAS OF COLOMBIA¹

Jairo R. Rocha R.², Jose del C. Barrera V.², Myriam Q. de Bustos²

SUMMARY

The immune response induced by oil-adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine was evaluated by assaying the titers of neutralizing antibodies at 2, 4, 6, 7, 9, 12, 15 and 18 months after a first and second dose of vaccine was administered to groups of cows, heifers and calves under varying management conditions and having a history of periodic vaccination with saponin-hydroxide vaccine.

6000 doses of oil-adjuvanted vaccine prepared by the Pan American Foot-and-Mouth Disease Center (Rio de Janeiro, Brazil) with virus strains A₂₇-Cundinamarca/75-8046 and O₁-Campos/Brazil, were applied. Four cattle ranches in different tropical regions were selected for the application of 3000 initial doses followed by a second inoculation 6 and 12 months later. 430 blood samples were taken at each stage of blood sample collection.

The cows and heifers showed high antibody titers at 2 months after the first vaccination when challenged by O and A virus types. Titers were observed to decline at 4 and 6 months, with a difference not greater than 1 log in relation to the titers initially obtained at two months. Likewise, this difference did not exceed 1.5 log in relation to the final value obtained at 12 months. Higher and more persistent titers were obtained during the 12 months following application of the second dose of oil-adjuvanted vaccine.

The results obtained suggest a minimum of three vaccinations at 6-month intervals, followed by annual vaccination of cattle younger than 18 months. The second dose for cattle aged 18 to 36 months should be given at 6 months, followed by yearly vaccination thereafter. The adult cattle population having a history of periodic immunization every 4 months with saponin-hydroxide vaccine could be given one dose yearly.

INTRODUCTION

Cooperative studies to assess the immunity induced by oil-adjuvanted foot-and-mouth disease (FMD) vaccine have been conducted by the Pan American Foot-and-Mouth Disease Center (PAFMDC) in Brazil, the National Institute of Agricultural Technology (INTA) in Argentina, and the Plum Island Animal Disease Center (PIADC) in the U.S.A. (5, 9). The inoculation of oil-adjuvanted vaccine in cattle and pigs yielded higher neutralizing titers for longer durations, in comparison to the titers induced by conventional aluminum-hydroxide vaccines (10).

The PAFMDC has been engaged in both laboratory and field research of various aspects related to the production and immunological effect of oil-adjuvanted FMD vaccine. The research has considered, among others, cattle and pig populations, type of cattle-raising and management techniques, breeds, ages, routes of application, virus strains, potency and efficacy tests, etc. Promising results have been obtained for the protection of swine and cattle populations under conditions in South America (5).

Preliminary studies to evaluate oil-adjuvanted vaccines were conducted at the Zooprophyllactic Institute in Colombia (11). A vaccine prepared at the PAFMDC with virus strains from Colombia was given to a group of 1000 cattle on a ranch located in the area (Urabá-Antioqueño) covered

¹Sponsored by the National Vesicular Disease Program, Veterinary Sciences Division. The Colombian Agriculture and Livestock Institute (ICA), Colombia.

²Respectively: Veterinarian, M.S., Program Director; Veterinarian and Microbiology. Laboratory of Veterinary Medicine Research (LIMV), Apartado Aéreo 29743, Bogotá, Colombia.

by the joint program of the Colombian Agriculture and Livestock Institute (ICA) and the U.S. Department of Agriculture (USDA). The immune response determined by evaluating neutralizing antibody titers at 4, 6, 8 and 12 months post-vaccination (MPV) indicated that a uniform and lasting immunity can be induced with one or two annual vaccinations of oil-adjuvanted vaccine (6).

This study aimed to determine the response at varying MPV's, in terms of neutralizing antibodies titers induced by FMD oil-adjuvanted vaccine in groups of young and adult cattle. The cattle were observed at three different locations in Colombia, and had a history of systematic vaccination every four months with domestically produced saponin-hydroxide vaccine.

MATERIALS AND METHODS

Location

The study was conducted on four ranches located in different cattle-raising regions of Colombia. Their geographic location is as follows: "Bejuquillo" in the municipality of Mutatá and "La Patria" in the department of Antioquia, at an altitude of 20 to 30 meters above sea level; the "La Romelia" ranch situated in the municipality of Chinchiná in the department of Caldas, at 1500 to 2000 meters above sea level, and the "Carimagua" National Research Center in the department of Meta, some 150 to 175 meters above sea level.

Vaccine

The 6000 bovine doses of oil-adjuvanted vaccine (Series OL-135) were prepared by the Pan American Foot-and-Mouth Disease Center from the A₂₇-Cundinamarca/75-8046 (Colombia) and O₁-Campos (Brazil) virus strains. The results of the guinea pig potency tests yielded 64 and 51 guinea pig 50% protective doses (GPPD₅₀) per 0.25 ml of vaccine challenged by the homologous O and A viruses, respectively.

Vaccination and blood samples

On the "Bejuquillo" and "La Patria" ranches 2100 doses were administered in the first vaccination to groups of 840 and 1260 pure and

crossbred zebu cattle, under and over 2 years old, respectively.

The same groups of cattle were given a second vaccination six months later. The initial 6-month period of immunization was evaluated by taking blood samples from 132 cattle under two years and from 90 cattle over 2 years, at 0, 2, 4 and 6 MPV. The evaluation 12 months after the second vaccination was conducted using the same groups of cattle with blood samples taken at 1 and 6 months. Due to the exit of cattle from the region, the full 12-month scheduled evaluation was not conducted on these two ranches.

The first vaccination at the "Carimagua" National Research Center administered 300 doses to crossbred zebu cattle --85 calves, 114 heifers and 101 cows. At six months the second vaccination was given to 50% of the cattle (57 heifers and 50 cows). The rest of the animals received their second vaccination 12 months after the first; the group of 85 calves was revaccinated twice at 6-month intervals.

The blood samples were taken from 41 calves, 61 heifers and 56 cows at 0, 2, 4, and 6 months after the first vaccination. In order to assess an initial 12-month period of immunization of these groups of cattle, blood samples were taken at 9 and 12 months from 29 heifers and 28 cows that were not revaccinated at 6 months. Blood samples were drawn from those same groups of cattle at 1, 3 and 6 months after the second vaccination, which was administered 12 months after the first. Blood samples were taken at 1, 3, 6, 9 and 12 months from the groups of cattle that were revaccinated at 6 months --32 heifers and 28 cows-- for an annual evaluation. Blood samples were collected at 2, 4 and 6 months from the 41 calves during the three 6-month periods following the vaccinations.

The first vaccination of 300 doses on the "La Romelia" ranch was given to groups of 160 cows, 60 heifers and 80 calves of the Holstein and Brown Swiss breeds.

All the groups mentioned were given the second vaccination six months later. Blood samples were collected from 15 cows and 15 heifers at 2, 4 and 6 months after the first vaccination, and at 1, 3, 6 and 12 months after the second vaccination.

Blood samples were taken from a group of 20 calves 2, 4 and 6 months after the first vaccination, 1, 3 and 6 months after the second and 6 months after the third.

Neutralizing antibodies

The neutralizing antibodies titers were determined by the microneutralization test with BHK₂₁ cells (1) challenged by two-fold dilutions of the sera and 10^{1.7} 50% tissue culture infecting doses (TCID₅₀) of the viruses homologous to those used to prepare the vaccine. The Spearman-Kärber method was utilized to obtain the sera neutralizing titer (12).

RESULTS

The results obtained during the initial 6-month evaluation period following the first inoculation on the "Bejuquillo" and "La Patria" ranches where blood samples were collected at 0, 2, 4 and 6 months, indicated high antibody titers against A and O virus for both age groups when the blood samples taken at 2 MPV. However, the titers declined steadily at 4 and 6 MPV, and the final average approached log 2. During the six months following the second vaccination, at the month the immune response averaged higher, with a less pronounced drop in the titers over the six months, in comparison with the results observed after the first vaccination in the two age groups, against the two virus types (Table and Figure 1).

The study conducted at "Carimagua" indicates, for the groups of cows and heifers, that the titers of the neutralizing antibodies during the six-month period after the first vaccination were considerably high. They averaged above log 3 and showed a less evident declining trend against both types of virus. The groups of cows and heifers studied during the 12 months following the first vaccination showed at two months an average response above log 3. The decline was steady and the final average value at 12 months exceeded log 2. Those same groups yielded higher and more stable titers during the 6 and 12 months following the second vaccination. During the first period after the first vaccination, the group of calves yielded

neutralizing antibody titers tending to decline more sharply; the final values were substantially below log 2. However greater response and persistence in the titers were observed after the application of two more vaccinations every six months (Tables and Figures 2 and 3).

The results for the groups of cows, heifers and calves on the "La Romelia" ranch were similar in intensity and persistence to the titers observed in

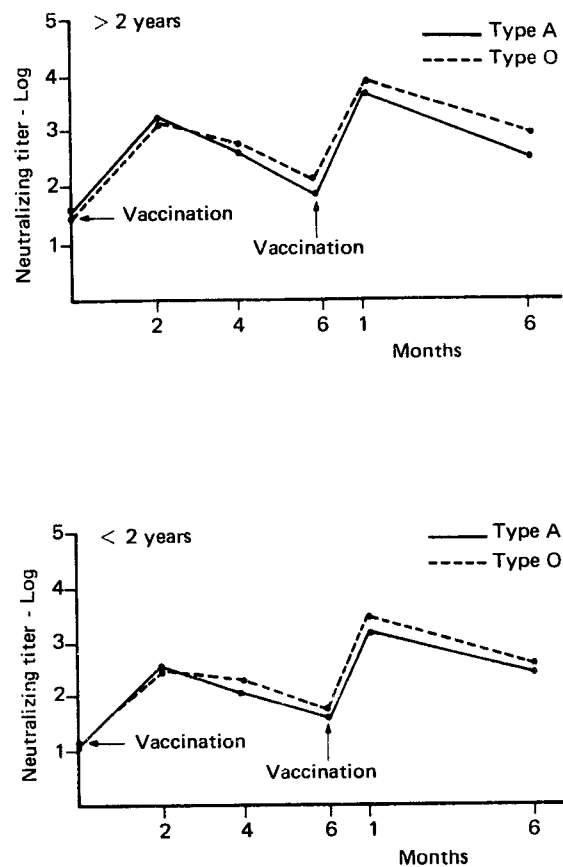


FIGURE 1. Mean titers of neutralizing antibodies against FMD virus types A and O, induced by oil-adjuvanted vaccine in cattle from the "La Patria" and "Bejuquillo" ranches (Antioquia), Colombia, 1982.

TABLE 1. Mean titers of neutralizing antibodies against FMD virus types A and O, induced by oil-adjuvanted vaccine in cattle from the "La Patria" and "Bejuquillo" ranches (Antioquia), Colombia, 1982.

Age (years)	Number of blood samples	Months post vaccination							
		0	2	4	6	1	6		
Virus A ₂₇ -Cundinamarca/75-8046									
>2	90	1.64 ± 0.54	V ± 0.27	3.20 ± 0.20	2.55 ± 0.20	1.85 ± 0.67	V ± 0.28	3.58 ± 0.28	2.45 ± 0.64
<2	132	1.04 ± 0.27	V ± 0.51	2.61 ± 0.37	2.01 ± 0.37	1.68 ± 0.61	V ± 0.35	3.10 ± 0.35	2.45 ± 0.48
Virus O ₁ -Campos/Brazil									
>2	90	1.56 ± 0.56	V ± 0.47	3.15 ± 0.18	2.85 ± 0.18	2.10 ± 0.35	V ± 0.30	3.72 ± 0.30	2.91 ± 0.59
<2	132	1.07 ± 0.28	V ± 0.41	2.59 ± 0.39	2.34 ± 0.39	1.73 ± 0.48	V ± 0.28	3.45 ± 0.28	2.75 ± 0.60

V = Vaccination.

TABLE 2. Mean titers of neutralizing antibodies against FMD virus types A and O, induced by oil-adjuvanted vaccine in cattle from the Carimagua National Research Center (Meta), Colombia, 1982.

Cattle	Number of blood samples	Months post-vaccination											
		0	2	4	6	9	12	1	3	6			
Virus A ₂₇ -Cundinamarca/75-8046													
Cows	28	1.92 ± 0.45	V ± 0.38	3.36 ± 0.57	2.99 ± 0.56	2.56 ± 0.34	2.21 ± 0.36	2.00 ± 0.36	V ± 0.20	3.64 ± 0.23	3.54 ± 0.23	3.20 ± 0.45	
Heifers	29	1.54 ± 0.41	V ± 0.39	3.12 ± 0.39	2.31 ± 0.47	2.31 ± 0.47	1.92 ± 0.30	V ± 0.30	3.32 ± 0.32	3.32 ± 0.32	3.32 ± 0.32	3.28 ± 0.34	
		0	2	4	6	9	12	1	3	6			
Cows	41	1.06 ± 0.23	V ± 0.40	2.67 ± 0.30	2.18 ± 0.30	1.67 ± 0.22	V ± 0.38	3.24 ± 0.37	2.61 ± 0.37	2.21 ± 0.30	V ± 0.30	3.19 ± 0.41	2.75 ± 0.25
		0	2	4	6	9	12	1	3	6			
Virus O ₁ -Campos/Brazil													
Cows	28	1.96 ± 0.31	V ± 0.31	3.55 ± 0.37	3.20 ± 0.37	2.96 ± 0.46	2.28 ± 0.27	2.05 ± 0.21	V ± 0.10	3.98 ± 0.10	3.66 ± 0.12	3.68 ± 0.12	
Heifers	29	1.39 ± 0.51	V ± 0.40	3.15 ± 0.40	2.82 ± 0.58	2.82 ± 0.58	2.11 ± 0.55	V ± 0.55	3.60 ± 0.23	3.60 ± 0.23	3.60 ± 0.23	3.46 ± 0.25	
		0	2	4	6	9	12	1	3	6			
Calves	41	0.77 ± 0.48	V ± 0.49	2.70 ± 0.27	2.35 ± 0.27	2.00 ± 0.32	V ± 0.34	3.28 ± 0.34	3.01 ± 0.22	2.38 ± 0.30	V ± 0.30	3.60 ± 0.22	2.83 ± 0.28

V = Vaccination.

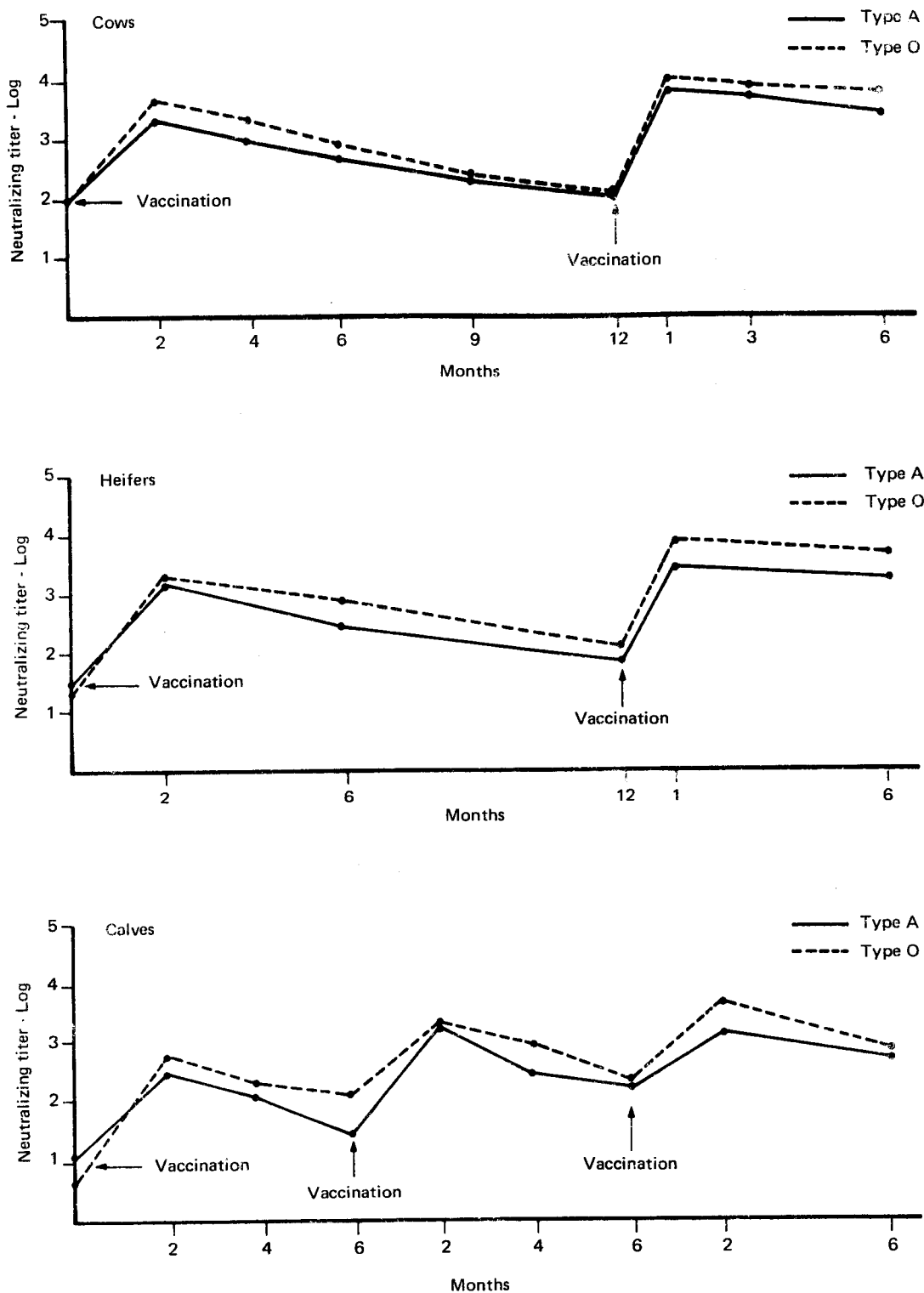


FIGURE 2. Mean titers of neutralizing antibodies against FMD virus types A and O, induced with oil-adjuvanted vaccine in cattle from the "Carimagua" National Research Center (Meta), Colombia, 1982.

TABLE 3. Mean titers of neutralizing antibodies against FMD virus types A and O, induced by oil-adjuvanted vaccine in cattle from the Carimagua National Research Center (Meta), Colombia, 1982.

Cattle	Number of blood samples	Months post-vaccination									
		0	2	4	6	1	3	6	9	12	
Virus A₂₇-Cundinamarca/75-8046											
Cows	28	1.76 ±0.54	V 3.19 ±0.49	3.12 ±0.49	2.12 ±0.67	V 3.70 ±0.16	3.53 ±0.26	3.45 ±0.33	2.81 ±0.35	2.70 ±0.33	
Heifers	32	1.45 ±0.50	V 3.23 ±0.34		2.20 ±0.39	V 3.50 ±0.25		3.38 ±0.21		2.78 ±0.21	
Virus O₁-Campos/Brazil											
Cows	28	1.48 ±0.48	V 3.29 ±0.36	3.07 ±0.43	2.87 ±0.50	V 3.68 ±0.20	3.43 ±0.25	3.49 ±0.25	3.07 ±0.31	2.54 ±0.31	
Heifers	32	1.21 ±0.58	V 3.09 ±0.35		2.69 ±0.51	V 3.64 ±0.18		3.37 ±0.34		3.32 ±0.51	

V = Vaccination.

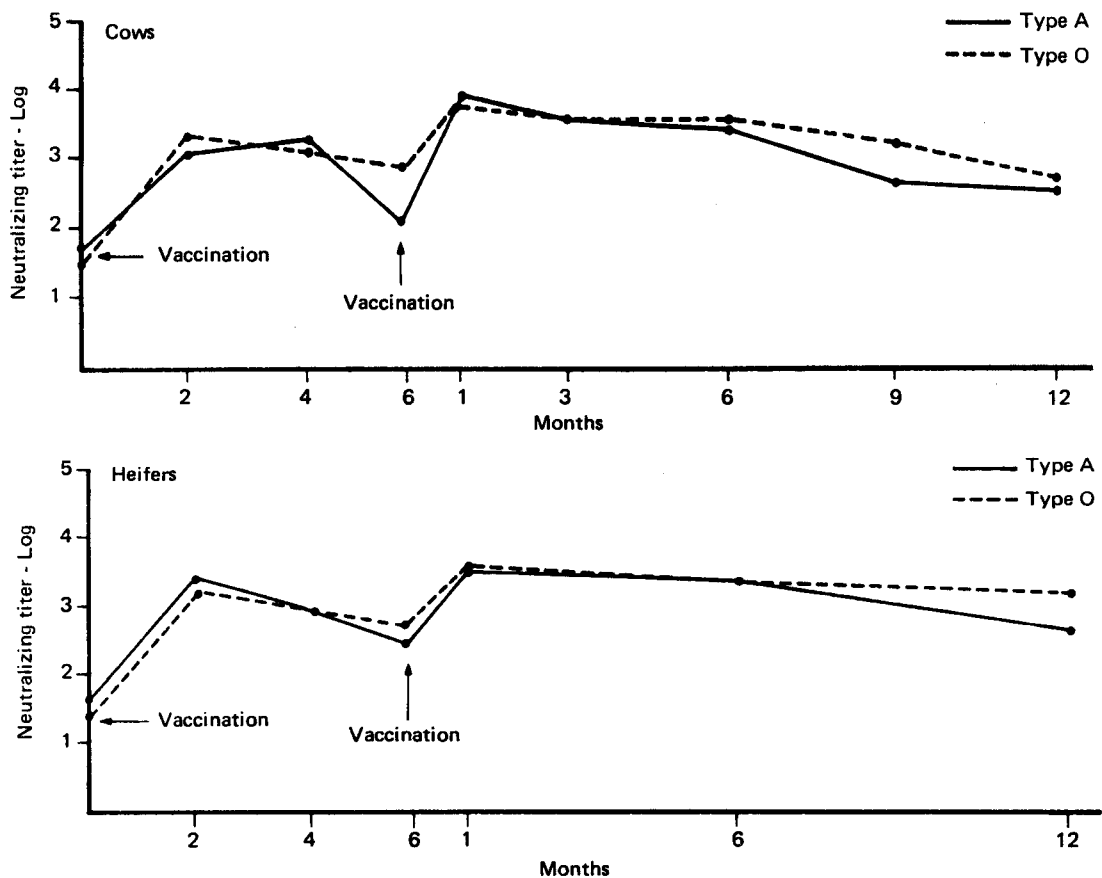


FIGURE 3. Mean titers of neutralizing antibodies against FMD virus types A and O, induced with oil-adjuvanted vaccine in cattle from the "Carimagua" National Research Center (Meta), Colombia, 1982.

the cattle at "Carimagua". The second inoculation of oil-adjuvanted vaccine given to the three groups 6 months after the first vaccination induced higher and more persistent titers when tested against the two virus types. An average higher than log 2 was observed at 12 months. Revaccination of the calves every 6 months induced an increase in the titers which yielded greater and greater persistence (Table and Figure 4).

None of the groups or breeds of cattle evidenced undesirable reactions to the oil-adjuvanted vaccines.

DISCUSSION

The results of neutralizing antibody titers induced by an oil-adjuvanted vaccine administered to groups of cattle of different ages, which had

been vaccinated every four months with saponin-hydroxide vaccine, once again demonstrated the possibility of obtaining prolonged periods of immunity characterized by the presence of rather uniform antibody titers. Estupiñán *et al.* (6) obtained a similar immune response when they determined the neutralizing antibody titers for two groups of cattle under and over two years of age that had been inoculated with oil-adjuvanted vaccine. The response was evaluated at 4, 6, 8 and 12 MPV and yielded antibody levels higher than those obtained in other studies aiming to evaluate aluminum hydroxide vaccines.

The results recorded in groups of heifers and calves offer a very promising condition for obtaining a solid immunity. However, booster vaccinations are required every six months in order to maintain the immune level, which tends to

TABLE 4. Mean titers of neutralizing antibodies against FMD virus types A and O, induced with oil-adjuvanted vaccine in cattle from the "La Romelia" ranch (Caldas), Colombia, 1982.

Cattle	Number of blood samples	Months post-vaccination							
		0	2	4	6	1	3	6	12
Virus A ₂₇ -Cundinamarca/75-8046									
Cows	15	1.94 ±0.55	3.30 ±0.39	2.54 ±0.38	2.24 ±0.25	3.44 ±0.15	2.99 ±0.30	2.96 ±0.47	2.62 ±0.38
Heifers	15	1.57 ±0.16	2.95 ±0.34	2.57 ±0.39	2.33 ±0.40	3.25 ±0.40	3.03 ±0.33	2.79 ±0.33	2.42 ±0.39
Calves	20	0.74 ±0.15	2.58 ±0.41	2.13 ±0.44	1.76 ±0.24	3.43 ±0.28	2.78 ±0.23	2.10 ±0.38	3.21 ±0.32
Virus O ₁ -Campos/Brazil									
Cows	15	1.44 ±0.31	3.29 ±0.32	2.90 ±0.24	2.66 ±0.49	3.65 ±0.17	3.08 ±0.24	3.20 ±0.32	2.83 ±0.42
Heifers	15	1.21 ±0.22	3.21 ±0.15	3.16 ±0.11	2.80 ±0.26	3.69 ±0.15	3.12 ±0.21	3.46 ±0.28	2.89 ±0.37
Calves	20	0.72 ±0.18	2.75 ±0.25	2.24 ±0.32	1.85 ±0.22	3.41 ±0.22	3.21 ±0.31	2.25 ±0.30	3.44 ±0.23

V = Vaccination.

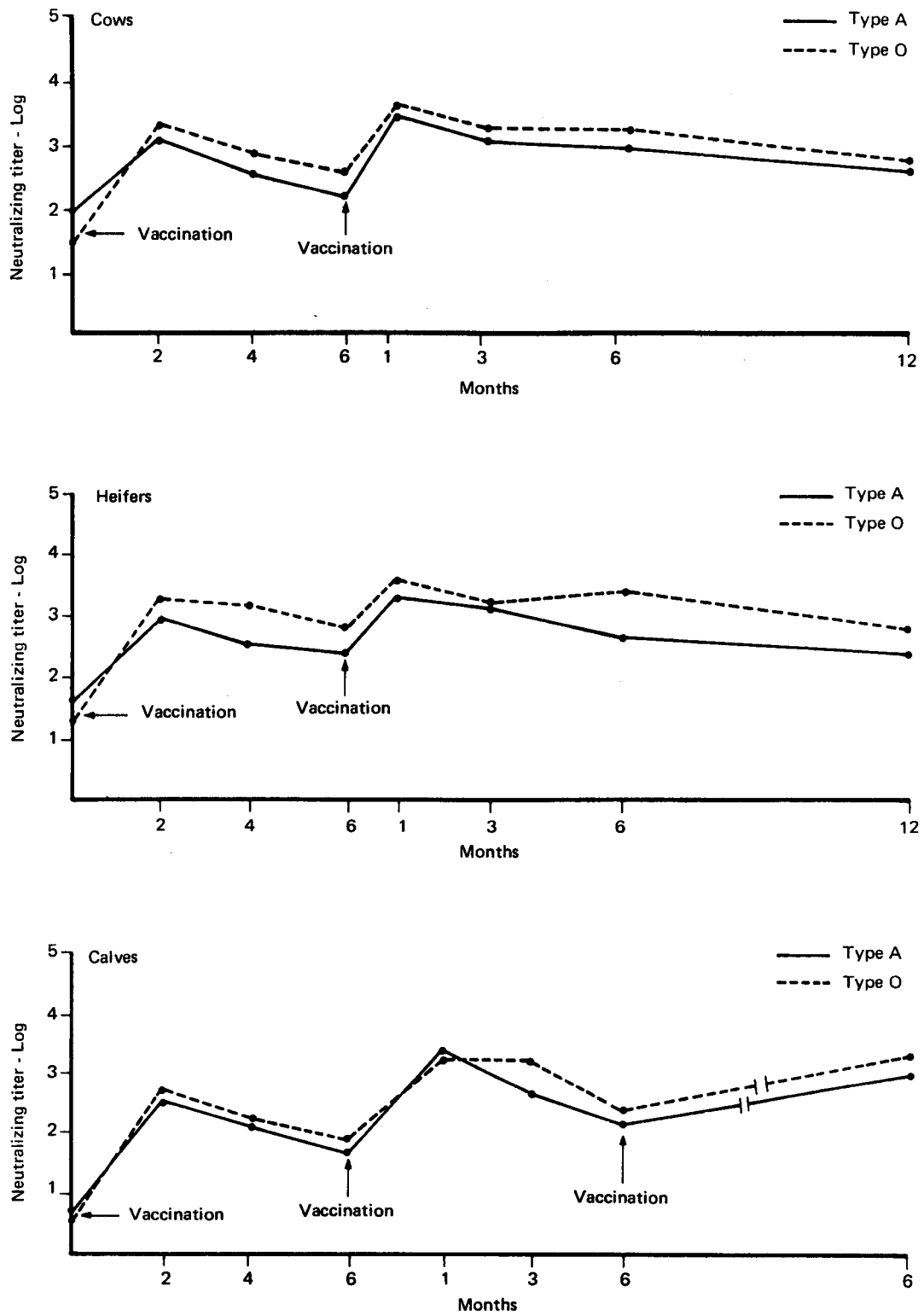


FIGURE 4. Mean titers of neutralizing antibodies against FMD virus types A and O, induced with oil-adjuvanted vaccine in cattle from the "Romelia" ranch (Caldas), Colombia, 1982.

decline considerably in young cattle. A study by Honigman *et al.* (8) of postvaccination immunity against FMD virus in calves, using saponin-hydroxide vaccine, demonstrated that 6 to 9-month-old cattle (at the outset of the experiment) vaccinated 3 times at 4-month intervals, yielded an immune response 50% lower than that of cattle vaccinated 5 times at 2-month intervals. Studies by Augé de Mello *et al.* (3) demonstrated that when groups of young cattle in the field were submitted to vaccination and revaccination with oil-adjuvanted and aluminum-hydroxide inactivated FMD vaccine, the animals inoculated with the aluminum-hydroxide vaccine yielded an expected percentage of protection (EPP) ranging from 60 to 70% at 30 days post-vaccination (DPV). That value decreased to 50% at 60 days post-vaccination and, at 90 DPV, was the same as the control animals. But with the oil-adjuvanted vaccine the EPP at 30 DPV was higher than 70% and continued rising to 60 days after the vaccination, when it reached 80 to 90%. The EPP at 6 months was still substantial, not less than 54%. The expected percentages of protection induced with the oil-adjuvanted vaccine were high and persisted for a long time in comparison to the aluminum-hydroxide vaccine.

Observations drawn from the present study indicate that adult cattle populations having a history of systematic vaccination with saponin-hydroxide vaccine show satisfactory immunity when they receive at least two doses of oil-adjuvanted vaccine every 6 months. The time span between vaccinations can even be lengthened up to a year. The antibody titers observed in the groups of cows, heifers and calves on the four selected facilities were similar in the degree of initial response as well as in the persistence of the titers against O and A virus types. In general, the titers tended to decline during the 12-month period following the first vaccination. The difference between the values at 2 months and at 6 MPV did not exceed 1 log. Likewise, that difference did not exceed 1.5 log in relation to the final value obtained at 12 MPV. Higher and more persistent titers were observed during the 6 and 12 months following the second application of oil-adjuvanted vaccine.

A study involving cattle vaccinated three times with oil-adjuvanted vaccine at 6-month intervals confirmed the presence of a solid immunity 12 months after immunization with FMD virus. The disease generalized in only one of the 30 cattle. The high antibody levels observed in this study are comparable to those observed by Gomes *et al.* (7), who demonstrated protection against exposure to virus by the intradermolingual route and by contact with diseased cattle and pigs. A similar study by Augé de Mello *et al.* (2), involving 2-year-old cattle that had been vaccinated three times at 6-month intervals with inactivated oil-adjuvanted vaccine, produced a very satisfactory immune response; 12 months after the fourth vaccination the EPP was over 80%. Similar protection studies were conducted on cattle at 1, 3, 6 and 12 MPV, using oil-adjuvanted vaccine prepared from O, A and C virus types. Satisfactory immunity results were obtained at the different times against O and A virus types (4, 9).

Similar to the findings by Augé de Mello *et al.* (2), the results obtained in this study suggest the following initial immunization scheme with oil-adjuvanted FMD vaccine: a vaccination every 12 months for adult cattle populations where a high number of animals in the region have a history of periodic vaccination every 4 months with saponin-hydroxide vaccine. Otherwise a second vaccination is recommended 6 months later and thereafter every 12 months. In the case of cattle aged from 18 to 36 months, regardless of their immunization history, they should receive the second vaccination at 6 MPV and then every 12 months. Cattle under 18 months should be vaccinated at least three times every 6 months and every 12 months thereafter.

It is important to stress that the quality of the antigens utilized and the high percentage of vaccination coverage are fundamental to the success of a regional foot-and-mouth disease control campaign.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors wish to thank the Pan American Foot-and-Mouth Disease Center (Brazil) for its

cooperation in preparing and supplying the oil-adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine; the Colombian Fund for Scientific Research and Special Projects "Francisco José de Caldas" (COLCIENCIAS) for its financial support; and Drs. Efraín Benavides, Rafael Aragón, Walter Ríos, Obed García, Alberto Pérez and Jairo Escobar, for their assistance in the activities developed in the field.

REFERENCES

1. ARBELAEZ, G., DE BUSTOS, M., DE GERARDINO, A., LOBO, C.A., ESTUPIÑAN, J., BARRERA, J. Estandarización de la técnica de microneutralización para anticuerpos de virus de fiebre aftosa. *Rev. ICA*, Bogotá, 14 (2): 87-92, 1979.
2. AUGÉ DE MELLO, P., ASTUDILLO, V., GOMES, I., CAMPOS GARCIA, J.T. Respuesta inmunitaria de bovinos adultos vacunados contra la fiebre aftosa con vacuna oleosa. (Immune response of adult cattle vaccinated with oil adjuvanted foot-and-mouth disease vaccines). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 26: 23-25, 27-29, 1977.
3. AUGÉ DE MELLO, P., ASTUDILLO, V., GOMES, I., CAMPOS GARCIA, J.T. Aplicación en el campo de vacuna antiaftosa oleosa e inactivada: vacunación y revacunación de bovinos jóvenes. (Field application of inactivated oil adjuvanted foot-and-mouth disease virus vaccine: vaccination and revaccination of young cattle). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 19-20: 31-38, 39-47, 1975.
4. BAREI, S., PANINA, G.F., ORFEI, Z., NARDELLI, L., CASTELLI, S. Comparison of the potency for cattle of trivalent FMD vaccines adjuvant by aluminum hydroxide-saponin or oil emulsion. *Zbl. Vet. Med. B*, 26: 454-460, 1979.
5. CASAS OLASCOAGA, R. Resumen de las investigaciones actuales realizadas en el Centro Panamericano de Fiebre Aftosa sobre vacunas de adyuvante oleoso. Presentado en el 25º Aniversario de los Laboratorios Sobrino S.A. Academia de Ciencias Veterinarias de Barcelona, España, 1980. 49p.
6. ESTUPIÑAN, J., RESTREPO, G., ARBELAEZ, G., BARRERA, J., MORGAN, D., JIMENEZ, J.A., LOPEZ, J.I., ESCOBAR, J. Resultados preliminares de la evaluación de vacunas oleosas contra la fiebre aftosa en Colombia. *Rev. ACOVEZ*, Bogotá, 3 (10): 16-26, 1979.
7. GOMES, I., SUTMÖLLER, P., CASAS OLASCOAGA, R. Respuesta en bovinos a la exposición del virus de la fiebre aftosa un año después de inmunizados con vacuna con adyuvante oleoso. (Response of cattle to foot-and-mouth disease (FMD) virus exposure one year after immunization with oil-adjuvanted FMD vaccine). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 37-38: 25-29, 31-35, 1980.
8. HONIGMAN, M.N., GOMES, I., ABREU MARTINS, I. de, LOMBARDO, R.A. Persistencia en terneros de la inmunidad post-vacunal contra el virus aftoso. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 2: 12-20, 1971.
9. INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGIA AGROPECUARIA—INTA (RIVENSON, S. *et al.*) & PLUM ISLAND ANIMAL DISEASE CENTER—PIADC (CALLIS, J.J. *et al.*). Vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso: Estudio cooperativo. (Oil adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine. A cooperative study). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 31-32: 29-34, 35-40, 1978.
10. McKERCHER, P.D. & GRAVES, J.H. A review of the current status of oil adjuvants in foot-and-mouth disease vaccines. *In: Int. Symp. on FMD*. Lyon, 1976. *Develop. Biol. Standard*. Basel, S. Karger, 1977. v.35, pp. 107-112.
11. SIRONI, A. Estudio comparativo del poder inmunógeno de 10 vacunas antiaftosas preparadas con inactivantes y adyuvantes clásicos y recientes. I. Ensayos preliminares en curí. *In: Instituto Zooprofiláctico Colombiano y Laboratorio Biocol. VI Congreso Nacional de Medicina Veterinaria y Zootecnia*. Bogotá, agosto 28-31, 1967. v.2, p.1-12.
12. SPERMAN, C. The method of right and wrong cases (constant stimuli) without gause's formulae. *British J. Psychology* 2: 227-242, 1908.

**USO DE UN BANCO DE DATOS COMPUTARIZADO
PARA HACER EL SEGUIMIENTO DE ANTIGENOS DE LA FIEBRE AFTOSA
ALMACENADOS POR LARGOS PERIODOS DE TIEMPO**

C. House¹, R. Monsell¹, D. Soroka¹

RESUMEN

Se ha desarrollado un banco de datos, utilizando un programa comercialmente disponible, para monitorear datos de la producción del antígeno viral de la fiebre aftosa, almacenados a largo plazo. Con este sistema, el guardar y recobrar la información y los procedimientos, en varios lugares físicos, se hace de forma inmediata y segura, lo que es esencial para movilizar vacunas en una emergencia. También es un método conveniente para examinar la tendencia de la producción, procurar componentes, providenciar informes de rutina y actualizar los registros referentes al antígeno de la vacuna almacenado.

INTRODUCCION

El almacenamiento a largo plazo del antígeno viral de la fiebre aftosa, para la preparación de vacunas en carácter de emergencia, se utiliza en Francia (1, 3), Dinamarca (2), Alemania y Estados Unidos de América en cooperación con Canadá y México. Estos antígenos están siendo evaluados por numerosos procedimientos de pruebas y un substancial volumen de datos se está acumulando.

Los registros de estos antígenos almacenados deben satisfacer un estándar fundamental: la recuperación inmediata y precisa de los datos de producción, pruebas, almacenamiento y disponibilidad de datos detallados de los procedimientos efectuados en años anteriores. La rápida recuperación de esta información, posiblemente en varios

locales físicos a la vez, es el primer paso para movilizar el banco de vacunas de emergencia. Consecuentemente hemos desarrollado un banco de datos utilizando una computadora y un programa comercialmente disponible para guardar esas informaciones. Este sistema se utiliza también para el inventario y pruebas de reactivos y para monitorear los procedimientos de diagnóstico para proveer un programa continuo, integrado, con la máxima padronización entre las secciones del laboratorio del Centro de Enfermedades de Animales de Plum Island (PIADC).

METODOLOGIA Y RESULTADOS

1. Computadora y programas (PDP11), Centro de Procesamiento de Palabras

Se utiliza la computadora PDP11/34 (Corporación de Equipos de la Digital (DEC), Maynard, Massachusetts) y el lenguaje de alto nivel de administración de archivos Datatrieve® (DEC). El sistema "Datatrieve" es semejante al "COBOL" en su estructura y sintaxis.

2. Protocolos

Las instrucciones sobre los protocolos están grabadas en el banco de datos en la computadora y en el Centro de Procesamiento de Palabras. Copias impresas de estas instrucciones se envían a cada laboratorio.

Los números del protocolo se asignan en una secuencia de tres dígitos con la inicial reflejando la categoría: Fórmulas - 001-299; Protocolos de Producción - 300-499; Protocolos de Pruebas - 500-599. Para permitir el ordenamiento, los protocolos se enumeran en forma consecutiva dentro de cada serie, usándose primero una palabra llave en el título.

¹Plum Island Animal Disease Center, United States Department of Agriculture, P.O. Box 848, Greenport, New York 11944, U.S.A.

3. Identificación de los antígenos

El proceso de producción de antígeno incluye cuatro etapas, de las cuales las subunidades agrupadas forman una unidad mayor. Cada subunidad tiene un nombre, número y conectores exclusivos con la unidad subsiguiente. Las subunidades, lotes, partidas, "pools" y series forman su número único con la inicial (L, B, P o S) y la fecha (año/mes/día). Así, L830102 es un lote preparado el 2 de enero de 1983. Como en su producción cada unidad atraviesa varios pasos, se utiliza una columna de 'etapa de producción' en cualquier fecha de la prueba. De esta manera, el origen de todos los componentes y todas las pruebas aplicadas a los componentes pueden identificarse.

4. Dominios

Para cada unidad se prepara un dominio dentro del Datatrieve® ("lots", "batches", "pool" y "serials" —lotes, partidas, "pool" y series—). El dominio se iguala con un archivo o división principal. La información principal sobre los componentes individuales se guarda para crear un registro dentro del dominio. A cada categoría en el registro se le llama campo y cualquier información puede ordenarse por el nombre del campo. Por ejemplo, dentro del dominio 'lotes' un registro del lote incluye los campos 'número de identificación',

'tipo de virus', 'volumen', 'fecha de cosecha', 'tipo de célula', 'fecha de la semilla', 'número del lote del suero', 'referencia del medio', 'fecha' y 'tipo de inactivación', y 'disposición dentro de una partida', que es la próxima unidad mayor. El registro de la partida incluye 'número de identificación', 'número' e 'identificación de los componentes', 'fecha de preparación', 'volumen' y 'disposición' dentro de la próxima unidad mayor, que es el "pool". Nuestro registro de "pool" incluye 'número de identificación', 'tipo de virus', 'número' e 'identificación de los componentes', 'fecha del concentrado', 'volumen', 'lugar del almacenamiento' y 'dosis calculadas'.

Todas las pruebas son registradas en el dominio 'prueba'. Cada registro de prueba incluye la identidad del lote, partida, "pool" o serie, el estado de la producción dentro de esa unidad (por ejemplo, cosecha, después de la inactivación), tipo de prueba, número del protocolo de la prueba y el resultado y su fecha. Una prueba pendiente puede indicarse registrando los resultados con '?' y las fechas con una proyección de la fecha de la lectura final.

Por el sistema Datatrieve® se pueden ordenar y localizar registros por cualquiera de sus campos. Por ejemplo, localizar todas las pruebas de un lote determinado (Cuadro 1) facilita el monitoreo de

CUADRO 1. Informe de lotes

Identidad ID-lote	Estado	Prueba	Resultado	Fecha
L820312	Cosecha	FC	60	16-mar-82
	Después CFG	FC	60	16-mar-82
	Después inact.	FC	60	25-mar-82
	Cosecha	Esteril.	Aprobado	29-mar-82
	Después CFG	Esteril.	Aprobado	29-mar-82
	Después inact.	Esteril.	Aprobado	7-abr-82
	Inactiv. 0 hr	Placa	1,8x log7	18-mar-82
	Inactiv. 1 hr	Placa	2,0x log6	18-mar-82
	Inactiv. 2 hr	Placa	1,3x log5	19-mar-82
	Inactiv. 3 hr	Placa	3,0x log4	19-mar-82
	Inactiv. 4 hr	Placa	2,0x log3	22-mar-82

un componente, o localizar todos los resultados de una prueba determinada puede revelar tendencias de la producción general (Cuadro 2). La localización de un componente puede efectuarse gracias a los conectores incluidos en los registros de la unidad (Cuadro 3).

CUADRO 2. Informe de pruebas

Producción ID-partida	Estado	Prueba	Resultado	Fecha
B820615	Post-partida	FC	60	28-jun-82
B820603	" "	FC	60	6-jul-82
B820728	" "	FC	60	12-jul-82
B820730	" "	FC	60	30-jul-82
B820803	" "	FC	60	3-ago-82
B820809	" "	FC	50	9-ago-82
B820816	" "	FC	45	16-ago-82
B820823	" "	FC	40	23-ago-82
B820826	" "	FC	40	26-ago-82
B820902	" "	FC	50	2-sep-82
B820913	" "	FC	60	13-sep-82
B820921	" "	FC	60	21-sep-82
B820930	" "	FC	60	30-sep-82

CUADRO 3. Movimiento de línea de los lotes para terminar en vacuna en el PIADC

Nº de ID	Estado	Línea de prueba	Línea de resultado	Línea final
L820305	Después inact.	Inact. kinét.	Aprobado	A produc. B820325
B820325	Después inact.	Inocul. Esteril.	Aprobado Aprobado	A "pool" P820402
P820402	Antes concent.	FC Esteril	60 Aprobado	Sigue concent.
P820402	Después concent.	FC Esteril.	2930 Aprobado	Guardado LN2
P820402	Guardado LN2	FC Estabil.	2930 Aprobado	A "serial" "serial"
S820624	Prueba "serial"	Seguridad Potencia Estabil.	Aprobado Aprobado Aprobado	A vacuna final
V830124	Vacuna	Esteril.	Aprobado	Embarque 830130

5. Informes

El sistema Datatrieve® incluye 'redactores de informes' que reúnen datos para satisfacer necesidades o áreas de interés específicas. Un formato específico se adecúa a las necesidades de cada usuario. En los informes de la colección corriente de datos las necesidades particulares se alcanzan sin necesidad de examinar otras informaciones. Por ejemplo, el administrador puede controlar el total de las dosis disponibles (Cuadro 4). El

personal de envase de emergencia está interesado en el lugar exacto del almacenamiento, las dosis y volúmenes (Cuadro 5). Así, el mismo banco de datos puede utilizarse de acuerdo con las necesidades.

CUADRO 4. Informe de dosis

Identidad ID. "pool"	Tipo de virus	Dosis calculadas
Tipo y subtipo de virus	A ₂₄	
P820722		374.449
P820802		253.974
P820812		289.341
P820830		343.830
P820914		329.739
Total calculado	A ₂₄	Dosis 1.591.333

COMENTARIO

El acceso inmediato a los datos del antígeno del virus de la fiebre aftosa almacenado ahorrará momentos valiosos que podrían ser críticos en una movilización de emergencia de una vacuna. Al mismo tiempo, los registros dinámicos proporcionan un reconocimiento rápido de la tendencia de la producción, registros diarios, informes de rutina y una organizada información continua de la producción de antígenos de vacunas y protocolos de los procedimientos de las pruebas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento al Dr. J.H. Graves y al Sr. Walter Harris por su excelente asistencia.

CUADRO 5. Informe del "pool"

Ident. "pool"	Tipo virus	Fecha concentrac.	Lugar almacenam.	Volumen (litros)	Dosis calculadas
P810917	O ₁	17-sep-81	1-M32	6,3	87.433
P811221	O ₁	21-dic-81	1-M33	7,6	133.495
P811228	O ₁	28-dic-81	1-M34	6,5	53.930
P820113	O ₁	13-ene-82	1-M35	7,5	78.954
P820127	O ₁	21-ene-82	1-M36	8,8	83.840
P820211	O ₁	11-feb-82	1-M37	9,3	145.324
P820225	O ₁	25-feb-82	1-M38	10,3	234.438
P820316	O ₁	15-mar-82	1-M39	7,7	98.638
P820325	O ₁	25-mar-82	1-M40	8,3	138.987
P820401	O ₁	1-abr-82	1-M41	9,2	238.143
P820428	O ₁	28-abr-82	1-M42	10,2	194.297

REFERENCIAS

1. DUCHESNE, M., GUERCHE, J., LEGRAND, B., PROTEAU, M., COLSON, X. The use of highly concentrated purified (by a large scale method) and long term liquid nitrogen stored foot-and-mouth disease viruses for the preparation of vaccine: physicochemical quality controls and potency tests after storage. *Devel. Biol. Standard.* 50: 249-259. Skargen, Basel, 1982.
2. LEI, J.C. Introductory studies on the storage of PEG-concentrated antigens from formalin-treated crude harvests of FMDV. Report of the Session of the Research Group of the Studying Technical Committee of the European Commission for the Control of Foot-and-Mouth Disease. Tübingen, Germany, 29 Sep-1 Oct 1981. Food and Agric. of the UN, pp. 23-24, Rome, 1982.
3. REY, A.Z., BRUN, A. Conservation of antigenic and immunological properties of concentrated FMD virus after storage at -70°C . Report of the Session of the Research Group of the Studying Technical Committee of the European Commission for the Control of Foot-and-Mouth Disease. Tübingen, Germany, 29 Sep-1 Oct 1981. Food and Agric. Org. of the UN, pp. 28-29, Rome 1982.

USE OF A COMPUTER DATABASE TO MONITOR FOOT-AND-MOUTH DISEASE ANTIGENS IN LONG-TERM STORAGE

C. House¹, R. Monsell¹, D. Soroka¹

SUMMARY

A computer database has been developed, using commercially available software, to monitor production and testing data on foot-and-mouth disease viral antigen in long-term storage. This system provides immediate and accurate retrieval of data and procedures at a number of physical locations, which is essential for mobilization of emergency vaccine. Also, it is a convenient method for examining production trends, tracing components, providing routine reports and updating records on stored vaccine antigen.

INTRODUCTION

Long-term storage of foot-and-mouth disease viral (FMDV) antigen for emergency formulation of vaccine is practiced in France (1, 3), Denmark (2), Germany and the United States of America in cooperation with Canada and Mexico. These antigens are being evaluated by numerous test procedures, and a substantial volume of data is accumulating.

The recordkeeping on these stored antigens must meet one vital standard, the immediate and accurate retrieval of production, test, storage, and disposition data for detailed procedures performed years earlier. The expedient retrieval of this information, possibly at a number of physical locations at once, is the first step in mobilizing the emergency vaccine bank. Consequently, we have developed a computer database utilizing a computer and

commercially available software to store these records. This system is utilized also for inventory and testing of reagents and monitoring diagnostic procedures to provide a continuing integrated program with maximum standardization between laboratory sections at the Plum Island Animal Disease Center.

METHODOLOGY AND RESULTS

1. Computer and Software (PDP11), Word Processing Center

The PDP11/34 computer (Digital Equipment Corporation (DEC), Maynard, Massachusetts) is utilized with the Datatrieve® (DEC) high-level file management language. Datatrieve is similar to COBOL in structure and syntax.

2. Protocols

Protocol instructions are recorded in the computer database and in the Word Processing Center. Hard copies are provided to each laboratory.

Protocol numbers are assigned in a three-digit sequence with the initial numbers reflecting the category of the protocol: Formulas - 001-299; Manufacturing protocols - 300-499; Assay protocols - 500-599. Within each series, protocols are numbered consecutively and keywords are used as the first word in the title to allow sorting.

3. Antigen Identification

The antigen production process involves four instances in which subunits are assembled from a larger unit. Each subunit has a unique name, numbers and linkers to the subsequent unit. Subunits, lots, batches, pools, and serials develop their unique number by the initial (L, B, P or S) and the date (year/month/day). Therefore, L830102 is a

¹Plum Island Animal Disease Center, United States Department of Agriculture, P.O. Box 843, Greenport, New York 11944, U.S.A.

lot prepared on January 2, 1983. As each unit undergoes several production steps, a "stage of production" column is utilized for any assay data. In this way, the origin of all components and all tests applied to the components can be traced.

4. Domains

Within Datatrieve[®], a domain is prepared for each unit (lots, batches, pools, and serials). A domain is equated with a file, or major division. Major information about individual components is entered to create a record within the domain. Each category in the record is called a field, and any information can be sorted by using the field name. For example, within the domain "lots", one lot's record includes the fields "identification number", "virus type", "volume", "date of harvest", "cell type", "seed date", "serum lot number", "media reference", "date" and "type of inactivation", and "disposition into a batch", the next larger unit. The batch record includes "identification number", "number" and "identification of components", "date of preparation", "volume", and "disposition" into the next larger unit, a pool. Our pool record includes "identification number", "virus type", "number" and "identification of components", "date concen-

trated", "volume", "storage location" and "calculated doses".

All testing is recorded under the domain "assay". Each assay record includes the identity of the lot, batch, pool or serial, the stage of production within that unit (i.e., harvest, after inactivation), the type of assay, the protocol number of the assay, and the result and date. A test pending completion can be indicated with results entered as "?", and date entered as the projected date of final reading.

The Datatrieve[®] system can sort and locate records by any of the fields. For example, locating all assays on a particular lot (Table 1), facilitates monitoring a component, or locating all results of a particular assay may reveal general production trends (Table 2). Tracing a component can be accomplished because of the links written into the unit records (Table 3).

5. Reports

The Datatrieve[®] system features "report writers" which assemble data to meet particular needs or areas of interest. A particular format is tailored to each user's needs. The current collection of data is reported so that particular needs are met without scanning extraneous

TABLE 1. Lot report

Lot-ID	Stage	Test	Result	Date
L820312	Harvest	CF	60	16-Mar-82
	After CFG	CF	60	16-Mar-82
	After inact.	CF	60	25-Mar-82
	Harvest	Steril	Pass	29-Mar-82
	After CFG	Steril	Pass	29-Mar-82
	After inact	Steril	Pass	7-Apr-82
	Inact 0 hr	Plaq	1.8x Log7	18-Mar-82
	Inact 1 hr	Plaq	2.0x Log6	18-Mar-82
	Inact 2 hr	Plaq	1.3x Log5	19-Mar-82
	inact 3 hr	Plaq	3.0x Log4	19-Mar-82
	Inact 4 hr	Plaq	2.0x Log3	22-Mar-82

TABLE 2. Test Report

Batch-ID	Stage	Test	Results	Date
B820615	AFT batch	CF	60	28-Jun-82
B820603	" "	CF	60	6-Jul-82
B820728	" "	CF	60	12-Jul-82
B820730	" "	CF	60	30-Jul-82
B820803	" "	CF	60	3-Aug-82
B820809	" "	CF	50	9-Aug-82
B820816	" "	CF	45	16-Aug-82
B820823	" "	CF	40	23-Aug-82
B820826	" "	CF	40	26-Aug-82
B820902	" "	CF	50	2-Sep-82
B820913	" "	CF	60	13-Sep-82
B820921	" "	CF	60	21-Sep-82
B820930	" "	CF	60	30-Sep-82

TABLE 3. Line flow of lots to end in vaccine on PIADC

ID number	Stage	Line test	Line result	Line end
L820305	AFT inact	Inact kin	Pass	To batch B820325
B820325	AFT batch	Innoc	Pass	To pool
		Steril	Pass	P820402
P820402	Pre conc	CF	60	To post
		Steril	Pass	Conc
P820402	Post conc	CF	2930	Stored
		Steril	Pass	LN2
P820402	Store LN2	CF	2930	To
		Stability	Pass	Serial
S820624	Serial test	Safety	Pass	To
		Potency	Pass	Final
		Steril	Pass	Vaccine
V830124	Vaccine	Steril	Pass	Ship
				830130

information. For example, the administrator can monitor the total doses on hand (Table 4). The emergency bottling staff is interested in exact storage location, doses and volumes (Table 5). The same database is thus customized.

TABLE 4. Dose report

Pool ID	Virus type	Calculated dose
Virus type and subtype	A ₂₄	
P820722		374,449
P820802		253,974
P820812		289,341
P820830		343,830
P820914		329,739
Calculated total	A ₂₄	Doses 1,591,333

DISCUSSION

Immediate access to data developed for the FMDV antigen in storage will save valuable moments which would be critical in emergency mobilization of a vaccine. In the meantime, the dynamic records provide rapid recognition of production trends, day-to-day recordkeeping, routine reports and an organized continuum of vaccine antigen production and assay procedure protocols.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors express their gratitude to Dr. J.H. Graves and Mr. Walter Harris for their excellent assistance.

TABLE 5. Pool report

Pools ID	Virus type	Date concentrated	Storage location	Volume liters	Calculated doses
P810917	O ₁	17-Sep-81	1-M32	6.3	87,433
P811221	O ₁	21-Dec-81	1-M33	7.6	133,495
P811228	O ₁	28-Dec-81	1-M34	6.5	53,930
P820113	O ₁	13-Jan-82	1-M35	7.5	78,954
P820121	O ₁	21-Jan-82	1-M36	8.8	83,840
P820211	O ₁	11-Feb-82	1-M37	9.3	145,324
P820225	O ₁	25-Feb-82	1-M38	10.3	234,438
P820315	O ₁	15-Mar-82	1-M39	7.7	98,638
P820325	O ₁	25-Mar-82	1-M40	8.3	138,987
P820401	O ₁	1-Apr-82	1-M41	9.2	238,143
P820428	O ₁	28-Apr-82	1-M42	10.2	194,297

REFERENCES

1. DUCHESNE, M., GUERCHE, J., LEGRAND, B., PROTEAU, M., COLSON, X. The use of highly concentrated purified (by a large scale method) and long term liquid nitrogen stored foot-and-mouth disease viruses for the preparation of vaccine: physicochemical quality controls and potency tests after storage. *Devel. Biol. Standard.* 50: 249-259. Skargen, Basel, 1982.
2. LEI, J.C. Introductory studies on the storage of PEG-concentrated antigens from formalin-treated crude harvests of FMDV. Report of the Session of the Research Group of the Studying Technical Committee of the European Commission for the Control of Foot-and-Mouth Disease. Tübingen, Germany, 29 Sep-1 Oct 1981. Food and Agric. of the UN, pp. 23-24, Rome, 1982.
3. REY, A.Z., BRUN, A. Conservation of antigenic and immunological properties of concentrated FMD virus after storage at -70°C. Report of the Session of the Research Group of the Studying Technical Committee of the European Commission for the Control of Foot-and-Mouth Disease. Tübingen, Germany, 29 Sep-1 Oct 1981. Food and Agric. Org. of the UN, pp. 28-29, Rome 1982.

resúmenes

abstracts

ANDERSON, E.C.

Texto en inglés. Investigación sobre enfermedades de animales salvajes y desarrollo económico. Procedimientos de un taller realizado en Kabete, Kenya, sept. 1980. 16-18, 1981. (*FMD Bull Wellcome* 21 (9): 82/81, 1982). [Department of Veterinary Services, Wellcome Institute for Research on Foot and Mouth Disease, P.O. Box 18021, Nairobi, Kenya]

Función del animal salvaje en la epidemiología de la fiebre aftosa en Kenya

Se examinaron 17 especies de animales salvajes para detectar anticuerpos contra el virus aftoso e intentóse aislar virus procedente de la garganta de estos animales. Se detectaron anticuerpos en siete especies y fue recobrado virus vivo de búfalos. En experimentos de exposición controlada en laboratorio, ninguna de las cuatro especies examinadas desarrolló signos clínicos de la enfermedad. Impala y animal salvaje hospedaron virus en la garganta sólo siete días y eland durante 32 días. El búfalo permaneció portador por un mínimo de 280 días tras exposición de laboratorio y por lo menos dos años tras exposición natural, pero falló el intento de transmitir la enfermedad a bovinos. Se llegó a la conclusión de que el búfalo es la única especie de animal salvaje probable de transmitir la fiebre aftosa a animales domésticos, pero para que la transmisión ocurra, sería necesario un contacto estrecho entre los animales.

The role of wildlife in the epidemiology of foot-and-mouth disease in Kenya

Seventeen wildlife species were surveyed for serum antibodies to foot-and-mouth disease virus and attempts made to isolate virus from the throats of these animals. Antibodies were detected in seven species and live virus was recovered from buffaloes. In controlled laboratory exposure experiments, none of the four species examined developed clinical signs of disease. Impala and wildebeest harboured virus in the throat for not more than seven days and eland for 32 days. Buffalo remained carrier for at least 280 days following laboratory exposure, and for at least two years following natural exposure, but an attempt to transmit the disease to cattle was unsuccessful. It is concluded that the buffalo is the only wildlife species in Kenya recognised as likely to be involved in the transmission of foot-and-mouth disease to domestic animals, but that close contact between the species would be necessary to allow transmission to occur.

ARAMBURU, H.G. & CHIALVO, E.J.

Texto en español. *Gac. Vet. (B.Aires)* 43: 133-145, 1981. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (7): 82/70, 1982). [Cátedra de Microbiología, Fac. Cienc. Vet., Universidad de Buenos Aires, Argentina]

Conservación de vacuna antiaftosa

Botellas desempaquetadas de vacuna antiaftosa se ajustaron rápidamente a varias temperaturas de ambiente. Cajas construidas con poliuretano de 18mm de espesor fueron eficaces en aislar la

Preservation of foot-and-mouth disease vaccine

Unpacked bottles of FMD vaccine were rapidly adjusted to various ambient temperatures. Boxes made from 18mm-thick polyurethane were efficient in insulating the vaccine under a variety

vacuna bajo una variedad de condiciones; siempre que hubieron bolsas refrigeradas dentro de la caja fue posible mantener la vacuna abajo de 15°C por un período de 36 horas. Las botellas de plástico demostraron ser mejores aislantes que las de vidrio. En la ausencia de cajas aislantes o refrigeradoras, la vacuna podría ser mantenida a 15°C hasta 5 horas en un pozo de agua a una profundidad de 7 metros. Tal sistema podría ser operado, por ejemplo, durante campañas de inoculación en el campo.

of conditions; provided that there were refrigerated bags inside the box, it was possible to keep the vaccine below 15°C for up to 36 hours. Bottles made of plastic proved to be better insulators than those made of glass. In the absence of refrigerators or insulating boxes, vaccine could be kept at 15°C for up to five hours in a water-well at a depth of 7 meters. Such a system could be operated, for example, during vaccination campaigns in the field.

BACHRACH, H.L., MORGAN, D.O., McKERCHER, P.D., MOORE, D.M., ROBERTSON, B.H.

Texto en inglés. *Vet. Microbiol.* 7: 85-96, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (8): 82/77, 1982). [Plum Island Animal Disease Center, Greenport, New York, 11944, U.S.A.]

Virus aftoso: inmunogenicidad y estructura de fragmentos derivados de la proteína VP3 del cápside y de virus conteniendo VP3 dividida

Se examinaron la proteína VP3 inmunogénica de la cepa A119 del virus aftoso y 13, 15 y 16 fragmentos kilodalton de VP3 obtenidos respectivamente por división de bromuro de cianógeno y tratamiento espontáneo de proteólisis y tripsina con respecto a la homología de aminoácido e inmunogenicidad. Vacunas compuestas de 100 µg de VP3 o fragmento péptido y adyuvante oleoso protegieron a cerdos contra desafío con virus virulento, aunque vacunas conteniendo el fragmento kilodalton 13 ó 15 no produjeron títulos de anticuerpos neutralizantes elevados. Virus con proteína VP3 del cápside dividido espontáneamente o por tripsina fue tan eficaz en cerdos como el virus sin tratar. Vacuna con 100 µg de VP3 o el producto kilodalton 13 y adyuvante oleoso protegió a bovinos contra el desafío. Liofilización anterior de VP3 debilitó la potencia de la vacuna. Secuencias aminoácidas de los 15 aminoácidos del terminal N del VP3 y los fragmentos kilodalton 13 y 15 mostraron homología entre VP3 y el péptido kilodalton 15, pero no el fragmento kilodalton 13, indicando que los determinantes inmunogénicos se encuentran localizados dentro de una región de superposición de los fragmentos kilodalton 13 y 15. Secuencia del cADN preparado al genoma vírico ARN situó esta región en el segundo y tercer cuartos de VP3.

Foot-and-mouth disease virus: immunogenicity and structure of fragments derived from capsid protein VP3 and of virus containing cleaved VP3

The immunogenic protein VP3 of foot-and-mouth disease virus strain A119 and 13, 15 and 16 kilodalton fragments of VP3 obtained respectively by cyanogen bromide cleavage, spontaneous proteolysis and trypsin treatment were examined for immunogenicity and amino acid homology. Vaccines composed of 100 µg of VP3 or peptide fragment and oil adjuvant protected swine against challenge with virulent virus, although vaccines containing either the 13 or 15 kilodalton fragment did not induce high neutralising antibody titers. Virus with capsid protein VP3 cleaved spontaneously or by trypsin was as potent in swine as untreated virus. Vaccine incorporating 100 µg of VP3 or the 13 kilodalton product and oil adjuvant protected cattle against challenge. Prior lyophilization of VP3 impaired the potency of the vaccine. Amino acid sequences of the 15 amino acids at the N-termini of VP3 and the 13 and 15 kilodalton fragment showed homology between VP3 and the 15 kilodalton peptide but not the 13 kilodalton fragment, indicating that the immunogenic determinants are located within an overlap region of the 13 and 15 kilodalton fragments. Sequencing of cDNA prepared to viral genome RNA placed this region in the second and third quarters of VP3.

BARTELING, S.J., WAGENAAR, F., GIELKENS, A.L.J.

Texto en inglés. *J. gen. Virol.* 62 (2): 357-361, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (11): 82/106, 1982). [Virology Department, Central Veterinary Research Institute, Houtribweg 39, 8221 RA Lelystad, Netherlands]

La proteína vírica (VP₁) estructural cargada positivamente de virus aftoso (tipo O₁) contiene una parte altamente básica que podría estar implicada con las primeras interacciones virus-célula

Fueron analizados polipéptidos de variantes resistentes a la tripsina de la cepa de virus aftoso O₁ BFS 1860 (OTR) mediante electroenfoque y electroforesis en gel de doble dimensión. Contrario al virus paterno, la tripsinización de estas variantes no redujo su infectividad ni su habilidad para acoplarse a células susceptibles, aunque VP₁ fue dividida como en el virus paterno. En un aislamiento clonado, OTR₁, se encontró un polipéptido adicional, VP_A, con un peso molecular aproximado de 31K que se parecía a VP₁ (28K) en que estaba cargada positivamente y dividida por tripsina en un polipéptido 18K neutral (P18) y un fragmento 6K fuertemente básico (P6). Estos descubrimientos apoyan la hipótesis que VP_A es VP₁, alargada al final del terminal C. De estudios cADN sobre el aislamiento estrechamente relacionado con O₁ Kaufbeuren se notó que una mutación de punto único crearía un lugar de división alternativa 25 aminoácidos hacia abajo. Fragmentos P18 procedentes de virus paterno y de virus de progenie OTR se concentraron a idéntico pH, pero fragmentos P6 de variantes OTR fueron todavía más cargados positivamente que P6 del virus paterno. La diferencia en carga podría ser responsable del acoplamiento celular retenido de los virus OTR tripsinizados.

The positively charged structural virus protein (VP₁) of foot-and-mouth disease virus (type O₁) contains a highly basic part which may be involved in early virus-cell interaction

Polypeptides of trypsin-resistant variants of foot-and-mouth disease virus strain O₁ BFS 1860 (OTR) were analysed by electrofocusing and two-dimensional gel electrophoresis. Unlike the parent virus, trypsinisation of these variants did not reduce their infectivity and their ability to attach to susceptible cells, although VP₁ was cleaved as in the parent virus. In one cloned isolate, OTR₁, an additional polypeptide, VP_A, with an approximate molecular weight of 31K was found which resembled VP₁ (28K) in being positively charged and cleaved by trypsin into a neutral 18K polypeptide (P18) and a strongly basic 6K fragment (P6). These findings support the hypothesis that VP_A is VP₁, elongated at the C terminal end. From cDNA studies on the closely related isolate O₁ Kaufbeuren it was noted that a single point mutation would create an alternative cleavage site 25 amino acids downstream. P18 fragments from parent and OTR progeny viruses focused at identical pH, but P6 fragments of OTR variants were even more positively charged than P6 of the parent virus. This difference in charge may be responsible for the retained cell attachment ability of trypsinised OTR viruses.

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

Texto en inglés. *Vet. Rec.* 110 (15): 357-358, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 23 (4): 32/38, 1982). [Veterinary Investigations Centre, Quarry Dene, Weetwood Lane, Leeds, England]

Contrainmunolectroforesis en el diagnóstico y vigilancia serológica de la enfermedad vesicular del cerdo

Ha sido comparada la prueba contrainmunolectroforesis (CIEPT) con las pruebas de seroneutralización y de inmunodifusión doble para

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

The counter immunoelectrophoresis test (CIEPT) has been compared with serum neutralization and double immunodiffusion tests for the

el diagnóstico y vigilancia serológica de la enfermedad vesicular del cerdo. Se utilizaron dos grupos de sueros en la comparación; probáronse a ciegas un grupo de 908 sueros por CIEPT y el otro grupo (778 sueros) consistía de muestras de campo procedentes de establecimientos infectados y sospechosos. En general, las pruebas CIEPT y de inmunodifusión doble resultaron menos sensibles que las de seroneutralización. Sin embargo, la sensibilidad de CIEPT podría ser aumentada ampliando el tamaño de las cavidades serológicas en el gel a 3mm de diámetro. En general, la CIEPT era realizada fácilmente y dio resultados en menos de dos horas. También era económica en el uso de reagentes. De los 1686 sueros examinados no se detectaron resultados falso-positivos.

diagnosis and serological surveillance of swine vesicular disease. Two groups of sera were used in the comparison; a group of 908 sera was tested blind by CIEPT and the other group (778 sera) comprised field samples from infected and suspect premises. Overall, CIEPT and double immunodiffusion were less sensitive than serum neutralisation. However, the sensitivity of CIEPT could be improved by increasing the size of the serum wells in the gel to 3mm diameter. In general, the CIEPT was simple to perform and gave results within two hours. It was also economical in the use of reagents. No false-positive results were detected out of the 1686 sera tested.

BITTLE, J.L., HOUGHTEN, R.A., ALEXANDER, H., SHINNICK, T.M., SUTCLIFFE, J.G., LERNER, R.A. ROWLANDS, D.J., BROWN, F.

Texto en inglés. *Nature* 298 (5869): 30-33, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (7): 82/67, 1982). [Research Institute of Scripps Clinic, La Jolla, California 92037, U.S.A.]

Protección contra la fiebre aftosa por inmunización con un péptido sintetizado químicamente pronosticado desde la secuencia nucleótida vírica

Se sintetizaron siete péptidos procedentes de la proteína VP₁ del virus aftoso, cepa O₁ Kaufbeuren, correspondientes a distintas regiones de la molécula, unidos a hemocianina de lapa (keyhole limpet) e inoculados en conejos. Fue elicitada una respuesta de anticuerpo neutralizante vírico por los péptidos en la región media y al término-carbóxido de la molécula, o sea las regiones 141-160 y 200-213. Luego se inocularon cobayos con conjugados péptidos. Los resultados demostraron la efectividad del péptido 141-160 en producir anticuerpo neutralizante y protección contra infección por desafío a los 35 días después de inoculación. La respuesta de anticuerpo fue mucho más alta que aquella a una cantidad parecida de VP₁ preparada por electroforesis en gel de poli(acrilamida) SDS. Trabajo preliminar en bovinos y cerdos indicó que el péptido sintético 141-160 podía inducir una respuesta de anticuerpo suficiente para proteger contra la enfermedad.

Protection against foot-and-mouth disease by immunization with a chemically synthesized peptide predicted from the viral nucleotide sequence

Seven peptides from the VP₁ protein of foot-and-mouth disease virus strain O₁ Kaufbeuren, corresponding to different regions of the molecule, were synthesized, coupled to keyhole limpet haemocyanin and inoculated into rabbits. A virus neutralizing antibody response was elicited by the peptides in the middle region and at the carboxy-terminus of the molecule, i.e. those spanning regions 141-160 and 200-213. Guinea pigs were then inoculated with the peptide-conjugates. The results demonstrated the effectiveness of peptide 141-160 in producing neutralizing antibody and protecting against challenge infection at 35 days after inoculation. The antibody response was much higher than that to a similar amount of VP₁ prepared by SDS-polyacrylamide gel electrophoresis. Preliminary work in cattle and pigs indicated that the synthetic peptide 141-160 could induce an antibody response sufficient to protect against the disease.

BLACKWELL, J.H., RICKANSRUD, D., McKERCHER, P.D., McVICAR, J.W.

Texto en inglés. *J. Food Sci.* 47: 388-392, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (8): 82/72, 1982). [Plum Island Animal Disease Center, Greenport, New York, 11944, U.S.A.]

Efecto del proceso termal sobre la sobrevivencia del virus aftoso en la carne molida

Se estudiaron los procesos de la cocina comercial sobre la sobrevivencia del virus aftoso tipo O₁ en tejidos de ganado infectado y en productos de carne molida conteniendo estos tejidos. El virus sobrevivió en tejidos de ganglio linfático calentado durante 2 horas a 69°C, por 1 hora pero no por dos horas a 82°C y por 15 minutos y no por 30 minutos a 90°C. La incorporación de 1% de cloruro de sodio a suspensiones de ganglios linfáticos infectados intensificó la sobrevivencia de virus después de calentar por 30 minutos, pero no 1 hora a 90°C. El virus no sobrevivió ni en la carne molida de vaca ni en albóndigas contaminadas con tejido de ganglio linfático infectado, al ser procesada a temperaturas internas superiores de 93,3°C utilizando procedimientos de proceso termal comerciales.

Effect of thermal processing on the survival of foot-and-mouth disease virus in ground meat

The effects of commercial cooking processes on the survival of a type O₁ foot-and-mouth disease virus in tissues from infected cattle and in ground meat products containing these tissues were studied. Virus survived in lymph node tissues heated for 2 hours at 69°C, for 1 hour but not for 2 hours at 82°C and for 15 minutes, but not 30 minutes at 90°C. The incorporation of 1% sodium chloride into suspensions of infected lymph nodes enhanced viral survival after heating for 30 minutes but not 1 hour at 90°C. Virus did not survive in either ground beef or meatballs contaminated with infected lymph node tissue, when processed to internal temperatures in excess of 93.3°C using commercial thermal processing procedures.

BURROWS, R., MAN, J.A., GARLAND, A.J.M., GREIG, A., GOODRIDGE, D.

Texto en inglés. *J. comp. Path.* 91 (4): 599-609, 1981. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (1): 82/1, 1982). [Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England]

La patogénesis de la infección aftosa natural y simulada en ganado

Han sido investigadas las primeras etapas de localización de virus aftoso y su multiplicación en bovinos por medio de muestra secuencial procedente de la faringe y mediante titulaciones de tejido tras sacrificio de los animales. Fue recobrado virus de la faringe de 30 de 37 bovinos expuestos por contacto directo o indirecto o a aerosoles víricos durante uno o más días antes de la detección de viremia. En comparación con otras regiones, sólo fueron recobradas pequeñas cantidades de virus de la mucosa nasal de 4 de 14 animales sacrificados antes del comienzo de la viremia y de 6 de 12 animales virémicos. Es probable que la mucosa nasal sea un lugar secundario y no primario del desarrollo vírico. Las

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

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

cantidades de virus recobradas de la tráquea, bronquios y pulmones no fueron suficientes para sugerir desarrollo vírico en el tracto respiratorio inferior. Se recobraron cantidades relativamente grandes de virus de tejidos linfoides y mucosa de la región faríngea. Estos resultados apoyaron la opinión de que la trayectoria principal de entrada de virus y el lugar de infección primaria se encontraban en la región faríngea.

not sufficient to suggest virus growth in the lower respiratory tract. Relatively large amounts of virus were recovered from the mucosae and lymphoid tissues of the pharyngeal region. These findings supported the view that the main pathway of virus entry and the site of primary infection was in the pharyngeal region.

CLARKE, J.B.

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

La susceptibilidad de las células BHK a infección con distintas cepas de virus aftoso

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

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

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

COUDERT, M., FEDIDA, M., BLANCOU, J., ANDRAL, L., SILVA CRISPIM, L.

Texto en francés. *Recl. Med. vet.* 157 (10): 717-723, 1981. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (10): 82/98, 1982). [Laboratoire nationale de pathologie bovine, B.P. 33, 69342 Lyon Cedex. France]

Estudio cinético de las reacciones humorales en bovinos inoculados contra la rabia y la fiebre aftosa

Fueron estudiados los niveles de anticuerpos contra virus de la rabia y de la fiebre aftosa, durante un período de 800 días, en bovinos que habían recibido vacuna contra la rabia, vacuna antiaftosa o una vacuna combinada. Se estudiaron animales con historia anterior de vacunación y animales que no habían sido inoculados previamente. La protección conferida por la vacuna mixta no parecía distinta a la clase de protección, dada por la vacuna contra la rabia o la antiaftosa administrada por sí sola. Se concluye que para preservar un nivel de formación de anticuerpos suficiente es necesario reinocular a intervalos constantes.

Kinetic study of the humoral reactions in cattle vaccinated against rabies and foot-and-mouth disease

The antibody levels to rabies and foot-and-mouth disease viruses were studied over 800 days in cattle which received either a rabies vaccine, a foot-and-mouth disease vaccine or a combined vaccine. Animals with a previous vaccination history and animals which had not been previously vaccinated were studied. The protection conferred by the mixed vaccine did not appear to differ from that provided by either the rabies or the foot-and-mouth disease vaccine alone. It is concluded that revaccination at regular intervals is required to preserve a sufficient and steady level of antibody formation against both diseases.

DOEL, T.R. & COLLEN, T.

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

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

Se examinó una serie de preparaciones víricas aftosas con relación a proteólisis de la proteína vírica VP₁. Generalmente, la degradación de VP₁ fue observada solamente en preparaciones víricas concentradas que habían sido conservadas a 4°C. La adición del inhibidor de enzima proteolítica Trasylol o 1% de suero de buey a los concentrados inhibieron la proteólisis de VP₁ en algunas preparaciones. El tratamiento de la cepa O₁BFS 1860 con una gama de enzimas mostró que la división VP₁ estaba siempre asociada con una reducción en la potencia en cobayos de vacuna preparada del virus. Fueron obtenidos resultados parecidos con otras seis cepas de virus tratadas con tripsina.

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

A range of foot-and-mouth disease virus preparations have been examined for proteolysis of the viral protein VP₁. In general, degradation of VP₁ was observed only in concentrated virus preparations which had been stored at 4°C. The addition of the proteolytic enzyme inhibitor Trasylol or 1% ox serum to the concentrates inhibited the proteolysis of VP₁ in some preparations. Treatment of the O₁BFS 1860 strain with a range of enzymes showed that cleavage of VP₁ was always associated with a reduction in potency in guinea pigs of vaccine prepared from the virus. Similar results were obtained with six other virus strains treated with trypsin.

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

Texto en inglés. *J. Biol. Stand.* 10: 185-195, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (9): 82/87, 1982). [Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England]

Elución de virus aftoso procedente de vacunas con adyuvante de hidróxido de aluminio y con saponina

Fue examinada la elución de distintas cepas de virus aftoso procedentes de vacunas acuosas formuladas convencionalmente, con particular referencia a los efectos de la saponina sobre el proceso de elución. También se estimó el grado de agregación o degradación del virus elucido con el objeto de determinar recuperaciones generales de virus procedente de la vacuna. Pudo recobrase hasta 70% de las partículas 146S de la mayoría de las cepas de las vacunas adsorbidas por hidróxido de aluminio, libres de saponina, mediante elución con 0,3M de fosfato a 7,6 pH. Aparte de una cepa, el virus no elució en forma agregada o degradada. La presencia de saponina en la vacuna inhibió la elución de partículas 146S o 75S en distintos grados. El número de recuperaciones de algunas cepas procedentes de vacunas conteniendo saponina, sería probablemente suficiente para representar una muestra estadística con relación a la prueba de inocuidad, pero los niveles, frecuentemente pobres de recuperación en cuanto a algunas cepas, considerarían el procedimiento de dudoso valor en cuanto a pruebas de inocuidad para vacunas.

The elution of foot-and-mouth disease virus from vaccines adjuvanted with aluminium hydroxide and with saponin

The elution of different strains of foot-and-mouth disease virus from conventionally formulated aqueous vaccines was examined with particular reference to the effect of saponin on the elution process. The degree of aggregation or degradation of the eluted virus was also assessed in order to determine overall recoveries of virus from the vaccine. Up to 70% of 146S particles of most strains could be recovered from saponin-free, aluminium hydroxide-adsorbed vaccines by elution with 0.3M phosphate at pH 7.6. Apart from one strain, the virus did not elute in a degraded or aggregated form. The presence of saponin in the vaccine inhibited elution of 146S or 75S particles to varying extents. Recoveries of some strains from saponin-containing vaccines would probably be sufficient for a statistically representative sample for innocuity testing, but the often poor levels of recovery for some strains would make the procedure of doubtful value for innocuity testing of vaccines.

DUBRA, M.S., LA TORRE, J.L., LEBENDIKER, M., SCODELLER, E.A., VAZQUEZ, C., BASARAB, O.

Texto en inglés. Trabajo presentado a la decimo-sexta Conferencia OIE FMD Com., Paris, 14-17 septiembre, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (11): 82/109, 1982). [Centro de Virología Animal, Serrano 661, 1414 Capital Federal, Argentina]

Inactivación de virus aftoso mediante activación de endonucleasa asociada al virión

Ha sido desarrollado un proceso de inactivación para virus aftoso basado en la activación de endonucleasa asociada al virión. Se demostró que el cápside vírico es impermeable a nucleasas externas y tratamiento con detergente, que suprimió la actividad nucleolítica externa, no afectó la degradación del ARN vírico. Se concluyó que la nucleasa está localizada dentro del virión. Análisis de las

Inactivation of FMD virus by activation of virion-associated endonuclease

An inactivation process for foot-and-mouth disease virus has been developed based on the activation of virion-associated endonuclease. It was demonstrated that the virus capsid is impermeable to external nucleases and detergent treatment, which removed external nucleolytic activity, did not affect the degradation of viral RNA so it was concluded that the nuclease is located within

proteínas víricas indicaron que la actividad de la nucleasa no estaba asociada con las proteínas del cápside. Las condiciones para activación de la nucleasa fueron optimizadas; incubación a 37°C a altas concentraciones de iones monovalentes a pH alcalino. Se observó una curva de inactivación de primer orden, con una vida media de infectividad de 18,1 minutos al ser estudiadas las cepas de virus de tipos O, A, C, SAT 1 y SAT 2. Una vacuna formulada con antígeno inactivado de endonucleasa fue tan eficaz en bovinos cuanto el antígeno inactivado con AEI, permaneciendo los antígenos estables a 4°C por un período mínimo de seis meses.

the virion. Analysis of viral proteins indicated that the nuclease activity was not associated with the capsid proteins. The conditions for activation of the nuclease were optimised; incubation at 37°C at high concentrations of monovalent ions at alkaline pH. A first-order inactivation curve was observed, with a mean infectivity half-life of 18.1 minutes when virus strains of types O, A, C, SAT 1 and SAT 2 were studied. A vaccine formulated from endonuclease inactivated antigen was as potent in cattle as AEI-inactivated antigen and the antigens were shown to remain stable at 4°C for at least six months.

DUBRA, M.S., LA TORRE, J.L., SCODELLER, E.A., DENOYA, C.D., VAZQUEZ, C.

Texto en inglés. *Virology* 116 (1): 349-353, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (7): 82/69, 1982). [Centro de Virología Animal, Serrano 661, 1414 Capital, Argentina]

Núcleos en virus aftoso

Viriones de fiebre aftosa fueron disociados con acetato de amoníaco y observados con un microscopio electrónico. Los productos principales de desmontaje vírico eran subunidades víricas 12S o núcleos. Los núcleos aparecían como estructuras esféricas y eran relativamente inestables al ser propagados, congelados o descongelados o al ser tratados a bajo pH. Al añadirse sulfato dextrano a la incubación fue posible analizar los núcleos mediante ultracentrifugación sobre gradientes de glicerol. Los núcleos sedimentaron a 45S pero grandes cantidades de estructuras filamentosas, posiblemente núcleos desdoblados, también fueron encontrados a índices de sedimentación más bajos. Los resultados indicaron que los núcleos estaban formados predominantemente por ARN genómico doblado en una configuración compacta esférica.

Cores in foot-and-mouth disease virus

Foot-and-mouth disease virions were dissociated with ammonium acetate and observed with an electron microscope. The major products of viral disassembly were 12S viral subunits or skullcaps and cores. Cores appeared as spherical structures and were relatively unstable upon spreading, freezing and thawing or on treatment at low pH. When dextran sulphate was added to the incubation mixture, it was possible to analyse the cores by ultracentrifugation on glycerol gradients. The cores sedimented at 45S but large amounts of filamentous structures, possibly unfolded cores, were also found at slower rates of sedimentation. The results indicated that cores were predominantly formed by genomic RNA folded in a compact spherical configuration.

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

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

Uso de virus aftosos altamente concentrados, purificados (por un método a gran escala) y conservados en nitrógeno líquido a largo plazo para

The use of highly concentrated purified (by a large scale method) and long term liquid nitrogen stored foot-and-mouth disease viruses for the preparation

la preparación de vacunas: control sobre calidad físico-química y pruebas de potencia tras conservación

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

of vaccines: physico-chemical quality controls and potency tests after storage

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

FARID, A., REDA, I., MOUSSA, A.A.M., DAOUD, A.

Texto en inglés. *J. Egypt. vet. med. Ass.* 39 (1): 45-55, 1979. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (2): 82/14, 1982). [Faculty of Veterinary Medicine, Cairo University, Cairo, Egypt]

Efectos de distintos inactivantes químicos sobre la antigenicidad e infectividad del virus aftoso

Se estudiaron los efectos de formaldeído (0,05%), acetil-etileneimina (0,05%), beta-propiolactona (0,05%) e hidroxilamina (0,25M) sobre la infectividad y antigenicidad de la cepa Egipto O₁/2/72 de virus aftoso. Formaldeído no inactivó completamente el virus ni siquiera después de 96 horas a 26°C. La acetil-etileneimina a 37°C, beta-propiolactona a 26°C e hidroxilamina a 23°C inactivaron completamente el virus después de 8, 7 y 6 horas, respectivamente. Los resultados de pruebas de fijación del complemento indicaron que la inactivación química del virus no alteraba de forma significativa su antigenicidad. Pruebas de precipitación en gel de agar mostraron que no existían cambios en el contenido antígeno 140S de preparaciones inactivadas por las distintas sustancias químicas.

The effect of different chemical inactivators on the antigenicity and infectivity of FMD virus

The effect of formaldehyde (0.05%), acetyl-ethyleneimine (0.05%), beta-propiolactone (0.05%), and hydroxylamine (0.25M) on the infectivity and antigenicity of the O₁/2/72 Egypt strain of foot-and-mouth disease virus was investigated. Formaldehyde did not completely inactivate the virus even after 96 hours at 26°C. Acetyl-ethyleneimine at 37°C, beta-propiolactone at 26°C and hydroxylamine at 23°C inactivated the virus completely after 8, 7 and 6 hours respectively. The results of complement fixation tests indicated that chemical inactivation of the virus did not significantly alter its antigenicity. Agar gel precipitation tests showed that there were no changes in the 140S antigen content of preparations inactivated by the various chemicals.

GIMENO, E.J., CAGGIANO, C.H., VILCHES, A.M., TKACIK, E.

Texto en español. Trabajo presentado en la Décimosexta Conferencia OIE FMD Comm., Paris, 14-17 septiembre 1982. p.183-186. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (10): 82/96, 1982). [Servicio de Luchas Sanitarias (SELSA) Secretaría de Estado de Agricultura y Ganadería, República Argentina]

Aplicación experimental en el campo de vacuna oleosa en la República Argentina

Se llevó a cabo una prueba de campo en Hipólito Yrigoyen, provincia de Buenos Aires, Argentina, para comparar una vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso administrada a intervalos de seis meses y una vacuna de hidróxido de aluminio-saponina aplicada cada cuatro meses. La zona tenía una población estimada en 160.000 bovinos, 26.000 ovinos y 12.000 porcinos. A las 2 vacunas se designaron dos áreas bien definidas y ambas fueron sometidas a un estricto control y estrecha vigilancia. El programa de inoculación de las vacunas estuvo a cargo del personal federal y se hizo un minucioso estudio de cada brote para aislar e identificar los agentes víricos. Durante el período de estudio de cinco años, se comprobó una incidencia anual de brotes más baja y una morbilidad general más baja en la zona donde estaba en uso la vacuna oleosa que en las zonas controladas utilizando la vacuna saponinada.

Experimental field application of oil-adjuvanted FMD-vaccine in Argentina

A field trial was undertaken in Hipolito Yrigoyen province of Buenos Aires in Argentina, to compare an oil adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine administered at six-monthly intervals and an aluminium hydroxide-saponin vaccine administered every four months. The area contained an estimated population of 160,000 cattle, 26,000 sheep and 12,000 swine. Two comparable well defined areas were assigned to the two vaccines and both were subject to strict control and surveillance. Management of the programme and inoculation of the vaccines were by federal personnel, and a thorough study of each outbreak was made to isolate and identify the viral agents. Over the five year period of the study there was a lower annual outbreak incidence and a lower general morbidity rate in the area where oil vaccine was in use than in the control areas where the saponinated vaccine was used.

HUBIK, R., KADLEC, M., LAZNICKA, F., VODICKA, K.

Texto en francés. Trabajo presentado a la Décimosexta Conferencia OIE FMD Com., Paris, 14-17 septiembre, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (11): 82/103, 1982). [Bioveta, n.e.; Terezin, Checoslovaquia]

Experiencias en la producción de vacunas antiaftosas concentradas y purificadas, fabricadas en Checoslovaquia bajo licencia del Laboratorio Roger Bellon

Entre 1978-1981 la vacuna antiaftosa ha sido producida por Bioveta, en Terezín, Checoslovaquia, bajo licencia de los Laboratorios Roger Bellon, Francia. Se produjeron con éxito 154 cultivos de virus, utilizando tecnología de células BHK en suspensión a escala 1500L. Las producciones medias del antígeno 146S fueron de 1,67, 1,46 y 1,36 $\mu\text{g/ml}$ de los tipos O, A y C respectivamente. Los antígenos fueron tratados con óxido

Experiences in the production of concentrated and purified foot-and-mouth disease vaccine manufactured in Czechoslovakia under licence from Roger Bellon Laboratory

Between 1978-1981 foot-and-mouth disease vaccine has been produced by Bioveta, in Terezin, Czechoslovakia, under licence from Roger Bellon Laboratories, France. There were 154 successful virus cultures, using BHK suspension cell technology at the 1500L scale. Mean 146S antigen yields were 1.67, 1.46 and 1.36 $\mu\text{g/ml}$ of types O, A and C respectively. The antigens were treated with polyethylene oxide, effecting a 1000-fold

polietileno, efectuando una concentración de 1000-veces y suprimiendo 98% de las proteínas no específicas e inactivados con glicidaldehído. Al obtenerse un resultado positivo de la prueba de inocuidad de cultivo de tejido (10/131, y nada desde 1980), el antígeno fue reactivado, sin efecto perjudicial sobre el inmunógeno. Fueron preparadas vacunas trivalentes en gel de hidróxido de aluminio y saponina, conteniendo por lo menos 5,6, 2,8 y 2,8 μg dosis del antígeno 146S de los tipos O, A y C respectivamente. Trás las preparaciones se realizaron pruebas de control con relación a inocuidad, potencia, esterilidad y propiedades bioquímicas hallándose la vacuna dentro de las normas de control del Estado para preparaciones biológicas.

concentration and removing 98% of no-specific proteins, and inactivated with glycidaldehyde. When a positive tissue culture innocuity test result was obtained (10/131, and none since 1980), the antigen was reactivated, which had no deleterious effect on the immunogen. Trivalent, saponin aluminium hydroxide gel vaccines were prepared, containing at least 5.6, 2.8 and 2.8 μg 146S antigen/dose of types O, A and C respectively. After filling, control tests for innocuity, potency, sterility and biochemical properties were carried out, and the vaccine met the state control standards for biological preparations.

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

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

Aplicación de análisis de RNase T₁ mono y bidimensional a la identificación rápida de virus aftoso

Se describe el análisis de varios aislamientos de virus aftoso de trascendencia epizootiológica actual mediante "fingerprinting" por RNase T₁ del ARN marcado-³²P. El uso del ARN 35S inducido en vez de la partícula ARN de virus fue ventajoso porque es incorporado 40 veces más radioactividad al ARN inducido y además el ARN puede prepararse con mayor rapidez, aumentando de ese modo el valor de la técnica en el diagnóstico rápido. Mapas de una dimensión, en los cuales los oligonucleótidos RNase T₁ son separados de acuerdo con el tamaño, han mostrado proporcionar un método analítico muy valioso para distinguir los virus. Los virus que proporcionaron mapas monodimensionales parecidos también dieron mapas bidimensionales iguales. Se están considerando las ventajas del uso de la longitud del tracto de ácido policitidílico del virus como un instrumento para diagnóstico.

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

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

LOMBARD, M. & PETER, H.G.

Texto en alemán. *Tierarztl. Umsch.* 37: 354-356, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (7): 82/64, 1982). [IFFA/Merieux, 254 rue Marcel Merieux, F-69007 Lyon, France]

Correlación entre ELISA y seroneutralización para titulación de anticuerpos neutralizantes de virus aftoso en suero de bovino

Se realizó una prueba inmunosorbente ligada a enzima usando discos de papel para sujetar el antígeno, para detectar anticuerpos contra el virus aftoso en el suero de bovinos inoculados y para examen de la especificidad de los anticuerpos con relación al tipo y subtipo. La prueba fue sencilla, rápida y de confianza. Dicha prueba permitió que los títulos de anticuerpos séricos fuesen expresados en unidades equivalentes de seroneutralización por ml por medio de una regresión obtenida de la prueba de seroneutralización convencional en cultivo celular. En pruebas sobre muestras de suero de 51 bovinos, las pruebas de seroneutralización y ELISA dieron resultados similares.

Correlation between ELISA and serum neutralization for titration of foot-and-mouth disease virus neutralizing antibodies in cattle sera

An enzyme-linked immunosorbent assay using paper discs to hold the antigen was developed for the detection of antibodies to foot-and-mouth disease virus in the serum of vaccinated cattle and for examination of the specificity of the antibodies with regard to type and subtype. The test was simple, rapid and reliable. It enabled serum antibody titers to be expressed in serum neutralization equivalent units per ml by means of a regression obtained from the conventional serum neutralization test in cell culture. In tests on serum samples from 51 cattle, the serum neutralization test and ELISA gave analogous results.

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

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

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

Se ha investigado la reacción de anticuerpos de cerdos a la vacunación primaria y a repeticiones con vacuna antiaftosa e identificadas las clases de anticuerpos implicados. Fueron inoculados grupos de cerdos con vacuna con adyuvante oleoso y reinoculados a los 21 ó 148 ó 106 días más tarde. Los niveles de los títulos permanecieron relativamente elevados hasta la revacunación. Se tomaron muestras de suero periódicamente siendo fraccionadas en elementos pesados y ligeros sobre gradientes de densidad de sucrosa. La fracción más pesada contenía IgM y la fracción más ligera IgG e IgA. Se detectaron anticuerpos neutralizantes por primera vez a los 8 días después de la inoculación inicial alcanzando su punto más alto entre los 14 y 21 días. Los títulos permanecieron a un nivel relativamente alto hasta la revacunación. A los 8 días fue atribuido anticuerpo neutralizante

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

The humoral antibody response of pigs to primary and repeat vaccinations with foot-and-mouth disease vaccine has been investigated and the antibody classes involved identified. Groups of pigs were inoculated with oil-adjuvanted vaccine and revaccinated at either 21 or 148 or 106 days later. Serum samples were taken periodically and fractionated into heavy and light elements on sucrose density gradients. The heavier fraction contained IgM and the lighter fraction IgG and IgA. Neutralising antibodies were first detected at 8 days following initial inoculation and reached a peak between 14 and 21 days. The titres remained at relatively high levels until revaccination. Neutralising antibody at 8 days was attributed to IgM but by 10 to 14 days, both IgM and IgG were involved. At 35 days and later after a single vaccination,

a IgM pero a los 10 hasta los 14 días tanto IgM como IgG se encontraban presentes. A los 35 días y más tarde, después de una sola inoculación, toda la actividad neutralizante en el suero fue debida a IgG. La revacunación resultó en un aumento de todos los títulos neutralizantes séricos y, en cada caso, se acusó la presencia tanto de IgM como IgG.

all the neutralising activity in the sera was due to IgG. Revaccination resulted in rise in the whole serum neutralising titres and in each case both IgM and IgG class antibodies were involved.

PAVEZ, M.M., ANSELMO, F.P., PONTE, Z.F.

Texto en español. Arq. Esc. Vet. Univ. Fed. Minas Gerais. 33: 455-466, 1981. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (9): 82/90, 1982). [Divisão de Vigilancia Zoonositaria - SDSA/SNAD/MA, Brasil]

Prevalencia de bovinos reactivos al antígeno VIA en el Territorio Federal de Roraima, Brasil

Se realizó una encuesta en 150 haciendas en el Territorio Federal de Roraima, Brasil, durante mayo y junio de 1978 para determinar la prevalencia de antígeno VIA en sueros bovinos. En total, 41% de las haciendas poseía bovinos reactivos. Habían muchos más rebaños afectados en el Estrato 2 de la región (58%) que en los Estratos 1 y 3 (32% y 38% respectivamente). Trece por ciento de los animales examinados en el Estrato 2 resultaron positivos, en comparación con 8% en los Estratos 1 y 3. Tomando como base la incidencia de animales reactivos de 4 a 12 meses de edad, se concluye que el porcentaje de infección con fiebre aftosa durante el año anterior fue por lo menos de 3% y que la enfermedad es enzootica en toda la región.

Prevalence of bovine sera positive to VIA antigen in the Federal Territory of Roraima, Brazil.

A survey was carried out on 150 farms in the Federal Territory of Roraima, Brazil, during May and June 1978 to determine the prevalence of VIA antigen in bovine sera. Overall, 41% of farms possessed reactor cattle. There were significantly more affected herds in Strato 2 of the region (58%) than in Stratos 1 and 3 (32% and 38% respectively). Thirteen percent of animals examined in Strato 2 were positive, compared with 8% in Stratos 1 and 3. Based on the incidence of reactor animals aged between 4 and 12 months it is concluded that the percentage of infection with foot-and-mouth disease in the previous year was at least 3% and that the disease is enzootic throughout the region.

PERALTA, E.A., CARPENTER, T.E., FARVER, T.B.

Texto en español. *Prev. Vet. Med.* 1: 27-36, 1982. [Pan American Health Organization, Caracas, Venezuela]

La aplicación del análisis de series de tiempo para determinar el modelo de la fiebre aftosa en Paraguay

Se examinó la distribución temporal de la fiebre aftosa en bovinos en Paraguay por medio del análisis de series de tiempo. El análisis de tiempo es un método usado para eliminar datos irregulares que podrían complicar el análisis y puede ser usado para identificar el factor tendencia, el factor cíclico y el factor estacional.

The application of time series analysis to determine the pattern of foot-and-mouth disease in cattle in Paraguay

The temporal distribution of foot-and-mouth disease in cattle in Paraguay from 1972 to 1979 was examined using time series analysis. Time series analysis is an approach used to remove data irregularities which may complicate data analysis and may be used to identify the trend factor, the cyclical factor and the seasonal factor. The trend

La tendencia de 1972 a 1979 mostró un ligero aumento sobre el período anterior, demostrando que la enfermedad persistirá si las circunstancias continúan las mismas. El componente estacional también fue observado. Este estaba probablemente más relacionado con el programa de vacunación, cuando hay más personal en el campo para observar la enfermedad y este único factor podría ocasionar una variación estacional aparente. Durante el período ocurrieron 2 ciclos importantes de la enfermedad a 3-4 años de frecuencia debidos principalmente al virus tipo O, y ocurrió un pico secundario causado por un brote esporádico de virus tipo C. El análisis de tiempo podría ser usado para evaluar el modelo temporal de otras enfermedades, además de la fiebre aftosa, y ayudar en los programas de control.

from 1972 to 1979 showed a slight increase over the period, implying that the disease will persist if the circumstances remain the same. A seasonal component was also observed. This was most likely to be related to the vaccination programme, when more personnel are in the field to observe the disease, and this factor alone could cause the apparent seasonal variation. During the period, two major disease cycles at three to four year frequency occurred, predominantly due to type O virus, and there was also a secondary peak, caused by a sporadic outbreak due to type C virus. Time series analysis may be used to evaluate the temporal pattern of other diseases in addition to foot-and-mouth disease, and aid in their control programmes.

bibliografía sobre enfermedades vesiculares**vesicular diseases bibliography**

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

Diferenciación de cepas de virus aftoso utilizando una prueba inmunosorbente ligada a enzima de competición. *Texto en inglés.* (Differentiation of foot-and-mouth disease virus strains using a competition enzyme-linked immunosorbent assay). *J. Virological Methods* 3: 355-365, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (3): 82/23, 1982). [Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England]

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

Subtipificación de cepas de virus aftoso tipo O en el Sudán, 1970-1980. *Texto en inglés.* (Subtyping of strains of foot-and-mouth disease virus type O in Sudan, 1970-1980). *Bull. Off. int. Epiz.* 92: (11-12): 1185-1191, 1980. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (2): 82/11, 1982). [FMDV Laboratory, Soba, Khartoum, P.O. Box 293, Sudan]

AHUJA, K.L., TEWARI, S.C., PRASAD, S., KANT, R., SHARMA, V.K.

Detección de antígenos de virus aftoso en cultivos celulares infectados mediante la técnica inmunoperoxidase. *Texto en inglés.* (Detection of foot-and-mouth disease virus antigens in infected cell cultures by immunoperoxidase technique). *Indian vet. J.* 59: 240-241, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (9): 82/86, 1982). [Department of Veterinary Bacteriology and Hygiene, Haryana Agricultural University, Hissar-125 004, India]

ANON

La fiebre aftosa en Malasia. *Texto en inglés.* (Foot-and-mouth disease in Malaysia). *Bull. Off. int. Epiz.* 93 (1-2): 105-107, 1981. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (4): 82/30, 1982).

ANON

La fiebre aftosa en Tailandia. *Texto en inglés.* (Foot-and-mouth disease in Thailand). *Bull. Off. int. Epiz.* 93 (1-2): 109-110, 1981. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (4): 82-31, 1982).

ARORA, B.M. & BHARGARA, A.K.

Manejo de un brote de fiebre aftosa en porcinos. *Texto en inglés.* (Management of foot-and-mouth disease outbreak in swine). *Indian vet. med. J.* 5: 38-39, 1981. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (9): 82/82, 1982). [Indian Veterinary Research Institute, Izatnagar, U.P., India]

ATA, F.A.

Estudios sobre la naturaleza enzoótica de la fiebre aftosa en Kuwait. *Texto en inglés.* (Studies on the enzootic nature of foot-and-mouth disease in Kuwait). *J. Egypt. vet. med Assoc.* 42 (1): 107-116, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (10): 82/92, 1982). [Agriculture Research Center, Serum and Vaccine Institute, Abassia, Cairo, Egypt]

AWAD, F., REDA, I., MOUSSA, A.A.M., MULLA, A., DAUD, A., HUSSEIS, K., MARZOUK, M.S.

Reacción inmunológica de búfalos susceptibles a inoculación primaria con vacuna antiaftosa tipo O₁ de hidróxido de aluminio inactivada con formalina. *Texto en inglés*. (Immune response of susceptible buffaloes to primary vaccination with the formalized inactivated aluminium hydroxide foot-and-mouth disease type O₁ vaccine). *J. Egypt. Vet. Med. Assoc.* 39 (2): 97-107, 1979. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (8): 82/76, 1982). [Infectious Diseases Department, Faculty of Veterinary Medicine, Cairo University, Egypt]

BALASUBRAMANYAM, D.

Lesiones iniciales de fiebre aftosa en tetas de una vaca híbrida. *Texto en inglés*. (Initial teat lesions of foot-and-mouth disease in a cross-bred cow). *Livestock Advisor* (Bangalore) 6 (3): 3-4, 1981. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (1): 82/2, 1982).

BANDYOPADHYAY, S.K., MUKHOPADHYAY, A.K., RAO, B.U.

Eficacia de la prueba de difusión en gel. 1. En la diferenciación de los tipos de virus aftosos. *Texto en inglés*. (Efficacy of gel diffusion test. 1. In differentiation of foot-and-mouth disease virus types). *Ind. J. anim. Hlth.* 12: 109-114, 1981. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (10): 82/100, 1982). [Indian Veterinary Research Institute Mukteswar-Kumaon, U.P. India]

BARTELING, S.J.

Control de protección de vacunas antiaftosas: II. Antígeno inactivado con aciridina producido en células BHK. *Texto en inglés*. (Safety controls of foot-and-mouth (FMD) vaccines: II. Aziridine inactivated antigen produced in baby hamster kidney (BHK) cells). Paper presented at the Meeting of the Research Group of the European Commission for the Control of FMD, Pirbright, September 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (12): 82/115, 1982). [Central Veterinary Institute, Virology Department, Houtribweg 39, 8221 RA Lelystad, The Netherlands]

BAXT, B. & BACHRACH, H.L.

Adsorción y degradación del virus aftoso por membranas plásmicas aisladas de células BHK 21. *Texto en inglés*. (The adsorption and degradation of foot-and-mouth disease virus by isolation BHK 21 cell plasma membranes). *Virology* 116: 391-405, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (2): 82/20, 1982). [Plum Island Animal Disease Center, Greenport, New York 11944, U.S.A.]

BLACKBURN, N.K.

Tipificación y serología de fiebre aftosa en Zimbabwe. *Texto en inglés*. (Foot-and-mouth disease typing and serology in Zimbabwe). *Trop. Anim. Hlth. Prod.* 14: 101-113, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (8): 82/71, 1982). [Veterinary Research Laboratory, P.O. Box 8101, Causeway, Salisbury, Zimbabwe]

BLACKWELL, J.H., McKERCHER, P.D., KOSIKOWSI, F.V., CARMICHAEL, L.E., GOREWIT, R.C.

Concentración de virus aftoso en leche de vacas infectadas en condiciones simuladas de campo. *Texto en inglés*. (Concentration of foot-and-mouth disease virus in milk of cows infected under simulated field conditions). *J. Dairy Sci.* 65: 1624-1631, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (12): 82/118, 1982). [Plum Island Animal Disease Center, Greenport NY 11944, U.S.A.]

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

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

CAMPOS, L.I.E. de, BERNAL, C., ESPINOSA, M., NOVELL, A.M. de, OCHOA, Ch. A. de

Respuesta inmunitaria en bovinos inoculados con vacuna antiaftosa de virus vivo atenuado frente a las cepas O₁ Cura 71 y O₁ Barinas 79. *Texto en español*. (Immune response in cattle inoculated with a live attenuated foot-and-mouth disease vaccine tested against types O₁ Cura 71 and O₁ Barinas 79). *Acta Cientif. Venez.* 31 (Suppl. 1): 141, 1980. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (10): 82/97, 1982). [Instituto de Investigaciones Veterinarias, Maracay, Aragua, Venezuela]

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

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

CHARAN, S. & PRASAD, S.

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

DABORN, C.J.

Control de la fiebre aftosa en el Valle Songwe, Malawi — Una revisión. *Texto en inglés*. (Foot-and-mouth disease control the Songwe Valley, Malawi — A review). *Trop. Anim. Hlth. Prod.* 14: 185-188, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (11): 82/102, 1982). [District Veterinary Office, P.O. Box 29, Karonga, Malawi]

DENOYA, C.D.

Síntesis de moléculas de ADN largas complementarias al ARN de virus aftoso. *Texto en inglés*. (Synthesis of long DNA molecules complementary to foot-and-mouth disease virus RNA). *Intervirology* 18: 83-86, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (11): 82/107, 1982). [Centro de Virología Animal, Buenos Aires, Argentina]

DIMITRIADIS, I.A.

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

DOEL, T.R.

Problemas potenciales asociados al uso de vacunas antiaftosas con virus concentrado. *Texto en inglés*. (Potential problems associated with the use of concentrated foot-and-mouth disease virus vaccines). Paper presented at the Meeting of the Research Group of the European Commission for the Control of FMD, Pirbright, September 1982. FAO, 1983, p.30-33. [Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England]

DOEL, T.R. & CHONG, W.K.T.

Inmunogenicidad comparativa de las partículas 146S, 75S y 12S de virus aftoso. *Texto en inglés*. (Comparative immunogenicity of 146S, 75S and 12S particles of foot-and-mouth disease virus). *Arch. Virol.* 73: 185-191, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (11): 82/108, 1982). [Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England]

DOEL, T.R., FLETTON, B.W., STAPLE, R.F.

Desarrollo adicional en la cuantificación de pequeños ARN de virus por fotometría ultravioleta en gradientes de densidad de sucrosa. *Texto en inglés*. (Further developments in the quantification of small RNA viruses by ultra-violet photometry of sucrose density gradients). *Dev. Biol. Stand.* 50: 209-219, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (3): 82/26, 1982). [Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England]

DONALDSON, A.I., FERRIS, N.P., GLOSTER, J.

Muestreo de aire de chiqueros de cerdos infectados por fiebre aftosa: comparación de los mostradores Litton y ciclón. *Texto en inglés*. (Air sampling of pigs infected with foot-and-mouth disease virus: comparison of Litton and cyclone samplers). *Res. vet. Sci.* 33 (3): 384-385, 1982. [Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England]

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

Modelos de predicción para el pronóstico y análisis de propagación aerotransportada durante los brotes de fiebre aftosa en Bretaña, Jersey y la Isla de Wight. *Texto en inglés*. (Use of prediction models to forecast and analyse airborne spread during the foot-and-mouth disease outbreaks in Brittany, Jersey and the Isle of Wight). *Vet. Rec.* 110: 53-57, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (2): 82/12, 1982). [Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England]

ERTAN, H. & NAZLIOGLU, M.

Sanidad animal y la economía en Turquía. *Texto en inglés*. (Animal health and economics in Turkey). *Bull. Off. int. Epiz.* 93 (5-6): 1045-1052, 1981. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (7): 82/60, 1982). [Director-General of Veterinary Services, Ministry of Agriculture and Forestry, Ankara, Turkey]

GARLAND, A.J.M., BABER, D., HAMBLIN, C., ROWE, L., BARNETT, I.T.R.

La epidemia de fiebre aftosa de 1975 en Malta. 3. Respuesta serológica de bovinos, ovejas, cabras y cerdos a la vacuna de tipo O. *Texto en inglés*. (The 1975 foot-and-mouth disease epidemic in Malta. 3. Serological response of cattle, sheep, goats and pigs to type O vaccine). *Brit. vet. J.* 137: 507-512, 1981. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (1): 82/6, 1982). [Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England]

GARLAND, J.J.M., HAMBLIN, C., PARKER, J., ARMSTRONG, R.M.

Títulos de anticuerpos contra la enfermedad de caballo africano, enfermedad vesicular del cerdo y virus aftosos en muestras de équidos en Malta, 1975. *Texto en inglés*. (Antibody titres to African horse sickness, swine vesicular disease and foot and mouth disease viruses in samples from equidae in Malta, 1975). *Brit. vet. J.* 138: 258-263, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (7): 82/63, 1982). [Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England]

GENOV, I., TIVCHEV, G., VELEVA, E., TEKERLEKOV, P., SHOPOV, I., IATEVSKA, V., KOVACHEVA, K., PENCHEV, Kh., STEFANOVA, L.

Una vacuna antiaftosa inactivada producida en forma combinada (suspensión en monocapa). *Texto en búlgaro*. (An inactivated foot-and-mouth disease vaccine produced in a combined way (suspension-monolayer). *Vetmed. Nauki* (Sofia) 18: 57-63, 1981. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (10): 82/99, 1982). [Institute for the Control of Foot and Mouth Disease and Particularly Dangerous Infectious, Sofia, Bulgaria]

GLOSTER, J.

Riesgo de propagación aérea de fiebre aftosa procedente del continente a Inglaterra. *Texto en inglés*. (Risk of airborne spread of foot and mouth disease from the continent to England). *Vet. Rec.* 111: 290-295, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (10): 82/93, 1982). [Meteorological Office, Bracknell, Berkshire, England]

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

Transporte a larga distancia de virus aftoso sobre el mar. *Texto en inglés*. (Long-distance transport of foot and mouth disease virus over the sea). *Vet. Rec.* 110: 47-52, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (2): 82/13, 1982). [Meteorological Office, Bracknell, Berkshire, England]

GRUBMAN, M.J. & BAXT, B.

Transcripción de virión ARN de fiebre aftosa y proceso de los productos de división primarios en un lisado reticulocito de conejo. *Texto en inglés*. (Translation of foot and mouth disease virion ARN and processing of the primary cleavage products in a rabbit reticulocyte lysate). *Virology* 116: 19-30, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (7): 82/68, 1982). [Plum Island Animal Disease Center, Greenport, New York 11944, U.S.A.]

HAMBLIN, C. & CROWTHER, J.R.

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

HAMBLIN, C. & HEDGER, R.S.

Sangre seca en filtro o en papel secante para la detección de anticuerpos contra la enfermedad vesicular del cerdo por la prueba ELISA. *Texto en inglés*. (Blood dried on filter or blotting paper for the detection of antibody against swine vesicular disease virus by enzyme-linked immunosorbent assay). *Vet. Rec.* 111 (20): 460-461, 1982. [Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England]

HARDY, M.M. & MOORE, D.M.

Neutralización de virus aftoso. II. Nuevos parámetros relacionados a la sensitización del virión 140S mediante anticuerpos. *Texto en inglés*. (Neutralization of foot and mouth disease virus. II. Further parameters related to the sensitization of the 140S virion by antibody). *J. gen. Virol.* 62: 287-295, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (82/110), 1982). [Plum Island Animal Disease Center, P.O. Box 848, Greenport, New York, 11944, U.S.A.]

HOUSE, J.A. & YEDLOUTSCHNIG, R.J.

Sensibilidad de siete tipos distintos de cultivos celulares a tres serotipos de virus aftoso. *Texto en inglés*. (Sensitivity of seven different types of cell cultures to three serotypes of foot and mouth disease virus). *Can. J. comp. Med.* 46: 186-189, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (8): 82/73, 1982). [Plum Island Animal Disease Center, Greenport, New York, 11944 U.S.A.]

KANT, R., AHUJA, K.L., PRASAD, S., TEWARI, S.C., SHARMA, V.K.

Distribución de tipos de virus aftosos en el noroeste de India. *Texto en inglés*. (Distribution of foot and mouth disease virus types in north-west India). *Haryana Vet.* 19 (2): 144-146, 1980. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (7): 82/61, 1982). [College of Veterinary Sciences, Haryana Agricultural University, Hissar, India]

KATIYAR, R.D., SINGH, B.K., KHERA, R.C., LEPCHA, N.T.

Relación preliminar sobre ocurrencia de fiebre aftosa en yacs en Sikkim. *Texto en inglés*. (A preliminary report on occurrence of foot-and-mouth disease in yaks in Sikkim). *Indian vet. med. J.* 5: 22-24, 1981. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (9): 82/83, 1982). [Department of Animal Husbandry, Gangtok, Sikkim, India]

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

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

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

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

KNUDSEN, R.C., GROOCOCK, C.M., ANDERSEN, A.A.

Diferencia en inmunidad protectora de la lengua y patas de cobayos inoculados con virus aftoso tipo A₁₂ tras desafío vía intradermolingual y en almohadilla plantar. *Texto en inglés*. (Difference in protective immunity of the tongue and feet of guinea pigs vaccinated with foot and mouth disease virus type A₁₂ following intradermolingual and footpad challenge). *Vet. Microbiol.* 7: 99-107, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (8): 82/78, 1982). [Plum Island Animal Disease Center, Greenport, New York, 11944, U.S.A.]

KUBO, M., OSADA, M., KONNO, S., SAITO, T., KODAMA, M.

Microscopía electrónica de células cultivadas en medio libre de suero después de inoculación de virus de enfermedad vesicular del cerdo. *Texto en inglés*. (Electron microscopy of cells cultured in serum-free medium after inoculation of swine vesicular disease virus). *Natl. Inst. Anim. Health Quart.* 21: 134-140, 1981. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (8): 82/80, 1982). [Third Research Division, National Institute of Animal Health, 1-1, Kannodai 3-chome, Yatabe-machi, Tsukuba-gun, Ibaraki-ken, 305 Japan]

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

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

LOMBARD, M., RAVIN, J., DUFOUR, R., ROULET, C., SENELONGE, A., DUPASQUIER, M.

Identificación de cepas de virus aftoso por medio de métodos bioquímicos y serológicos. *Texto en francés*. (Identification of foot-and-mouth disease virus strains by biochemical and serological methods). Trabajo presentado en el Conferencia décimosexta OIE FMD Comm., Paris, 14-17 septiembre 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (10): 82/101, 1982). [IFFA-Merieux, 254 rue Marcel Merieux, 69007 Lyon, France]

MANJUNATH, S. & NARASIMHAN, K.S.

Estudios sobre la eficacia relativa del citrato de clomifina (Fertivet) como una terapia para anestro en bovinos recuperados de la fiebre aftosa. *Texto en inglés*. (Studies on the relative efficacy of clomiphene citrate (fertivet) as a therapy for anoestrus in cattle recovered from foot and mouth disease). *Cheiron* 11: 149-154, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (9): 82/84, 1982). [Department of Obstetrics and Gynaecology, Madras Veterinary College, Madras 600-007, India]

MARQUARDT, O.

Tres cepas de virus aftoso europeo son altamente conservadas en el terminal 3' y muy variables en el gen de dos proteínas del cápside. *Texto en inglés*. (Three strains of European foot and mouth disease virus are highly conserved in the 3'-termini and highly variable in the genes of two capsid proteins). *J. gen. Virol.* 59: 283-294, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (5): 82/43, 1982). [Max-Planck-Institut für Biochemie, Department of Virology, 8033 Martinsried, Federal Republic of Germany]

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

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

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

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

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

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

NETTLETON, P.F., DAVIES, M.J., RWEYEMAMU, M.M.

Guanidina y termosensibilidad de cepas de virus aftoso. *Texto en inglés.* (Guanidine and heat sensitivity of foot and mouth disease virus (FMDV) strains). *J. Hyg. Camb.* 89: 129-138, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (9): 82/88, 1982). [Wellcome FMD Vaccine Laboratory, Pirbright, Woking, Surrey, England]

OULDRIDGE, E.J., HEAD, M., BUCK, H., RWEYEMAMU, M.M.

Estudios con aislamientos recientes de fiebre aftosa tipo O procedentes del sudeste de Asia. *Texto en inglés.* (Studies with recent type O FMD isolates from South-East Asia). *Rev. Sci. tech. Off. int. Epiz.* 1 (1): 119-128, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (9): 82/89, 1982). [Wellcome FMD Vaccine Laboratory, Pirbright, Woking, Surrey, England]

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

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

PF AFF, E., MUSSGAY, M., BOHM, H.O., SCHULZ, G.E., SCHALLER, H.

Anticuerpos contra un péptido preseleccionado reconocen y neutralizan virus aftoso. *Texto en inglés.* (Antibodies against a preselected peptide recognize and neutralize foot and mouth disease virus). *EMBO J.* 1 (7): 869-874, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (4): 82/111, 1982). [Department of Microbiology, University of Heidelberg, Federal Republic of Germany]

POLATNICK, J. & WOOL, S.

Caracterización de una polimerasa de ácido poliuridílico 70S aislada de células infectadas con virus aftoso. *Texto en inglés.* (Characterisation of a 70S polyuridylic acid polymerase isolated from foot and mouth disease virus-infected cells). *J. Virol.* 40 (3): 881-889, 1981. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (2): 82/21, 1982). [Plum Island Animal Disease Center, Greenport, New York 11944, U.S.A.]

POLATNICK, J. & WOLL, S.H.

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

POLATNICK, J. & WOOL, S.H.

Identificación de antígeno de polimerasa de ARN y sitio de la síntesis del ARN en células infectadas con virus aftoso. *Texto en inglés.* (Identification of RNA polymerase antigen and the site of RNA synthesis in foot and mouth disease viral-infected cells). *Fed. Proc.* 41: 1275, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (6): 82/50, 1982). [Plum Island Animal Disease Center, Greenport, New York 11944, U.S.A.]

POLYDOROU, K., PAPASOLOMONTOS, P., HADJISAVVAS, T., ECONOMIDES, P., EFSTATHIOU, G., PITZIOLIS, G., HADJIZENONOS, L., SELLERS, R.F., GIBBS, E.P.J., HERNIMAN, K.A.J., PARKER, J., ROWE, L.W., MOWAT, G.N., OWENS, H.

Estudio sobre vacunas antiaftosas en Chipre 1972-1975. *Texto en inglés.* (Investigations on foot and mouth disease vaccines in Cyprus 1972-1975). *Bull. Off. int. Epiz.* 92 (9-10): 863-873, 1980. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (1): 82/8, 1982). [Department of Veterinary Services, Nicosia, Cyprus]

PRASAD, S., AHUJA, K.L., SHARMA, V.K.

Nota sobre el aislamiento de virus aftoso procedente de animales recuperados. *Texto en inglés.* (A note on the isolation of foot and mouth disease virus from recovered animals). *Ind. J. anim. Hlth.*, 12: 159-160, 1981. (*FMD Bull. Wellcome 21* (10): 82/94, 1982). [Department of Veterinary Bacteriology and Hygiene, Haryana Agricultural University, Hissar 125004, India]

PRASAD, I.J. & KUMAR, S.

Persistencia de aislamientos de virus aftoso del tipo Asia 1 en las excreciones y secreciones de bovinos infectados experimentalmente. *Texto en inglés.* (Persistence of foot and mouth disease virus type Asia 1 isolates in the excretions and secretions of experimentally infected cattle). *Indian J. Anim. Sci.* 51 (9): 834-837, 1981. (*FMD Bull. Wellcome 21* (10): 82/95, 1982). [Indian Veterinary Research Institute, Mukteswar-Kumaon, Uttar Pradesh, 263 128 India]

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

Fuentes de variación encontradas durante la selección y producción de tres cepas de virus aftoso para el desarrollo de vacuna a ser utilizada en Nigeria. *Texto en inglés.* (Sources of variation encountered during the selection and production of three strains of foot and mouth disease virus for the development of vaccine for use in Nigeria). *J. Biol. Stand.* 10: 35-45, 1982. (*FMD Bull. Wellcome 21* (3): 82/24, 1982). [Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England]

RAO, YUB & UPPAL, P.K.

Respuesta inmunitaria de cerdos a la vacuna antiaftosa inactivada (vacunas con adyuvante dietil-aminoetil (DEAE) - dextrano (D)). *Texto en inglés.* (Immune response of pigs to inactivated foot and mouth disease vaccine (diethylaminoethyl (DEAE) - dextran (D) adjuvanted vaccines). *Indian vet. J.* 59: 247-251, 1982. (*FMD Bull. Wellcome 21* (11): 82/105, 1982). [Division of Bacteriology and Mycology, Indian Veterinary Research Institute, Izatnagar - 243 122 (U.P.) India]

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

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

RWEYEMAMU, M.M., BLACK, L., NICHOLIS, M.J., BASARAB, O., O'REILLY, K.J.

Reacción de bovinos a la inoculación antiaftosa. *Texto en inglés.* (The response of cattle to FMD vaccination). Trabajo presentado a la décimosexta Conferencia OIE Com., Paris 14-17 septiembre, 1982. (*FMD Bull. Wellcome 21* (11): 82/104, 1982). [Wellcome Foot and Mouth Disease Vaccine Laboratory, Pirbright, Woking, Surrey, England]

RWEYEMAMU, M.M. & OULDRIDGE, E.J.

Análisis serológico de recientes aislamientos de virus aftoso tipo O precedentes de Europa. *Texto en inglés.* (Serological analysis of recent type O foot and mouth disease virus isolates from Europe). *Vet. Rec.* 111: 163-165, 1982. (*FMD Bull. Wellcome 21* (9): 82/91, 1982). [Wellcome FMD Vaccine Laboratory, Pirbright, Woking, Surrey, England]

SAUNDERS, K. & KING, A.M.Q.

Mutantes resistentes a la guanidina de virus aftoso inducen la síntesis de un polipéptido no estructural alterado, P34. *Texto en inglés.* (Guanidine-resistant mutants of aphthovirus induce the synthesis of an altered nonstructural polypeptide, P34). *J. Virol.* 42 (2): 389-394, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (8): 82/74, 1982). [Genetics Dept., Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England]

SCHUDEL, A.A., SADIR, A.M., ETCHEVERRIGARAY, M.E., SAMUS, S., COLILLA, O., RIVENSON, S.

Susceptibilidad de primatas no humanos sudamericanos al virus de la fiebre aftosa. *Texto en inglés.* (Susceptibility of South American non-human primates to foot and mouth disease virus). *Bull. Off. int. Epiz.* 93 (11-12): 1345-1350, 1981. [Department of Virology, CICV-INTA, Castelar, Argentina]

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

La epidemia de fiebre aftosa de 1975 en Malta. 4. Análisis de la epidemia. *Texto en inglés.* (The 1975 foot and mouth disease epidemic in Malta. 4. Analysis of the epidemic). *Brit. vet. J.* 137: 608-620, 1981. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (1): 82/3, 1982). [Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England]

SEN, A.K. & KUMAR, S.

Nota sobre el uso de Koh como un viricida contra la fiebre aftosa. *Texto en inglés.* (Note on the use of Koh as a viricidal agent against foot and mouth disease). *Indian J. anim. Sci.* 51 (10): 982, 1981. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (5): 82/47, 1982). [Regional Station of the Indian Veterinary Research Institute, Hebbal, Bangalore, Karnataka 560 024, India]

SENELONGE, A., TIXIER, G., LOMBARD, M.

Estudio de electroforesis de la proteína threonina VP y sus relaciones con la potencia de vacuna en cerdos. *Texto en inglés.* (Electrophoresis study of the protein VP threonine and its relationships to vaccine potency in pigs). Paper presented at the Meeting of the Research Group of the European Commission for the Control of FMD, Pirbright, September 1982. FAO, 1983, p.34-39. [IFFA-Merieux, 254 rue Marcel Merieux-69007, Lyon, France]

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

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

SHARMA, K.N., MEHROTRA, P.N., DATT, N.S.

Nota sobre la actividad fijadora del complemento de virus aftoso adaptado de cabrito de un día en tejidos de cabras infectadas. *Texto en inglés.* (A note on the complement fixing activity of day-old kid-adapted foot and mouth disease virus in infected goat tissues). *Haryana Vet.* 19 (2): 133-135, 1980. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (7): 82/65, 1982). [College of Veterinary and Animal Sciences, University of Agriculture, Udaipur, Bikaner, Rajasthan 334 001, India]

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

La fiebre aftosa en ganado lanar. Norma de excreción y distribución viral en animales infectados experimentalmente. *Texto en inglés*. (Foot and mouth disease in sheep. Pattern of virus excretion and distribution in experimentally infected animals). *Indian J. anim. Sci.* 51 (1): 61-66, 1981. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (6): 82/48, 1982). [College of Veterinary Science and Animal Husbandry Chandrashekhar Azad University of Agriculture and Technology, Mathur, Uttar Pradesh 281 002, India]

SHARMA, S.K., SINGH, G.R., GOEL, Y.P., PATHAK, R.C.

La fiebre aftosa en Uttar Pradesh: algunas tendencias epidemiológicas. *Texto en inglés*. (Foot and mouth disease in Uttar Pradesh: some epidemiological trends). *Indian J. anim. Sci.* 51 (12): 1136-1139, 1981. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (7): 82/62, 1982). [College of Veterinary Science and Animal Husbandry, Chandra Shekhar Azad University of Agriculture and Technology, Uttar Pradesh 281 002, India]

SHARMA, S.K., SINGH, P.P., MURTY, D.K.

La fiebre aftosa en ovejas y cabras: una infección iceberg. *Texto en inglés*. (Foot and mouth disease in sheep and goats: an iceberg infection). *Indian vet. J.* 58: 925-928, 1981. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (6): 82/49, 1982). [College of Veterinary Science and Animal Husbandry, Mathura, India]

SHARMA, S.K., SINGH, P.P., MURTY, D.K.

Propiedades biológicas de cepas portadoras de virus aftoso tipo O aislado de ovejas y cabras. *Texto en inglés*. (Biological properties of carrier strains of foot and mouth disease virus type O isolated from sheep and goats). *Indian J. anim. Sci.* 52 (1): 30-34, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (8): 82/75, 1982). [College of Veterinary Science and Animal Husbandry, Chandra Shekhar Azad University of Agriculture and Technology, Mathura, Uttar Pradesh 281 002, India]

SINGH, G.R. & SHARMA, S.K.

Brote de fiebre aftosa en una hacienda ovina : algunas observaciones epizootiológicas. *Texto en inglés*. (Foot and mouth disease outbreak at a sheep farm: some epizootiological observations). *Indian vet. med. J.* 4: 155-158, 1980. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (9): 82/85, 1982). [College of Veterinary Science and Animal Husbandry, C.S. Azad University of Agriculture and Technology, Mathura, India]

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

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

SHANKAR, H. & UPPAL, P.K.

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

SHARPE, R.T., LANGLEY, A.M., MOWAT, G.N.

Inmunosupresión en tripanosomiasis bovina: respuesta de ganado infectado con tripanosoma congolense a vacunación antiaftosa y subsiguiente desafío de virus vivo. *Texto en inglés*. (Immunosuppression in bovine trypanosomiasis: response of cattle infected with trypanosoma congolense to foot and mouth disease vaccination and subsequent live virus challenge). *Res. vet. Sci.* 32: 289-293, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (6): 82/55, 1982). [Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England]

SPIER, R.E.

Tecnología de célula animal : una revisión. *Texto en inglés*. (Animal cell technology: and overview). *J. Chem. Tech. Biotechnol.* 23: 304-312, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (4): 82/36, 1982). [Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England]

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

Interacciones entre saponina y partículas 146S de virus aftoso. *Texto en inglés*. (Interactions between saponin and 146S particles of foot and mouth disease virus). *J. Biol. Stand.* 10: 147-156, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (6): 82/57, 1982). [Animal Virus Research Institute, Pirbright, Woking, Surrey, England]

STROBBE, R.

Análisis de una banda de virus aftoso en grandiente de corta duración. *Texto en inglés*. (Short run equilibrium banding analysis of foot and mouth disease virus suspensions). Commission for the Control of FMD, Pirbright, September 1982. FAO, 1983. p.24-29. [Institut National de Recherches Veterinaires, Groeselenberg, 99, B1180 Bruxelles (Uccle), Belgium]

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

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

TEKEN TEMADJA, I.G.N.

Programa para la erradicación de la fiebre aftosa en Indonesia. *Texto en inglés*. (Foot and mouth disease eradication programme in Indonesia). *Bull. Off. int. Epiz.* 93 (1-2): 95-103, 1981. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (4): 82/32, 1982). [Director of Animal Health, Directorate General of Livestock Services, Department of Agriculture, Indonesia]

TEKERLEKOV, P. & NIKOLOVA, E.

Prueba comparativa de las propiedades inmunogénicas de cepas productoras de virus aftoso. *Texto en búlgaro*. (Comparative testing of the immunogenic properties of production strains of foot and mouth disease virus). *Vetmed. Nauki* (Sofia) 18 (1): 19-26, 1981. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (8): 82/79, 1982). [Institute for the Control of Foot-and-Mouth Disease and Particularly Dangerous Infections, Sofia, Bulgaria]

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

Variaciones en la densidad boyante de cepas de virus aftoso. *Texto en inglés*. (Variations in the bouyant density of foot and mouth disease virus strains). *Arch. Virol.* 71: 333-341, 1982. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (5): 82/45, 1982). [Wellcome FMD Vaccine Laboratory, Pirbright, Woking, Surrey, England]

VELEVA, E., GUENOV, I., STEFANOVA, L., TEKERLEKOV, P., TIVCHEV, G., NEDKOV, P.

Experimentos de laboratorio sobre cultivo de células BHK21 C13 en un sistema rodante usando un medio nutritivo basado en hidrolisado enzimático de huevo. *Texto en búlgaro*. (Laboratory experiments on the culture of BHK21 C13 cells in a roller system using a nutrient medium based on egg enzymatic hydrolysate). *Vet. Med. Nauk.* (Sofia) 17 (9-10): 37-42, 1980. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (7): 82/66, 1982). [Institute for the Control of FMD and Particularly Infectious Diseases, Sofia, Bulgaria]

WATSON, W.A. & SCUDAMORE, J.M.

Sanidad animal y la economía. *Texto en inglés*. (Animal health and economics). *Bull. Off. int. Epiz.* 93 (5-6): 999-1010, 1981. (*FMD Bull. Wellcome* 21 (7): 82/59, 1982). [State Veterinary Service, ADAS, Tolworth, Surrey, England]

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

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

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

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

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

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

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

Trabajo de revisión: Formato flexible.

INSTRUCCIONES A LOS AUTORES

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

COMITE EDITORIAL

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

PAN-AMERICAN FOOT-AND-MOUTH DISEASE CENTER BULLETIN

INVITATION TO CONTRIBUTORS

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

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

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

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

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

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

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

EDITORIAL COMMITTEE

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