

EPIDEMIOLOGÍA DE LA ESTOMATITIS VESICULAR

J. MASON, D.V.M., M.P.R., Ph.D.

Comisión M~éxico Americana para la prevención de la Fiebre Aftosa.
México, D. F.

I. Introducción	104
II. Características clínicas	104
III. Agentes virales	105
IV. Diferencias entre los serotipos New Jersey e Indiana de Estomatitis Vesicular	105
V. Características epidemiológicas de la Estomatitis Vesicular	106
VI. Patogenia y transmisión de la Estomatitis Vesicular	108
VII. Producción de anticuerpos e inmunidad a la Estomatitis Vesicular	112
VIII. Vacunación contra la Estomatitis Vesicular	113
IX. Estomatitis Vesicular en poblaciones de animales silvestres	114
X. Estomatitis Vesicular en humanos	116
XI. El papel de los artrópodos en la transmisión de la Estomatitis Vesicular	117
XII. El virus de la Estomatitis Vesicular como virus de plantas	121
XIII. Un mecanismo alternativo de transmisión	122
XIV. Sobrevivencia interepidémica del virus de la Estomatitis Vesicular	125
XV. Preguntas a ser resueltas en relación a la epidemiología de la Estomatitis Vesicular	127

XVI. Propuestas para estudios ulteriores de campo	129
Referencias	130

I. Introducción

En la Estomatitis Vesicular (EV), el mecanismo de *infección*, el medio de transmisión y el reservorio del virus, aún son desconocidos (29) y a pesar de los estudios realizados a *nivel* de laboratorio, las características básicas del ciclo de transmisión y sobre vivencia del virus en la naturaleza, aún permanecen oscuras.

Este trabajo revisa parte de la literatura *existente* sobre EV particularmente la relacionada con patogenia, estudios de campo y análisis epidemiológicos, que puedan servir como base para considerar cuáles son los estudios requeridos para resolver el misterio de las vías de transmisión y reservorios del virus.

La EV ha *sido* reconocida como entidad clínica desde 1884 (2). El virus fue descrito por primera vez por Olitsky en 1926 (3). En 1926 y 1927 Cotton (4, 5, 6) identificó los dos serotipos principales del virus (New Jersey e Indiana) como causantes de la enfermedad. Desde entonces fueron identificados y descritos numerosos brotes de EV, particularmente en Estados Unidos de América y en menor grado, en México y en la América Central y del Sur (7, 8, 9, 10, 11, 1, 12, 13, 14, 15, 16 17 18).

II. Características clínicas

La EV produce lesiones vesiculares en la boca patas y ubres de bovinos, equinos y suinos. Con menor frecuencia causa una enfermedad gripal en el hombre. Esta agrupada entre las "enfermedades vesiculares" del ganado que incluyen a la Fiebre Aftosa (FA), al Exantema Vesicular del Cerdo y la Enfermedad Vesicular de la misma especie. Además de causar pérdidas económicas en hatos productores de carne o de leche, la enfermedad posee una importancia capital para las autoridades de salud animal, por su similitud clínica con las lesiones producidas por la Fiebre Aftosa. La apariencia clínica de la EV está bien descrita en textos generales (19, 20, 21). En los bovinos la EV prácticamente no produce mortalidad y las secuelas son escasas; las lesiones vesiculares de la boca curan rápidamente, pero en la mayoría de los animales afectados se observa pérdida de peso y una calda temporal en la producción de leche; ocurriendo a veces mastitis como complicación

(10). En los suinos son frecuentes las lesiones pódales y la cojera es a menudo el primer signo observado. Es rara la ocurrencia de casos clínicos en ovinos y caprinos y posiblemente estas especies no sean susceptibles a la infección natural por EV (10). Sin embargo, en Colombia, fueron registrados casos en ovejas (22). Los cambios patológicos producidos por la EV en bovinos y suinos, fueron descritos por Selbold y Sharp (23) y Cbow y McNutt (24), respectivamente.

III. Agentes virales

La etiología viral de la EV fue establecida por Cotton (4, 5, Y 6) en 1926. En el año siguiente, demostró que existían dos tipos de virus antigénicamente diferentes (denominados según el Estado donde fueron aislados por primera vez, como New Jersey e Indiana). En adición al aislamiento original del virus Indiana, hoy conocido como Indiana 1, recientemente fueron aislados dos nuevos subtipos: Cocal o Indiana 2 y Alagoas o Indiana 3 (25). Actualmente se clasifica el virus de la EV dentro de la familia *Rhabdoviridae* (26). Se trata de un virus que contiene ARN con forma cilíndrica de bala, con una punta redondeada y la otra punta plana. Sus dimensiones son de aproximadamente 173 nm de largo por 72 de ancho (27). Se cree que el virus no es capaz de sobrevivir mucho tiempo fuera de un huésped vertebrado o invertebrado (28).

IV. Diferencias entre los serotipos New Jersey e Indiana de Estomatitis Vesicular

A pesar de ser morfológicamente similares, los tipos New Jersey e Indiana de virus de la EV son serológica e inmunológicamente diferentes y parecen tener distintos requerimientos ecológicos. Existen también algunas diferencias clínicas entre los dos tipos de virus de la EV. El tipo New Jersey, produce en general cambios clínicos más severos, pudiendo tener un período de incubación menor. Algunos autores, sólo observaron lesiones podales en bovinos afectados con el tipo New Jersey (10, 14). La mayoría de los brotes en bovinos con lesiones exclusivas de mamas, parecen ser causados por el virus Indiana (14).

La mayoría de los brotes de EV son causados por el tipo New Jersey (14). En Estados Unidos de América, el virus Indiana sólo fue aislado en cuatro epizootias; las de 1925, 1942, 1956 Y 1964 (29, 30). El tipo New Jersey del virus de la EV sólo posee un serotipo; su distribución es más amplia en las áreas templadas de Norteaméri-

ca y parece estar restringido a huéspedes vertebrados (11). El virus Indiana fue aislado de artrópodos y vertebrados y posee por lo menos 3 serotipos, dos de los cuales parecen estar limitados a Sudamérica (Indiana 2 y 3).

La cepa de Indiana 2, denominada virus "Cocal" por Jonkers y col. (31) fue aislada de pulgas recogidas de ratas de arrozales atrapadas en la floresta Bush Bush en Trinidad y también cerca de Belém do Pará, en Brasil. En ningún caso se asoció este virus con estomatitis clínica, si bien se encontraron anticuerpos específicos para esta cepa en caballos en Trinidad (25).

En julio de 1964 se detectó un brote de enfermedad vesicular en mulas de una plantación de azúcar en el estado de Alagoas, Brasil. En esa oportunidad se encontró que durante los 2 meses previos habían ocurrido casos similares en otras partes del mismo estado y en el estado vecino de Pernambuco. Las mulas y los caballos se afectaron con mayor frecuencia, aunque también hubo casos bovinos y se hallaron anticuerpos específicos en el suero de los peones de la plantación, quienes acusaron haber tenido fiebre, dolores de cabeza y malestar en la época en que era investigado el primer brote en las mulas. La cepa en cuestión era serológicamente diferente, tanto del Indiana: 1 como del Indiana 2 encontrado en Trinidad y Argentina y fue denominado Indiana 3 (Alagoas) (32, 25).

Es poco común encontrar las cepas New Jersey en Indiana actuando concomitantemente en el mismo hato o aun en la misma área. Sin embargo en brotes recientes en México se aislaron ambos virus en la misma propiedad, en el mismo animal y aun en la misma muestra (14).

V. Características epidemiológicas de la Estomatitis Vesicular

Son bien conocidas las características epidemiológicas más importantes de la enfermedad (9, 10, 33, 28, 34, 35, 36, 15, 29). En los Estados Unidos de América los brotes de EV comienzan súbitamente durante temporadas cálidas particularmente en la estación de lluvias. Los brotes pueden aparecer casi simultáneamente en vastas áreas, en predios ampliamente separados entre sí. Las propiedades afectadas tienen una distribución irregular, pareciendo que la enfermedad diera grandes saltos a lo largo de la campiña. Frecuentemente no se observan casos en los predios adyacentes a los afectados.

La incidencia de la EV puede tener amplias variaciones entre los hatos afectados. Usualmente entre 10 y 15% de los animales poseen signos clínicos (14 15), si bien se han visto hatos con tasas de

ataque del 100%. En algunos brotes se producen casi exclusivamente lesiones bucales, mientras que en otros predominan las mamarías (37, 18). Los signos clínicos son observados mayormente en animales adultos siendo raramente afectados los bovinos y equinos menores de un año (9, 14, 38). Sin embargo se ha registrado EV en cerdos lactantes (38).

En los Estados Unidos de América el número de brotes disminuye en el otoño o después de un periodo de tiempo seco y frío y la enfermedad desaparece abruptamente después de la primera helada. Durante mucho años se observaron casos en bovinos, equinos y suinos en los llanos de la costa sudeste de los Estados Unidos de América, siendo la EV considerada endémica en aquella área. En otras áreas, particularmente los Apalaches en el valle del alto Mississippi y las Montañas Rocosas, se observan brotes periódicos en bovinos y equinos, posiblemente con ciclos que oscilan entre 2 y 10 o más años. En estos casos, la ocurrencia de la enfermedad es considerada epizootica.

El área endémica de México se encuentra en los llanos costeros alrededor de Veracruz y a lo largo del bajo del Istmo de Tehuantepec. En cambio en las zonas más altas en el interior del país ocurren con mayor frecuencia brotes esporádicos aislados (14). Existen, sin embargo, numerosas áreas en Estados Unidos de América y México donde la enfermedad aún no ha sido registrada. En América del Sur la EV no fue registrada en Bolivia, Chile, Guyana, Paraguay y Uruguay (39).

. En algunos predios se afectan solamente los bovinos, mientras que en otros sólo se observan equinos enfermos aun cuando en ambos casos los bovinos y los equinos se encuentren en contacto. Suinos en contacto con bovinos y equinos enfermos pueden permanecer sanos. En otros casos pueden afectarse solamente los cerdos, mientras que caballos y bovinos en contacto no demuestran signo clínico alguno.

Las áreas endémicas para la EV en los Estados Unidos de América parecen caracterizarse por terrenos planos con ciénagas, y cruzados por numerosos arroyos de agua estancada. La estación fértil es larga, la vegetación es frondosa y la humedad alta. Las áreas de ocurrencia epidémica se asocian con corrientes naturales de agua, con matorrales y árboles y con pasturas que fueron mojadas algunas semanas antes. Brotes de la enfermedad que ocurren en las zonas montañosas de pinos y matorrales hacia el fin del verano suelen ser precedidos por focos en las planicies altamente irrigadas o inundadas (29).

En México, el área endémica se caracteriza primariamente por un clima tropical lluvioso, con ausencia de estaciones frescas y secas o con breves periodos secos con una precipitación pluvial total elevada.

El área posee una temperatura anual media de 25° C, es húmeda o aun perhúmeda con un exceso de agua entre Junio y Noviembre, meses de mayor incidencia de la EV. En las regiones áridas y semiáridas de México o en las áreas montañosas del interior del país con temperatura media de 15 a 20° C, la EV sólo es observada en forma esporádica (40, 14).

La EV puede ser considerada endémica en climas cálidos en ciertas áreas donde reaparece anualmente y donde una gran parte de la población animal susceptible posee anticuerpos. La enfermedad es epidémica en climas más fríos donde aparece irregularmente y donde los animales susceptibles se encuentran en general libres de anticuerpos. Las infecciones de especies silvestres, del hombre y de los cerdos son características de las áreas endémicas. En las áreas en que la enfermedad es epidémica, la infección es reconocida primariamente como una entidad clínica de bovinos y equinos.

Numerosos estudios indican que las tasas de infección por EV son mayores en las áreas endémicas que en las de ocurrencia epidémica. En los llanos de la costa sudeste de EV, el 50% de los bovinos investigados poseían anticuerpos neutralizantes contra la EV, mientras que, inmediatamente por fuera del área, solamente el 10% fue positivo (35, 41). Similarmente en áreas de ocurrencia epidémica sólo se hallaron anticuerpos en animales del grupo etario que sufrió el brote epidémico. En Panamá, Shelokov no halló ninguna evidencia de anticuerpos contra el virus Indiana de la EV en humanos de áreas urbanas, pero el 35 % de los sueros fueron positivos en las áreas forestales (30, 42). Por otro lado, en los brotes epidémicos de EV la razón de casos clínicos sobre infecciones inaparentes, es más alta que en las áreas endémicas, debido presumiblemente a que un menor número de animales poseen una inmunidad preexistente.

VI. Patogenia y Transmisión de la Estomatitis Vesicular

En estudios de patogenia realizados se encontró que los vires de la EV no eran capaces de penetrar la piel intacta (2). Sin embargo, la inoculación o frotado del vires en abrasiones de las encías o lengua y en la piel de la banda coronaria o de las tetas de, bovinos producía lesiones típicas en forma rápida. La inyección en otros sitios resultaba usualmente en infecciones inaparentes inmunizantes. El frotado del virus sobre la mucosa intacta, así como su introducción en los alimentos o el agua de bebida, no produjeron infección (11).

El periodo de incubación por inoculación experimental del virus de la EV suele ser de 2 a 5 días. Las lesiones en el bovino apare-

cen en el lugar de la inoculación, pero raramente ocurre generalización con desarrollo de vesículas secundarias.

La inoculación de la EV en los cerdos provoca reacciones diferentes a las observadas en bovinos creyéndose que la patogenia de la enfermedad en esa especie sea de otro tipo. La EV puede difundirse en los cerdos por contacto -<le hecho se cree que ésta fue la vía de transmisión del virus en un gran brote ocurrido en 1943 en una planta de producción de suero contra la peste porcina (17). Cuando se inoculan cerdos por vía endovenosa, el virus de la EV produce lesiones en las patas y en el hocico. En las áreas endémicas de E.U. los cerdos se infectan al comienzo de la temporada de brotes, mientras que en las áreas de ocurrencia epidémica es poco común observar cerdos enfermos (43). Este hecho es de difícil explicación si se considera la elevada susceptibilidad de esta especie a la infección por diversas rutas (17). Por otro lado, la cantidad de virus necesaria para infectar cerdos no es mayor que la requerida por bovinos (10).

Si bien fragmentos de carne altamente contaminados con virus pueden producir lesiones de EV en cerdos con el hocico escarificado, la enfermedad no parece estar relacionada con la alimentación de residuos y la infección por vía digestiva no es considerada como un medio probable de transmisión (44).

La dificultad en reproducir la enfermedad clínica en bovinos por cualquier vía que no sea la inoculación local, ha llevado a la impresión de que la infección natural primaria también debe ocurrir en esta forma. La mayoría de los animales susceptibles puede ser infectada por la vía nasofaríngea, y en un estudio en que no se consiguió inducir lesiones bucales en un bovino expuesto a un aerosol de virus de la EV, el animal desarrolló anticuerpos neutralizantes y fue resistente a la infección local. Sólo se obtuvieron lesiones típicas en la boca con salivación y pirexia, mediante la inoculación intracutánea en la lengua y encías o por frotación del virus sobre una superficie mucosa con abrasiones (10).

Si bien la mayoría de las revisiones bibliográficas sostienen que es difícil de obtener la infección por contacto, existe evidencia considerable indicando que ella ocurre. Cottan (4, 5, 6) observó este tipo de difusión pero sólo durante el comienzo de la enfermedad. Patterson y col. (44) hallaron virus activo en la saliva colectada de cerdos infectados antes del desarrollo de vesículas. Sin embargo son escasos los informes sobre aislamiento del virus de la nasofaringe aUn cuando el virus es fácilmente transmitido por esta ruta por medio de aerosoles (45). Tesh y col. aislaron virus de tipo Indiana de 7 muestras de garganta de 8 monos infectados experimentalmente, pero no

tuvieron éxito con otras especies de animales silvestres (46). El virus New Jersey de la EV fue aislado de *lauchas* madres después de la inoculación de camadas de ratones lactantes (47) y se cree posible la transmisión de EV entre monos y otros vertebrados arbóreos~ por contacto directo (48).

Los operadores de laboratorio se infectan por diseminación del virus por la excesiva salivación de animales afectados o por contacto directo con tejidos cargados de virus cuando los animales son examinados o curados (45). Si bien es difícil aislar virus de humanos con EV (45), Fellowes y col. (49) aislaron virus de la sangre de un auxiliar infectado en el laboratorio de Plum Island. Los lavados nasofaríngeos colectados simultáneamente fueron negativos. Aunque se supone la existencia de transmisión de hombre a hombre, sorprendentemente no existe ninguna evidencia a favor de este proceso (45). En varias ocasiones se examinaron sueros de familiares de laboratoristas infectados para la detección de anticuerpos neutralizantes o fijadores de complemento, obteniéndose siempre resultados negativos (45).

Ha sido sugerido que la infección en humanos y aun en animales) puede ocurrir por vía conjuntival ya que en un número de casos humanos de EV los síntomas generales fueron precedidos por irritación ocular (45).

Una amplia gama de mamíferos pueden infectarse por el virus de la EV. Caballos adultos inoculados en el epitelio de la almohadilla plantar con virus de la EV desarrollan vesículas locales en 48 horas. Ratones adultos inoculados por vía intracerebral se vuelven paralíticos en 3 días y mueren hacia el 5' día (50, 51). Los ratones lactantes desarrollan una infección fatal cualquiera que sea la ruta de introducción del virus (52, 53).

En infecciones experimentales de animales silvestres de Panamá, Tesh y col. (46) hallaron que los mamíferos eran altamente susceptibles a la infección por EV (con excepción de dos, todas las 38 especies estudiadas poseían anticuerpos neutralizantes 12 días después de la inoculación del virus). La susceptibilidad de las diferentes especies al virus de la EV dependía mayormente de la edad. Con una excepción, los mamíferos adultos inoculados por vía subcutánea permanecían asintomáticos. Sin embargo, tanto el virus Indiana como el New Jersey causaban mortandad en una variedad de mamíferos lactantes entre 2 y 4 días después de la inoculación subcutánea. En varios de los animales moribundos se observaron signos del sistema nervioso central, pero en ningún caso aparecieron lesiones vesiculares.

Sabin y Olitsky (52, 54) desarrollaron experiencias clásicas sobre la patogenia de la EV en ratones, con el fin de determinar porqué los

animales adultos eran más resistentes que los jóvenes al virus de la EV. Si bien la inyección intracerebral del virus era fatal tanto para los jóvenes como para los adultos, encontraron que cuando el virus era inoculado por vía intranasal sólo sucumbían los ratones jóvenes (3 semanas), mientras que los mayores (1 año) eran resistentes.

Después de la instilación nasal de virus de la EV, tanto en ratones jóvenes como en adultos, no se pudo hallar evidencia de infección sanguínea o sistémica. En la mucosa nasal, no se pudo demostrar la presencia del virus una hora después de la instilación, pero fue abundante dos días después, así como también en el rinoencéfalo anterior. En el cuarto día se hallaron altos títulos tanto en la mucosa nasal como en el cerebro y los ratones jóvenes mostraron signos clínicos definidos de afección del sistema nervioso central. Los ratones adultos no desarrollaron signos clínicos con posterioridad a la instilación nasal, aun cuando el virus estuvo presente entre el 2° y 5° día en el rinoencéfalo anterior. Las experiencias demostraron que en los ratones jóvenes el resto del cerebro es invadido con muerte subsecuente con encefalomiелitis en 5 días, mientras que en los adultos la progresión del virus es detenida en algún lugar del rinoencéfalo anterior. En cuanto el virus de la EV alcanza el cerebro de los animales jóvenes por vía del primer nervio craneal, una barrera localizada preexistente en el rinoencéfalo anterior y desarrollada con la edad previene al virus de alcanzar el cerebro en los ratones adultos.

Con la inoculación de ratones jóvenes en los músculos de la pata, el virus de la EV, replica considerablemente en el sitio de inyección e invade la cuerda espinal por vía del nervio ciático en el término de dos días, dando lugar, como primer signo clínico de enfermedad, a una parálisis flácida en la extremidad inoculada a partir del cuarto día. El virus se difundió al resto del cerebro y los animales murieron. No se pudo hallar virus en la sangre. Ratones adultos inoculados en forma similar, no desarrollaron signos de enfermedad con ninguna de las dosis administradas. En vista de que la mitad de los ratones inoculados directamente en el nervio ciático (lesionando el nervio) desarrolló la parálisis típica, se sugirió que alguna barrera en el sitio de la inoculación intramuscular, impedía que el virus invadiese el nervio.

Similarmente, la inoculación intraocular del virus de la EV produjo encefalitis en ratones jóvenes, mientras que los adultos demostraron ser resistentes. El camino primario en los animales jóvenes fue probablemente a lo largo de los axones del nervio óptico, mientras que en los adultos, el virus encuentra algún tipo de barrera dentro del ojo y no consigue invadir el cerebro.

¿ Por qué son los ratones adultos generalmente resistentes a todas las formas de inoculación periférica del virus de la EV cuando su inyección cerebral es igualmente fatal para ratones de cualquier edad? Evidentemente, mientras que el virus de la EV inyectado intracerebralmente se difunde primariamente en un sistema "abierto" en contigüidad con los ventrículos, cuando la inoculación es periférica el virus progresa en los ratones jóvenes en un sistema cerrado de neuronas, pero no en los adultos debido a la presencia de barreras localizadas en el sitio de inoculación.

¿ Por qué son los ratones jóvenes más susceptibles al virus de la EV y por qué lo opuesto parece ser cierto en bovinos? Mientras que los terneros menores de un año son raramente observados con lesiones, la enfermedad clínica ocurre en bovinos adultos. De acuerdo con encuestas serológicas, en cuanto desaparece la protección conferida por los anticuerpos maternos, los bovinos jóvenes son tan susceptibles como los adultos a la infección por EV. ¿Por qué se observan entonces menos casos con lesiones en los animales más jóvenes? ¿ Será que los daños a los tejidos (abrasiones, inoculaciones) en presencia del virus de la EV producen algún efecto en animales más viejos que no es observado en los animales jóvenes? ¿ Explicará esto la difusión aparente del virus de la EV a lo largo de las líneas de ordeño en hatos lecheros (6)?

VII. Producción de anticuerpos e inmunidad a la Estomatitis Vesicular

En equinos y bovinos infectados experimentalmente con los virus de EV tipos New Jersey e Indiana, los títulos de anticuerpos fijadores de complemento, aparecen entre 6 y 8 días después de la inoculación, alcanzando su máximo en 9-16 días (55). Luego, declinan gradualmente y desaparecen entre los 50 y 110 días. Se pueden demostrar títulos seroneutralizantes en 6 y 8 días postinoculación, los que aumentan hasta alcanzar niveles relativamente elevados dentro de las 4 ó 5 semanas. El título de anticuerpos neutralizantes se mantiene alto pero fluctuante durante largo tiempo. En algunos casos los anticuerpos séricos neutralizantes contra la EV persistieron en bovinos hasta los 8 años (56).

Sorensen y col. (56) sugirieron que la fluctuación de los títulos de anticuerpos neutralizantes podría ser explicada por la persistencia del virus en el huésped y que los aumentos y caídas del título podrían deberse a periódicos "escapes contenidos" y subsecuentes retiradas del virus a sus focos crónicos. Sin embargo es interesante notar

que entre 30 y 60 días después de la recuperación de EV numerosos animales pueden ser re infectados con la misma cepa viral resultando en enfermedad clínica. Estos animales pueden poseer títulos significativos de anticuerpos en el momento de la reinfección. Los títulos existentes suben rápidamente después de la descarga de virus.

En estudios realizados en Georgia, Hanson y col. hallaron que 70% de los bovinos en edad de lactación, 35% de los novillos y 70% de los terneros de menos de 3 meses de edad, poseían anticuerpos neutralizantes del virus de la EV (28, 34). Los anticuerpos séricos de los terneros, eran sin duda alguna, reflejo de su transferencia con el calostro. En hámster, los anticuerpos maternos persisten en su cría durante 2 Ó 3 meses (46). En Georgia, 71% de lechones lactantes investigados poseían anticuerpos contra la EV.

En las áreas endémicas la severidad de la enfermedad en bovinos varía, siendo la mayoría de las infecciones subclínicas o desapercibidas. Experimentalmente se pueden inducir infecciones moderadas mediante la exposición de bovinos al virus por nebulización. El virus multiplica con inducción de anticuerpos pero sin aparición de signos de la enfermedad. Estudios serológicos demuestran que esto mismo puede ocurrir en condiciones naturales. En un hato del estado de Wisconsin, todos los bovinos poseían anticuerpos un mes después de la aparición de la enfermedad, pero sólo el 50% fue afectado clínicamente (2, 10).

VIII. Vacunación contra la Estomatitis Vesicular

La inoculación del virus vivo de la EV por vía intramuscular en bovinos, no produce lesiones, pero en la mayoría de los casos, estimula la producción de anticuerpos neutralizantes. Esta observación llevó al uso experimental del virus vivo de la EV por vía intramuscular como procedimiento para la vacunación de bovinos en Panamá (57), Georgia (57), Guatemala (58) y Perú (18). Sin embargo, el uso de la vacuna no está difundido en el presente. ~

La vacuna del virus vivo tipo New Jersey, administrada intramuscularmente durante una epidemia, redujo marcadamente el número de casos clínicos de EV en bovinos lecheros en lactación. El período de permanencia de la EV en hatos afectados fue disminuido marcadamente con posterioridad a la vacunación. Si bien mediante la vacunación no se alcanzó una protección absoluta de bovinos contra la descarga intradermoligual de virus se logró un grado significativo de protección. Noventa por ciento de lo animales vacunados desarrolla_ ron anticuerpos contra el virus NJ de la EV. Si bien la enfermedad

estaba activa en el área, ninguno de los bovinos vacunados desarrolló EV clínica, mientras que el 26% de los bovinos de hatos vecinos no vacunados desarrollaron lesiones vesiculares.

Durante una prueba de campo de la vacuna contra la EV, se observó que la enfermedad clínica era poco frecuente en hatos que tuvieran 50% o más de los bovinos vacunados. En hatos vacunados al principio de una epidemia, no se observaron casos clínicos de EV 7 días después de la vacunación. El virus vacunal no se difundió de animal a animal por lactación o por saliva. Cincuenta por ciento de los bovinos poseían aún anticuerpos neutralizantes un año después de una inyección única de vacuna. Sólo el 5% no mostró aumento de los anticuerpos luego de una segunda vacunación. En bovinos con anticuerpos preexistentes, el 76% tuvo aumento del título después de la primera vacunación. Se halló que el 60% de los animales ya poseía anticuerpos contra la EV antes de la vacunación. En hatos con historia clínica de la enfermedad, el porcentaje se elevó a 82. Aún en los hatos sin antecedentes de casos clínicos de EV, el 24% de los bovinos tenían anticuerpos específicos.

IX. Estomatitis Vesicular en poblaciones de animales silvestres

Se han realizado numerosas encuestas serológicas en poblaciones de animales silvestres con el fin de encontrar posibles reservorios del virus de la EV. Hanson y col., (35,43,59,60) y Jenney y col., (61,62) realizaron encuestas extensas en el sudeste de EU. Investigadores del (Middle American Research Unit) M.A.R.U. y del Laboratorio Gorgas Memorial, han llevado a cabo numerosas encuestas en Panamá (48, 63, 46). Jonkers (64, 31, 65) condujo encuestas en Trinidad durante la investigación de un brote de infección por virus Cocal en roedores silvestres.

Encuestas serológicas en el sudeste de E.U. revelaron anticuerpos en ciervos de cola blanca (60), coatis (34), pumas (59) y cerdos salvajes (43). Cuarenta y ocho por ciento de los coatis, 60% de los ciervos, 83% de los cerdos salvajes y 33% de los pumas sangrados poseían anticuerpos neutralizantes contra el virus de la EV. Encuestas realizadas por Karstad en la misma área demostraron que ciertas especies de aves costeras y marinas también poseían anticuerpos contra la EV.

Jenney y col. también hallaron evidencia de infección por virus EV en ciervos, coatis, marsupiales y ardillas (61, 62). Trainer y Hansen (66) encontraron 8% de los sueros de ciervos de Texas positivos. Asimismo, 43% de 122 pavos silvestres de Río Grande atrapa-

dos en un refugio del sur de Texas durante 1964-65 poseía anticuerpos contra el virus NJ de la EV, si bien no se registró enfermedad clínica en el ganado (67).

Se cree que es poco probable que los ciervos sean reservorios del virus de la EV puesto que la enfermedad experimental es de corta duración, e induce la formación rápida de altos títulos de anticuerpos neutralizantes (60). El coatí es altamente susceptible pero las infecciones son inaparentes no habiéndose detectado excreción del virus ni infecciones latentes.

Jonkers halló evidencia de infección por el virus Cocal (Indiana 2) en roedores de la floresta de Bush Bush en Trinidad durante las estaciones lluviosas de 1961 y 1962. La epidemia de 1961 fue de carácter explosivo y afectó alrededor del 65% de la población de roedores no arbóreos de la floresta (64,31,65).

Test y col. (68, 63, 46) estudiaron la prevalencia de anticuerpos neutralizantes contra la EV en varias poblaciones humanas y animales de Panamá. Entre los animales silvestres se encontraron anticuerpos contra el tipo Indiana principalmente de las especies arbóreas y semiarbóreas. Las tasas de infección más altas contra el tipo NJ fueron observadas en murciélagos, carnívoros y algunos roedores.

En Panamá también se realizó una encuesta serológica en gran escala para la detección de anticuerpos contra el virus Indiana en monos y otros vertebrados silvestres. Aproximadamente 75% de 267 monos capturados en la provincia del Darién, tenían anticuerpos neutralizantes, mientras que solamente 19% de 383 monos cercanos a la ciudad de Panamá fueron positivos (48).

Excluyendo los monos, los vertebrados arbóreos poseían tasas de anticuerpos más altas que los animales que viven sobre la superficie del suelo. Los perezosos de dos dedos y los puercoespines tropicales se encontraban entre los animales arbóreos con altas tasas contra el virus Indiana y monos centinelas expuestos en el área mostraron aumentos en sus tasas de anticuerpos (48).

La lista completa de vertebrados silvestres de Panamá que poseían anticuerpos contra la EV incluye una amplia variedad de especies terrestres, entre las cuales se mencionan diversos tipos de ratas y ratones, agouti, conejos, armadillos y marsupiales; especies principalmente arbóreas incluyendo cinco clases de murciélagos; especies estrictamente arbóreas como son los perezosos, puercoespines, ardillas, ratas, marmotas, varios tipos de monos, hormigueros pigmeos y kinkajou (*Potos candivolvulus*), y vertebrados semiarbóreos que incluyen mamíferos hormigueros, marsupiales, y coatís (63). Todos estos animales son encontrados en una amplia gama de hábitats y situaciones ecológicas.

gicas y en general sin contacto regular con animales domésticos o el hombre. Obviamente, el virus de la EV se mantiene en áreas selváticas en forma independiente del ciclo de infección de los animales domésticos.

X. Estomatitis Vesicular en humanos

La EV posee aparentemente una patogenicidad apreciable para el hombre. La infección ocurre comúnmente en los que trabajan en los laboratorios y entre las poblaciones rurales de áreas donde la enfermedad existe en el ganado y en huéspedes animales silvestres (69, 49, 70, 71,45,42,63).

Han ocurrido casos humanos en laboratoristas y en comerciantes de animales de estaciones experimentales que desarrollaban investigaciones sobre la EV. Con anterioridad al uso de medidas adicionales de seguridad, el 95% de los laboratoristas, el 100% de los comerciantes de animales y el 70 % de los becarios relacionados a proyectos de EV ~ en el laboratorio ARS de Beltsville, durante un periodo de 7 años, poseían anticuerpos contra los virus de la EV (15% frente al serotipo Indiana solamente, 40% sólo frente al NJ y 40% frente a ambos tipos) (45). De los 54 casos humanos diagnosticados serológicamente en Beltsville, 31 (57%) informaron síntomas clínicos y 16 mostraron titulas pero no enfermedad. Desde que se utilizan escudos faciales de plástico para proteger los ojos y filtros de aire descartables sobre la nariz durante la inoculación y observación de animales infectados, los casos ocurridos han sido raros.

La enfermedad en humanos es generalmente de tipo gripal, ocasionalmente severa y a veces asociada con vesículas orales y faríngeas. Muchos de los casos que ocurrían resultaron de la introducción de suspensión vírica en los ojos durante la pulverización de materiales en morteros, el examen de animales infectados y la colecta de materiales vesiculares. Presumiblemente los otros casos se debieron a la inhalación, ingestión o inoculación de virus virulento durante manipulaciones en el laboratorio o en el campo sin que hubieran razones especiales para implicar a vectores artrópodos mordedores.

En 1956 se detectaron anticuerpos contra el EV en sueros de 18 personas que vivían en haciendas al sudeste de Georgia donde se había diagnosticado la enfermedad en el ganado (72). Aproximadamente la mitad de las personas sangradas tenían anticuerpos significativos contra la EV (28). Posteriormente, Hanson y Karstad (34) demostraron anticuerpos neutralizantes en 25% de los sueros de 200 pacientes febriles del área rural endémica de Georgia. Algunas de las personas

expuestas a bovinos enfermos, durante una epidemia de EV en Nuevo México y Colorado, desarrollaron una enfermedad febril seguida por elevación de los títulos de anticuerpos contra el virus Indiana 1 (70Y). Al estudiarse los casos clínicos se demostró que las infecciones naturales de EV eran similares a las adquiridas accidentalmente en el laboratorio.

Estudios realizados en Panamá, demostraron que tanto las personas como los animales domésticos poseían, altos títulos de anticuerpos contra los tipos NJ e Indiana de EV (63). La prevalencia de anticuerpos en humanos aumentaba con la edad, sugiriendo una asociación directa entre las tasas de infección por EV y el periodo de residencia en áreas endémicas. Las diferencias geográficas y de especie observadas entre las tasas de anticuerpos para los virus Indiana y NJ implican que los dos serotipos de virus pueden tener ciclos diferentes en la naturaleza. La evidencia disponible sugiere que el tipo Indiana puede ser transmitido por artrópodos, mientras que el modo de transmisión del virus NJ no pudo ser determinado.

En 1960-61 se estudió un brote del tipo NJ en un hato lechero en el oeste de Panamá (69). Al encuestarse la población humana del área se observó que la presencia de anticuerpos neutralizantes, contra este virus, era considerablemente mayor (34-71 %) entre las personas que tenían antecedentes de haber trabajado con bovinos que entre aquellos que no lo habían hecho (7-15%). Se consideró que el modo posible de transmisión a los humanos fue por contacto con animales infectados o por artrópodos. Si bien ambos tipos de difusión pueden haber ocurrido, el contacto directo fue aparentemente más importante.

Utilizando muestras de sueros humanos colectados al azar en toda América Central para una encuesta global de enfermedades transmisibles, Johnson y col. informaron el hecho sorprendente que alrededor de la mitad de los adultos poseía anticuerpos contra los virus Indiana o NJ de la EV. En encuestas realizadas en unas 200 aldeas en toda América Central, el 48% de las personas investigadas tenía anticuerpos contra el virus NJ y 18% contra el Indiana. Se halló evidencia de infección con el tipo NJ en prácticamente todas las localidades estudiadas. El tipo Indiana, si bien no fue tan prevalente, tuvo una distribución geográfica similar (73).

XI. El papel de los artrópodos en la transmisión de la Estomatitis Vesicular

Debido a que los brotes de EV ocurren mayormente en los meses cálidos y lluviosos y en vista de la rápida difusión de casos en grandes

áreas y la asociación de la enfermedad Con predios boscosos y con corrientes de agua natural, se cree comúnmente que la EV es una enfermedad transmitida por artrópodos. Este hecho se ve ratificado por el aislamiento del virus Indiana de moscas *Phlebotomus* en áreas endémicas de Panamá (30, 68) Y de mosquitos *Aedes* en predios de Nuevo México donde habían ocurrido casos clínicos en bovinos (74). El virus Coca! (Indiana 2) fue aislado de ácaros de ratas de arrozales en Trinidad y de mosquitos *Culex* en Trinidad y Brasil (64, 31, 65). El virus tipo NJ fue aislado en una oportunidad de mosquitos oculares no hematófagos (*Hippelates pusio*) atrapados en una predio de Colorado donde hablan ocurrido casos clínicos de EV en bovinos (12,75).

En adición se observó multiplicación del virus Indiana en mosquitos *Aedes aegypti* con transmisión subsecuente a ratones (76, 77). Un hecho similar fue observado con el virus Cocal también en mosquitos (*Culex Pipiens quinquefasciatus* y *Tricosporon digitatum*) (31). Asimismo, el virus de la EV fue propagado *in vitro* en células de la polilla *Antheraea eucalypti* (78), en líneas celulares continuas de tejidos del *Aedes aegypti* y del *Aedes albopictus* (79, 80) Y en células de la mosca de los frutales, *Drosophila melanogaster* (81, 82). Recientemente se demostró el pasaje transovárico del virus de la EV tipo Indiana en moscas *Phlebotomus* (83).

En Panamá, el tipo NJ aUn siendo más endémico que el Indiana nUnca ha sido aislado de artrópodos. En cambio el virus Indiana ha sido aislado repetidamente de moscas *Phlebotomus*. Puesto que la leishmaniasis también es transmitida por *Phlobotomus* y se encuentra en gran parte en la misma área, se ha sugerido que esta enfermedad y la BV del tipo Indiana pueden tener requerimientos ecológicos similares (63).

La significación de un único aislamiento del virus NJ del *Hippelates pusio* es incierta ya que estos mosquitos oculares se alimentan de mucus y no son insectos hematófagos. Existe la posibilidad de que este insecto juegue un papel en la transmisión mecánica sin desarrollar un estado de portador con multiplicación de virus en sus tejidos (12, 62). Esto mismo puede aplicarse a las moscas *Phelobotomus*, un grupo de insectos que a veces se alimenta en heridas y secreciones Corporales. ¿ Es posible que un virus proveniente de lesiones en la boca y tetas de bovinos infectados, sea introducido por estas moscas en heridas o abrasiones causadas por espinas de plantas o rastrojos en bovinos susceptibles?

Experimentalmente se demostró que es posible la transmisión mecánica del virus tipo NJ por varias especies de dípteros picadores

(84). Ferris y col., encontraron que numerosas especies de mosquitos y tabánidos eran capaces de recoger el virus y transmitirlo durante breve tiempo a huéspedes de laboratorio. La transmisión fue aparentemente mecánica y no biológica, puesto que los insectos sólo permanecieron infectantes durante 3 días, no hubo incubación intrínseca y la especificidad de huésped fue escasa. Se observó que los insectos pueden transmitir el virus de la EV a los animales sin causarles signos aparentes, pero estimulando una respuesta serológica contra el virus.

A pesar de la evidencia acumulada a favor de la transmisión del virus de la EV por artrópodos, algunos investigadores han cuestionado considerablemente su papel como vectores. Fracasos repetidos en el aislamiento de virus de la EV de una gran variedad de moscas mordedoras y mosquitos en áreas endémicas y epidémicas, han causado dudas acerca de la hipótesis de insectos picadores como los principales vectores de la EV (29). Si la aparición simultánea de la enfermedad en un hato entero o en varios hatos es atribuida al trabajo de un vector, debería requerir el acceso a un reservorio infectante de un tamaño muy grande. Este tipo de reservorio aún no ha sido encontrado.

En una área de Panamá se detectó actividad del virus Indiana sin que durante el mismo período se consiguiera detectar virus en las moscas *Phlebotomus*. Si estas moscas son en realidad el único vector del virus Indiana de la EV se habría esperado una tasa de aislamiento de esos insectos mucho más elevada de la que realmente se observó (68). El fracaso en aislar el virus Cocal en Trinidad, con mayor frecuencia de mosquitos y ratones centinelas, sugirió que los mosquitos probablemente no son los agentes principales responsables de la transferencia de virus durante períodos epidémicos. El único aislamiento en ácaros *Gigantolaelaps* en Trinidad, tampoco es adecuado para confirmar a estos artrópodos como un vector principal (54). En su conjunto, estas observaciones implican que podrá haber otras fuentes no reconocidas de virus en la naturaleza. Si bien Tesh y col., (83) demostraron la transmisión transovárica del virus tipo Indiana en las moscas *Phlebotomus*, lo cual podría explicar como se mantiene el virus en la naturaleza con exclusión de huéspedes vertebrados, las tasas de transmisión transovárica hallados (20 a 30%) no son consideradas como suficientemente elevadas como para mantener el virus durante mucho tiempo en la población de insectos a menos que ocurra uno o más de los siguientes hechos: 1) Sobrevivencia selectiva de las moscas infectadas; 2) Transmisión del virus a muchas hembras, durante la inseminación, por machos infectados, o 3) La existencia de otra fuente de virus que ocasionalmente realimente el ciclo transovárico.

Jonkers informó que la epidemia de virus Cocal de 1961 en pequeños roedores de Trinidad, tuvo un parecido considerable con las epidemias de EV en bovinos. La aparición súbita de la infección en una gran proporción de la población susceptible poco tiempo después de copiosas lluvias en un ambiente boscoso; el fracaso en incriminar artrópodos picadores; la ausencia de viremia en los animales infectados y, finalmente, la afinidad de los agentes por la piel, sugirieron que la epidemia de este grupo de agentes era básicamente similar (65).

En un trabajo publicado en 1967, Jonkers (36) expresó una serie de objeciones a la hipótesis del origen por artrópodos de la EV:

1) Si las lesiones típicas en bovinos y equinos son producidas exclusivamente en los sitios de abrasiones y cortes sobre la piel y mucosa de la boca, por ejemplo, es difícil imaginar los hábitos picadores de un vector responsable por esta ocurrencia.

2) Si un vector artrópodo es responsable, ¿por qué se afectan los animales de algunos potreros ampliamente separados, mientras que los de potreros adyacentes no se infectan?

3) La aparición súbita de casos clínicos en una gran proporción del hato, a veces en el mismo día (1), requeriría de un gran número de vectores infectados y presumiblemente de una extensa epidemia en las especies silvestres. Si la enfermedad fuera difundida por vectores, sería más probable que la epidemia en los animales silvestres se volcara en forma más gradual hacia el ganado.

4) Los suinos a menudo no son afectados durante epidemias aun cuando estén en contacto con bovinos y equinos (10, 15). Esto es difícil de conciliar con una enfermedad que se transmite por vector, a menos que se postule que el vector pica a los bovinos y equinos, pero no pica a los sumos.

5) Similarmente, la escasez de casos en ganado estabulado es difícil de explicar si la enfermedad es transmitida por vectores, ya que es común hallar vectores hematófagos en los establos.

6) La densidad de la población del ganado en un área no parece ser un factor importante para la difusión de la EV (9, 33). Este hecho tampoco es consistente con una enfermedad originada por vectores.

7) Si las lesiones son causadas por la introducción del virus por la picadura de un vector en el sitio de las lesiones, ¿por qué se encuentran solamente lesiones bucales en algunos hatos y en otros sólo lesiones en las tetas?

8) Salvo una excepción (74), los intentos de aislar virus de artrópodos atrapados durante brotes en E.V. no han tenido éxito hasta el presente (59). De hecho aun cuando se aisló virus de posibles

vectores, como en el caso de Trinidad, cuando se halló virus Cocal en ácaros y mosquitos, en relación a una epidemia en roedores campestres, ninguno de estos vectores fue considerado como el probable responsable de la diseminación extensiva del virus (65). En Panamá se sugirió que la tasa de aislamiento de virus de las moscas *Phlebotomus* era demasiado baja como para explicar el elevado nivel de infección por el virus Indiana de las poblaciones humana y animal (68).

9) Una de las mayores dificultades en apoyar la hipótesis de que la EV es una enfermedad originada por artrópodos, reside en que, en estudios experimentales, la viremia producida en bovinos, equinos y roedores, es de corta duración y de títulos bajos (28, 85). En Trinidad la epidemia de virus Cocal en roedores, no estuvo acompañada de una viremia suficiente como para infectar insectos hematófagos con regularidad (64). Hasta el presente no se encontró para la EV ningún huésped animal que demuestre una viremia de duración y título suficiente para infectar regularmente un vector hematófago. Existen algunos resultados experimentales que pueden explicar esta anomalía. Los estudios de depuración del virus (86) han demostrado que las partículas virales de EV son removidas eficazmente de la sangre por las células fagocíticas del sistema retículo endotelial. En el hombre el virus del tipo Indiana es absorbido, multiplicándose diferencialmente en los monocitos, presumiblemente la forma circulante de los macrófagos fijos tisulares. Desde que estas células parecen ser importantes como procesadoras de la información antigénica necesaria para iniciar una respuesta inmunológica, la formación de anticuerpos luego de la infección, es acelerada y no se acompaña de un período de significativa viremia. Este cuadro fue observado en infecciones experimentales de bovinos, equinos y una variedad de pequeños mamíferos (87, 73).

XII. El virus de la Estomatitis Vesicular como virus de plantas

En varios brotes de EV las lesiones ocurren predominantemente en un solo lugar del cuerpo, tal como la boca o las tetas. Esta observación combinada con el hecho de que el virus de la EV no atraviesa la piel íntegra, ha sugerido la posibilidad de que sea necesaria una solución de continuidad que permita la entrada del virus, como rasguños por breñas y zarzas en la boca o las tetas. De acuerdo con esto, Jonkers (36) formuló una hipótesis que sugiere que el virus de la EV ya se encuentra en el propio pasto, antes de que aparezcan los primeros casos, siendo puesto en contacto con el ganado por la ingestión de pasto infectado con virus que resulta en la aparición de lesiones

específicas en la boca, siempre que el virus sea inoculado en la mucosa o por caminar a través de una área en la cual el virus se halle presente, con la producción de lesiones en las tetas o las patas.

Jonkers postuló que la consideración del pasto como la unidad epidemiológica explicaría la distribución de los brotes en forma de manchones solamente se afectan algunos potreros, la ausencia de difusión de predio a predio y la escasez de casos en animales estabulados -en los casos que ocurren en lotes de ganado alimentados con forraje verde, el virus sería introducido supuestamente con el forraje-. Esta hipótesis explicaría también la ausencia de difusión por el solo contacto, la ocurrencia simultánea en grandes áreas, la mayor incidencia en la estación lluviosa relacionada de alguna forma al crecimiento o disponibilidad de algún agente en los pastos y la menor incidencia en suinos.

En estas mismas líneas de pensamiento, McDerimid sugirió en 1951 que el virus de la BV crece en ciertos campos como un saprófito y que la infección podría ser transmitida al ganado por medio de rastros (88). Johnson y col. (73) han llegado a proponer que el virus de la BV es básicamente un virus de plantas lo cual es sugerido por la similitud morfológica del virus de la EV con ciertos rhabdovirus con forma de bala que infectan plantas y que es transmitido a los vertebrados por las moscas (*Phlebotomus*) básicamente chupadoras de jugos vegetales o por algunos insectos no picadores, como los *Aphideos* ~pulgas de los vegetales que transmiten ciertos virus de plantas que podrían pasar el virus a ciertos animales domésticos al ser ingeridos con los alimentos vegetales. Propusieron, además, que en su forma vegetal, el virus posee una doble cubierta sobre la partícula que lo hace no infeccioso para vertebrados. El virus podría ser convertido en una nueva forma, de cubierta simple, por pasaje en insectos y de esta forma sería infeccioso para vertebrados.

~ A pesar de la especulación acerca del virus de la EV como virus de plantas, aún no se han realizado aislamientos del mismo en plantas o insectos de plantas como los *Aphideos*.

XIII. Un mecanismo alternativo de transmisión

Si bien la hipótesis de que el virus de la BV, es un virus de plantas, es en cierta forma más consistente que la sugerencia de que es una enfermedad originada por artrópodos, aún persiste una serie de preguntas sin la debida respuesta. Además de afectar bovinos, equinos y cerdos, la EV está ampliamente distribuida en la población animal silvestre de ciertas áreas y sería difícil de explicar la infección de

estos animales, sobre todo las especies arbóreas y semiatbóreas, por medio del contacto con el virus, en pasturas. Esta misma pregunta surgiría para explicar la fuente de brotes en manadas de cerdos estabulados no alimentados con forrajes verdes. Sería más difícil aun explicar la ampliamente difundida infección del hombre, si fuera necesario el contacto con pastos infectados.

Una fuente de confusión puede ser, que las epidemias de EV, en bovinos y equinos, hacen su aparición dramática con el súbito, prácticamente simultáneo, aparecimiento de cientos de casos clínicos de enfermedad vesicular, dispersos en un gran área. Puesto que las lesiones en la boca, patas o tetas son difíciles de producir experimentalmente, a no ser por inoculación del epitelio o contacto en la mucosa escarificada con el virus de la EV, se asume que este mismo proceso ocurre en la naturaleza, y el sitio más lógico para que la infección tenga lugar es el pasto.

En realidad, los casos de EV con lesiones constituyen una pequeña minoría del total de infecciones. Sobre la base de encuestas serológicas en animales domésticos y silvestres y en humanos, la gran mayoría de las infecciones parecen ser inaparentes y asintomáticas. Si, por las razones antes mencionadas, estas infecciones no pueden ser explicadas simplemente por el contacto con el virus en los pastos o por difusión por medio de insectos vectores, ¿qué otros mecanismos de transmisión pueden ser considerados? Otra explicación es que la transmisión tiene lugar por contacto directo, muy posiblemente por la vía nasofaríngea.

De acuerdo con esta última hipótesis, el principal mecanismo de transmisión para la EV sería la difusión respiratoria por contacto normal, siendo la gran mayoría de las infecciones inaparentes con la persistencia del virus en el huésped animal durante largo tiempo, posiblemente en una forma oculta. La aparición de las lesiones vesiculares típicas en el animal infectado, podría ocurrir entonces de alguna manera análoga a lo que ocurre en humanos con las infecciones crónicas por *herpes simplex*, en las que las erupciones herpéticas aparecen cuando la resistencia local se ve reducida por diversos factores inespecíficos.

Si bien esto podría explicar lo que ocurre en algunos casos individuales, se requiere una hipótesis adicional que considere la ocurrencia simultánea en una amplia región de un gran número de casos clínicos. La base razonable para este fenómeno es que uno o más factores ambientales, presumiblemente climáticos, provocan de alguna forma la producción de lesiones vesiculares por el virus, de animales previamente infectados. La distribución en forma de manchones de los hatos afectados por EV, el diferente grado de severidad de la enfer-

medad para diferentes hatos involucrados, y la diversidad de localización exclusiva de las lesiones en boca, patas o tetas pueden depender de algún tipo de respuesta diferencial y graduada a las influencias o factores ambientales por parte de los bovinos crónicamente infectados con EV.

Existe alguna evidencia experimental (89) sobre el papel de factores ambientales, como la temperatura, en la aparición de casos clínicos de EV. La mortalidad de ratones inoculados intracerebralmente con virus de la EV fue significativamente reducida en grupos aclimatados a 8° E en relación a grupos mantenidos a 27° E o 35° C. El período de incubación de la infección, también fue más largo entre los ratones adaptados a temperaturas bajas y las tasas metabólicas fueron más altas en los ratones mantenidos a 8° E que en aquellos que estaban a 25_35° E, tal como quedó evidenciado por el mayor consumo de comida y ganancia de peso.

La aclimatación a una temperatura baja antes de la inoculación, fue esencial para influenciar favorablemente la tasa de sobre vivencia de los ratones. La exposición al frío en el momento de la inoculación, o brevemente después, no alteró el curso de la infección. Puesto que ha sido demostrado experimentalmente que los animales susceptibles pueden ser infectados con el virus de la EV tan fácilmente en invierno como en verano, resta la posibilidad de que, mientras la temperatura ambiente quizá no influya la habilidad del virus para iniciar una infección, puede alterar apreciablemente la respuesta del huésped a esa infección.

En años recientes se han descrito mutantes sensibles a la temperatura (ts) para numerosos virus incluyendo el de la EY. Aun cuando la mayoría de las mutantes" ts fueron producidas en laboratorio, se sabe que las mismas también ocurren espontáneamente con una baja frecuencia en varias poblaciones virales .. Una evidencia cada vez mayor sugiere que las mutantes ts seleccionadas naturalmente, pueden ser responsables por estados latentes *in vitro* y que estas mutantes juegan un papel ya sea en el establecimiento o en el mantenimiento de infecciones virales persistentes (90).

Se ha encontrado que los virus recuperados de diferentes tipos de infecciones persistentes, poseen una menor habilidad para replicar a altas temperaturas. Esto ha llevado a sugerir que . los investigadores que pretenden aislar virus de explantes de tejidos provenientes de animales con enfermedades en las que se sospecha una infección viral, latente o persistente, deberían incubar los cultivos celulares a 31_33° C, además de la incubación convencional a 37° C. (90).

¿ Tienen estos hechos alguna aplicación en la historia natural del

virus de la EV? ¿ Son por ejemplo, las mutantes ts del virus de la EV responsables por las infecciones persistentes en bovinos? ¿Podrían mutaciones posteriores de estas cepas virales, posiblemente provocadas por cambios ambientales de alguna naturaleza, resultar en tipos de virus que causen las lesiones vesiculares típicas. de animales afectados?

Observaciones de campo durante epidemias, también sugieren alguna influencia posible de factores ambientales. Sólo se han registrado unos pocos casos clínicos dudosos de EV en los E.U. en el invierno o en los primeros meses de la primavera y el virus nunca ha sido aislado durante esos meses del año (10). Lauerman (41), informó que parecía haber un marcado aumento del número de casos de EV que ocurren después del pasaje de un anticiclón. Observó también que la difusión de la epidemia seguía la dirección del pasaje del anticiclón. En forma similar, Hanson y col. (11) observaron que la EV no siempre aparece simultáneamente en un área epidémica. El estudio de casos en Georgia y Alabama sugirió que la enfermedad se movía hacia afuera a partir de uno o dos centros y que más bien se difundía a lo largo de corredores de hato en hato, en lugar de permanecer en algunos campos en particular. Asimismo, la dirección y el momento de la difusión parecían coincidir con el pasaje de frentes de tormenta (33).

Una dificultad con la teoría de la transmisión por contacto de la EV en el ganado, reside en que la enfermedad es desconocida en algunas áreas a pesar de ser densamente pobladas por animales susceptibles. Si el único requerimiento fuera el contacto, se esperaría una infección ampliamente difundida. Sin embargo, es posible que la difusión sea por contacto pero que el proceso de infección requiera condiciones ambientales especiales o estados metabólicos alterados.

XIV. Sobrevivencia interepidémica del virus de la Estomatitis Vesicular

Independientemente de cuales sean los mecanismos básicos para la transmisión de la EV de animal a animal, es difícil explicar la sobrevivencia del virus de la EV durante períodos interepidémicos. En algunas áreas de E.U. las epidemias ocurrieron con intervalos de más de 10 años. La persistencia del virus como una infección oculta durante períodos tan prolongados, parece bastante improbable si se compara con la introducción desde áreas donde se observan infecciones anualmente. Hanson sugirió que podría haber la introducción de un animal infectado tal como una vaca o un cerdo, o la migración

de un huésped o vector no identificado hacia el área donde ocurre una epidemia (33).

Desde que la EV pudo ser observada en ciertas áreas de México durante todo el año, Hanson sugirió también que el origen de la mayoría de los brotes de EV estaría en América semitropical, siendo que el virus podría ser introducido a los E.U. por movimientos de ganado infectado a lo largo de las rutas de comercialización y por migraciones de reservorios animales, si bien ningún animal doméstico o silvestre ha sido aún incriminado como huésped reservorio. También se han sugerido las aves migratorias como una posibilidad (10, 33).

Se ha sugerido también, que ciertos insectos pueden transmitir el virus a través de grandes distancias. Los *Aphideos*, saltadores y lepidópteros, que atacan pastizales y forrajes, migran cada primavera con los vientos cálidos del Sur, desde la costa del Golfo hacia Canadá. El viaje dura entre 2 y 6 semanas y una sucesión de ondas migratorias puede seguir a la primera (33).

La introducción del virus de la EV a áreas epidémicas por vertebrados o insectos migratorios, aún no explicaría el brote súbito de casos clínicos en una área grande. Esto requeriría la migración de un enorme número de portadores de virus, si es que la ocurrencia de los casos clínicos está ligada a la aparición de infecciones primarias en el área. Por otro lado, el virus podría ser introducido en un área "limpia" por medio de portadores migratorios, con un acumulo gradual de infecciones asintomáticas hasta que las condiciones sean apropiadas para la aparición repentina o "brote" de casos clínicos en una área extensa.

Otra posibilidad es que la EV persista de hecho en los animales en una forma inaparente durante largos períodos en áreas epidémicas, sin que aparezcan casos clínicos debido a la ausencia de condiciones ambientales favorables para su ocurrencia. Cuando estas condiciones sobrevienen, aun se trate de intervalos largos, se observan los casos clínicos y los brotes. Esto sugeriría que aun cuando las condiciones ambientales necesarias para que la aparición de brotes de EV no existan regularmente en las áreas epidémicas, éstas podrían aparecer en raras ocasiones, como eventos excepcionales.

Parecería que ninguna -teoría de transmisión, por sí misma, sirve para explicar todas las observaciones de campo y de laboratorio con respecto al virus de la EV. Es probable que en la naturaleza opere más de un sistema. Si bien la diseminación respiratoria por contacto directo con animales infectados parecería posible y consistente con varias observaciones de campo) los vectores artrópodos pueden jugar un papel significativo bajo ciertas condiciones como por ejemplo, en

las áreas de bosques tropicales en Panamá. Puede existir una serie de reservorios diferentes para el virus y la transmisión puede ocurrir de diversas maneras bajo condiciones distintas, pudiendo ser diferente para el tipo NJ y para el virus tipo Indiana, a pesar de que ambos pueden ser encontrados en la misma área, son morfológicamente similares y producen básicamente el mismo cuadro clínico.

XV. Preguntas a ser resueltas en relación a la epidemiología de la Estomatitis Vesicular

Las numerosas incógnitas que existen sobre la EV podrían ser resumidas listando algunas de las preguntas que uno se hace con respecto a la epidemiología de la enfermedad:

- 1) ¿Cuál es el reservorio (o reservarías) del virus de la EV?
- 2) ¿Cómo se transmite el virus de la EV de uno a otro huésped?
- 3) Si no se ha observado una viremia con títulos altos y de larga duración en ningún huésped vertebrado ¿cómo adquirirían el virus los vectores artrópodos?
- 4) ¿Es suficiente el pasaje transovárico del virus tipo Indiana en *Phlebotomus* para explicar la sobre vivencia del virus en la naturaleza?
- 5) ¿Son diferentes los mecanismos de transmisión para los virus N J e Indiana?
- 7) Si las lesiones en los bovinos son producidas solamente por la inoculación del virus de la EV en el sitio de las lesiones bucales, pódales o mamarias o por contacto del virus con superficies escarificadas del epitelio en esos sitios, ¿cómo producirían ordinariamente los vectores hematófagos estas lesiones?
- 8) Si el virus de la EV o el agente que produce las lesiones de EV se encuentra en los pastos, ¿Cómo adquieren la infección huéspedes tales como los murciélagos, monos y el hombre?
- 9) ¿Cómo sobrevive el virus de la EV entre períodos epidémicos cuando pueden haber intervalos entre brotes de hasta 10-15 años?
- 10) ¿Por qué se caracterizan algunos brotes de EV en bovinos por lesiones exclusivamente mamarias? ¿Se debe esto a una diferencia de cepas de virus? ¿Qué tipo de vector produciría solamente lesiones mamarias? Si las lesiones Son causadas por contacto con el virus en los pastos, ¿por qué no se observan también lesiones bucales y pódales al mismo tiempo que ocurren las mamarias?
- 11) ¿Es el virus de la EV transmitido mecánicamente durante el ordeño de una vaca a la próxima, por las manos del ordeñador o por las copas del ordeñador automático, o el virus se encuentra ya

presente en los tejidos, siendo las lesiones vesiculares provocadas por daños a las tetas?

12) ¿ Son los anticuerpos seroneutralizantes persistentes debidos a la persistencia del virus en el huésped durante largos periodos.

13) ¿ Cómo se infectan los bovinos en hatos en los que no se observan casos clínicos, pero donde una gran proporción del mismo puede tener anticuerpos contra la EV?

14) A pesar de que el virus de la EV no produce lesiones cuando es inoculado por vía subcutánea o intramuscular, produce un aumento de los titulas de anticuerpos y una cierta inmunidad protectora. Sin embargo, la inmunidad producida puede no proteger contra la descarga intralingual. Según estas observaciones, ¿ cómo se obtiene, de acuerdo a lo informado, una protección aceptable durante brotes de EV cuando se vacuna con el virus por vía I.M.?

15) ¿ Produce la inoculación IM del virus vivo de la EV usado como vacuna en bovinos, infecciones inaparentes de larga duración? ¿ Tendrían estos bovinos una mayor tendencia a desarrollar lesiones vesiculares posteriormente, durante una epidemia natural? ¿ Si son sometidos experimentalmente a un *stress*?

16) Si los brotes de EV son vistos mayormente durante la estación de lluvias, ¿ cómo podemos explicar la ocurrencia de algunos brotes o casos durante la estación seca o durante un período de escasa precipitación?

17) Si la EV se encuentra presente én los pastos, ¿por qué los potreros adyacentes no se afectan con mayor frecuencia? ¿ Por qué es usualmente tan salpicada la distribución de los hatos afectados?

18) ¿ Por qué se observan brotes regionales y qué factores limitan la aparición de la enfermedad a esas áreas circunscritas?

19) ¿ Por qué existe a veces una diferencia considerable de las tasas de morbilidad entre hatos afectados en el mismo brote regional?

20) ¿ Por qué se afectan más frecuentemente con EV clínica los bovinos y equinos adultos que los animales menores de un año?

21) ¿ Por qué es máxima la incidencia de la EV durante la estación de lluvias?

22) ¿ Cómo podría infectarse un número suficiente de vectores del virus de la EV con un nivel suficientemente alto que produzca un brote simultáneo y ampliamente difundido en bovinos y equinos en un área epidémica?

23) ¿ Puede ser relacionada la EV en áreas endémicas y epidémicas en el hemisferio occidental, con la distribución de alguna especie de artrópodos o con junto de condiciones climáticas 'en particular'? ¿ Por qué no se encuentra la EV en el hemisferio oriental?

24) Si la EV en los suinos puede difundirse por contacto, ¿por qué no son más numerosos los casos clínicos y por qué no es mayor la prevalencia de la enfermedad en las áreas de producción suina?

25) ¿Cómo podrían infectarse con el virus Indiana monos centinelas enjaulados en áreas de bosque tropical en Panamá no siendo por artrópodos voladores y picadores?

26) ¿Poseen los bovinos que desarrollan lesiones de EV durante un brote, anticuerpos contra el virus antes de la aparición de lesiones?

XVI. Propuestas para estudios ulteriores de campo

Debido a los complejos patrones de transmisión y requerimientos ecológicos que pueden existir para el virus de la EV, se hace difícil el estudio de la enfermedad a nivel de campo. Los estudios retrospectivos de epidemias o las encuestas ocasionales de animales de áreas endémicas son valiosas, pero pueden proveer poca información adicional a la ya disponible

Un enfoque que parecería ser prometedor, para revelar algunos de los datos epidemiológicos desconocidos sobre la EV, sería un estudio prospectivo, longitudinal en una área en que ambos virus, NJ e Indiana, sean endémicos. Este tipo de área puede ser hallado en ciertas partes de México, América Central y América del Sur.

El estudio básico de campo debería incluir una investigación ecológica continua de la EV en una área endémica circunscrita seleccionada, sobre la base de encuestas serológicas. Se podrían seleccionar 2 o 3 predios que posean un número suficiente de bovinos, equinos y suinos. Se puede anotar la historia clínica de los rebaños y seguir únicamente a los individuos durante el transcurso del estudio; se acompañaría con la colecta de muestras de sangre para el análisis de anticuerpos por fijación del complemento y seroneutralización en el comienzo del estudio y cada 2 o 3 meses después. Se podrían mantener registros sobre los movimientos de animales, ingresos al hato, tipos de pasturas y forrajes disponibles y tipo de alimentación provista. Igualmente se puede guardar un registro cuidadoso sobre una variedad de fenómenos climáticos (precipitación pluvial, temperatura, humedad, tormentas, inundaciones, etcétera). Paralelamente los estudios serológicos pueden incluir muestras representativas de especies silvestres y residentes humanos seleccionados en el área. Por último, se incluirían estudios entomológicos con el fin de determinar los posibles vectores artrópodos presentes, colectándolos para aislamiento de virus siempre que fuera indicado.

Básicamente, la investigación intentaría estudiar, durante un cierto número de años, cada uno y todos los factores que en una pequeña área endémica para la EV pudieran estar relacionados con los reservorios y transmisión del virus en la naturaleza. Los patrones de infección inaparente por EV podrían ser seguidos desde el nacimiento de algunos bovinos en observación y quizá si con suerte, ocurrieran casos clínicos de EV durante el transcurso del estudio, su aparición podría ser relacionada a algunos eventos ambientales concomitantes en el área. La ocurrencia de nuevas infecciones, ya sean o no acompañadas por lesiones clínicas, podrían ser correlacionadas posiblemente Con el aislamiento de virus de la EV en vectores o plantas, o en otros agentes que son aún insospechados, o podría demostrarse la relación con difusión respiratoria por medio del contacto estrecho entre los animales afectados.

Puesto que en el presente no se están desarrollando estudios de campo en lugar alguno, es esencial que se inicie a la brevedad posible algún tipo de estudio ecológico prospectivo de larga duración sobre EV con el fin de proveer alguna comprensión sobre la historia natural de esta enfermedad intrigante. Al mismo tiempo, debe realizarse un esfuerzo mayor para utilizar la numerosa información, resultante del uso en gran escala del virus de la EV en el laboratorio, en el estudio de la biología molecular de los virus, con la esperanza de que. puedan ofrecemos una mejor comprensión de los hallazgos epidemiológicos en el campo.

REFERENCIAS

1. Saumon, E. E. The epidemiology of Vesicular Stomatitis virus in the United States. *Bull. Ofna. Int. de Epizoot.* 70, 49, 1968.
2. Theiler, S. Eine contagiose stomatitis des pferdes in Sud-Afrika 1901. *Deuttierarztl. W ochscher.* 9: 3 1. Cited by CALLIS et al. *Diagnosis of vesicular disease in swine. 18th .Ann. Proc. Am. Assoc. Vet. Lab. Diagnost, 1975.*
3. Olitsky, P. K., Schoening, H. W., and Traum, J. Swnmary of the observations of the commission to study Foot and-Mouth Disease. *North Am. Vet.* 8:42-47, 1927.
4. Cotton, W. E. The causal agent of Vesicular Stomatitis proved to be a filter passing virus. *JAVMA.* 23 (1) :168.184, 192&.
5. Cotton, W. E. Vesicular Stomatitis in its relation to the diagnosis of Fool-and-Moulh Disease. *JAVMA* 22 (3): 313-332, 1926.
6. Cotton, W. E. Vesicular Stomatitis. *Vet. Med.* 22: 169-175, 1927.
7. Acree, J. A. Colorado epizootic of Vesicular Stomatitis: Observations on its effects, transmission and response to therapy. *Proc. Am. Assoc. Equine Pract.* pp. 289-299, 1964.

8. Acree, J. A., Hodgson, D. R., and Page, R. W. Epizootic Indiana Vesicular Stomatitis in Southwestern U.S. *Proc. USLSA*. 68: 375-379, 1964.
9. Brandley, C. A., Hanson, R. P., and Chovv, T. L. Vesicular Stomatitis with particular reference to the 1949 Wisconsin epizootic. *Prac. Am. Vet. Med. Assoc.* 88th Amer. Meeting, 20-23: 61-67, 1951.
10. Hanson, R. P. The natural history of Vesicular Stomatitis. *Bact. Rev.* 16 (3): 179,204,1952.
11. Hanson, R. P., Estupiñán, J., and Castañeda, J. Vesicular Stomatitis in the Americas. *Bull. Off. Int. Epizoot* 70:37-47, 19&8.
12. Heiny, E. Vesicular Stomatitis in cattle and horses in Colorado. *North Am. Vet.* 26: 726-730, 1945.
13. Jenney, E. W. Vesicular Stomatitis in the United States during the last 5 years (1963-1967). *Prac. USLSA*. 71st. Ann. Meet., pp. 371385, 1967.
14. Jenney, E. W., and Brown, C. L. Surveillance for Vesicular Stomatitis in the United States-January, 1968 through July, 1972. *Prac. U.S. Animal Health Assoc.* 76th. Ann. Meet. 1972.
15. Mason, J., Herrera Saldaña, A., and Turner, W. J. Vesicular Stomatitis in Mexico. *Proc. 80th. Ann. Meeting, U.S. Animal Health Assoc.* pp. 234-253, 1976.
16. Meyer, N. L., Moulton, W. M., Jenney, E. W., and Rogers, R. I. Outbreaks of Vesicular Stomatitis in Oklahoma and Texas. *Prac. USLSA* 64: 324-332, 1960.
17. Seay, L. E. 1960 Outbreak of stomatitis and lameness of cattle in Texas, Oklahoma and Arkansas. *Prac. USLSA*, 65th. Ann. Meet., Oct. 30-Nov. 3, 1961.
18. 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.
19. Stozzi, P., and Ramos-Soco, T. Teat vesicles as primary and almost exclusive lesions in an extensive outbreak of Vesicular Stomatitis (New Jersey strain) in milking cows. *JAVMA* 123 (920) :415-418, 1953.
20. McNutt, S. N. Vesicular Stomatitis. In *uDiseases of Cattle*". Edited by W. J. Gibbons. Am. Vet. Public, pp. 509-516, 1963.
21. Hanson, R. P. Vesicular Stomatitis. In *"DiseasBs of Swine"*. Edited by Dunne, H. W., and Leman, A. D. The Iowa State University Press. 4th. Edition, pp. 308-324, 1975.
22. Hanson, R. P. Vesicular Stomatitis. In *"Equine Medicine and Surgery"*. Edited by Bone, J. F., Cattcott, E. J., Gabel, A. H., Johnson, L. E., and Riley, W. F. lth. Ed. Am. Vet. Public, pp. 124-130, 1963.
23. Cardona, V.) Benito, E., Rocha, J., and Gutiérrez, A. La Estomatitis Vesicular en Colombia. La fiebre aftosa y otras enfermedades vesiculares en Colombia. 1975.
24. Seibold, H. R., and Sharp, J. B. A revised concept of the pathological changes of the tongue in cattle witch Vesicular Stomatitis. *Am. J. Vet. Res.* 21 (80) :35-51, 1960.
25. Chow, T. L., and McNutt, S. H. Pathological changes of experimental Vesicular Stomatitis in swine. *Am. J. Vet. Res.* 420-424, 1953.

26. Fenner, F. The classification and nomenclature of viruses. *Virology*, 71, 371: 1976.
27. Howatson, A. F. Vesicular Stomatitis and related viruses. In *Advances in Virus Research*, edited by Smith, K. M., Lauffer, M. A., and Bang, F. B. *Aead. Press.* pp. 195-256, 1970.
28. Liu, I. K. M., and Zee, y. C. The pathogenesis of Vesicular Stomatitis virus, serotype Indiana, in *Aedes aegypti* mosquitoes. I. Intrathoracic injection. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 25(1) :177-185, 1976.
29. Haman, R. p') and Brandy, C. A. Epizootiology of Vesicular Stomatitis, *Am. J. Public Health*, 47:205-209, 1957.
- ~ 30 Shelokov, A., and Peralta, P. H. Vesicular Stomatitis virus, Indiana type: and arbovirus infection of tropical sandflies and humans? *Am. J. Epidem.* 86(1) :149-157, 1967.
31. -Jonkers, A. H., Shope, R. E., Aitken, T. H. G., and Spence, L. Cocal virus, a new agent in Trinidad related to Vesicular Stomatitis virus, type Indiana. *Am. J. Vet. Res.* 25 (104) :236-242, 1964.
32. Pan American Health Organization. Diagnosis of vesicular diseases in livestock. *Research in Progress.* Red: RD 15/1, 1976.
33. Hansan, R. P. Discussion of the natural history of Vesicular Stomatitis. *Am. J. Epidem.* 87: 264-266, 1968.
34. Hanson, R. P., and Karstad, L. Enzootic Vesicular Stomatitis. *Proc. 60th Ann. Meet. USLSA*, pp. 288-292, 1956.
35. 'Hanson, R. P., and Karstad, L. Further studies on enzootic Vesicular Stomatitis. *Proc. USLSA*, 61st Ann. Meet., pp. 13-15, 1957.
36. Jonkers, A. H. The epizootiology of the Vesicular -Stomatitis viruses: a reappraisal. *Am. J. Epid.* 86 (2) :286-291, 1967.
37. Ellis, E. M., and Kendall, H. E. The public health and economic effects of Vesicular Stomatitis in a herd of dairy cattle. *JAVMA.* 144 (4) :377- 380, 1964.
38. United Nations. Animal Health Yearbook, pp. 162-165, 1976.
39. University of Texas, Austin, Atlas of Mexico, pp. 3-20, 1975.
40. Lauerman, L. H. Vesicular Stomatitis in temperate and tropical America. *Thesis*, Univ. Wisc., U.S.A., 1968.
42. Shelokov,' A. I., Peralta, P. H., and Galindo, P. Prevalence of htunan infection with Vesicular Stomatitis virus. *I. Clin. Invest.* 40: 1081, 1961.
43. Hanson, R. P., and Karstad, L. H. Feral swine as a reservoir of Vesicular Stomatitis virus in Southwestern United States. *Proc. USLSA. Assn.* 62nd Arm. Meet., pp. 309-315, 1958.
44. Patterson, W. e., Jenny, E. W., and Holbrook, A.A. Experimental infection with Vesicular Stomatitis in swine. 1. Transmission by diXcct contact and feeding infected meat s_ctaps *Proc. USLSA.* pp. 368-378, 1975.
45. Patterson, W. e., Mott, L. O., and Jenney, E. W. A study of Vesicular Stomatitis in mano j. *Am. Vet. Medo Assoc.* 133, 57-66, 1958.
46. Tesh, R. B., PeraIta, P. H., and Johnson, K. M. Ecologic studies of Vesicular Stomatitis virus. II. Results of experimental infection in Pana- . manian wild animals. *Am. J. Epid.* 91 (2) :216-224, 1970.
47. Fellowes, O. N., and Dimopoulos, G. T. Isolation of Vesicular Stomatitis

- virus from mouse mothers after inoculation 'of suckling mouse litters. *L. Bact.* 73 (3) :444-445, 1957.
48. Srihangse, S. Vesicular Stomatitis virus infections in Panamanian primates and other vertebrates. *Am. J. Epid.* 90 (1): 69-76, 1969.
 49. Fellowes, O. N., Dimapaullos, G. T., and Callis, J. J. Isolation of Vesicular Stomatitis virus from an infected laboratory worker. *Am. J. Vet. Res.* 16 (61) :623-626, 1955.
 50. Cax, H. R., and Olitsky, P. K. Neurotropism of Vesicular Stomatitis virus. *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.* 30:653-- 1933.
 51. Cunha, R. G., Eichoro, E. A., and Mata, F. O. Differentiation between Foot-and-Mouth Disease and Vesicular Stomatitis viruses by means of mouse inoculation. *Am. J. Vet. Res.* 16:472, 1955.
 52. Olitsky, P., Sabin, A. B., and Cax, H. R. An acquired resistance of growing animals to certain neurotropic viruses in the absence 'Of humoral antibodies or previous exposure to infection. *J. Exp. Med.* 64:723-737, 1936.
 53. Skinner, H. H. The virus 'Of Vesicular Stomatitis in small experimental hosts. *L. Comp. Path.* 67:87-105, 1957.
 54. Sabin, A. R., and Olitsky, P. K. Influence 'Of host factors 'On neuroinvasiveness of Vesicular Stomatitis virus 1. Effect 'Of age in the invasion 'Of the brain in the invasion of the peripheral and central nervous systems by virus injected into the leg muscles of the eye. 66:35-57. 111. Effect of age and pathway of infection on the character and localization of lesions in the central nervous system. 67:201-227, 1937.
 55. Geleta, J. N., and Halbraak, A. A. Vesicular Stomatitis patterns of complement fixing and serum-neutralization antibodies in serum of convalescent cattle and horse. *Am. J. Vet. Res.* 22 (89) :713-719, 1961.
 56. Sorensen, D. K., Chaw, T. L., Kawalczyk, T., Hanson, R. P., and Brandly, C. A. Persistence in cattle of serum-neutralizing antibodies of Vesicular Stomatitis virus. *Am. J. Vet. Res.* 19 (70) :74-77, 1958.
 57. Lauerman, L. R., Kuns, M. L., and Hanson, R. P. Field trial of live virus vaccination procedure for prevention of Vesicular Stomatitis in dairy cattle. I. Preliminary immune response. *Proc. USLSA~ 66th Ann. Meet.*, 1962. II. *Proc. USLSA 67th Ann Meet.*, pp. 483-490, Oct. 15-18, 1963. 111. *Evaluation of emergency vaccination in Georgia*, pp. 473-482, 1963.
 58. Carrea, W. M. Prophylaxis of Vesicular Stomatitis: A field trial in Guatemalan dairy cattle. *Am. J. Vet. Res.* 25:1300-1302, 1964.
 59. Karstad, L. H., Adams, E. V., Hamon, R. P., and Fenis, D. H. Evidence for the role 'Of wildlife in epizootics of Vesicular Stomatitis. *JAVMA~ 129* (3) :95-96, 1956.
 60. Karstad, L. H., and Hanson, R. P. Vesicular Stomatitis in deer. *Am. J. Vet. Res.* 68 (66): 162-166, 1957.
 61. Jenney, E. W., Hayes, F. A., and Brown, C. L. Survey for Vesicular Stomatitis virus neutralizing antibodies in serums of white-tailed deer *Odocoileus virginianus* of the Southeastern United States. *J. Wild. Dis.* 6: 488-493, 1970.
 62. Jenney, E. W., Hayes, F. A., and Brown, C. L. Survey for Vesicular Stomatitis infection in Georgia wild mammals. *Dev. Studies and Lab. Inv.*

- conducted by VS Diag. Lab. FY 73, APHIS-USDA, 91-97, March, 1957.
63. Tesh, R. B., Peralta, P. H., and Johnson, K. M. Ecological studies of Vesicular Stomatitis virus. 1. Prevalence of infection among animals and humans living in an area of endemic VSV activity. *Am. J. Epid.* 90 (3): 255-261, 1969.
 64. Jonkers, A. H. Laboratory studies with rodent viruses in Trinidad. 1: Cocal virus. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 13 (4): 613, 1964.
 65. Jonkers, A. H., Spence, L., and Aitken, T. H. G. Cocal virus epizootiology in the Bush forest and Nariva swamp, Trinidad, W. I. Further studies. *Am. J. Vet. Res.* 26 (112): 758-763, 1965.
 66. Trainer, D. O., and Hanson, R. P. Serologic evidence of arbovirus infections in wild animals. *Am. J. Epid.* 90 (4): 354-358, 1969.
 67. Glazener, W. C., Cook, R. S., and Tramer, D. O. A serological study of diseases in the Rio Grande Turkey. *J. Wild. Manag.* 31 (1): 34-39, 1967.
 68. Tesh, R. B., Chaniotis, B. N., Peralta, P. H., and Johnson, K. M. Ecology of viruses isolated from Panamanian Phlebotomine sandflies. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 23 (2): 258-269, 1974.
 69. Brody, J. A., Fischer, G. F., and Peralta, P. H. Vesicular Stomatitis virus in Panama. Human serologic patterns in a cattle raising area. *Am. J. Epid.* 86: 158-161, 1967.
 70. Fields, B. N., and Hawkins, K. Human infection with the virus of Vesicular Stomatitis during an epizootic. *N. E. J. Med.* 277:989-994, 1967.
 71. Johnson, K. M., Vogel, J. E., and Peralta, P. H. Clinical and Serological response to laboratory Acquired human infection by Indiana type Vesicular Stomatitis virus (VSV). *Am. J. Trop. Med. Hyg.*
 72. McGroan, J. E. Vesicular Stomatitis infection in man. Morbidity and Mortality. Rep., 5, 1956. U. S. Dept. HEW, Wash. D. C.: Cited in Patterson *et. al.*, (reference N° 45).
 73. Johnson, K. M., Tesh, R. B., and Peralta, P. H. Epidemiology of Vesicular Stomatitis virus: Some new data and a hypothesis for transmission of the Indiana serotype. *JAVMA* 155 (12): 2133-2140, 1969.
 74. Sudia, W. D., Fields, B. N., and Calisher, C. H. The isolation of Vesicular Stomatitis virus (Indiana strain) and other viruses from mosquitoes in New Mexico, 1965. *Am. J. Epid.* 86 (3): 598-602, 1967.
 75. NADL, Ames, Iowa, Vesicular Stomatitis Isolated from Eye Gnats. *Diagnostic Services Newsletter.* June, 1968.
 76. Bergold, G. H., Suarez, O. M., and Munz, K. Multiplication in and transmission by *Aedes aegypti* of Vesicular Stomatitis virus. *J. Invert. Path.* 11: 406-428, 1968.
 77. Mussgay, M., and Suárez, O. Multiplication of Vesicular Stomatitis virus in *Aedes aegypti* (L.) mosquitoes. *Virology*, 17:202-203, 1962.
 78. Yang, Y. J., Stoltz, D. B., and Prevec, L. Growth of Vesicular Stomatitis virus in a continuous culture-line of *Antheraea e-calypti* moth cells. *J. Gen. Virol.* 5:473-483, 1969.
 79. Artsob, H., and Spence, L. Growth of Vesicular Stomatitis virus in mosquito cell lines. *Can. J. Microbiol.* 20:329-336, 1974.
 80. Artsob, H., and Spence, L. Persistent infection of mosquito cell lines with Vesicular Stomatitis virus. *Acta. Virol.* 18:331-340, 1974.

81. Mudd, J. A., Leavitt, R. W., Kingsbury, D. T., and Holland, J. J. Natural selection of mutants of Vesicular Stomatitis virus by cultured cells of *Drosophila melanogaster*. *J. Gen. ViTol.* 20:341-351, 1973.
82. Printz, P. Adaptation du virus de la Stomatite Vesiculaire a *DTosophila melanogaster*. *Ann. Inst. Pasteur.* 119:520-537, 1970.
83. Tesh, R. B., Chaniotis, B. N., and Johnson, K. M. Vesicular Stomatitis virus (Ind4tna serotype): transovarial transmission by Phlebotomine sandflies. *Science*, 175 (4029): 1477-1479, 1971.
84. Ferris, D. H., Hanson, R. P., Dicke, R. J" and Roberts, R. H. Experimental transmission of Vesicular Stomatitis virus by diptera. *J. Infect. Dis.* 96 (2): 184-192, 1955.
85. Kowalczyk, T., Hanson, R. P., and Brandly, C. A. Infectivity and pathogenicity of Vesicular Stomatitis virus in ferrets. *Am. J. Vet. Res.* 16: 180, 1955.
86. Brunner, K. T., Hurez, D., McCluskey, R. T., and Benacerra, B. Blood clearance of P32-labeled Vesicular Stomatitis and Newcastle disease viruses by the reticulo endothelial system in mice. *J. Immunol.* 85 (1) :99-105, 1960.
87. Edelman, R., and Wheeloch, E. F. Especific role of each human leukocyte type in viral infections. I. Monocyte as host cell far Vesicular Stomatitis virus replicatian *in vitro*. *J. ViTol.* 1 (6): 1139-1149, 1967.
88. McDermid, J. E. Vesicular Stamatitis in Wisconsin. *Proc. AVMA* 88th, pp. 67-69, 1951.
89. Griffith, T. P., Hanson, R. P., and Brandly, C. A. The effect of environmental temperature on susceptibility of the mouse to Vesicular Stomatitis virus. *Proc. AVMA* 91st Ann. Meet., 23-26: 192-198, 1954.
90. Preble, O. T., and Younger, J. S. Temperature sensitive viruses and the etiology of chronic and inapparent infections. *J. Infect. Dis.* 131 (4): 467-473, 1975.