

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

"ESTOMATITIS VESICULAR:

ENCUESTA SEROLOGICA EN BOVINOS DEL PARTIDO DE TANDIL"

Tesis presentada ante las Autoridades de la Universidad Nacional de La Plata para optar al Título de Doctor en Ciencias Veterinarias.

MONICA INES DI SANTO \*

— AÑO 1981—

Directora de Tesis: Doctora Norma Evangelina Mettler, Profesora Titular de Virología, Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires y Miembro de la Carrera de Investigador (C.I.C).

---

Médico Veterinaria, Becaria de la Comisión de Investigaciones Científicas (C.I.C) de la Provincia de Buenos Aires y Jefe de Trabajos Prácticos de la Cátedra de Enfermedades Infecciosas de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

AUTORIDADES:

RECTOR:

Profesor Dr. GUILLERMO G. GALLO

SECRETARIO GENERAL:

Ódont. TOMAS FUCINI

SECRETARIO DE ASUNTOS ACADÉMICOS:

Dr. JORGE BOLZAN

SECRETARIO DE SUPERVISION ADMINISTRATIVA:

Cdor. JUAN A. AREVALO

SECRETARIO DE EXTENSION CULTURAL Y DIFUSION:

Arq. JOSE MARIA MARQUINEZ

GUARDA SELLOS:

Dr. FEDERICO ENRIQUE CHISTMANN

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA  
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

AUTORIDADES:

DECANO:

Profesor Dr. JOSE FERNANDEZ DE LIGER

DECANO SUSTITUTO:

Dr. NESTOR ANGEL MENENDEZ

SECRETARIO DE ASUNTOS ACADEMICOS:

Dr. JORGE EUGENIO LED

SECRETARIO ADMINISTRATIVO:

Sr. OMAR HUGO RAMIREZ

DIRECTORA DE ENSEÑANZA:

Sra. HAYDEE C.R. DE PERETTO

DIRECTORA DE BIBLIOTECA:

Srta. HEBE D. PEDERNEIRA

— NOMINA DE PERSONAL DOCENTE POR CATEGORIAS —

PROFESOR TITULAR "DEDICACION EXCLUSIVA"

<u>APELLIDO Y NOMBRE</u>	<u>CATEDRA</u>	<u>CATEGORIA</u>
ANGULO Eusebio	Investigadora	Titular
ERRECALDE Jorge E.	Microbiología	Interino
ETCHEVERRIGARAY María E.	Virología	Reemplazante
MENENDEZ Nestor A.	Anat. y Fisiol.Patol.	Interino
PRACCA Lydia C.	Clín.Pequeñ.Animales.	Reemplazante
QUINTEROS Indalecio R.	Gnét. y Biometría	Titular
ZACCARDI Eduardo M.	Fisiología	Titular

PROFESOR TITULAR "DEDICACION TIEMPO PARCIAL"

AGUIRRE Walter G.	Microb.Especial	Titular
ALBERDI Cecilio	Tec.y Sanid.Aliment.	Interino
ANDREATTA Jorge N.	Semiología y Propedéutica	Interino
ARGERI Nelson J.	Análisis Clin. I y II	Reemplazante
BERTOLINI José M.	Anatomía Comparada	Interino
DELPRATO Ismael O.	Anat.Descript.y Top.	EMERITO
JENSEN Alicia D.	Bioestadística	Interina
LED Jorge E.	Parasit. y Enf.Parasit.	Interino
MANZULLO Alfredo	Inmunología I y II	EMERITO - Reemp.
MAROTTA Eduardo G.	Zotec.Espec. I Pte.	Interino
OCHOA Mario E.	Director Inst.Sta.Cat.	Interino
OTTINO Julio F.	Histología y Embriol.	Interino
PENNIMPEDE Enrique F.	Inmunol. Gral y Aplic.	Reemplazante
RODRIGUEZ Benjamín R.	Zotec.Espec. II Pte.	Interino
TORRES Jorge F.	Int. a la Bioquímica	Interino

PROFESOR TITULAR "DEDICACION SIMPLE"

AGUIRRE Walter G.	Microbiol.Aplicada	Titular
ALBERDI Cecilio	Tecnol.y Sanid.Aliment.	Interino
CARROZZA Jesús S.W.	Introd. a la Biofísica	Titular
ERRECALDE Jorge E.	Enferm. Infecciosas	Interino
GIMENO Emilio J.	Higiene Epid. y S.Pública	Titular
ISEAS Fortunato B.	Patología Médica	Interino
MARTINO Olindo A. L.	Salud Pública	Interino
MORELLI Hector A.	Zotec.Espec.III Pte.	Interino
OSTROWSKI Jorge E. B.	Patol.Reprod. y Obst.	Interino
PANZONI Erico E.	Economía Agraria	Titular
RUAGER Jorge	Patología General	Interino
SARACHU Alberto N.	Genética Microbiana	Interino-1/s/s

SCIAMMARELLA Alfredo M.	Medicina Operatoria	Interino
TESORIERO Catalina	Físic. y Quím.Aplic.	Reemplazante
TOUCEDO Guillermo A.	Patología Quirurg.y Pod.	Titular

PROFESOR ASOCIADO "DEDICACION EXCLUSIVA"

MARTIN Alcides A.	Anat. y Fisiol.Patol.	Interino
-------------------	-----------------------	----------

PROFESOR ADJUNTO "DEDICACION EXCLUSIVA"

BOCCIA Francisco O.	Clin.Pequeños Animales	Reemplazante
IDIART Julio R.	Anat.y Fisiol. Patol.	Interino
LAGRECA Liliana	Zotec.Gral. y Agrost.	Interino
LASTA Jorge A.	Higiene, Epid. y S.Pública	Interino
MONINA Marta I.	Clin.Grandes Animales	Interino

PROFESOR ADJUNTO "DEDICACION TIEMPO PARCIAL"

BRANDETTI Eugenio	Anat. y Fisiol.Patol.	Interino
CHAMPREDONDE Hugo N.	Patología General	Interino
DIBBERN Alberto R.	Zotec.Espec. II Pte.	Reemplazante
DURANTE Eduardo J.	Patol.Quirurg. y Pod.	Interino- l.c.s
ERRECALDO Jorge O. (h)	Farmacol.F. y Terapeút.	Interino- l.c.s.
FELDMAN Raquel E.	Parasitol. Comparada	Interino
FERNANDEZ Enrique J.	Enfermedades Infecciosas	Interino
GOMEZ Carlos M.	Inmunología II	Interino.
MAGGI Nilda B.	Serv.Central de Cirug.	Reemplazante
MARTINO Juan J.	Microbiología	Titular
NOIA Miguel A.	Introd. a la Biofísica	Interino
ORTEGA César F.	Semiol. y Propedéutica	Interino
PENNIMPEDE María T. del A.	Tecnolog. y Sanid.Alim.	Interino
PIOVANO Nicolás M.	Introd. a la Bioquímica	Interino
REINOSO Enso M.	Micol.Médica e Indust.	Reemplazante
RUAGER Jorge	Anat. y Fisiol.Patolog.	Interino

PROFESOR ADJUNTO "DEDICACION SIMPLE"

BACIGALUPO Nésto R.	Tecnol.y Sanid. Aliment.	Interino
BAIGUN Roberto	Patolog.Reprod. y Obst.	Interino
BRANDETTI Eugenio	Parasit. y Enf. Parasit.	Interino
FERNANDEZ DE LIGER José H.	Clin.Grandes Animales	Titular
FINOCHIETTO Hécto D.	Patología Médica	Interino.
GOMEZ Carlos M.	Inmunolog. Gral. y Aplic.	Interino
GRILLO Virginia E.	Zotec.Espec. III Pte.	Interino
LASTA Jorge A.	Microbiol. Aplicada	Interino
MAGGI Nilda B.	Patol.Quirurg. y Pod.	Interino
MALIANDI Florestán S. (h.)	Higiene,Epid. y S.Pública	Interino
MOISO Alejandro C.	Microbiología	Titular
NOVARINI Miguel A.	Farmacol. F. y Terapéut.	Interino

OLIVA Graciela A.	Virología	Interino
PEREZ CASTILLO Nelly E.	Física y Quím.Aplic.	Reemplazante
PRIO LOFEUDO Graciela E.	Zotec.Espec. III Pte	Reemplazante
RENNER Juan E.	Clín. Grandes Animales	Reemplazante
ROJAS Edmundo R.	Fisiología	Interino
RUTTER Bruno	Patol.Reprod. y Obst.	Interino
TARSIA Elba E.	Introd. a la Biofísica	Interino
VENTURINI Lucila M.	Parasit. y Enf. Parasit.	Interino
VILLAR Marta E.	Análisis Clínicos I Pte.	Interino
VILLAR Marta E.	Análisis Clínicos II Pte.	Interino
YANNARELLA Francisco G.	Parasit. y Enf. Parasit.	Interino

JEFES DE TRABAJOS PRACTICOS "DEDICACION EXCLUSIVA"

BASCHAR Héctor O.	Clín.Grandes Animales	Interino
FONROUGE Reinaldo D.	Higiene,Epid. y S. Pública	Interino
RONSIÑO Roberto O.	Sección Radioisótopos	Interino
TEJEDOR Eugenio D.	Genét. y Biometría	Interino

JEFES DE TRABAJOS PRACTICOS "DEDICACION TIEMPO PARCIAL"

ALIVERTI Héctor M.	Zotec. Espec. II Pte.	Interino
ALLEVATO Hugo L.	Higiene, Epid. y S. Pública	Interino
AMASINO Carlos	Enfermedades Infecciosas	Interino
AULICINO Oscar O.	Tecnolog. y S. Aliment.	Interino
BABUSCI Máximo	Fisiología	Interino
BAMBILL Emilia C.	Zotec. Espec. I Pte	Interino
BARRENA Javier E.	Anatomía Descript. y Top.	Interino
BERNAGOZZI Jorge A.	Inmunolog.Gral. y Aplic.	Interino
BISCHOFF Jorge R.	Genét. y Biometría	Interino
BUGALLO Antonio	Patología General	Interino
BUGALLO Antonio	Farmac. F. y Terapéut.	Interino
CARBONE Cecilia	Animales de laboratorio	Interino
CASTUMA María E.	Introd. a la Bioquímica	Interino
COLL CARDENAS Ernesto F.	Introd. a la Biofísica	Interino
DE ANTONI Graciela	Genética Microbiana	L. c. s.
DEL CASTILLO Federico C.	Histología y Embriolog.	Interino
DRAGONETTI Ana María	Clín. Pequeños Animales	Interino
FORNER Jesús J.	Tecnol. y S. Alimentos	Interino
FREGOSI Mario O.	Anatomía Descript. y Top.	Interino
FRIGOLI Alicia E.	Introd. a la Biofísica	Interino
FUENTES Leticia S.	Introd. a la Biofísica	Interino
GARCIA VALENTI Horacio N.	Zotec. Espec. II Pte.	Interino
GIANOTTI Ricardo S.	Tecnolog. y S. Alimentos	Interino
GIMENO Eduardo J.	Anatomía y Fisiol.Pat.	Interino
GIMENO Eduardo J.	Patología General	Interino
GOITIA Oscar F.	Zotec.Espec. II Pte	Reemplazante

GUAJARDO Margarita H.	Introd. a la Bioquímica	Interino
GUGLIELMETTI Elda M.C.	Introd. a la Biofísica	Interino
HERRERA CANALES Félix E.	Anatomía Comparada	Interino
LACCHINI Raul A.	Zootec. Gral. y Agrost.	Interino
LESTCHINSKY Eva	Análisis Clínicos I Pte.	Interino
LINZITTO Oscar R.	Histología y Embriología	Interino
MARCANTONI Hugo	Histología y Embriología	Interino
MARCON Olga E,	Física y Química Aplic.	Reemplazante
MASSONE Raul A.	Clín. Grandes Animales	Reemplazante
MILLAN Margarita D.	Anatomía Descript. y Top.	Interino
MONTESINO RAMOS Ignacio	Clín. Grandes Animales	Interino
MUNARD Carlos J.	Patolog. Rep. y Obst.	Interino
NURO Alicia M.	Clínica Pequeños Animales	Interino
ORELLANA Jorge	Histología y Embriología	Interino
PASSIUCO Mabel N.	Introd. a la Bioquímica	Interino
PELLON Horacio S.	Tecnol. y S. Alimentos	Interino
PERFUMO Carlos J.	Anatomía y Fisiol. Patolog.	Interino
PIACENTINI Enrique	Tecnolog. y S. Alimentos	Interino
PIAZZA Delia D.	Microbiología Especial	Interino
POLI Mario A.	Genética y Biometría	Interino
PONS Eduardo E.	Clín. Grandes Animales	Interino
RADMAN Nilda E.	Parasit. y Enf. Parasit.	Interino
RAMIREZ Luis E.	Anat. Descript. y Top.	Reemplazante
REPETTO SANCHEZ Olindo	Medicina Operatoria	Interino
RODRIGUEZ TOLEDO Jorge A.	Medicina Operatoria	Interino
SALESSI Enrique	Fisiología	Reemplazante
SARA Raul C.	Patolog. Rep. y Obst.	Interino
SCAVIA Ricardo C.	Anatomía Comparada	Interino
TABORCIA Juan A.	Patología General	Interino
TARABUSO Ricardo	Semiolog. y Propedéut.	Interino
TREBUCQ Rubén A.	Inmunolog. Gral. y Aplic.	Interino
VENTURINI María C.	Inmunolog. Gral. y Aplic.	Reemplazante
VOCOS GIMENEZ Sara T.	Zootec. Espec. II Pte	Interino

#### JEFES DE TRABAJOS PRACTICOS "DEDICACION SIMPLE"

ALLENDE María G.	Serv. Central de Cirugía	Interino
AVILA Silvia M.	Microbiología Especial	Interino
BARDON Juan C.	Patología Médica	Interino
BERNAGOZZI Jorge A.	Inmunolog. Gral. y Aplic.	Reemplazante
BRAVO BARDALES Tomás	Economía Agraria	Interino
BUTLER Eduardo A.	Patolog. Quirurg. y Pod.	Interino
CALONGE Carlos A.	Patología Médica	Interino
CASTAÑEDA Alberto C.	Clín. Pequeños animales	Interino
CESAR Norberto	Patología Médica	Reemplazante
CATALA Gustavo G.	Patolog. Reprod. y Obst.	Reemplazante

CUETO Eduardo R.	Zootec.Espec. II Pte	Interino
CHIARAVALLI Juan C.	Zootec. Gral. y Agrost.	Interino
DELGADO CAFFE Osvaldo.	Higiene, Epid. y S. Pública	Interino
FERNANDEZ DE LIGER José H. (h)	Patolog. Médica	Interino
FORMENTI Liliana E.	Microbiología Aplicada	Reemplazante
GALAN Jorge E.	Enfermedades Infecciosas	Interino - l.s.g.s
GARCIA FRONTINI María V.	Parasit. y Enf. Parasit.	Interino
GALLO Guillermo F.	Fisiología	Interino
GRAMIGNA Tomás F.	Taller de Educación	Interino
GIMENEZ Mabel A.	Zootec.Espec. I Pte.	Interino
HERNANDEZ Zulma H.	Salud Pública	Interino
LACCHINI Raul A.	Zootec. Espec. I Pte.	Interino
LOJO María E.	Genética Microbiana	Interino
MARILUNGO Anibal J.	Medicina Operatoria	Interino
MELANI Gustavo H.	Patología Médica	Interino
MORRIS Marta R.	Micol. Méd. e Ind.	Interino
NICODEMO María del C.	Zootec. Espec. III Pte.	Interino
NOSETTO Edgardo O.	Clín. Grandes Animales	Interino
OCAMPO Jesús M.	Introd. a la Biofísica	Interino
REGGIOSO Ana M.	Introd. a la Biofísica	Reemplazante
RONSIÑO Roberto O.	Fisiología	Interino
SALAS Laura V.	Semiolog. y Propedéut.	Interino
SANCHO José J.	Medicina Operatoria	Interino
TOBIA Marta B.	Microbiología Aplicada	Interino
TREBUCQ Rubén A.	Inmunología I	Interino
TUNES María del L.	Microbiología	Interino
VARELA Juan A.	Microbiología	Interino
WARD Miguel V.	Farmac. F. y Terapéut.	Interino

AYUDANTE DIPLOMADO "DEDICACION EXCLUSIVA"

AVILA Silvia M.	Histología y Embriología	Interino
CASTELLANO María C.	Clínica Pequeños Animales	Interino
CATALANO Vicente A.	Histología y Embriología	Interino
CERRUTTI Augusto S.	Sección Radioisótopos	Interino

AYUDANTE DIPLOMADO "DEDICACION TIEMPO PARCIAL"

BERISSO Marcela M.	Enfermedades Infecciosas	Interino
CABRAL Marta S.	Tecnol. y S. Alimentos	Interino
CAMINO A Ricardo A.	Microbiología Especial	Interino
CORREA Oscar M.	Introd. a la Bioquímica	Interino
GONZALEZ Ester T.	Virología	Interino
GUADARRAMA María del C.	Histología y Embriología	Interino
HUERTA Alicia N.	Introd. a la Bioquímica	Interino
MILLAN Roberto G.	Histología y Embriología	Interino
MARENGO Alejandro G.	Higiene, Epid. y S. Pública	Interino

PETRUCCELLI Miguel A.	Anat.y Fisiol. Patolog.	Interino
RAMIREZ Luis E.	Clín.Pequeños Animales	Interino
RENARD Jorge L.	Tecnol. y S. Alimentos	Interino
RIVADANEIRA Elisabeth	Clín.Grandes Animales	Reemplazante
RULE Roberto	Farmacol.F. y Terapéut.	Reemplazante
TABORCIA Juan A.	Enfermedades Infecciosas	Interino
URQUIOLA Horacio M.	Fisiología	Reemplazante
ZOHUAR Edith E.	Clín. Pequeños Animales	Interino

AYUDANTE DIPLOMADO "DEDICACION SIMPLE"

ALONSO Juan C.	Genética Microbiana	Interino
ALT Celia M.	Microbiología Especial	Interino
ALLEVATTO Susana del C.	Zotec.Gral. y Agrost.	Reemplazante
ANTONINI Alicia G.	Genética y Biometría	Interino
ARCHELLI Susana M.	Parasitología Comparada	Interino
BEDOTTI Daniel O.	Clín.Grandes Animales	Interino
BUSCAGLIA Celina	Zotec.Espec. III Pte.	Interino
CALVO Carlos J.	Anatom. y Fisiol. Pat.	Interino
CAMINOA Ricardo A.	Animales de Laboratorio	Interino
CATALANO Vicente A.	Sección Audiovisuales	Interino
CERRUTTI Augusto S.	Fisiología	Interino
COLOCCIA PAYBA Lilian G.	Anatom. y Fisiol. Patolog.	Interino
CORTEZ Guillermo F.	Higiene,Epid. y S.Pública	Interino
COURREGES Marta M.	Anat. y Fisiol. Patolog.	Interino
CREDARO Cristina N.	Análisis Clín. II Parte	Interino
D' AGOSTINO Liliana E.	Introd. a la Bioquímica	Interino
DELGADO CAFFE Osvaldo	Bioestadística	Interino
DI LEO Julio A.	Zotec.Espec. I Pte.	Interino
DOMINELLI Heraldo A.	Patolog.Quirurg.y Pod.	Interino
ELSO Liliana E.	Enfermedades Infecciosas	Interino
FERREYRA Juan C.	Farmacolog.F. y Terap.	Reemplazante
FRIGOLI Alicia E.	Introd. a la Biofísica	Interino
GONZALEZ Ester T.	Microbiología Aplicada	Interino
GUILLEN Griselda	Análisis Clín. I Pte.	Interino
IRASTORZA Jorge A.	Patología Médica	Reemplazante
IRIGOYEN Isabel A.	Introd. a la Bioquímica	Interino
KNAVERHASE Federico L.	Patolo.Reprod.y Obst.	Interino
LASTA Gregorio	Semiología y Propedéut.	Reemplazante
MEZZERA Ana M.	Clín.Pequeños Animales	Interino
PENSA Daniel A.	Micol. Méd. e Indust.	Interino
PEREZ León	Introd. a la Biofísica	Reemplazante
PIAZZA Delia D.	Microbiología Aplicada	Reemplazante
ROMERO Jorge E.	Parasit. y Enferm.Parasit.	Interino
SANGUINETTI Héctor R.	Anat. y Fisiol. Patolog.	Interino

## I N T R O D U C C I O N

Los virus del grupo Estomatitis Vesicular (VSV) comprenden dos grandes serotipos: Indiana (VSI) y New Jersey (VSNJ). El primero está compuesto por los subtipos Indiana, Cocal y Alagoas y el segundo por Concan y Hazelhurst.

La Estomatitis Vesicular fué descrita clínicamente por primera vez en nuestro país por Baudou en 1939. En 1963, en Salto (Pcia. de Buenos Aires), Wolfsteller la halla en equinos, y en el año 1966, García Pirazzi y col, a partir de un equino de la misma localidad aislaron y tipificaron un virus que resultó ser idéntico al subtipo Cocal.

Los virus del grupo VSV se encuentran en las tres Américas, lo cual hace factible su hallazgo en nuestro país, y específicamente en nuestra zona, donde existe un importante número de especies susceptibles a estos virus.

El ganado bovino es a menudo afectado por enfermedades vesiculares como Fiebre Aftosa, pero hay otros virus que producen cuadros clínicos indistinguibles en donde sólo el laboratorio puede dar respuesta a su etiología.

## D E S C R I P C I O N D E L P R O Y E C T O

1. Producción de los sistemas homólogos (antígenos e inmunosueros) a partir de semillas de ambos serotipos.
2. Búsqueda de anticuerpos fijadores de complemento en sueros de bovinos pertenecientes al partido de Tandil, muestra representativa colectada para propósitos múltiples.
3. Búsqueda de anticuerpos neutralizantes en aquellos sueros que resultaren positivos ó dudosos por fijación de complemento.
4. Se podrán realizar estudios complementarios en caso de ser necesario. Por ej.: más neutralizaciones u otras pruebas serológicas en caso que no se encuentren anticuerpos fijadores de complemento para estomatitis vesicular en sueros bovinos.

## F I N A L I D A D E S E S P E C I F I C A S

1. Contribuir a determinar la existencia ó no de ciertos virus en nuestro partido para colaborar en la identificación de los que producen endemias y/o epidemias.

2. El propósito de este trabajo es saber si en el partido de Tandil hay indicios ó no de actividad de VSV tomando como parámetro serología en bovinos.

## C O N T E N I D O

	Página
Título. . . . .	1
Resumen . . . . .	2
Summary . . . . .	2
Introducción. . . . .	3 - 15
Material y Métodos. . . . .	16 - 24
- Area geográfica y laboratorio donde se realizó el trabajo	
- Sueros encuestados	
- Virus usados: cepas de referencia	
- Sueros patrones	
- Antígenos	
- Control de sistema: Inmunsueros	
- Fijación de Complemento	
- Neutralización	
- Inmunodifusión	
Resultados. . . . .	24 - 26
- Pruebas de Fijación de Complemento	
- Pruebas de Neutralización	
- Pruebas de Inmunodifusión	
Discusión . . . . .	27 - 28
Conclusiones. . . . .	28
Figura y tablas . . . . .	29 - 36
Bibliografía. . . . .	37 - 41

T I T U L O

"ESTOMATITIS VESICULAR: Encuesta Serológica en Bovinos del Partido de Tandil".

Tesis presentada por la Médico Veterinaria MONICA INES DI SANTO \* para optar al Título de Doctor en Ciencias Veterinarias.

DIRECTORA DE TESIS: Dra. Norma Evangelina Mettler, Profesora Titular de Virología, de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Centro de la Pcia. de Buenos Aires, y Miembro Carrera de Investigador de la Comisión de Investigaciones Científicas (C.I.C) de la Pcia. de Buenos Aires.

---

\* Becaria de la Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires y Jefe de Trabajos Prácticos de la Cátedra de Enfermedades Infecciosas, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires.

---

— AÑO 1981 —

## R E S U M E N

Se analizaron 1279 sueros bovinos del Partido de Tandil (Provincia de Buenos Aires) por Fijación de Complemento (FC) frente a los serotipos New Jersey (VSNJ), cepa Hazelhurst, e Indiana (VSI), cepa SHNM del grupo Estomatitis Vesicular. Todos fueron negativos para VSI, mientras que 7 resultaron positivos para VSNJ.

Los sueros positivos por FC y otros seleccionados por edad (mayores de 12 años), 92 sueros en total, se probaron por Neutralización (NT). Once resultaron positivos para VSNJ (Hazelhurst) y 24 para VSI (SHNM).

## S U M M A R Y

A survey with 1279 bovine sera from Tandil County (Buenos Aires Province) were analyzed against Vesicular Stomatitis virus, types New Jersey (Hazelhurst) and Indiana (SHNM). By Complement Fixation test (CF) 7 were positive against Hazelhurst and all negative against SHNM.

Ninety-two selected sera (positive by CF and from bovine 12 years old and older) were also running by Neutralization test (NT). Eleven were positive for Hazelhurst and 24 against VSI.

## I N T R O D U C C I O N

La familia Rhabdoviridae (del griego Rhabdos=bastón) está constituida por un grupo de virus cuyos viriones tienen forma de bala, es decir, con un extremo chato y otro elongado.

Está compuesta por los géneros Vesiculovirus, Lyssavirus, Sigmavirus (aislado de Drosophila) y un grupo de virus de las plantas aún sin nombre genérico. Los dos primeros géneros son los que interesan en Patología de grandes y pequeños animales.

El género Lyssavirus comprende a Rabia y los virus con él relacionados: Duvenhage (aislado de humanos), Kotonkan (de Culicoides), Lagos bat (de murciélago), Mokola (de musaraña y de humanos) y Obodhiang (de mosquito).

El género Vesiculovirus, que es el que nos ocupa, incluye el grupo Estomatitis Vesicular y los virus Flanders-Hart Park y Kern Canyon.

El grupo Estomatitis Vesicular (VSV, del inglés Vesicular Stomatitis Virus) está compuesto por varias especies que son los virus Indiana (VSI), New Jersey (VSNJ), Piry, Chandipura e Isfahan (ver tabla 1).

De ellos, sólo tres, VSI, VSNJ y Piry son propios del continente americano, mientras que los otros dos corresponden a India e Irán, respectivamente (1,2). Recientemente, Isfahan ha sido también reportado en Rusia (3).

De los tres correspondientes al continente americano sólo VSI y VSNJ han sido encontrados como productores de enfermedades en bovinos y por lo tanto, fueron ellos los elegidos como tema de esta investigación.

Piry, primitivamente aislado de Philander opossum, pequeño animal salvaje de Brasil, también ha sido encontrado infectando a trabajadores de laboratorio, pero no se conoce su acción patógena natural en especies domésticas que interesen a la economía, a pesar de haberse detectado anticuerpos en cerdos (1).

El tipo VSI, conocido desde 1926 (4) comprende actualmente tres subtipos que son Indiana, Cocal y Alagoas (5).

Indiana es un virus cuya primera cepa fué aislada del epitelio de un bovino joven con salivación, inapetencia, cojera y vesículas en labios y lengua, en julio de 1925 (USA) (1, 6). Posteriores aislamientos demostraron que el virus se

encuentra en las tres Américas, pero con diferencias antigénicas entre las cepas aisladas, que dieron lugar a la creación de los subtipos mencionados.

El subtipo Cocal fué primitivamente aislado en el Laboratorio de Virus Regional de Trinidad, de un macerado de 249 ácaros del género *Gigantolaelaps* sp, que estaban parasitando *Oryzomys laticeps velutinus*, colectado en setiembre de 1961; la cepa fué denominada Cocal (TRVL 40233).

Desde entonces, hubo repetidos aislamientos de ácaros, mosquitos *Culex* y animales centinelas en Trinidad, de ácaros en Belem (Brasil) (Be Ar 39377) (7) y de equino en Argentina (8).

Alagoas se aisló por primera vez en julio de 1964 en Recife, Brasil, a partir de vesículas del epitelio lingual de una mula, que además presentaba lesiones similares en las patas.

VSNJ, subtipo Hazelhurst, fué aislado en la localidad del mismo nombre, Georgia, en 1952, del epitelio del hocico de un cerdo doméstico con salivación, alta temperatura y vesículas en la boca; la cepa es hoy utilizada como prototipo de laboratorio. Posterior a este hallazgo, se efectuaron numerosos aislamientos de equinos, bovinos, suínos, cérvidos y humanos. Ya en 1943, en Missouri, Estados Unidos, se había aislado una cepa de este virus de la cual Hazelhurst resultó topotipo.

El subtipo Concan fué aislado de un bovino en 1949 en Texas (USA), siendo similar a una cepa aislada en 1970 de mosquitos y a la cepa Ogden aislada de equinos y bovinos de Utah (USA) en 1949 (1, 7).

Ambos serotipos, New Jersey e Indiana, son distintos desde el punto de vista serológico, y posiblemente tienen diferentes exigencias ecológicas, siendo sus características físico-químicas similares. Son viriones de 170 x 70 nm, cuyo genoma es una molécula de RNA, de cadena simple, de PM 3,5-4,6 x 10<sup>6</sup> (1, 9, 10); en óptimas condiciones, en 60 minutos, el genoma del virus de Estomatitis Vesicular es completamente transcrito (11).

Los viriones están cubiertos por lipoproteínas que contienen peplómeros específicos para cada virus. Poseen nucleocápside tubular de simetría helicoidal (1, 9, 10).

En cuanto a la composición proteica de VSV, se observó la presencia de una proteína grande L (12), además de otras proteínas que integran la composición lipopro

teica de la envoltura, que contiene dos polipéptidos, M y G, que se insertan en la membrana plasmática de la célula huésped y se incorporan como brotes de la nucleocápside desde la superficie celular (13).

Los virus del grupo Estomatitis Vesicular son sensibles al desoxicolato de Na, al cloroformo, a la tripsina y a los ácidos. También lo son al Tween-eter, pero solamente en cultivo de tejidos y no en ratones (6, 14, 15).

Cuando Busseareau y colaboradores estudiaron los efectos de la tripsina y quimotripsina sobre la infectividad, morfología y propiedades antigénicas de las cepas Indiana y Alagoas en células BHK-21 (riñón de criceto lactante), la infectividad de la última no fue afectada, siendo resistentes alrededor de un tercio de sus proyecciones de superficie, mientras que fueron removidas todas las del VSI (16).

El pH óptimo para la sobrevivencia de los virus del grupo Estomatitis Vesicular es 7,4, ya que los valores bajos alterarían la correcta posición de las proteínas virales en la membrana nuclear (17). En aerosoles sobrevive con un 90% de humedad relativa (18). Son sensibles al calor y a los rayos ultravioletas.

Epidemiológicamente, el tipo Indiana es arbovirus (virus transmitido biológicamente por artrópodos) y esto se extiende a los tres subtipos: Indiana, Cocal y Alagoas.

El tipo New Jersey se considera posible arbovirus, pero aún falta la comprobación definitiva.

Estomatitis Vesicular ataca naturalmente a equinos, bovinos, porcinos, y circunstancialmente a los ovinos y al hombre, dependiendo de la predilección que cada subtipo tiene por las distintas especies (1, 6) (Ver tabla 2).

La distribución geográfica de VSI se extiende a las tres Américas, aunque en los Estados Unidos la mayoría de los brotes son causados por el tipo New Jersey. Aún hay áreas en Estados Unidos y México, y países de América del Sur como Uruguay, Paraguay, Chile y Guyana, donde Estomatitis Vesicular no ha sido observada (1, 6, 19) y tampoco hay gente que investigue esta infección.

Ambos virus pueden actuar en epizootias de enfermedades vesiculares solos ó coincidentemente con aftosa. Mason y colaboradores comunican que se aislaron en México, ambos virus, VSI y VSNJ, en un mismo animal (6)

Suelen estar afectados sólo los bovinos, sólo equinos, sólo porcinos, ó

bien dos ó las tres especies en un mismo predio. El hecho que estén infectados los equinos con una enfermedad vesicular es importante epidemiológicamente porque esto inclinaría hacia diagnóstico de Estomatitis Vesicular ya que Aftosa no afecta a esta especie.

En animales infectados naturalmente, el período de incubación es de 2 a 4 días, siendo la sintomatología muy similar a la de la Fiebre Aftosa. La temperatura se eleva por un breve período, y se caracteriza principalmente por la formación de vesículas en la boca, ubre, rodete coronario y espacios interdigitales. Hay salivación abundante, inapetencia. En los bovinos, a veces las lesiones sólo son papulares no llegando a formarse vesículas. Las lesiones curan rápidamente, pero los animales bajan de peso y hay disminución temporal de la producción de leche, ocurriendo en ocasiones la mastitis como complicación. Es común que predomine una localización para cada tipo de virus. VSI generalmente produce lesiones en la ubre de bovinos, mientras que VSNJ tiende más a lesionar las zonas podales. Prácticamente no hay mortandad y las secuelas son escasas en bovinos. Sino hay complicaciones, la recuperación ocurre en una semana. Las más frecuentes son infecciones bacterianas ó parasitarias secundarias; la mastitis y la miasis son ejemplo de ello.

En los cerdos son más frecuentes las lesiones podales, observándose cojera como signo principal (1, 6, 19).

Radeleff describe un caso clínico de encefalitis ocurrido durante un brote de Estomatitis Vesicular en caballos en Kerrville, Texas, año 1949. El primer caso observado fué una yegua que había estado alimentándose en un potrero pobre de pasturas; tenía protrusión de la lengua, y en la superficie dorsal se veían áreas necróticas y vesículas de una pulgada de diámetro aproximadamente. En los labios tenía lesiones similares a las producidas por ectima en la oveja. Además, observaron que a intervalos de alrededor de media hora, sufría varios ataques convulsivos, y hasta actitudes "tetánicas". También tenía espasmos clónicos musculares. Al fin, se recuperó y entonces enfermó otra yegua con igual sintomatología pero más violenta. Otro equino dió a luz un potrillo que tenía fuertes convulsiones, muriendo éste a las pocas horas. El mismo no evidenció lesiones vesiculares. Supuso el autor, basándose en un trabajo de Frank y colaboradores sobre infección experimental de caballos, bovinos y ovejas con virus del grupo Estomatitis Vesicular, que el agente

sería capaz de tener una actividad neurológica en determinadas ocasiones. Además, indicaba un posible vector: el *Stomoxys calcitrans*, presente en aquel lugar (20).

Es interesante analizar los cambios patológicos ocurridos en la lengua del ganado que contrae la enfermedad. Las lesiones comienzan como pequeñas manchas rojizas, ó como pápulas rosa pálidas ó blanquecinas, se van agrandando, progresando en forma de vesículas de 1 a 5 cm de diámetro; ellas son elevadas y se llenan con un fluído seroso claro amarillento. En poco tiempo, se rompen dejando algunos colgajos de epitelio hasta que se desprenden, quedando lesiones erosivas con fragmentos blanco parduzcos que quedan de la membrana mucosa rota, aún adherida a los bordes irregulares, semejando flecos (21, 22, 23, 24). El epitelio se regenera con rapidez en 1 a 2 semanas, si no han ocurrido complicaciones bacterianas.

No siempre se observan las vesículas; a veces, se ve un abultamiento ó engrosamiento del epitelio que puede ser fácilmente removido por raspado del mismo.

Sin embargo, la ausencia de vesículas típicas en muchos de los animales infectados naturalmente, podría ser debida a un desarrollo rápido, fragilidad y pronta ruptura de las vesículas (22, 23, 25, 26).

La histopatología de las lesiones típicas producidas por los virus del grupo Estomatitis Vesicular revela esencialmente edema intercelular, necrosis de células epiteliales e inflamación celular que principalmente consiste en granulocitos heterófilos y monocitos; si no hay invasiones secundarias, el epitelio se regenera en su totalidad (21).

Además de las especies susceptibles mencionadas, estudios realizados en Colombia revelaron presencia de anticuerpos neutralizantes para virus Indiana y New Jersey en marsupiales y varias especies de roedores, murciélagos, pájaros, insectívoros y omnívoros (27).

Los brotes de Estomatitis Vesicular generalmente ocurren de pronto en las temporadas cálidas con lluvias, pudiendo aparecer a la vez, en establecimientos bastante separados entre sí. En Estados Unidos, ocurren menos brotes en otoño y en tiempos fríos, desapareciendo súbitamente luego de las primeras heladas. Y así como hay áreas endémicas (costa sudeste de Estados Unidos), hay otras que son epidémicas, con apariciones cíclicas de la enfermedad que oscila entre 2 y 10 ó más años.

Los lugares con elevado porcentaje de humedad, aguas estancadas, de vegeta-

ción abundante, suelen ser endémicos para VSV. En cambio, áreas con aguas corrientes y arboledas y pasturas húmedas, coinciden con áreas epidémicas para Estomatitis Vesicular y esto se ha observado en otros países americanos, además de Norteamérica, por ejemplo México.

Cuando las áreas presentan epidemias, generalmente los bovinos y equinos manifiestan rasgos clínicos de la enfermedad. En cambio, cuando existen dichas manifestaciones en el hombre, cerdos y especies silvestres, las áreas se consideran endémicas (6).

Una cuestión con pobres respuestas es la sobrevivencia de los virus durante períodos interepidémicos. Es difícil creer en su supervivencia durante 10 años, cuando en ese lapso no aparece la enfermedad. Hay quienes sugieren que el origen de los brotes podría ser debido al movimiento de animales infectados, y aún de reservorios, si bien no hay ninguna especie señalada como reservorio. Pero no debe descartarse esa posibilidad, ni tampoco que existan aves migratorias que cumplan tal papel. Incluso, hay sugerencias que algunos insectos transmitirían los virus a través de grandes distancias (por ej. Lepidópteros) que viajan entre 2 a 6 semanas para recorrer grandes distancias (27).

Jonkers sugiere que otro factor de infección podría ser el pasto, y que el ganado se infectaría ingiriendo el mismo con virus, apareciendo con posterioridad lesiones en la mucosa bucal, o en pezones y patas al desplazarse por estos lugares contaminados (28). Esto explicaría la ocurrencia de los brotes en "manchones", la no difusión entre establecimientos y la escasa cantidad en animales estabulados y en porcinos, y la mayor incidencia en las estaciones lluviosas (6).

Además de afectar naturalmente a equinos, bovinos y cerdos, se sabe que el hombre también es susceptible y lo es a ambos virus. El período de incubación es de 1 a 3 días. Los síntomas son agudos, con similitud a la influenza. Hay temperatura durante 24 a 48 horas, cefaléa, mialgias, y dolor retroorbital, registrándose también algunos casos de orquitis. Pocas veces, se acompaña de vesículas bucales, en las manos, ó en otros sitios. En pocos días se recupera normalmente y no hay complicaciones, ni tampoco deja secuelas, quedando como antecedente de enfermedad, anticuerpos neutralizantes que alcanzan su nivel máximo en unas tres semanas, pudiéndoselos detectar también al año. Los anticuerpos fijadores de complemento alcanzan su pico en pocas

semanas y no persisten muchos años.

Es más frecuente encontrar respuesta serológica en los trabajadores rurales que en la población urbana, probablemente como resultado de mayor exposición al virus (1, 6, 19).

Los estudios realizados en Panamá evidenciaron altos títulos de anticuerpos contra los tipos New Jersey e Indiana, tanto en personas como en animales domésticos. A mayor edad de las personas, mayor prevalencia de anticuerpos, lo que podría ser debido al tiempo de residencia en áreas endémicas (29).

También para humanos, los posibles modos de transmisión son: por contacto con animales infectados, por picadura de artrópodos, por inhalación de aerosoles, por contacto con áreas escarificadas del epitelio, y en ocasiones, por introducción de aerosoles virales en los ojos, durante el trabajo de laboratorio (1, 6).

No obstante, hay muchas infecciones de trabajadores de laboratorio en donde la vía más probable de infección sea la respiratoria, por aerosoles que se inhalan como así también, por contacto con animales enfermos (zoonosis). Precisamente, en estudios realizados entre 1960 y 1961, en Panamá, donde es enfermedad de aparición anual, se demostró que el hallazgo de anticuerpos contra VSNJ en humanos fué mucho más frecuente en aquellos que trabajaban con bovinos, lo que permitió suponer que el contacto directo podría ser muy importante en la transmisión, además de la acción de los artrópodos (30). No se descarta la posibilidad de infección vía conjuntival en humanos y animales, pues a veces los síntomas generales van precedidos por irritación ocular (28).

Se ha reportado un aislamiento de VSNJ de moscas negras (*Simulium*) colectadas mientras se alimentaban de vacas clínicamente infectadas en Colombia (7), como así también aislamiento de cepas tipo Indiana de flebótomos en Panamá, informado por Shelokov y Peralta en 1967. Es posible que en algunas ocasiones, el aislamiento de cepas de virus de ácaros ó de familias de flebótomos ó simúlidos no signifique necesariamente que estos artrópodos sean vectores en la naturaleza. Por otro lado, en Trinidad hay trabajos que demostraron que hay roedores que portan el virus Cocal, lo que se basó en un aislamiento a partir de un roedor salvaje, de ácaros colectados del mismo roedor, y de la demostración de anticuerpos en roedores.

Pero los numerosos aislamientos de VSV realizados en simúlidos y mosquitos,

además de la multiplicación viral y la transmisión experimental por picadura, no dejan mucha duda que en la mayoría de los casos, los animales se infectan en la naturaleza por picadura de artrópodos (6, 7, 31).

Sin embargo, aún existen muchos interrogantes acerca de la ecología de los virus de este grupo y del conocimiento del ciclo básico de la infección.

En lo que concierne a las infecciones experimentales, ellas ocurren en vertebrados, embriones de pollo, artrópodos y cultivos celulares.

Los virus del grupo Estomatitis Vesicular son epiteliotropos en la naturaleza y neurotropos cuando se inoculan experimentalmente.

Estomatitis Vesicular Indiana, inoculado en ratones de 1 a 4 días de edad con una dosis de 0,025 ml de una suspensión de virus  $10^5$  por ml vía intracerebral (i.c. ó 0,1 ml vía intraperitoneal (i.p.) les produce encefalitis y mueren en 4 a 5 días posteriores a la inoculación. Lo mismo ocurre inoculando ratones de 3 a 4 semanas, con 0,03 ml vía i.c. Con la inoculación i.p. de 0,1 ml responden formando anticuerpos.

El criceto de dos días, inoculado con 0,02 ml vía i.p. muere en 1 a 2 días.

Cobayos destetados inoculados con 0,03 ml de virus vía intradermoplantar evidencian vesículas en ese lugar a los 2 ó 3 días, y si se inoculan con la misma cantidad pero vía i.c., mueren en 4 a 5 días (7).

En 1971, Miyoshi y colaboradores realizaron estudios neuropatológicos y de inmunofluorescencia de encefalitis experimental en ratones, post inoculación intracerebral e intranasal. La primera produjo mínimos cambios neuropatológicos, gran distribución de antígeno viral y cantidades importantes de virus infeccioso en tejido cerebral. El antígeno de VSV se encontró inicialmente en células cercanas del sistema ventricular, involucrando más tarde a casi todas las partes del cerebro. Posteriormente a la inoculación intranasal aparecieron primero lesiones necróticas y antígeno de VSV en los bulbos olfatorios, lóbulo piriforme e hipocampo. Al igual que rabia, otro miembro de la familia Rhabdoviridae, los virus del grupo Estomatitis Vesicular parecen replicar primariamente en los citoplasmas de las neuronas (32).

Muchos mamíferos salvajes desarrollan infección inaparente y anticuerpos subsiguientes a la inoculación subcutánea.

La mosca de las arenas (*Lutzomia trapidoi*) se infecta oralmente, produce multiplicación viral y transmisión transovárica de VSI 3 a 6 días más tarde; su posi-

ble rol en la transmisión natural del virus a otras especies animales es discutida (33).

También se encontraron anticuerpos para Indiana en animales arborícolas y semiarborícolas en Panamá (34).

La inyección intratorácica de virus en mosquito *Aedes aegypti*, va seguida de multiplicación viral, siendo la glándula salival el lugar más apto para mantenerlo.

Tesh y colaboradores demostraron la transmisión transovárica de VSI en mosquitos, lo que explicaría como el virus es mantenido en la naturaleza sin huéspedes vertebrados, pero la proporción de la transmisión transovárica es baja (35).

VSI replica y produce acción citopatogénica (ACP) en numerosas líneas celulares humanas, de animales mamíferos y aves, y también puede crecer en varias líneas celulares de insectos sin producir ACP (7).

En lo que a virus Cocal se refiere, cuando se inocula a ratones cualquiera sea su edad, mueren; inoculados cuando tienen de 1 a 4 días de edad con 0,02 ml de virus en suspensión  $10^{-7}$  por ml, vía i.c., mueren a los 2-3 días; 0,03 ml de virus  $10^{-6,2}$  vía i.p. los mata en 3 a 5 días. Ratones de 3 a 4 semanas, con 0,03 ml de virus  $10^{-7}$  vía i.c., mueren a los 3 a 5 días, mientras que 0,2 ml de virus  $10^{-3,2}$  vía i.p. los mata en 4 a 10 días.

En los ratones, produce destrucción de las células del canal ependimal de la médula espinal con pronunciada cariorrexis.

Embriones de pollo de 10 días, inoculados vía alantoidea, amniótica ó en saco vitelino, mueren.

Los cobayos inoculados vía intradermoplantar, desarrollan lesiones vesiculares y anticuerpos.

Es capaz de producir ACP en líneas celulares tales como HeLa, de riñón bovino, cultivo de tejidos de embriones de pollo, BHK-21 y MK.

La inoculación por punción en varias especies de mosquitos (*Anopheles*, *Culex* por ejemplo) permite la posterior transmisión por picadura.

*Aedes aegypti* alimentados sobre murciélagos infectados fueron capaces de transmitir el virus a ratones lactantes.

Estomatitis Vesicular New Jersey, inoculado a ratones de 1 a 4 días, con

0,03 ml de virus  $10^{-6}$  a  $10^{-8}$  por ml vía i.c., produce muerte en 2 a 3 días. Ratones de la misma edad inoculados vía i.p. con 0,1 ml de igual concentración de virus, mueren también a los 2 ó 3 días. Ratones de 3 a 4 semanas, inoculados con 0,03 ml vía i.c., mueren en 2 a 3 días; si la vía es i.p., responden generando anticuerpos.

Cricetos de 2 a 3 días, inoculados vía subcutánea (s.c.) con 0,1 ml de virus  $10^{-5}$  a  $10^{-9}$ , mueren en 1 ó 2 días. Cricetos de 6 semanas, inoculados por igual vía e igual dosis, responden con formación de anticuerpos. Si se instila intranasalmente virus en criceto adulto, muere en 5 ó 6 días.

Cobayos y hurones adultos inoculados vía intradermoplantar responden con formación de vesículas en el mismo sitio.

Son susceptibles muchos mamíferos salvajes y desarrollan infección inaparente y anticuerpos subsiguientes a la inoculación subcutánea.

VSNJ puede multiplicar en embriones de pollo; precisamente la cepa Hazelhurs fué aislada en huevos embrionados de gallina, de 10 días.

Este virus ocasiona ACP y formación de placas luego de 2 ó 3 días posteriores a la siembra en líneas celulares como fibroblastos de pollo (CF), Vero (células renales de mono verde) y BHK-21, HeLa, PK 13 (riñón de cerdo), entre otras (1,7).

En las células PK 13, el principal sitio de maduración son las membranas vacuolares intracitoplasmáticas; en cambio, para las células L y Vero, es la membrana plasmática (36).

Respecto a las células HeLa y BHK 21, el virus madura en sus membranas vacuolares intercelulares y en la membrana plasmática. Los ribosomas de células BHK 21 estarían íntimamente asociados con las nucleoproteínas de VSV, especialmente aquellas que están en las vesículas citoplasmáticas ó en las invaginaciones de la membrana plasmática (37).

Otra de las líneas celulares usadas con buenos resultados para producir virus del grupo Estomatitis Vesicular es la MDBK (riñón de bovino) con adición de suero completo humano y fetal de ternero (38).

Los cultivos celulares en monocapa de embrión de pollo inoculados con VSV producen pérdida de inhibición por contacto, cambios morfológicos, focos de transformación y células multinucleadas; estos cambios rápidamente desembocan en degeneración celular, al 4to. ó 5to. día (39).

Un análisis detallado de la relación VSV-células L revela la presencia de la nucleocápside viral en una fracción soluble del citoplasma de la célula huésped. La membrana aislada de estas células contiene proteínas de envoltura viral. Posiblemente, VSV penetra por la fusión de las membranas viral y celular, seguida por la liberación de nucleoproteínas en el citoplasma (40).

También se informó crecimiento sin ACP en líneas celulares de mosquitos *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus*. Además, cuando se inoculan *Aedes aegypti* vía intratorácica hay subsiguiente multiplicación y es capaz de transmitir el virus por picadura. En la glándula salival tiene el lugar más apto para mantener viable el virus (1, 6, 7).

También Mason informa experimentos con tábanos y mosquitos, quienes aceptaron el virus y lo transmitieron por cortos períodos a huéspedes de laboratorio, pero a juzgar por el corto período de infectividad (3 días), puede tratarse de transmisión mecánica y no biológica (6).

Por otra parte, la inoculación ó frotado de virus en mucosas bucales con abrasiones, y en la piel del rodete coronario ó de los pezones de bovinos ocasiona rápidamente lesiones típicas mientras la inoculación en otros sitios sólo puede inducir la formación de anticuerpos; en cambio, por piel intacta, la infección no ocurrió (40).

En los cerdos, la enfermedad puede difundirse por contacto. Inoculado el virus vía endovenosa, produce lesiones en las patas y el hocico. Pero en general, son susceptibles por diversas rutas de inoculación, y con dosis no mayores que las necesarias para infectar bovinos (6, 41, 42).

Las carnes contaminadas con virus del grupo Estomatitis Vesicular pueden producir lesiones a través de la piel y la mucosa bucal escarificadas, pero es improbable que la infección pueda ocurrir vía digestiva (43). Aún antes del desarrollo de vesículas, es posible hallar virus activo en saliva; es decir, antes de manifestar los síntomas, ya eliminan virus por saliva.

El período de incubación por la inoculación experimental de VSV a bovinos, generalmente es de 2 a 5 días, apareciendo vesículas en el lugar de la inoculación; es raro que el proceso generalice con la formación de vesículas secundarias (6).

Antigénicamente consideradas, las dos especies mayores (VSI y VSNJ) se di-

ferencian por falta ó muy poca relación cruzada en pruebas de neutralización de infectividad (44). Dentro de un mismo tipo, se sabe que Cocal se relaciona por Fijación de Complemento (FC) y Neutralización (NT) con Indiana, pero no cruza con VSNJ (1).

Los dos subtipos del tipo New Jersey, representados por Concan y Hazelhurst fueron establecidos, comparando en las cepas cuatro parámetros: neutralización cruzada de infectividad, hibridación cruzada de sus RNA, mapeado de los oligonucleótidos del RNA del virión e interferencia heterotípica por interferón defectuoso (45).

Y en lo que se refiere a respuestas serológicas de los animales expuestos a estos virus, en los equinos y bovinos experimentalmente infectados con VSNJ y VSI, los títulos de anticuerpos fijadores de complemento (FC) aparecen luego de la primera semana posterior a la inoculación pudiendo detectárseles durante unos meses más y, en algunos casos, hasta 1 ó 2 años después. Los títulos de anticuerpos neutralizantes (NT) también se pueden demostrar a la semana posterior a la inoculación, y suelen persistir por más de 8 años. Es notable que en 30 a 60 días luego de recuperarse de la enfermedad, muchos animales pueden ser re infectados experimentalmente con la misma cepa de virus, con aparición de características clínicas, a la vez que sus anticuerpos tengan títulos significativos (6).

En los casos en que existen caídas y elevaciones de los títulos de anticuerpos a través de varios años, la explicación se daría por la persistencia del virus en el huésped y por periódicas activaciones y subsecuentes retiradas del mismo a sus focos crónicos (46).

Los virus del grupo Estomatitis Vesicular son capaces de producir hemoaglutininas dependientes de pH y temperatura; Arstila y colaboradores, en 1968, produjeron hemoaglutininas en cultivo de células BHK-21 para VSI, usando como medio una solución salina balanceada enriquecida con albúmina bovina al 0,4 %, sembrando el virus en la dilución  $10^{-4}$ .

Las condiciones óptimas de hemoaglutinación se dan en frío, con pH ácido, de alrededor de 5,8 (47).

Otra técnica serológica útil para tratar de identificar antígenos en epitelios enfermos, es la inmunofluorescencia (1).

En lo que se refiere al uso de vacunas, las mismas han sido experimentales. En Guatemala, se vacunaron vacas lecheras con una vacuna preparada en huevos

embrionados, con ambos serotipos (VSI y VSNJ). Consistía en fluído alantoideo infectado y fórmolado (virus muerto) y los resultados fueron buenos (48).

Asimismo, durante una epidemia de Estomatitis Vesicular, la administración de virus vivo tipo New Jersey, redujo notablemente los casos de enfermedad en bovinos lecheros (6).

Respecto a la situación en Argentina, la primera vez que la enfermedad fué descrita clínicamente en este país fué en 1939, y lo hizo Baudou en equinos (49).

En noviembre de 1963, Wolfsteller comunica casos clínicos de Estomatitis Vesicular en equinos en el partido de Salto, Provincia de Buenos Aires, comprobándose lesiones vesiculares y en algunos casos, ulceradas en la mucosa bucal, lengua, ollares, labios y miembros; los enfermos estaban abatidos, con ptialismo y en algunas oportunidades, hasta con inflamación de ganglios submaxilares. Posteriormente, García Pirazzi y colaboradores aislaron el virus a partir del epitelio lingual de un equino enfermo. El virus resultó ser idéntico al subtipo Cocal del tipo Indiana (5, 8).

Es sabido que Estomatitis Vesicular es una infección que produce síntomas clínicos indistinguibles con los de Fiebre Aftosa, siendo Argentina un país endémico para esta última. Esto, más algunos fracasos de la vacunación antiaftosa motivaron este trabajo, orientado a la búsqueda de una supuesta acción de los virus de Estomatitis Vesicular en el centro sur de la Provincia de Buenos Aires.

## M A T E R I A L Y M E T O D O S

Area geográfica y laboratorio donde se realizó el trabajo: comprende el partido de Tandil, situado en el área centro-sudeste de la Provincia de Buenos Aires, República Argentina, y cuenta con una superficie de 493 500 hectáreas.

Es zona esencialmente de producción agrícola-ganadera, con 366 647 cabezas de ganado bovino, en el año encuestado (1979).

El clima en la estación cálida permite gran profusión de artrópodos (mosquitos, moscas, tábanos, etc.); existen sierras bajas integradas al sistema serrano de Tandilia; hay aguadas naturales (arroyos), varias especies de roedores silvestres y lluvias moderadas todo el año.

Además, año a año se registra gran cantidad de casos de Fiebre Aftosa, cuyo cuadro clínico es indistinguible con el de Estomatitis Vesicular, afección esta última de la que ya hay antecedentes en el país, aunque no en la especie que nos ocupa (5, 8).

El presente estudio se realizó en el laboratorio de Virología, situado en la Sección Chacras (Avenida Don Bosco y Japón) de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, a unos 7 km de la ciudad de Tandil.

Los lugares muestreados fueron 13 en total; los mismos corresponden, según el tipo de explotación, dos a cabañas, ocho a tambos, y tres a rodeos generales para cría y/o internada.

La ubicación geográfica del partido, la división arbitraria para su estudio y lugar de los establecimientos encuestados se observan en la figura 1, que ya fuera publicada en un trabajo realizado en este Centro (50) y que es el modelo usado para encuestas serológicas de bovinos de nuestra zona.

Sueros encuestados: se recolectaron para propósitos múltiples, 1279 muestras de sangre bovina en el transcurso del año 1979, desde el 6 de abril al 21 de noviembre.

En la tabla 3, se observa la cantidad de animales por zona encuestada, número por establecimiento y tipo de explotación.

En la tabla 4, se aprecia el número de animales discriminados por edad y sexo.

La sangre se obtuvo mediante punción yugular con una aguja esteril por cada animal, desinfectando antes la zona con alcohol y algodón. Se colectaron unos 20 ml de sangre por individuo en tubo de ensayo esteril.

Una vez en el laboratorio, se separaron los coágulos de las paredes del tubo, se dejaron a temperatura ambiente 24 horas, y después se centrifugaron; los sueros se almacenaron en envases plásticos con tapa a rosca y se rotularon para integrar el banco de sueros, que además, incluye muestras de otras especies animales y de humanos. La incorporación de los sueros al banco del laboratorio se acompañó de los siguientes datos: fecha de extracción, especie animal, raza, sexo, edad y ubicación del suero en congeladora. El almacenamiento para su conservación, se efectuó a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Asimismo, detalles del establecimiento, aspectos clínicos de los animales y otros datos de interés, se registraron en hojas adicionales correspondientes.

Virus usados: cepas de referencia: se obtuvieron dos semillas procedentes del Centro Mundial de Referencia para Arbovirus (YARU) enviadas gentilmente por el Doctor Jordi CASALS.

Una de ellas es la cepa Hazelhurst, subtipo homónimo del tipo New Jersey; la otra es la cepa SHNM, subtipo Indiana del tipo homónimo.

Las cepas se recibieron liofilizadas, consistentes en 10% de cerebro de ratón lactante infectado en 7,5% de albúmina bovina, 0,5 ml cada una.

VSI provenía del pasaje 7, mientras que VSNJ del pasaje 4 en cerebro de ratón lactante.

Una vez rehidratadas en solución tampón de fosfatos pH 7,2 más 0,75% de albúmina bovina, se constató la viabilidad de ambas semillas por inoculación a ratones recién nacidos, continuando con sus pasajes en cerebro de ratón lactante. Primero se trabajó con VSI y una vez realizada la provisión de virus, antígeno y antisueros, se abrió la semilla Hazelhurst.

Sueros patrones: del Centro Mundial de Referencia para Arbovirus de la OMS, se recibieron los sueros patrones correspondientes a las cepas de Estomatitis Vesicular, para comprobar su identidad. Llegaron todas liofilizadas con identificación de número de catálogo del Servicio del Instituto Nacional de Salud de Estados Unidos (NIAID, 1978-1979) (51).

Antígenos: fueron preparados en nuestros laboratorios. Cada una de las semillas se inoculó en ratones lactantes (0 a 5 días) con 0,02 ml por vía i.c. de una suspensión de virus en solución tampón de fosfatos pH 7,2 más 0,75% de albúmina bovina. A las 24 horas posteriores a la inoculación, se cosecharon enfermos y/o recién muertos y sus cerebros fueron extraídos para obtener el antígeno.

Los cerebros fueron procesados por el método sucrosa-acetona de la siguiente manera: se multiplicó por 4 el peso de los cerebros para calcular la cantidad de sucrosa al 8,5 % que debía agregarse. Se homogeneizaron los cerebros con la solución de sucrosa y se midió su volumen.

Con jeringa y aguja se goteó el homogeneizado sobre una cantidad 20 veces superior de acetona fría, mientras se agitaba suavemente. Se dejó sedimentar y luego se eliminó la acetona la cual quedó lechosa por la presencia de lípidos precipitados del cerebro; después, se agregó un volumen de acetona fría igual al extraído. Se dejó una hora para que el precipitado se disolviese, ayudando con una varilla de vidrio a reducirlo a polvo. Se dejó sedimentar y se descartó la acetona. El sedimento se secó en la bomba de vacío. El desecado fué hidratado con solución fisiológica, empleando 0,4 ml por cada ml de homogeneizado original y se guardó a 4°C; al día siguiente, se centrifugó durante 30 minutos a 5000 rpm. El antígeno es el sobrenadante, y fué guardado a -70°C, debidamente envasado y rotulado. Toda la operación fué realizada en frío y con materiales estériles (52).

Control de sistema: inmunosueros: para la preparación de inmunosueros se usó la técnica clásica de arbovirología en donde se sustituye el suero de ratón inmune por el fluido ascítico inmune producido en ratones adultos con el fin de obtener el sistema homólogo para determinar anticuerpos FC y NT (53).

Para obtener fluido ascítico, se inoculó Sarcoma 180 en la cavidad peritoneal de ratones previamente inmunizados con cada uno de los virus en estudio. Para esto, se preparó una suspensión de cerebros de ratones lactantes infectados con VSNJ (Hazelhurst) al 10% en solución fisiológica esteril, y se inactivó con Beta-propiolactona durante 60 minutos a 37°C. Se inocularon ratones adultos con dos inyecciones de 0,3 ml cada una por vía i.p. y espaciadas 21 días; al día 22º se inoculó por la misma vía, 0,2 ml de Sarcoma 180 fresco, recién extraído. A partir del 7mo y hasta el 11vo día posterior a la inoculación del Sarcoma, se cosecharon los fluidos

ascíticos provocados por el tumor, dejándose coagular; luego, se centrifugaron durante unos 15 minutos a 2000 rpm; el fluido sobrenadante fué llamado INMUNOSUERO.

Para hallar los títulos homólogos FC se realizaron reacciones en damero con diluciones crecientes de sueros y antígenos, comenzando de 1:4 con ambos.

La cepa VSNJ (Hazelhurst) obtuvo un título FC de 32/1024, donde el numerador de la fracción indica la dilución máxima positiva de suero y el denominador la dilución máxima de antígeno que reaccionara con tres ó más cruces.

Con el serotipo Indiana, la preparación de los sistemas homólogos fué semejante, siendo los títulos FC de 128/1024.

La identidad de los virus se probó y confirmó por FC frente a sueros patrones enviados por el Centro Mundial de Referencia para Arbovirus de la OMS.

#### Fijación de Complemento

Diluyente: se preparó una solución tampón de veronal, compuesta por ácido dietil barbitúrico (Barbital), barbital sódico, cloruro de sodio, cloruro de magnesio y cloruro de calcio en agua destilada, como es rutina en arbovirología (54).

Complemento: para obtenerlo, se sangraron cobayos por la vía intracardíaca. Se esperó a que se retrajeran los coágulos manteniendo los tubos en frío, y luego se separaron los sueros antes mezclados uniformemente y se fraccionaron en tubos en cantidades de 1 ml; luego fueron rotulados como complemento con número de tanda asignado, fecha de obtención, para almacenarlos a -70°C hasta el momento de usar.

Hemolisina: se obtuvo de la siguiente manera: se extrajo sangre de un ovino adulto en solución Alsever, la que está compuesta por dextrosa, citrato de Na, ácido cítrico y cloruro de Na en agua destilada; esta solución es un medio adecuado para impedir la coagulación de los glóbulos rojos, como así también para su conservación.

Los glóbulos rojos fueron colectados en la proporción de 2 a 4 partes por cada 10 ml de solución.

Luego de 24 horas a 4°C en heladera, se los centrifugó durante 10 minutos a 2000 rpm para eliminar el Alsever, quedando sólo los glóbulos rojos; luego, a éstos se los lavó tres veces en solución fisiológica centrifugando cada vez 10 minutos a 2000 rpm para obtener una concentración final del 30% en solución fisiológica.

Posteriormente, se dieron tres inyecciones de los glóbulos rojos así pre-

parados a un conejo adulto, espaciadas 7 días, siendo de 5 ml vía endovenosa las dos primeras y de 10 ml vía intraperitoneal la tercera.

A los 7 días después de la última inyección se extrajo sangre del conejo, operación que se repitió tres veces más, con espacios de 7 días.

Se separó el suero luego de cada sangría y se midieron sus títulos hemolizantes para glóbulos rojos ovinos. Para determinarlos se hicieron 10 a 12 diluciones dobles de hemolisina (también llamada amboceptor), partiendo de una dilución 1:100; se tomaron partes iguales de cada dilución y se les colocó partes iguales de glóbulos rojos de ovino al 2,5% (tal como se usaron en FC). Los tubos se dejaron a temperatura ambiente durante 15 minutos; luego se les agregó complemento diluído 1:30 ó 1:40 (que representaba un exceso de complemento); se agitaron manualmente y se colocaron a Baño María durante 30 minutos.

La dilución más alta de hemolisina capaz de dar hemólisis completa es el título de la misma, representando una unidad hemolítica. Los resultados indicaron que debía ser usada diluída 1:600 y 1:800, primera y segunda tanda respectivamente para que en la FC hubiera dos unidades hemolíticas presentes. Fué debidamente envasada, rotulada y luego almacenada a  $-70^{\circ}\text{C}$ .

Glóbulos rojos de ovino: fué usado el mismo procedimiento de recolección y lavado descrito anteriormente, aunque fueron llevados a una concentración final del 10% en solución fisiológica y en el momento de usar se llevaron al 2,5% en el diluyente para FC. Se usaron varias tandas ya que los glóbulos en Alsever no se guardaban por más de tres semanas, y lavados en solución fisiológica al 10%, no más de una semana.

Reacción de FC: para titular el complemento se mezclaron cantidades decrecientes del mismo con cantidades crecientes de diluyente; de acuerdo a técnicas ya establecidas (54), a partir de estas diluciones madres de complemento se hicieron titulaciones preliminares en tubos para determinar la dilución a usar en las pruebas que son de dos unidades FC.

Los sueros fueron probados en microplacas plásticas con fondo en U, de modo que con cada uno de ellos se efectuaron tres diluciones dobles comenzando de 1:4; cada suero se enfrentó al antígeno VSNJ (Hazelhurst) preparado con el método sucrosa-acetona descrito, el que fué usado en la dilución 1:128. Además, se utilizaron dos antígenos de cerebros infectados por virus antigénicamente no relaciona-

dos pero provenientes de la misma colonia de ratones, también tratados con sucrosa-acetona. Por último, una cuarta fila con diluyente para control de anticomplementariedad de suero.

Entre los sueros se incluyeron los experimentales controles de los sistemas homólogos correspondientes.

Una titulación similar a la preliminar pero llevada a cabo en las placas plásticas se hizo simultáneamente en cada reacción para titulación final de complemento, en donde también se usó la dilución madre para titulación frente a cada uno de los antígenos utilizados en la prueba, en la concentración máxima de cada uno de ellos.

Las mezclas suero-complemento-antígeno se incubaron durante la noche a 4°C; al día siguiente, se colocaron las microplacas a temperatura ambiente por 15 minutos. Después, se colocó la mezcla hemolítica que había sido sensibilizada durante 15 minutos a 37°C; las placas fueron puestas en el agitador por espacio de tres minutos y se incubaron a 37°C durante 30 minutos. Luego, se agitaron nuevamente y se llevaron a 4°C hasta el momento de su lectura, que se realizó sobre visor con espejo apropiado.

Para considerar positiva una reacción debe tener 3 ó 4 cruces de positividad (de 75 a 100% de glóbulos rojos sin hemolizar), siendo negativos los valores restantes.

Los sueros que resultaron positivos en la prueba panorámica antes descrita y los que reaccionaron con una ó dos cruces ó que resultaron anticomplementarios en una ó dos diluciones, fueron probados otra vez para esclarecer la situación; esta vez la reacción se hizo en damero, es decir, diluciones crecientes de suero frente a diluciones crecientes de antígeno, comenzando de 1:4 para ambos.

Neutralización: para esta prueba, se necesitaron la semilla, el suero homólogo, los sueros problemas y un huésped susceptible de laboratorio donde averiguar la presencia ó no de neutralización del virus.

Semilla: se tomaron ambas cepas en diferentes días de trabajo, SHNM y Hazelhurst, y se procesaron del siguiente modo: se colocaron 20 cerebros de ratón lactante infectado en un homogeneizador junto con 18 ml de tampón de fosfatos pH 7,2 más 0,75% de albúmina bovina. Una vez homogeneizados, se centrifugaron en frío durante 30 minutos a 10000 rpm. El sobrenadante fué fraccionado de a 0,5 ml y debidamente acondicionado

se guardó a  $-70^{\circ}\text{C}$ .

Sueros homólogos: eran los mismos que fueron usados como controles en las pruebas de FC.

Huésped: se utilizaron ratones adultos (de 4 a 8 semanas), puesto que la inyección i.c. de los virus del grupo VSV, les produce la muerte. Se usaron ambos sexos, trabajando por separado con cada una de las cepas.

Titulación de las semillas: se hicieron diluciones de la semilla en solución tampón de fosfatos con bpa 0,75%, desde  $10^{-1}$  a  $10^{-10}$ , y se inocularon grupos de 4 ratones por dilución, con 0,02 ml por vía intracerebral y se observaron diariamente por una semana registrando las muertes producidas. La titulación se hizo por el método de Reed y Muench y los títulos alcanzados fueron de  $10^{-6}$  para VSI(SHNM) y  $10^{-8}$  para Hazelhurst por cada 0,02 ml de inóculo. Se emplearon 100  $\text{DL}_{50}$  de cada una de las cepas consideradas para las pruebas de neutralización.

Prueba de NT: esta prueba se aplicó para los sueros que dieron resultados positivos y sospechosos en las pruebas de FC, como así también para los sueros provenientes de animales igual ó mayores de 12 años, los que por su edad habrían estado expuestos más tiempo a los virus del grupo VSV en caso de existir en la zona. Los mismos se emplearon sin diluir ni inactivar.

Para buscar anticuerpos neutralizantes en los sueros problema se mezcló cada suero con 100  $\text{DL}_{50}$  del virus correspondiente y las mezclas virus-suero fueron incubadas a Baño María 1 hora a  $37^{\circ}\text{C}$ . En cada prueba se usaron tandas de 10 a 25 sueros a analizar en donde se incluyeron los controles respectivos de sistema y de titulación.

Con cada mezcla virus-suero o virus-diluyente en caso de titulación, se inocularon 4 ratones, se observaron diariamente durante 7 días, aún cuando las muertes se produjeron generalmente entre el 2do y 5to día posteriores a la inoculación.

Según muriesen 1, 2, 3 ó 4 ratones, se consideró 25%, 50%, 75% ó 100% de mortalidad respectivamente, y se dan como positivos para neutralización aquellos sueros que protegieron 50% ó más.

Inmunodifusión: para realizar las pruebas de inmunodifusión (ID) se siguió la técnica descrita por Coggins y Norcross (Cornell Vet. Abril 1970) para Anemia Infecciosa Equina (55), en lo que se refiere a concentración de agar y soluciones

tamponadas ya que el antígeno y el suero control corresponden a VSNJ y VSI y son los mismos que ya describiera para las pruebas de FC.

Para llevar a cabo estas reacciones se usaron los siguientes elementos:

Antígenos: se usaron los preparados con el método sucrosa-acetona ya descritos, con cerebro de ratones infectados con las cepas de VSV en investigación.

Sueros controles: fueron utilizados los mismos que para las reacciones anteriores; es decir, fluídos ascíticos preparados en ratones.

Sueros investigados: fueron los mismos que se usaron en las pruebas de neutralización, sumando en total 92 sueros.

Solución tampón: se preparó con (OH) Na y  $H_3O_3B$  (hidróxido de sodio y ácido bórico) en agua destilada, resultando con un pH aproximado de 8,6.

Placas de agar: se efectuaron dos soluciones de agar noble, al 1% y 2% respectivamente, en la solución descrita.

Se utilizaron placas plásticas estériles de 4,5 cm de diámetro, en cada una de las cuales se colocaron 2 ml de agar al 2% para obtener una capa de 1,3 mm de altura. Una vez endurecido el agar, se les vertió encima 3 ml de agar al 1%, dejándose enfriar con la tapa corrida para permitir el escape de vapor. Se colocaron unas dos horas a 4°C en la heladera y luego se cortaron con el molde metálico que tiene 7 círculos de los cuales uno es central. Cada círculo del sacabocados tiene 8 mm de diámetro y una separación de 3 mm entre ellos. Cuando se hicieron los cortes se tuvo la precaución que el corte sólo interesara la capa de agar al 1%. El agar cortado fué extraído con una espátula roma.

Reacción de ID: antes de efectuar la encuesta serológica con los sueros sospechosos, se comprobó el buen funcionamiento del sistema colocando 0,1 ml de los antígenos puros correspondientes en la excavación central. En las excavaciones laterales, se colocaron los sueros homólogos correspondientes puros y diluídos en la solución tampón 1:2 y 1:4. También se enfrentaron los sueros así diluídos con antígeno hecho con un virus antigénicamente no relacionado y otro con cerebro de ratón normal, ambos extraídos también con sucrosa-acetona, para asegurarse de esta manera la especificidad del antígeno. Comprobada la bondad del sistema, la formación de las líneas de precipi-

tación fueron observadas con los sistemas homólogos y no con los controles normales en 24 a 48 horas aunque las lecturas se extendieron por más seguridad hasta 72 horas. Se consideró aceptable el sistema para ser aplicado a los sueros bovinos a investigar correspondiendo las mejores bandas a los antígenos y sueros no diluidos.

Luego, se procedió a probar los sueros problema (los mismos que se usaron en las reacciones de NT) con los antígenos SHNM y Hazelhurst, colocando para esto, los antígenos puros en los pocillos del medio. En las excavaciones laterales se colocaron alternadamente los sueros homólogos puros y en las excavaciones restantes los sueros problema, todos en cantidades de 0,1 ml por pocillo, probándose de este modo 3 sueros por placa. Todos los sueros problema fueron probados también frente a igual antígeno realizado con cerebro de ratón normal.

#### R E S U L T A D O S

Pruebas de FC: de los 1279 sueros bovinos encuestados frente a la cepa VSNJ(Hazelhurst) en la prueba panorámica, 18 reaccionaron parcial ó totalmente con el antígeno considerado, por lo cual fueron reanalizados en damero y en todos los casos los resultados fueron confirmados, pero consideramos positivos sólo aquellos que dieron FC con 3 ó más cruces en diluciones de 1:4 ó superiores y estos son 7 sueros cuyos títulos oscilaron de 1:4 a 1:8 (ver tabla 5), pues los restantes siquieron conservando sólo vestigios (menos de 3 cruces). Es decir, que de los 1279 sueros analizados, sólo 0,55% (7/1279) resultaron positivos por FC.

De estos 7 sueros positivos, 3 correspondían a terneros de 1 mes de la zona A de un establecimiento (lugar b) que acababa de tener una epizootia a etiología no identificada en terneros. Además, si bien habían nacido en Tandil, eran hijos de vacas procedentes de San Antonio de Areco (Provincia de Buenos Aires) y por la edad de estos terneros, no estamos en condiciones de saber si los anticuerpos provenían de sus madres ó si fueron adquiridos activamente. Y estos fueron los 3 únicos positivos de la zona A, en donde el porcentaje de positividad alcanzó al 2,52% (3/119).

En la zona D, sólo hubo un animal de 1 año positivo en el lugar f, lo que significa el 0,16% de positividad (1/608); mientras que en la zona C hubo 3 animales positivos en el lugar d, 2 de 3 años y uno de 4 años, que representa

un 0,72% de positividad (3/416).

En la zona B, que tuvo 136 animales muestreados, no se encontró ningún suero positivo, es decir fué del 0%.

Cuando analizamos los resultados de FC con respecto a tipo de explotación, encontramos que los 7 animales positivos eran de tambo y discriminados por sexo, 6 eran hembras y uno era macho.

En lo que se refiere a la raza, 6 eran Holando Argentino, y el restante era Pardo Suizo.

Respecto al tipo Indiana, todos los sueros dieron resultados negativos por FC, tal como se muestra en un informe anterior (56).

Pruebas de NT: se analizaron por esta prueba, 92 sueros, correspondientes a los que reaccionaron parcial ó totalmente por FC contra alguno de los dos subtipos de Estomatitis Vesicular usados en este trabajo y además, sueros negativos por FC provenientes de bovinos que tenían 12 ó más años de edad. Se hicieron por separado con New Jersey e Indiana.

Resultados con el tipo New Jersey: del total de los sueros probados por NT contra virus tipo New Jersey, protegieron al 50% ó más de los animales inoculados 11 sueros. De estos 11 sueros positivos por NT, 5 correspondían a la zona A, uno a la zona B, y 5 a la zona D. Todos, excepto un ternero de un mes de la zona A, eran hembras. Ocho pertenecían a tambo y 3 a establecimientos de cría.

En el sector A, de los 5 animales positivos, 3 de ellos tenían edades de 5 meses, 6 años y 11 años, respectivamente. Los otros 2 sueros positivos pertenecían a terneros de un mes, que formaban parte de un tambo donde había habido una epizootia en el área B, uno de 12 años 9 meses; y en el área D, la edad osciló de 2 a 8 años de edad y correspondían a un mismo establecimiento de tambo.

En cuanto a raza, 8 eran Holando Argentino y 3 eran Aberdeen Angus.

Otros 36 sueros de los 92 considerados protegieron a una cuarta parte de los animales inoculados y el resto de los sueros, que eran 45 fueron incapaces de proteger a ninguno de los animales inoculados (ver tabla 6).

Resultados de NT con el tipo VSI (SHMM): también se efectuaron pruebas de NT con la

cepa VSI (SHNM) utilizando los mismos sueros que para VSNJ (Hazelhurst) excepto uno por haberse agotado (ver tabla 7).

De los 91 sueros probados, 24 fueron los sueros que protegieron al 50% ó más de los animales inoculados. De estos 24 sueros positivos por NT, 4 correspondían a la zona A, 4 a la zona C y 16 a la zona D.

Veinte de ellos eran hembras y los 4 restantes eran machos; 3 de estos últimos pertenecían al lugar c de la zona C y el otro, al b de la A.

En la zona A, las edades eran de 20 días, 1 mes, 5 años y 6 años. Los dos primeros eran del mismo establecimiento (lugar b) que había tenido una epizootia en terneros, tal como se dijo al tratarse los resultados con la cepa VSNJ (Hazelhurst).

En el área C, las edades eran de 1 año 9 meses, 1 año 8 meses, 1 año 6 meses y 5 años; los tres primeros eran del mismo establecimiento, lugar c, y el otro del lugar d.

En la zona D, las edades eran de: uno de 1 año, 2 de 2 años, 4 de 3 años, el resto eran uno de 4, uno de 5, uno de 6, uno de 7, uno de 8, uno de 10, 2 de 12 y otro de 13 años, respectivamente.

De estos 24 animales positivos por NT, 19 pertenecían a explotación tambo, 2 a establecimientos dedicados la cría y los otros 3 a cabaña.

En lo que respecta a la raza, 19 eran Holando Argentino y 5 Aberdeen Angus.

Otros 27 sueros protegieron a la cuarta parte de los animales inoculados y los otros 40 sueros, no protegieron a ninguno de los animales inoculados.

Resultados con ID: bandas de precipitación fueron observadas únicamente en todos los sistemas homólogos controles y en tres sueros bovinos tanto contra VSI como contra VSNJ. Estos 3 sueros bovinos que presentaron bandas de precipitación con ambos antígenos considerados, también lo hicieron contra cerebro de ratón normal y con antígeno de cerebro infectado con un virus no relacionado, por lo cual, fueron consideradas como bandas de precipitación no específicas para VSV.

En resumen, los 92 sueros analizados por ID fueron negativos contra ambos serotipos de VSV.

## D I S C U S I O N

Hasta ahora, sólo sabíamos que un virus del grupo VSV, muy similar al virus Cocal había sido aislado de equinos en la Provincia de Buenos Aires (5, 8). Este último, como en la tabla 1 puede apreciarse, es un subtipo de VSI y actualmente sabemos que dentro del serotipo Indiana existen diferencias antigénicas entre los subtipos, similares a las que se encuentran dentro de los serotipos de Fiebre Aftosa (5). En este trabajo, no se tomó como prototipo del Indiana al Cocal, como hubiera correspondido pues no pudimos conseguir la semilla a tiempo, y hubo que limitarse a trabajar con aquellas que fué posible obtener del Centro Mundial de Referencia, que es el mismo subtipo Indiana para el tipo homónimo, y el Hazelhurst, para el tipo New Jersey.

A pesar que en un trabajo anterior (56) no pudo demostrarse en bovinos la presencia de anticuerpos FC para el tipo Indiana, en este trabajo, dosando anticuerpos neutralizantes que permanecen por más tiempo en circulación, quizás por vida en los animales infectados, sí fué posible demostrar la existencia de anticuerpos NT en una muestra seleccionada de 92 sueros, de los cuales 24 sueros fueron capaces de neutralizar en un 50% ó más a 100 DL<sub>50</sub> del prototipo VSI(SHNM), y de estos sueros cuatro animales de 3 a 13 años de edad protegieron al 100% de los animales inoculados. Esto habla de la presencia de VSI en el partido en estudio, puesto que estos animales son nacidos y criados en Tandil. La falta de anticuerpos FC para el mismo virus nos indicaría que en los dos últimos años, por lo menos, no ha habido actividad de este serotipo, pero es evidente que sí la hubo en años anteriores. Por ID todo fué negativo porque esta prueba es muy poco sensible cuando se trabaja con virus transmitidos por artrópodos.

En lo que se refiere a New Jersey, los resultados indican que algún subtipo de este grupo ha estado activo en este último tiempo, ya que 7 sueros tienen anticuerpos FC aunque en bajo título para Hazelhurst. Lamentamos no tener en nuestras manos el serotipo Concan, más apropiado que el usado para investigaciones en patología bovina.

Si bien es cierto que de los 7 sueros positivos por FC, 3 pertenecen a terneros de un mes nacidos en Tandil pero hijos de vacas procedentes de San Antonio de Areco y que estos anticuerpos podrían ser pasivos dada la edad de los animales, tam-

bién es cierto que los otros 4 sueros positivos corresponden a animales cuyas edades eran de 1 a 4 años, y estos sí fueron nacidos y criados en el partido de Tandil. De estos 7 sueros que fijaron el complemento frente a VSNJ, sólo uno fué positivo por NT, protegiendo al 75% de los animales inoculados, por lo que suponemos que el virus responsable de estos anticuerpos posiblemente no sea el subtipo Hazelhurst, sino Concan ó algún otro todavía no determinado. En cambio, hubo otros diez sueros aparte del mencionado que sin tener anticuerpos FC, sí tuvieron anticuerpos NT, y de estos diez, sólo dos eran menores de 6 meses (uno de 1 mes y otro de 5 meses), mientras que el resto tenían edades que oscilaban de 2 a 11 años, y estas infecciones pudieron haberse adquirido en cualquier época de la vida de los animales, aunque no muy recientemente, de lo contrario la FC hubiera resultado positiva. Estos resultados indican que los virus del grupo Estomatitis Vesicular no son exóticos en nuestro país y que la distribución geográfica asignada a los tipos VSNJ y VSI como virus propios del continente americano, no se aleja de la realidad, a lo cual debemos agregar que como en nuestro medio no son usadas vacunas contra Estomatitis Vesicular, los anticuerpos aquí descritos tuvieron que ser adquiridos naturalmente.

### C O N C L U S I O N E S

Se han encontrado anticuerpos NT contra ambos tipos, Indiana y New Jersey de Estomatitis Vesicular, en bovinos del partido de Tandil y aunque la línea de investigación seguida no permita dilucidar si los virus de este grupo presentes producen infecciones asintomáticas, actuando como cepas vacunantes ó son productoras de enfermedades vesiculares ó que clínicamente se confundan con las producidas por otros virus reconocidos en la zona, estamos en condiciones de aconsejar se continúe con este tipo de investigaciones, tratando de aislar virus de cuadros compatibles con esta enfermedad en animales domésticos y también de posibles vectores (Culicoides, etc.) ó reservorios en la naturaleza.

FIGURA 1. PARTIDO DE TANDIL, PROVINCIA DE BUENOS  
AIRES, ARGENTINA

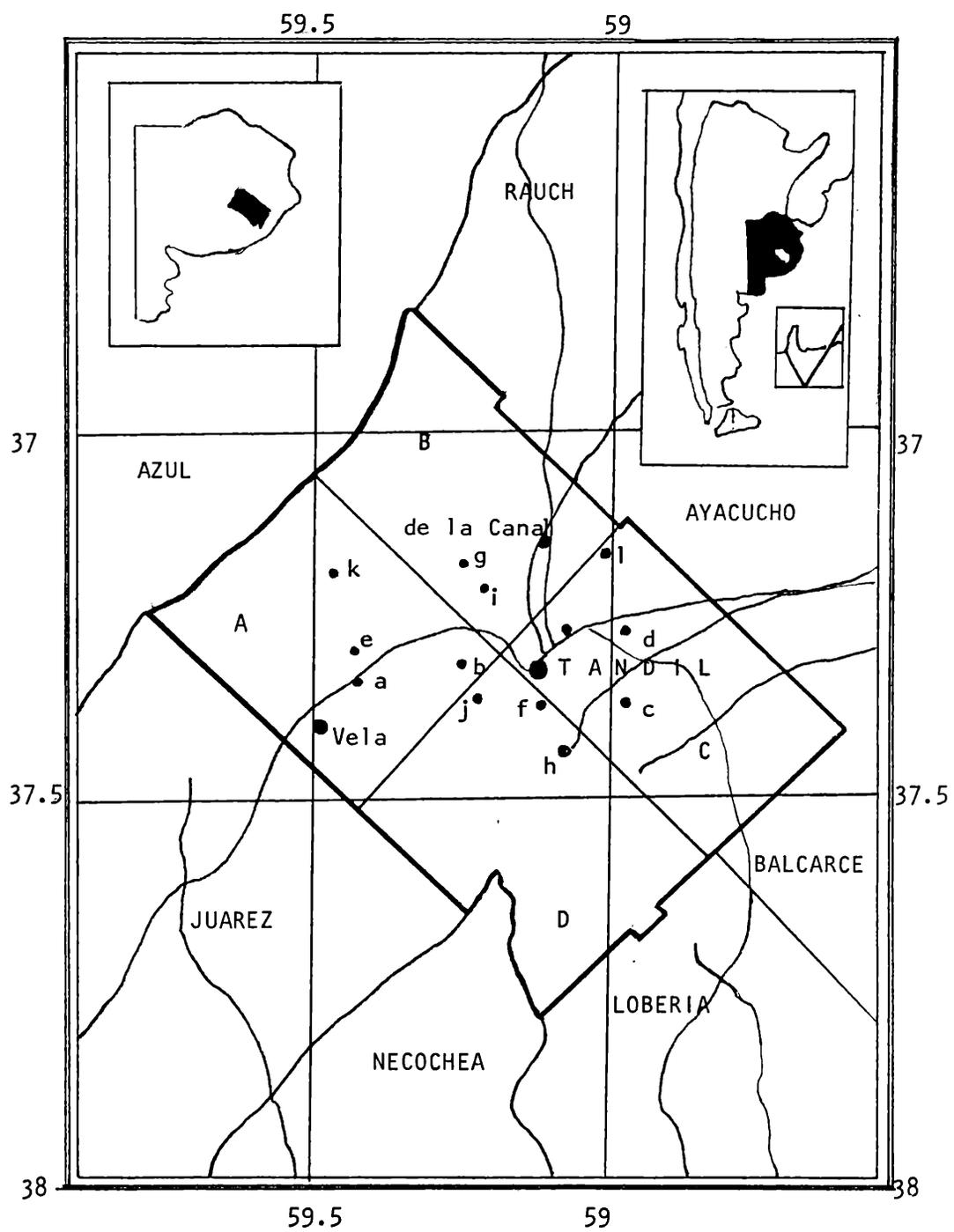


TABLA I. GRUPO ESTOMATITIS VESICULAR(VSV): COMPONENTES  
Y DISTRIBUCION GEOGRAFICA

TIPO	SUBTIPOS	DISTRIBUCION GEOGRAFICA
INDIANA (I) VSI	Indiana ----- Cocal* ----- Alagoas	Continente americano
NEW JERSEY (NJ) VSNJ	Concan ----- Hazelhurst	Continente americano
PIRY	Piry	Brasil
CHANDIPURA	Chandipura	India
ISFAHAN	Isfahan	Irán Rusia

\* Cocal: igual al virus aislado en Argentina de un equino.

TABLA 2. ESTOMATITIS VESICULAR (VSV): ESPECIES ANIMALES  
CON SUSCEPTIBILIDAD COMPROBADA

TIPO	SUBTIPOS	HUMANOS	BOVINOS	EQUINOS	SUINOS
INDIANA (I) VSI	Indiana	+	+	+	+
	Cocal		+	+	+
	Alagoas	+	+	+	
NEW JERSEY (NJ) VSNJ	Concan	+	+	+	
	Hazelhurst	+			+

TABLA 3. NUMERO DE ANIMALES POR ZONA, POR ESTABLECIMIENTO

ZONA	ESTABLECIMIENTO	# ANIMALES ENCUESTADOS	TIPO DE EXPLOTACION
A	a	13	tambo
A	b	42	tambo
A	e	33	cría
A	k	31	tambo
B	g	95	cría
B	i	41	cría
C	c	27	cabaña
C	d	289	tambo
C	l	60	tambo
C	m	40	tambo
D	f	30	tambo
D	h	569	tambo
D	j	9	cabaña
TOTALES	13	1279	

TABLA 4. NUMERO DE ANIMALES ENCUESTADOS DISCRIMINADOS POR EDAD Y SEXO

Edad en años y sexo														
0 < 1		1 < 3		3 < 5		5 < 7		7 < 9		9 < 11		≥ 11		TOTALES
♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	
17	34	29	248	5	436	14	170	9	193	2	73	-	49	1279

TABLA 5. SUEROS BOVINOS QUE REACCIONARON POR FC CON VSNJ (HAZELHURST)

ZONA	LUGAR	EDAD	SEXO	RAZA	FC PANORAMICA	FC DAMERO	TIPO DE EXPLOTACION
A	b	1 m	♂	HA*	8	8	tambo
A	b	1 m	♀	HA	4	4	tambo
A	b	1 m	♀	HA	4	4	tambo
A	k	4 a	♀	HA	4	V***	tambo
A	b	1 m	♂	HA	V	V	tambo
A	e	1 a 9 m	♂	AA****	V	V	cría
A	e	1 a 6 m	♂	AA	V	V	cría
A	k	2 a	♀	HA	V	V	tambo
C	d	3 a	♀	HA	8	8	tambo
C	d	4 a	♀	HA	8	8	tambo
C	d	3 a	♀	HA	4	4	tambo
C	d	12 a	♀	HA	V	V	tambo
C	d	7 a	♀	HA	V	V	tambo
C	d	2 a	♀	HA	V	V	tambo
C	d	2 a	♀	HA	V	V	tambo
C	d	2 a	♀	HA	V	V	tambo
C	d	12 a	♀	HA	V	V	tambo
D	f	1 a	♀	PS****	4	4	tambo
D	f	2 a	♀	HA	V	V	tambo

\* Holando Argentino

\*\* Vestigios

\*\*\* Aberdeen Angus

\*\*\*\* Pardo Suizo

TABLA 6. RESULTADOS DE PRUEBAS DE NI CON VSNU (HAZELHURST)

ZONA	LUGAR	EDAD	SEXO	RAZA	% PROTECCION	TIPO DE EXPLOTACION
A	a	11 a	♀	HA *	50	tambo
A	e	6 a	♀	AA **	75	cría
A	e	5 m	♀	AA	50	cría
A	b	1 m	♀	HA	75	tambo
A	b	1 m	♂	HA	50	tambo
B	g	12 a 9 m	♀	AA	50	cría
D	h	5 a	♀	HA	50	tambo
D	h	3 a	♀	HA	50	tambo
D	h	8 a	♀	HA	50	tambo
D	h	3 a	♀	HA	50	tambo
D	h	2 a	♀	HA	75	tambo
Otros 36 sueros	varios	varios	ambos	varias	25	varios
Otros 45 sueros	varios	varios	ambos	varias	0	varios

\* Holando Argentino

\*\* Aberdeen Angus

TABLA 7. RESULTADOS DE PRUEBAS DE NT CON VS1 (SHNM)

ZONA	LUGAR	EDAD	SEXO	RAZA	% PROTECCION	TIPO DE EXPLOTACION
A	e	6 a	♀	AA*	75	cría
A	e	5 a	♀	AA	50	cría
A	b	20 d	♀	HA	50	tambo
A	b	1 m	♀	HA	50	tambo
A	b	1 a 9 m	♀	AA	50	cabaña
C	c	1 a 8 m	♀	AA	75	cabaña
C	c	1 a 6 m	♂	AA	50	cabaña
C	c	5 a	♀	HA	50	tambo
C	d	12 a	♀	HA	75	tambo
D	h	5 a	♀	HA	50	tambo
D	h	7 a	♀	HA	50	tambo
D	H	6 a	♀	HA	50	tambo
D	h	3 a	♀	HA	50	tambo
D	h	8 a	♀	HA	100	tambo
D	h	4 a	♀	HA	50	tambo
D	h	2 a	♀	HA	100	tambo
D	h	3 a	♀	HA	50	tambo
D	h	2 a	♀	HA	100	tambo
D	h	3 a	♀	HA	50	tambo
D	h	1 a	♀	HA	50	tambo
D	f	3 a	♀	HA	75	tambo
D	h	10 a	♀	HA	75	tambo
D	h	13 a	♀	HA	100	tambo
D	h	12 a	♀	HA	50	tambo
Otros 27 sueros	varios	varias	ambos	varios	25	varios
Otros 40 sueros	varios	varias	ambos	varios	0	varios

\* Aberdeen Angus

\*\* Holando Argentino

## B I B L I O G R A F I A

- 1 - METTLER, Norma E. "Familia Rhabdoviridae: Estomatitis Vesicular. Rabia". Cuaderno 2 de Virología. Publicación de la Universidad Nacional del Centro de la Pcia. de Buenos Aires, Tandil, 1978, 45 pgs.
- 2 - FENNER, Frank: "Classification and nomenclature of viruses". Intervirology, vol. 7, n°1-2, 1976.
- 3 - GAIDAMOVICH, S. et al (1980): "Isolation of Isfahan virus in Turkmenia", Voprosy Virusologii (5), 618-620 (In Russian), 1980.
- 4 - COTTON, W.C.: "The causal agent of Vesicular Stomatitis proved to be filter-passing virus". JAVMA 23(1): 168-184, 1926.
- 5 - FEDERER, K.E.: "Vesicular Stomatitis Virus: the relationship between some strains of the Indiana serotype". Res. Veterinary Sci. 8 (1) 103-107, 1967.
- 6 - MASON, John: "La epidemiología de Estomatitis Vesicular". Bln Centro Panamericano de Fiebre Aftosa. 29-30:13-33, 1978.
- 7 - International Catalogue of Arboviruses", including certain other viruses of vertebrates. DHEW Publication, n° CDC 75-8301, 1975.
- 8 - GARCIA PIRAZZI, A.J., CAGGIANO, C.H. y ALONSO FERNANEZ, A.: "Estomatitis Vesicular. Constatación de la enfermedad y aislamiento del virus". Gac. Vet. 28(187), 8 1966.
- 9 - ORENSTEIN, J. y col.: "The shape of Vesicular Stomatitis Virus". Virology 71(1): 291-301, 1976.
- 10 - BERGOLD, G.H., and MUNZ, K.: "Ultrastructure of Cocal, Indiana and New Jersey serotype of Vesicular Stomatitis Virus", J Ultrastructure 17 (3/4):233-244, 1967.
- 11 - BISHOP, D.H.L. "Transcripción completa por la transcriptasa del virus de Estomatitis Vesicular". J Virol 11(2), 279-286, 1973.
- 12 - STAMPFER, M. and BALTIMORE, D.: "Identification of the Vesicular Stomatitis Virus large protein as a unique viral protein". J. Virol. 11(4):520-526, 1973.
- 13 - ANSHEL, D.: "Assembly of the Vesicular Stomatitis Virus envelope: transfer of

- viral polypeptides from polysomes to cellular membranes". VIROLOGY 76(1): 98-108, 1977.
- 14 - BROWN, F. and CARTWRIGHT, B.: "Infective virus substructure from Vesicular Stomatitis Virus". J VIROL (2): 368-373, 1967.
  - 15 - LIBERMANN, H. y col. "Some chemico-physical and biological properties of Vesicular Stomatitis Virus (type Indiana)". Arch Exp Veterinaermed 20(4): 839-847, 1966.
  - 16 - BUSSEREAU, F., CARTWRIGHT, B., DOEL, T.R. and BROWN, F.: "A comparative study of the surface projections of different strains of Vesicular Stomatitis Virus". J GEN VIROL 29(2): 189-198, 1975.
  - 17 - FISZMA, Marc, LEAUTE, J-B, CHANY, C. and GIRARD, Marc: "Mode of action of acid pH values on the development of Vesicular Stomatitis Virus". J VIROL 13(4):801-808, 1974.
  - 18 - SONGER, J.R.: "Influence of relative humidity on the survival of some airborne viruses". Appl. microbiol., 15 (1), 35-42, 1967.
  - 19 - ACHA, Pedro N. y SZYFRES, Boris. "Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales". Publicación científica n°354, OPS/OMS, EEUU, 1977, 708 pgs.
  - 20 - RADELEFF, R.F.: "Clinical encefalitis occurring during an outbreak of Vesicular Stomatitis in horses". Veterinary Medicine, Vol. XLIV, n°12, Diciembre de 1949.
  - 21 - SEIBOLD, H.R., V.M.D. and James B. SHARP, Jr., D.V.M.: "A revised concept of the pathologic changes of the tongue in cattle with Vesicular Stomatitis", Greenport, Long Island, N York, Am. J. Vet. Res. January, 1960.
  - 22 - MOHLER, J.R.: "Vesicular Stomatitis of horses and cattle", U.S.D.A., Bull.662, 1918 (revised March, 1940).
  - 23 - PATTERSON, W.C. and MOTT, L.O.: "Vesicular Stomatitis". U.S.D.A. yearbook of Agriculture, 182-186, 1956.
  - 24 - RUNNELS, R.A.: "Animal pathology". 5th. ed. Iowa. State College Press, Amer., 617-618, 1954.

- 25 - BRANDLY, C.A., HANSON, R.P., and CHOW, T.L.: "Vesicular Stomatitis with particular reference to the 1949 Wisconsin epizootic". Proc. Book, AVMA(1951):61-70.
- 26 - CHOW, T.L., HANSON, R.P., and Mc NUTT, S.H.: "The pathology of Vesicular Stomatitis in cattle". Proc. Book, AVMA (1951):119-123.
- 27 - ZULUAGA, F.N. y YUILL, T.M.: "Estudios ecológicos de los virus de Estomatitis Vesicular en Antioquia, Colombia". Bol of Sanit. Panam. 87(5), 1979.
- 28 - JONKERS, A.H.: "The epizootiology of Vesicular Stomatitis Virus: a reappraisal". Am. J. of Epidemiology. Vol. 86, n°2, 1966.
- 29 - TESH, R.B., PERALTA, P.H., JOHNSON, K.M.: "Ecological studies of Vesicular Stomatitis Virus. I. Prevalence of infection among animals and humans living in an area of endemic VSV activity". Am. J. Epidem. 90(3):255-261, 1969.
- 30 - BRODY, Jacob A., FISCHER, George F. and PERALTA, Pauline H.: "Vesicular Stomatitis Virus in Panama: Human serologic patterns in a cattle raising area". Amer. J. Epidemiology 86(1):158-161, 1967.
- 31 - Max THEILER and W.G. DOWNS.: "The arthropod-borne viruses of vertebrates: an account of the Rockefeller Foundation Virus Program 1951-1970". Yale University Press, 1973, 578 pgs.
- 32 - MIYOSHI, Koho, HARTER, Donald H., and HSU, Konrad C.: "Neuropathological and immunofluorescence studies of experimental Vesicular Stomatitis Virus encephalitis in mice". J. Neuropathol. Exp. Neurol. 30(2):226-277, 1971.
- 33 - TESH, Robert B., CHANIOTIS, B.N. and JOHNSON, Karl M. et al.: "Vesicular Stomatitis Virus, Indiana Serotype: multiplication and transmission by experimentally infected phlebotomine sandflies (*Lutzomia trapidoi*)". Amer. J. Epidemiol. 93(6): 491-495, 1971.
- 34 - SRIHONGSE, S. Am. J. Epid. 90:69-76, 1969.
- 35 - TESH, R.B., CHANIOTIS, B.N. and JOHNSON, K.M. "Vesicular Stomatitis Virus (Indiana serotype): transovarial transmission by phlebotomine sandflies". Science 175 (4029): 1477-1479, 1971.
- 36 - ZEE, Y.C., HACKETT, A.J. and TALENS, L.: "Vesicular Stomatitis Virus maturation sites in six different host cells". J. Gen. Virol. 7(1):95-102, 1970.

- 37 - ORENSTEIN, J., SHELTON, E. y LAZZARINI, R.A.: "Association of ribosomas with intracellular Vesicular Stomatitis Virus particles". *J. Virol.* 16(2):447-452, 1975.
- 38 - KOUROUPIS, G.M. and SABINA, L.R.: "Enhancement of Vesicular Stomatitis Virus production by serum". *Can J. Microbiol.* 17(9):1149-1155, 1971.
- 39 - ZHUDINA, A.I. y KUZNETSOV, O.K.: "Efecto citopático y transformativo de virus infectivos y oncogénicos en cultivos tisulares". *Iop Onkol.* 16(7):47-59, 1970.
- 40 - HANSON, R.P., ESTUPIÑAN, J., CASTAÑEDA, J.: "Vesicular Stomatitis in the Americas". *Bull. Off. Int. Epizoot.* 70:37-47, 1968.
- 41 - SCHOENING, H.W.: "Outbreak of Vesicular Stomatitis in swine and its differential diagnosis from Vesicular Exanthema and Foot-and-mouth disease". Circular n°734, USDA, Wash. D.C., 1945.
- 42 - HANSON, R.P.: "The natural history of Vesicular Stomatitis". *Bact. Rev.* 16(30):179-204, 1952.
- 43 - PATTERSON, W.C., JENNEY, E.W., HOLBROOK, A.A.: "Experimental infections with Vesicular Stomatitis in Swine". Transmission by direct contact and feeding infected meat scraps". *Proc. USLSA* . 368-378, 1966.
- 44 - CARTWRIGHT, B. and BROWN, F.: "Serological relationships between different strains of Vesicular Stomatitis Virus". *J. Gen Virol.* 16:391-398, 1972.
- 45 - REICHMAN, M.E., SCHNITZLEIN, W.M., BISHOP, D.H.L., LAZZERINI, R.A., Beatrice Sara T. and WAGNER, R.R.: "Classification of the New Jersey Serotype of Vesicular into two subtypes". *Journal of Virology*, vol. 25:1, pgs. 446-449, Jan. 1978
- 46 - SORENSEN, D.F. et al. "Resistance in cattle of serum-neutralizing antibodies of Vesicular Stomatitis Virus". *Am. J. Vet. Res.* 19(70):74-77, 1958.
- 47 - ARSTILA, R., HALONEN, P., and SALMI, A.: "Hemagglutinin of Vesicular Stomatitis Virus". *Archiv für die gesamte virus forschung.* 27, 198-208 (1969).
- 48 - CORREA, W.M.: "Prophylaxis of Vesicular Stomatitis. A field trial in Guatemalan dairy cattle". *Amer. J. Veterinary Res.* 25(107):1300-1302, 1966.

- 49 - de DIEGO, Alberto I.: "Guía para el estudio de las Enfermedades Infecciosas de los animales (aves y mamíferos), Buenos Aires, 1974, 752 pgs.
- 50 - ESTEBAN, Eduardo N. y METTLER, Norma E.: "Leucosis bovina: su importancia en el partido de Tandil", Gac. Vet., Buenos Aires, 1980, XLII, 355.
- 51 - Catalog of Research Reagents 1978-1980. National Institute of Allergy and Infectious Diseases, 1043 pgs., DHEW Publication N°(NIAID) 78-899.
- 52 - CLARKE, D.H. and CASALS, J.: "Techniques for hemagglutination-inhibition with arthropod - borne viruses". Am. Journal of Trop. Med. and Hygiene, 7(5), set. 1953.
- 53 - SARTORELLI, Alan C., FISCHER, David and DOWNS, Wilbur G.: "Use of Sarcoma 180/TG to prepare hyperimmune ascitic fluid in the mouse". Journal of Immunology, Vol. 96, n°4, 676-682, 1966.
- 54 - LENNETE, E.H., SCHMIDT, N.J.: "Diagnostic procedures for viral and rickettsial infections", 4°ed., 1969, APHA, 1969, 978 pgs.
- 55 - COGGINS, L. and NORCROSS, N.L.: "Immunodifusion reaction in equine infectious anemia". Cornell Vet. 60:330-335, 1970.
- 55 - DI SANTO, M. y METTLER, N.E.: "Estomatitis Vesicular, subtipo Indiana: ausencia de anticuerpos fijadores de complemento en bovinos de la provincia de Buenos Aires", Gac. Vet., Buenos Aires, T XLIII, n°362, pgs 559-564, 1981.



ARTICULO 11: La Facultad no se hace solidaria de las opiniones vertidas  
en una Tesis.