

IICA
L73
30

IICA



DIAGNOSTICO DE LENGUA AZUL

SEMINARIO TALLER
CAMPINAS BRASIL 12-16 DIC 1988

ESCRITÓRIO NO BRASIL

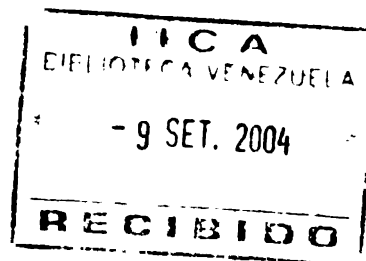


[Faint, illegible text]



DIAGNOSTICO DE LENGUA AZUL

SEMINARIO TALLER
CAMPINAS BRASIL 12-16 DIC 1988



11CA

00007247

L73

30

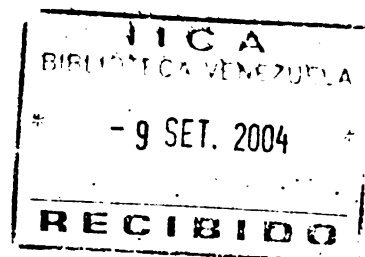
2000
11/11/2000

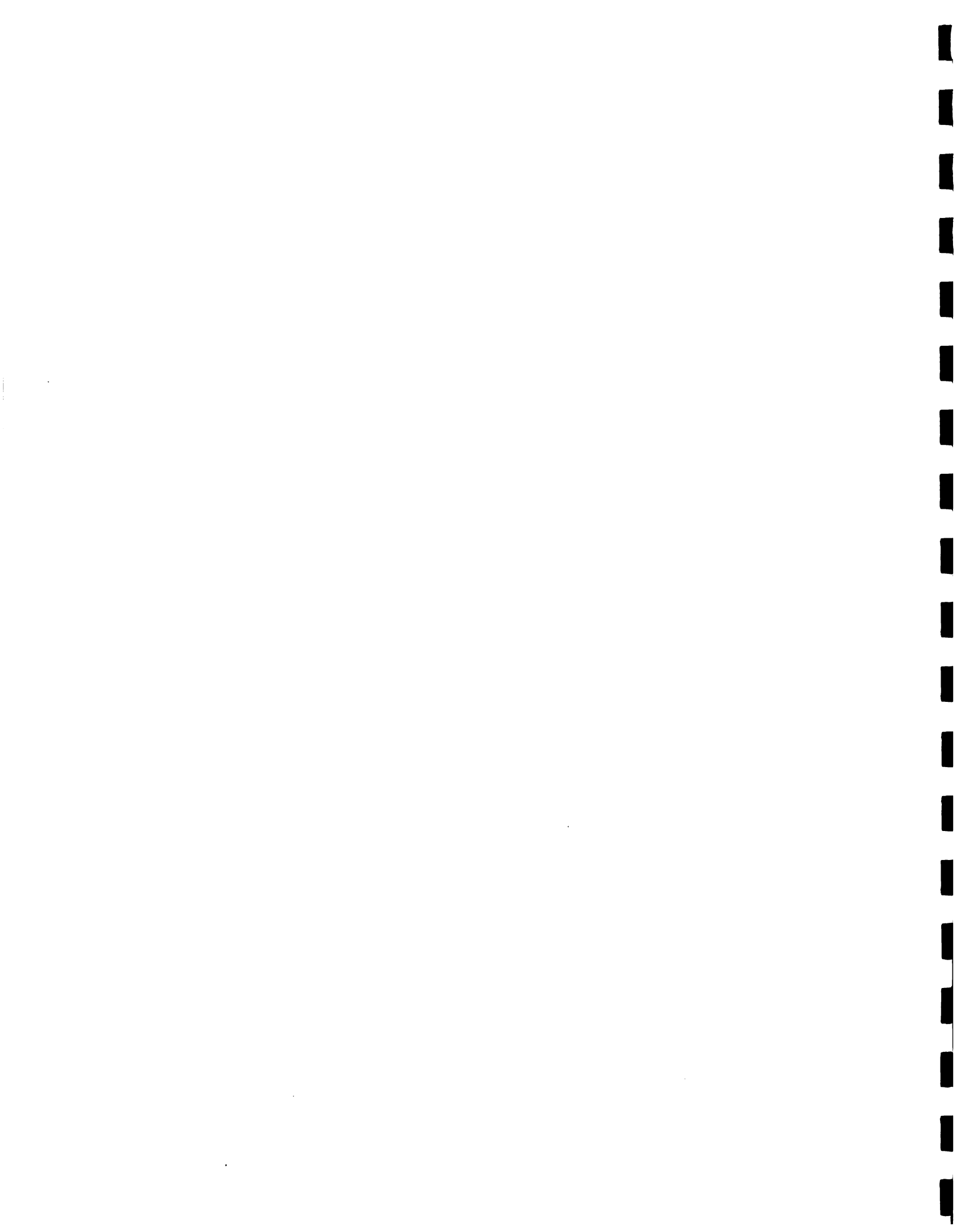
11/11/2000

SUMARIO

Introducción.....	1
Características generales del virus de lengua azul.....	7
Patogenia de la lengua azul.....	19
Distribución del virus de lengua azul.....	44
Producción y purificación de antígenos.....	52
Prueba de inmunodifusión en gel de agarosa.....	68
Aislamiento y caracterización del virus de lengua azul.....	91
Conclusiones y recomendaciones.....	110
Directorio de los participantes.....	113
Evaluación del seminario.....	116
Bibliografía.....	121
Anexo I.....	154
Agradecimientos.....	185

182





RILSA
RED INTERAM DE LABORAT DE SALUD ANIMAL

DIAGNOSTICO DE LENGUA AZUL
SEMINARIO TALLER
CAMPINAS BRASIL 12-16 DIC 1988

LANARA MINISTERIO DE AGRICULTURA BRASIL
I.I.C.A. PROGRAMA SALUD ANIMAL BRASIL
O.P.S. CENTRO PANAM. DE FIEBRE AFTOSA



**DIAGNOSTICO DE LENGUA AZUL
SEMINARIO TALLER
CAMPINAS BRASIL 12-16 DIC 1988**

INTRODUCCION



INTRODUCCION

La virosis conocida como Lengua Azul de los ovinos y en general los orbivirus se han convertido en uno de los temas mas polémicos de salud animal, especialmente en el tráfico internacional de animales. Existen grandes grupos de países, por ejemplo en Europa y America del Sur, que se consideran libres con restricciones severas a la entrada de animales.

La gran distribución mundial de este grupo de virus y sus características en cuanto a la gran variedad de hospedadores y vectores, diversidad de serogrupos y serotipos, con cuadros clínicos confusos; nos indican que su presencia en estos sistemas ecológicos no es reciente y que su capacidad de adaptación al medio es casi ilimitada. Las clasificaciones actuales aún son confusas y polémicas y consecuentemente el diagnóstico y los estudios epidemiológicos.

Todas estas circunstancias han preocupado a las autoridades de salud animal de los países miembros del Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (I.I.C.A.) que forman parte de la Comisión Interamericana de Salud Animal (COINSA) solicitando dar prioridad a una acción conjunta, coordinada por el IICA, en sus diversas reuniones y el el Plan de Salud Animal para el año 2000 (PLASA 2000).

Analizando esta situación el Programa de Salud Animal del IICA por medio de sus especialistas ha iniciado una serie de acciones. En América Central se han hecho acuerdos con los países, organismos internacionales y universidades para hacer un levantamiento y estudios minuciosos de la prevalencia e incidencia de estos virus. Esto ha permitido profundizar los conocimientos de su comportamiento en la región evitando confusiones, pudiendose llegar a conclusiones mejor fundamentadas que orientan a las autoridades y a los países importadores en sus decisiones.

En la región del cono sur que incluye Argentina, Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay, las acciones se iniciaron desde 1986 con una reunión de emergencia en Santana Do Livramento, R.S. convocada por las autoridades paraguayas para discutir el diagnóstico de laboratorio de Lengua Azul para el tráfico internacional de animales. El origen de esta reunion fué el sacrificio de animales que en el Paraguay habian dado resultados negativos y en Argentina positivos. En la discusión se detectó que existian divergencias en cuanto a los reactivos utilizados y la interpretacion de los resultados de los exámenes. Como resultado de esta reunion se decidió que todos los laboratorios que hacian este tipo de exámenes recibirían y enviarían sueros que serian procesados para despues analizar los resultados en conjunto. Asi mismo, se decidió que en vista que estudios



previos mostraban la presencia del virus en Brasil el IICA se encargaría de entrenar a la Dra. Gonçala Martins Arita en el diagnóstico, producción de reactivos y pruebas complementarias con la idea de que se estableciera un laboratorio de referencia en la region.

Los resultados de los sueros procesados en los diferentes laboratorios fueron presentados en la reunion LABSUR IV en Montevideo en 1987 mostrando claramente que los reactivos para la prueba de inmunodifusión tenían orígenes diversos, procesamiento diferente existiendo una gran divergencia en la interpretación de los resultados. Durante la misma reunión la Dra. Gonçala presentó su informe sobre su curso de entrenamiento en el Laboratorio Nacional de Servicios Veterinarios del USDA que habia concluido recientemente.

El siguiente problema a resolver era el de los reactivos, ya que los laboratorios mundiales de referencia solo suministraban cantidades limitadas como patrón y los kits comerciales eran costosos y difíciles de importar, lo cual limitaba los estudios a muestras de animales para exportación, creandose una dependencia tecnológica e impidiendo estudios mas profundos. El entrenamiento recibido por la Dra. Gonçala incluía la preparación de reactivos como la purificación de antígenos y otros. Con la buena voluntad de la Dra. Gonçala y el apoyo de las autoridades de LANARA y el IICA se consiguió preparar en cantidades limitadas los reactivos para la prueba de inmunodifusión en gel de agarosa con resultados animadores, siendo el siguiente paso una producción en mayor escala. El Centro Panamericano de Fiebre Aftosa en Rio de Janeiro por medio del Dr. Albino Alonso ofreció su apoyo, sustentado en la gran experiencia que tiene en Fiebre Aftosa y otras virosis, con la gran sorpresa de que se consiguió producir una cantidad considerable de antígeno con un alto grado de pureza. Las pruebas comparativas han mostrado la misma sensibilidad que los antígenos comerciales abriendo así la posibilidad de iniciar estudios mas extensivos y sistemáticos.

Este curso tuvo como objetivo el reunir a un grupo de expertos, responsables de este diagnóstico en sus respectivos países, en un diálogo abierto y amigable para discutir diversos aspectos de esta virosis conocida como Lengua Azul de los ovinos, permitiendoles uniformar criterios sobre las técnica de inmunodifusion en gel de agar e interpretación de las misma. Hemos concentrado esta información valiosa en estas memorias incluyendo las conclusiones y recomendaciones de este grupo de expertos latinoamericanos, que esperamos seguir apoyando en la medida de nuestras posibilidades. Los resultados nos satisfacen, pues demuestran, que es de alto valor el potencial de los profesionales en nuestra región y que solo requieren de un empeño de las autoridades y de los organismos involucrados para cumplir cabalmente con sus metas.

Michael Bedoya Stabenow
Especialista en Salud Animal
I.I.C.A. Brasil



IICA - CENTRO PANAMERICANO DE FIEBRE AFTOSA - LANARA

SEMINARIO/TALLER SOBRE EL DIAGNÓSTICO DE LENGUA AZUL

FECHA: 13 a 15/12/88

LOCAL: Laboratório Regional de Apoio Animal

Rodovia Heitor Penteado Km 35

CEP 13100

Campinas, SP - Brasil

Teléfono: (0192) 52 0155/ 52 0634/ 52 0834

Telex: (0192) 044

OBJETIVO: Unificar los reactivos, procedimientos y criterios de interpretación en el diagnóstico de Lengua Azul

PARTICIPANTES: Responsables por el diagnóstico de Lengua Azul en la Región del Cono Sur. Con un cupo máximo de 10. Se ha considerado las siguientes vacantes:

ARGENTINA - 2

BRASIL - 3

CHILE - 1

PARAGUAY - 1

URUGUAY - 1

CPFA - 2

PROGRAMA: Ver anexo

INSTRUCTORES: Ver programa

OBSERVACIONES: Los participantes tendrán que venir con un mínimo de 10 y un máximo de 20 sueros para hacer la prueba durante el taller. Como esto requiere permiso de Sanidad Animal, es importante nos avisen con anticipación su llegada con nombre, vuelo y horario.

RECEPCIÓN: Aeropuerto de Guarulhos en São Paulo con el personal de Sanidad Animal o del IICA.

TRANSPORTE: De São Paulo a Campinas.

En taxi en grupo aproximadamente US\$ 15.00 o autobus a la Rodoviaria Tieté después otro autobús a Campinas (Cometa). Recomendamos el taxi por mayor seguridad.

MATERIAL DE LABORATORIO: Se tendrá material suficiente para el taller y se entregará un poco de antígeno y sueros para llevar a su País. Para adquirir cada uno tendrá que acordar con el Centro Panamericano de Fiebre Aftosa.

PUBLICACIONES: Se entregarán al principio del curso.

ALMUERZOS: Durante el curso, dos serán en el laboratorio y uno fuera



IICA - CENTRO PANAMERICANO DE FIEBRE AFTOSA - LANARA

SEMINÁRIO/TALLER PARA EL DIAGNÓSTICO DE LENGUA AZUL

12 A 15 DE DICIEMBRE DE 1988

LABORATÓRIO REGIONAL APOIO ANIMAL

CAMPINAS SP - BRASIL

LUNES - 12/12/88:

Llegada a São Paulo. Transporte de São Paulo a Campinas. Hotel

MARTES - 13/12/88:

8:00 a 9:00 - Transporte al laboratório

9:00 a 10:00 - Introducción

LANARA - Dr. Décio Lyra

LARA/Campinas - Dr. José Guedes Deak

IICA - Lengua Azul - Dr. Michael Bedoya

10:00 a 12:00 - Características Generales de los Orbivirus
Dra. Maria Lúcia Racz

12:00 a 14:00 - Almuerzo

14:00 a 15:00 - Demostración del Diagnóstico por AGID
Dra. Gonçala Martins

16:00 a 18:00 - Taller prueba AGID - preparación

MIÉRCOLES - 14/12/88

8:00 a 9:00 - Transporte al laboratório

9:00 a 11:00 - Patogenia y distribución de la Lengua Azul

11:00 a 12:00 - Situación de la Lengua Azul en los Países del Sur.
Participantes

12:00 a 14:00 - Almuerzo

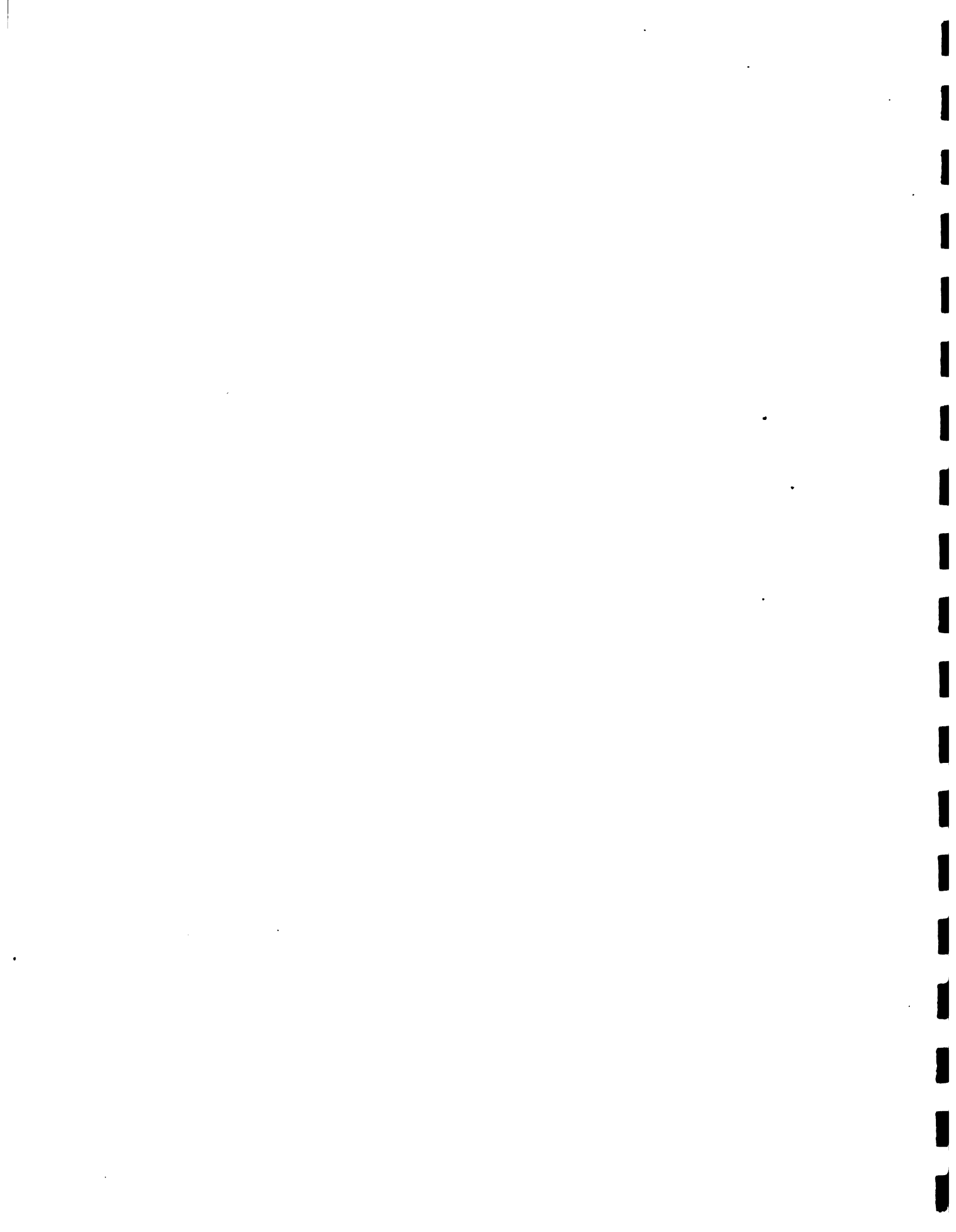
14:00 a 16:00 - Diagnóstico por AGID

Producción y purificación de antígenos

Dra. Gonçala Arita

Dr. Albino Alonso

16:00 a 18:00 - Taller AGID - Primera lectura



JUEVES - 15/12/88

8:00 a 9:00 - Transporte al laboratório

9:00 a 11:00 - Aislamiento y caracterización de orbivirus Lengua A
zul - Dra. Gonçala Arita

11:00 a 13:00 - Prueba AGID - Lectura final e interpretación

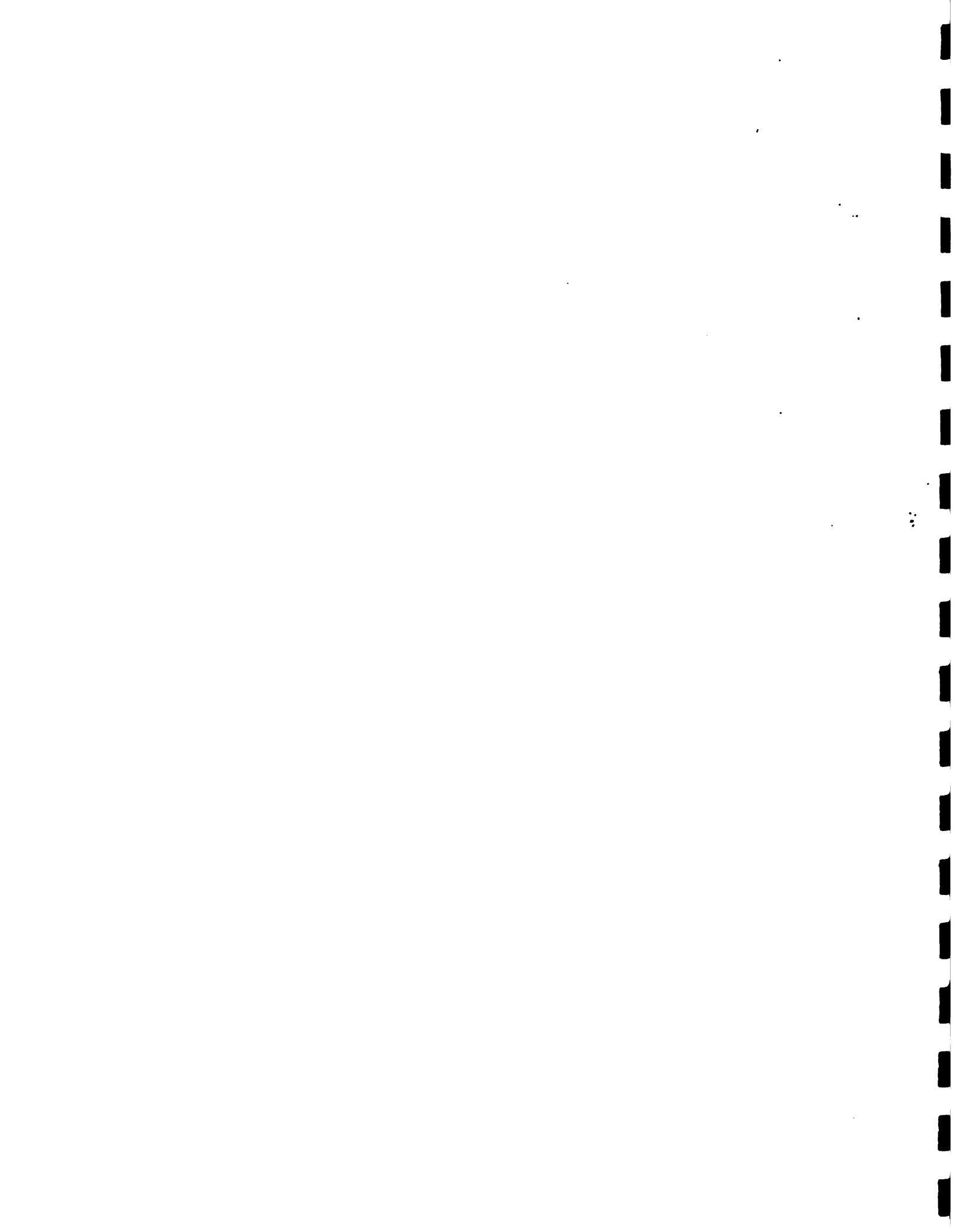
13:00 a 15:00 - Almuerzo

15:00 a 17:00 - Conclusiones y recomendaciones

17:00 a 18:00 - Regreso a São Paulo

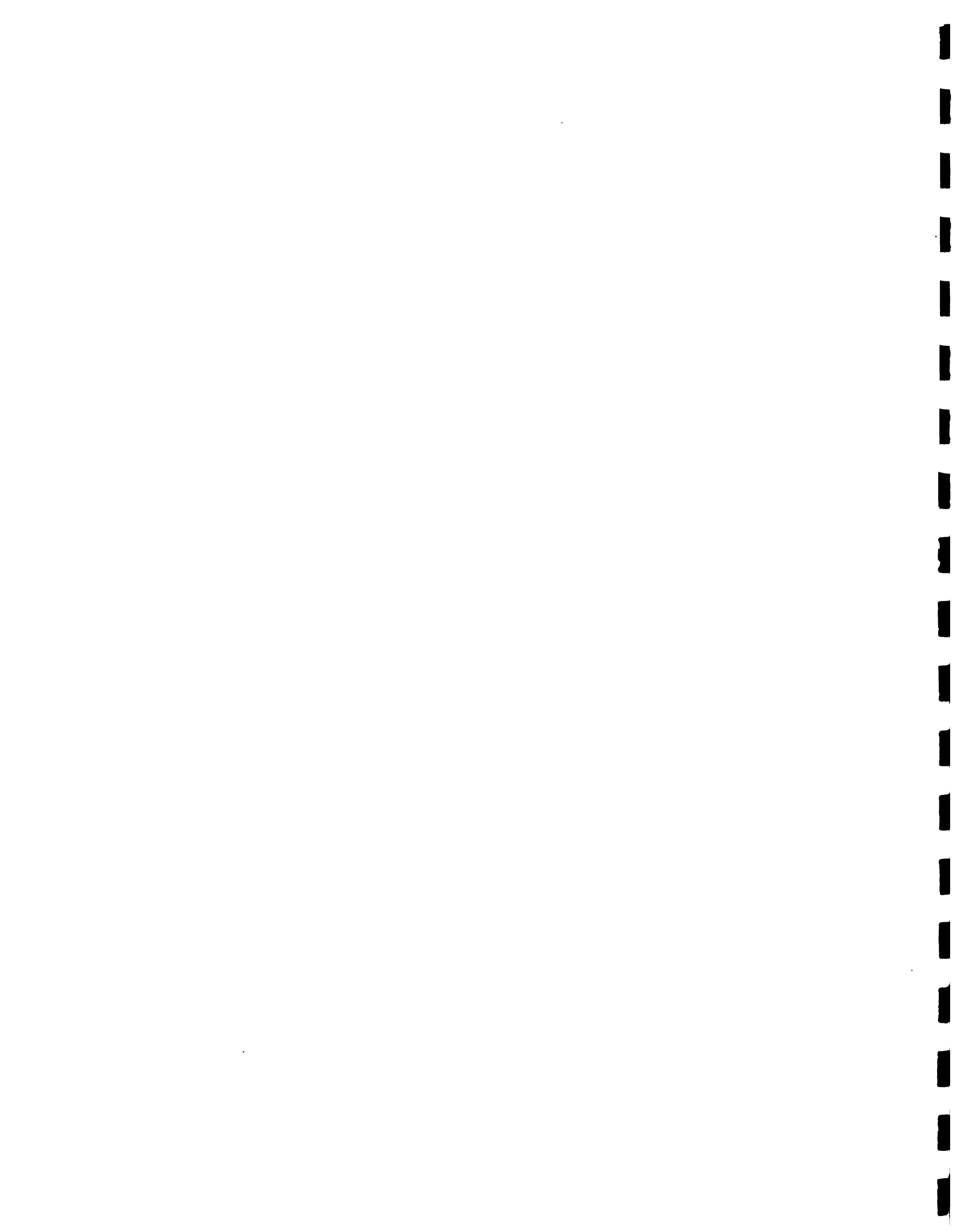
VIERNES - 16/12/88

Regreso a sus lugares de origen



**DIAGNOSTICO DE LENGUA AZUL
SEMINARIO TALLER
CAMPINAS BRASIL 12-16 DIC 1988**

**CARACTERISTICAS GENERALES
DEL VIRUS DE LENGUA AZUL**



CARACTERÍSTICAS GERAIS DO VÍRUS DA LÍNGUA AZUL

Maria Lucia Racz*

1. INTRODUÇÃO

Os Orbivirus são classificados como um gênero da Família Reoviridae, que compreende ainda 2 gêneros de vírus que infectam animais e humanos (Orthoreovirus e Rotavirus) e 3 gêneros de vírus que infectam insetos e plantas (Cypovirus, Phytoreovirus e Fijivirus). As características gerais dos vírus da Família Reoviridae são apresentadas na tabela 1.

=====

Tabela 1: Características gerais da Família Reoviridae

Estrutura

Tamanho 60-80 nm

Morfologia = icosaédrica, esférica

Não envelopados

Capsídeo protéico de camada dupla

Partículas sem capsídeo externo são denominados *core*

Genoma

RNA de dupla fita linear (dsRNA)

10-12 segmentos

Aproximadamente 14 a 22% do peso total do vírus

Replicação

Replicação citoplasmática

Formação de corpúsculo de inclusão

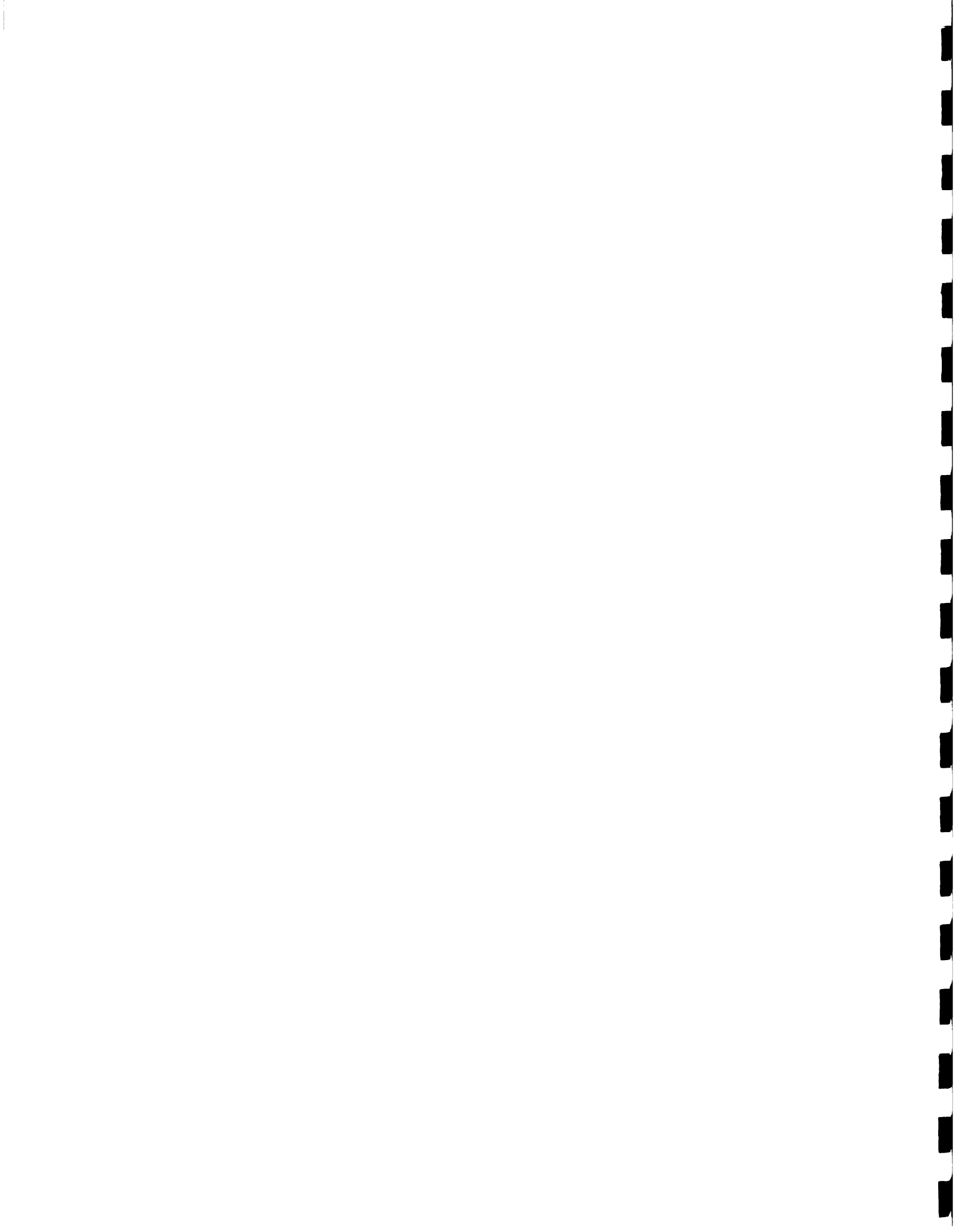
Ausência de descapsidação completa dos virions

Atividade de transcriptase associada ao *core*

=====

Os Orbivirus se distinguem dos demais membros da Família Reoviridae pelo fato de se multiplicarem em insetos e vertebrados e por serem sensíveis a condições ácidas. A espécie tipo do Gênero Orbivirus é o vírus da língua azul (VLA).

* Professora Assistente Doutora do Departamento de Microbiologia - Instituto de Ciências Biomédicas - Universidade de São Paulo.



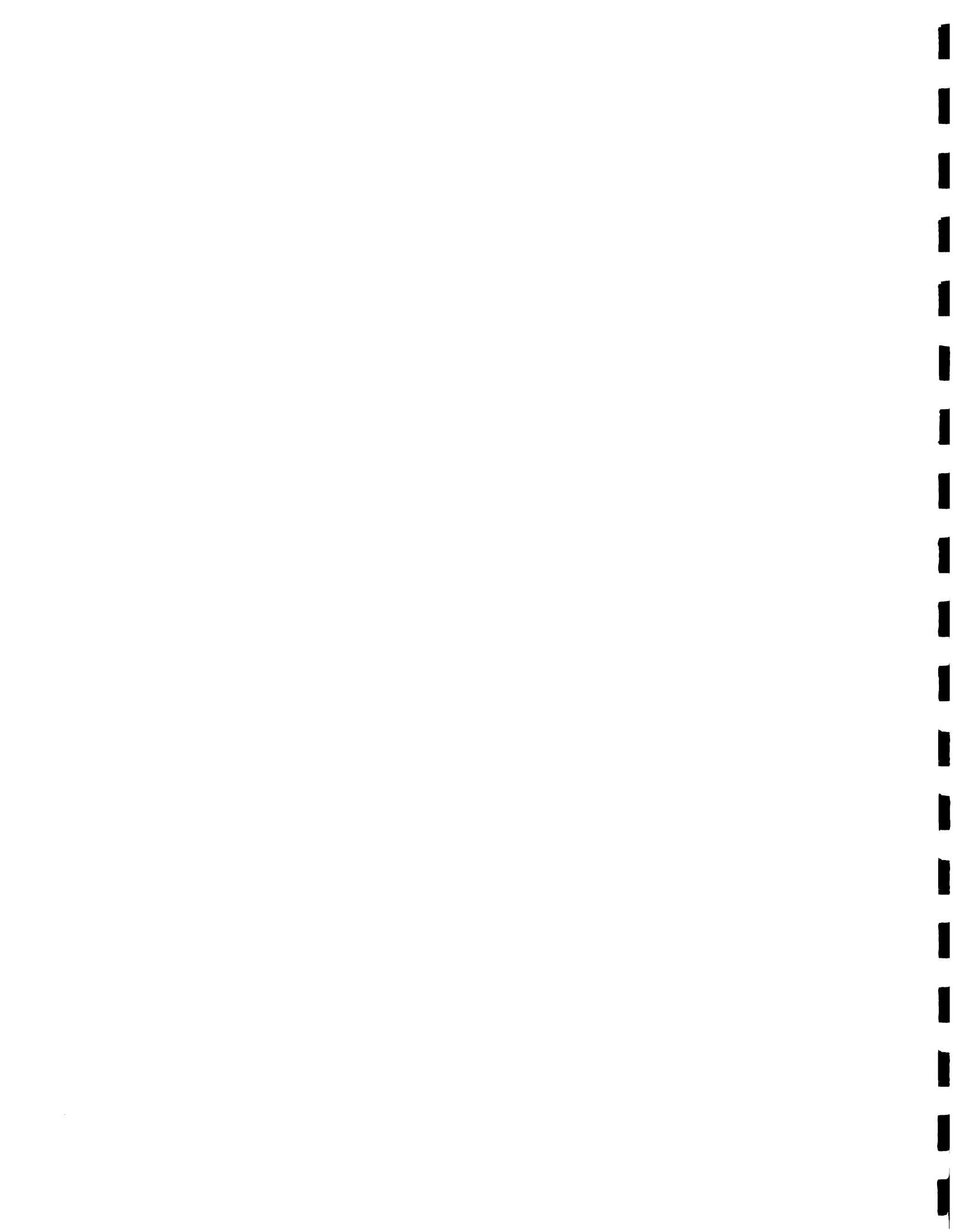
Os vírus do gênero Orbivirus não possuem um antígeno comum e estudos mais recentes demonstram que os Orbivirus não formam um grupo homogêneo. Atualmente, os Orbivirus são classificados em 13 grupos sorológicos (Tabela 2). Os vírus de um mesmo sorogrupo têm antígenos comuns, detectáveis por fixação do complemento, imunodifusão e imunofluorescência. Os sorotipos dentro de cada sorogrupo são determinados por reações de soroneutralização. A maioria dos grupos sorológicos dos Orbivirus tem o nome do primeiro vírus isolado e seus sorotipos são denominados com nomes diferentes. Para os sorogrupos língua azul, peste equina africana e encefalose equina são utilizados números para descrever os sorotipos. Esta duplicidade de nomenclatura, com uso de nomes para descrever sorotipos em alguns grupos e números para descrever sorotipos em outros, obscurece o fato de que os sorogrupos são compostos por vírus relacionados antigenicamente.

Tabela 2: Grupos sorológicos dos Orbivirus

Grupo sorológico	Número de sorotipos
Peste equina africana	9
Língua azul	24
Changuinola	12
Febre dos carrapatos do Colorado	2
Corripata	4
Doença epizootica hemorrágica	7
Encefalose equina	5
Eubenangee	3
Kemevoro	21
Palyam	6
Umatilla	2
Warrego	2
Wallal	3
Vírus não agrupados	6

2. MORFOLOGIA E ESTRUTURA

Os Orbivirus têm morfologia esférica, com diâmetro de 68 nm. Sua estrutura apresenta um capsídeo de dupla camada, contendo um core, de 54 nm, com estrutura capsomérica definida de 32 capsômeros em forma de anel, dispostos em simetria icosaédrica. Em contraste com os orthoreo- e rotavírus, cujo capsídeo externo é bem definido, o core do VLA é envolvido por uma camada difusa de proteínas, não estruturada em capsômeros. O nome do gênero deriva da



estrutura característica dos capsômeros do core, em forma de anel (*orbi* é o termo latino para anel).

O vírus da língua azul tem uma densidade de 1.36 g/cm^3 em cloreto de césio e um coeficiente de sedimentação de 550 S.

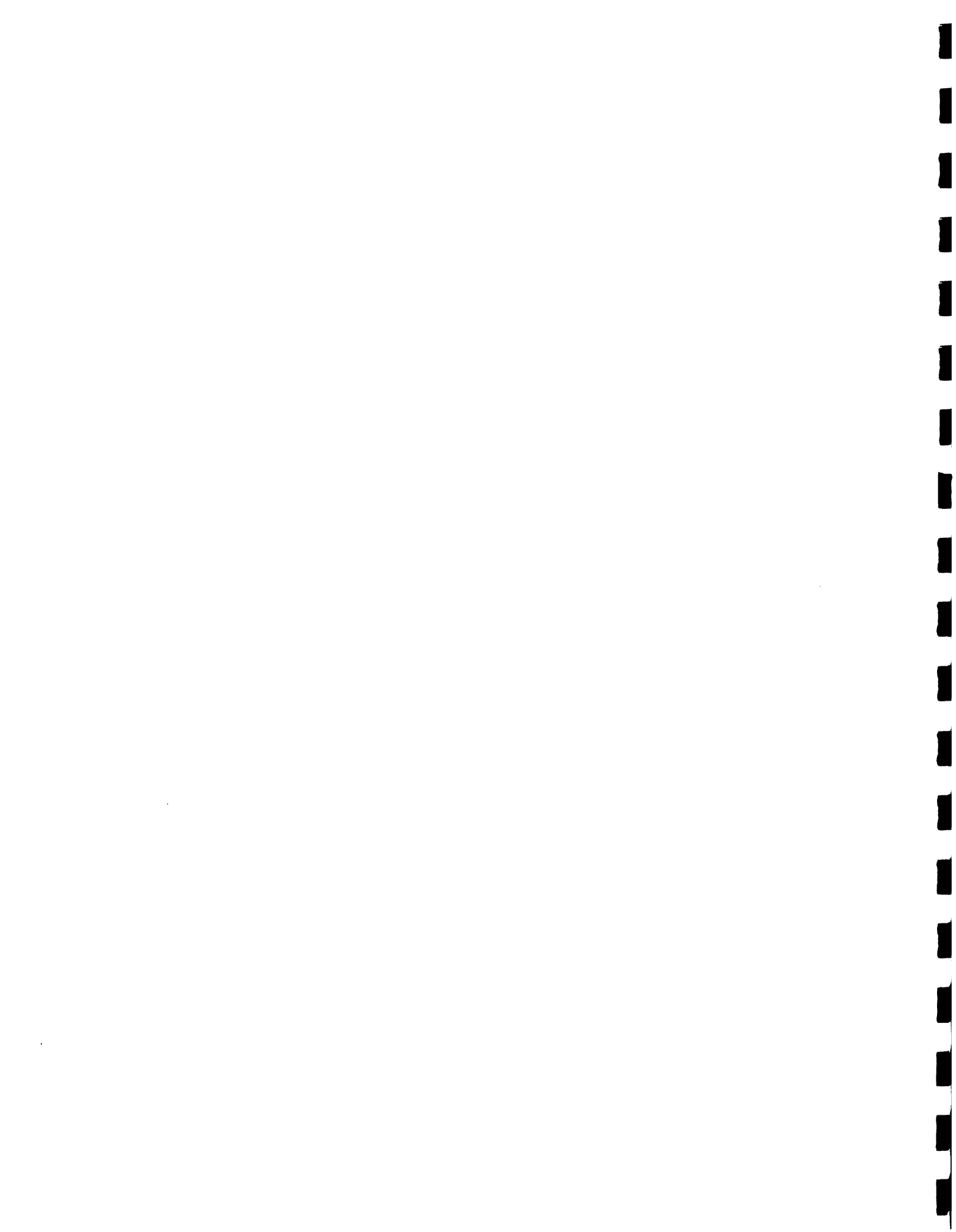
3. ÁCIDO NUCLÉICO

O ácido nucléico do vírus da língua azul é composto de 10 segmentos de RNA de dupla fita, que podem ser separados por eletroforese em gel de poliacrilamida (PAGE); o peso molecular dos segmentos varia de 0.3 a 2.5×10^6 daltons (Tabela 3) e o peso molecular total do genoma é $11.5-11.8 \times 10^6$ daltons, correspondente a 20% do peso molecular total do vírus. Após corrida eletroforética do genoma dos vírus da língua azul, o aspecto do eletroferótipo é exemplificado na figura 1, juntamente com o eletroferótipo dos reovírus e rotavírus para comparação.

Tabela 3: Peso molecular dos segmentos de dsRNA do VLA-10

Segmento	Peso molecular ($\times 10^6$)
1	2.50
2	1.99
3	1.82
4	1.31
5	1.16
6	1.08
7	0.60
8	0.54
9	0.50
10	0.30

Nas amostras de campo do VLA, existe grande variação no padrão obtido por eletroforese do genoma em gel de poliacrilamida. Este fato reflete variações no genótipo dos vírus isolados e leva ao reconhecimento de uma grande diversidade genética no grupo sorológico do VLA, independente da diversidade antigênica. Não existe um padrão eletroforético característico para cada sorotipo.



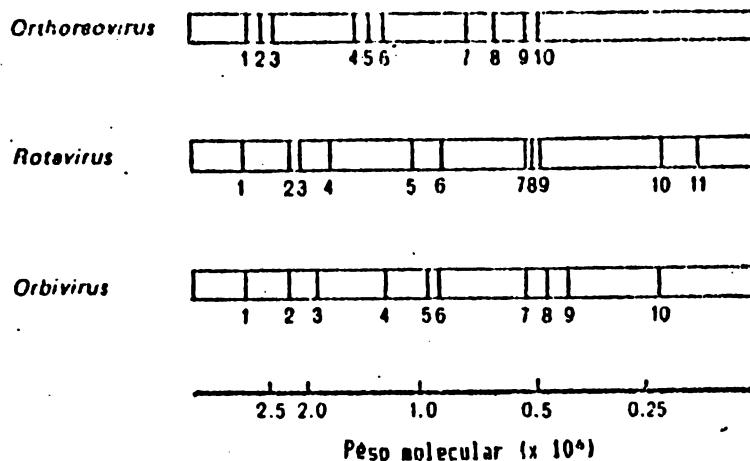


Figura 1: Diagrama esquemático dos segmentos genômicos de orthoreovirus, rotavirus e do vírus da língua azul, após eletroforese em gel de poliacrilamida.¹

O perfil eletroforético de alguns outros vírus do genero Orbivirus, como os vírus do grupo Eubenberg, pode ser semelhante ao do VLA, invalidando o uso de técnicas eletroforéticas de RNA para o diagnóstico do VLA.

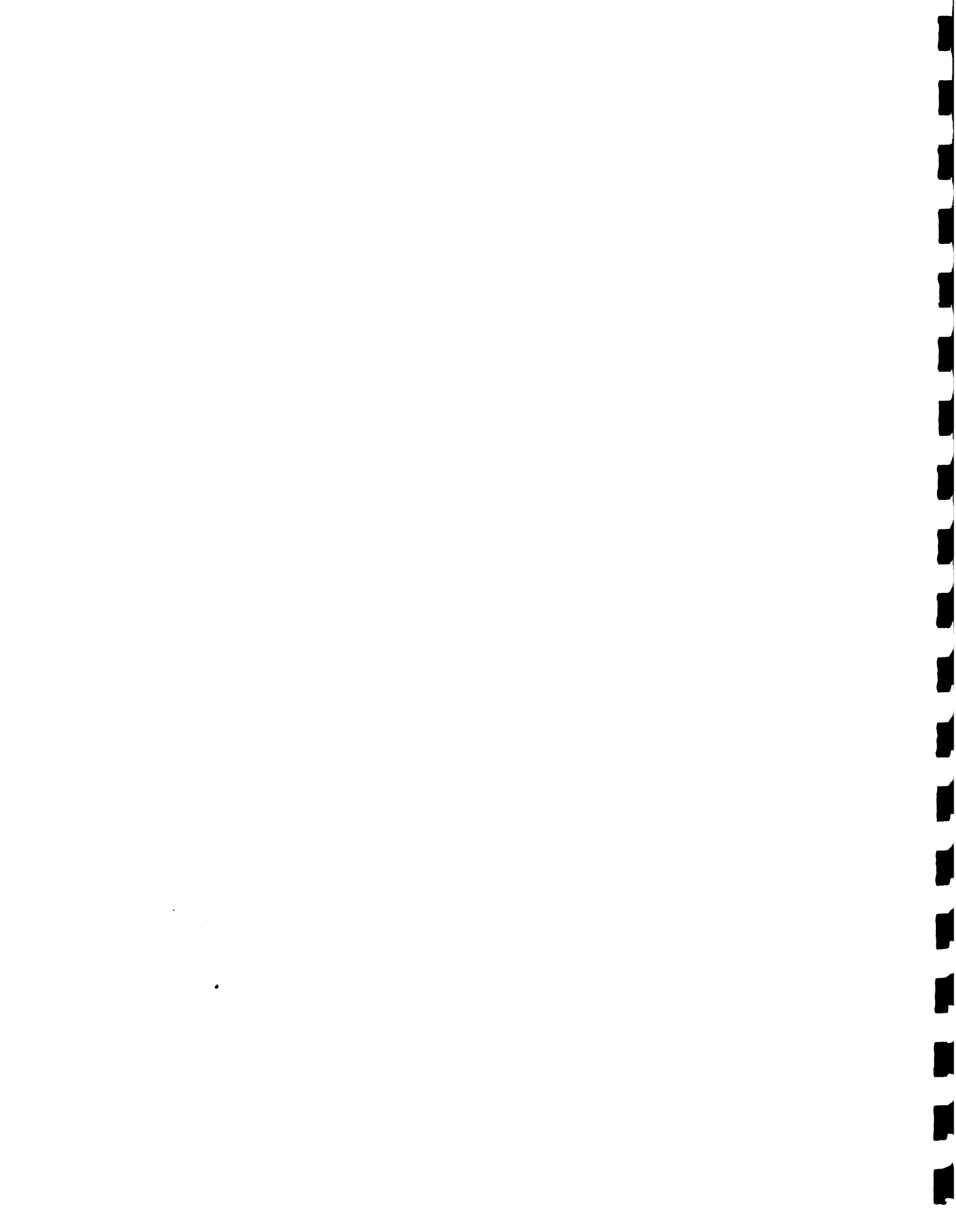
Em estudos extensos realizados com vírus isolados nos Estados Unidos da América, não foi possível determinar características nos padrões eletroforéticos que identificassem a espécie animal da qual o vírus foi isolado, nem as regiões geográficas ou ano em que os vírus foram isolados. Assim, a técnica de eletroforese não pode ser utilizada para determinação de vírus exóticos a diferentes regiões.

4. PROTEÍNAS

O vírus da língua azul contém 7 polipeptídeos estruturais, cujos pesos moleculares variam de 30.000 a 140.000 daltons. Quatro destes polipeptídeos são componentes *major* e três são componentes *minor* do vírus.

Uma série de técnicas diferentes tem sido utilizadas para definir a localização das proteínas do vírus da língua azul no capsídeo viral. Os vírus da língua azul são instáveis em gradientes de CsCl, em pH neutro, sendo degradados para partículas mais densas, com infectividade reduzida e sem o capsídeo externo. Esta partícula mais densa contém apenas 5 polipeptídeos e não contém os polipeptídeos

¹FLINNER, F.; BACHMANN, F.A.; GIBBS, E.P.J.; MURPHY, F.A.; STUDDERT, M.J.; WHITE, D.O. - Reoviridae IN -- Veterinary virology. Academic Press, Orlando, 1987. pp. 577-593, 1987.



P2 e P5. O *core* contém 5 polipeptídeos, dos quais P3 e P7 são os componentes *major* e P1, P4 e P6 são os componentes *minor*. O polipeptídeo P7 é o mais externo do *core* e o principal antígeno fixador de complemento do VLA.

As células infectadas com VLA apresentam ainda quatro proteínas não estruturais (P5a ou NS1, P6a ou NS2, NS3 e NS4). As proteínas NS3 e NS4 foram descritas recentemente², e têm peso molecular de 28.000 d e 25.000 d, respectivamente. O citoplasma das células infectadas é caracterizado pela presença de corpúsculos de inclusão fibrilares e túbulos, compostos de proteínas especificadas pelo vírus. Existe a suposição de que os corpúsculos e túbulos representem o sítio da morfogênese viral. Os túbulos contêm predominantemente a proteína NS1.

Existe uma discrepância na nomenclatura das proteínas do vírus da língua azul, utilizada por diferentes autores. A nomenclatura mais frequentemente utilizada é a de Verwoerd et al.³, onde o número das proteínas é precedido pela letra P. Alguns autores utilizam ainda esta mesma numeração dos polipeptídeos, precedidos pelas letras VP ao invés de P. A tabela 4 ⁴ resume duas diferentes nomenclaturas utilizadas, bem como o peso molecular e a localização das proteínas no virion.

Alguns sorotipos de VLA demonstram atividade hemaglutinante para hemácias de determinadas espécies animais. O sorotipo 10 aglutina hemácias de carneiro, enquanto os sorotipos 3, 8 e 10 aglutinam hemácias de carneiro, ganso, coelho e humanas. O polipeptídeo P2 foi identificado como a hemaglutinina viral do VLA e a reação de inibição da hemaglutinação para o VLA é sorotipo-específica.

²VAN DIJK, A.A. & HUISMAN, H. - *In vitro* transcription and translation of bluetongue virus mRNA. J. Gen. Virol. 69: 573-581, 1988.

³VERWOERD, D.; ELS, H.; DEVILLIERS, E.; HUISMANS, H. - Structure of the bluetongue virus capsid. J. Virol. 10: 783-794, 1972.

⁴CAMPBELL, C.H.; GRUBMAN, M.J. - Current knowledge on the biochemistry and immunology of bluetongue. Prog. Vet. Microbiol. Immunol. 1: 58-79, 1985.



=====
Tabela 4: Sistemas de nomenclatura, peso molecular e localização das proteínas do vírus da língua azul.

Polipeptídeo		Peso molecular		Localização	
		(x 10 ³)			
A	B	A	B	Estrutural	Não Estrutural
P1	VP1	140	137	core, minor	-
P2	VP3	110	104	externa, major	-
P3	VP2	101	108	core, major	-
P4	VP4	82	82	core, minor	-
P5	VP5	61	69	externa, major	-
P5a*	VP8	54	47	-	sim
P6	VP6	42	57	core, minor	-
P6a**	VP7	40	51	-	fosforilada
P7	VP9	29	44	core, major	-
-	VP10	-	24	-	sim

A = Verwoed et al.³ (VLA-10)

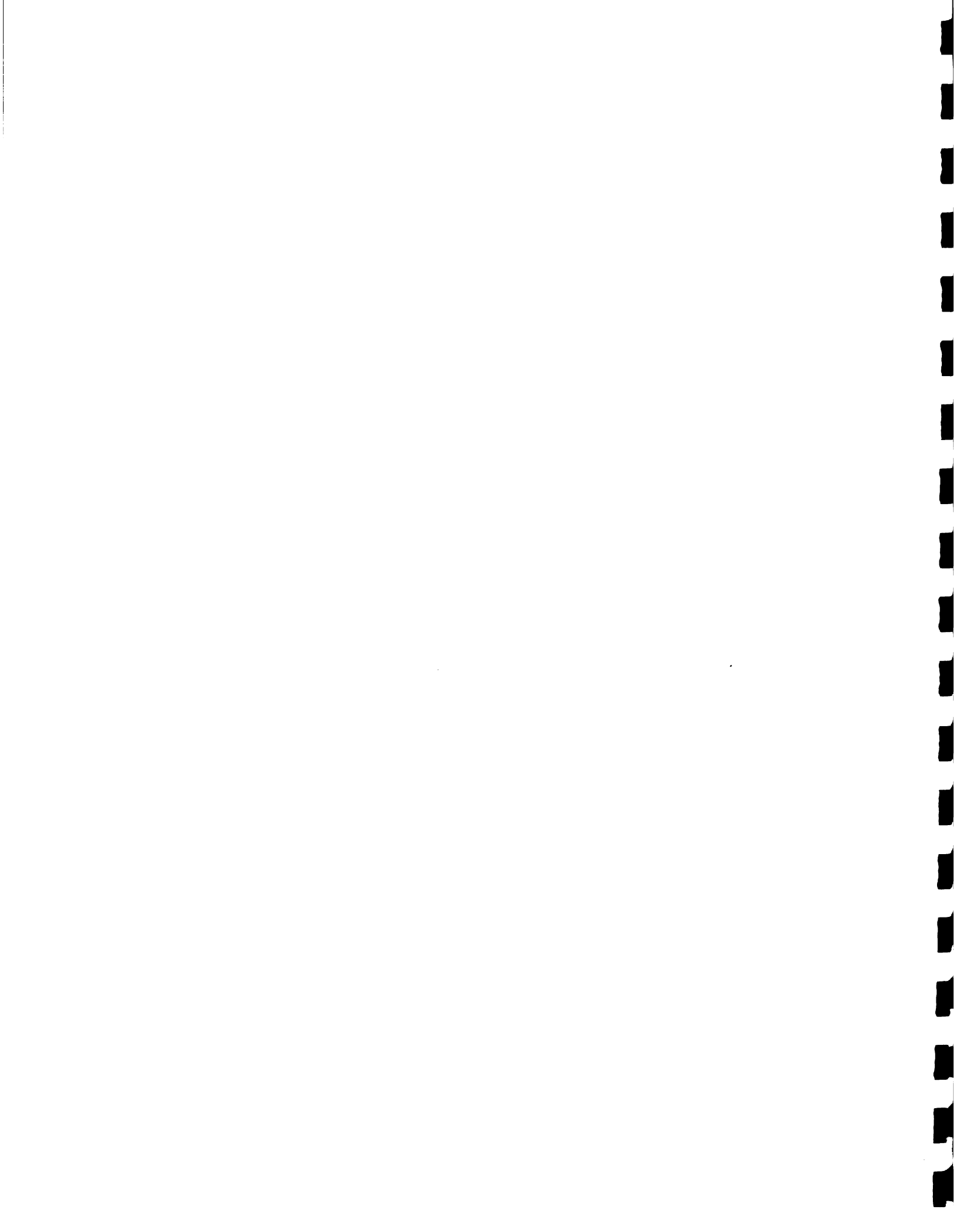
B = Appleton & Lenchworth⁴ (VLA-17)

* NS1

** NS2

=====
 A remoção dos polipeptídeos do capsídeo externo, P2 e P5, ativa a RNA polimerase-dsRNA dependente (transcriptase viral). Em contraste com a atividade de transcriptase presente nos reovírus, que pode ser ativada ou por tratamento com quimiotripsina ou por choque térmico, a ativação de transcriptase do vírus da língua azul requer tanto a quimiotripsina, que remove P2, quanto uma concentração elevada de cátions, que remove P5. A atividade de transcriptase do VLA requer ions magnésio e é estimulada por ions manganês. Esta atividade também é aumentada por s-adenosil-metionina, um doador de grupos metil, sugerindo que no processo de transcrição existe uma fase de metilação. Os produtos sintetizados *in vitro* são RNA de fita simples e representam transcritos de todos os 10 segmentos, podendo ser hibridizados ao dsRNA viral denaturado.

⁴APPLETON, J. & LENCHWORTH, G. - Monoclonal antibody analysis of serotype-restricted and unrestricted bluetongue viral antigenic determinants. *Virology* 124: 286-299, 1983.

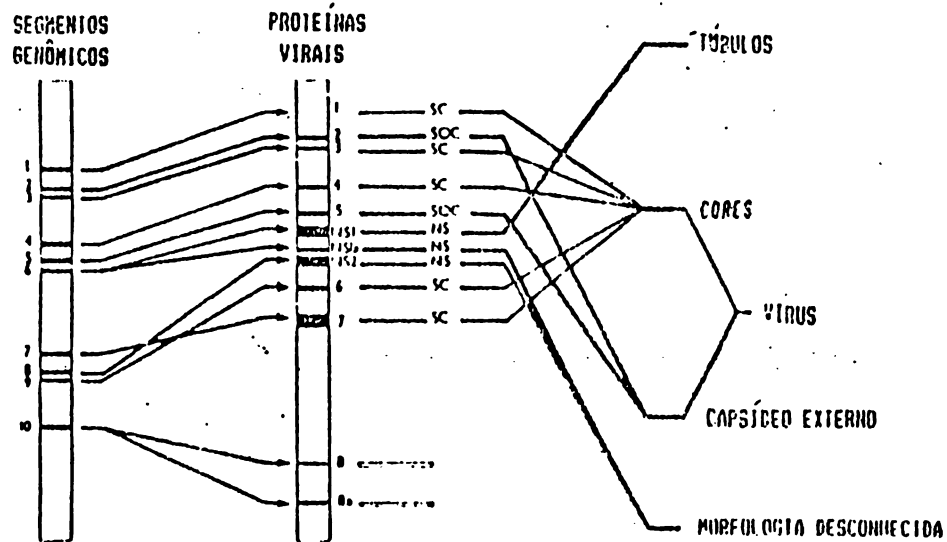


Estudos de relacionamento entre as proteínas dos diversos sorotipo de VLA permitiram concluir, através de mapeamento dos peptídeos, que existem proteínas que exibem um alto grau de conservação estrutural e de composição entre os diversos sorotipos estudados. As proteínas P1, P3, P4 e NS1 pertencem a este grupo. As proteínas P5, P6, P7 e NS2 exibem um grau parcial de conservação entre diferentes sorotipos, enquanto a proteína P2 é única para cada sorotipo.

5. CORRESPONDÊNCIA SEGMENTO GENÔMICO-PROTEÍNA

A correspondência entre os segmentos genômicos individuais dos VLA e as proteínas por eles codificadas foi determinada através da translação *in vitro* do dsRNA denaturado, da produção de vírus recombinantes genéticos ou da síntese *in vitro* de m-RNA, hibridização ao ds-RNA de cada segmento e subsequente translação.

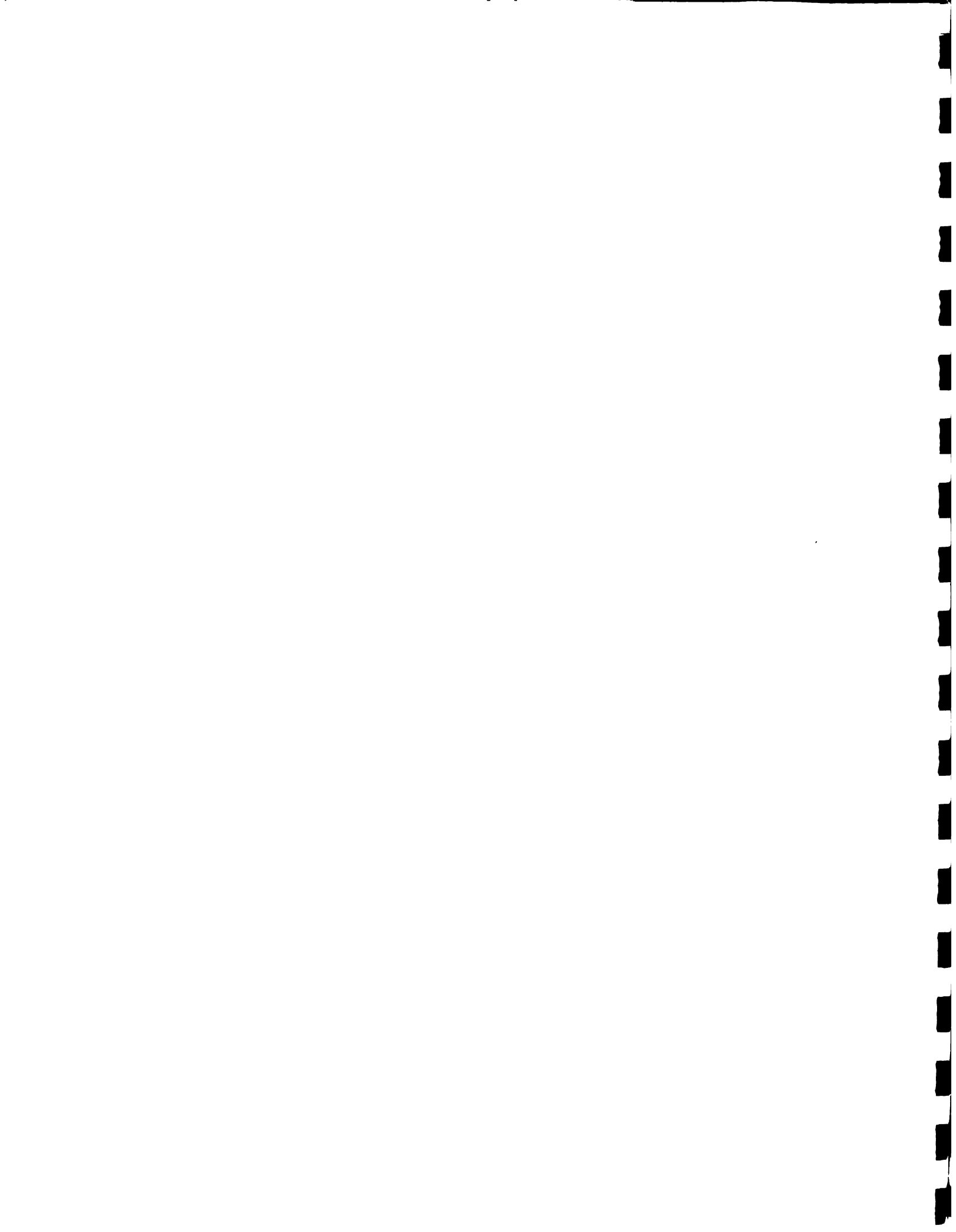
Através destas técnicas, ficou demonstrado que o tamanho do RNA não equivale ao tamanho do polipeptídeo correspondente. A correspondência entre segmento genômico e proteínas foi determinada para o tipo sorológico 1 e confirmada para os tipos sorológicos 17 e 10 do VLA. Esta correspondência é apresentada na figura 2.



SC - core ; SOC - capsídeo externo ; NS - não estrutural

Figura 2: Correspondência entre o segmento genômico e a respectiva proteína e localização das proteínas na partícula viral (VLA-1) ⁴.

⁴HARTENS, P.F.C.; BROWN, F.; SANGAR, D.V. - Assignments of the genome segments of bluetongue virus type 1 to the proteins which they encode. *Virology* 135: 207-217, 1984.



6. ANTÍGENOS VIRAIS

Por definição, os vírus pertencentes ao grupo língua azul apresentam um antígeno comum, que é identificado mais frequentemente através da reação de imunofluorescência. Este antígeno pode ainda ser identificado através das reações de fixação do complemento e imunodifusão. Evidências obtidas através de imuoprecipitação indicam que este antígeno se localiza no polipeptídeo do core P7; estudos com anticorpos monoclonais confirmam esta localização. Além da proteína P7, a proteína P3 também contém sítios grupo-reativos. Estes estudos ainda determinaram que a proteína P7 consiste em muitos determinantes antigênicos, um ou mais dos quais estão presentes em todos os sorotipos, enquanto outros são encontrados em apenas alguns sorotipos. Outra proteína não estrutural, a NS2 (equivalente à proteína P6A), contém determinantes antigênicos comuns presentes em 20 sorotipos testados, e o anticorpo monoclonal dirigido a estes determinantes reagiu com 2 sorotipos do vírus da doença epizootica hemorrágica e com o vírus Ibaraki, ambos pertencentes ao sorogrupo do vírus da doença hemorrágica. Esta proteína pode ser a responsável pelas reações cruzadas observadas entre o VLA, o vírus da doença hemorrágica epizootica e o vírus Ibaraki.

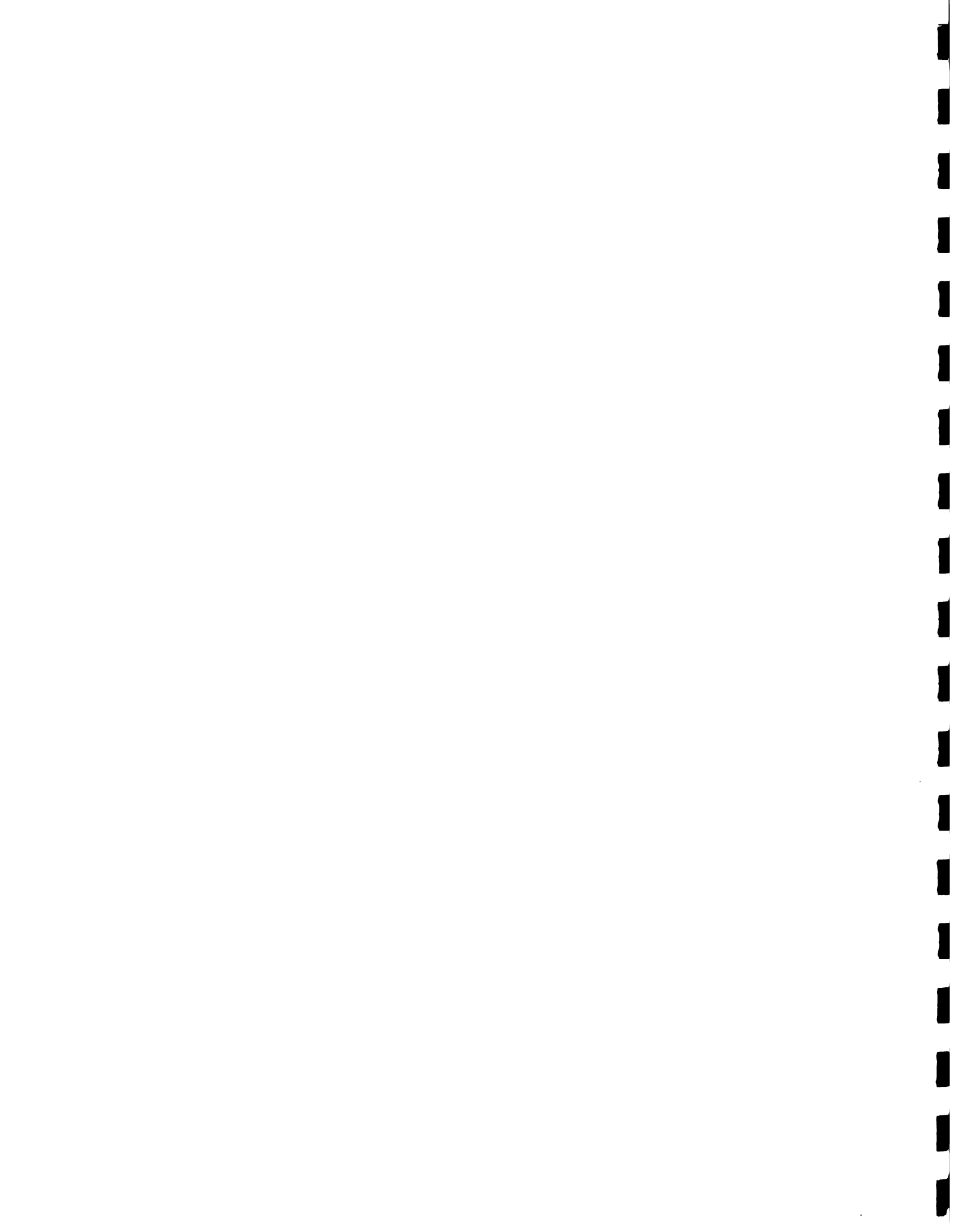
Além do antígeno comum de grupo, os vírus da língua azul contém um antígeno ou antígenos responsáveis pela especificidade de sorotipo. Os sorotipos são identificados através da reação de neutralização com soros de referência. A observação de que o polipeptídeo P2, preparado a partir de vários sorotipos, é precipitado apenas pelo soro homólogo, indica que P2 é responsável pela especificidade de sorotipo. A proteína P2 também é capaz de estimular a produção de anticorpos neutralizantes, quando inoculada de forma purificada em coelhos e carneiros.

Existem ainda dúvidas relativas ao determinante antigênico de especificidade de sorotipo, se este reside no mesmo polipeptídeo em todos os sorotipos. Existem evidências de que a neutralização é especificada por três ou mais determinantes antigênicos e estes determinantes podem residir na mesma proteína ou em proteína diferentes.

7. RECOMBINAÇÃO GENÉTICA

A natureza segmentada do genoma do vírus da língua azul é um fator potencial para o mecanismo de evolução destes vírus, através de troca dos segmentos de RNA, resultando no aparecimento de novas estirpes de vírus.

Em culturas celulares, o potencial para esta recombinação foi amplamente demonstrado; *in vitro*, a recombinação genética ocorre em alta frequência e os



recombinantes resultantes contêm segmentos genômicos derivados de cada um dos tipos originais.

Na natureza, existem evidências indiretas de que este mecanismo também ocorra. Existem experimentos que comprovam esta possibilidade em ovinos, na proporção de 5% e em vetores culicídeos, em proporção muito maior (42%). Estas observações sugerem que vetores infectados com duas estirpes de vírus diferentes podem gerar e disseminar vírus recombinantes com maior eficiência do que os hospedeiros mamíferos.

Este potencial de recombinação genética dos VLA tem importância, devido ao uso de vacinas atenuadas contendo sorotipos diferentes de vírus, onde existe a possibilidade de haver troca de segmentos genômicos, originando novos vírus.

B. BIBLIOGRAFIA RECOMENDADA

COWLEY, J.A. & GORMAN, B.M. - Genetic reassortants for the identification of the genome segment coding for the bluetongue virus hemagglutinin. *J. Virol.* 61: 2304-2306, 1987.

GORMAN, B.M.; TAYLOR, J. Orbiviruses. IN FIELDS, B.N., ed. - *Virology*. Raven Press, New York, 1985. pp. 907-925.

HOWELL, P.G.; VERWOED, D.H. - Bluetongue virus. IN GAND, S; HALLAUER, C.; MEYERS, K.F., eds. *Virology Monographs*. Springer-Verlag, New York, 1971, pp. 35-74.

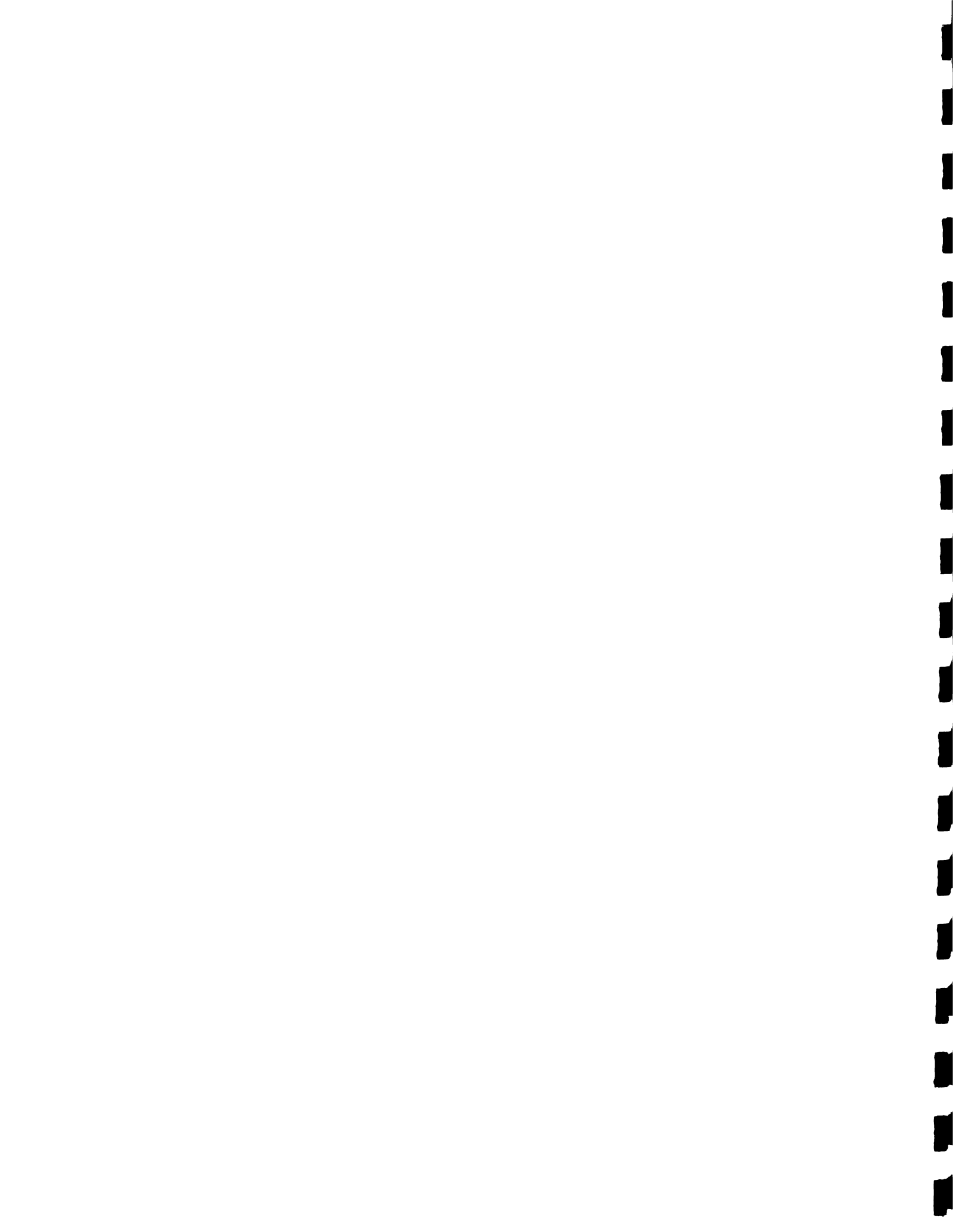
HUISMANS, H.; CLOETE, M. ; LE ROUX, A. - The genetic relatedness of a number of individual cognate genes of viruses in the bluetongue and closely related serogroups. *Virology* 161: 421-428, 1987.

HUISMANS, H. & ELS, H.J. - Characterization of the tubules associated with the replication of three different orbivirus. *Virology* 92: 397-406, 1979.

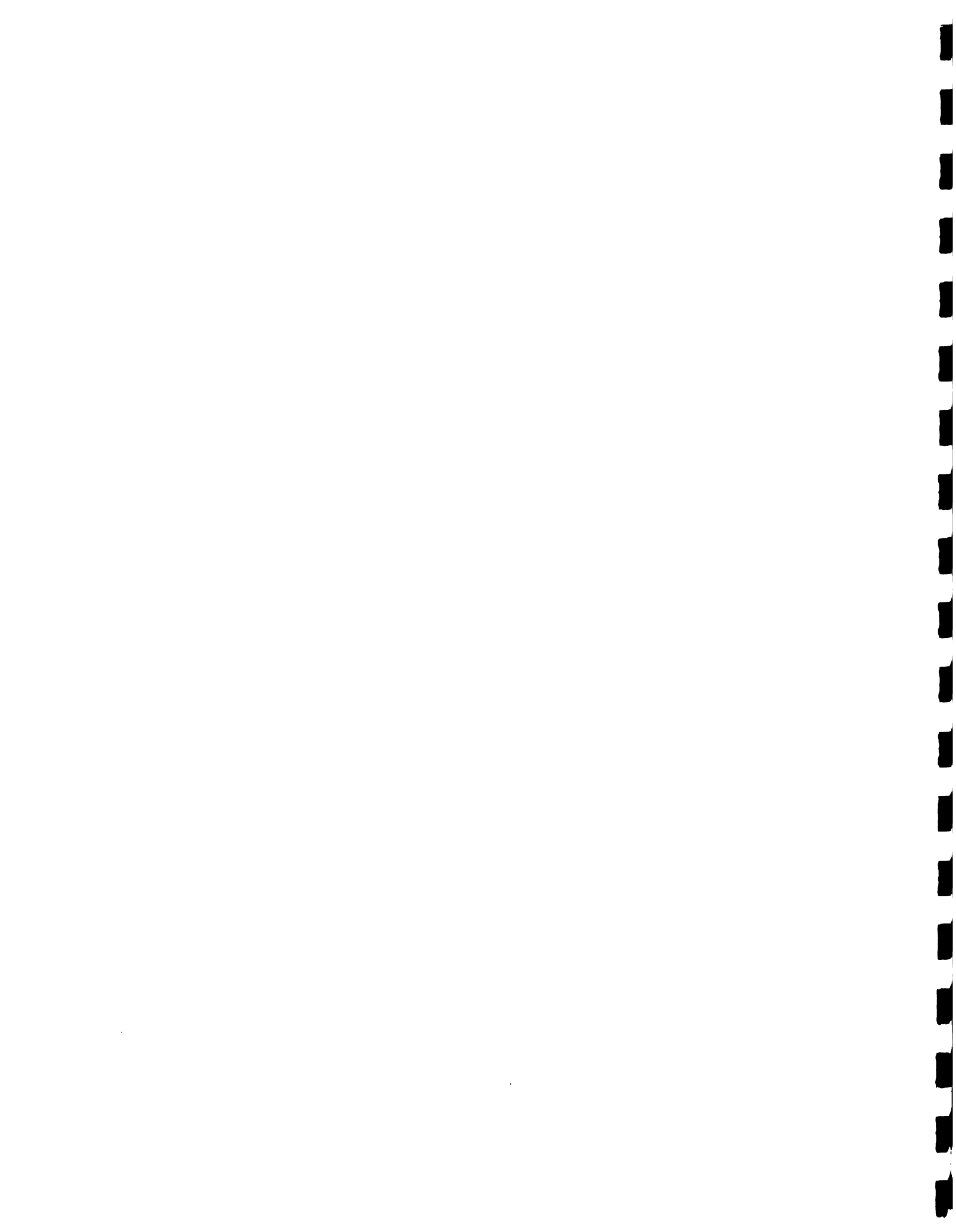
HUISMANS, H. & ERAMUS, B.J. - Identification of the serotype-specific and group specific antigens of bluetongue virus. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 48: 51-58, 1981.

HUISMANS, H.; VAN DIJK, A.A. ; ELS, H.J. - Uncoating of parental bluetongue virus to core and subcore particles in infected L cells. *Virology* 157: 180-188, 1987.

HYATT, A.D. & EATON, B.T. - Ultrastructural distribution of the major capsid proteins within bluetongue virus and infected cells. *J. Gen. Virol* 69: 805-815, 1988.

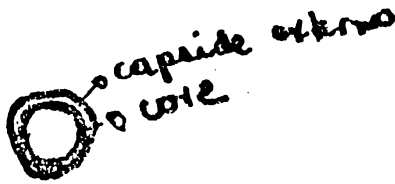


- KOWALIK, T.F. & LI, J.K.K. - The genetic relatedness of United States prototype bluetongue viruses by RNA/RNA hybridization. *Virology* 158: 276-284, 1987.
- MECHAM, J.O.; DEAN, V.C. & JOCHIM, M.M. - Correlation of serotype specificity and protein structure of the five U.S. serotypes of bluetongue virus. *J. Gen. Virol.* 67: 2617-2624, 1986.
- OSBERST, R.D.; STOTT, J.L.; BLANCHARD-CHANNELL, M.; OSBURN, B.I. - Genetic reassortment of bluetongue virus serotype 11 strains in the bovine. *Vet. Microbiol.* 15: 11-18, 1987.
- SAMAL, S.K.; LIVINGSTON, C.W., Jr.; McCONNEL, S.; RAMIG, R.F. - Analysis of mixed infection of sheep with bluetongue virus serotypes 10 and 17: evidence for genetic reassortment in the vertebrate host. *J. Virol.* 61: 1086-1091, 1987.
- SQUIRE, K.R.E.; OSBURN, R.Y.; CHUANG, R.Y.; DOI, R.H. - A survey of the electropherotype relationship of bluetongue virus isolates from Western United States. *J. Gen. Virol.* 64: 2103-2115, 1983.
- VAN DIJK, A.A. & HUISMANS, H. - The *in vitro* activation and further characterization of the bluetongue virus-associated transcriptase. *Virology* 104: 347-356, 1980.



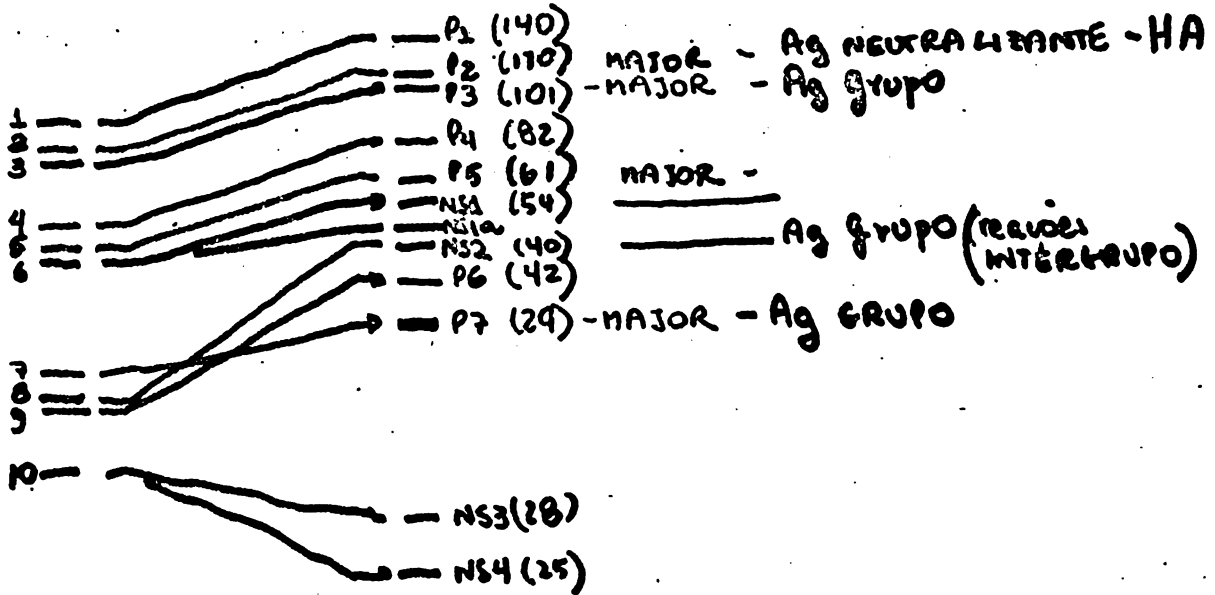
ANTIGENOS DEL VIRUS DE LENGUA AZUL

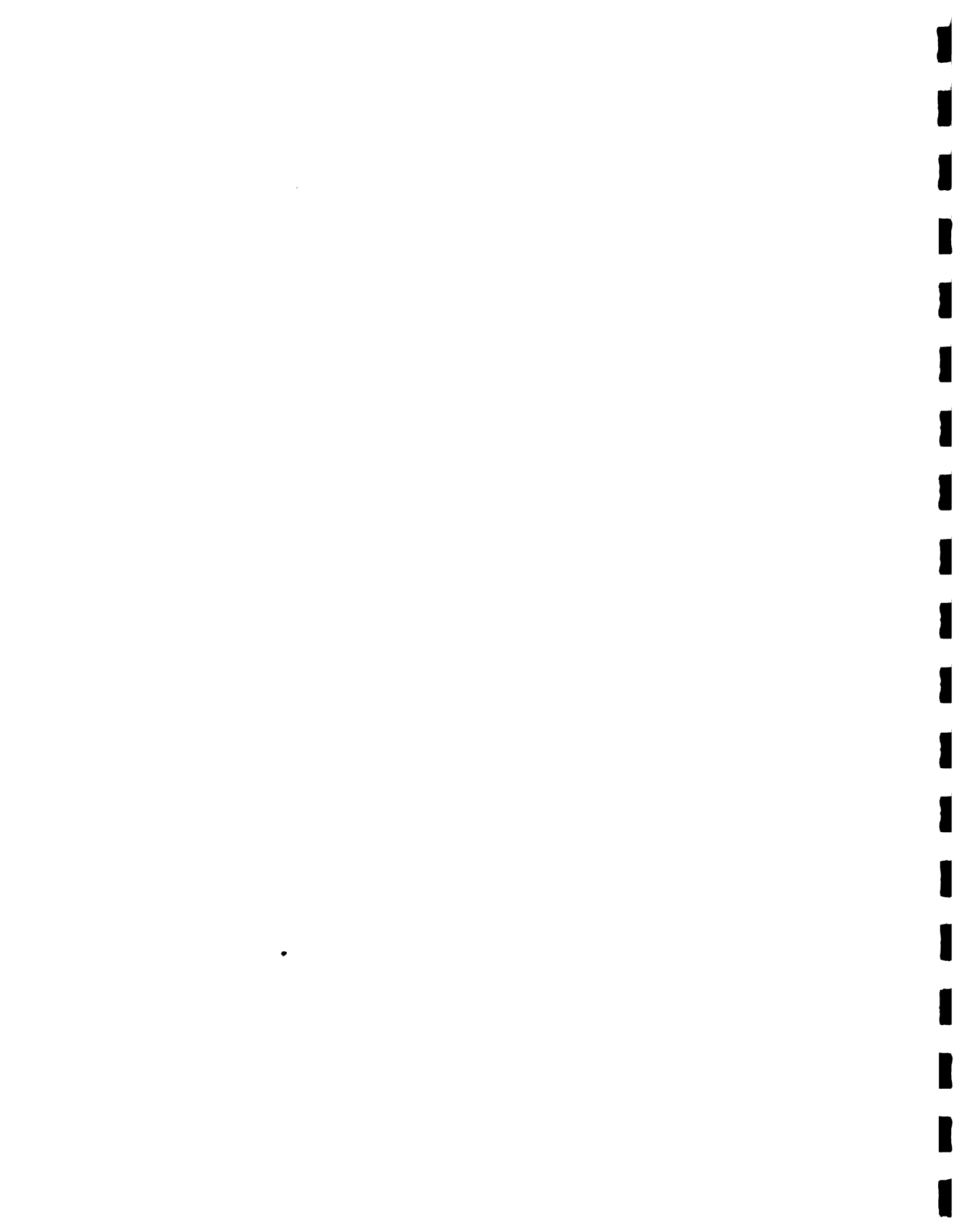
BTV 1



SEGMENTO

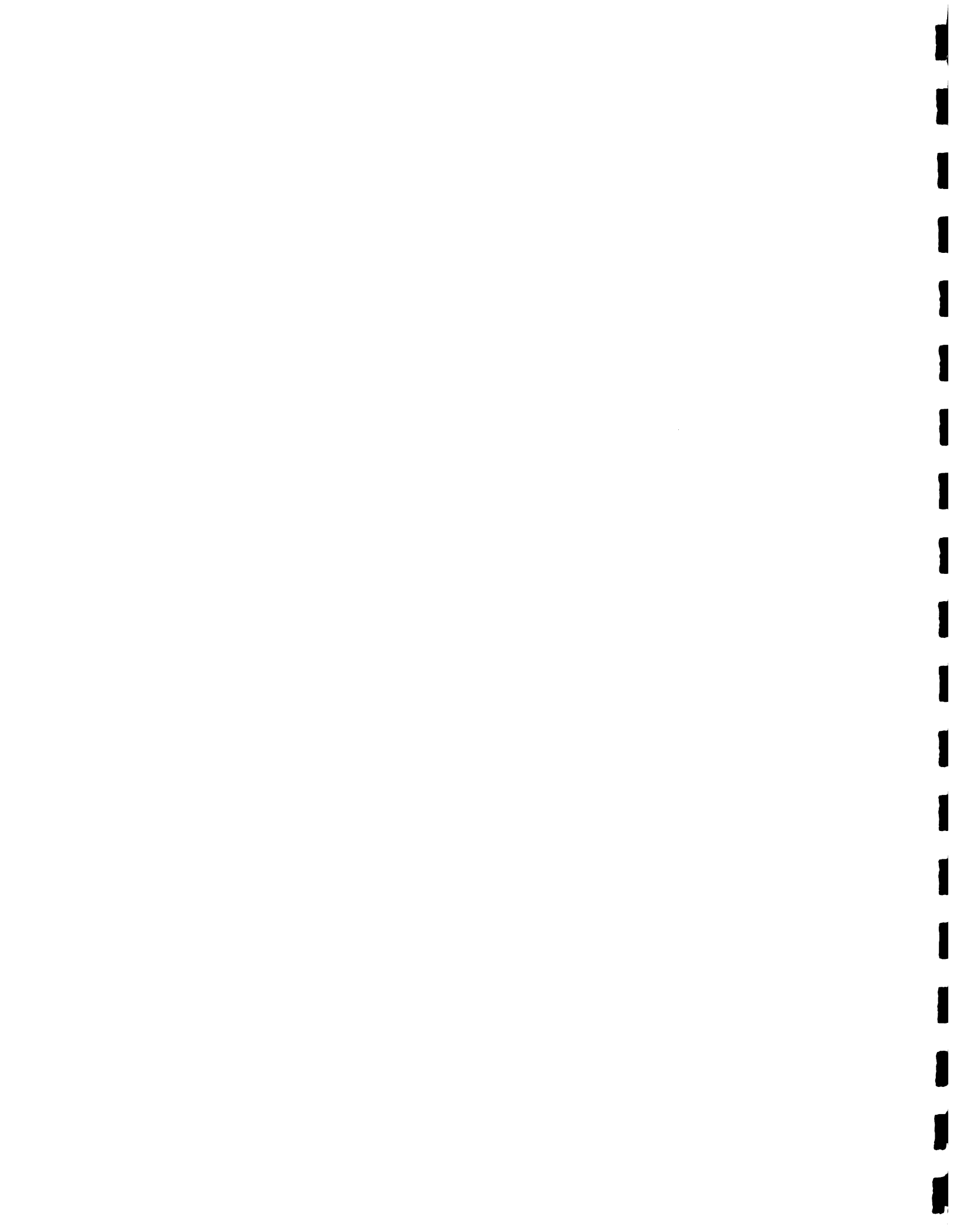
PROTEÍNA (PM)





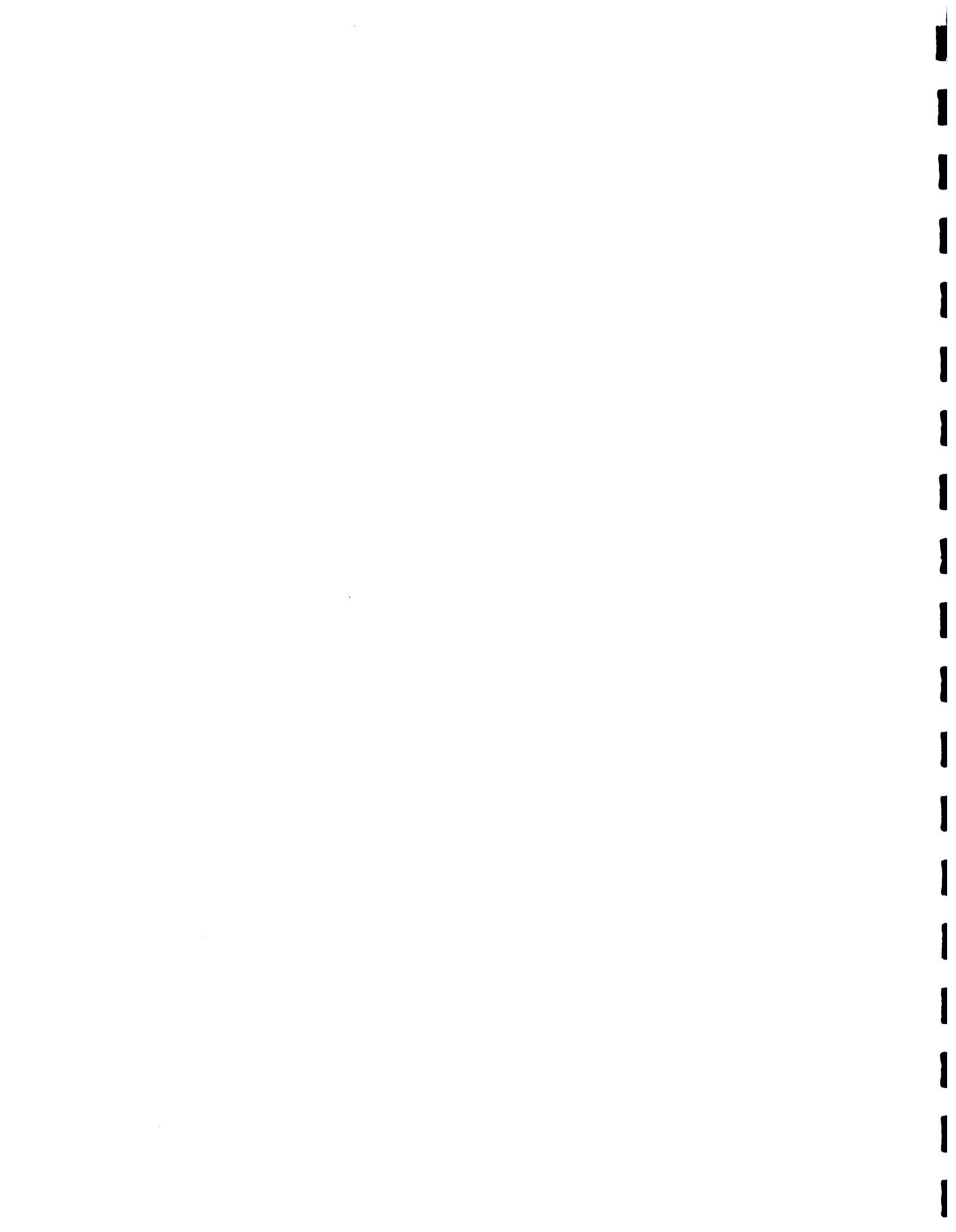
HEMAGLUTINAÇÃO

TIPO	LOCAL	HEMACIA
10	USA	carneiro
3,8,10	África do Sul	carneiro cobaio camundongo galinha
10	África do Sul	carneiro ganso coelho humana
20	Austrália	carneiro
21	Austrália	humana ganso carneiro bovino



DIAGNOSTICO DE LENGUA AZUL
SEMINARIO TALLER
CAMPINAS BRASIL 12-16 DIC 1988

PATOGENIA DE LA LENGUA AZUL



LENGUA AZUL

SIGNOS/LESIONES GENERALES

FIEBRE DE 40.6 A 41.7°C

↓
HIPEREMIA

↓
EDEMA

↓
HEMORRAGIAS

↓
VESICULAS

↓
EROSIONES

↓
ULCERAS

↓
COSTRAS

↓
DESHIDRATACION
DEBILIDAD
POSTRACION.

↓
MUERTE



LENGUA AZUL

SIGNOS / LESIONES

EXAMEN EXTERNO

Edema
Subcutaneo:
Facial
Intermandibular y
Cuello
Hiperemia:
Rodete coronario
Exantema
Pododermatitis
Pelo hirsuto
Costras
Piel gruesa
Cojera
Lomo arqueado
Fiebre

VASCULAR

Congestión
Arteritis
Hiperplasia
endotelial en:
Cavidad oral
Encefalo
Placenta

TRACTO DIGESTIVO

Labios
Lengua
Paladar
R. dentario
Omaso
Reticulo con:
Edema
Hemorragia
Erosiones
Ulceras
Cianosis
Ptialismo
Anorexia

CIRCULATORIO

Hemorragias en:
Endocardio
Pericardio

TRACTO RESPIRATORIO

M. nasal
Faringe
Traquea
Pulmon con:
Edema
Hiperemia
Hemorragia
Cianosis
Espuma y
Neumonía

OTROS

Esplecnomegalia
Musculoos. con
Hemorragias
Necrosis
Edema
Aborto y
absorción fetal
Efecto
teratogenico
con :
Hidroencefalia
Meningoencefa-
litis necrosan-
te aguda
Escoliosis
Torticolis
Artrogrifosis
Infertilidad
temporal en
toros



LENGUA AZUL

PATOGENIA

Inoculación del virus por vectores

↓
Entrada al torrente circulatorio

↓
Células endoteliales

↓
Adhesión - penetración - replicación citoplasmática
con corpúsculos de inclusión y tubulos

↓
 α y β Interferon.

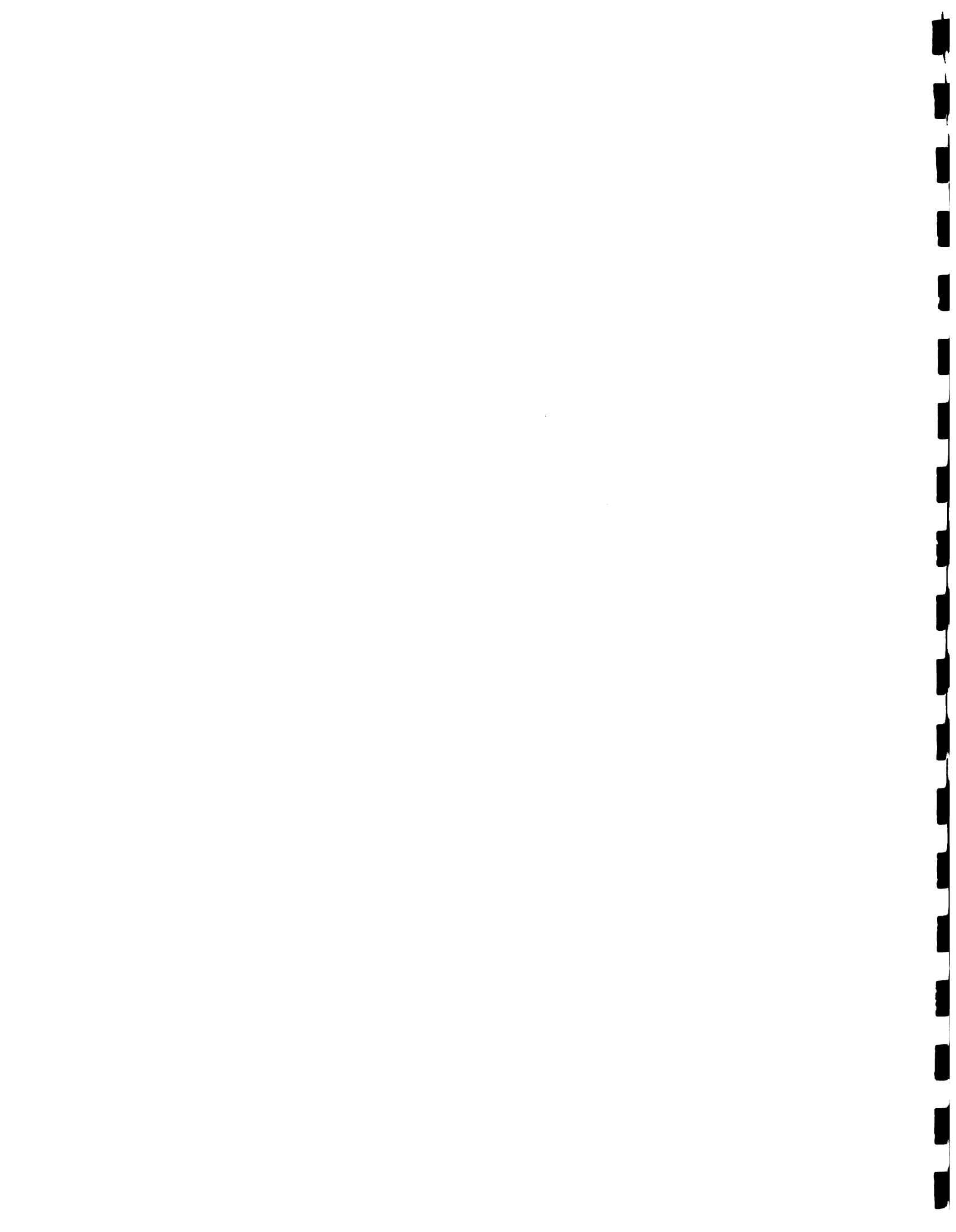
↓
Viremia

↓
Liberación de mediadores de la inflamación
como complemento con:

↓
Activación del sistema inmunológico habiendo

↓
Interacciones con C', coagulación e inflamación

↓
COAGULOPATIA INTRAVASCULAR DISEMINADA
HIPERSENSIBILIDAD



MECANISMO MEDIANTE LOS CUALES EL
INTERFERON IMPIDE LA REPLICACION VIRAL

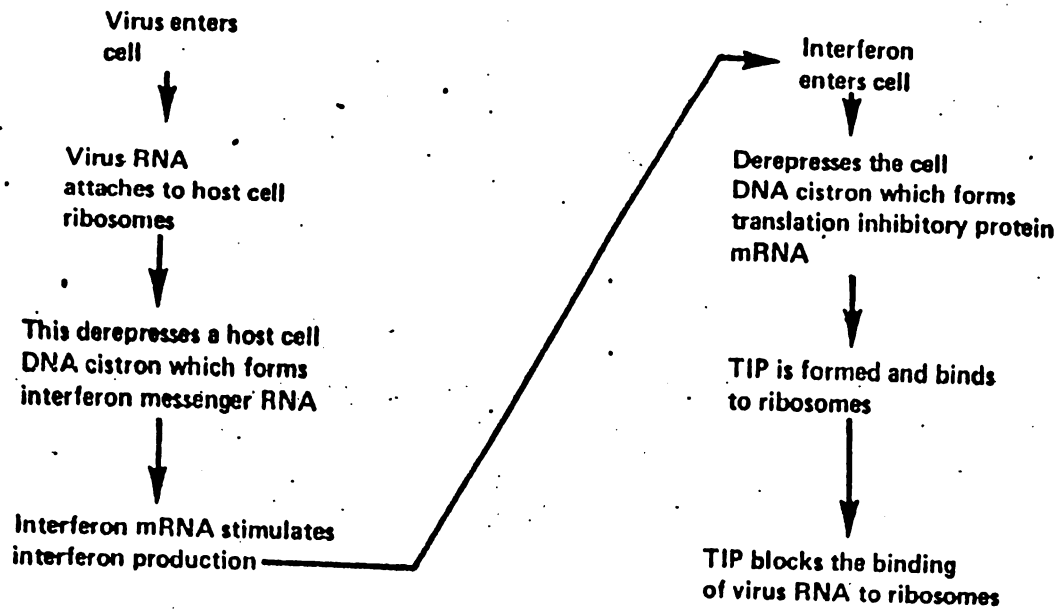
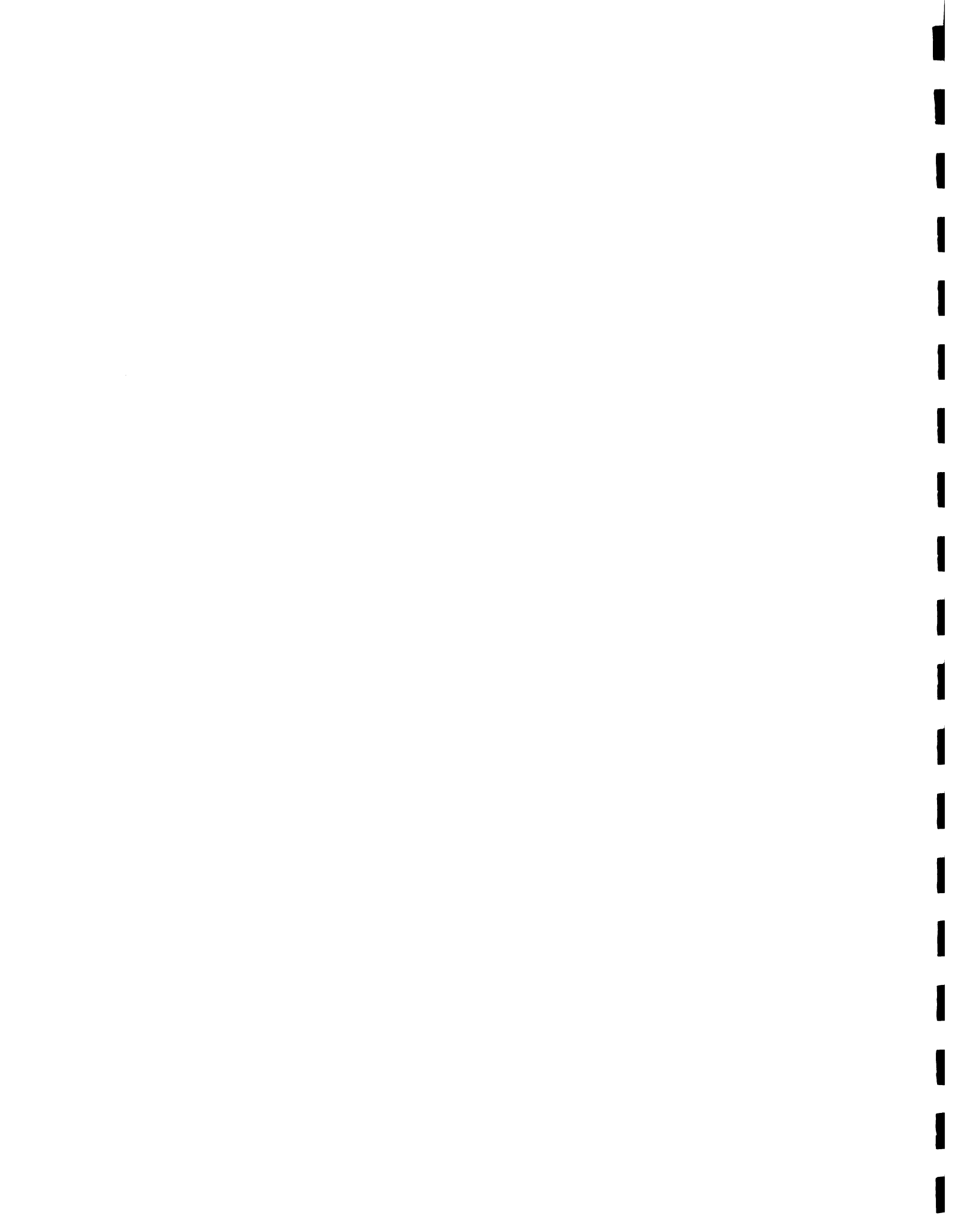


Figure 14-3 The mechanism by which interferon prevents viral replication within cells.

FUENTE: TIZARD, I. AN INTRODUCTION TO VETERINARY IMMUNOLOGY.
1982.



**MECANISMO DE CONTROL DE LA TEMPERATURA CORPORAL NORMAL
Y PRODUCCION DE FIEBRE**

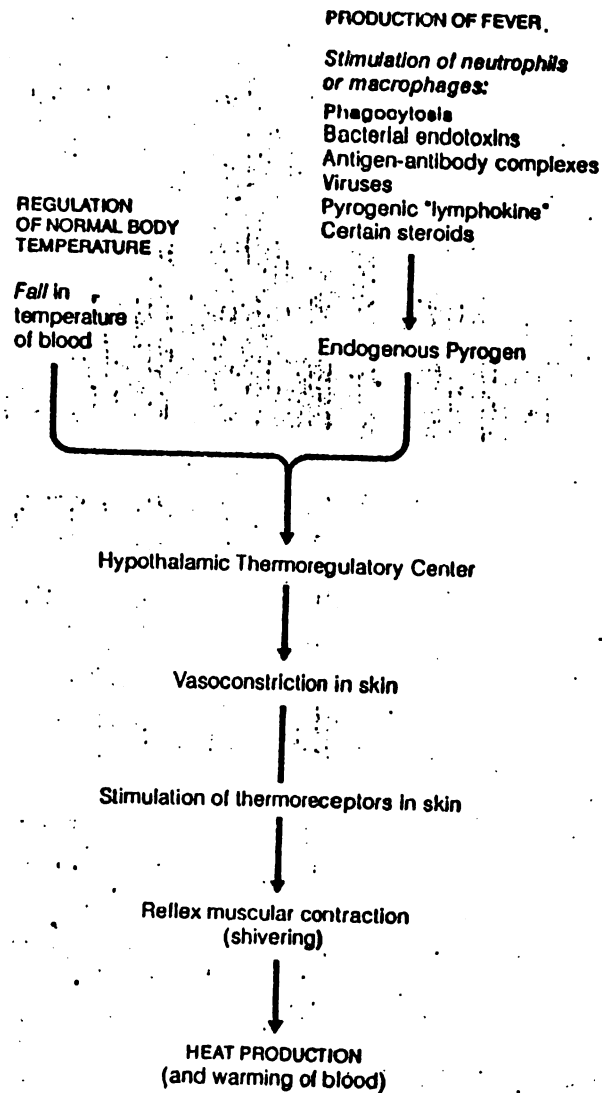


Figure 85. Regulation of normal body temperature, and the production of fever.

FUENTE: THOMAS, B.A. INFLAMATION. THE UPJOHN COMPANY. 1977.

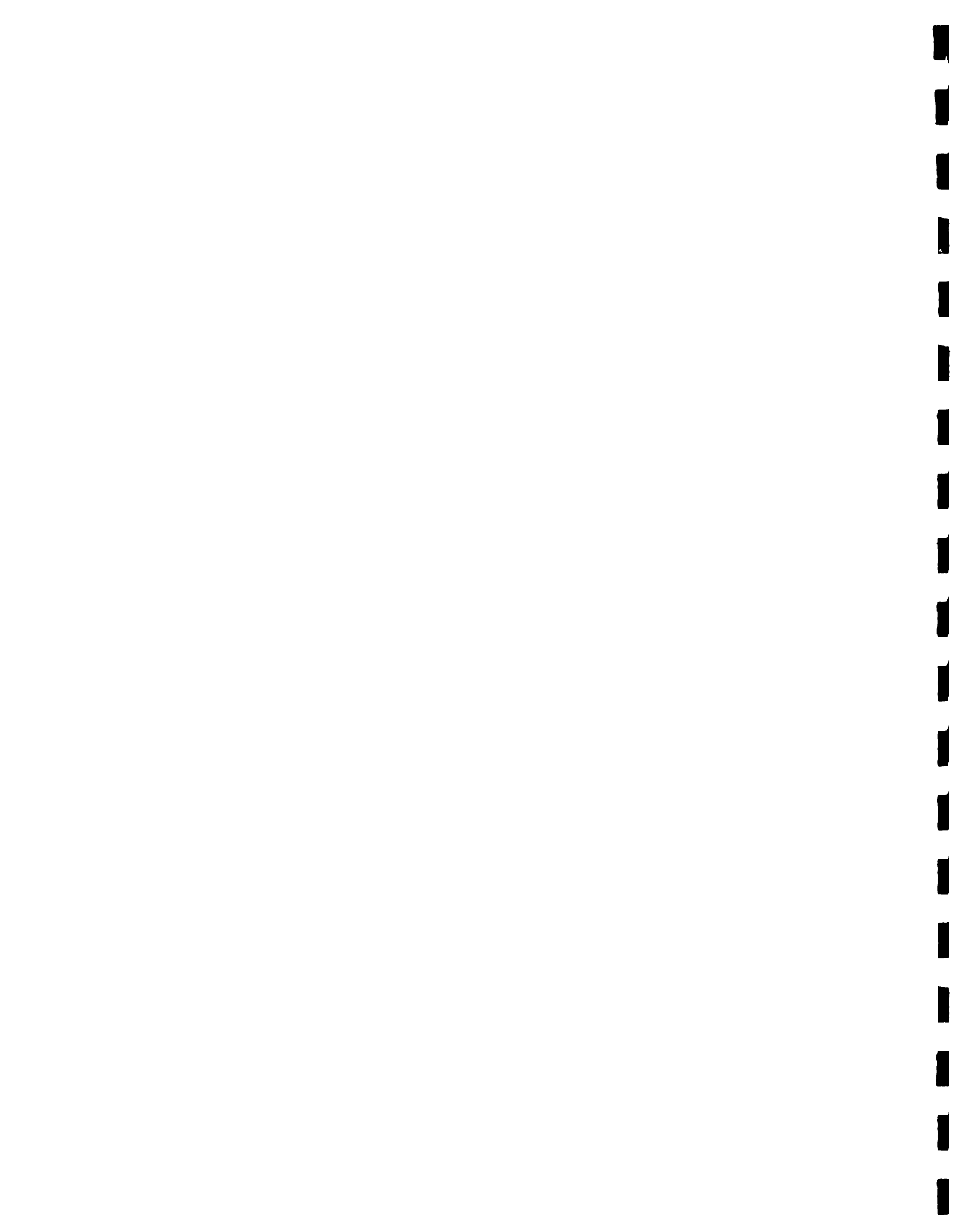
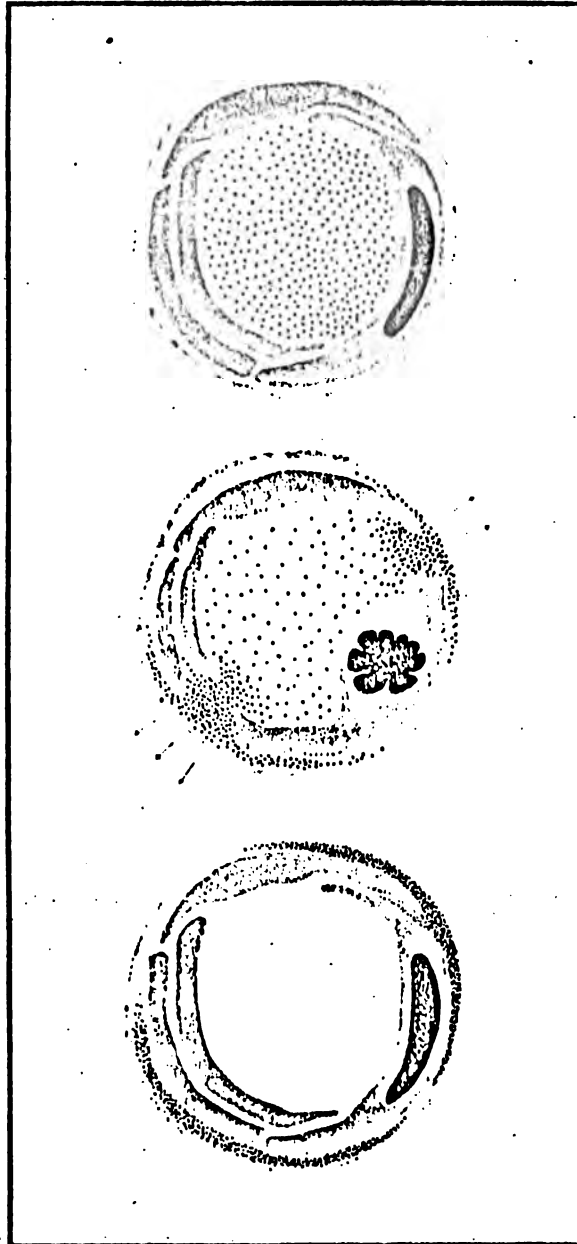


Figure 11. Schematic of the venule labeling effect. Note the labeling effect of the basement membrane. Top: Normal venule with carbon black in lumen. Middle: Escape of plasma. Bottom: Labeling effect inside basement membrane.



VENULA NORMAL

SALIDA DE PLASMA

ACCION FILTRANTE DE
LA MEMBRANA BASAL

FUENTE: THOMAS, B.A. INFLAMATION. THE UPJOHN COMPANY. 1977.

1950

SINDROME DE LA COAGULOPATIA INTRAVASCULAR DISEMINADA

Hemostasis

Table 4.2. Disseminated Intravascular Coagulation Syndrome

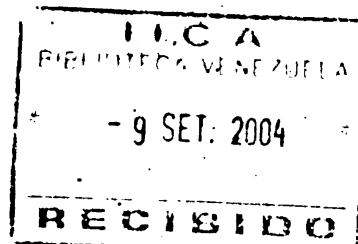
DIC Is Initiated by Extensive Vascular Injury Which Causes:
Platelet adherence → consumptive thrombocytopenia
Coagulation activation → consumptive I, V, and VIII deficiency
Fibrinolysis activation → excessive plasmin and FDP accumulation
Excessive plasmin → hydrolysis of I, V, and VIII
Excessive FDP → inhibition of platelet adherence and fibrinogen polymerization

Clinical Features of DIC:

May remain subclinical
Microthrombi and ensuing organ dysfunction
Overt hemorrhage
Fragmentation hemolysis
Signs associated with initiating disease

Diseases Which May Initiate the Onset of DIC:

Systemic infection
Malignancy
Liver disease
Amyloidosis
Shock, stress, trauma, surgery
Heat stroke
Polycythemia
Obstetrical complications
Thrombotic disorders
Uremia



remove plasma, and freeze (commercial containers with citrate are available).

2. Procedures that can be performed on citrated plasma are:

- a) Thrombin time (TT).
- b) Partial thromboplastin time (PTT).
- c) Prothrombin time (Pro T).
- d) Specific factor analysis.
- e) Platelet factor 3 test (PF3).

3. The plasma need not be frozen if the procedures are done within 20-30 minutes of sample collection.

C. Control plasma from a clinically normal animal should be submitted with the patient's sample to those laboratories not routinely handling animal samples.

II. Interpretation of Hemostasis Data (Table 4.3)

A. Platelet number and function evaluation

1. Platelet count.

- a) Counts less than 100,000/ μ l of blood indicate thrombocytopenia (Cases 2, 10).



ENFERMEDAD EPIZOOTICA HEMORRAGICA

VENADOS

CUADRO CLINICO:

HIPER AGUDO -> Muerte sin síntomas

AGUDO CON:

Hemorragias extensivas

Vasculitis

Trombosis infartos

Ulceras

COAGULOPATIA INTRAVASCULAR DISEMINADA



**DIAGNOSTICO DE LENGUA AZUL
SEMINARIO TALLER
CAMPINAS BRASIL 12-16 DIC 1988**

**DISTRIBUCION DEL VIRUS DE
LENGUA AZUL**

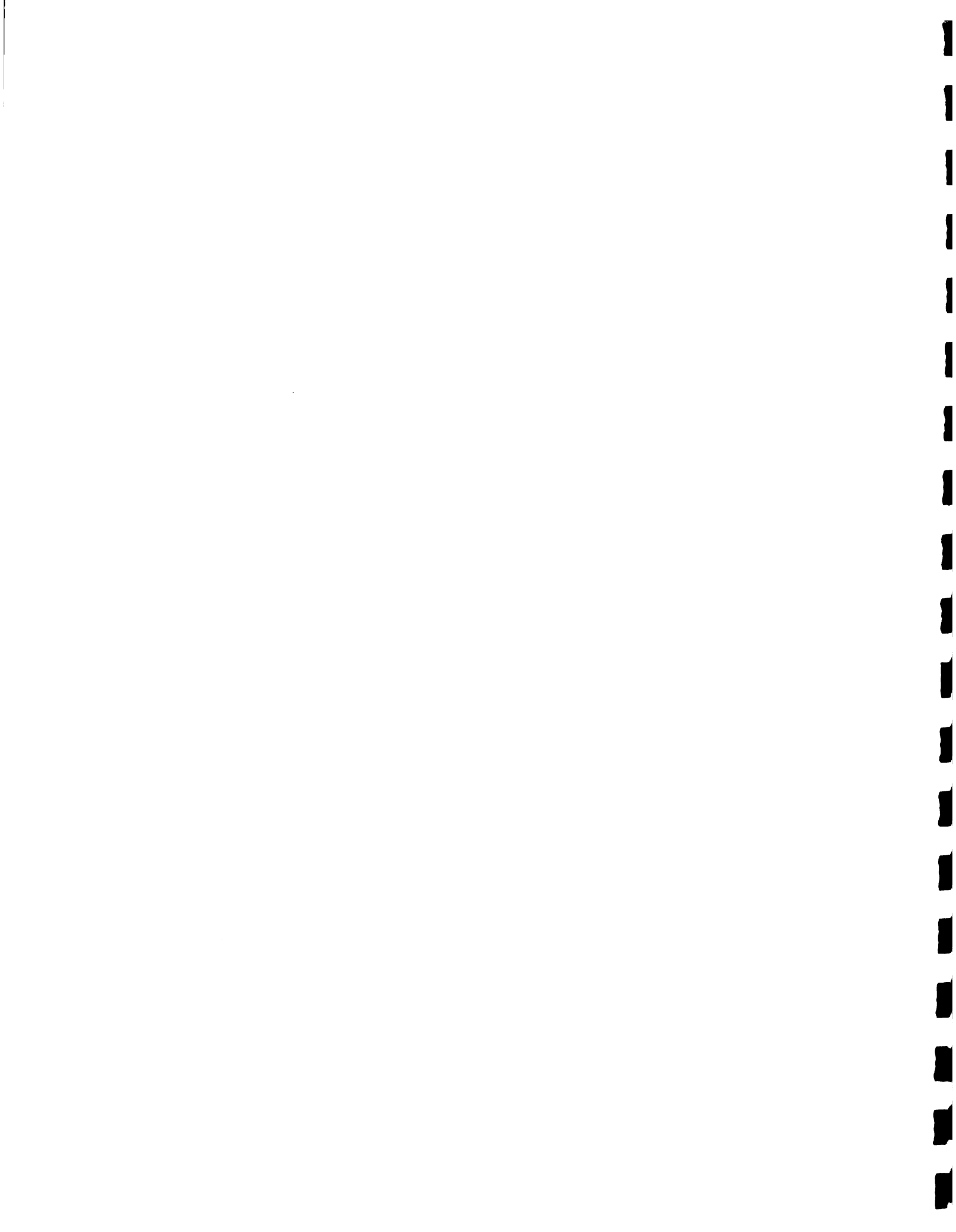
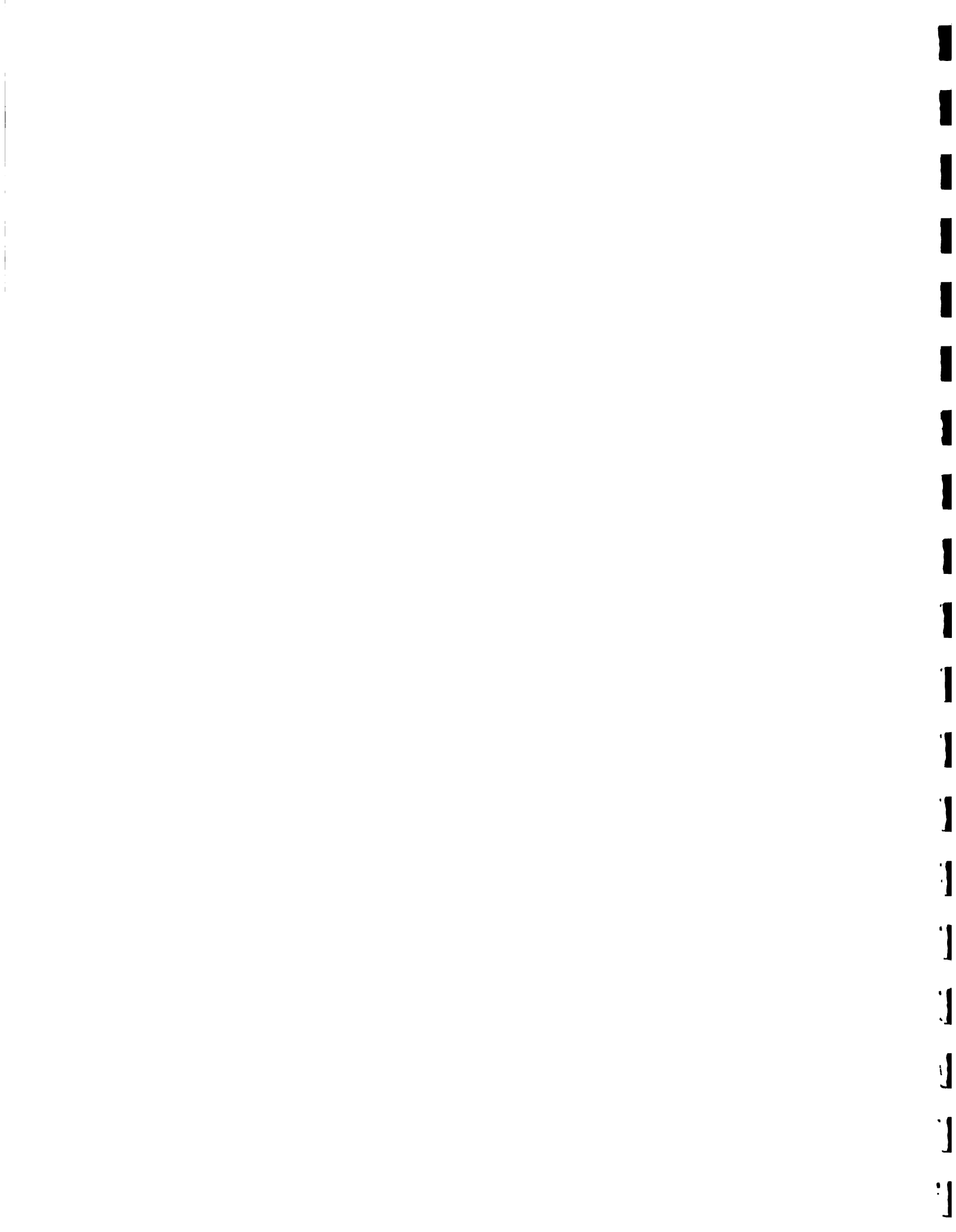


TABLE I
Distribution of BTV types. 1978-1984

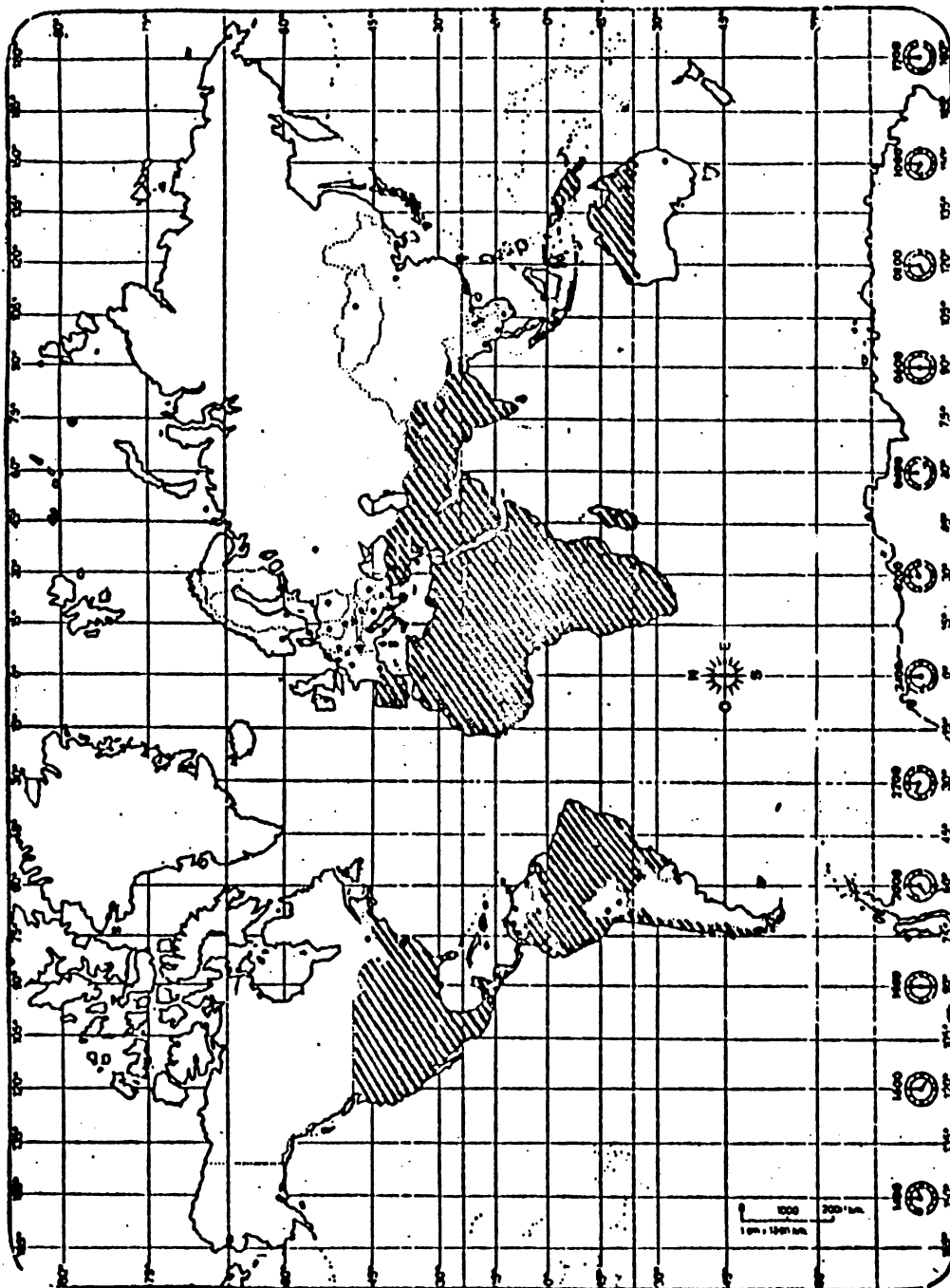
	1	2	3	4	4	5	6	7	11	12	13	14	17	20
Africa	1		3	4	4	5	6	7	11	12	13	14	17	20
Middle East	2	4	4	6	9									
Arabia	4	15	16	20										
India/Pakistan	1	2	2	3	12	14	15	16	17	20	21			
Far East	1	2	2	9	12	18	19							
Caribbean	1	6	6	14	17									
South America	2	12	12	14	16	17								

FUENTE: TAYLOR, W.P. THE EPIDEMIOLOGY OF BLUETONGUE. REV. SCI. TECH. OFF. INT. EPIZ. 1986.



FUENTE: SCHUDEL, A. DETECCION DE LA LENGUA AZUL. LABSUR IV. IICA
PUBLICACION CIENTIFICA. 1986.

FIGURA 1: Evidencias virológicas y/o serológicas de Lengua Azul
en el mundo.





DISTRIBUCION MUNDIAL DEL VIRUS DE LA LENGUA AZUL

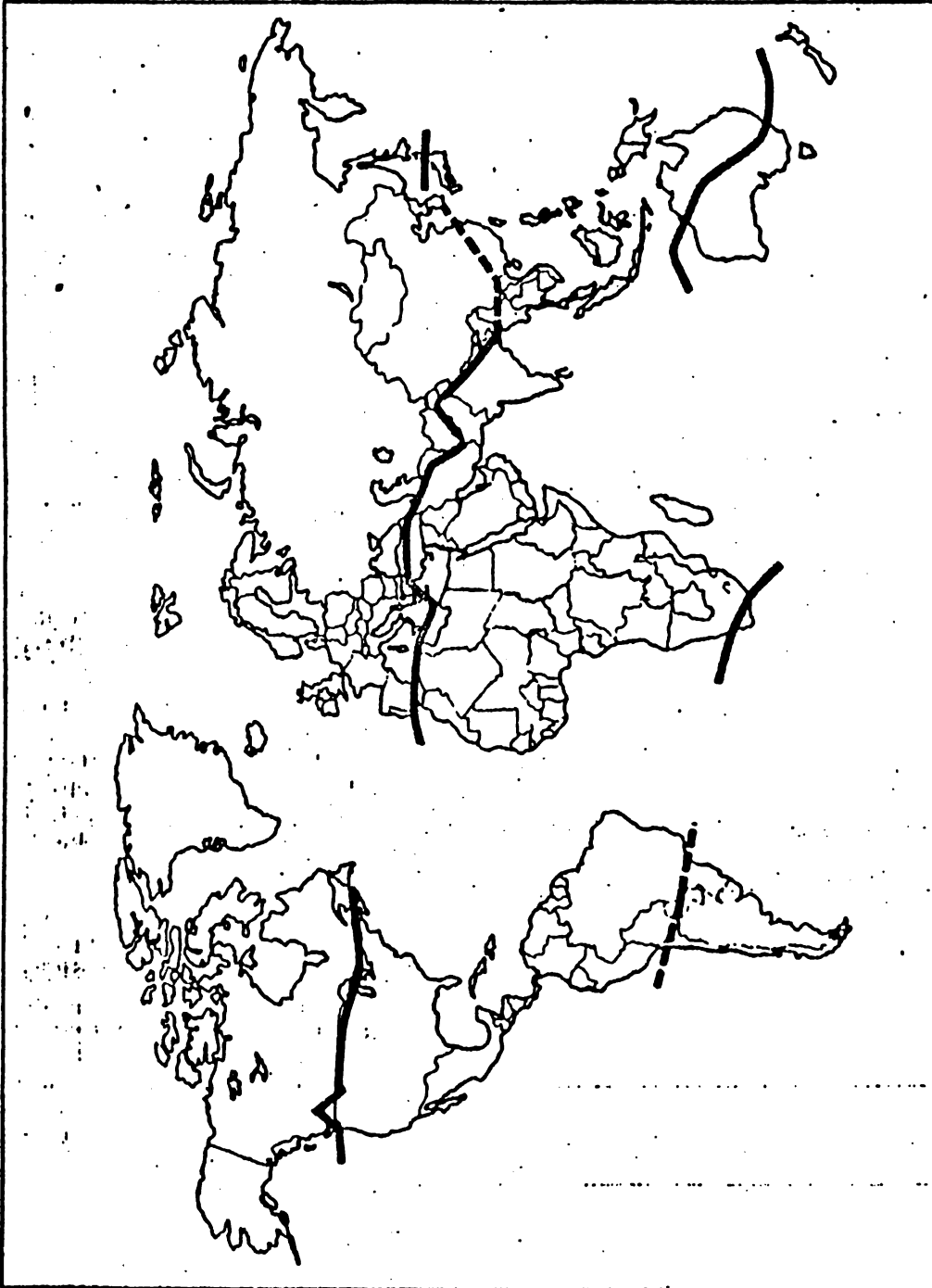


FIG. 1
World-wide distribution of bluetongue virus



**UNIDADES PRIMARIAS DE MUESTREO SEROENCUESTAS
EN ANIMALES DE MATADERO EN LOS EEUU**

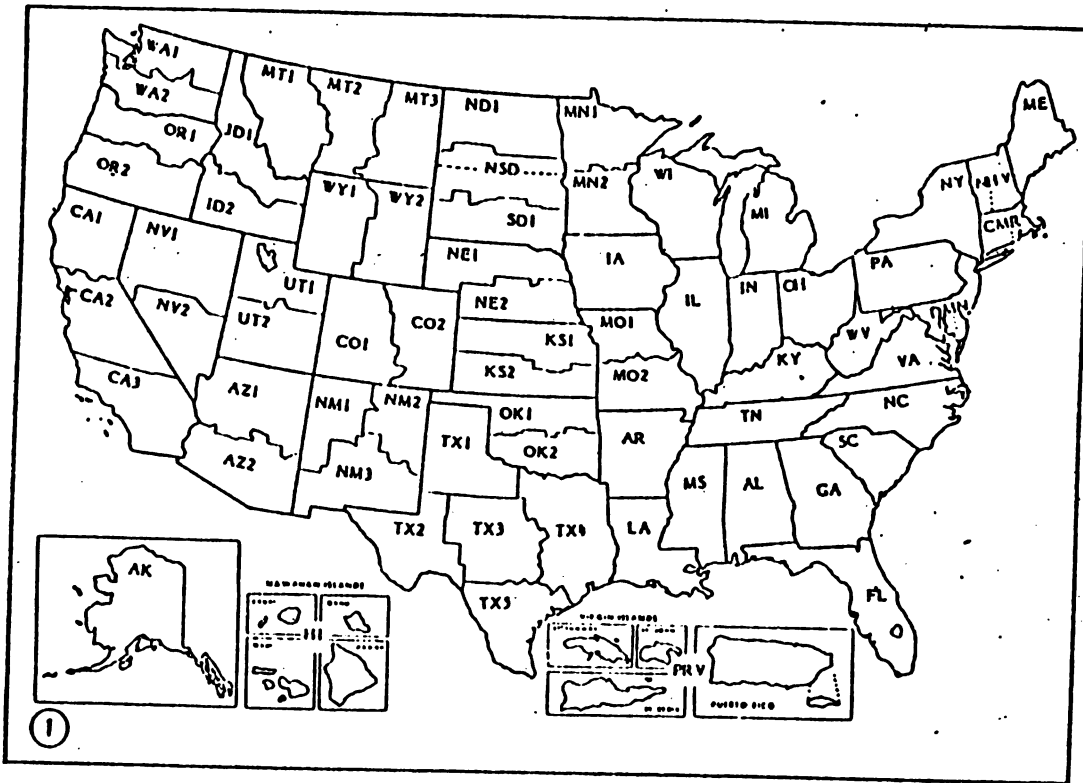
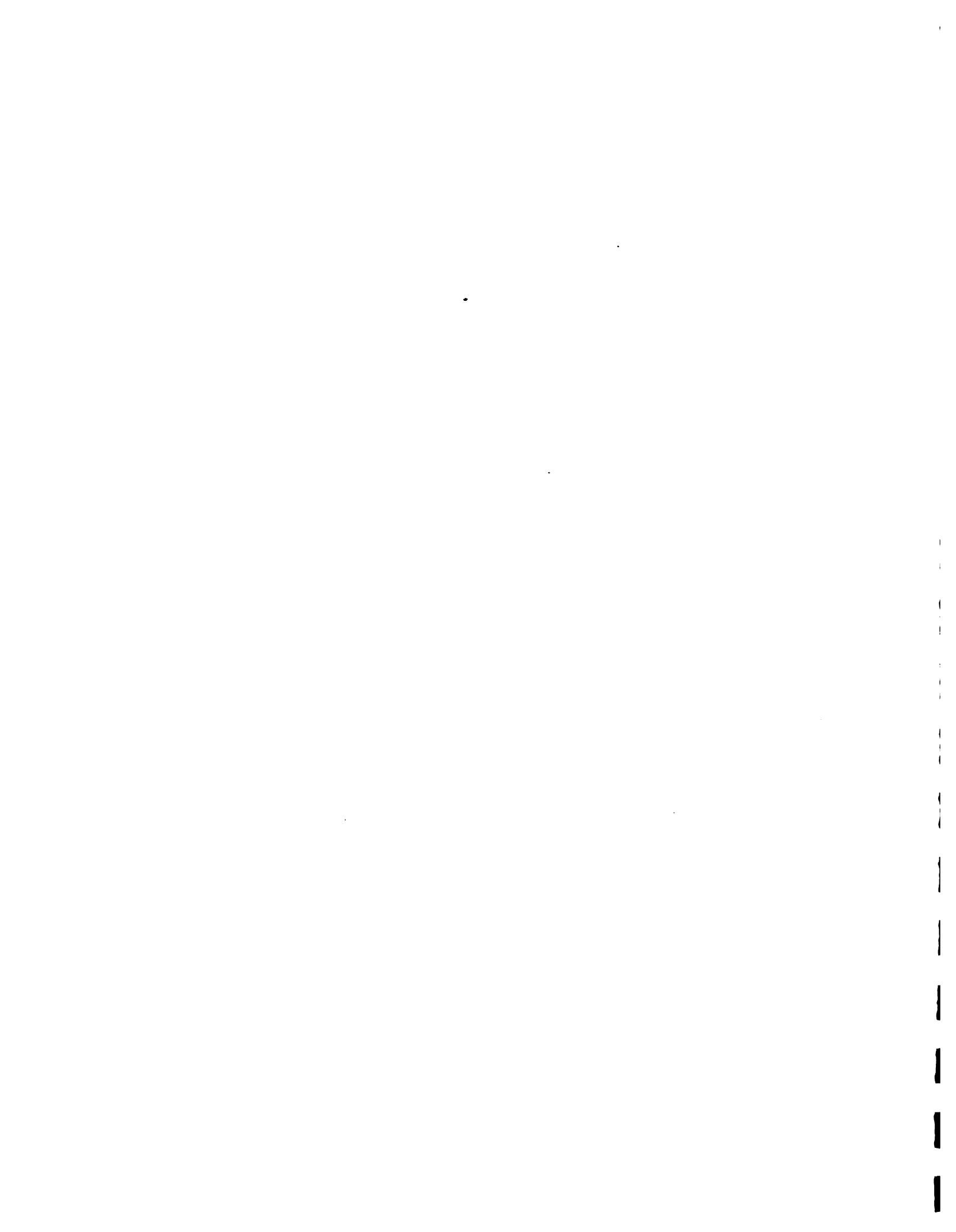


Fig 1—Primary sampling units as designated for BT serologic survey in slaughter cattle.



**VALORES SEROPOSITIVOS DEL VIRUS DE LA LENGUA AZUL EN CADA UNIDAD
PRIMARIA DE MUESTREO EN LA SEROENCUESTA DE EEUU - 1977 A 1978**

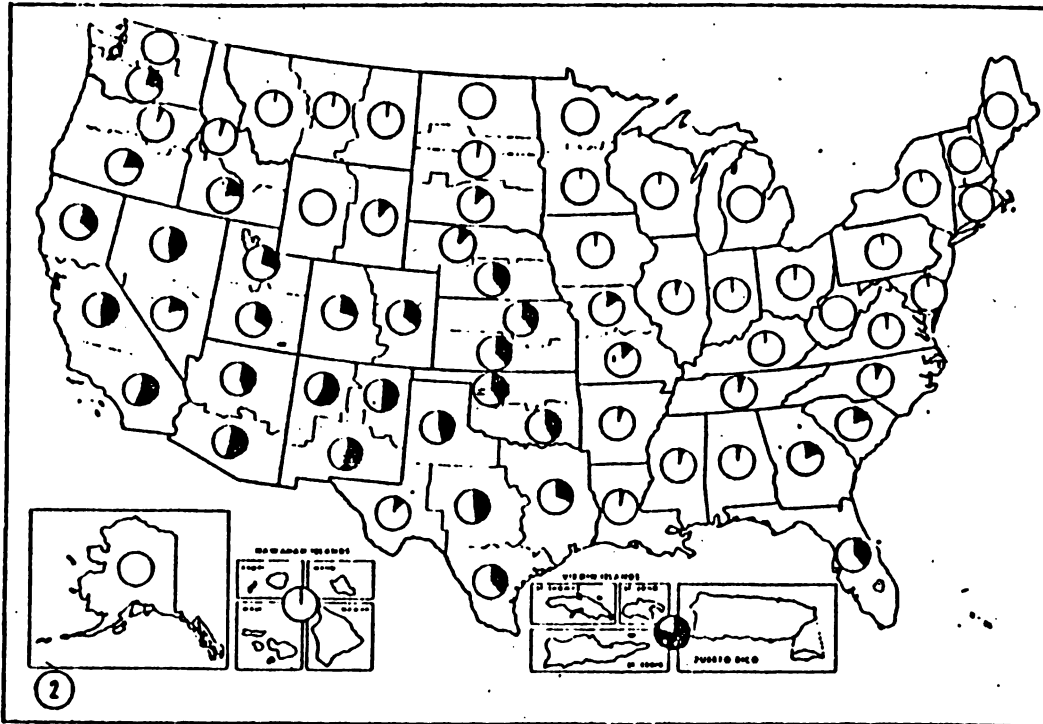


Fig 2—The BTV-seropositive rates in each PSU of the United States in 1977-1978 serosurvey.

FUENTE: METCALF, H.E.; PEARSON, J.E.; KLINGSPORN, A.L. BLUETONGUE
IN CATTLE: A SEROLOGIC SURVEY OF SLAUGHTER CATTLE IN
THE UNITED STATES. AM J VET RES, VOL 42, No. 6. 1981



**NUMERO DE MUESTRAS COLECTADAS EN CADA ESTADO Y
RESULTADOS DE LAS PRUEBAS SEROLOGICAS PARA LENGUA AZUL**

State	Samples from laboratories in state		Origin of samples			Bluetongue seropositive* samples traced to state (%)
	Appor-tioned	No. collected (%)	No. projected to be traced	No. traced to state (%)	No. traced to counties in state (%)	
Alabama	214	184 (79)	300	238 (79)	215 (72)	16 (6.3)
Alaska	300	120 (40)	300	120 (40)	0 (0)	0
Arizona	549	308 (56)	600	189 (32)	94 (16)	82 (43.4)
Arkansas	251	213 (85)	300	242 (81)	192 (64)	20 (8.3)
California	1065	888 (83)	900	700 (78)	693 (66)	330 (47.1)
Colorado	566	549 (97)	600	392 (65)	303 (51)	126 (32.1)
Connecticut	— with MA —	—	90	100 (111)	71 (79)	0
Delaware	88	75 (85)	60	67 (112)	48 (80)	0
Florida	340	243 (71)	300	214 (71)	203 (68)	84 (39.3)
Georgia	333	308 (92)	300	228 (76)	209 (70)	51 (22.4)
Hawaii	300	289 (96)	300	289 (96)	289 (96)	2 (0.7)
Hlalo	620	619 (105)	600	568 (95)	407 (68)	96 (16.9)
Illinois	269	269 (100)	300	243 (81)	148 (49)	16 (6.6)
Indiana	267	242 (91)	300	218 (73)	212 (71)	2 (0.9)
Iowa	425	407 (96)	300	401 (134)	262 (87)	12 (3.0)
Kansas	605	567 (94)	600	575 (96)	494 (82)	207 (35.8)
Kentucky	271	160 (59)	300	227 (76)	95 (32)	4 (1.8)
Louisiana	216	228 (93)	300	231 (77)	201 (67)	15 (6.5)
Maine	379	334 (88)	300	132 (44)	129 (43)	0
Maryland	85	71 (84)	150	114 (76)	62 (41)	1 (0.9)
Massachusetts	307	299 (97)	180	115 (64)	111 (62)	0
Michigan	546	559 (102)	300	186 (62)	185 (62)	0
Minnesota	869	841 (97)	600	363 (61)	347 (58)	2 (0.6)
Mississippi	369	318 (86)	300	281 (94)	254 (85)	19 (6.8)
Missouri	452	424 (94)	600	581 (97)	458 (76)	92 (15.8)
Montana	449	436 (97)	900	785 (87)	723 (80)	9 (1.1)
Nebraska	663	698 (105)	600	402 (67)	392 (65)	111 (27.6)
Nevada	181	140 (77)	600	184 (31)	142 (24)	79 (42.9)
New Hampshire	352	341 (97)	150	78 (52)	66 (44)	0
New Jersey	697	521 (75)	90	108 (120)	4 (4)	0
New Mexico	1034	1013 (101)	900	706 (78)	618 (69)	373 (52.8)
New York	302	290 (96)	300	290 (97)	59 (20)	1 (0.3)
North Carolina	226	192 (87)	300	261 (87)	219 (73)	27 (10.3)
North Dakota	283	281 (101)	450	338 (75)	329 (73)	0
Ohio	335	321 (96)	300	352 (117)	346 (115)	2 (0.6)
Oklahoma	508	448 (88)	600	416 (69)	376 (63)	163 (39.2)
Oregon	614	462 (90)	600	429 (72)	378 (63)	47 (11.0)
Pennsylvania	608	366 (72)	300	291 (97)	155 (52)	3 (1.0)
Rhode Island	58	56 (97)	30	7 (23)	7 (23)	0
South Carolina	254	228 (90)	300	181 (60)	172 (57)	39 (21.5)
South Dakota	414	364 (88)	450	317 (70)	291 (65)	31 (9.8)
Tennessee	349	282 (81)	300	310 (113)	317 (106)	32 (9.4)
Texas	1694	1548 (91)	1500	1517 (101)	1432 (95)	670 (37.6)
Utah	809	819 (101)	600	418 (70)	380 (63)	123 (29.4)
Vermont	164	142 (87)	150	346 (231)	304 (203)	0
Virginia	180	141 (78)	300	309 (103)	163 (54)	14 (4.5)
Washington	706	645 (91)	600	223 (37)	83 (14)	31 (13.9)
West Virginia	281	251 (89)	300	221 (74)	208 (69)	0
Wisconsin	617	618 (100)	300	456 (152)	400 (133)	1 (0.2)
Wyoming	278	263 (95)	600	251 (42)	197 (33)	19 (6.0)
Porto Rico	300	308 (103)	270	261 (97)	261 (97)	208 (79.7)
Virgin Islands	— with PR —	—	30	7 (23)	6 (20)	5 (71.4)
Subtotal (av)	21,892	19,768 (90)	21,000	16,508 (79)	13,610 (65)	3,064 (18.6)
Canada	—	—	—	512 —	—	1 (0.2)
Unknown	—	—	—	2,738 —	—	446 (16.3)
Total (av)	21,892	19,758 (90)	21,000	19,758 (94)	13,610 (65)	3,511 (17.8)

* Serum samples positive at titer of 1:5 or greater to the MCF test for BT or positive to the BT-10 test.



**NUMERO DE MUESTRAS COLECTADAS EN CADA ESTADO Y
RESULTADOS DE LAS PRUEBAS SEROLOGICAS PARA LENGUA AZUL**

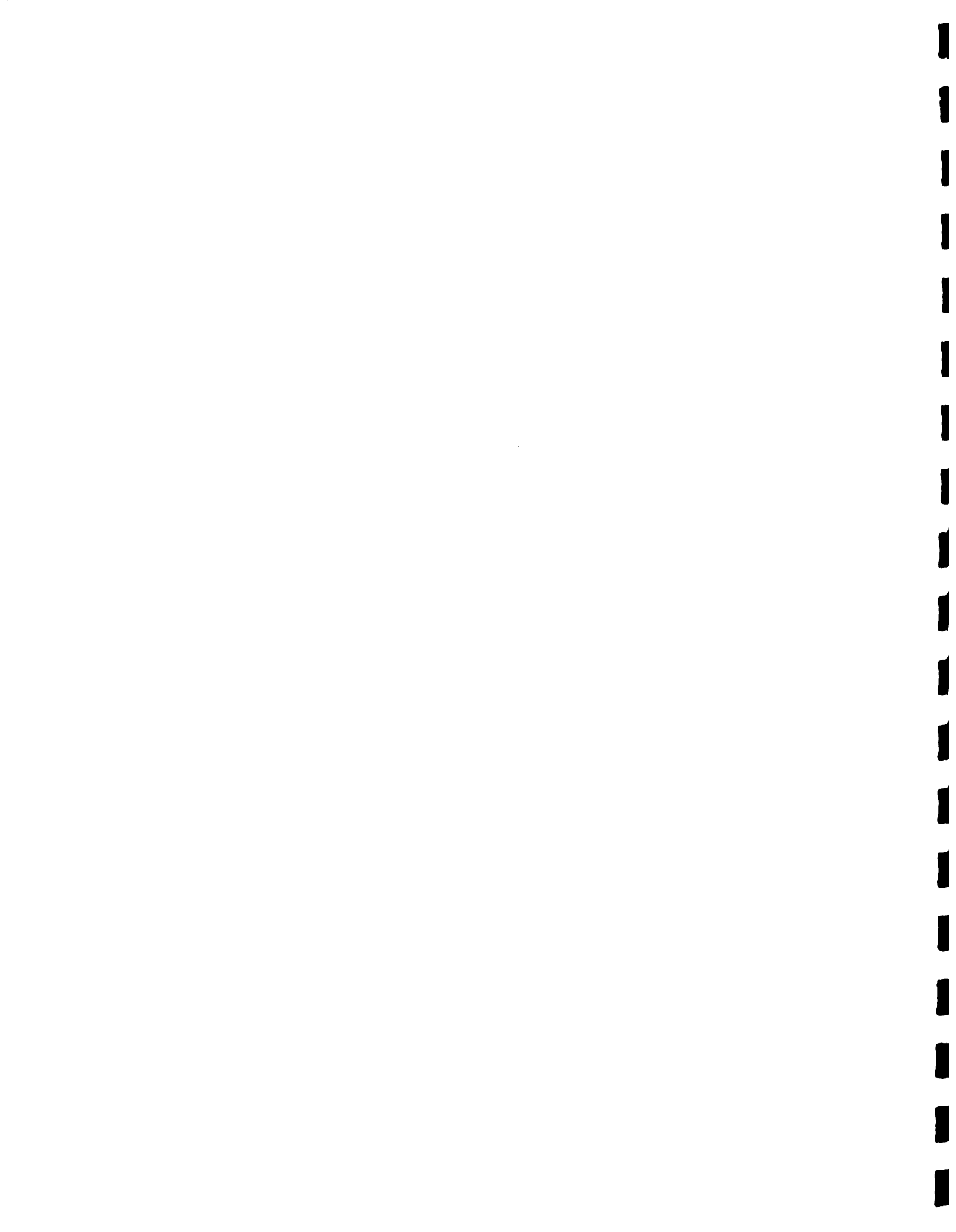
State	Samples from laboratories in state		Origin of samples			Bluetongue seropositive* samples traced to state (%)
	Appor- tioned	No. collected (%)	No. projected to be traced	No. traced to state (%)	No. traced to counties in state (%)	
Alabama	214	184 (79)	300	238 (79)	215 (72)	15 (6.3)
Alaska	300	120 (40)	300	120 (40)	0 (0)	0
Arizona	549	308 (56)	600	189 (32)	94 (16)	82 (43.4)
Arkansas	251	213 (85)	300	242 (81)	192 (64)	20 (8.3)
California	1065	888 (83)	900	700 (78)	593 (66)	330 (47.1)
Colorado	566	549 (97)	600	392 (65)	303 (51)	126 (32.1)
Connecticut	— with MA —	—	90	100 (111)	71 (79)	0
Delaware	88	75 (85)	60	67 (112)	48 (80)	0
Florida	340	243 (71)	300	214 (71)	203 (68)	84 (39.3)
Georgia	333	308 (92)	300	228 (76)	209 (70)	51 (22.4)
Hawaii	300	289 (96)	300	289 (96)	289 (96)	2 (0.7)
Idaho	620	619 (105)	600	568 (95)	407 (68)	96 (16.9)
Illinois	260	269 (103)	300	243 (81)	148 (49)	16 (6.6)
Indiana	267	242 (91)	300	218 (73)	212 (71)	2 (0.9)
Iowa	425	407 (96)	300	401 (134)	262 (87)	12 (3.0)
Kansas	605	567 (94)	600	675 (96)	494 (82)	207 (35.8)
Kentucky	271	160 (59)	300	227 (76)	95 (32)	4 (1.8)
Louisiana	216	228 (93)	300	231 (77)	201 (67)	15 (6.5)
Maine	379	334 (88)	300	132 (44)	129 (43)	0
Maryland	85	71 (84)	150	114 (76)	62 (41)	1 (0.9)
Massachusetts	307	299 (97)	180	115 (64)	111 (62)	0
Michigan	546	559 (102)	300	186 (62)	185 (62)	0
Minnesota	869	841 (97)	600	363 (61)	347 (58)	2 (0.6)
Mississippi	369	318 (86)	300	281 (94)	254 (85)	19 (6.8)
Missouri	452	424 (94)	600	581 (97)	458 (76)	92 (15.8)
Montana	449	436 (97)	900	785 (87)	723 (80)	9 (1.1)
Nebraska	663	698 (105)	600	402 (67)	392 (65)	111 (27.6)
Nevada	181	140 (77)	600	184 (31)	142 (24)	79 (42.9)
New Hampshire	352	341 (97)	150	78 (52)	66 (44)	0
New Jersey	697	521 (75)	90	108 (120)	4 (4)	0
New Mexico	1034	1013 (101)	900	706 (78)	618 (69)	373 (52.8)
New York	302	290 (96)	300	290 (97)	59 (20)	1 (0.3)
North Carolina	226	193 (87)	300	261 (87)	219 (73)	27 (10.3)
North Dakota	283	287 (101)	450	338 (75)	329 (73)	0
Ohio	335	321 (96)	300	352 (117)	346 (115)	2 (0.6)
Oklahoma	508	448 (88)	600	416 (69)	376 (63)	163 (39.2)
Oregon	514	462 (90)	600	429 (72)	378 (63)	47 (11.0)
Pennsylvania	608	366 (72)	300	291 (97)	155 (52)	3 (1.0)
Rhode Island	58	56 (97)	30	7 (23)	7 (23)	0
South Carolina	254	228 (90)	300	181 (60)	172 (57)	39 (21.5)
South Dakota	414	364 (88)	450	317 (70)	291 (65)	31 (9.8)
Tennessee	349	282 (81)	300	310 (113)	317 (106)	32 (9.4)
Texas	1694	1548 (91)	1500	1517 (101)	1432 (95)	670 (37.6)
Utah	809	819 (101)	600	418 (70)	380 (63)	123 (29.4)
Vermont	164	142 (87)	150	346 (231)	304 (203)	0
Virginia	180	141 (78)	300	309 (103)	163 (54)	14 (4.5)
Washington	706	645 (91)	600	223 (37)	83 (14)	31 (13.9)
West Virginia	281	251 (89)	300	221 (74)	208 (69)	0
Wisconsin	617	618 (100)	300	456 (152)	400 (133)	1 (0.2)
Wyoming	278	263 (95)	600	251 (42)	197 (33)	19 (6.0)
Porto Rico	300	308 (103)	270	261 (97)	261 (97)	208 (79.7)
Virgin Islands	— with PR —	—	30	7 (23)	6 (20)	5 (71.4)
Subtotal (av)	21,892	19,768 (90)	21,000	16,508 (79)	13,610 (65)	3,064 (18.6)
Canada	—	—	—	512 —	—	1 (0.2)
Unknown	—	—	—	2,738 —	—	446 (16.3)
Total (av)	21,892	19,758 (90)	21,000	19,758 (94)	13,610 (65)	3,511 (17.8)

* Serum samples positive at titer of 1:6 or greater to the MDRF test for BT or positive to the BT-10 test.



TABLE 2—Number of Samples Traced to Each PSU and Number and Percentage of Traced Samples Positive at 1:5 or Greater to the mocr Test for 81 or the 81-10 Test with 95% Confidence Limits

PSU code	No. of samples traced to PSU	Percentage of 200 projected samples traced	nr. seropositive samples traced to PSU	Percentage of all samples traced nr. seropositive	95% Confidence limits (lower limit-upper limit)
AL	238	(79)	15	(6.3)	(3.2—9.4)
AK	120	(40)	0		(0—2.5)
AZ1	12	(4)	5	(41.7)	(10.3—73.0)
AZ2	82	(27)	44	(53.7)	(42.5—64.8)
AR	242	(81)	20	(8.3)	(4.8—11.8)
CA1	70	(23)	22	(31.4)	(20.3—42.5)
CA2	341	(114)	152	(44.6)	(39.3—49.9)
CA3	182	(61)	100	(54.9)	(47.7—62.2)
CO1	77	(26)	21	(27.3)	(17.1—37.4)
CO2	226	(75)	76	(33.6)	(27.4—39.8)
CMR	222	(74)	0		(0—1.3)
DMN	289	(96)	1	(0.3)	(< 0.1—1.0)
FL	214	(71)	84	(39.3)	(32.6—45.9)
A	228	(76)	51	(22.4)	(16.9—27.8)
il	289	(96)	2	(0.7)	(< 0.1—1.7)
II1	78	(26)	4	(6.1)	(< 0.1—10.1)
II2	328	(109)	72	(22.0)	(17.4—26.5)
II	243	(81)	16	(6.6)	(3.5—9.7)
IN	218	(73)	2	(0.9)	(< 0.1—2.2)
IA	401	(134)	12	(3.0)	(1.3—4.7)
KS1	258	(86)	93	(36.0)	(30.2—41.9)
KS2	236	(79)	86	(36.4)	(30.3—42.6)
KY	227	(76)	4	(1.8)	(< 0.1—3.5)
LA	231	(77)	15	(6.5)	(3.3—9.7)
ME	132	(44)	0		(0—2.2)
MI	186	(62)	0		(0—1.6)
MI1	69	(23)	0		(0—4.2)
MI2	278	(93)	1	(0.4)	(< 0.1—1.1)
MS	281	(94)	19	(6.8)	(3.8—9.7)
MO1	217	(72)	40	(18.4)	(13.2—23.6)
MO2	241	(80)	33	(13.7)	(9.3—18.1)
MT1	279	(93)	2	(0.7)	(< 0.1—1.7)
MT2	296	(99)	3	(1.0)	(< 0.1—2.2)
MT3	148	(49)	3	(2.0)	(< 0.1—4.3)
NE1	167	(56)	24	(14.4)	(9.0—19.7)
NE2	225	(75)	87	(38.7)	(32.2—45.1)
NV1	137	(46)	60	(43.8)	(35.4—52.2)
NV2	5	(2)	1	(20.0)	(< 0.1—69.7)
NVIV	424	(141)	0		(0—0.7)
NM1	129	(43)	73	(56.6)	(47.9—65.2)
NM2	158	(53)	77	(48.7)	(40.9—56.6)
NM3	331	(110)	179	(54.1)	(48.7—59.5)
NY	290	(97)	1	(0.3)	(< 0.1—1.0)
NC	261	(87)	27	(10.3)	(6.6—14.1)
ND1	248	(83)	0		(0—1.2)
ND2	199	(66)	4	(2.0)	(< 0.1—4.0)
OH	352	(117)	2	(0.6)	(< 0.1—1.4)
OK1	138	(46)	65	(39.9)	(31.6—48.1)
OK2	238	(79)	97	(40.8)	(34.4—47.1)
OH1	230	(77)	17	(7.4)	(4.0—10.8)
OH2	148	(49)	20	(13.5)	(7.9—19.1)
PA	291	(97)	3	(1.0)	(< 0.1—2.2)
SC	181	(60)	39	(21.5)	(15.5—27.6)
SD1	173	(58)	25	(14.5)	(9.2—19.7)
TN	340	(113)	32	(9.4)	(6.3—12.5)
TX1	180	(60)	81	(45.0)	(37.7—52.3)
TX2	8	(3)	1	(12.5)	(< 0.1—40.2)
TX3	241	(80)	111	(46.1)	(39.7—52.4)
TX4	577	(192)	173	(30.0)	(26.2—33.7)
TX5	426	(142)	162	(38.0)	(33.4—42.7)
UT1	270	(90)	78	(28.9)	(23.5—34.3)
UT2	110	(37)	35	(31.8)	(23.0—40.7)
VA	309	(103)	14	(4.5)	(2.2—6.9)
WA1	11	(4)	0		(0—23.8)
WA2	72	(24)	19	(26.4)	(16.0—36.8)
WV	221	(74)	0		(0—1.3)
WI	456	(152)	1	(0.2)	(< 0.1—0.6)
WY1	79	(26)	0		(0—3.7)
WY2	118	(39)	15	(12.7)	(6.6—18.8)
WYV	268	(89)	213	(79.5)	(74.9—84.3)
Subtotal (av)	15,190	(72)	2,724	(17.9)	
CD	510		1	(0.2)	
Unknown	4,058		784	(19.4)	
Total (av)	19,758	(91)	3,511	(17.8)	



**DIAGNOSTICO DE LENGUA AZUL
SEMINARIO TALLER
CAMPINAS BRASIL 12-16 DIC 1988**

**PRODUCCION Y PURIFICACION
DE ANTIGENOS**



**PRODUÇÃO DE ANTÍGENO PARA A IMUNODIFUSÃO EM GEL
AGAROSE PARA DIAGNÓSTICO DA LÍNGUA AZUL**

Etapas básicas produção de Ag.

Acompanhamento NADC

- Preparação das sementes

células BHK 21, clone 13

- Produção do Ag.

células VERO - Maru

Garrafas tipo "roller"

Sorotipo 17 (2 x 10⁵ UFP/25 ml)

Tempo de adsorção: 30'

Completa o volume de meio

Incubação em Estufa com Eq. rolante a 37°C

Acomp. "ECP" - microsc. Invert.

Satisfatório - 72 h (80% ECP)

Agit. vigorosa - descolamento tapete celular

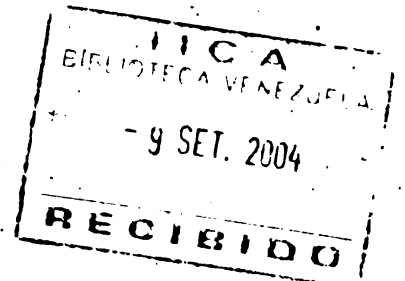
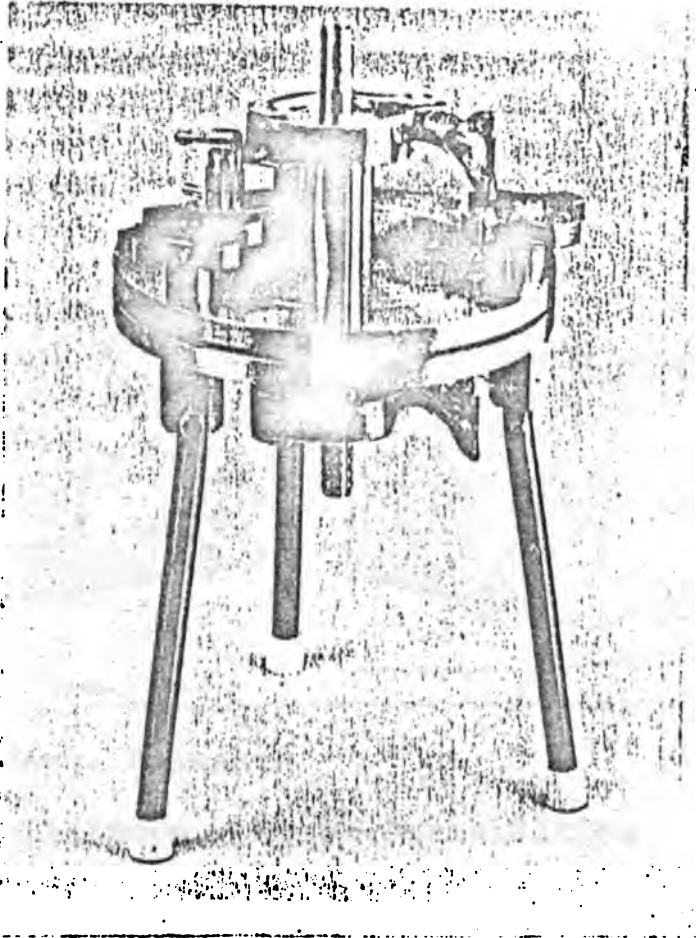
Centrif. a 2000 rpm/20' - sed. resíduo celular

"Pool" sobrenadantes

Ajuste: pH 7,3

Estoca a 4°C

FILTRAÇÃO CLARIFICANTE



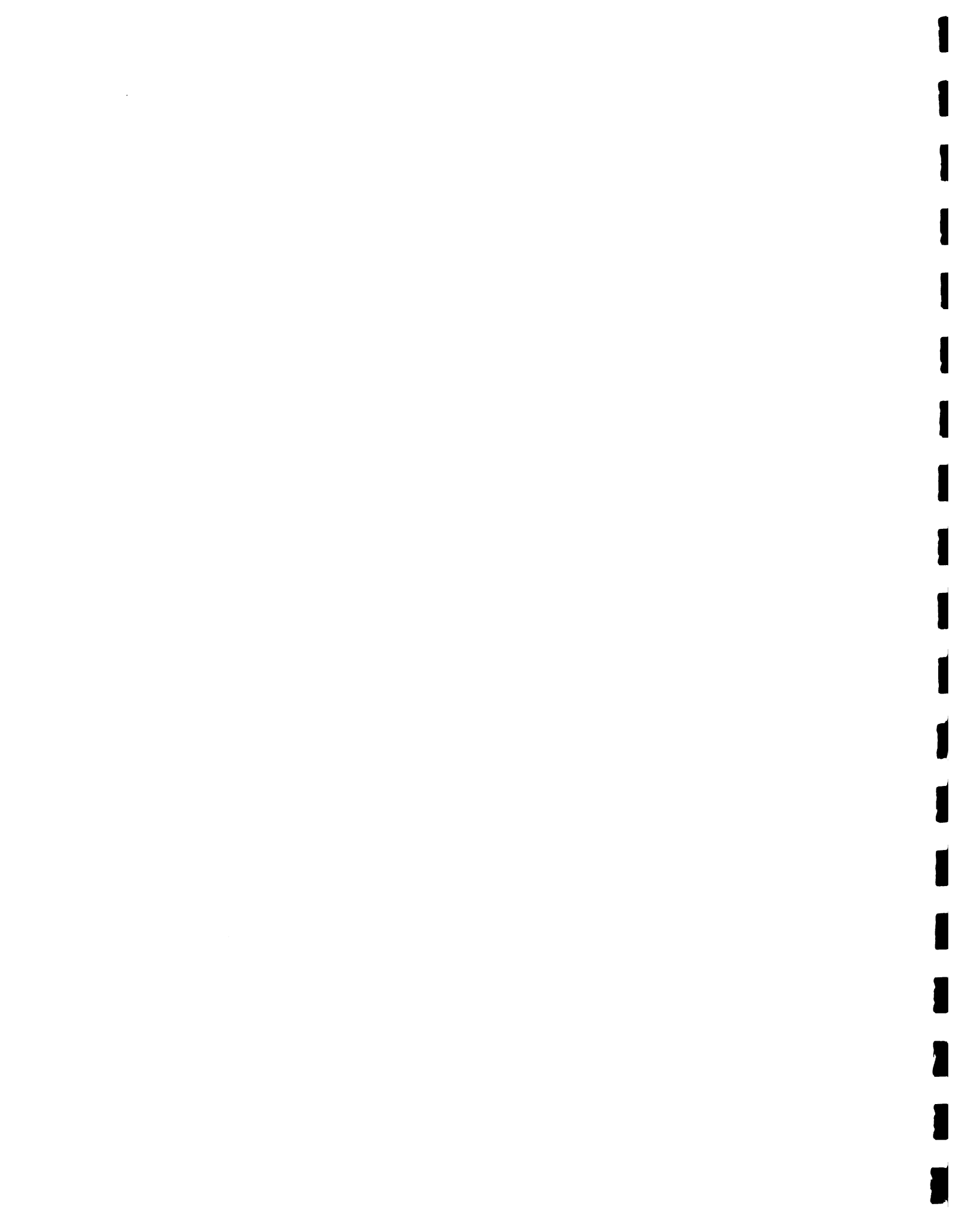
Filtr.clarif. - Filtro de Membrana (142 mm)

- Pré filtro AP 25

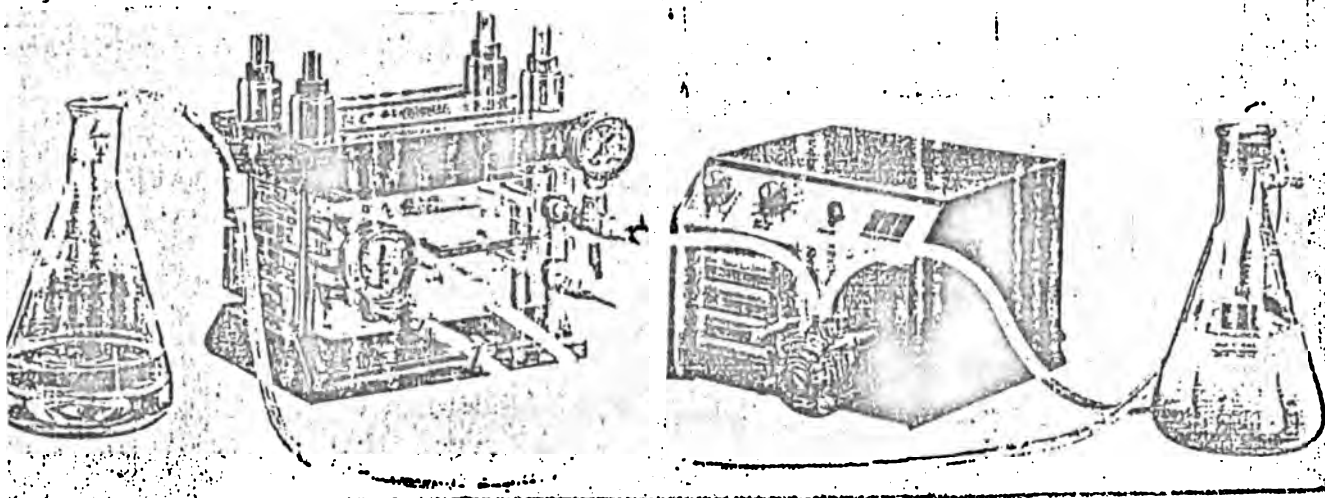
- Membrana de 5 μm (8 μm)

Passag. de subst. menores q/ os póros da membr.

Pressorizado preferenc. p/Gás Inerte (N₂U)



FILTRAÇÃO TANGENCIAL PULSANTE



Filtr. Tang. Pulsante

Filtro Millipore - Bomba Peristáltica

- Filtro Cassete - Membr: Pellicon

Início da concentração

Bomba Perist. - coleta o mater. e o impulsiona p/

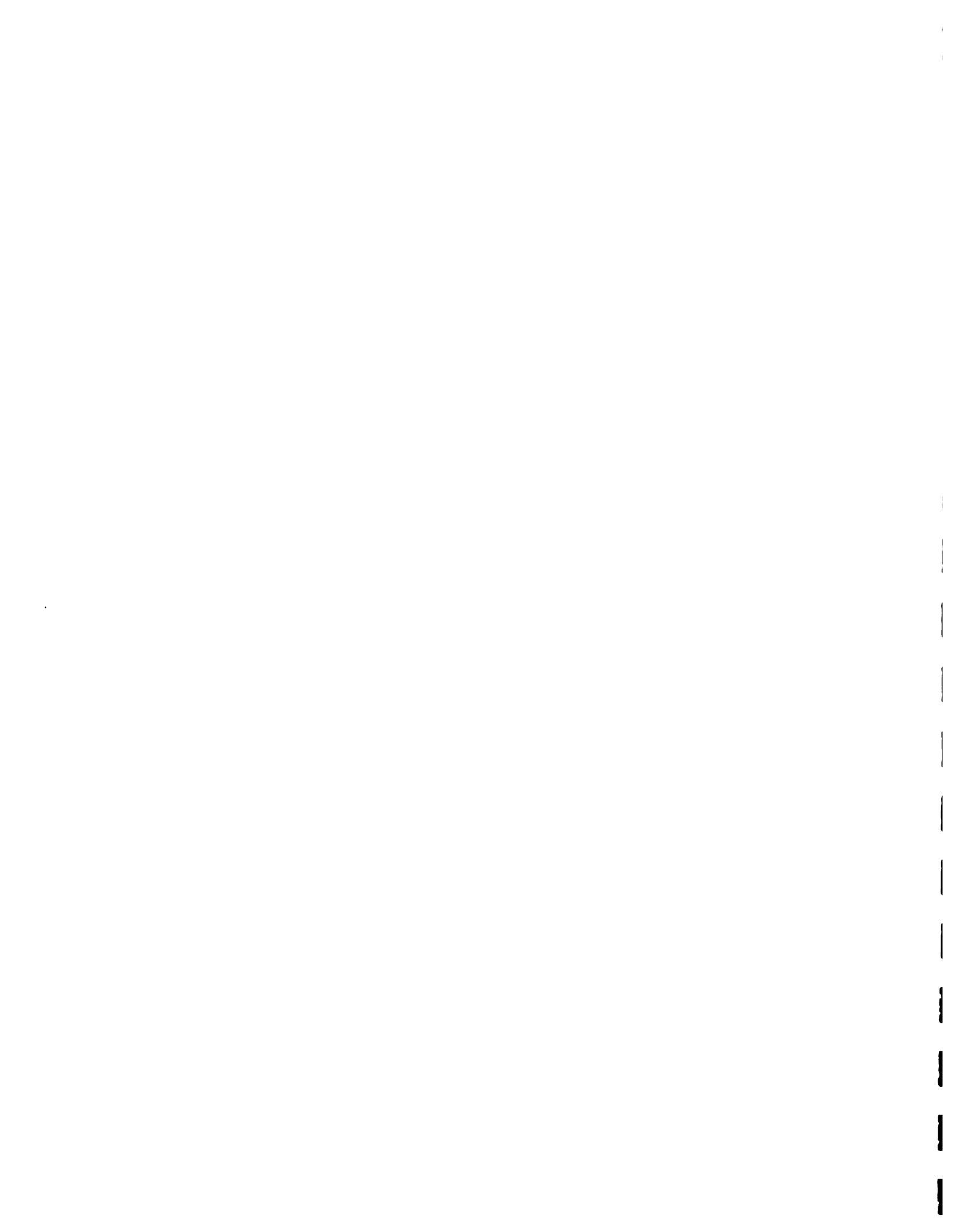
o interior do filtro.

Membr. Pellicon - NMWL 10,000

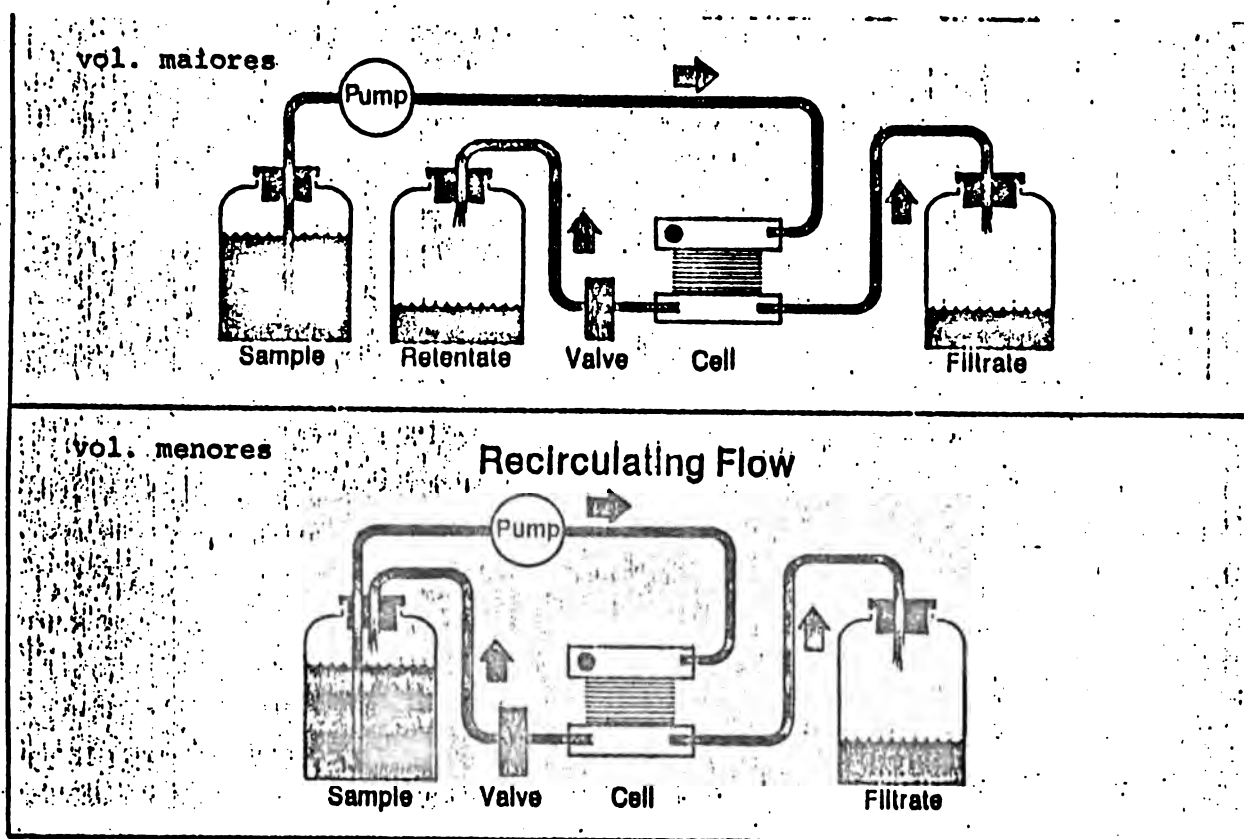
Montagem do filtro - uma entrada

- duas saídas - filtrado

- concentrado.



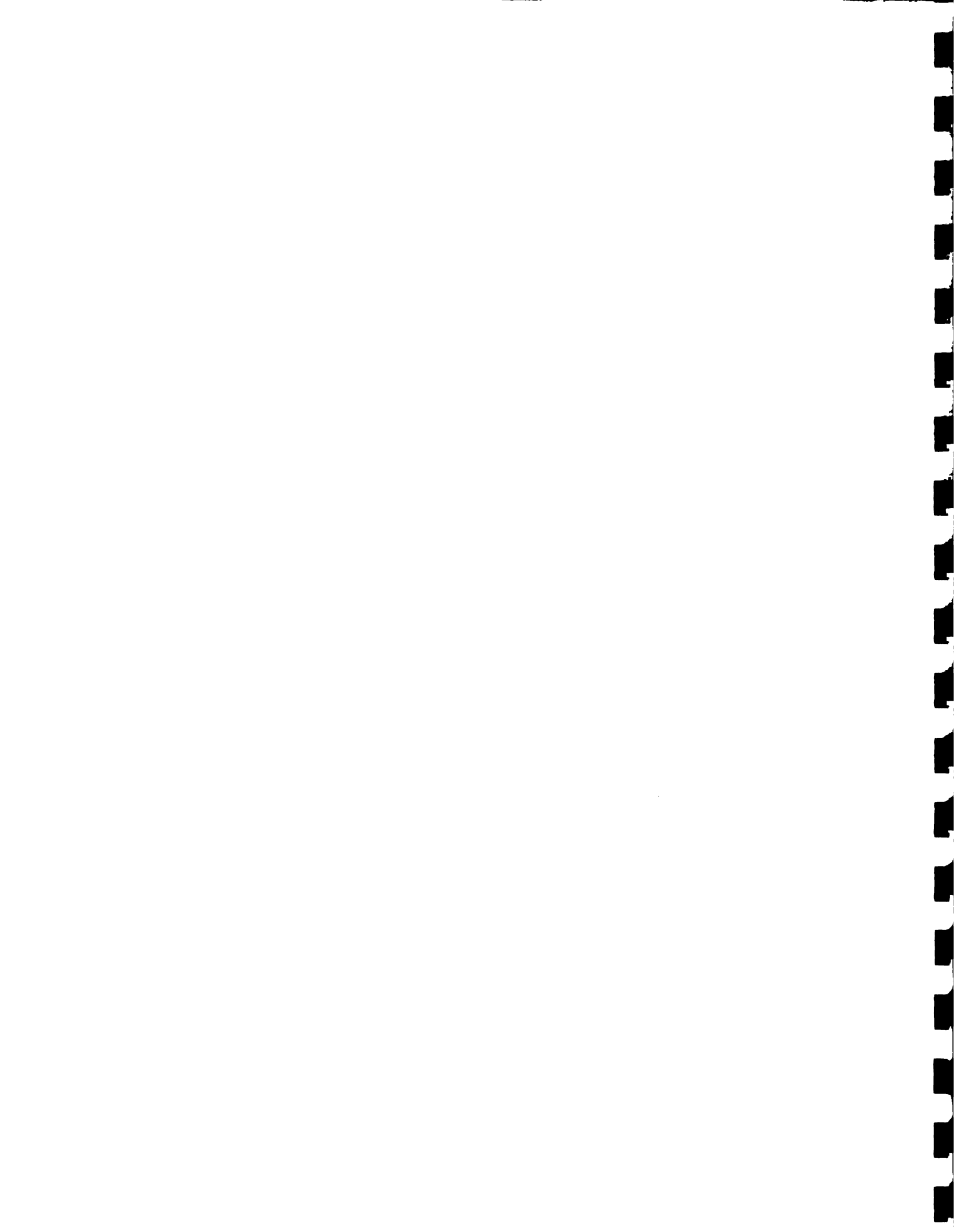
REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA



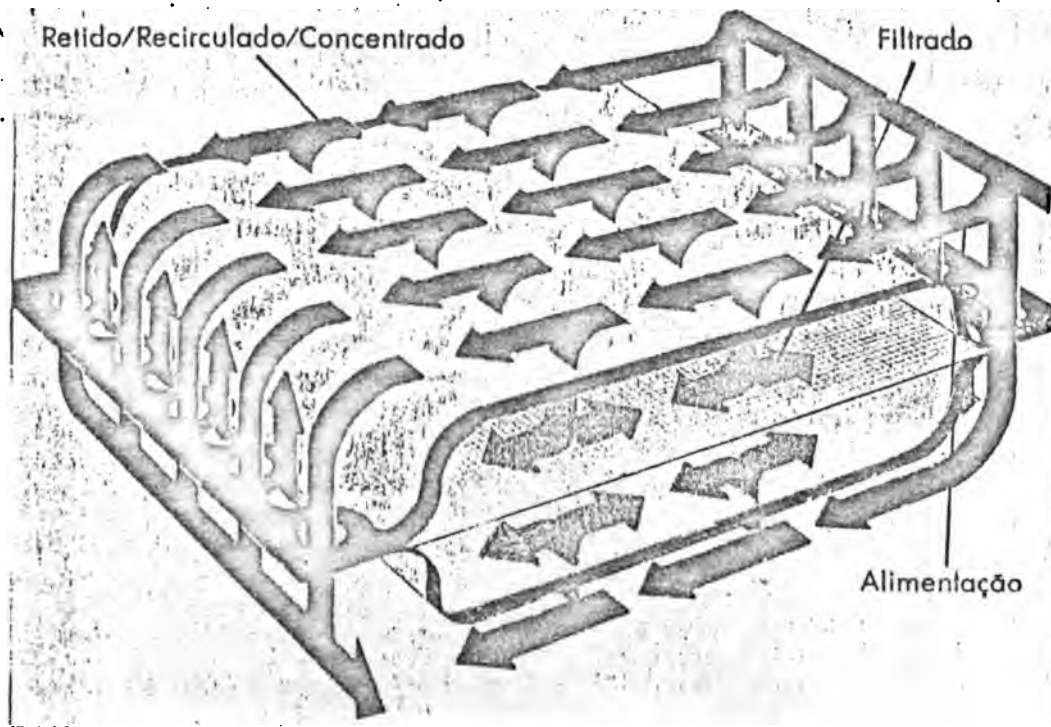
Rec. fabric. - vol. final de 200 a 250 ml

Vantagem - se conseg. uma signif. reduç. vol.

- quanto maior o vol. inic. maior conc.



PRINCÍPIO DE OPERAÇÃO



Princípio de Operação do Pellicon Cassete

Dupla Membrana

O mater. a ser filtr. é distr. paral. tangencial.
em relação ao elemento filtrante.

Mov. fluido → limpeza da membrana

Arraste de part. → depos. na superfície

Pressão diferencial → bomba perist.

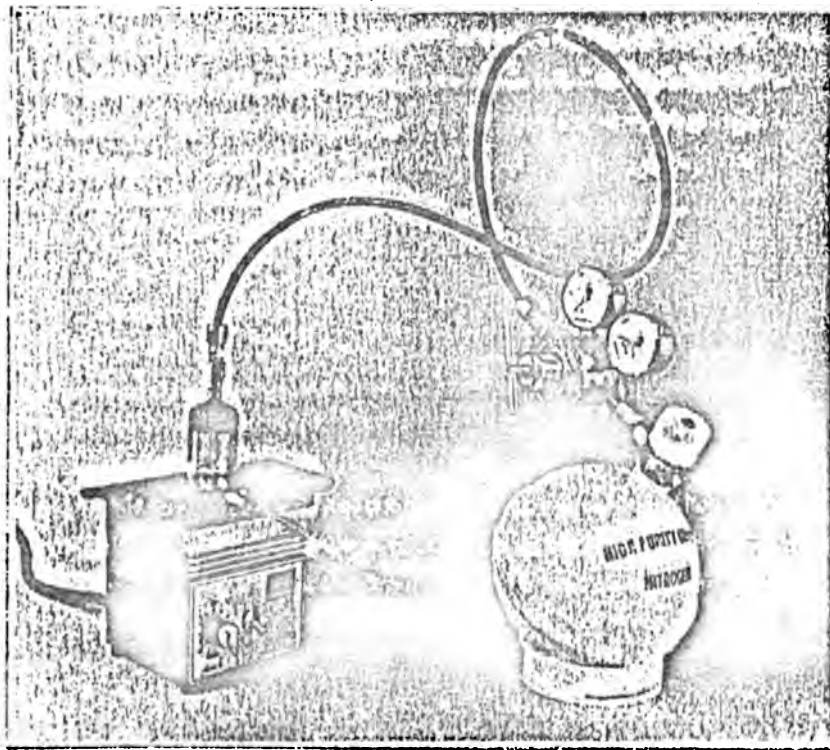
→ peso do filtro.



Próximo passo do processo "

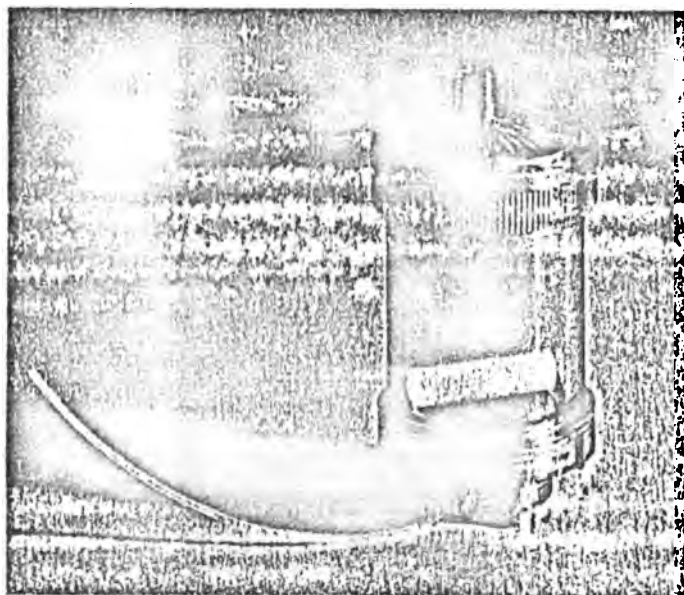
- Uso do Sistema AMICON - mais tradic.
- "NADC" - Amicon
- Membrana NMWL 50.000

SISTEMA DE FILTRAÇÃO MOLECULAR
Millipore



Filtro com barra magnética
Agitador magnético
Sistema de pressurização - N₂U
Membrana Pellicon NMWL 25.000





47mm Stirred Cell

XX42 047 10

Detalhe maior do filtro

Barra magnética

Saída de material - filtrado (part. PM menor q/25,000

Vol. aproximadamente 80 ml.



MECANISMO

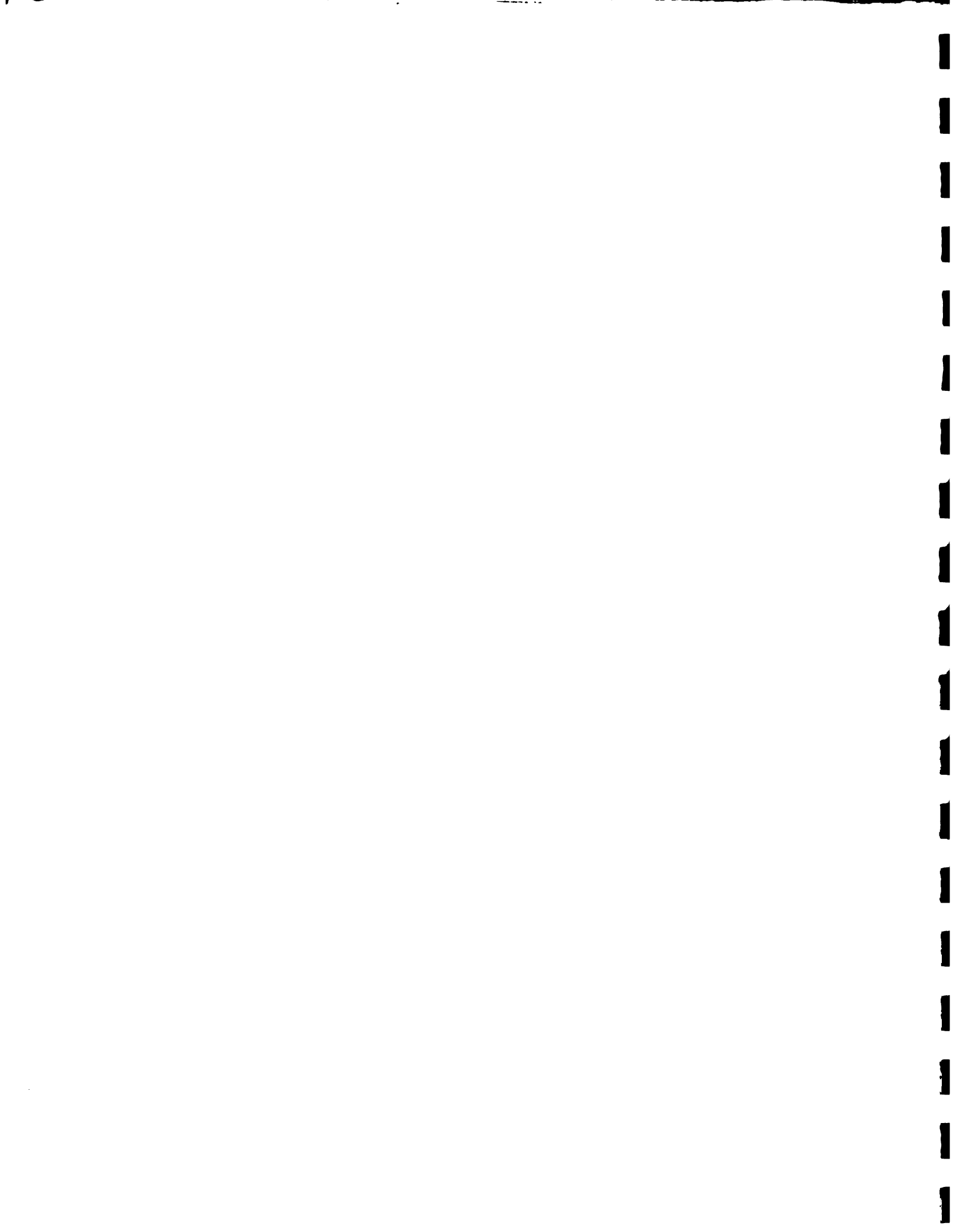


Stirred Cell Filtration

Mecanismo - lavagem e

- ressuspensão do material

- impedir a obstrução da membrana.



Ultracentrifugação

O "NADC" usa 150.000 a 200000 g/30'

Centrifugações a 12.000 rpm

Sobrenadante - do mat. de uma purificação

- 100.000g/ 1h

Sobrenadante - filtração em Swinnex (33mm)

- Pré filtro

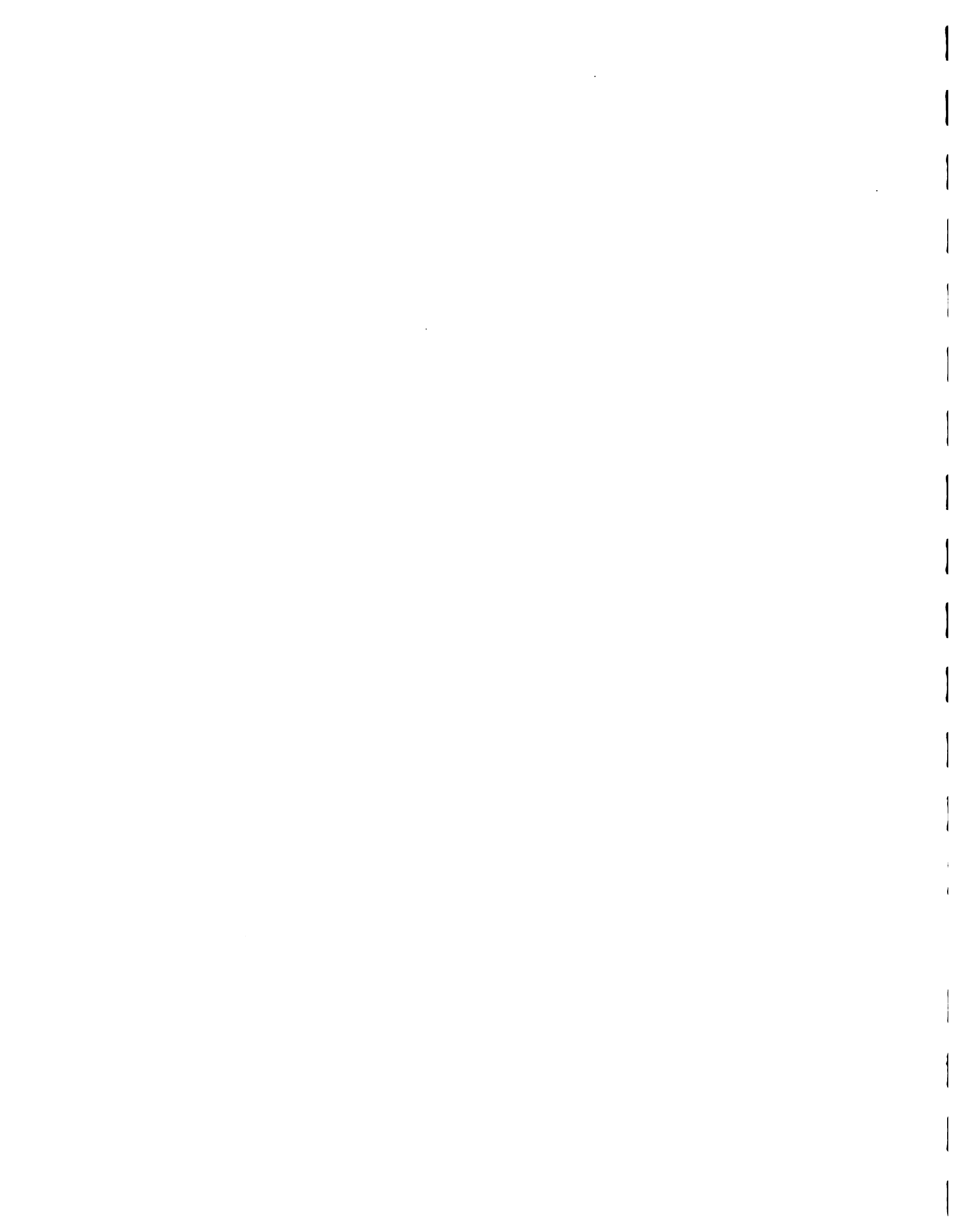
- Membr. 1,2 ; 0,8 e 0,45

- Tratamento com Azida Sódica

conc. final de 0,1%

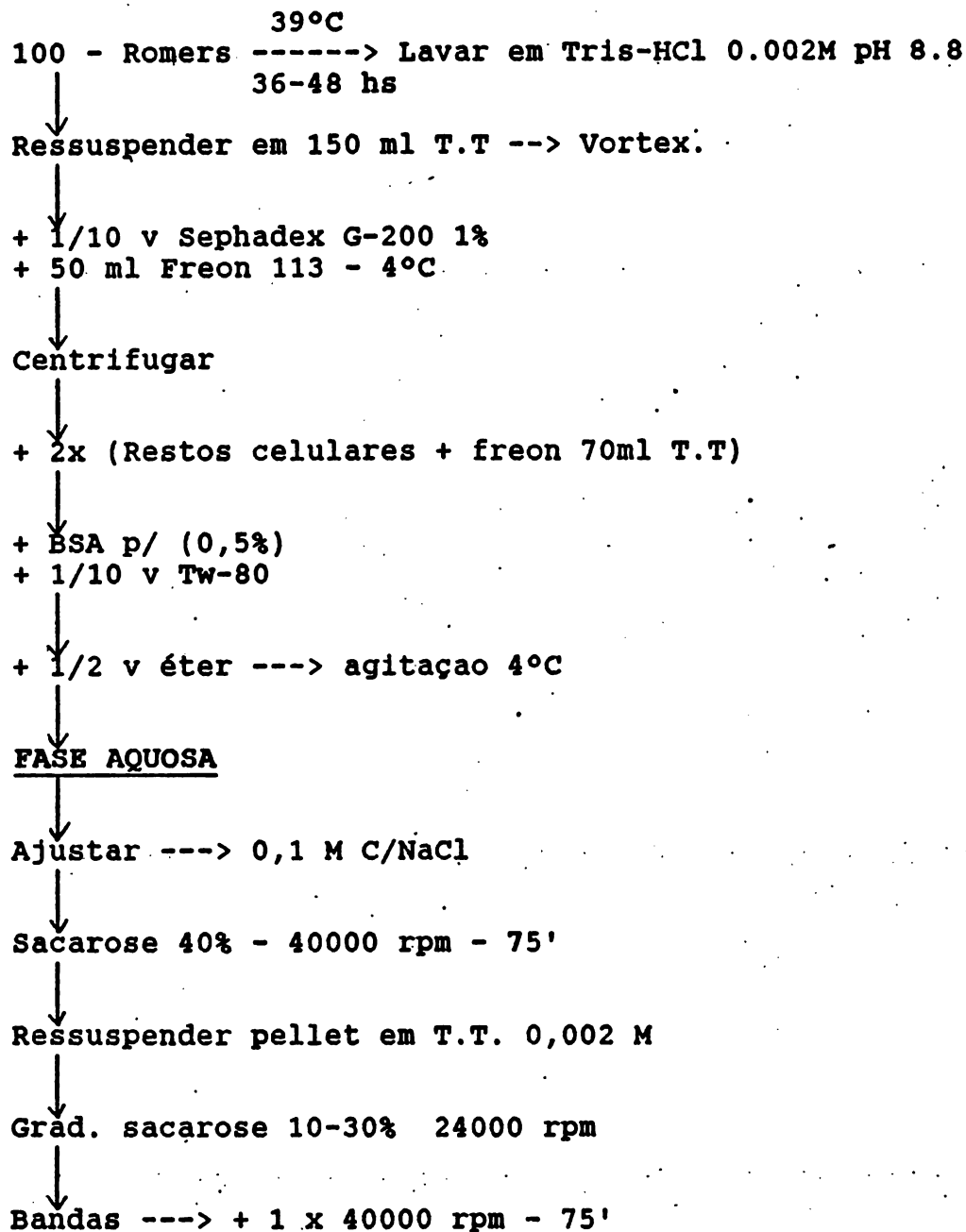
Testes - Tit. em bloco

- Imunodifusão Radial. e etc...



PURIFICAÇÃO DE BTV

1. Segundo Verwerd D.W. T col. 1972



* α pureza



PURIFICAÇÃO DE BTV

2. Segundo Mehan, J.O T col. - 1986

Roller

↓
1500 g/30'

↓
Resuspender pellet Tris-HCl 0,002 M pH 8.8
+ 1% Triton X-100

↓
Agitar 4° C - 1 H

↓
SN

↓
Sacarose 25% - 25.000 rpm - 2 H

↓
Mixer: Pellet + Tris-HCl
+ 1/3 Genosolv-D

↓
Centrifugar 1500. g

↓
Fase aquosa

↓
Sacarose 25% - 25.000 rpm - 2H

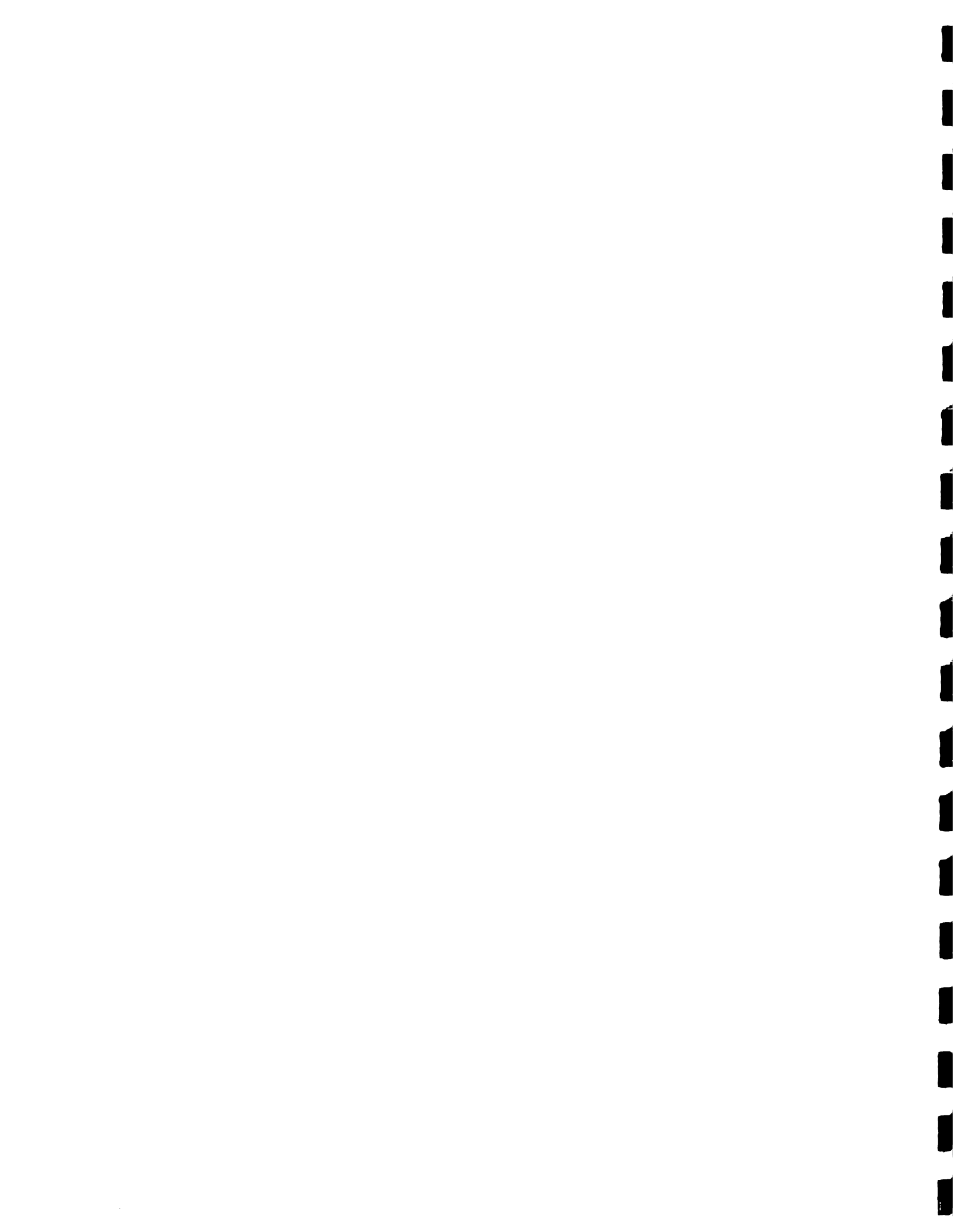
↓
Pellet + Tris-HCl

↓
Sacarose 25-50% - 30.000 rpm - 2-4 H

↓
Bandas

↓
Sacarose 25%

↓
Sol. PAGE



* Gradiente CsCl ---> menor resultado

40-55% - Tris-HCl 0,2 M

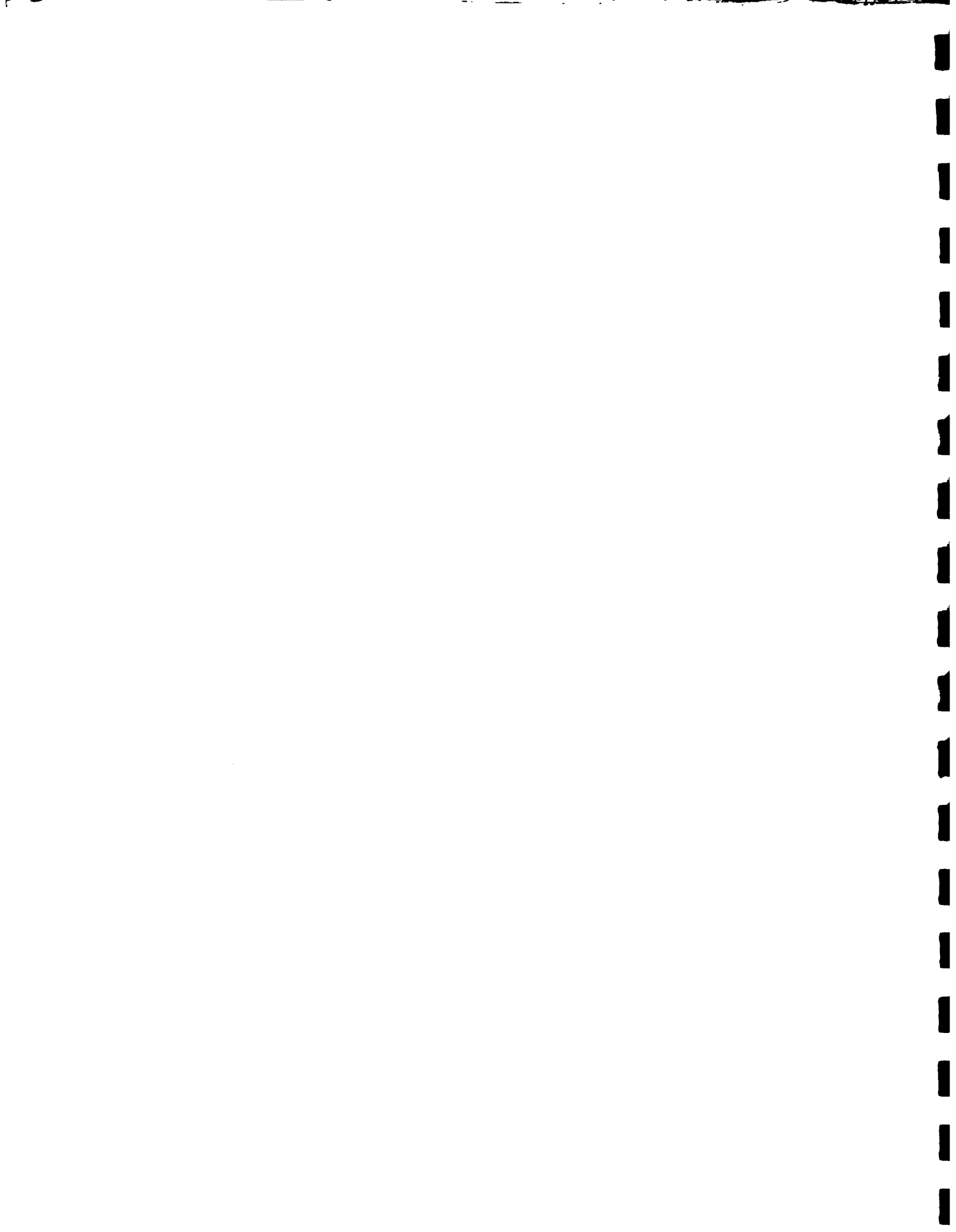
↓
47.000 rpm - 16 Hr

↓
Coletar as bandas e dializar
a 4°C frente a Tris - 0,002 M. pH 8.8

ds: 1.38

==> Instabilidade em CsCl pH 7.0 --> 1.38 - 1.42
Perda de proteínas P₂ e P₈ X infectivi.
BTV é sensível a concent. altas íons

pH 8.0 --> d= 1.38 = partículas infectivas
apresenta 7 prot.
partícula completa em M.E.
α concentração iônica



EXTRAÇÃO DE ds RNA DE BTV
Segundo Squire, K.R.E. et col

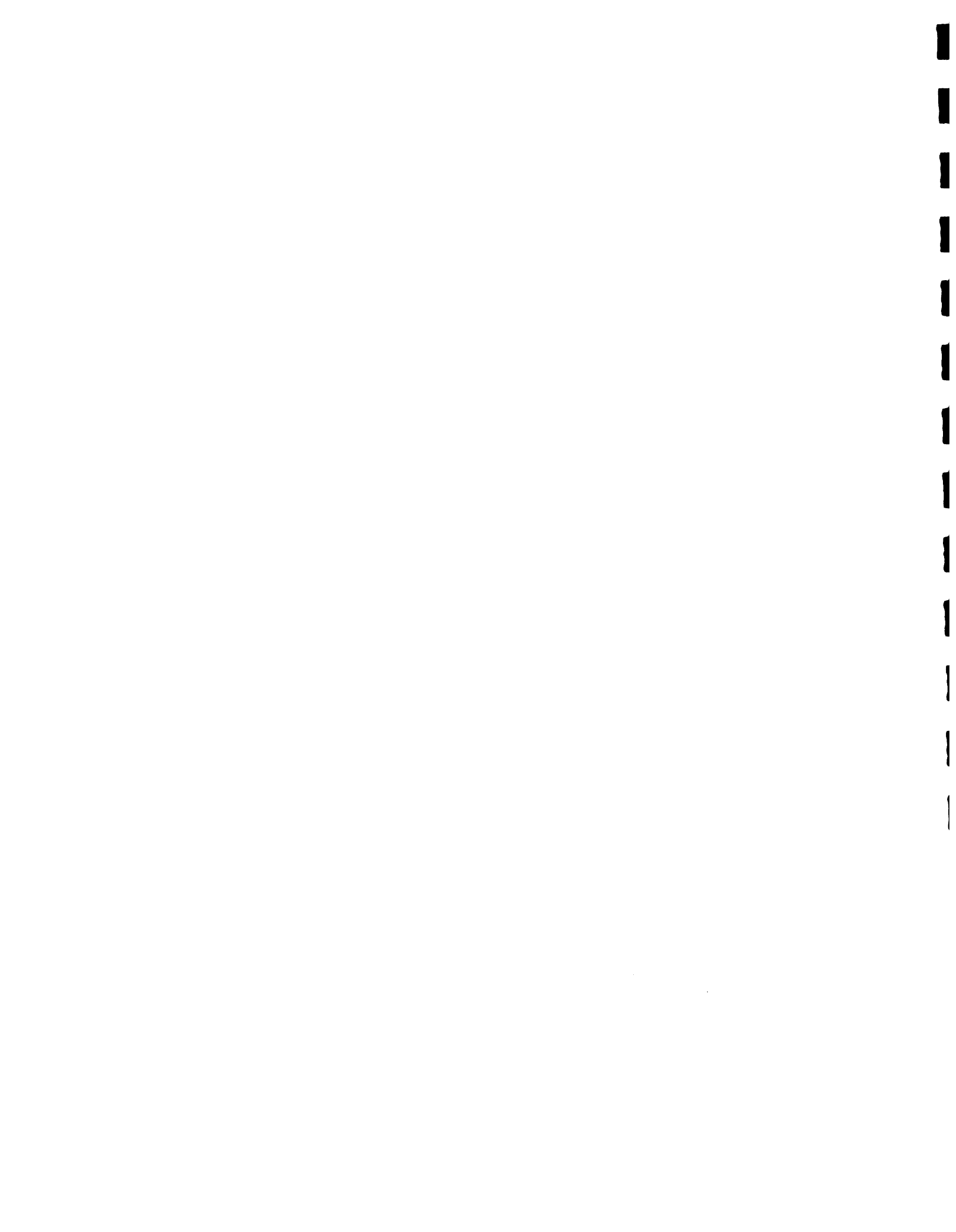
Células infectadas - romper

↓ 1 ml
Centrifugação

↓
+ 100 µl tampão acetato Na pH 5.0
+ 1% SDS
+ 100 µl fenol-clorofórmio
3 : 2

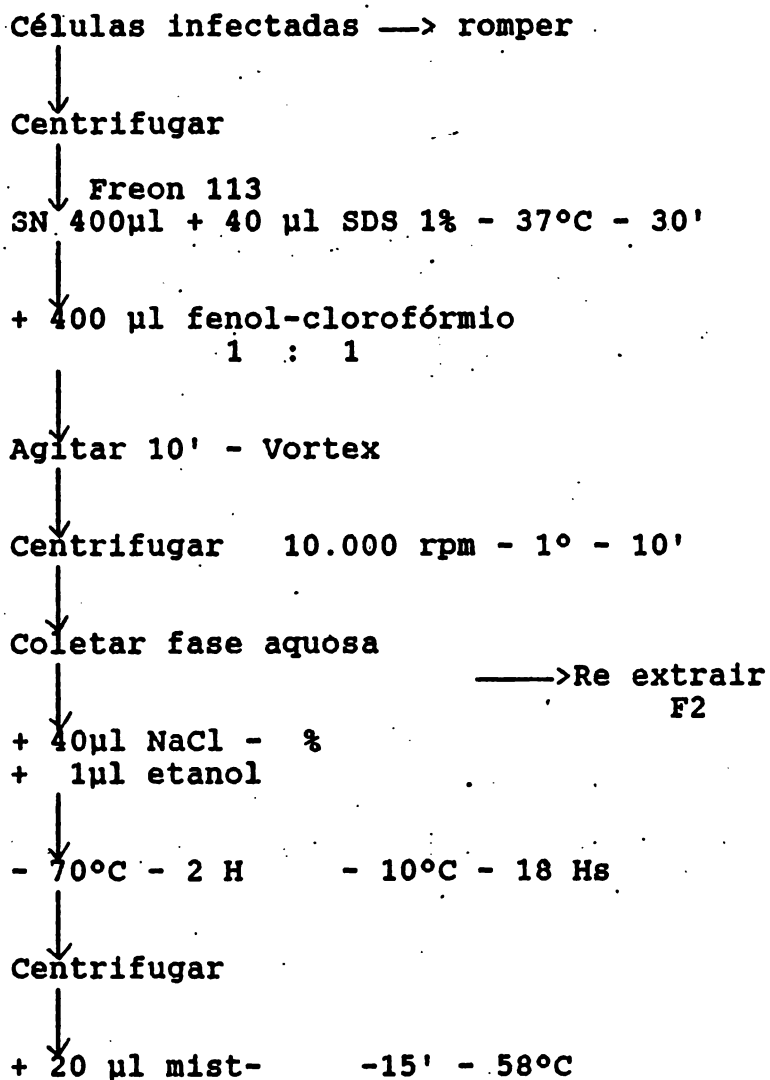
Agitar
Centrifugar
Retirar fase aquosa
Acrescentar 25 µl mist. dissoc.

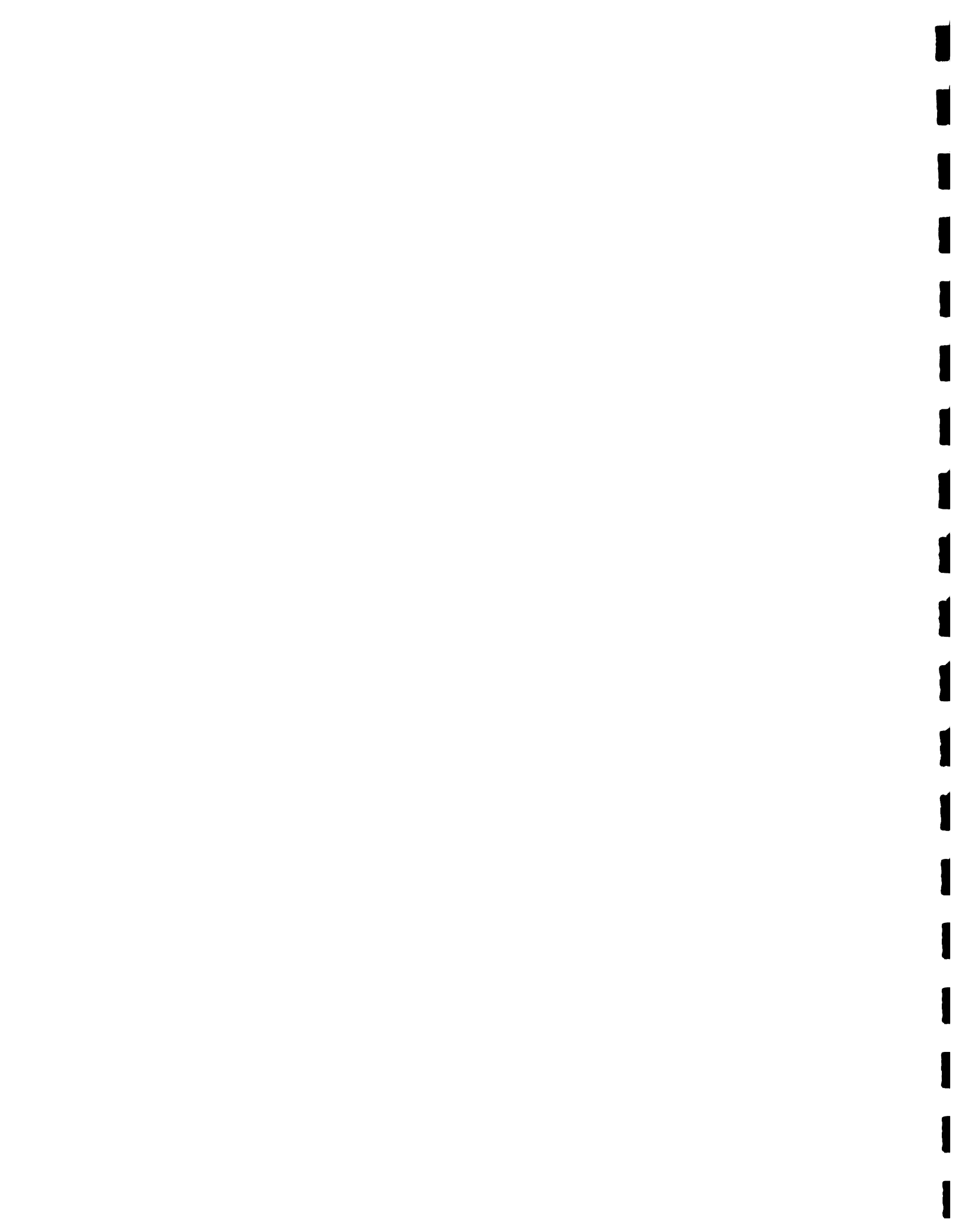
Electroforese 20 mA - 15Hr.

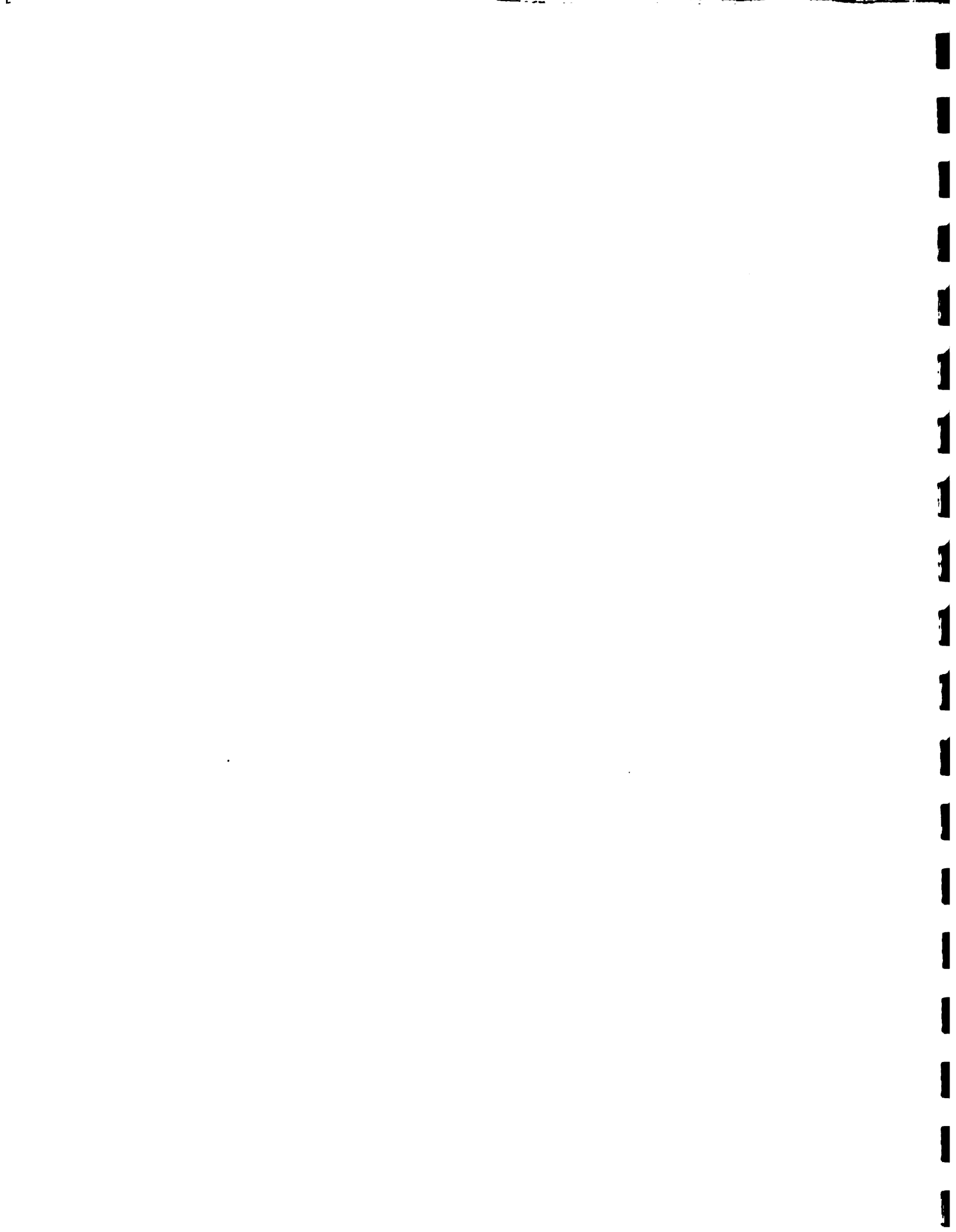


EXTRAÇÃO DE ds RNA DE BTV

Segundo Holmes, et col. = Rotavirus

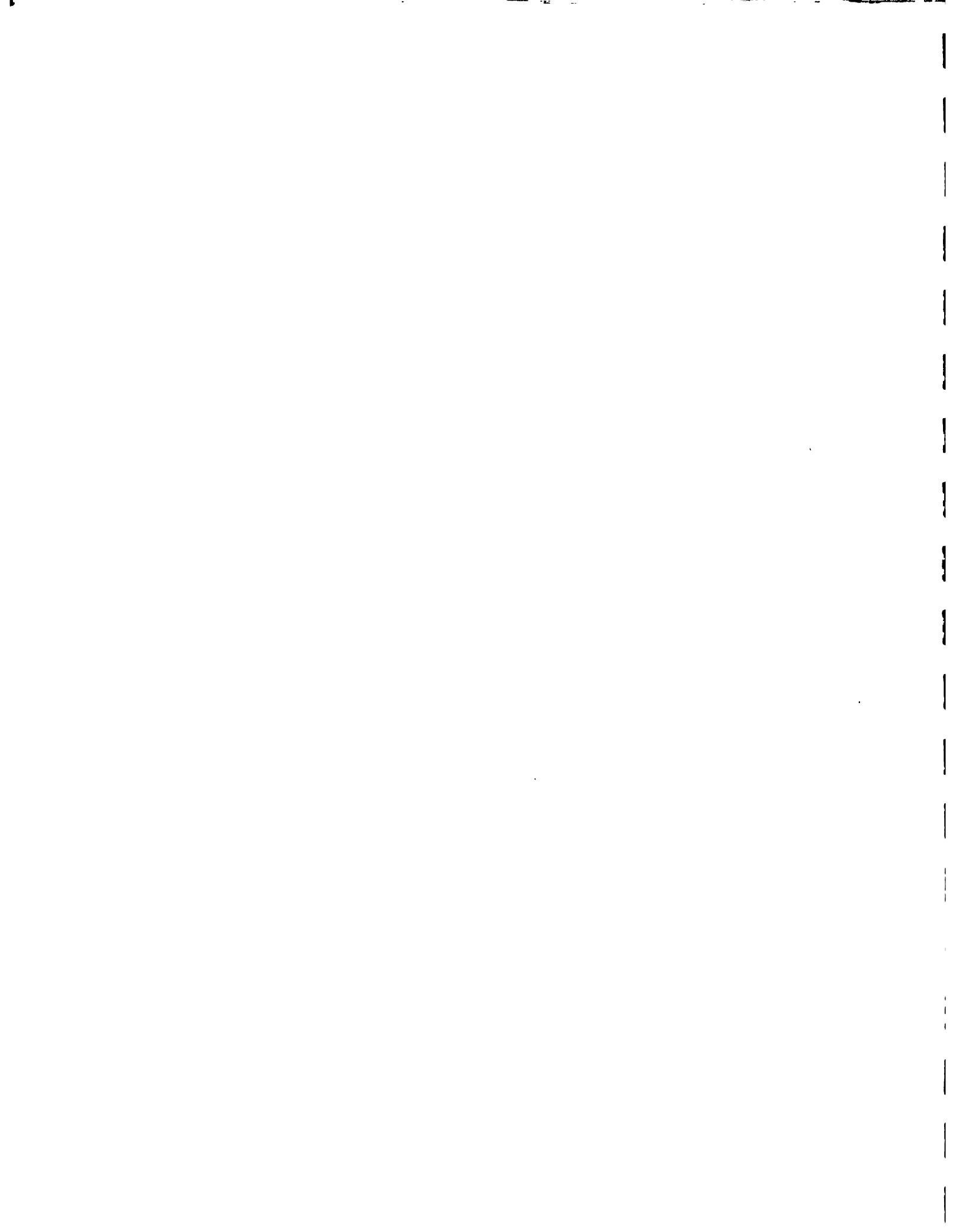






**DIAGNOSTICO DE LENGUA AZUL
SEMINARIO TALLER
CAMPINAS BRASIL 12-16 DIC 1988**

**PRUEBA DE INMUNODIFUSION EN
GEL DE AGAROSA**



O USO DA IMUNODIFUSÃO EM GEL DE AGAROSE NO DIAGNÓSTICO
DA LÍNGUA AZUL E ORBIVÍRUS RELACIONADOS

-Estudada pela primeira vez por Klontz em 1962

Ag.- cérebros de camundongos,

- embriões de galinha e

- culturas secundárias de rim de bovino

-Concluiu:

Todos os sorotipos apresentavam Ag. comum

Este componente era de origem viral

Não era infeccioso - ã relaç. infectiv. e precip.

-Comparação com Soro Neutralização

- Tempo de aparec.Ac. era o mesmo

- Título (diferença)

Jochim e Chow 1969

Estabeleceram um micro método (grande aceitaç.)

Preparaç. antigênica:

Separação do vírus infeccioso e não infeccioso

Conc. 20 - 40 x.

Estabilidade - 4º por muitos meses

- ã a 56º por 30'

Promessa - Ag detectava Ac. grupo específico

Admitiram - componente da partícula viral

- um prod. de replicação viral



Jochim em 1976;

Avanços nas preparações antigênicas

Ag. solúvel - conc. Amicon XM 50 (100 x)

Testou: Concentrado

Conc. passado em coluna de Sephadex G 200

Res.: Diminuição de título

Não teve aumento de especificidade

Remov. alg. proteínas-elim. a formaç. de li. mult.

Ag. a partir de vírus ligado às células - Sed. cel. inf.

Eluiç. - cong/desc. - sonicação (3 ciclos)

Res.: Melhor res. nas 2, 1^{as} extraç.

Am. frac. pos. c/Ag. sol. não reag. com o Ag. cel.

Obt. linha parc. de identidade - semelhantes

- não idênticos

Introduziu-o uso do molde hexagonal

-Ac. de ref. em poços altern. - aum. de sens.

ANTÍGENO SOLÚVEL

GRUPO ESPECÍFICO

CONCENTRADO

TIPO DE CONSERVAÇÃO

USO DO MOLDE HEXAGONAL

ANTICORPO DE REFERÊNCIA

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
66
67
68
69
70
71
72
73
74
75
76
77
78
79
80
81
82
83
84
85
86
87
88
89
90
91
92
93
94
95
96
97
98
99
100

Gumm e Newman 1982,

Obj.: Desenv. proc. purif. do Ag. de grupo para

- levantamentos epidemiológicos
- estudos bioquímicos
- aux. nos est. do grau de relaç. e evol. de Orb.
- prod. de antiss. grupo especif. para est. sor.

Utilizaram técnicas mais sofisticadas

- Marcação radioativa- ^{35}S - Metionina
- ^3H - Leucina
- Coluna de Sepharose 4B
- Eletrofocalização - anfólitos

Concl.: Identific. o Ag de grupo do vírus da Língua A
zul como uma única proteína com PM de 38.000 e
Mobilidade Eletroforética semelhante a P 7.

Discutem a difer. entre o PM encontrado por Jochim e
Chow, - PM 160.000 a 200.000

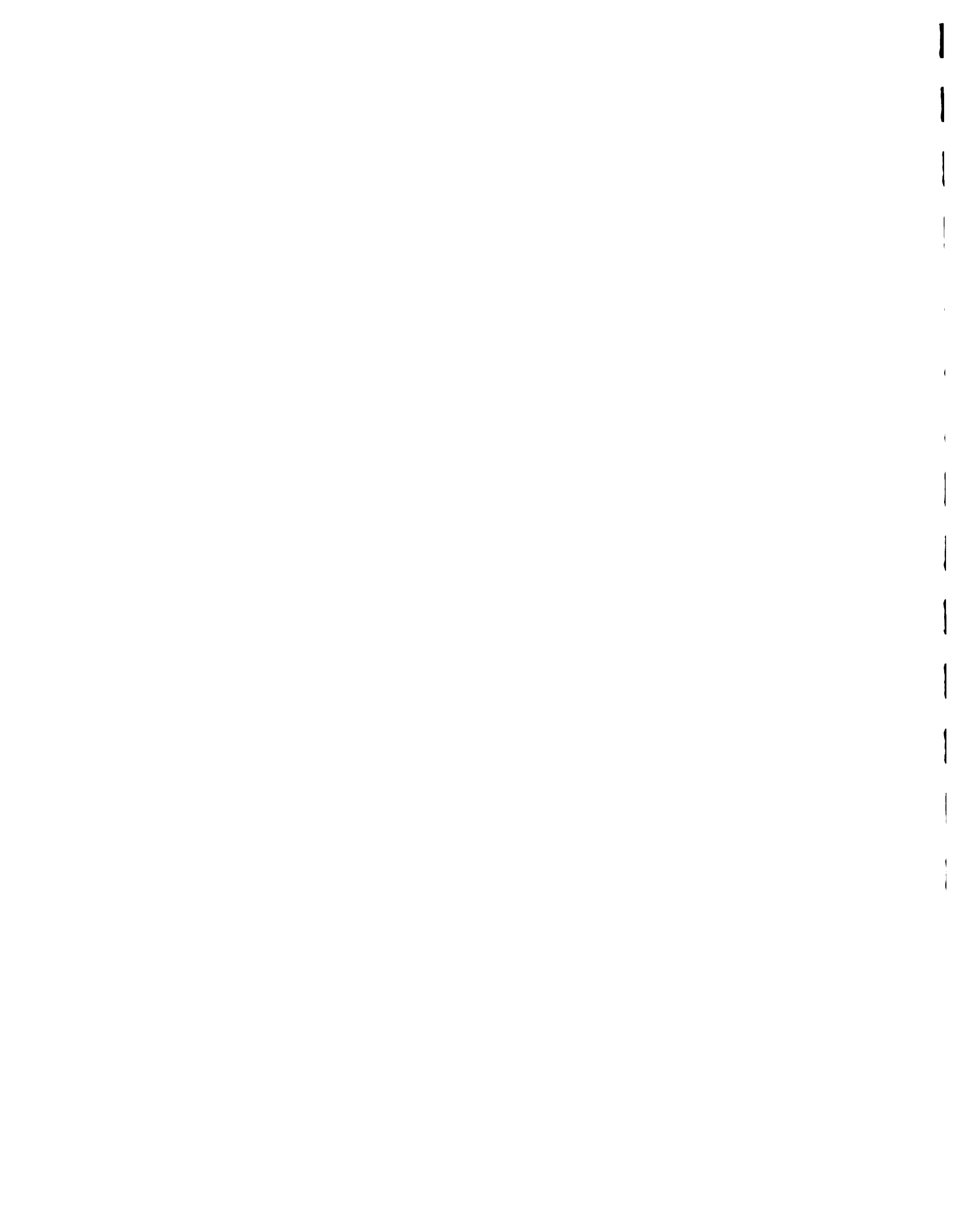
- estrut. complexas - sub unidades de 38.000

Ag. solúvel em estado nativo - estrutura polimérica.

Hubschle e Yang 1983,

Fazem o isolamento do Ag. "core" P.7

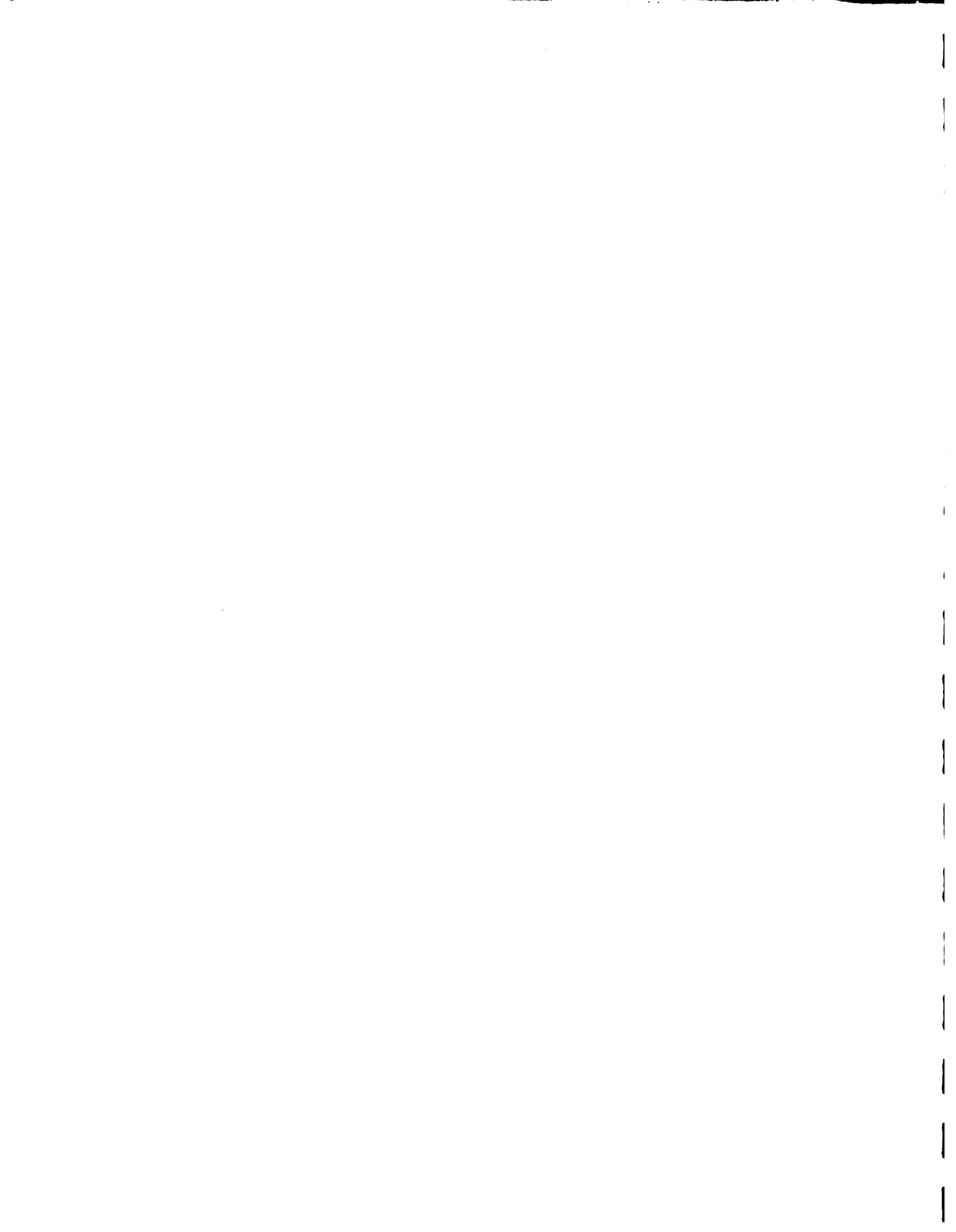
- Coluna de Sephacryl S 200
- Cromatofocalização
- Politrocador PBE 94



Nota-se uma forte tendência do uso de preparações antigênicas constituídas da proteína P 7 para uso em IDGA

A IDGA é usada rotineiramente em:

- levantamentos sorológicos, para
 - determinar a distrib. e extensão da ativ. viral em rebanhos - bovinos e ovinos.
 - pode ser usada isoladamente ou
 - associada a outras técnicas sorológicas a técnicas de isolamento de vírus
- Certificação de animais para:
 - importação / exportação de anim.
 - anim. de Centrais de Ins. Artif.
- Método: simples, rápido e específico
permite testar gdes. números de amostras necessita de Ag. em altas concentrações não é recomendado p/ titulação de Ac.
uso de Ag. grupo específico leva a:
 - reativ. cruzada c/ os 24 sorot.
 - reativ. cruzada c/ outr. orbiv.



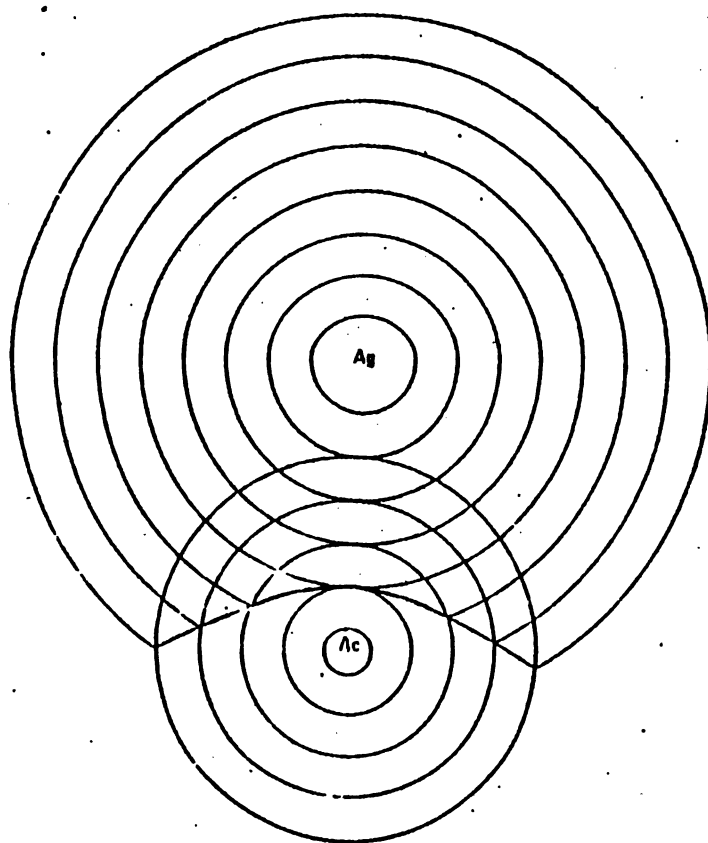
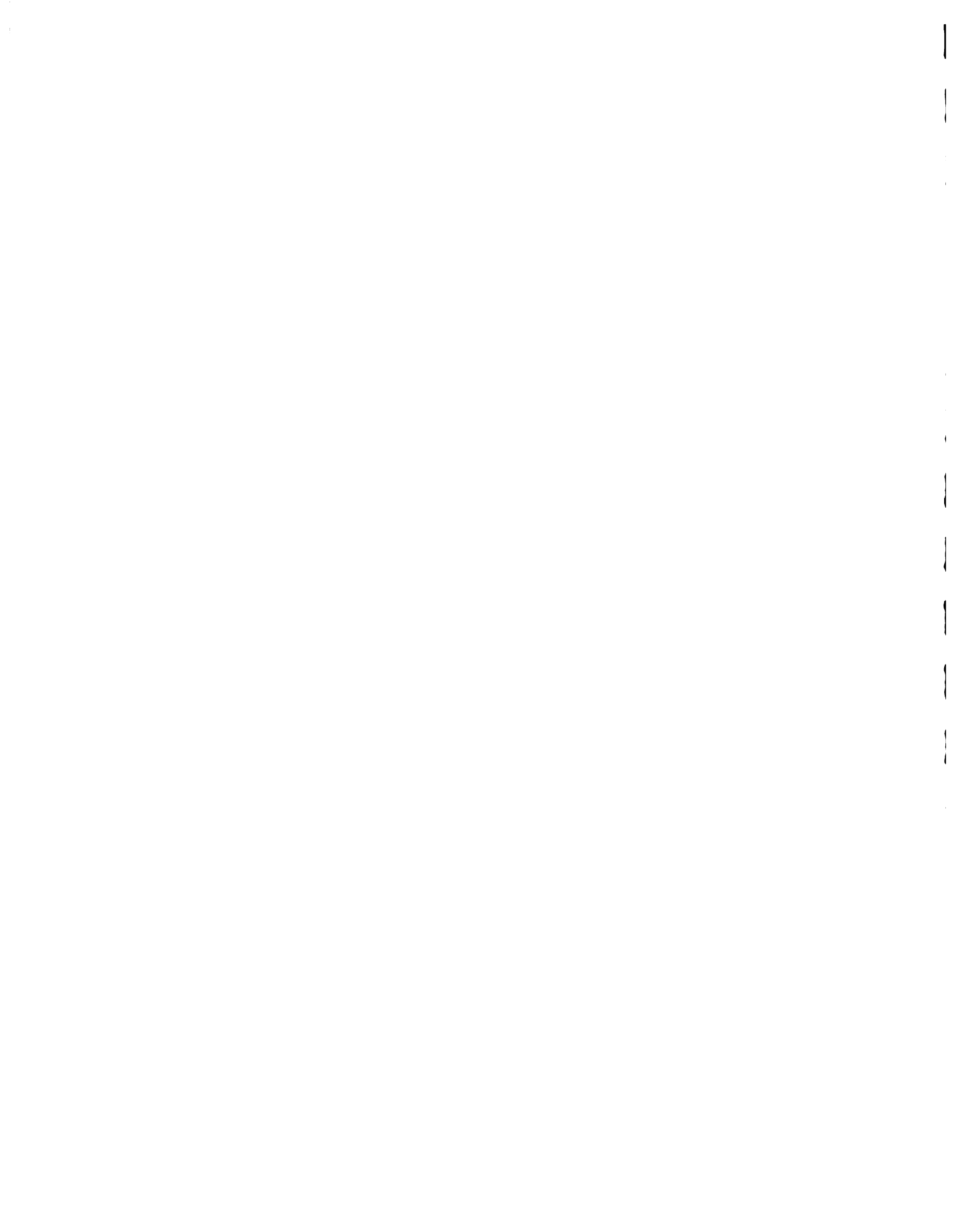


Fig. 8.5 Formação de linhas de precipitação em placa de Ouchterlony.
Fonte: Otto Bier

- Migração radial concomitante
- Gradiente circular de concentração (entrecruzam)
- Encontro dos reativos, em proporções ótimas - combinação específica dos mesmos.
- Complexos Ag-Ac insolúveis
- Visualizáveis numa linha ou banda de precipitação



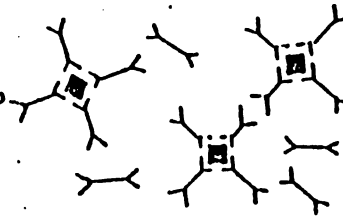
O anticorpo é bivalente



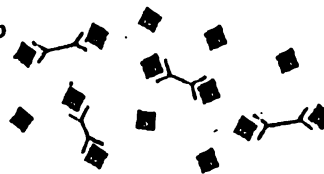
O antígeno é multivalente



Antígeno misturado com excesso de anticorpo



Anticorpo misturado com excesso de antígeno



Antígeno e anticorpo misturados em proporções ótimas

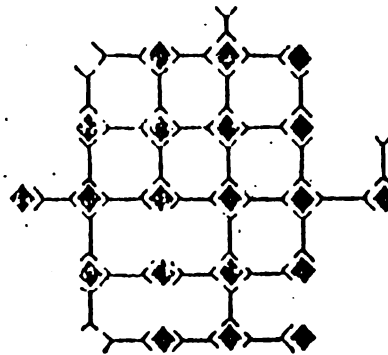
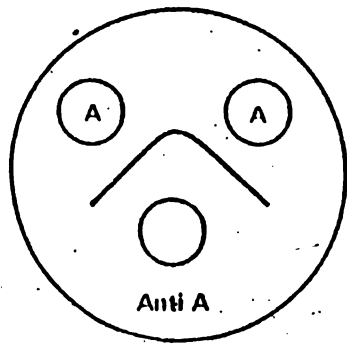


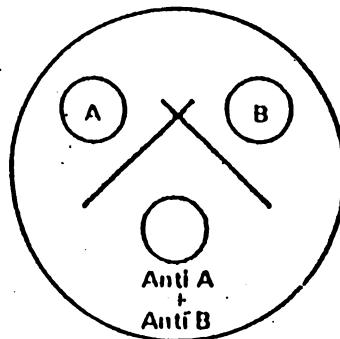
Figura 9.8 – Mecanismo da precipitação: Com excesso de anticorpo e com excesso de antígeno há produção de complexos imunitários solúveis muito pequenos. Entretanto, em proporções ótimas, são gerados grandes complexos insolúveis.

FUENTE: TIZARD, I. AN INTRODUCTION TO VETERINARY IMMUNOLOGY.
1982.

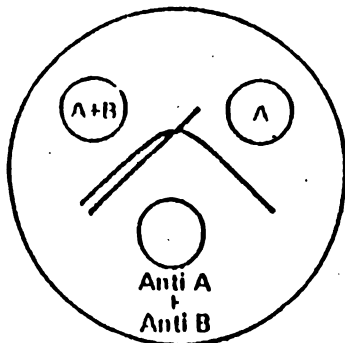




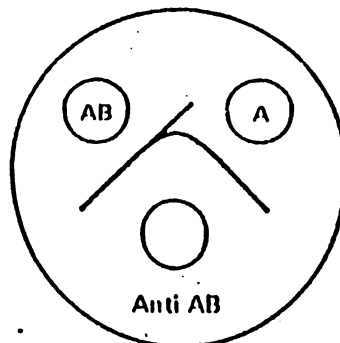
Identidade completa dos antígenos



Não-identidade dos antígenos



Identidade completa e não-identidade observadas quando A e B estão em moléculas diferentes



Identidade parcial observada quando os determinantes A e B estão na mesma molécula

Figura 9.10 – Uso da técnica de difusão em gel para determinar a relação entre dois antígenos.

Fonte: Tizard



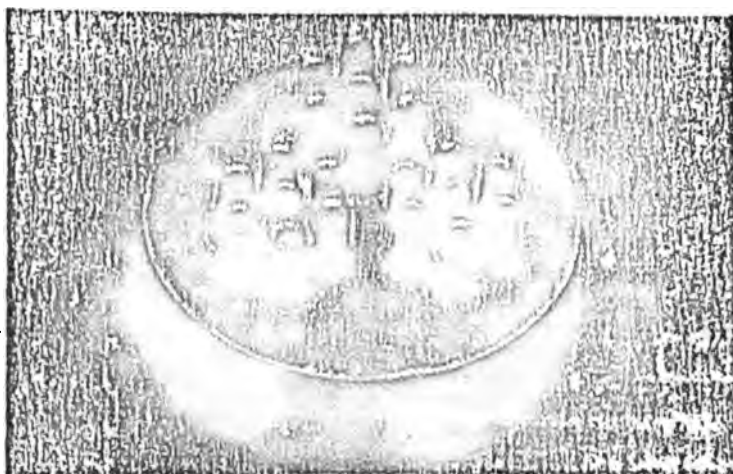
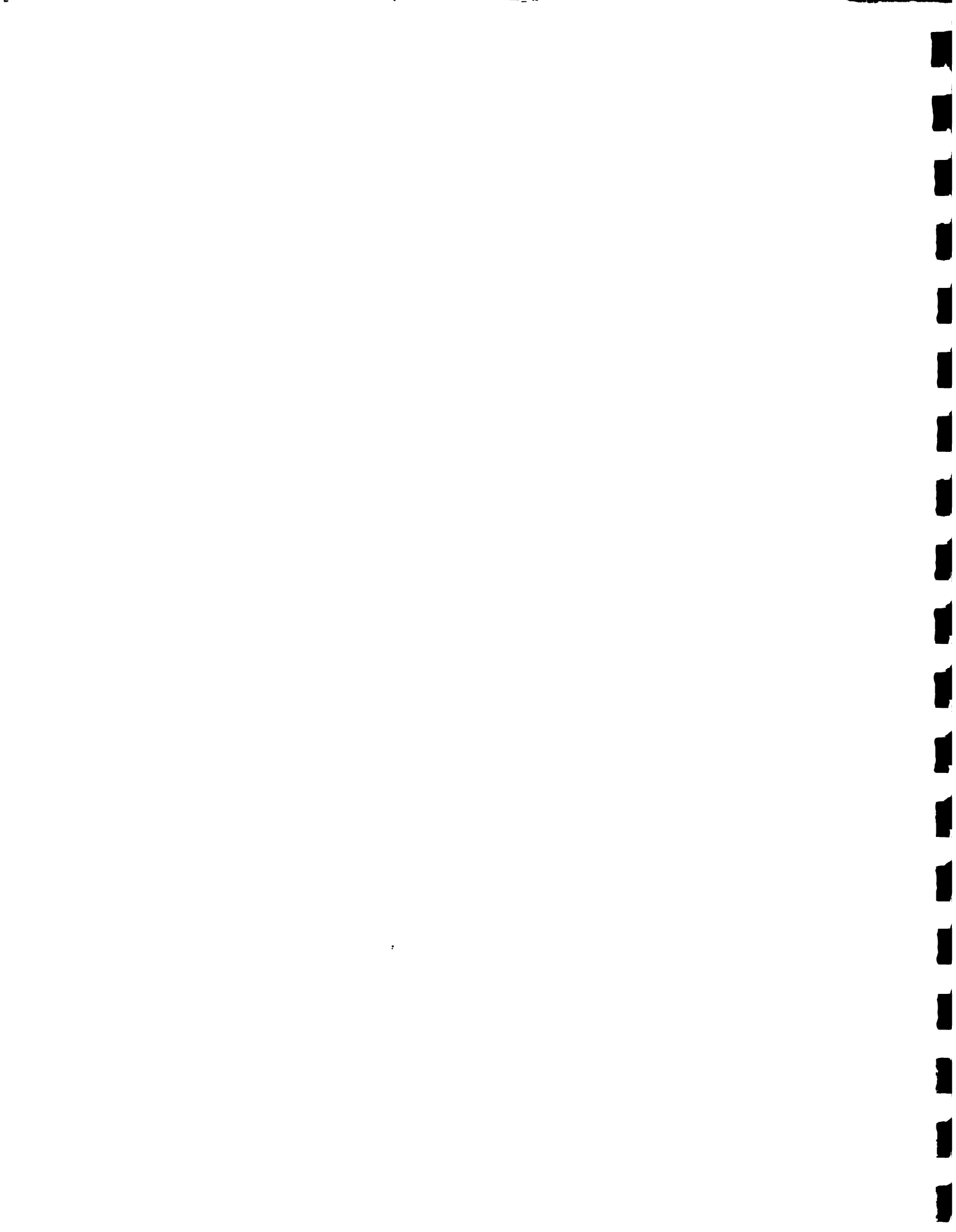


Fig. 2. Metal template containing 3 7-well patterns.

Protocolo "NADC"



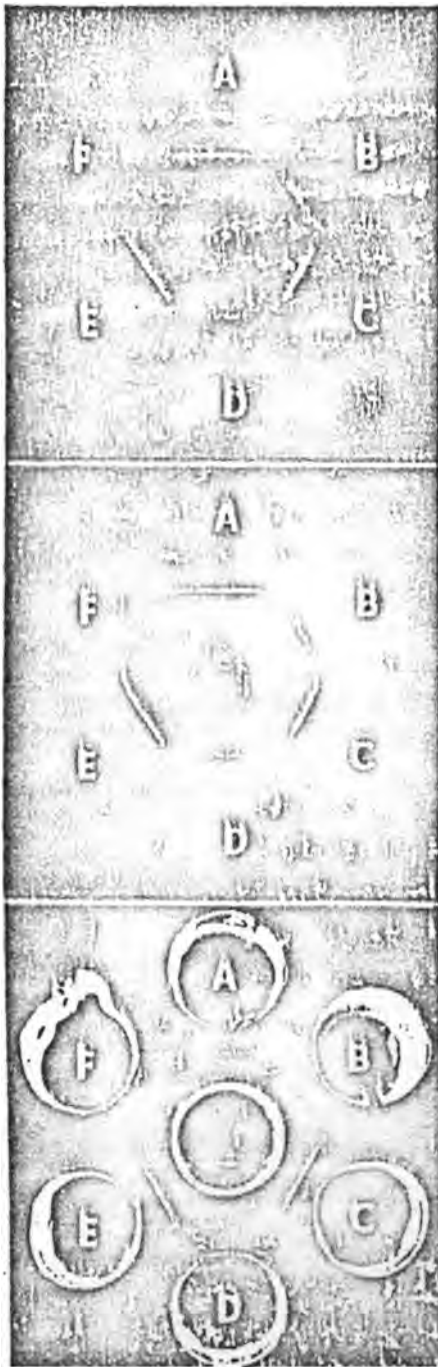


Fig. 5. Immunodiffusion Test which has antigen in center well; control positive serum in wells A, C and E; positive serum in wells D and D; negative serum in well F.

Fig. 6. Immunodiffusion Test which has antigen in center well; control positive serum in wells A, C and E; positive serum in well B, strong positive serum in well D; weak positive serum in well F.

Fig. 7. Immunodiffusion Test which has antigen in center well; control positive serum in wells A, C and E; negative serum in well B, weak positive serum in well D; strong positive serum in well F.

CENTRAL DE MEIO DE CULTURA - LARA/CAMPINAS/SP

SOLUÇÃO DE AGAR TRIS AZIDA
FORMULA PARA 1.000 ML

TRIS (HIDROXIMETIL) AMINOMETANO.....	6,0570 GR.
AZIDA SÓDICA.....	0,250 GR.
SPECIAL AGAR NOBLE.....	2,000 GR.
H ₂ O BIDISSTILADA.....	1,000 ML.

pH 7.40

FUNDIR, DISTRIBUIR E ESTERILIZAR A 121° C - 15 MINUTOS



CENTRO PANAMERICANO DE FIEBRE AFTOSA

LABORATORIO DE REFERENCIA

Identificación de Anticuerpos de la Lengua Azul por la Técnica de Inmunodifusión en Gel de Agar

La enfermedad

La Lengua Azul (LA) es una enfermedad que afecta a todos los rumiantes y esta ampliamente difundida por el mundo, siendo enzoótica en los países con climas moderados.

Es causada por un virus de la familia REOVIRIDAE, género Orbivirus, del cual se reconocen 24 serotipos. Se transmite por la picadura de mosquitos, principalmente CULICOIDES y por transfusiones de sangre.

La enfermedad afecta principalmente a los ovinos. La sintomatología incluye inflamación de las mucosas digestiva y respiratoria superiores, seguida de tumefacción que proporciona una tonalidad azulada a las mismas, continuando con ulceraciones en los casos más graves. Puede observarse inflamación en las patas. También se ha observado deformaciones de los fetos. La mortalidad es baja. En las otras especies de rumiantes la mayoría de las veces no se observan síntomas clínicos. Sin embargo, pueden actuar como reservorios del virus (2).

Centro Panamericano de Fiebre Aftosa.
Caixa Postal 589, 20.001 - Rio de Janeiro, RJ, Brasil.



Diagnóstico

El aislamiento del virus se hace principalmente por inoculación intravenosa de embriones de pollo de 8-13 días de edad con muestras de sangre recolectadas de animales con viremia.

El diagnóstico serológico (identificación de anticuerpos en el suero) se hace por Fijación de Complemento (FC), inmunodifusión en gel de Agar (IDGA), seroneutralización en células (SN) y recientemente también por ELISA. La FC y la IDGA revelan la presencia de anticuerpos grupo específicos de LA. Esto no quiere decir que el animal con anticuerpos este infectado, es decir, sea portador sano del virus.

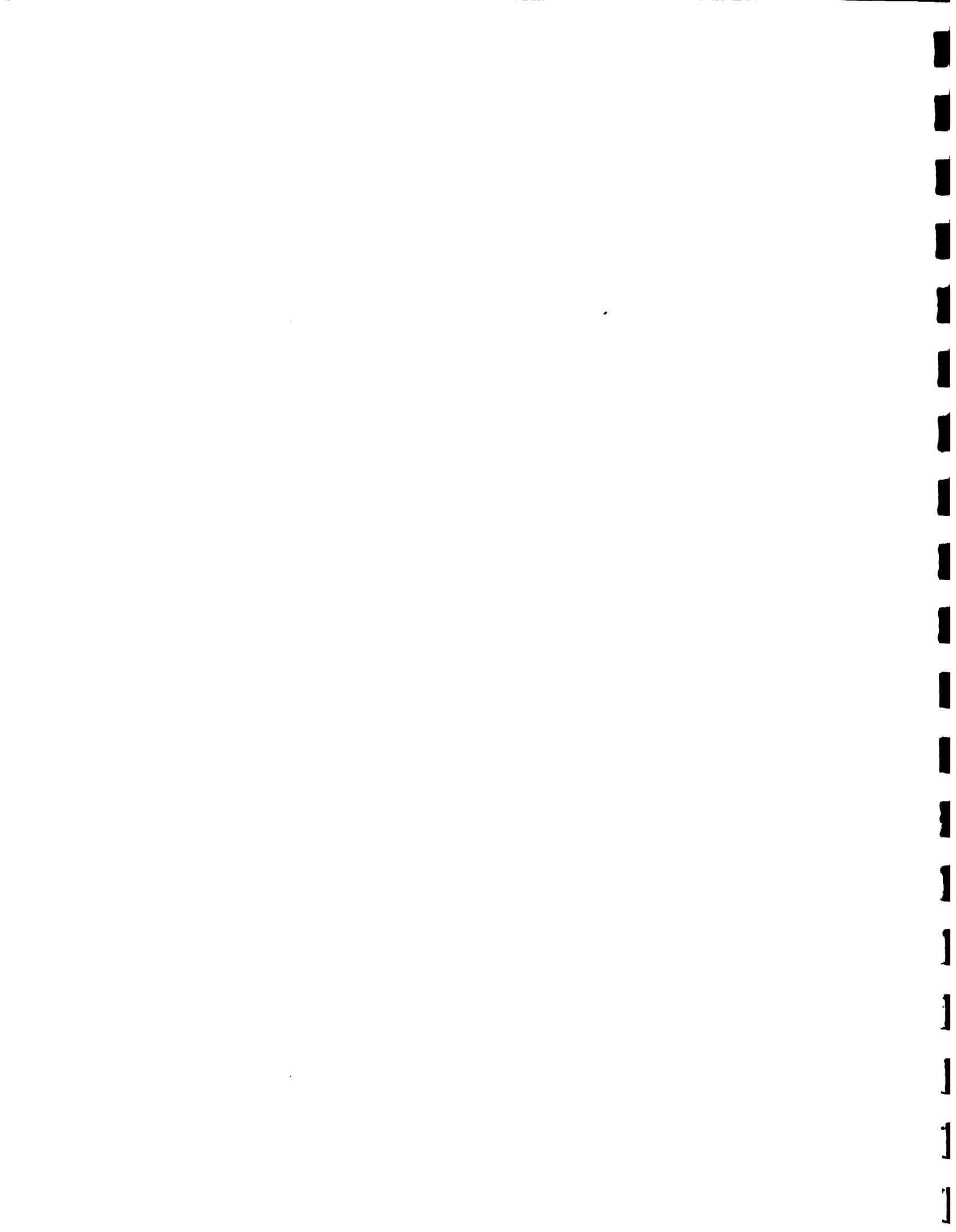
Inmunodifusión en gel de Agar

La IDGA es la técnica admitida internacionalmente para identificar anticuerpos anti-^LVIA y es usada para la liberación de animales en pie en el comercio internacional.

Detecta anticuerpos en el suero unos diez días después de haber ocurrido la infección del animal, el cual puede continuar positivo por varios años. Estos anticuerpos son grupo específicos, es decir, han sido inducidos por cualquiera de los 24 serotipos del virus. Pueden observarse reacciones cruzadas con sueros de animales que han padecido la enfermedad hemorrágica epizootica del ciervo.

Materiales y métodos

Antígeno (Ag): El antígeno fue obtenido de suspensiones de virus de LA, serotipo 4, ^(S4) ~~copias de virus~~ (1) replicado en



células BHK₂₁, Clon 13.

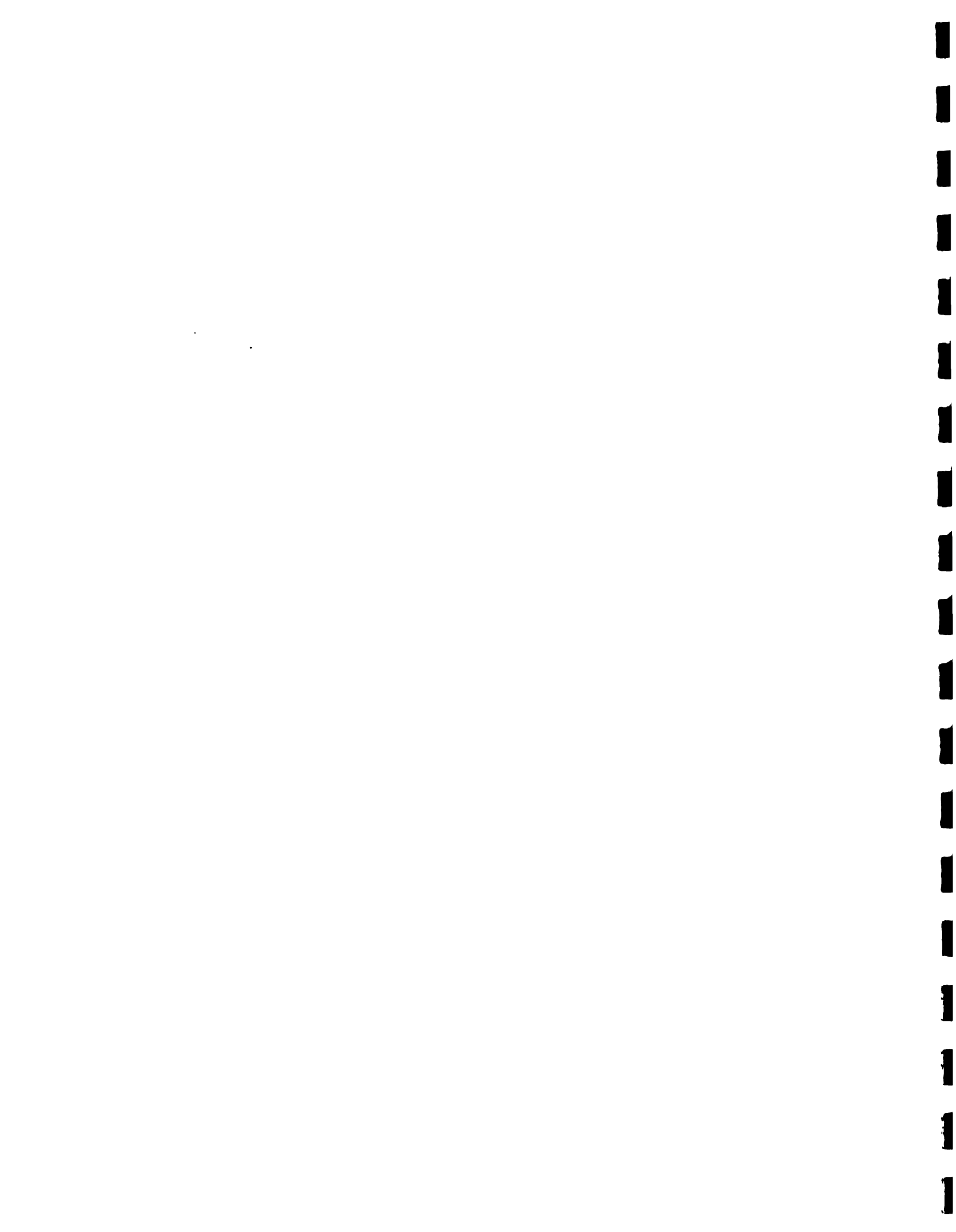
Botellas rolantes con células BHK₂₁, Clon 13 de suspensión mantenidas 48 horas en estufa a 37°C fueron inoculadas con la cepa de LA S.4 ~~24750~~ y nuevamente colocadas en estufa a 37°C. Transcurridas 72 horas fueron colectadas, tratadas con 3% de cloroformo, congeladas, descongeladas y clarificadas por centrifugación a 10.000 g durante 30 minutos. Seguidamente fueron inactivadas con 5 mM de BEI a 26°C durante 24 horas.

A continuación la suspensión de virus inactivada fue concentrada 40 veces con filtro Amicon de 100.000 NMWL, seguido de una ultracentrifugación durante 2 horas a 200.000 g. Posteriormente se agregó 0,02% de ázida sódica, se tituló en IDGA, se fraccionó en alícuotas y se conservó a 4°C, hasta su uso.

Suero control positivo (SCP): El SCP es una mezcla de sueros de bovinos del estado de Rio de Janeiro, Brasil, positivos a LA por IDGA, los cuales fueron concentrados cuatro veces por precipitación de las inmunoglobulinas con sulfato de amonio. Después se agregó 0,02% de ázida sódica, se fraccionó en alícuotas y se conservó a 4°C.

Agar al 2%: Se disuelven 20 gramos de agar noble (Difco) en 1.100 ml de agua destilada desmineralizada y se esteriliza a 15 libras de presión durante 15 minutos. Seguidamente se vierte en una bandeja, se deja solidificar, se corta en cubos de aproximadamente 2 cm de lado, se sumergen en agua destilada y se conservan a 4°C hasta su uso.

Tampón Borato (TB): Se prepara 0.05 M de Hidróxido sódico



(NaOH), 0.15M de ácido bórico (H_3BO_3) y se agrega 1% de ázida sódica, pH de 8.6.

Preparación de placas con Agar al 1%: El Agar al 2% es mezclado a partes iguales con TB y fundido por ebullición en baño María. A continuación, a placas de Petri descartables de plástico o de vidrio de 90 mm de diámetro se vierten 15 ml de la mezcla Agar - TB y se mantienen semidestapadas, en una superficie nivelada a temperatura ambiente (20 a 30°C) (TA) durante un mínimo de dos horas, para garantizar una adecuada gelificación del Agar. Las placas que no son usadas inmediatamente pueden conservarse en heladera a 4°C durante una semana.

Las cavidades en el Agar son hechas con un molde que tiene 7 perforadores dispuestos uno en el centro y 6 en la perifería, de 4 mm de diámetro externo cada uno, equidistantes 2 mm entre si y del central. En cada placa pueden hacerse 6 moldes en la perifería y uno en el centro. El Agar de las cavidades se extrae por succión con bomba de vacío inmediatamente antes de colocar los reactivos en la placa.

Titulación del Ag y del SCP: Cada partida de Ag y de SCP es titulada para determinar la dilución óptima de uso. El Ag y SCP son diluidos en base 2 (1:1 a 1:8) en TB y son colocados: cada dilución de Ag en las cavidades centrales de cada molde y las diluciones de SCP son depositadas en 4 cavidades de la perifería. En las dos cavidades restantes de la perifería se coloca un SCP de referencia (Figura 1). Al depositar los reactivos ha de tenerse la precaución de llenar las cavidades hasta



el borde. Una buena distribución de los mismos se consigue con micropipetas graduadas o con pipetas Pâsteur.

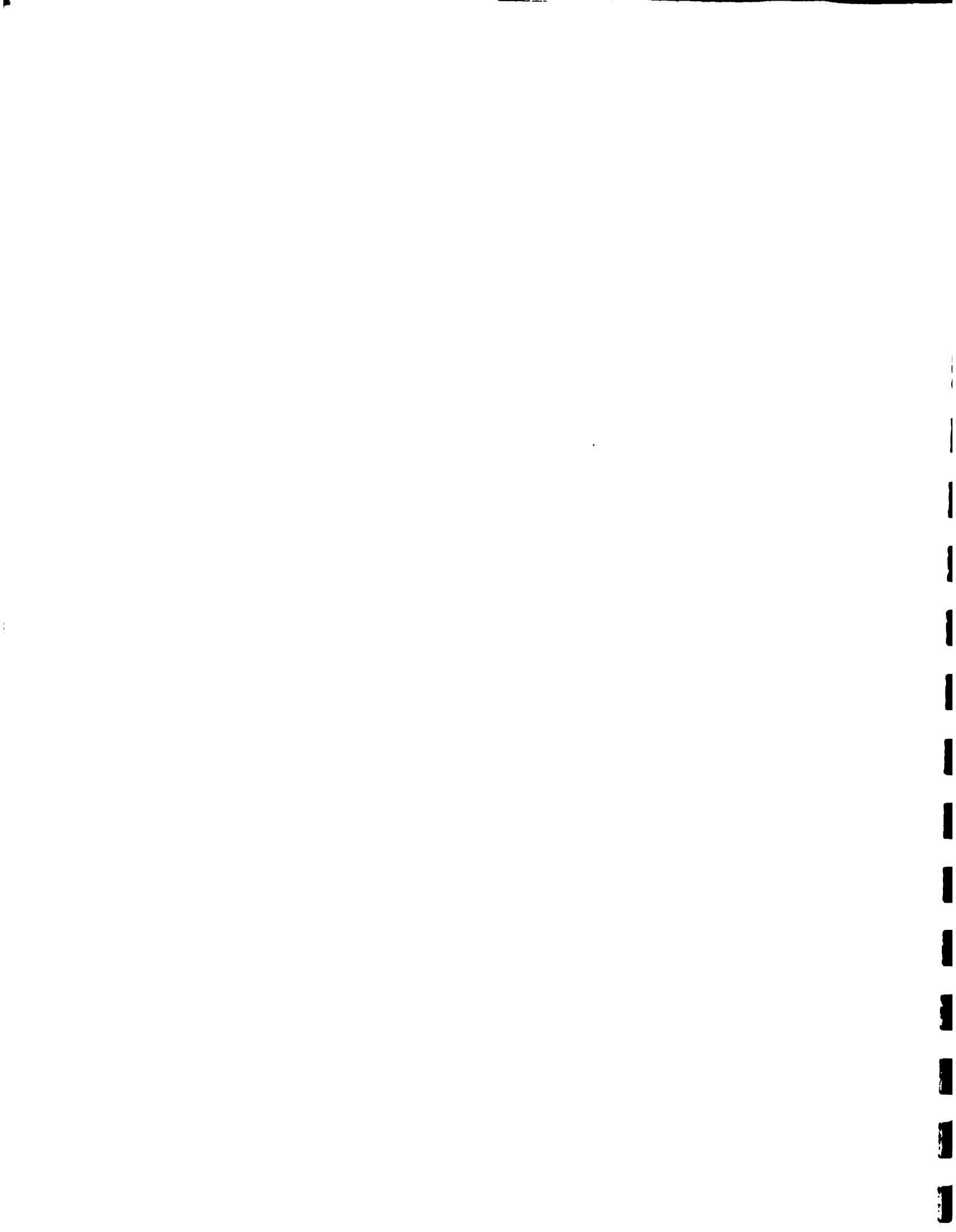
Las placas se mantienen en superficie nivelada y TA de 24 a 48 horas. La lectura se hace entre las 24 y 48 horas de haber colocado los reactivos. Las diluciones de uso del Ag y del SCP son aquellas que analizadas conjuntamente proporcionan la reacción más nítida.

Especificidad y sensibilidad de Ag y SCP: Después de determinar la dilución de uso de cada lote de Ag y SCP, ambos son analizados en esas diluciones, comparativamente con Ag y SCP padrones, frente a una serie de sueros con diferente intensidad de reacción positiva y negativos de varias especies para determinar su especificidad y sensibilidad.

Análisis de sueros: Los sueros a ser examinados después de registrados y numerados convenientemente son colocados en las placas debidamente identificadas. La distribución de los sueros se hace en el sentido de las agujas del reloj en los moldes y en la placa. En cada molde se colocan 4 sueros sin diluir en cuatro cavidades de la perifería. En las dos restantes se añade el SCP. El Ag es depositado en la cavidad central conforme el esquema indicado en la Figura 2. Seguidamente las placas son colocadas en mesa nivelada a TA.

Lectura de las placas: La lectura se hace colocandolas sobre un rayo de luz frente a un fondo negro.

Las lecturas deben de hacerse alrededor de las 24 horas de haber colocado los reactivos en las placas. A este tiempo



normalmente las líneas de precipitación son nítidas. Las lecturas realizadas después de las 48 horas son difíciles de interpretar, debido a que las líneas se tornan difusas.

Cuando se trabajan con sueros muy hemolizados o que tienen altas concentraciones de lípidos u otras sustancias, a veces proporcionan difusiones inespecíficas, las cuales pueden dificultar la lectura. Este inconveniente puede subsanarse lavando el Agar con agua salina 10x antes de hacer la lectura.

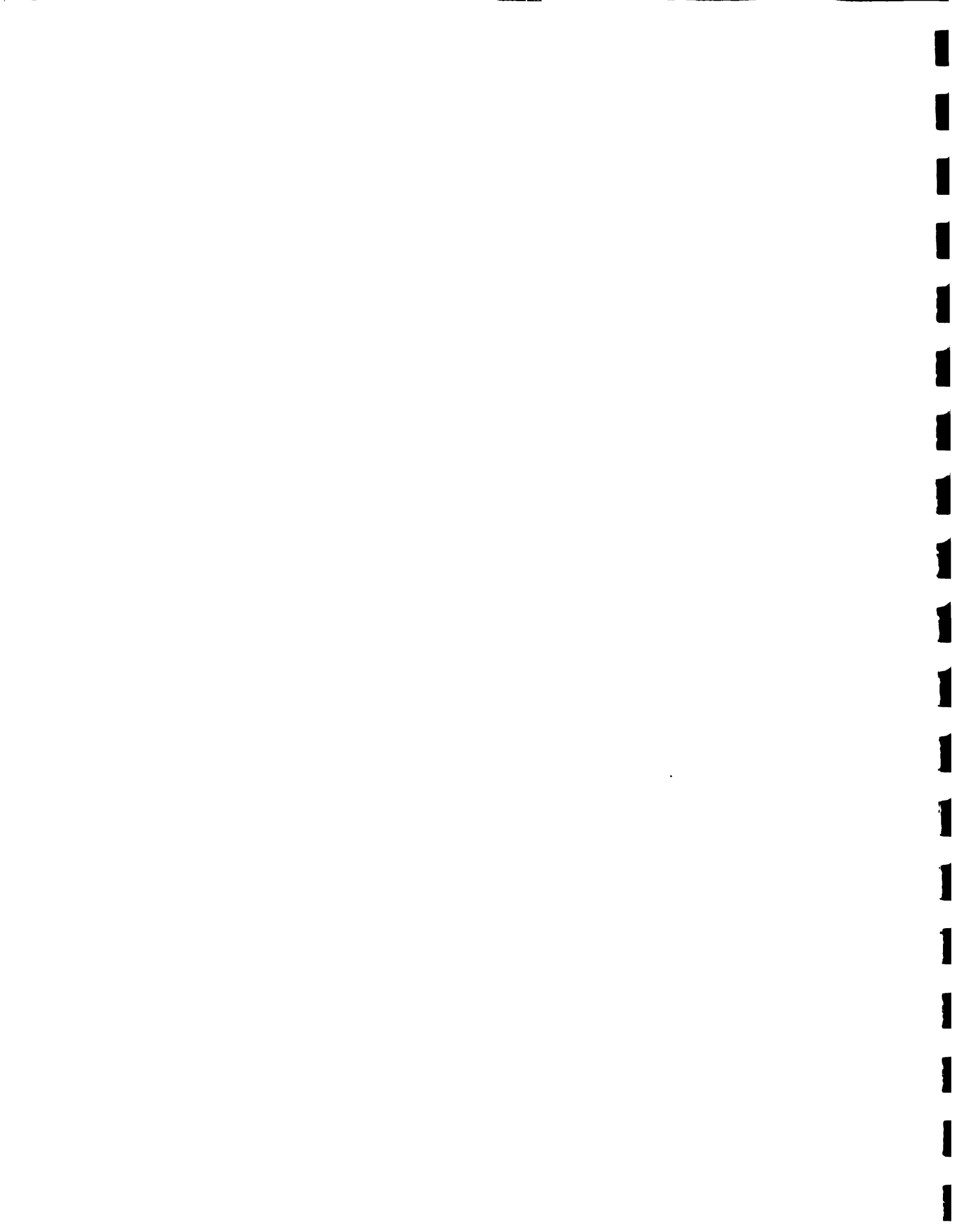
Interpretación de los resultados: Todos los sueros a ser examinados están contiguos al SCP, lo que permite observar si las líneas de precipitación originadas mantienen la identidad con la del SCP. Ha de tenerse presente que algunos sueros proporcionan reacciones de no identidad o inespecíficas para el Ag de la LA, que son aquellas que cruzan o tocan la línea de precipitación específica originada por el Ag y SCP de LA (ver Figura 2).

a) Suero negativo (-): Son aquellos en que la línea de referencia, es decir, la originada por el Ag y el SCP entra en la cavidad del suero en estudio.

b) Suero positivo (+): La línea de referencia presenta una pequeña curvatura próxima al suero en estudio.

c) Suero positivo intenso (++): La situación y apariencia de la línea de precipitación originada por el suero en estudio es similar en intensidad a la del SCP.

d) Suero dudoso (?): Los sueros que por cualquier motivo no pueden encuadrarse como -, + o ++ son reexaminados siguiendo el siguiente procedimiento:



e) Repetición de los sueros dudosos: Los sueros son analizados nuevamente por IDGA, colocando el SCP en tres cavidades alternadas de la perifería, en dos restantes los sueros dudosos y en la tercera un suero negativo. De esta manera se observa la reacción en las dos líneas de referencia contiguas y en comparación con el suero negativo (ver Figura 3).

La interpretación se hace de la misma manera a como se ha indicado en el apartado anterior.

Los sueros que nuevamente no permiten ser catalogados en la categoría de + o -, es aconsejable repetir la prueba con otra nueva muestra de suero.

Reactivos:

Antígeno Lengua Azul (Ag): 1 frasco con 2.5 ml, título de uso 1:2.

Suero control positivo (SCP): 2 frascos con 2.5 ml, título de uso 1:1.

Precauciones con los reactivos:

El Ag y el SCP pueden ser mantenidos en heladera de 2 a 8°C. También pueden conservarse en congelación, pero deben de evitarse las congelaciones y descongelaciones repetidas. Igualmente han de permanecer el menor tiempo posible a temperatura ambiente.

El título de uso de este Ag y SCP ha sido determinado en conjunto, por lo que no es aconsejable usar cualquier de estos reactivos con Ag y SCP de otra procedencia sin previamente repetir las pruebas de titulación, especificidad y sensibilidad con los nuevos reactivos.



Referencias

1. Grocock, C.M. and Campbell, C.H.
Isolation of an Exotic Serotype of Bluetongue Virus from Imported Cattle in Quarantine. Can.S.Comp.Med. 46: 160-164, 1982.
2. Obdeyn, I.M.
Bluetongue. A Review of the Disease. Pan American FMD Center. Scientific and Technical Monograph Series n° 16, 1987.

Rossana Allende S.
Gonçala M. Arita
Magnus S. Söndahl
Albino Alonso F.

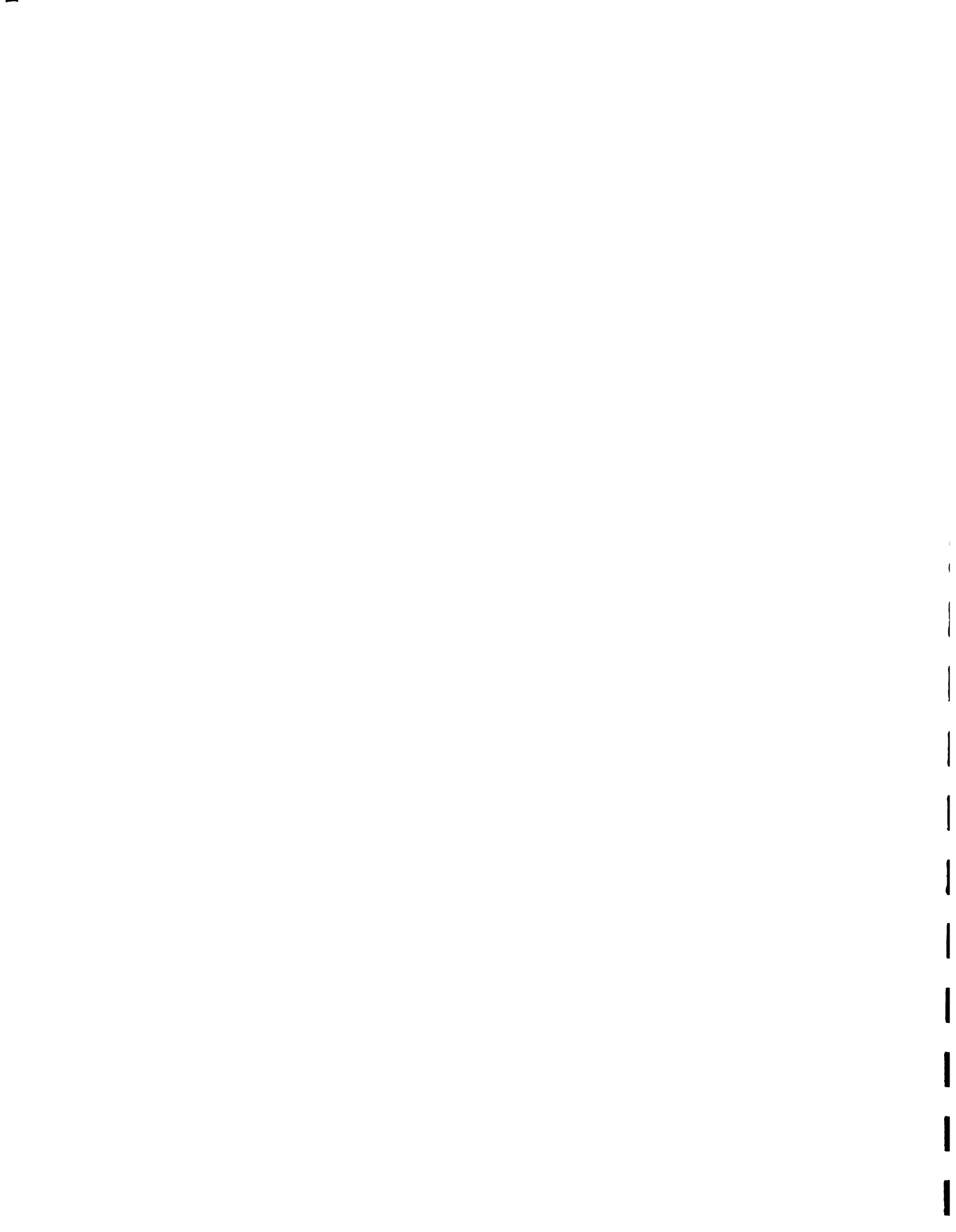
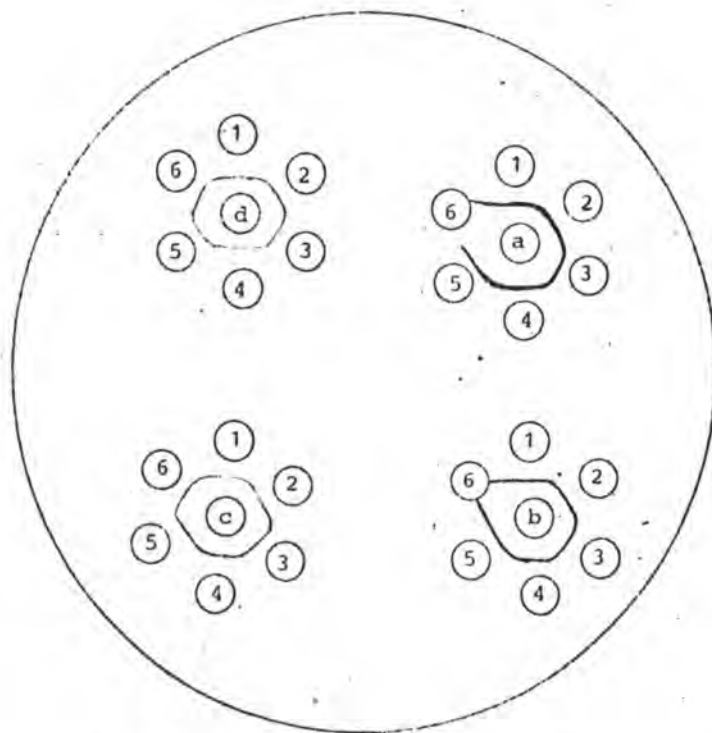


Figura 1. TITULACION DE ANTIGENO (Ag) Y SUERO CONTROL
POSITIVO (SCP) PARA LENGUA AZUL



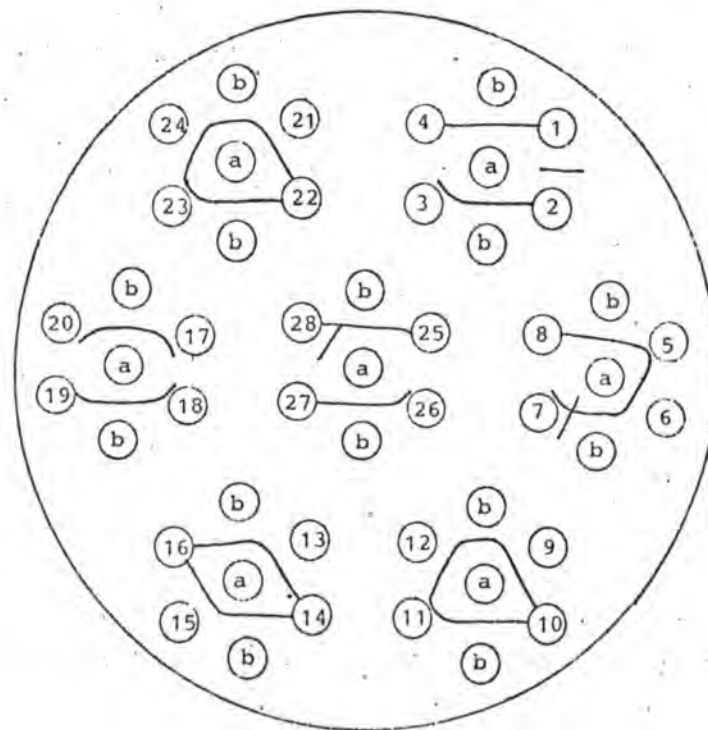
a, b, c y d = Diluciones de Ag 1:1, 1:2, 1:4 y 1:8 respectivamente.

1 y 4 = Suero positivo de referencia.

2, 3, 5 y 6 = Diluciones de SCP 1:1, 1:2, 1:4 y 1:8 respectivamente.

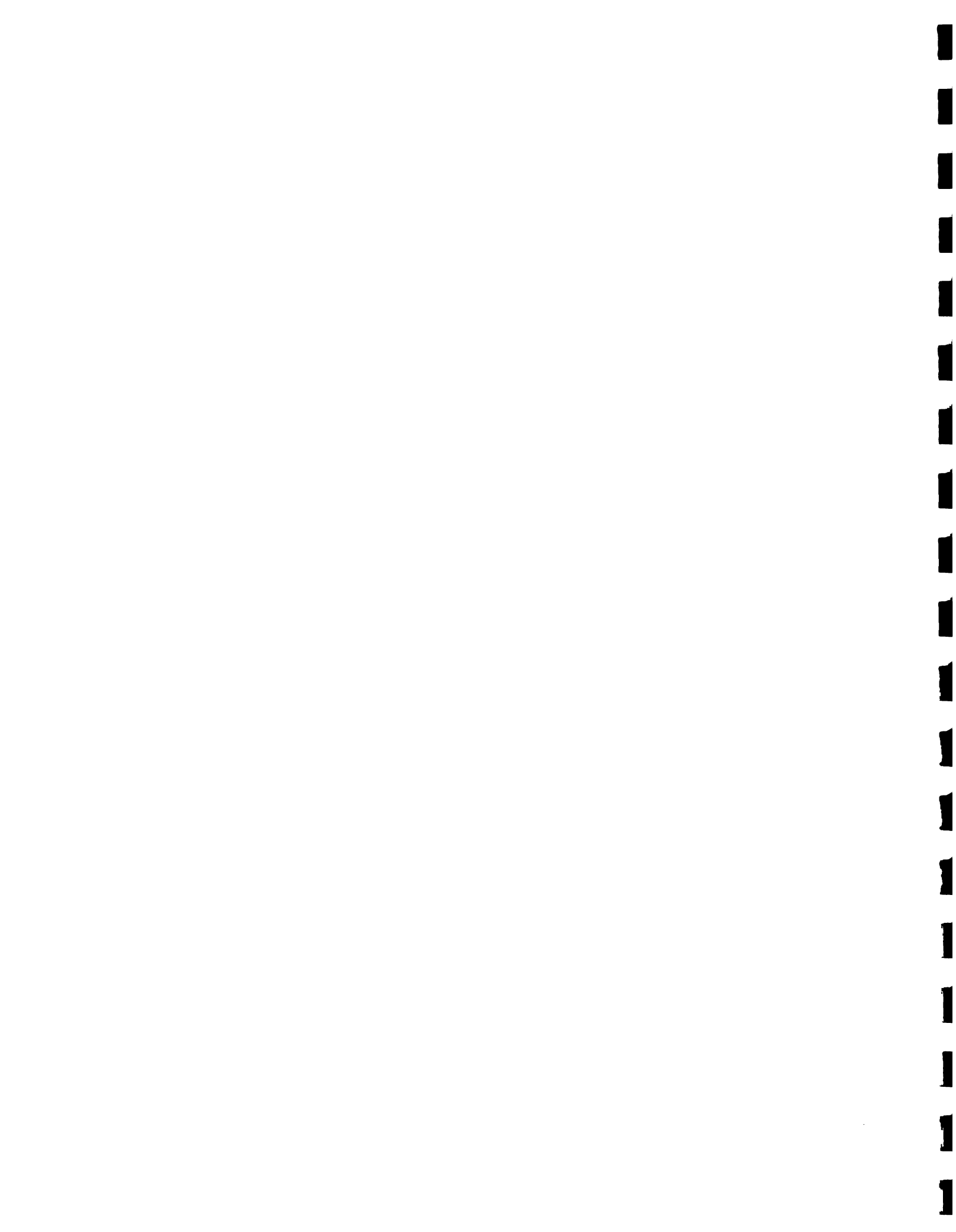


Figura 2: DISTRIBUCION DE SUEROS A SER ANALIZADOS, Ag Y SCP
EN UNA PLACA DE PETRI Y REACCION DE LOS MISMOS



a y b = Ag y SCP respectivamente

1 a 28 = Sueros en estudio



Cuadro 1

INTERPRETACION DE LAS REACCIONES PROPORCIONADAS POR LOS SUEROS
ANALIZADOS EN LA FIGURA 2

Nº Suero	Resultado	Nº Suero	Resultado
1	-	15	++
2	-	16	-
3	+	17	+
4	-	18	+
5	+	19	?
6	++	20	+
7	+	21	++
8	-	22	-
9	++	23	+
10	-	24	++
11	+	25	?
12	++	26	+
13	++	27	-
14	-	28	-

- negativo + positivo ++ positivo intenso ? dudoso

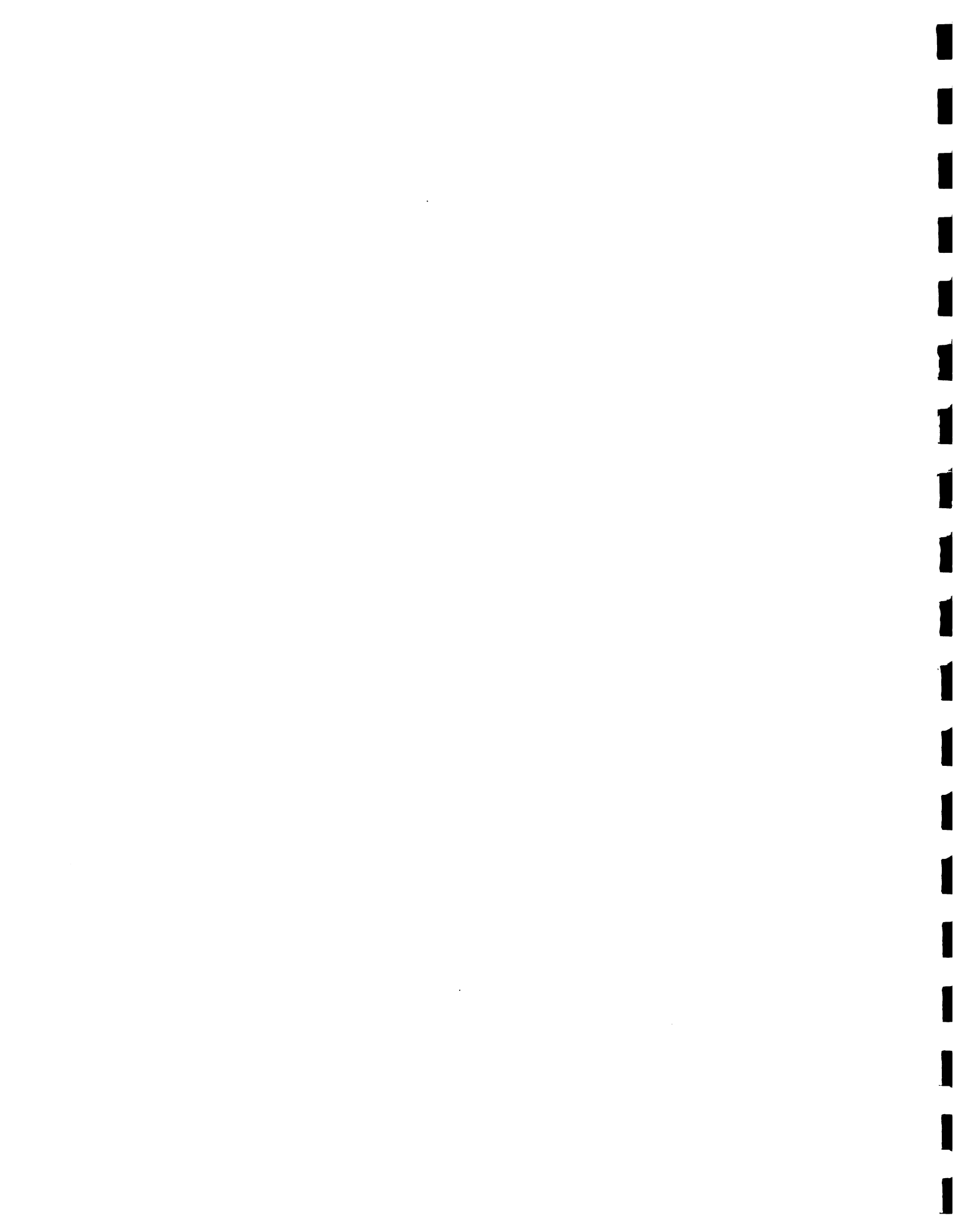
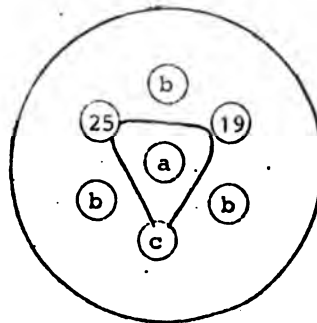


Figura 3: ANALISIS DE SUEROS QUE PROPORCIONARON RESULTADOS DUDOSOS
EN LA PRUEBA MOSTRADA EN LA FIGURA 2 (SUEROS Nº 19 Y 25)

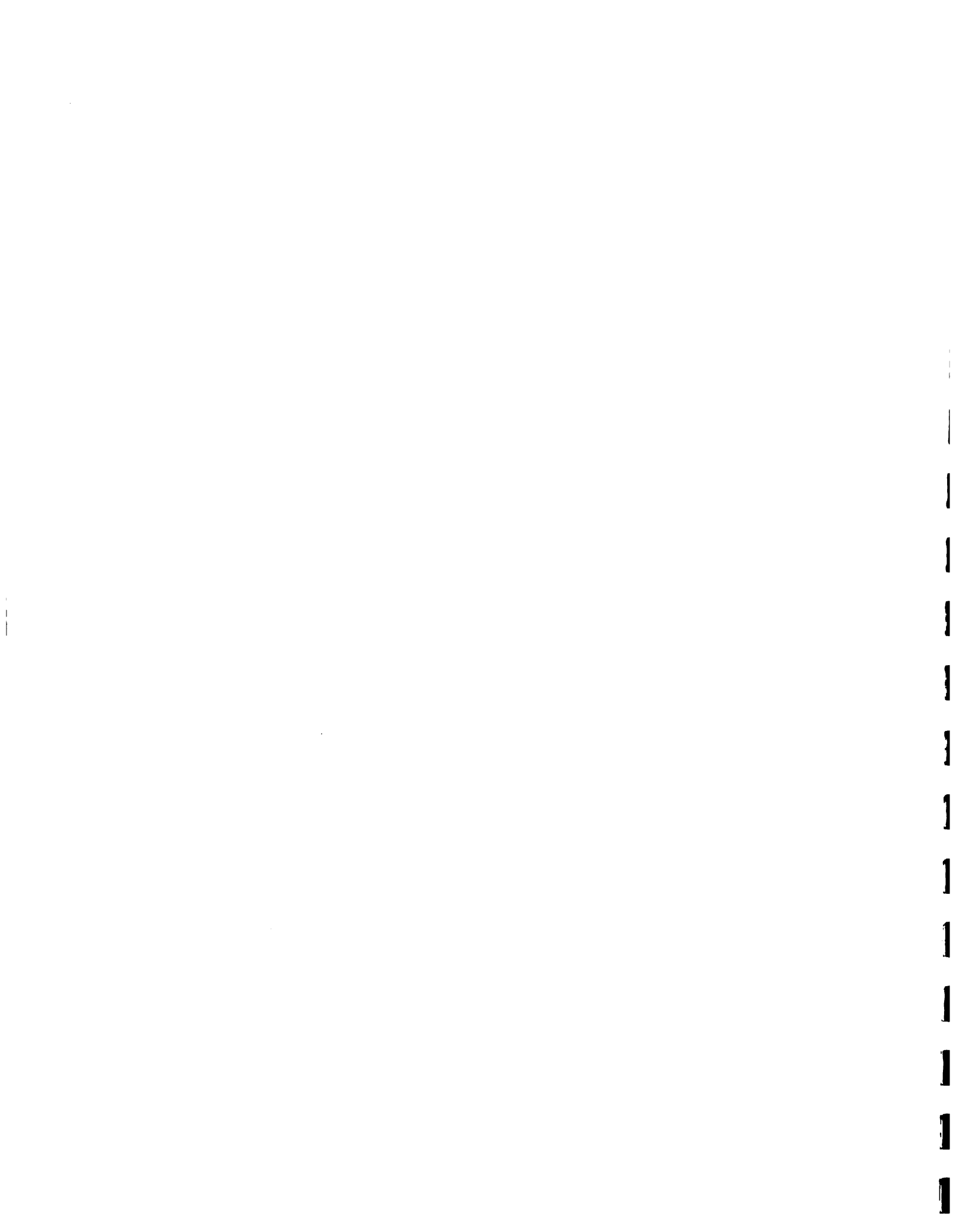


a y b = Ag y SCP respectivamente.

C = Suero control negativo

19 y 25 = Sueros en estudio (19 + y 25?)

Pedir nueva muestra suero nº 25



**DIAGNOSTICO DE LENGUA AZUL
SEMINARIO TALLER
CAMPINAS BRASIL 12-16 DIC 1988**

**AISLAMIENTO Y
CARACTERIZACION DEL
VIRUS DE LENGUA AZUL**



SEMINARIO/TALLER DE LENGUA AZUL

CONCLUSIONES

1. El virus de la Lengua Azul y en general los orbivirus es un grupo importante que esta siendo estudiado intensivamente a nivel molecular, patogenia, lesiones, inmunologia, distribucion y epidemiologia generandose anualmente mucha información de interés para los especialistas.

2. El antígeno preparado para inmunodifusión en gel de agar por LARA Campinas y el CPFA ha demostrado en las pruebas experimentales y durante este seminario taller una buena correlación con aquellos producidos por otros laboratorios de referencia y comerciales estando en posibilidades de substituirlos.

3. Las condiciones de instalaciones y personal de LARA Campinas, así como la situación epidemiologica de L.A. en Brasil favorecen su establecimiento como centro de referencia necesitandose de un esfuerzo conjunto regional para suplir las necesidades que se generen.

4. Los estudios serológicos y epidemiológicos en la Región Sur han sido esporádicos, empíricos y no representativos, generandose problemas de desinformación que afectan el transito regional de animales.

SEMINARIO/TALLER DE LENGUA AZUL

RECOMENDACIONES

El grupo de especialistas en Lengua Azul de la Region Sur aqui reunido recomienda a los Paises y Organismos Internacionales que:

1. El I.I.C.A. mantenga su servicio de actualización bibliografica e intercambio periodico de información entre los técnicos e instituciones de la Region Sur interesados en Lengua Azul.
2. Se consolide el uso de la prueba de inmunodifusión con antígeno producido en la región y siguiendo el protocolo establecido en este Seminario taller como prueba oficial para el transito de animales apoyado por el CPFA y el IICA.
3. Se establezca en un plazo no mayor de 3 años el laboratorio Regional de Referencia en Lengua Azul en el LARA Campinas con producción de reactivos, aislamiento, seroneutralización y las pruebas necesarias elaborandose un cronograma mas detallado entre LANARA, IICA y el CPFA/OPS.
4. Se hagan muestreos epidemiologicos sistemáticos, periódicos en todos los paises de la region con la asesoria y coordinación del IICA y el CPFA publicandose anualmente los resultados.
5. Se haga un reconocimiento al Dr. Michael Bedoya, Dr. J.Deak, la Dra. Gonçala Arita y colaboradores, asi como a las autoridades del Ministerio de Agricultura de Brasil y otros Organismos que apoyaron la organización de este seminario/taller por el elevado contenido técnico, la eficiencia y la atencion amigable recibida.



**DIAGNOSTICO DE LENGUA AZUL
SEMINARIO TALLER
CAMPINAS BRASIL 12-16 DIC 1988**

**DIRECTORIO DE LOS
PARTICIPANTES**

IICA - CENTRO PANAMERICANO DE FEBRE AFTOSA - LANARA
SEMINARIO/TALLER SOBRE DIAGNÓSTICO DE LINGUA AZUL

"RELAÇÃO E ENDEREÇO DOS PARTICIPANTES"

- MARIA HELENA GUARINO
Centro de Investigaciones Veterinarias
"Miguel C. Rubino" Ruta 8 km. 29 Y 1/2
Pando - Uruguay. Casilla Correos 6577

- SOFIA VOLKART CÁCERES
L.I.D.I.A.V. - San Lorenzo km. 10
Assunción - Paraguay

- IVANETE KOTAIT
Instituto Biológico de São Paulo
Av. Conselheiro Rodrigues Alves, 1252
04014 - São Paulo - SP
Tel. 572-9822 r. 198 e 215

- RICARDO MEDINA MARTINS
Inst. Pesq. Vet. "Desidério Finamor"
Cx. Postal 2076
90.001 - Porto Alegre - Rs
Tel. (0512) 80-1711

- IRENE LAGER
INTA - Castelar, Instituto de Virologia
CP. 1712 Castelar - Buenos Aires - Argentina
Tel. 621-1278/1447/1676

- ROSA DEBENEDETTI
SELAB (SENASA)
Av. Alexander Fleming, 1653
Martínez Pcia Buenos Aires - Argentina
Tel. 792-4080 al 89

- MARIA LUCIA RÁCZ

Departamento de Microbiologia

Instituto de Ciências Biomédicas - Univ. de São Paulo

Av. Prof. Lineu Prestes, 1374

05508 - São Paulo - SP

Tel. 210-4311 R. 292

- ALBINO ALONSO FERNANDEZ

Centro Panamericano de Febre Aftosa

Caixa Postal, 259

20.001 - Rio de Janeiro - RJ

- CARMEM LUCIA BREDERODES DA COSTA MAIA

LARA/Campinas

Rod. Heitor Penteado, km 3,5 - Campinas/SP

- MARIA SILVIA VICCARI GATTI

Departamento de Microbiologia e Imunologia Instituto de Biologia

Universidade de Campinas - UNICAMP

Cx. Postal 6.109 - CEP. 13.081

Campinas - SP.

- GONÇALA MARIA MARTINS ARITA

LARA/Campinas

Rod. Heitor Penteado, km 3,5 - Campinas/SP.

Cx. Postal 5538 - Tel. 52-0155 - ramal 143

- MICHAEL BEDOYA

I.I.C.A.

Cx. Postal 091070

71600 - BRASÍLIA/DF

- JOSÉ GUEDES DEAK

LARA/Campinas

Rod. Heitor Penteado, km 3,5 - Campinas/SP

Cx. Postal 5538 - Tel. 52-0155 - ramal 137



**DIAGNOSTICO DE LENGUA AZUL
SEMINARIO TALLER
CAMPINAS BRASIL 12-16 DIC 1988**

EVALUACION DEL SEMINARIO

**SEMINARIO/TALLER DE LENGUA AZUL
RESULTADOS DE LA EVALUACION**

M. Bedoya

Al final del Seminario/Taller se entregó un cuestionario para evaluar los resultados del mismo que debían responder de los participantes de manera anónima. En la primera parte se preguntó específicamente sobre los temas teóricos tratados con el objeto de saber si las metas habían sido cumplidas (ver cuestionario anexo). La quinta pregunta fue para evaluar la parte práctica del taller. Los resultados fueron los siguientes:

Pregunta	Positivo	Negativo	Sin Respuesta	Total
1 Caract. Orbivirus	7	0	0	7
2 Patog. y Distrib.	5	2	0	7
3 Aisl. Seroneut.	7	0	0	7
4 Prep. Antig.	7	0	0	7
5 Prac. Inmdif.	7	0	0	7
Total	26	2	0	28

La sexta pregunta sobre la utilidad del material didáctico utilizado para el seminario en orden de importancia mostró lo siguiente:

Seminario: Charlas, Diapositivas, Transparencias y Material Bibliográfico.

Taller: Práctica de Laboratorio, Diapositivas, Charlas, Transparencias y Material Bibliográfico.

Las sugerencias para mejorar el Seminario/Taller solicitadas en la pregunta 7 fueron las siguientes de manera resumida:

- 1 Unificar los criterios de reactivos y protocolos
- 2 Mas teoría e incluir formulas químicas en los protocolos.
- 3 Mas teoría, seguir el programa e incluir formulas de reactivos.
- 4 Ninguna
- 5 Unificar reactivos y protocolos con ejemplos de interpretación.
- 6 Repetir seminarios una vez por año en diferentes laboratorios.
- 7 Sin sugerencias para el taller pero que los países se comprometan a hacer las modificaciones para la técnica e interpretación.

Comentarios: Como se puede observar en los resultados de la evaluación el seminario cumplió con sus metas de acuerdo con los participantes que llenaron el formulario en un 93 % en términos generales y en un 71% en cuanto a patogenia y distribución. Esto probablemente se debió al hecho que el conferencista programado fue operado de emergencia no pudiendo asistir y esta parte fue preparada con muy poco tiempo. Además que un asistente por lo menos no era veterinario, ni médico, lo cual podría dificultar esta parte. Como esta era información complementaria nos parece que no fue un factor muy relevante. Las sugerencias de unificar



critérios y protocolos son el resultado de algunas diferencias entre el protocolo del CPFA y el de LARA Campinas, sin embargo se acordó que en la publicación final del Seminario se definirán claramente. Lo mismo es cierto para las fórmulas de los reactivos. En cuanto al comentario sobre seguir el programa preparado, esto se debe a que el último día el personal del Taller decidió primero hacer las lecturas finales, por temor a que se tuviese que repetir. Todas estas sugerencias las hemos tomado en cuenta para los próximos seminarios.



SEMINARIO/TALLER DE LENGUA AZUL

EVALUACION

1. Obtuvo un conocimiento general de los orbivirus especialmente el de L.A. en su estructura y características moleculares? Si__ No__

2. Obtuvo un conocimiento general sobre las lesiones, patogenia y distribución de la L.A.? Si__ No__

3. Obtuvo un conocimiento general sobre las técnicas de aislamiento, seroneutralización y otras para el diagnóstico de L.A.? Si__ No__

4. Obtuvo un conocimiento general sobre la preparación de antígeno y sueros control para la prueba de inmunodifusión de L.A.? Si__ No__

5. Obtuvo la suficiente práctica para montar e interpretar la prueba de inmunodifusión de L.A. en su laboratorio sin problema? Si__ No__

6. En orden de importancia marque la utilidad del material utilizado durante el seminario/taller:

	SEMINARIO	TALLER
Charlas _____		
Diapositivos _____		
Transparencia _____		
Material Bibliografico _____		
Practica de laboratorio _____		

7. Sugerencias para mejorar los seminarios/taller.



**DIAGNOSTICO DE LENGUA AZUL
SEMINARIO TALLER
CAMPINAS BRASIL 12-16 DIC 1988**

BIBLIOGRAFIA

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
66
67
68
69
70
71
72
73
74
75
76
77
78
79
80
81
82
83
84
85
86
87
88
89
90
91
92
93
94
95
96
97
98
99
100

AUTOR
TITULO
ORIGEN
ANO
CLAVE
IDIOMA
EDITORIAL

ABU ELZEIN E.M.E.
BT IN THE SUDAN
REVUE SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE DE I'OIE
1985 4(4) 795
SITUACION DE L.A. EN EL SUDAN
INGLES

AUTOR
TITULO
ORIGEN
ANO
CLAVE
IDIOMA
EDITORIAL

ABU ELZEIN E.M.E., TAG ELDIN M.H.
FIRST OUTBREAK SHEEP BT KHARTOUM PROV. SUDAN
REVUE SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE DE I'OIE
1985 4-3 509
REPORTE 1ER BROTE LA EN OVINOS EN SUDAN
INGLES

AUTOR
TITULO
ORIGEN
ANO
CLAVE
IDIOMA
EDITORIAL

ACHARJYO L.N., RAO A.T.
BT LIKE DISEASE SOME CAPTIVE INDIAN RUMINANTS
KERALA JOURNAL OF VETERINARY SCIENCIE (INDIA)
1986 17-2 121
REPORTE DE BT EN RUMIANTES CAUTIVOS
INGLES

AUTOR
TITULO
ORIGEN
ANO
CLAVE
IDIOMA
EDITORIAL

ADKISON M.A., STOTT J.L., OSBURN B.I.
IDENT.BT VIR. PRO-SPE. ANT.RESP.SHEEP IMMUNOBLOTI.
AMERICAN JOURNAL OF VETERINARY RESEARCH
1987 48-8 1194
IDENTIFICACION DEL VIRUS LA RESP. POR IMMUNOBLOT
INGLES

AUTOR
TITULO
ORIGEN
ANO
CLAVE
IDIOMA
EDITORIAL

ADKISON M.A., STOTT J.L., OSBURN B.I.
TEMPORAL DEV BTV PROT-SPE AB. IN SHEEP NAT. INFEC.
VETERINARY MICROBIOLOGY
1988 16-3 231
APARICION DE AB EN OVINOS DESPUES INFEC. NATURAL
INGLES

AUTOR
TITULO
ORIGEN
ANO
CLAVE
IDIOMA
EDITORIAL

AFSHAR A., THOMAS F.C., WRIGHT P.F. et al
COMPARE COMP&IND ELISA FOR DETECT BTVAB SERA&BLOOD
JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY
1987 25-9 1705
COMPARACION ELISA COMP E IND PARA AB LA SUERO YSAN
INGLES

AUTOR AFSHAR A., THOMAS F.C., WRIGTH P.F. et al
TITULO BLOCK.DOT-ELISA MONOCL AB DET AB BTV IN BOV OV.SERA
ORIGEN JOURNAL OF VIROLOGICAL METHODS
ANO 1987 18-4 271
CLAVE USO DE ELISA CON MONOCL DETECTAR AB EN BOV Y OVINO
IDIOMA INGLES
EDITORIAL

AUTOR AFSHAR, AHWAD et al
TITULO COMPA.COMPE. IND.ELISA DET.BTV AB IN SERUM & BLOOD
ORIGEN JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY
ANO 1987 1705-1710
CLAVE ESTUDIO COMPARATIVO ELISA COMPET. E INDIR. DE L.A.
IDIOMA INGLES
EDITORIAL

AUTOR AFSHAR, AHWAD et al
TITULO BLOC. DOT-ELISA US. MONO.AB DET. AB BTV BOV. & OVN
ORIGEN JOURNAL OF VIROLOGICAL METHODS
ANO 1987 271-280
CLAVE USO DEL ELISA DOT CON AB MONOCL PARA L.A. BOV Y OV
IDIOMA INLGES
EDITORIAL

AUTOR AKEY D.H., LUEDKE A.J. & JONES R.H.
TITULO SALIV.GLAND HOMOG C.VARIIP. DETECT BTV CHR.INF CAT
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 135-146
CLAVE USO DE HOMOG. G.SALIVAL CULIC AUXILIO CASOS CRONIC
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

AUTOR ANDERSON G.A., KVASNICKA W.G., HUTLINE A.R.
TITULO VIRUS SPECIF AB & CLIN DIS IN HEIFER NAT INF BTV
ORIGEN PROCEEDINGS OF ...ANNUAL MEETING - AAVLD
ANO 1985 28TH 337
CLAVE DESCRIPCION CLINICA Y AB EN BECERRA INFECT. BTV
IDIOMA INGLES
EDITORIAL

AUTOR ANDERSON G.A., STOTT J.L., GERSHWIN L.J. et al
TITULO SUB. & CLIN. BT DIS. CATTLE CLINPATH & PATH CONSID
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 103-108
CLAVE DESCRIBE CAMBIO PATOL BOV CON LA CLINICA Y SUBCLIN
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178



AUTOR ANDERSON J.
TITULO MONOCLONAL ANTIBODIES & BT VIRUS DIAGNOSIS
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 497-504
CLAVE USO DE AB MONOCLONALES PARA DIAGNOSTICO DE L.A.
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

AUTOR ANDERSON, JOHN
TITULO USE OF MONO. AB BLOCK.ELISA DET.GROUP SP.AB. BTV
ORIGEN JOURNAL OF IMMUNOLOGICAL METHODS
ANO 1984 139-149
CLAVE TECNICA ELISA BLOC PARA DETECTAR AB GRUPO DE L.A.
IDIOMA INGLES
EDITORIAL

AUTOR BABU Y.H.
TITULO HAEMATOLOGICAL STUDIES OF BT DISEASE IN SHEEP
ORIGEN INDIAN VETERINARY JOURNAL
ANO 1985 62-10 828
CLAVE CAMBIOS HEMATOLOGICOS EN OVINOS CON L.A.
IDIOMA INGLES
EDITORIAL

AUTOR BARBER T.L. & COLLISSON E.W.
TITULO EPIDEM IMPLIC OF GENETIC VARIATIONS OF BTV & EHDV
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 597-606
CLAVE SIGNIFICADO EPIDEM DE VARIACION GENET.VIR LA Y EEH
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

AUTOR BARZILAI E. & SHIMSHONY A.
TITULO BT:VIRO. & EPIDEMIOLOGICAL OBSERVATIONS IN ISRAEL
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 545-554
CLAVE OBSERVACIONES COMPORTAMIENTO DE L.A. EN ISRAEL
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

AUTOR BITTLE J.L.
TITULO RECENT TRENDS IN VETERINARY VACCINES
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 621-626
CLAVE DISCUSION GENERAL SOBRE VACUNAS PARA L.A.
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178



AUTOR BLUE, JACK et al
TITULO THE USE OF PASSIVE HEMAGGLUTINATION DETEC. BT AB
ORIGEN AMERICAN JOURNAL OF VETERINARY RESEARCH
ANO 1974 35 139-142
CLAVE TECNICA DE HEMAGLUTINACION PASIVA PARA L.A.
IDIOMA INGLES
EDITORIAL AMERICAN JOURNAL OF VETERINARY RESEARCH

AUTOR BOORMAN J.
TITULO REARING C. OBSOLETUS ON AGAR CULTURES OF NEMATODES
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 229-232
CLAVE METODO DESARROLLAR C. OBSOLETUS EN AGAR DE NEMATOD
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

AUTOR BOORMAN J., JENNINGS M. MELLOR P. & WILKINDON P.
TITULO FURTHER DATA DISTRIB BIT.MIDGES S.EUROP&MED C.IMIC
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 187-190
CLAVE DESCRIPCION DISTRIB C.IMICOLA EN SUR DE EUROPA
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

AUTOR BOULANGER, P & FRANK, J.F.
TITULO SEROLOGICAL METHODS IN THE DIAGNOSIS OF BT
ORIGEN AUSTRALIAN VETERINARY JOURNAL
ANO 1975 APRIL 51
CLAVE TECNICAS SEROLOGICAS PARA EL DIAG DE L.A.
IDIOMA INGLES
EDITORIAL

AUTOR BOWEN R.A., HOWARD T.H, ELSDEN R.P. & SEIDEL G.E.
TITULO BT VIRUS & EMBRYO TRANSFER IN CATTLE
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 85-90
CLAVE SITUACION DE L.A. Y LA TRANSFERENCIA DE EMBRIONES
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

AUTOR BOWEN R.A., HOWARD T.H. & PICKETT B.W.
TITULO SEMINAL SHED. BT VIRUS EXPER. INFECTED BULLS
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 91-96
CLAVE ELIMINACION DE L.A. EN SEMEN DE TOROS INFECC. EXPER
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

AUTOR BRAVERMAN Y., BARZILAI E. FRISCH K. & RUBINA M.
TITULO BTV ISOL POOLS OF C.SPP IN ISRAEL YEARS 1981- 1983
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 191-194
CLAVE RESULTADOS AISLAM DE L.A. DE CULIC. EN ISRAEL
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

AUTOR BRAVERMAN Y., LINLEY J.R., MARCUS R., FRISH K.
TITULO SEAS.SURV.&EXP.INF.LIFE OF C.SPP ISRAEL BTV TRANSM
ORIGEN JOURNAL OF MEDICAL ENTOMOLOGY
ANO 1985 22-5 476
CLAVE CICLO ESTACIONAL C.SPP EN ISRAEL CON BT Y EN ZIBAW
IDIOMA INGLES
EDITORIAL

AUTOR BRUGERE-PICOUX J. & ELBAZ P.
TITULO MAL.CAT.FEV.CAT. LE COR.GAN.(FIE.CAT.MAL)DES BOVI.
ORIGEN RECUEIL DE MEDECINE VETERINAIRE
ANO 1985 161-12
CLAVE DESCRIPCION DE L.A. EN BOVINOS
IDIOMA FRANCES
EDITORIAL

AUTOR BULGIN M.S.
TITULO DIAGNOSIS OF LAMENESS IN SHEEP
ORIGEN THE COMPENDIUM CONTINUING EDUCATION PRAC.VETERINA.
ANO 1986 8-12 F122
CLAVE ASOCIACION DE BT CON COJERA EN OVINOS
IDIOMA INGLES
EDITORIAL

AUTOR CALLIS J.
TITULO BLUETONGUE IN THE UNITED STATES
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 37-42
CLAVE SITUACION DE L.A. EN EE UU
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

AUTOR CAMPBELL C.H.
TITULO BT: DIAGNOSTIC/ANTIGENIC INTERPRETATION
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 435-444
CLAVE INTERPRETACION DE LAB. PARA DIAG. DE L.A.
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178



AUTOR CAMPBELL C.H., BARBER T.L., KNUDSEN R.C. et al
TITULO IMMUNE RES. MICE & SHEEP TO BTV INACTIV. GAMM RAD
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 639- 648
CLAVE RESPUESTA INMUNIT RATON Y OV. VIR L.A. INACT RADIA
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

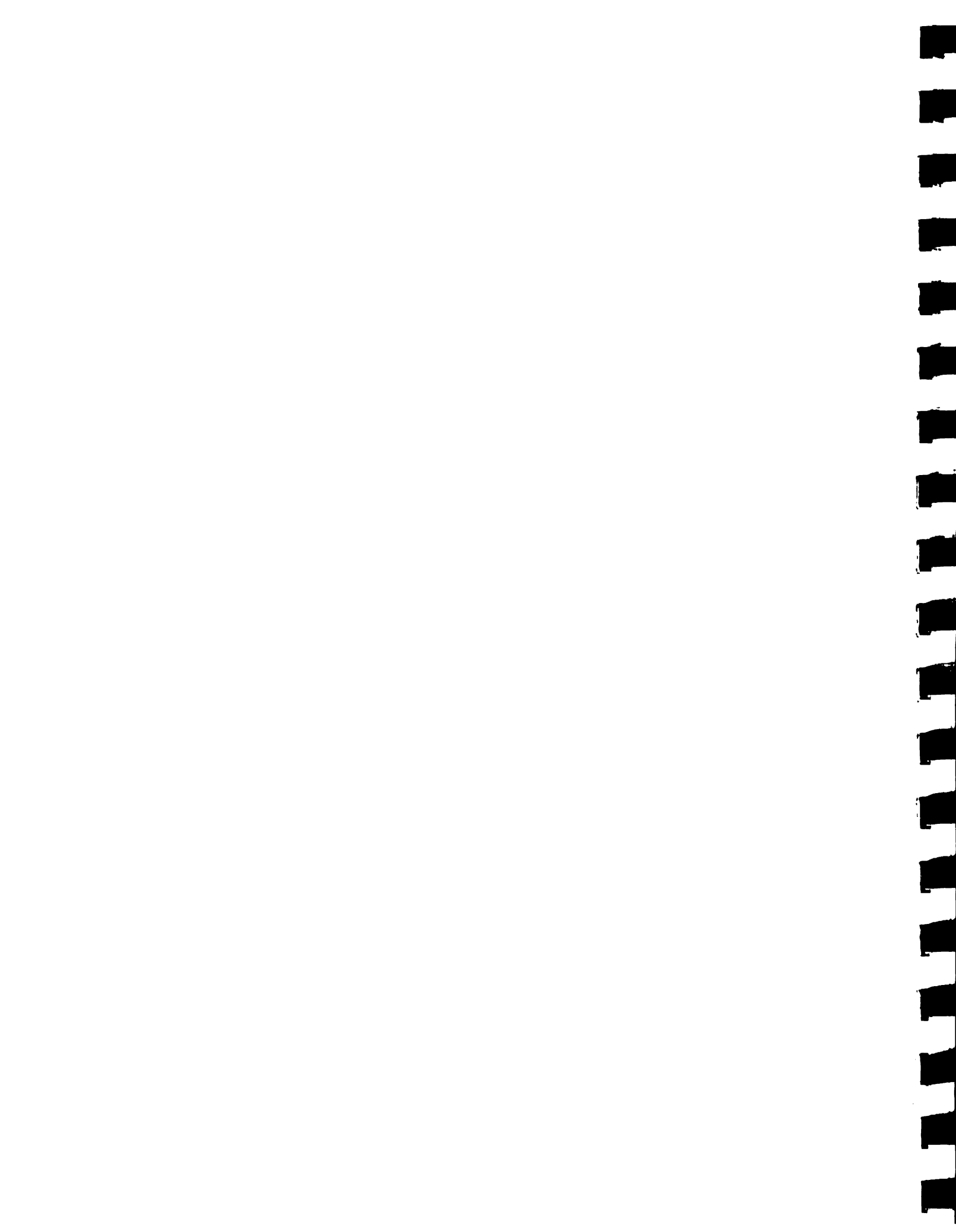
AUTOR CARRILLO C., ZURBRIGEN M.A., UROZ J.C. et al
TITULO ENCUESTA EPID. ENFERM VIR. BOV. PROV. CORRIENTES, AR
ORIGEN REVUE SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE DE L'OE
ANO 1986 5-3 731
CLAVE RESULTADOS ENCUESTA EN BOVINOS EN ARGENTINA
IDIOMA ESPANOL
EDITORIAL

AUTOR CASTRO A.E., RODGERS S.J.
TITULO CONG. ANOM. IN CATTLE ASSOC EPIDEM BTV SEROT II
ORIGEN THE BOVINE PRACTITIONER
ANO 1984 19 87-91
CLAVE DESCRIPCION ANOMALIA CONGENITAS ASOCIADAS CON L.A.
IDIOMA INGLES
EDITORIAL

AUTOR CHANDLER L.J., BALLINGER M.E., JONES R.H et al
TITULO VIROGENESIS BTV IN C. VARIIPENIS
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 245-254
CLAVE DESCRIPCION DE REPROD DE VIRUS L.A. EN CULICOIDES
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

AUTOR CHEMINEAU P., PROCUREUR R., COGNIE Y. et al
TITULO PROD. FREEZ & TRANSF EMBR BT INF GOAT HERD WITHOUT TR
ORIGEN THERIOGENOLOGY
ANO 1986 26-3 279
CLAVE TECNICA TRANSF EMBRION CABRAS INFEC SIN TRANSMIS.
IDIOMA INGLES
EDITORIAL

AUTOR CHERRINGTON J.M., GHALIB H.W., DAVIS W.C. et al
TITULO MONOAB RAISED AGAINST BTV DETECT V AG TISS IMPEROX
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 505-510
CLAVE USO INMUNOPEROXIDASA CON MONOAB PARA LA EN TEJIDO
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178



AUTOR CHERRINGTON J.M., GHALIB H.W., SAWYER H.W. et al
TITULO DETECT.VIRAG BTV-INF.OVI TISS USING PEROXANTIPEROX
ORIGEN AMERICAN JOURNAL OF VETERINARY RESEARCH
ANO 1985 46(11)2356
CLAVE TECNICA PEROXIDASA-ANTIPER PARA L.A. EN OVINOS
IDIOMA INGLES
EDITORIAL

AUTOR COLLISSON E.W. & BARBER T.L.
TITULO ISOLATION & ID. BTV SEROTYPES NEW TO THE U.S.
ORIGEN BLUËTONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 319-328
CLAVE IDENTIFICACION DE SEROTIP L.A. NUEVOS EN EEUU
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

AUTOR COWLEY J.A., GORMAN B.M.
TITULO GENE.REASSORT FOR ID OF GENOMSEG FOR BTV HEMAGGLUT
ORIGEN JOURNAL OF VIROLOGY
ANO 1987 61(7)2304
CLAVE REACOMODO GENETICO PARA IDENTIF SEGM HEMAGGLUT L.A.
IDIOMA INGLES
EDITORIAL

AUTOR COWLEY, J.A. & GORMAN, B.M.
TITULO GENETIC REASSOR. ID. GENOME SEG.COD.BTV HEMAGGLUT.
ORIGEN JOURNAL OF VIROLOGY
ANO 1987 2304-2308
CLAVE IDENTIF REACOMODO GENETICO Y GENOMAS CON HEMAGGLUT
IDIOMA INGLES
EDITORIAL

AUTOR CREMER J.K.
TITULO NEW VACCINES FOR OLD DISEASES
ORIGEN THE YEAR BOOK OF AGRICULTURE
ANO 1986 104-107
CLAVE COMENTARIOS SOBRE VACUNAS DE LENGUA AZUL
IDIOMA INGLES
EDITORIAL

AUTOR DAWSON L.J.
TITULO CONDITIONS CAUSING ABORTIONS IN CATTLE
ORIGEN AGRI-PRACTICE
ANO 1985 6(8) 7-10
CLAVE CAUSAS DE ABORTO EN BOVINOS DESCRIBIENDO L.A.
IDIOMA INGLES
EDITORIAL



AUTOR DELLA-PORTA A.J.
TITULO CLASSIFICATION ORBIVIRUS NEED SUPERGROUP OR GENERA
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 267-274
CLAVE DISCUSION SOBRE LA CLASIFICACION DE ORBIVIRUS
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

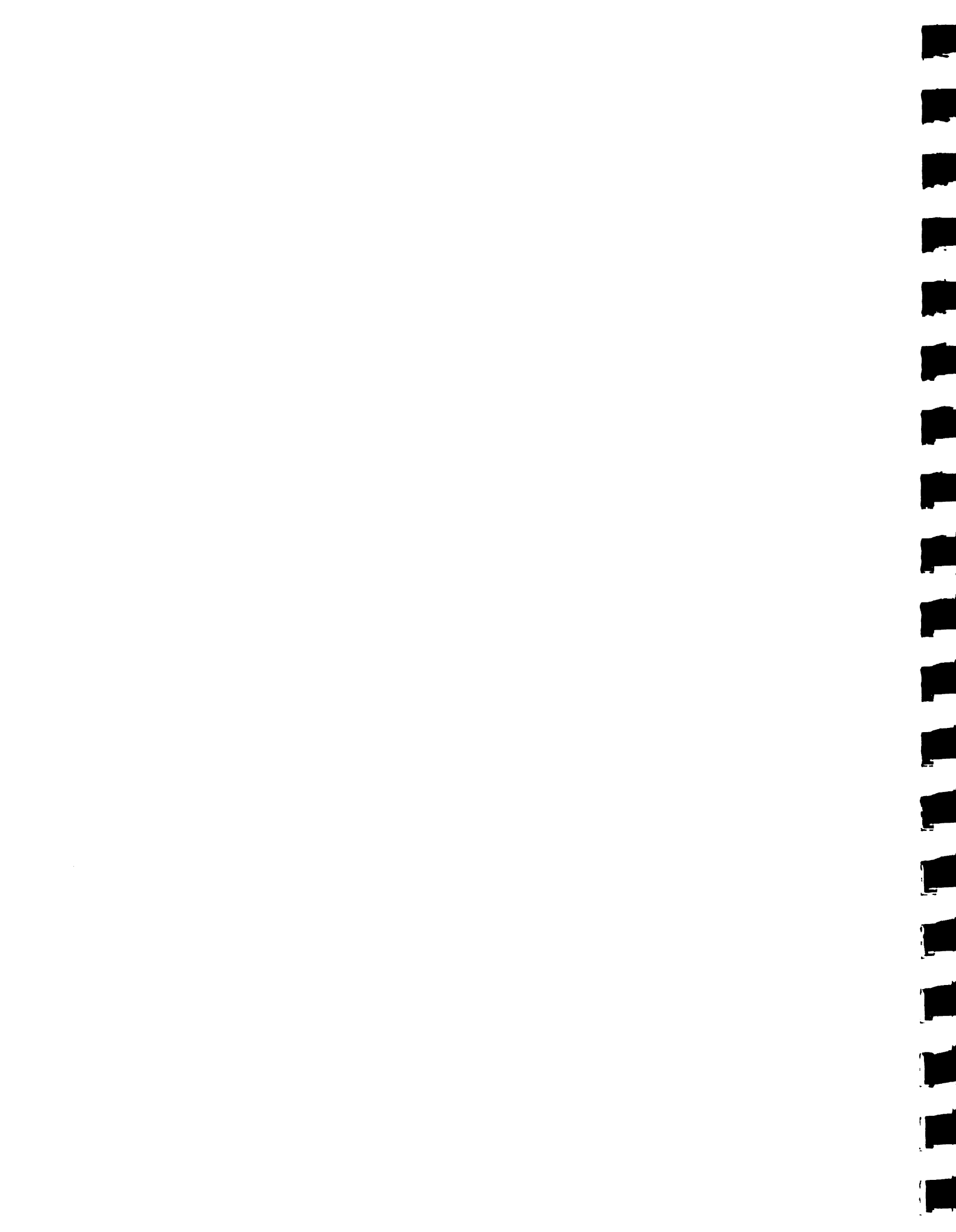
AUTOR DELLA-PORTA A.J., GOULD A.R., EATON B.T. et al
TITULO BIOCHEMICAL CHARACTERISATION OF AUSTRALIAN ORBIVIRUS
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 337-346
CLAVE IDENTIF. CARACTER DE ORBIVIRUS EN AUSTRALIA
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

AUTOR DELLA-PORTA A.J., PARSONSON I.M. & MCPHEE D.A.
TITULO PROBLEM INTERP DIAG TEST DUE CROSS-REAC ORBIVIRUS & SER
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 445-454
CLAVE REACCIONES CRUZADAS ORBIVIRUS INTERPRET SEROL
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

AUTOR DELLA-PORTA A.J., SELLERS R.F., HERNIMAN K.A. et al
TITULO SEROL STUD. AUST. & PAPUA N.G. CATTLE & SHEEP BT VAB
ORIGEN VETERINARY MICROBIOLOGY
ANO 1983 8-2 147
CLAVE ENCUESTA SEROL EN BOV Y OV AUSTR Y N GUINEA DE L.A.
IDIOMA INGLES
EDITORIAL

AUTOR DEXTER E.D.H.
TITULO THE POSITION OF THE EEC IN RELATION TO BLUETONGUE
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 43-46
CLAVE POLITICAS DE LA CEE EN RELACION A LA L.A.
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

AUTOR DICKIE C.W., FENREE S.W., SMITH M.H.
TITULO A SEROL ANALYSIS BRV-VACCINATED RANGE COWS INFECTED BY
ORIGEN VETERINARY MEDICINE
ANO 1987 82-3 306
CLAVE ESTUDIO SEROLOGICO EN VACAS INFECTED L.A. VAC BRV
IDIOMA INGLES
EDITORIAL



AUTOR	EATON B.T., HYATT A.D., WHITE J.R.
TITULO	ASSOCIATION OF BT VIRUS WITH THE CYSTOSKELETON
ORIGEN	VIROLOGY
ANO	1987 151-1 107
CLAVE	ESTUDIO MOLECULAR DE L.A. ASOC CON CITOESQUELETO
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	
AUTOR	EBWEN R.A.
TITULO	SEROLOGIC RESP.CALVES SEQU.INFEC.EHD VIRUS SEROTY.
ORIGEN	AMERICAN JOURNAL OF VETERINARY RESEARCH
ANO	1987 48-10 1449
CLAVE	RESPUESTA SEROLOGICA EN BECERROS INFEC CON EEH
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	
AUTOR	EL-GED A., ISMAIL I.M.
TITULO	USE ANTIBIOT AS AID IN ISOL BTV ON CELL CULTURE
ORIGEN	ZAGAZIG VETERINARY JOURNAL
ANO	1984 9-1 52-61
CLAVE	TECNICA PARA AISLAR L.A. CON ANTIBIOTICOS
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	
AUTOR	EMMONS R.W.
TITULO	AN OVERVIEW OF COLORADO TICK FEVER
ORIGEN	BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO	1985 1 47-52
CLAVE	DESCRIPCION DE LA FIEBRE GARRAPATA DE COLORADO
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178
AUTOR	ERASMUS B.J.
TITULO	THE HISTORY OF BLUETONGUE
ORIGEN	BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO	1985 1 7-12
CLAVE	ANTECEDENTES HISTORICOS DE LENGUA AZUL
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178
AUTOR	GHALIB H.W., CHERRINGTON J.M., ADKISON M.A. et al
TITULO	HUMORAL & CELL IMM RESP. OF SHEEP TO BTV
ORIGEN	BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO	1985 1 489-498
CLAVE	ESTUDIO RESPUESTA HUMORAL Y CELULAR OV. A L.A.
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V 178



AUTOR GHIASI H., FUKUSHO A., ESHITA Y., ROY P.
TITULO ID.&CHAR CONSERV&VARIAB REG NEUT VP2GENE OF BTV
ORIGEN VIROLOGY
ANO 1987 160(1)100
CLAVE IDENTIF Y CARACT REGIONES CONSERV Y VAR GEN VP2
IDIOMA INGLES
EDITORIAL

AUTOR GIBBS E.P.J. & GREINER E.C.
TITULO SEROL OBS EPID BTV INF. IN CARIBBEAN & FLORIDA
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 563-570
CLAVE OBSERVACIONES EPIDEM DE L.A. EN CARIBE Y FLORIDA
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V 178

AUTOR GILBERT R.O., COUBROUGH R.I., WEISS K.E.
TITULO THE TRANSMISSION BT VIR. EMBRYO TRANSFER SHEEP
ORIGEN THERIOGENOLOGY
ANO 1987 27-3 527
CLAVE DESCRIPCION DE LA TRANSM DE L.A. EN OV TRANSF EMBR
IDIOMA INGLES
EDITORIAL

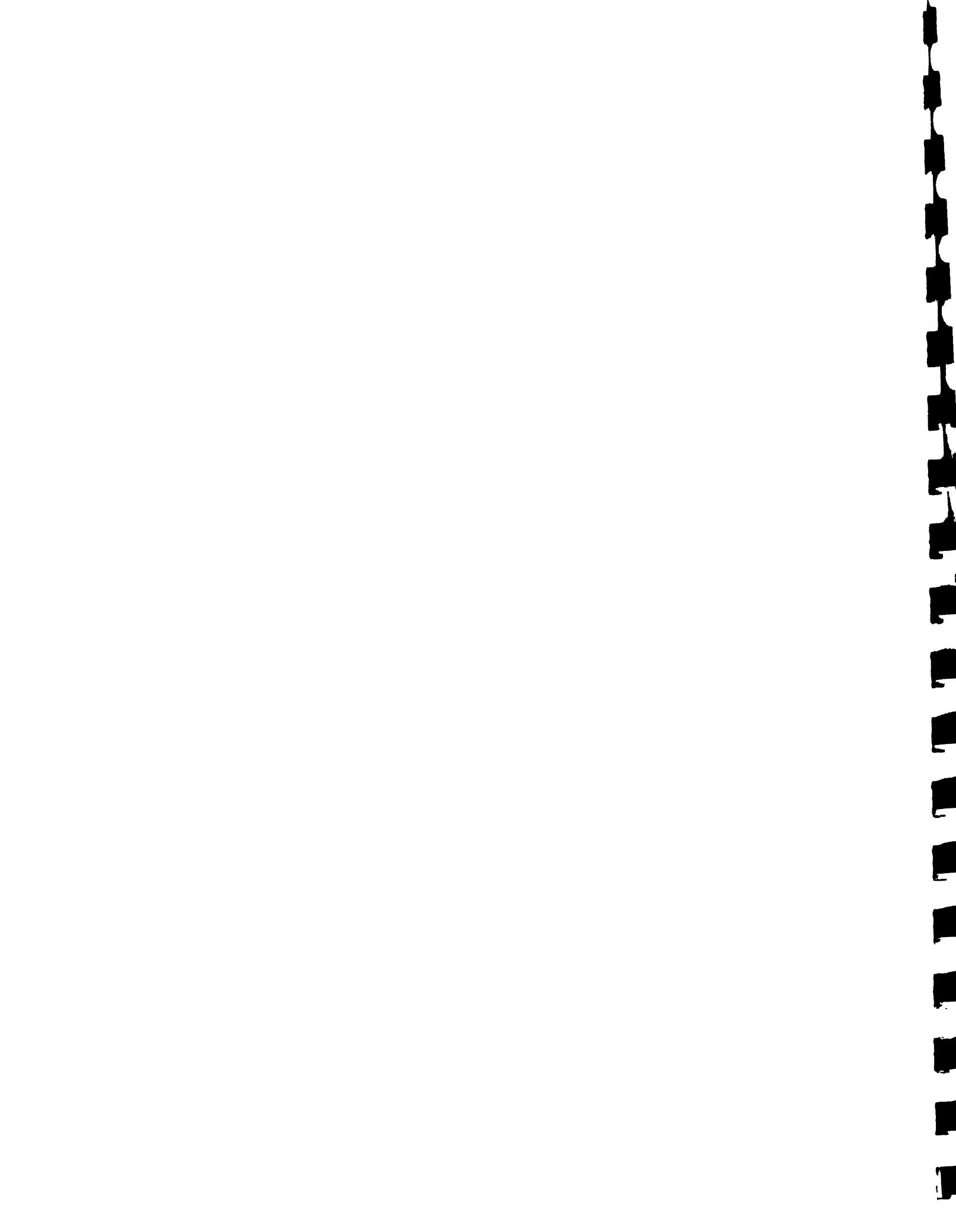
AUTOR GOLDSMIT L. & BARZILAI E.
TITULO ISOLATION & PROPAG OF BTV IN EMBRYO CHICK EGGS
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 307-318
CLAVE TECNICA AISLAM L.A. EN EMBRION DE POLLO
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

AUTOR GORMAN B.M.
TITULO SPECIATION IN ORBIVIRUSES
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 275-278
CLAVE CARACTERIZACION DE ORBIVIRUS
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

AUTOR GORMAN B.M.
TITULO MOLECULAR STRUC. BT & RELATED ORBIVIRUSES
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 329-336
CLAVE ESTUDIO DE ESTRUCTURA MOLECULAR DE L.A. Y ORBIVIR
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178



AUTOR	GORMAN B.M.
TITULO	MOLECULAR VIROLOGY; WORKING TEAM REPORT
ORIGEN	BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO	1985 1 689-697
CLAVE	ESTRUCTURA MOLECULAR DE L.A.
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178.
AUTOR	GOULD A.R.
TITULO	CONSERV&NONCON REG IN OUT COAT PROT.VP2 OF AUS BTV
ORIGEN	VIRUS RESEARCH
ANO	1988 9-2 145
CLAVE	COMPARACION VP2 SEROT 1 AUST Y SEROT 10 EEUU L.A.
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	
AUTOR	GOULD A.R., PRITCHARD L.I.
TITULO	COMPLET.NUCLEOT SEQ OF OUT COAT PROT VP5 AUS BTV-1
ORIGEN	VIRUS RESEARCH
ANO	1988 9-4 285
CLAVE	DESCRIPCION SECUENCIAS DE LA PROT VP5 DE L.A. AUST
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	
AUTOR	GREINER E.C., BARBER T.L., PEARSON J.E. et al
TITULO	ORBIVIRUSES FROM CULICOIDES IN FLORIDA
ORIGEN	BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO	1985 1 195-200
CLAVE	PRESENCIA DE ORBIVIRUS EN CULICOIDES DE FLORIDA
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178
AUTOR	GREINER E.C., RAWLINS S.C.
TITULO	CUL.SSP COLLECT NEAR RUMINANTS IN JAMAICA& REL BT
ORIGEN	JOURNAL OF AGRICULTURAL ENTOMOLOGY
ANO	1987 4-2 153
CLAVE	ASOCIACION DE L.A. Y CULIC. DE RUMIANTES EN JAMAIC
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	
AUTOR	GRIMES J.E., McCONNELL S.
TITULO	IMMUNODIF TEST AG FROM BTV-INFECT NEWBRNMICE BRAIN
ORIGEN	VETERINARY MICROBIOLOGY
ANO	1983 8-4 363
CLAVE	ANTIGENO DE L.A. DE CEREBRO DE RATON NEONATO
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	



AUTOR GUMM, I. D. and NEWMAN, J.F.E.
TITULO THE PREP. OF PURI. BTV GROUP ANT. FOR A DIAG. REA.
ORIGEN ARCHIVO VIROLOGIA
ANO 1982
CLAVE TECNICAS DE PURIFICACION DE ANTIGENOS DE VIRUS L.A
IDIOMA INGLES
EDITORIAL

AUTOR GUSTAFSON, G.A.; LANDGRAF, J.G. & PEARSON, J.E.
TITULO SERUM NEUT. TEST BT & EPIZOOTIC HEMMORHAGIC DISEA.
ORIGEN NADC, NVSL, APHIS, USDA
ANO 1985
CLAVE DESCRIPCION DE LA SERONEUT PARA L.A. Y ENF EPIZ HM
IDIOMA INGLES
EDITORIAL NADC, NVSL, APHIS, USDA

AUTOR GUSTAFSON, G.A. & PEARSON J.E.
TITULO MODIFIED DIRECT BT COMPLEMENT FIXATION TEST
ORIGEN PROTOCOL NADC
ANO 1985
CLAVE DESCRIPCION FIJ. COMPLEMENTO MODIF PARA L.A.
IDIOMA INGLES
EDITORIAL NADC

AUTOR HAFEZ S.M. & TAYLOR W.P.
TITULO SEROTYPES OF BT VIRUS PRESENT IN SAUDI ARABIA
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 531-538
CLAVE SEROTIPOS DE L.A. IDENTIFICADOS EN ARABIA SAUDITA
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

AUTOR HAGAN D.V., WIRTH W.W.
TITULO NEW DIST.RECORD CULIC SPEC FROM COASTAL GEORGIA
ORIGEN JOURNAL OF AGRICULTURAL ENTOMOMOGY
ANO 1985 2-2 207
CLAVE DISTRIBUCION DE CULIC EN LA COSTA DE GEORGIA
IDIOMA INGLES
EDITORIAL

AUTOR HOLBROOK F.R.
TITULO AN OVERVIEW OF Culicoides CONTROL
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 607-610
CLAVE TECNICAS DE CONTROL DE CULICOIDES
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178



AUTOR HOLBROOK F.R.
TITULO RES. CONTROL BT LIVESTOCK BY VECTOR SUPPRESSION
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 617-620
CLAVE CONTROL DE L.A. EN ANIMALES POR SUPRESION DEL VECT
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

AUTOR HOLBROOK F.R.
TITULO INTEGRATED DISEASE MANAGMENT; WORKING TEAM REPORT
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 705-712
CLAVE TECNICAS DE CONTROL INTEGRADO DE L.A.
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

AUTOR HOLBROOK F.R.
TITULO EXPOSURE OF C.VARIIP TO HAIR CLIP EVAL INSECT EART
ORIGEN JOURNAL OF ECONOMIC ENTOMOLOGY
ANO 1986 79-4 1127
CLAVE EVALUACION DE ARETES INSECTICIDA PARA CULICOIDES
IDIOMA INGLES
EDITORIAL

AUTOR HOLBROOK F.R.
TITULO WIND TUNNEL EVAL.ISECTICIDE APPL. TO C. VARIIPENIS
ORIGEN JOURNAL OF THE FLORIDA ANTI-MOSQUITO ASSOCIATION
ANO 1986 57(1) 1-3
CLAVE EXPERIM USANDO TUNEL VIENTO EVAL INSECTICIDA CULIC
IDIOMA INGLES
EDITORIAL

AUTOR HOMAM E.J., LORBACHER H., DONATO A. et al
TITULO BT VIRUS INFE. COSTA RICA & COLOMBIAN CATTLE
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 559-562
CLAVE REPORTE INFECCION L.A. EN BOV C.RICA Y COLOMBIA
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

AUTOR HOWARD T.H., BOWEN R.A.
TITULO BT RESEARCH AN UPDATE
ORIGEN PROC.9TH TECH.CONF.ART.INSEMINATION & REPRODUCTION
ANO 1982 37-39
CLAVE ACTUALIZACION DE L.A.
IDIOMA INGLES
EDITORIAL THE ASSOCIATION COLUMBIA USA



AUTOR HOWARD T.H., BOWEN R.A. & PICKETT B.W.
TITULO ISOLATION BT VIRUS FROM BULL SEMEN
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 127-134
CLAVE REPORTE AISLAMIENTO DE L.A. DE SEMEN DE TORO
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

AUTOR HUBSCHELE OTTO, J.B., YANG, CHENGYN
TITULO IMM. STUDIES WITH BTV USING AN ISO. CORE PROTEIN
ORIGEN PROCEEDINGS OF THE THIRD INTERNATIONAL SYMPOSIUM
ANO 1983 VOL 2
CLAVE ESTUDIO INMUNOLOGICO CON LA PROTEINA CENTRAL
IDIOMA INGLES
EDITORIAL WALD

AUTOR HUISMANS H., CLOETE M.
TITULO A COMP OF DIFF CLONED BTV GEN SEG AS PROBE DET RNA
ORIGEN VIROLOGY
ANO 1987 158-2 373
CLAVE USO DE SEG GENOMAS PARA DETECTAR RNA VIRAL
IDIOMA INGLES
EDITORIAL

AUTOR HUISMANS H., CLOETE M., LE ROUX A.
TITULO THE GENET REL OF INDIV CONGNATE GENE OF VIR BT&SER
ORIGEN VIROLOGY
ANO 1987
CLAVE ASOCIACION GENETICA DE VIRUS DE L.A.
IDIOMA INGLES
EDITORIAL

AUTOR HUISMANS H., VAN DER WALT N.T., CLOETE M. et al
TITULO ISOL CAPS PROT OF BTV THAT INDUCES PROTECT IMM RES
ORIGEN VIROLOGY
ANO 1987 157-1 172
CLAVE REPORTE PROT CAPSIDE INDUCE RESP IMMUNE PROTECTORA
IDIOMA INGLES
EDITORIAL

AUTOR HUISMANS H., VAN DER WALT N.T. & ERASMUS B.J.
TITULO IMM. RESP AGAINST PURF SEROT SPC AG OF BTV & INIT
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 347-354
CLAVE PURIFICACION AG DE L.A. E INTENTO SEPARAR EL GENE
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178



AUTOR HUISMANS H., VAN DIJK A.A., ELS H.J
TITULO UNCOAT PARENT BTV CORE & SUBCORE PART INF. L CELLS
ORIGEN VIROLOGY
ANO 1987 157-1 180
CLAVE PERDIDA CAPA DE L.A. CON PARTICULAS CORAZA CELS L
IDIOMA INGLES
EDITORIAL

AUTOR HUISMANS H., VAN KIJK A.A., BAUSKIN A.R.
TITULO IN VITRO PHOSPH&PURIF OF NOSTRUCT PROT BTV AFFIN
ORIGEN JOURNAL OF VIROLOGY
ANO 1987 61-11 3589
CLAVE PURIFICACION DE PROT DE L.A. CON AFFIN A RNA
IDIOMA INGLES
EDITORIAL

AUTOR INUMARU S., ROY P.
TITULO PRODUC & CARAC OF NEUT AG VP2 OF BTV SER 10 USING
ORIGEN VIROLOGY
ANO 1987 157-2 472
CLAVE CARACTERIZACION DEL AG VP2 SER 10 USANDO VECTOR
IDIOMA INGLES
EDITORIAL

AUTOR JAGGERS R. & ANDERSON G.
TITULO BT IN WESTERN NEBRASKA:AN AREA HERD STUDY
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 121-126
CLAVE ESTUDIO DE L.A. EN HATOS DE BOV EN NEBRASKA
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

AUTOR JAIN N.C., PRASAD G., MAHAJAN N.K.,VASUDEVAN B.
TITULO PREVALENCE BT PREC AB IN DIF DOMESTIC ANIMALS
ORIGEN INDIAN JOURNAL OF ANIMAL SCIENCES
ANO 1987 57-6 522
CLAVE ESTUDIO PREVALENCIA DE AB EN DIFERENTES ESPECIES
IDIOMA INGLES
EDITORIAL

AUTOR JEGGO M.H., WARDLEY R.C. & RROWNLIE J.
TITULO IMPORT OV. CYTOTOX T CEL IN PROTECT AGAINST BTV
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 477-488
CLAVE IMPORTANCIA DE LAS CELS T EN PROTEC CONTRA L.A.
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178



AUTOR	JENNINGS D.M, MELLOR P.S.
TITULO	THE VECTOR POTENTIAL BRITISH CULICOIDES SPE.BT VIR
ORIGEN	VETERINARY MICROBIOLOGY
ANO	1988 17-1 1-10
CLAVE	VECTORES POTENCIALES DE CULICOIDES BRITANICOS
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	
AUTOR	JESSUP D.A.
TITULO	EPID. OF 2 ORBIV. IN CALIF.NATIVE WILD RUM. PRELRE
ORIGEN	BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO	1985 1 53-66
CLAVE	EPIDEMIOLOGIA DE 2 ORBIV. EN RUMIANTES DE CALIFORN
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178
AUTOR	JOCHIM M.M.
TITULO	AN OVERVIEW OF DIAGNOSTICS FOR BLUETONGUE
ORIGEN	BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO	1985 1 423-434
CLAVE	TECNICAS DE DIAGNOSTICO PARA L.A.
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178
AUTOR	JOCHIM M.M.
TITULO	BT:REVIEW IMM RESP OF SHEEP&CATTLE TO BTV INFECT
ORIGEN	BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO	1985 1 455-460
CLAVE	RESPUESTA INMUNE DE OVINOS Y BOVINOS A L.A.
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178
AUTOR	JOCHIM, M.M.
TITULO	IMPROVEMENT OF THE AGP TEST FOR BT
ORIGEN	PROCEEDINGS AMERICAN ASSOCIATION OF VET. LAB. DIAG
ANO	1976
CLAVE	DESCRIPCION TECNICA DE PRECIPITACION PARA L.A.
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	ASSOCIATION OF VETERINARY LABORATORY DIAGNOSTICI.
AUTOR	JOCHIM, M. M., CLOW, T.L.
TITULO	IMMUNODIFFUSION OF BTV
ORIGEN	AMERICAN JOURNAL OF VETERINARY RESEARCH
ANO	1969 VOL 30 N 1
CLAVE	DESCRIPCION DE LA TECNICA DE INMUNODIFUSION
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	



AUTOR JOCHIM, M.M. & JONES, S.C.
TITULO EVAL. HEMOL.GEL TEST DET. & QUANTITATION AB BTV
ORIGEN AMERICAN JOURNAL VETERINARY RESEARCH
ANO 1980 (41) No. 4
CLAVE EVALUACION DE LA PRUEBA DE HEMOL EN GEL PARA AB LA
IDIOMA INGLES
EDITORIAL

AUTOR JOHNSON J.L.,BARBER T.L.,FREY M.L.,NASON G.
TITULO SEROSURVEY SEL.PATHOG IN HUNTER KILLED PRONGHORNS
ORIGEN JOURNAL OF WILDLIFE DISEASES
ANO 1986 22(1) 87
CLAVE ESTUDIO SEROLOGICO EN RUM SILVESTRES DE NEBRASKA
IDIOMA INGLES
EDITORIAL

AUTOR JOHNSON J.L., BARBER T.L., FREY M., NASON G.
TITULO SEROL SURVEY SELEC PATH IN W/TAIL DEER&MULE DEER
ORIGEN JOURNAL OF WILDLIFE DISEASES
ANO 1986 22-4 515
CLAVE ESTUDIO SEROLOGICO DE L.A. EN VENADO DE NEBRASKA
IDIOMA INGLES
EDITORIAL

AUTOR JONES R.H.
TITULO VECTOR RESEARCH WITH THE ORBIVIRUSES
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 147-150
CLAVE ESTUDIOS SOBRE VECTORES DE LOS ORBIVIRUS
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

AUTOR JONES R.H.
TITULO METHOD PRESERV FIELD-COLLECT FLIES FOR BTV ASSAY
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 233-234
CLAVE METODOLOGIA PARA COLEC Y PRESERV MOSCAS PARA L.A.
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

AUTOR JONES R.H.
TITULO ENTOMOLOGY; WORKING TEAM REPORT
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 661-664
CLAVE ENTOMOLOGIA DE VECTORES DE L.A.
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178



AUTOR	KING B.M. & ALDERS M.A.
TITULO	MORPHO. BTV INFEC Aedes alopictus (C6/36)CELL CULT
ORIGEN	BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO	1985 1 289-294
CLAVE	ESTUDIO MORFOL DE CELULAS DE CULTIV DE AEDES
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178
AUTOR	KLINE D.L. & GREINER E.C.
TITULO	OBS LARVAL HAB. OF SUSPECT CULIC VECT BTV FLORIDA
ORIGEN	BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO	1985 1 221-228
CLAVE	OBSERVACIONES DEL HABITAT DE CULICOIDES EN FLORIDA
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178
AUTOR	KLONTZ, GEORGE W. et al
TITULO	STUD.AGAR DIF.TEC.PRE.ANT.DIR.AG BTV & REL.HON.NEU
ORIGEN	ARCHIV. VIRUSFORSCHUNG
ANO	1962 BD XII H-2
CLAVE	DESCRIPCION DE LA TECNICA INMUNODIF CON AG DE L.A.
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	
AUTOR	KNUDSON D.L. & SHOPE R.E.
TITULO	OVERVIEW OF THE ORBIVIRUSES
ORIGEN	BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO	1985 1 255-266
CLAVE	DESCRIPCION GENERAL DE LOS ORBIVIRUS
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178
AUTOR	KOCAN A.A., CASTRO A.E., SHAW M.G., ROGERS S.J
TITULO	BT & EHD WHITE-TAILED DEER OKLA:SER.EVAL. & VIR.IS
ORIGEN	AMERICAN JOURNAL OF VETERINARY RESEARCH
ANO	1987 48-7 1048
CLAVE	ESTUDIO SEROL Y VIROL DE L.A. Y EEH EN VENADOS
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	
AUTOR	KOWALIK T.K., LI J.K.K.
TITULO	THE GENE RELAT OF U.S. PROTOTYPE BTV BY RNA/RNA HY
ORIGEN	VIROLOGY
ANO	1987 158-2 276
CLAVE	RELACION GENETICA DE L.A. EN EEUU POR HIBRID RNA
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	



AUTOR KVASNICKA
TITULO REPRODUCTIVE PROBL. ASSOC WITH BTV ACTIV NEBRASKA
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 109-120
CLAVE REPORTE PROBLEMAS REPROD POR L.A. EN NEBRASKA
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

AUTOR LEFEVRE P.C., TAYLOR W.P.
TITULO SITUATION EPI.DE LA FIEVRE CAT.DU MOUTON AU SENEGA
ORIGEN REVEU D'ELEVAGE ET MEDECINE VETERINAIRE DES P.TROP
ANO 1983 36-3 241
CLAVE SITUACION DE L.A. EN EL SENEGAL
IDIOMA FRANCES
EDITORIAL

AUTOR LOOMIS E.C., BUSHNELL R.B. & OSBURN B.I.
TITULO EPIDEM STUDY OF BTV ON TEJON RANCH,CALIF VECT HOST
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 583-588
CLAVE EPIDEMIOLOGIA DE L.A. EN UN RANCHO DE CALIFORNIA
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

AUTOR LUEDKE A. J.
TITULO EFFECT BT VIRUS REPRODUCTION SHEEP & CATTLE
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 71-78
CLAVE COMENTARIOS SOBRE EFECTO L.A. EN REPROD OV Y BOV
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V.178

AUTOR LUEDKE A.J.
TITULO VIROLOGY;.WORKING TEAM REPORT
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 665-688
CLAVE SITUACION DE LA VIROLOGIA DE L.A.
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

AUTOR LUEDKE A.J., JONES R.H.
TITULO BT:DIAGNOSIS & SIGNIFICANCE IN THE BOVINE ANIMAL
ORIGEN THE BOVINE PRACTITIONER
ANO 1984 19 79-86
CLAVE SIGNIFICADO DE L.A. EN BOVINOS
IDIOMA INGLES
EDITORIAL



AUTOR LUEDKE A.J., METCALF H.E., JONES R.H., BARBER T.L.
TITULO CONGENITALLY ACQUIRED BT IN A HEIFER:A CASE REPORT
ORIGEN PROC.ANNUAL MEETING - AAVLD
ANO 1985 28 461-462
CLAVE REPORTE DE INFECCION CONGENITA L.A. EN BECERRA
IDIOMA INGLES
EDITORIAL

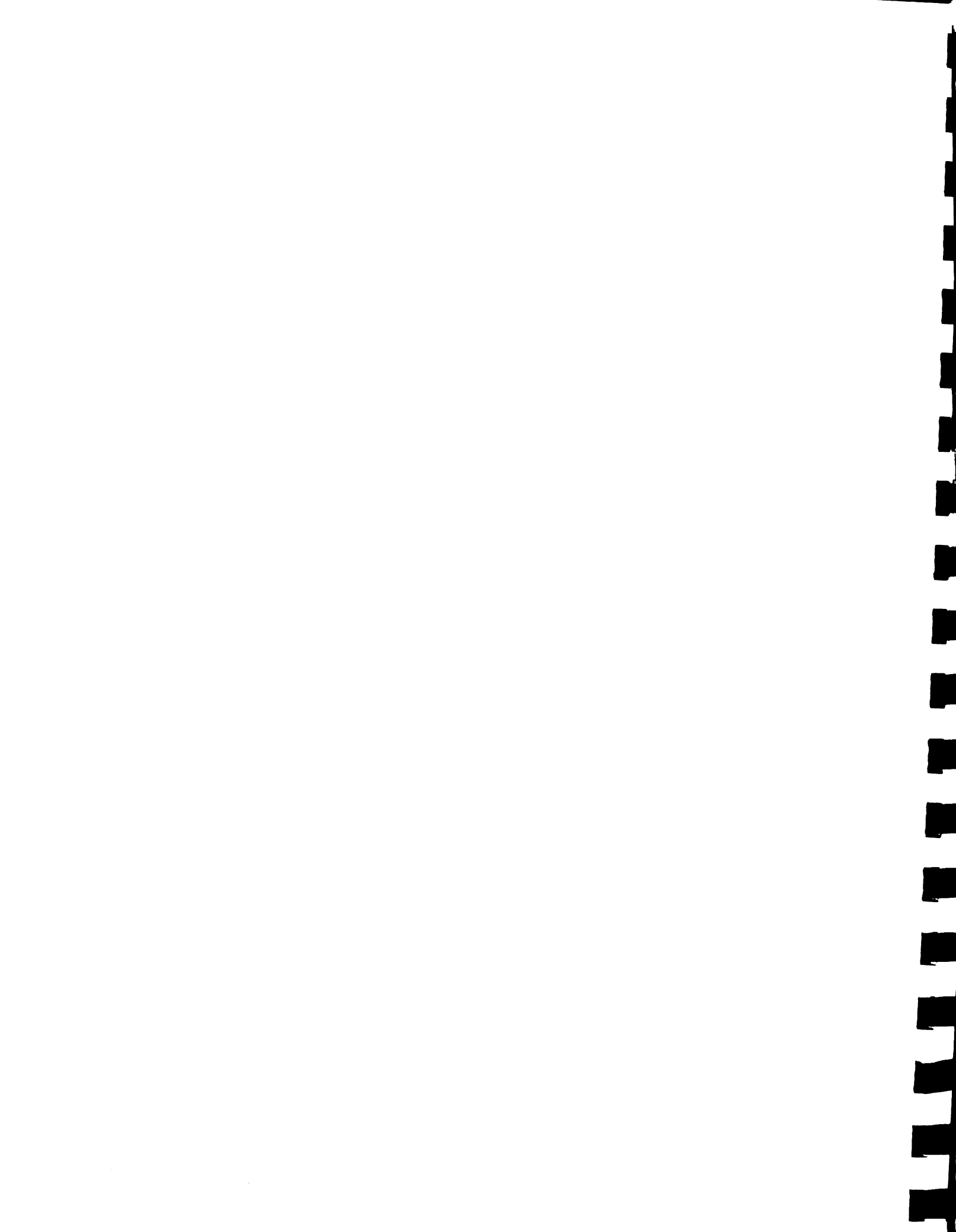
AUTOR LUNT R.A., WHITE J.R., DELLA-PORTA A.J.
TITULO STUDIES ENZ-LIN. IMM. ASSA.SERODIAG.BT & EHD DEER
ORIGEN VETERINARY MICROBIOLOGY
ANO 1988 16-4 323
CLAVE DIAGNOSTICO DE L.A. Y EEH POR ELISA EN VENADOS
IDIOMA INGLES
EDITORIAL

AUTOR MacLACHLAN N.J., HEIDER H.W., FULLER F.J.
TITULO HUMORAL IMM.RESP.CALVES BT VIRUS INFECCION
ORIGEN AMERICAN JOURNAL OF VETERINARY RESEARCH
ANO 1987 48-7 1031
CLAVE RESPUESTA HUMORAL DE BECERROS A L.A.
IDIOMA INGLES
EDITORIAL

AUTOR MacLACHLAN N.J., OSBURN B.I., GHALIB H.W. et al
TITULO BT VIRUS-INDUCED ENCEPHALOPATHY IN FETAL CATTLE
ORIGEN VETERINARY PATHOLOGY
ANO 1985 22(4) 415
CLAVE DESCRIPCION DE LA ENCEFALOPATIA EN FETO BOVINO
IDIOMA INGLES
EDITORIAL

AUTOR MACLACHLAN N. J., OSBURN B.I., STOTT J.L. et al
TITULO ORBIVIRUS INFECTION OF THE BOVINE FETUS
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 79-84
CLAVE EFECTO DE ORBIVIRUS SOBRE EL FETO BOVINO
IDIOMA INGLÉS
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

AUTOR MacLACHLAN N.J., THOMPSON J.
TITULO BT VIRUS-INDUCED INTERFERON IN CATTLE
ORIGEN AMERICAN JOURNAL OF VETERINARY RESEARCH
ANO 1985 46-6 1238
CLAVE PRODUCCION DE INTERFERON EN BOVINOS CON L.A.
IDIOMA INGLES
EDITORIAL



AUTOR	MacLAFLAN N.J. FULLER F.J.
TITULO	GENETIC STAB IN CALVS OF SINGLE STRAIN BTV
ORIGEN	AMERICAN JOURNAL OF VETERINARY RESEARCH
ANO	1986 47-4 762
CLAVE	ESTABILIDAD GENETICA DE UNA CEPA L.A. EN BECERRAS
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	
AUTOR	MAHRT C.R.; OSBURN B.I.
TITULO	EXPERIM BTV INF SHEEP EFECT VACC: CLIN & IMM STUDI
ORIGEN	AMERICAN JOURNAL OF VETERINARY RESEARCH
ANO	1986 47(6) 1191
CLAVE	ESTUDIOS CLIN E INMUN L.A. EN OV. VACUNADOS
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	
AUTOR	MARHRT C.R.; OSBURN B.I.
TITULO	EXPERIM BTV INF.SHEEP EFFCT VACCIN:PATH,IMMFL,ULTR
ORIGEN	AMERICAN JOURNAL OF VETERINARY RESEARCH
ANO	1986 47(6) 1198
CLAVE	ESTUDIOS PATOGENIA L.A. EN OVINOS VACUNADOS
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	
AUTOR	McCONNELL S., MORRILL J.C. & LIVINGSTON C.W. Jr.
TITULO	USE QUADVAL MOD LIVE BTV VAC. IN WILDLIFE SPECIES
ORIGEN	BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO	1985 1 631-638
CLAVE	USO DE VACUNA CUADRIVALENTE EN ESPECIES SILVESTRES
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178
AUTOR	MELLOR P., JENNIGS M. & BOORMAN J.
TITULO	ORAL INFECT OF CULIC W/VIR.AGEN USING FINGLASNEEDL
ORIGEN	BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO	1985 1 235-238
CLAVE	TECNICA PARA INFECTAR CULIC CON VIRUS C/AGUJA FINA.
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178
AUTOR	MERTENS P.P.C., BURROUGHS J.N., ANDERSON J.
TITULO	PURIF&PROP OF VIR PART; INF SUBVIR PART & CORES OF
ORIGEN	VIROLOGY
ANO	1987 157-2 375
CLAVE	PURIFICACION Y PROPIED DE PARTICULA Y SUB PARTICUL
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	

一、二、三、四、五、六、七、八、九、十、十一、十二、十三、十四、十五、十六、十七、十八、十九、二十、二十一、二十二、二十三、二十四、二十五、二十六、二十七、二十八、二十九、三十、三十一、三十二、三十三、三十四、三十五、三十六、三十七、三十八、三十九、四十、四十一、四十二、四十三、四十四、四十五、四十六、四十七、四十八、四十九、五十、五十一、五十二、五十三、五十四、五十五、五十六、五十七、五十八、五十九、六十、六十一、六十二、六十三、六十四、六十五、六十六、六十七、六十八、六十九、七十、七十一、七十二、七十三、七十四、七十五、七十六、七十七、七十八、七十九、八十、八十一、八十二、八十三、八十四、八十五、八十六、八十七、八十八、八十九、九十、九十一、九十二、九十三、九十四、九十五、九十六、九十七、九十八、九十九、一百

AUTOR	MERTENS P.P.C., PEDLEY S., COWLEY J., BURROUGHS J.
TITULO	A COMPAR. 6 DIFF.BT VIR.ISO.CROSS-HYB.DSRNA SEGME.
ORIGEN	VIROLOGY
ANO	1987 161-2 438
CLAVE	ESTUDIO COMPARATIVO DE L.A. HIBRID CRUZADA
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	
AUTOR	MERTNES P.P.C & SANGAR D.V.
TITULO	ANALYSES TERM.SQU.GENO. SEG. FOUR ORBIVIRUSES
ORIGEN	BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO	1985 1 371-388
CLAVE	ESTUDIO SECUENCIA GENOM DE CUATRO ORBIVIRUS
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178
AUTOR	METCALF H.E.
TITULO	EPIDEMIOLOGY OF ORBIVIRUSES
ORIGEN	BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO	1985 1 515-518
CLAVE	DESCRIPCION DE LA EPIDEMIOLOGIA DE ORBIVIRUS
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178
AUTOR	MILLIPORE
TITULO	MILLIPORE CATALOGUE & PURCHASING GUIDE
ORIGEN	MILLIPORE COORPORATION
ANO	1975
CLAVE	CATALOGO DE MATERIAL FABRICADO POR MILLIPORE
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	MILLIPORE COORPORATION REDFORD MASSACHUSSETTS
AUTOR	MIURA Y., INABA Y., TSUDA T., TOKUHISA S. et al
TITULO	SEROEPIZOOTIOLOGICAL SURVEY BTV.INF.CATTLE JAPAN
ORIGEN	NATIONAL INSTITUTE OF ANIMAL HEALTH QUARTERLY
ANO	1982 22-4 154
CLAVE	ESTUDIO SEROEPID DE L.A. EN BOV EN JAPON
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	
AUTOR	MORRILL J.C. & McCONNELL S.
TITULO	AN E.M. STUDY OF BLOOD CELLS FROM CALVS EX INF BTV
ORIGEN	BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO	1985 1 279-288
CLAVE	MICROS ELECT. DE CELS SANG BECERROS INFEC EXPERIM
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

AUTOR MULHERN F.A.
TITULO INTERNATIONAL IMPACT; WORKING TEAM REPORT
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 713-714
CLAVE IMPACTO INTERNACIONAL DE L.A.
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

AUTOR MULHERN F. J.
TITULO ECON. IMP. OF BT AND REL. ORB: WEST. HEMISPHERE
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 21-26
CLAVE IMPACTO ECONOMICO DE L.A. & ORBIV EN OCCIDENTE
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

AUTOR MULLEN G.R., HAYES M.E. & NUSBAUM K.E.
TITULO POTEN.VECTORS OF BTV & EHDV CATLE&WHTLDEER ALABAM
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 201-206
CLAVE ESTUDIO DE VECTORES POTENCIALES DE L.A. EN ALABAMA
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN RES V.178

AUTOR MULLEN G.R., JONES R.H., BRAVERMAN Y. et al
TITULO LAB.INFECT OF C.DEBILIPALPIS & STELLIFER WITH BTV
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 239-244
CLAVE INFECCION EXPERIM CULICOIDES CON L.A.
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

AUTOR MULLENS B.A.
TITULO SAMPLING BIAS& PROBL AGE&SURVIVE DETERM IN CULICOI
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 207-212
CLAVE DISCUSION DE PROBLEMAS DE MUESTREO DE CULICOIDES
IDIOMA IDIOMA
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

AUTOR MULLENS B.A., LII K.S.
TITULO LARVAL POPULATION DYN.CUL.VAR.SOUTHERN CALIFORNIA
ORIGEN JOURNAL OF MEDICAL ENTOMOLOGY
ANO 1987 24-5 566
CLAVE CULTIVO LARVAS Y DINAMICA DE POBLACION EN CALIF
IDIOMA INGLES
EDITORIAL



AUTOR MULLER M.J.
TITULO TRANS & INVIT EXCRET OF BTV SERO 1 BY INOC C.BREVI
ORIGEN JOURNAL OF MEDICAL ENTOMOLOGY
ANO 1987 24-2 206
CLAVE EXCRECION DE L.A. DE CULICOIDES INOCULADOS
IDIOMA INGLES
EDITORIAL

AUTOR MURPHY F.A.
TITULO ROUND TABLE DISC ON CURRENT POL REG INT MOVE ANIM
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 715-718
CLAVE CONCLUSIONES SOBRE MOVIMIENTO INTERNACIONAL ANIM
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

AUTOR OBERST R.D., STOTT J.L., BLANCHARD-CHANNELL M.et al
TITULO GENETIC REASSORTMENT BT VIR.SER 11 STRAINS BOVINE
ORIGEN VETERINARY MICORBIOLOGY
ANO 1987 15-1 11-18
CLAVE REACOMODO GENETICO DE L.A. SER 11 EN BOVINOS
IDIOMA INGLES
EDITORIAL

AUTOR ODIAWA G., BLUE J.L., TYLER D.E., SHOTTS E.B.
TITULO BT & EHD RUMINANTS IN GEORGIA: SURVEY BY SEROTEST
ORIGEN AMERICAN JOURNAL OF VETERINARY RESEARCH
ANO 1985 46-10 2193
CLAVE ENCUESTA SEROLOGICA Y VIROL EN RUMIANTES DE GEORG.
IDIOMA INGLES
EDITORIAL

AUTOR OSBURN B.I.
TITULO ROLE OF IMMUNE SYSTEM IN BT HOST-VIRAL INTERACTION
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 417-422
CLAVE IMPORTANCIA DEL SIST INMUN EN LA RELACION HUES-PAR
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

AUTOR OSBURN B.I.
TITULO IMMUNOLOGY; WORKING TEAM REPORT
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 697-698
CLAVE SITUACION DE LA INMUNOLOGIA DE L.A.
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

AUTOR	OSBURN B.I.
TITULO	APPLICATION OF BIOENGINEER TO DISEASE DIAGNOSIS
ORIGEN	GENETIC ENGIN. ANIM. AGRIC.PERS. WARREN EVANS
ANO	1986 195-205
CLAVE	USO DE BIOINGENIERIA EN EL DIAGNOSTICO
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	PLENUM PRESS
AUTOR	OZAWA Y.
TITULO	BT AND RELAT ORB: OVERVIEW OF WORLD SITUATION
ORIGEN	BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO	1985 1 13-20
CLAVE	SITUACION MUNDIAL DE BT Y ORBIVIRUS
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178
AUTOR	PARSONSON I.M.
TITULO	PATHOLOGY; WORKING TEAM REPORT
ORIGEN	BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO	1985 1 657-660
CLAVE	PATOLOGIA DE LA L.A.
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178
AUTOR	PARSONSON I.M. AND SNOWDON W.A.
TITULO	BT, EHDD & REL VIRUS: CURRENT SIT. IN AUSTRALIA
ORIGEN	BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO	1985 1 27-36
CLAVE	SITUACION DE L.A. Y ORBIV. EN AUSTRALIA
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178
AUTOR	PEARSON J.E., CARBEY E.A. & GUSTAFSON G.A.
TITULO	BT & RELATED ORBIVIRUSES DIAGNOSIS IN THE U.S.
ORIGEN	BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO	1985 1 469-476
CLAVE	TECNICAS DE DIAGNOSTICO UTILIZADAS EN EEUU
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178
AUTOR	PEARSON J.E., GUSTAFSON G.A., CARBEY E.A.
TITULO	BTV RECOMM PROCED TO QUALIF SEMEN & EMBR FREE OFBTV
ORIGEN	PROC.INT.SYMP.MICR.TEST.INT.EXC.ANIMAL GEN.MATERI.
ANO	1984 23-30
CLAVE	PROCEDIMIENTOS PARA SEMEN Y EMBRIONES LIBRES L.A.
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	MADISON, WIS(USA) AAVLD



AUTOR	PEARSON, J.E., JOCHIM, M.M.
TITULO	PROTOCOL FOR THE IMMUNODIFFUSION TEST FOR BT
ORIGEN	22nd ANNUAL PROCEEDINGS OF AAVLD
ANO	1979 463-471
CLAVE	DESCRIPCION O PROTOCOLO DE LA INMUNODIFUSION DE LA
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	AAVLD
AUTOR	POLYDOROU K.
TITULO	BT IN CYPRUS
ORIGEN	BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO	1985 1 539-544
CLAVE	SITUACION DE LA L.A. EN CHIPRE
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178
AUTOR	RAMING R.F., SAMAL S.K. & McCONNELL S.
TITULO	GEN.RNAs OF VIRUL STRAIN BTV SEROT 10, 11, 13 & 17
ORIGEN	BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO	1985 1 389-396
CLAVE	ESTUDIO DE GENOMAS DE CEPAS VIRUL SEROT10 11 13 17
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178
AUTOR	RANGER, C. ROMANINE & BROWN, GEORGE
TITULO	PROTOCOL BT/AGID
ORIGEN	NATIONAL ANIMAL DISEASE CENTER
ANO	1985
CLAVE	PROTOCOLO DE LA INMUNODIFUSION GEL PARA L.A.
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	NATIONAL ANIMAL DISEASE CENTER, APHIS, USDA
AUTOR	REEVES W.E.
TITULO	PERSPECTIVES & RECOMMENDATIONS FOR FUTURE RESEARCH
ORIGEN	BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO	1985 1 719-724
CLAVE	CONCLUSIONES SOBRE PERSPECTIVAS EN INVESTIGACION
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178
AUTOR	REYNOLDS G.E., SCMITZ J.A., MATTSON D.E. et al
TITULO	WHI. EYE CALF.SYN. IN ORE. ASS.WITH BT & EHD VIRUS
ORIGEN	BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO	1985 1 67-70
CLAVE	SINDROME DE CEGUERA EN BECERROS EN OREGON POR L.A.
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

AUTOR	RICHARDSON C., TAYLOR W.P., TERLECKI S., GIBBS E.P
TITULO	OBSERVATIONS TRANS. INFEC.BT VIRUS IN SHEEP
ORIGEN	AMERICAN JOURNAL OF VETERINARY RESEARCH
ANO	1985 46-9 1912
CLAVE	OBSERVACIONES SOBRE TRANSMISION L.A. EN OVINOS
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	
AUTOR	ROY P., PURDY M.A., PETRE J. & RAO C.D.
TITULO	CLONING & NUCL.SEQUEN. BT VIRUS GENOMES
ORIGEN	BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO	1985 1 363-370
CLAVE	ESTUDIO DE SECUENCIA NUCLEAR DE GENOMAS DE L.A.
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178
AUTOR	ROY P., SUGIYAMA K., RAO C.D., KUSARI J. et al
TITULO	MOL EPID OF TWO U.S. ORBIVIRUS: BTV & EHDV
ORIGEN	BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO	1985 1 589-596
CLAVE	EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR DE L.A. Y EEH EN EEUU
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178
AUTOR	SAMAL S.K., LIVINGSTON C.W.Jr, McCONNELL S. et al
TITULO	ANAL MIXED INF SHEEP BTV SERO 10&17 EVIDGENE REASS
ORIGEN	JOURNAL OF VIROLOGY
ANO	1987 61-4 1086
CLAVE	ANALISIS DE INFECCIONES SEROTIPOS MIXTOS EN OVINOS
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	
AUTOR	SAMAL S.K., McCONNELL S. & RAMIG R.F.
TITULO	GROWTH CARACT VIRUL & ATEN STRAIN BTV10,11,13 &17
ORIGEN	BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO	1985 1 407-412
CLAVE	CARACTERISTICAS DE CULTIVO DE CEPAS VIRUL Y ATENUA
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178
AUTOR	SAWYER M.M., GRAHAM R.R., OSBURN B.I.
TITULO	ISOLATION BT VIRUS BLOOD ONTO A MOSQUITO CELL LINE
ORIGEN	PROCEEDINGS OF...ANNUAL MEETING - AAVLD
ANO	1988 29 469-472
CLAVE	REPORTE AISLAM DE SANGRE INOC EN LINEA CELUL MOSQ
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	



AUTOR SCHULTZ R.D., RHODES P. PANANGALA V.S. & KAPROTH M.
TITULO UNUSUAL OBS. SEROL. NEG. BTV INFECTED BULLS
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 97-102
CLAVE OBSERVACIONES CLINICAS EN TOROS CON L.A. SEROL NEG
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

AUTOR SELLERS R.F.
TITULO EPIZOOTIOLOGY; WORKING TEAM REPORT
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 699-704
CLAVE SITUACION DE LA EPIZOOTIOLOGIA DE L.A.
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

AUTOR SMITH P.C., POTGIETES L.D.N., NEW J.C. et al
TITULO BT VIRUS INFECTION IN TENNESSEE CATTLE
ORIGEN TENNESSEE FARM & HOME SCIENCE
ANO 1980 115 2-5
CLAVE REPORTE DE INFECCION L.A. EN BOV DE TENNESSEE
IDIOMA INGLES
EDITORIAL

AUTOR SQUIRE K.R.E., CHUANG R.Y., CHUANG L.C. et al
TITULO MOLEC CLONING & HYB. STUD. BT VIR. SERO 17
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 355-362
CLAVE ESTUDIO MOLECULAR DE L.A. SEROTIPO 17
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

AUTOR ST. GEORGE T.D.
TITULO THE SEARCH FOR BT VIRUSES IN AUSTRALIA
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 295-306
CLAVE ESTUDIO DE LA LENGUA AZUL EN AUSTRALIA
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

AUTOR ST. GEORGE T.D.
TITULO EPIDEMIOLOGY OF BT AUSTRALIA: THE VERTEBRATE HOSTS
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 519-526
CLAVE HOSPEDADORES INTERMEDIARIOS VERTEBRADOS EN AUSTRAL
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178



AUTOR	STANDFAST H.A., DYCE A.L. & MULLER M.J.
TITULO	VECTORS OF BT VIRUS IN AUSTRALIA
ORIGEN	BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO	1985 1 177-186
CLAVE	ESTUDIO DE VECTORES DE L.A. EN AUSTRALIA
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178
AUTOR	STANDFAST H.A., MULLER M.J. & WILSON D.D.
TITULO	MORTAL IN C.BREVIARSIS FED ON CATTLE TREAT W/IVER
ORIGEN	BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO	1985 1 611-616
CLAVE	MORTALIDAD DE CULIC EN GANADO TRATADO IVERMECTINA
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178
AUTOR	STEVENS D.R., STOTT J., OSBURN B.I. et al
TITULO	POTENCY & EFF. INAC.BT VIRUS VACCINES
ORIGEN	BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO	1985 1 649-652
CLAVE	POTENCIA Y EFICACIA DE LAS VACUNAS DE L.A.
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178
AUTOR	STOTT J.L., OBERST R.D., CHANNELL M.B., OSBURN B.I.
TITULO	GENOME SEG REASSORT BETWEEN 2 SERO BTV IN NAT HOST
ORIGEN	JOURNAL OF VIROLOGY
ANO	1987 61-9 2670
CLAVE	REACOMODO GENETICO DE SEG. GENOMA DE 2 SEROT L.A.
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	
AUTOR	STOTT J.L., OSBURN B.J., BUSHNELL R. et al
TITULO	EPIZOOT STUDY OF BTV INFECT IN CALIF LIVESTOCK
ORIGEN	BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO	1985 1 571-582
CLAVE	EPIZOOTIOLOGIA DE L.A. EN CALIFORNIA
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178
AUTOR	STRATING A.
TITULO	VACCINES BT & OTHER ORBI. FROM A REGULAT VIEWPOINT
ORIGEN	BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO	1985 1 627-630
CLAVE	LEGISLACION SOBRE EL USO DE VACUNAS DE L.A.
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178



AUTOR TAMAYO R., SHOEBITZ R., ALONSO O. & WENZEL J.
TITULO FIRST REPORT OF BT ANTIBODY IN CHILE
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 555-558
CLAVE PRIMER REPORTE DE AB DE L.A. EN CHILE
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

AUTOR TAYLOR W.P. & GUMM I.D.
TITULO IS AGID TEST GROUP-SPECIFIC FOR EHD VIRUS?
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 513-514
CLAVE USO DE LA INMUNODIF PARA DIAGNOSTICO DE EEH
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

AUTOR TAYLOR W.P., GUMM I.D., GIBBS E.P.J. & HOMAN.J.
TITULO THE USE OF SEROLOGY IN BT EPIDEMIOLOGY
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 461-468
CLAVE USO E INTERPRETACION DE SEROLOGIA PARA L.A.
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

AUTOR TAYLOR W.P., SELLERS R.F., GUMM I.D. et al
TITULO BT EPIDEMIOLOGY IN THE MIDDLE EAST
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 527-531
CLAVE EPIDEMIOLOGIA DE L.A. EN EL MEDIO ORIENTE
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

AUTOR TECLAW R.F., McCONNELL S., WAGNER G.G. et al
TITULO SEROL STUDY INCID&PREVAL BT INF CATTLE MEX. STATES
ORIGEN PREVENTIVE VETERINARY MEDICINE
ANO 1985 3-5 437
CLAVE SITUACION DE L.A. EN ESTADOS DE MEXICO
IDIOMA INGLES
EDITORIAL

AUTOR THOMAS F.C.
TITULO PLAQ.NEUT CROSSREAC OF POSTINF BOV SER AMONG BTV
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 511-512
CLAVE REACCIONES CRUZADAS ENTRE VIRUS DE L.A.
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178



AUTOR THOMAS F.C. & SAMAGH B.S.
TITULO GAMMRAY SENS BT EHD & AHS VIR. & PRECIP & C'FIX AG
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 413-415
CLAVE ESTUDIO SENSIB RAYOS GAMMA DE L.A. Y PEA Y SUS AG
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

AUTOR THOMAS F.C., SINGH E.L. & HARE W.C.D.
TITULO CONTROL OF BT VIRUS SPREAD BY EMBRYO TRANSFER
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 653-656
CLAVE COMO CONTROLAR TRANSM L.A. POR TRANSFER. EMBRION
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

AUTOR VAN DER WALT, N.T.A.
TITULO HEMAGGLUTINATION INHIBITION TEST FOR BTV
ORIGEN JOURNAL OF VETERINARY RESEARCH
ANO 1980 (47) 113
CLAVE INHIBICION DE HEMAGLUTINACION PARA L.A.
IDIOMA INGLES
EDITORIAL ONDERSTEPOR

AUTOR VAUGHAN J.A. & TURNER E.C.Jr.
TITULO SPATIAL DISTRIBUTION OF IMMATURE C. VARIIPENNIS
ORIGEN BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO 1985 1 213-220
CLAVE ESTUDIO DE DISTRIBUCION ESPACIAL DE C. VARIIPENNIS
IDIOMA INGLES
EDITORIAL A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178

AUTOR VERWOERD, D.W. et al
TITULO STRUCTURE OF THE BTV VIRUS CAPSID
ORIGEN JOURNAL OF VIROLOGY
ANO 1972 783-794
CLAVE DESCRIPCION DE LA ESTRUCTURA DEL CAPSIDE DE L.A.
IDIOMA INGLES
EDITORIAL

AUTOR WALDVOGEL A.S., ANDERSON C.A., HIGGINS R.J. et al
TITULO NEUROVIRULENCE OF UC-2&UC-8 STR BTV S 11 IN NBMICE
ORIGEN VETERINARY PATHOLOGY
ANO 1987 24-5 404
CLAVE ESTUDIOS DE NEUROVIRULENCIA EN RATONES
IDIOMA INGLES
EDITORIAL



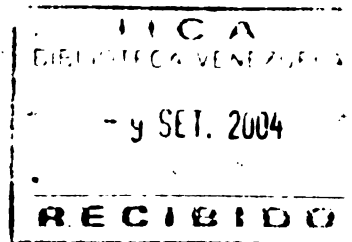
AUTOR	WALTON T.E.
TITULO	PERSPEC FUTURE COMMUN BETWEEN RESEARCH & REG AGEN
ORIGEN	BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO	1985 1 725-728
CLAVE	PERSPECTIVAS DE COMUNICACION INVESTIGAD Y AGENCIAS
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178
AUTOR	WHISTLER T., NEWMAN J.F.E
TITULO	PEPTIDE MAPPING OF GROUPSPECIF AG FROM AUST BTV-20
ORIGEN	VETERINARY MICROBIOLOGY
ANO	1986 11-1 13-24
CLAVE	MAPEO DE PEPTIDOS DE CEPAS AUSTRALIA SUDAFR Y EEUU
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	
AUTOR	WHITE J.R., BRESCHKIN A.M. & DELLA-PORTA A.J.
TITULO	IMMUNCHEM ANAL OF AUST BTV SEROT USING MONOAB
ORIGEN	BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO	1985 1 397-406
CLAVE	CARACTERIZACION INMUNOQUIM SEROT L.A. EN AUSTRALIA
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178
AUTOR	WIRTH W.W. & DYCE A.L.
TITULO	CURRENT TAXON STATUS OF CULIC VECTORS OF BTV
ORIGEN	BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO	1985 1 151-164
CLAVE	REVISION DE LA TAXONOMIA DE CULIC VETORES DE L.A.
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178
AUTOR	WIRTH W.W. & MORRIS C.
TITULO	THE TAXONOMIC COMPLEX, <i>Culicoides variipennis</i>
ORIGEN	BLUETONGUE & RELATED ORBIVIRUS BARBER JOCHIM OSBUR
ANO	1985 1 165-176
CLAVE	CLASIFICACION TAXONOMICA DE C. VARIIPENNIS
IDIOMA	INGLES
EDITORIAL	A.R. LISS. NEW YORK PROG CLIN BIOL RES V. 178



**DIAGNOSTICO DE LENGUA AZUL
SEMINARIO TALLER
CAMPINAS BRASIL 12-16 DIC 1988**

ANEXO I

BLUETONGUE/EPIZOOTIC HEMMORHAGIC DISEASE
AGAR GEL IMMUNODIFFUSION
(AGID) ANTIGEN



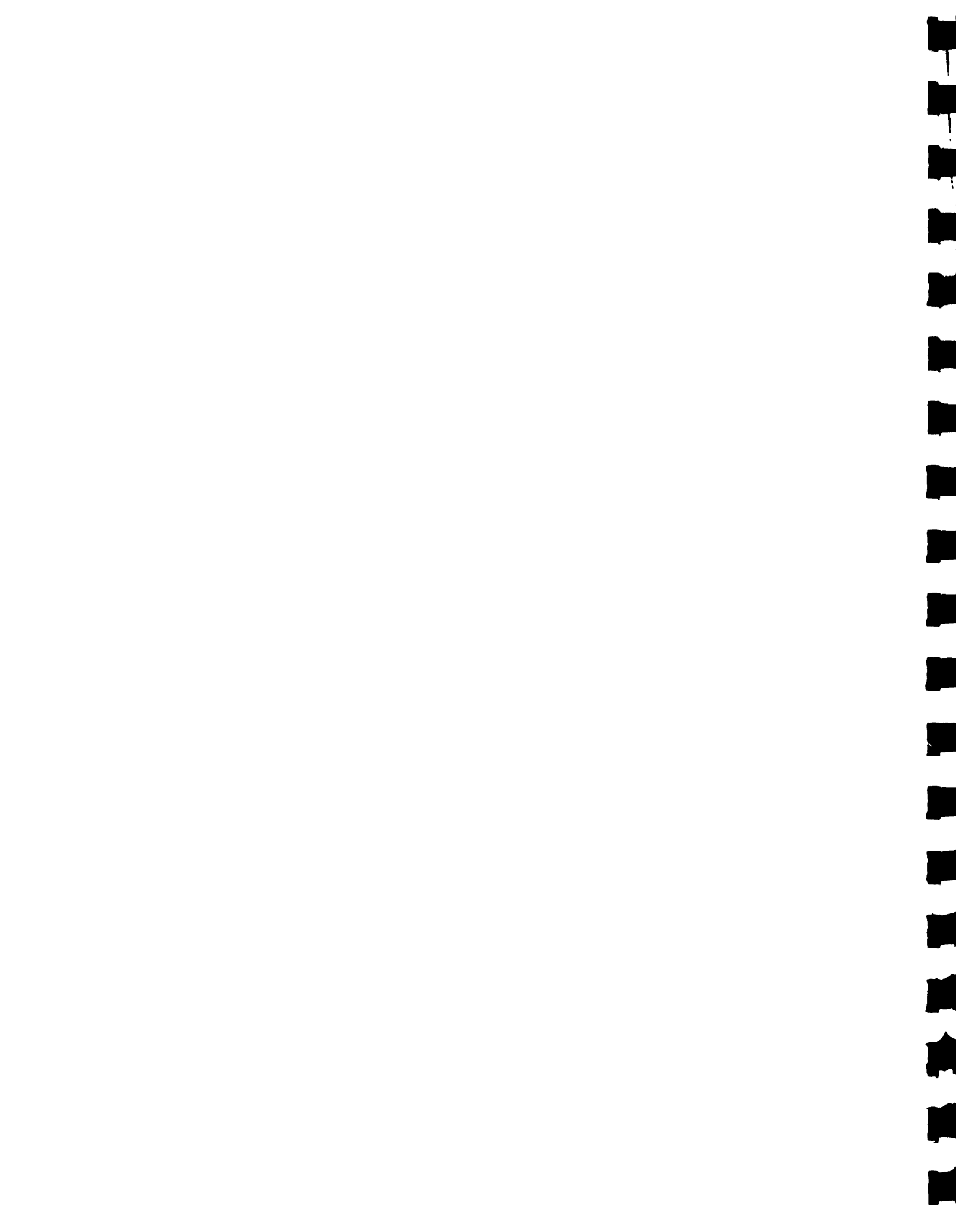
USDA, APHIS, NATIONAL VETERINARY SERVICES LABORATORIES
SCIENTIFIC SERVICES LABORATORY
REAGENTS SECTION
AMES, IOWA 50010

C. Romaine Ranger, Microbiologist
G. M. Brown, D.V.M., Head, Reagents Section

NVSL,SSL, Reagents Section Production Guide R63/94



TRADE NAMES AND/OR FIRMS ARE USED IN THIS PUBLICATION SOLELY FOR THE PURPOSE OF PROVIDING SPECIFIC INFORMATION. MENTION OF A NAME OR FIRM DOES NOT CONTAIN A GUARANTEE OR WARRANTY OF THE PRODUCT BY THE FEDERAL GOVERNMENT OR AN ENDORSEMENT BY THE GOVERNMENT OVER OTHER PRODUCTS NOT MENTIONED.



Production of Bluetongue Agar Gel Immunodiffusion (BTID) Antigen

The protocol outlined in this production guide was developed specifically for the production of bluetongue soluble antigen used in the bluetongue agar gel immunodiffusion test. These production procedures are also applicable to the production of epizootic hemorrhagic disease agar gel immunodiffusion antigen.

A. Reagents and Materials Required

1. Virus

- a. Cell culture adapted bluetongue virus (BTV) strain BT8, International type 10. B-117

2. Cell Culture Line

- a. African green monkey kidney cell line (Vero MARU).

3. Tissue Culture Medium*

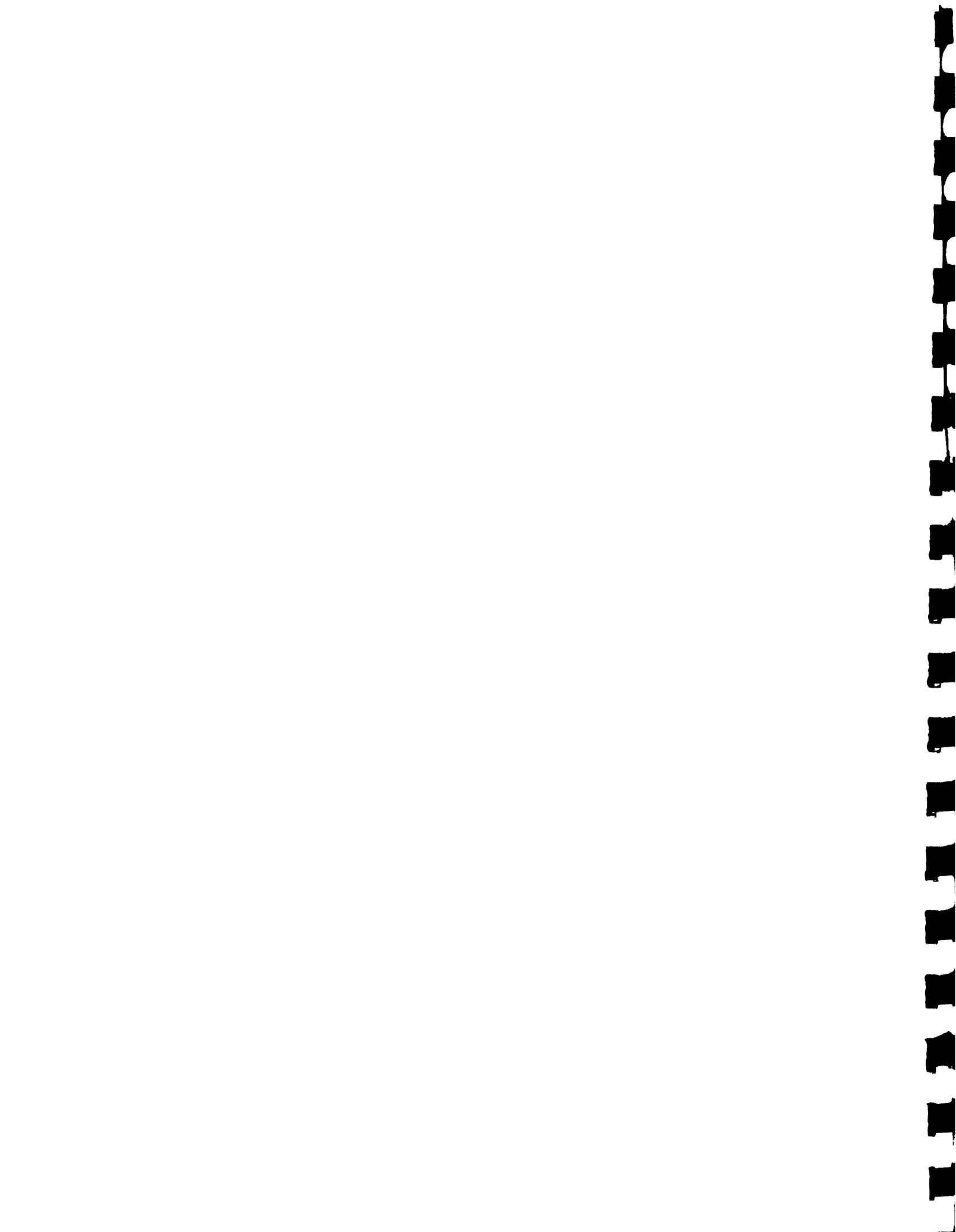
- a. Medium 199 with Earle's salts plus 50 mg gentamycin/liter.
- b. Basal Medium Eagle (BME) with Earle's salts plus 200 units penicillin, 200 micrograms streptomycin, 50 micrograms neomycin and 2 micrograms fungizone/ml.

4. Filters**

- a. Millipore prefilter type AP 25.
- b. Millipore filter type SMWP 5.0 μ m.
- c. Millipore filter type RA 1.2 μ m, LA 0.8 μ m, and HAWP 0.45 μ m.
- d. Millipore pelicon type cassette, 10,000 NMWL.
- e. Amicon ultrafiltration membrane XM 50.

* Gibco Laboratories, 3175, Staley Road, Grand Island, NY 14077

** Millipore Corporation, Bedford, MA 01730
Amicon Corporation, Lexington, MA 02173



5. Filtering Equipment*

- a. Millipore filter holder.
- b. Pelicon cassette filtering system.
- c. Amicon standard ultrafiltration stirred cell.
- d. Amicon stainless steel reservoir.
- e. Perestaltic pump.

6. Centrifuges

- a. Standard refrigerated centrifuge.
- b. Ultracentrifuge.

7. Roller Bottles**

- a. Falcon 3027 tissues culture roller bottle (850 cm², plastic, disposable).

8. Roller Apparatus

9. Serum

- a. Virus and mycoplasma screened sterile bovine serum.

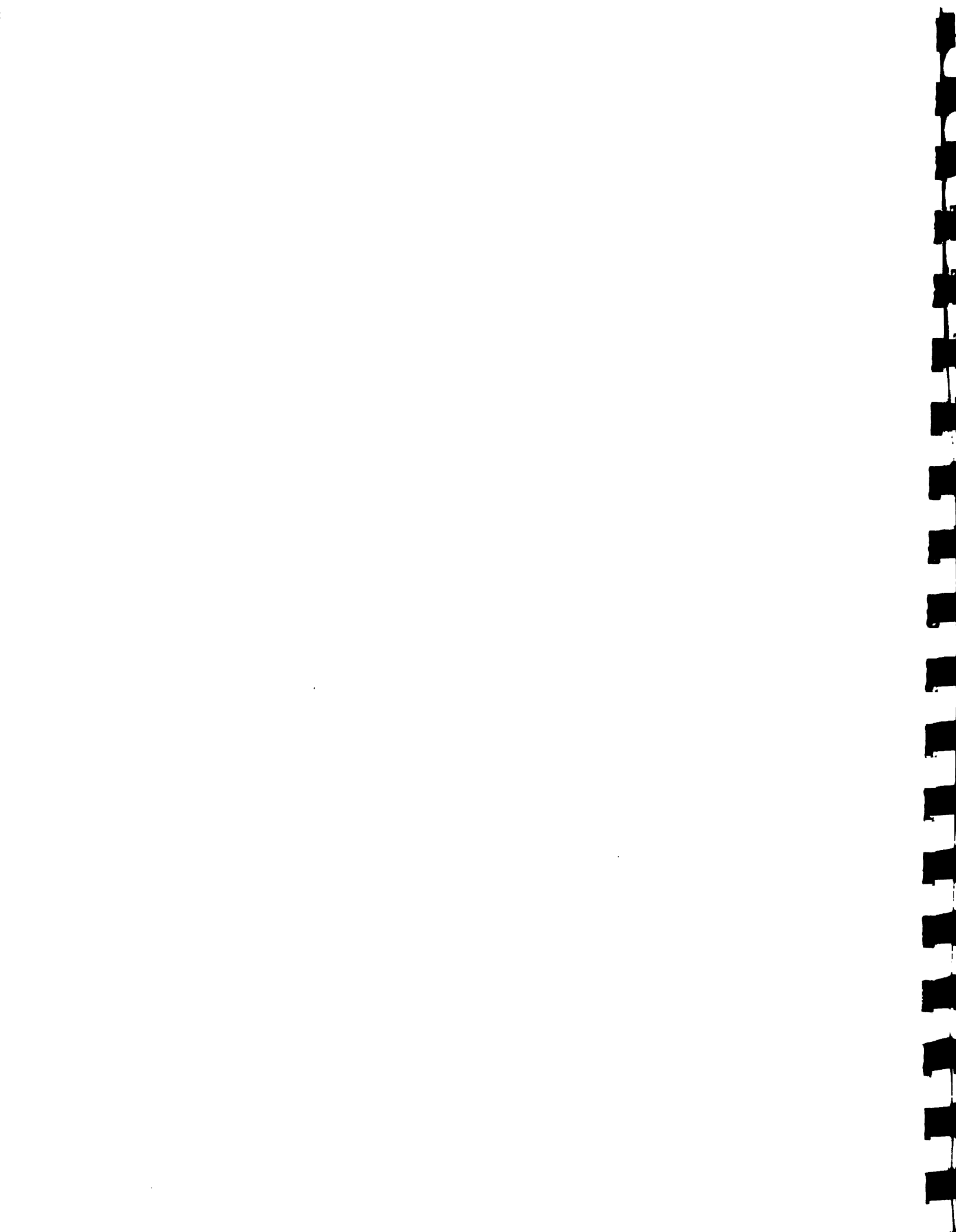
B. Preparing Bluetongue Agar Gel Immunodiffusion Antigen

1. Titer stock virus using the plaque assay technique described by Jochim et al. (1)
2. Seed each roller bottle with approximately 5×10^5 Vero MARU cells suspended in 200 ml of medium 199 with Earle's salts and enriched by the addition of 10% heated (56° C for 30 minutes) bovine serum.
 - a. Adjust the rate of the roller apparatus so that a bottle makes one revolution every 3 to 5 minutes.
 - b. Incubate roller bottles at 37° C until there is $\geq 90\%$ confluency of growth of the monolayer.

* Millipore Corporation, Bedford, MA 01730
Amicon Corporation, Lexington, MA 02173

** Becton Dickinson Labware, 1950 Williams Drive, Oxnard, CA 93030

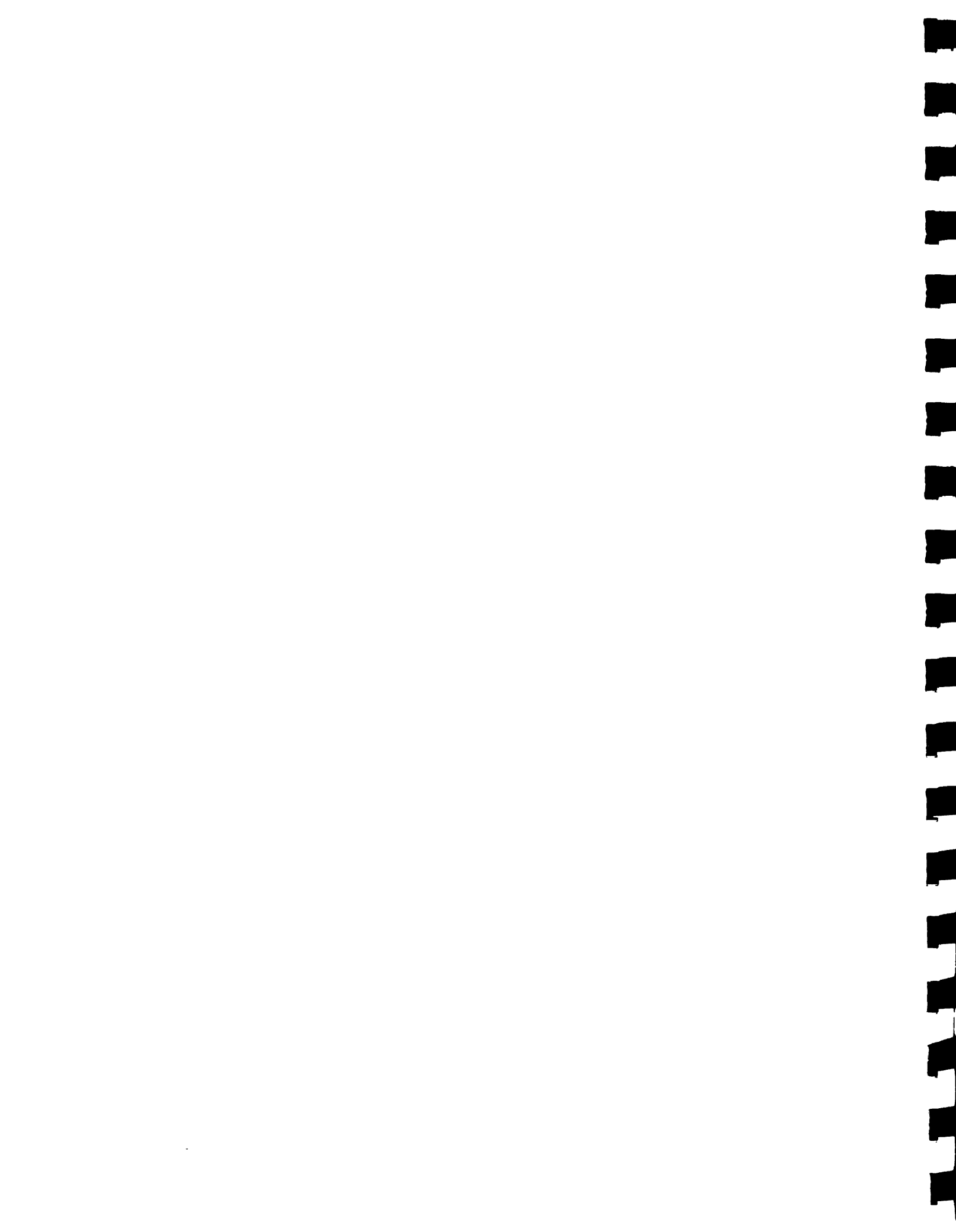
(1) Jochim, M.H. & S.C. Jones, Plaque Neutralization of Bluetongue Virus & Epizootic Hemorrhagic Disease Virus in BHK12 Cells. Am. J. Vet. Res. 37:1345-1347 (Nov 1976).



3. Pour the growth medium off the roller bottles and inoculate each bottle with approximately 2×10^5 plaque forming units of stock BTV suspended in 25 ml of BME with Earle's salts.
4. Place roller bottles in roller apparatus and rotate at a rate of one revolution every 3 to 5 minutes for 30 minutes at 37°C .
5. Add approximately 175 ml of BME with Earle's salts to each roller bottle and incubate at 37°C in a roller apparatus adjusted to a rate of approximately 1 revolution every 3 to 5 minutes.
6. Monitor the monolayer in the roller bottle for evidence of cytopathic effect (CPE) using an inverted microscope.
7. When CPE is observed in 80% or greater of the monolayer, harvest the tissue culture fluid and cells.
 - a. Shake the roller bottles vigorously to dislodge any cells still attached to the roller bottle.
 - b. Pool the harvested tissue culture fluid/cell suspension.
 - c. Adjust the fluid/cell suspension to a pH of 7.3 by the addition of bicarbonate, pH 7.5 or 1N HCL as appropriate.
 - d. Store at 4°C until sufficient antigen containing tissue culture fluid has been produced to warrant further processing.
8. Centrifuge the antigen containing tissue culture fluid and cell suspension 1300Xg for 30 minutes in a refrigerated centrifuge.
 - a. Decant and pool the supernatant fluid and add sodium azide to a final concentration of 0.1 percent.
9. Place supernatant fluid in a Amicon stainless steel reservoir.
10. Using a peristaltic pump, pass the pooled supernatant through a Millipore prefilter and then through a $5.0 \mu\text{m}$ Millipore filter.

top of 11-35

SMWY



11. Using a Pellicon cassette filtering system, concentrate the supernatant containing the antigen approximately 100 fold by ultrafiltration using a 10,000 nominal molecular weight limiting (NMWL) membrane.
12. Using an Amicon standard ultrafiltration stirred cell, concentrate the antigen another 2 fold by ultrafiltration using a 50,000 NMWL membrane.
13. Centrifuge the antigen at 200,000Xg for 90 minutes in a refrigerate ultracentrifuge. Decant and save the supernatant as antigen.
14. Filter the bluetongue immunodiffusion antigen by passing it through a prefilter (Millipore type AP), 1.2 μ m filter, 0.8 μ m filter, and a 0.45 μ m filter.
15. Add sodium azide to final concentration of 0.1%.
16. Prepare two fold dilutions of antigen using PBS, pH 7.2, and test against known positive and negative sera in the bluetongue agar immunodiffusion test to determine the optimum dilution factor of the antigen.
 - a. Dilute the antigen to optimum dilution using PBS, pH 7.2, containing 0.1% sodium azide.
17. Bottle the antigen and store at 4°C.

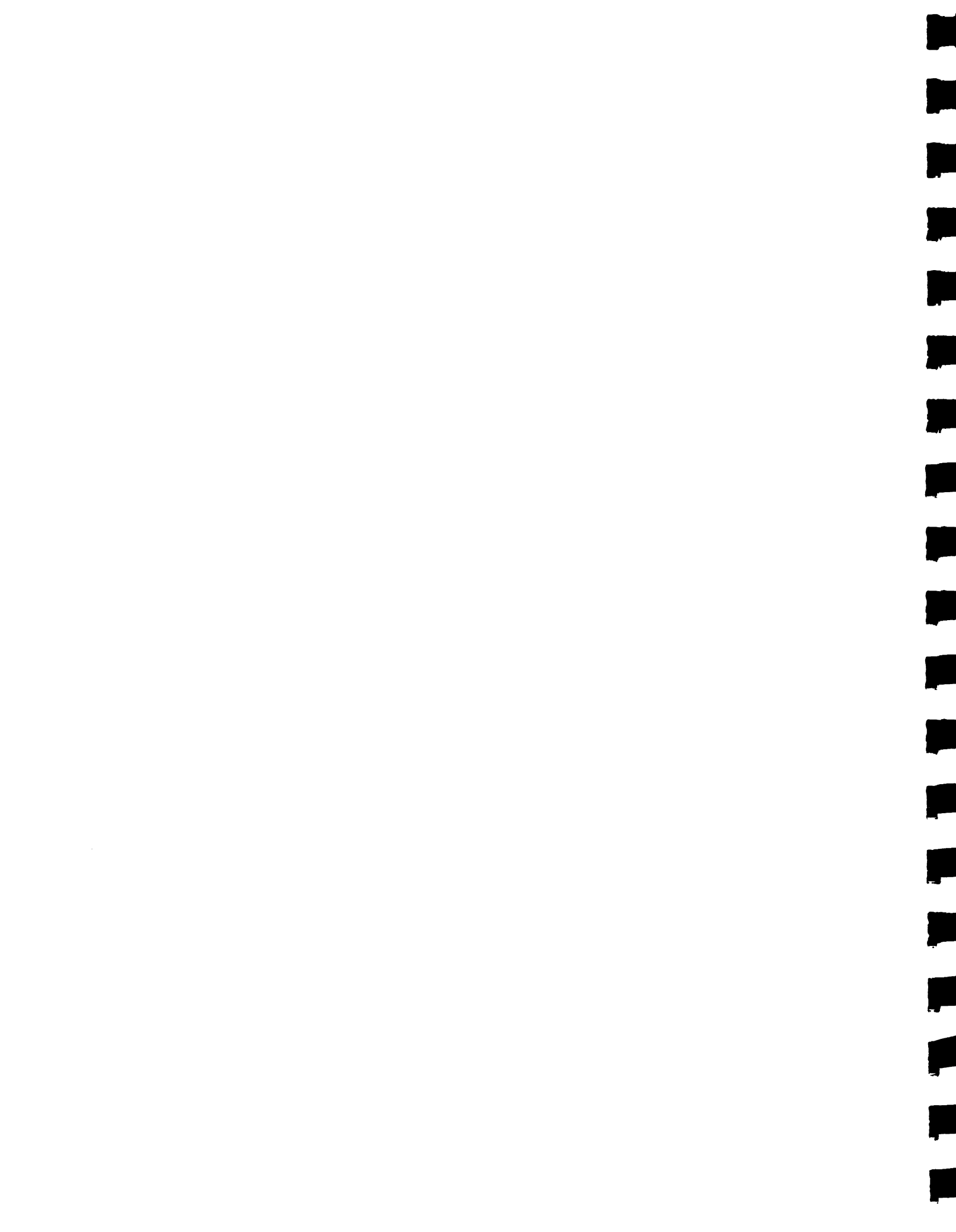


DIAGNÓSTICO DE LÍNGUA AZUL E ORBIVÍRUS RELACIONADOS NO LABORATÓRIO REGIONAL DE APOIO ANIMAL - CAMPINAS/SÃO PAULO, BRASIL.

BLUETONGUE AND RELATED ORBIVIRUSES DIAGNOSIS IN LABORATÓRIO REGIONAL DE APOIO ANIMAL - CAMPINAS/SÃO PAULO, BRAZIL

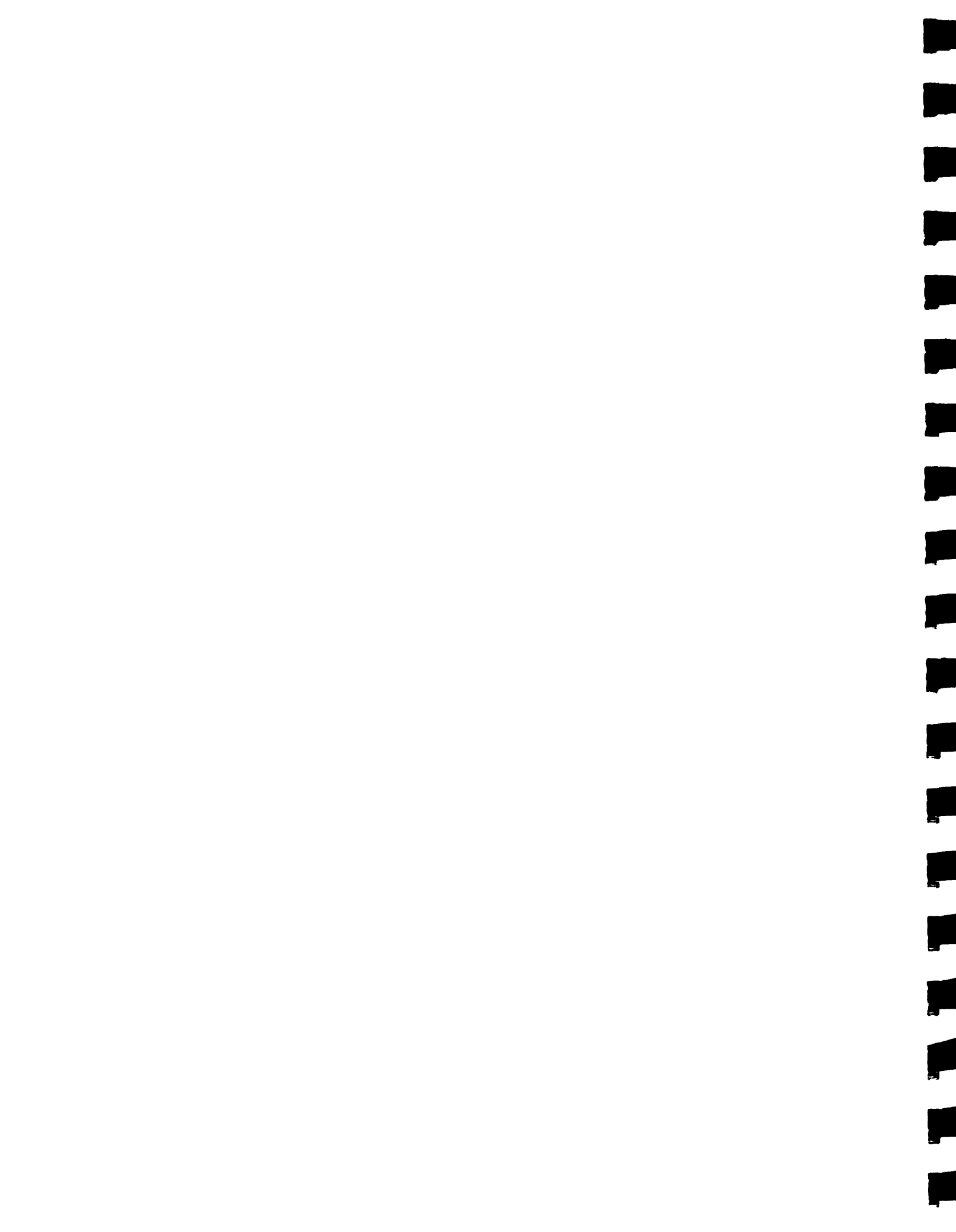
Gonçala Maria Martinh Antta & Jonô Guedes Deak
LARA/Campinas/São Paulo Cx.Postal 5538 CEP 13.100:

O LARA/Campinas desde 1983 vem realizando provas diagnósticas rotineiras através da técnica de Imunodifusão em Gel de Agar com o objetivo de detectar anticorpos em resposta à infecção pelo vírus da Língua Azul (L.A.) e Orbivírus Relacionados, utilizando antígeno grupo específico fornecido pelo "National Animal Disease Center" (NADC) ou adquirido da "Veterinary Diagnostic Technology, Inc.". Foram examinados um total de 2372 amostras de soro sanguíneo de ruminantes, sendo 1907 de bovinos, 173 de bubalinos, 158 de ovinos e 134 de caprinos provenientes dos Estados do Rio Grande do Sul, São Paulo, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Rio Grande do Norte e Ceará. Os resultados demonstraram um percentual de positividade, por espécie animal, da ordem de 37,97% em soros de bovinos, 17,34% em soros de bubalinos, 13,29% em soros de ovinos e 2,24% em soros de caprinos. Apesar de não se ter evidências clínicas significativas da doença no campo, os resultados são indicativos de atividade viral e portanto altamente preocupantes para os diferentes estados da federação estando a requerer dos profissionais em Medicina Veterinária, dos órgãos financiadores de pesquisas e principalmente das autoridades na área uma atenção maior no sentido de desenvolver estudos epidemiológicos e laboratoriais para o estabelecimento da situação real da doença no país.



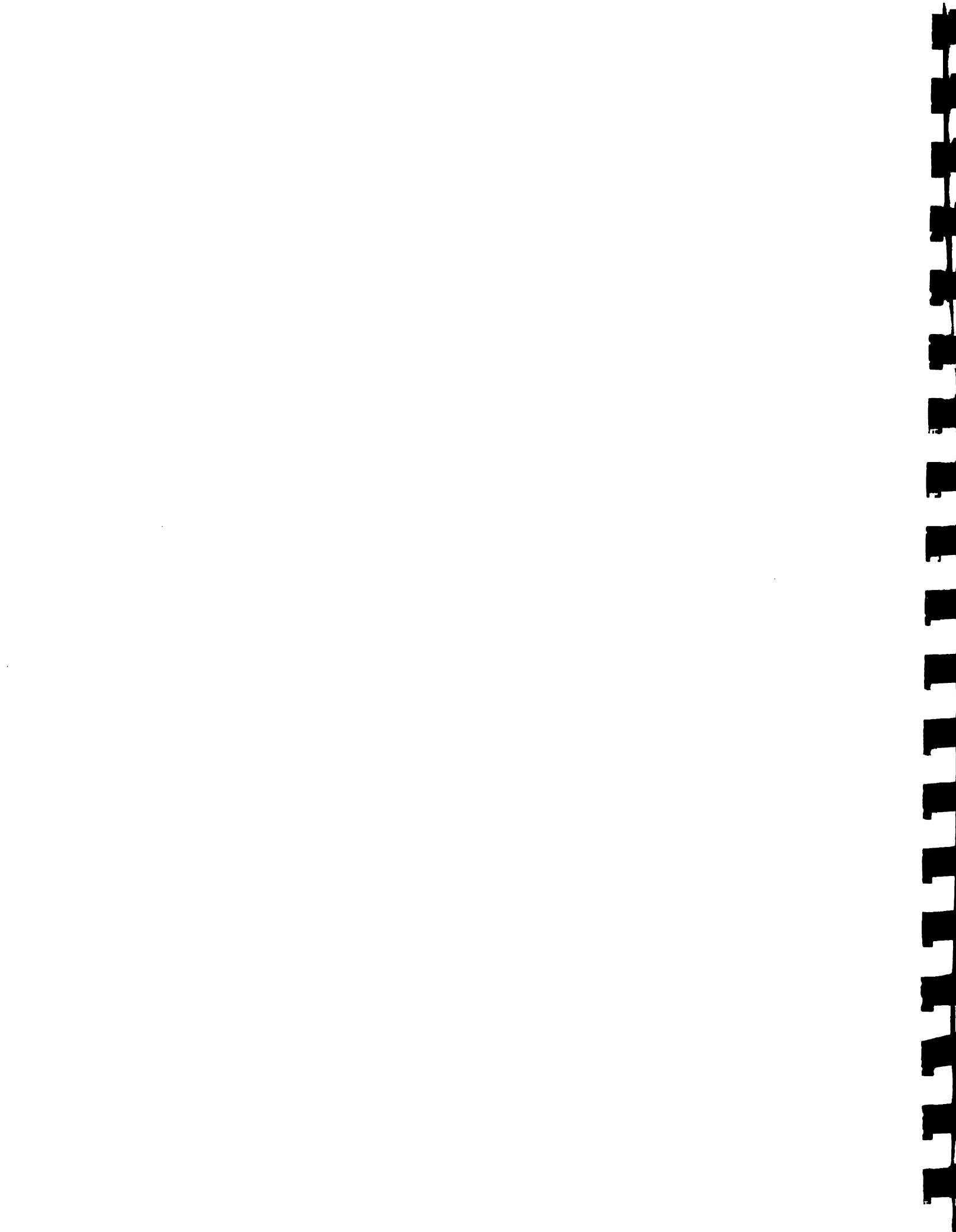
BOVINOS

ESTADO	Amostras Examinadas	Resultado		% Posi- tividade
		Positivas	Negativas	
Rio Grande do Sul	26	10	16	38,46
São Paulo	973	376	597	38,85
Matô Grosso do Sul	347	49	298	14,12
Minas Gerais	382	215	167	56,28
Cearã	179	74	105	41,34
Total	1907	724	1183	37,97



BUBALINOS

ESTADO	Amostras Examinadas	Resultado		Positi- vidade
		Positivas	Negativas	
São Paulo	111	24	87	21.62
Minas Gerais	48	03	45	6,25
Rio de Janeiro	14	03	11	21.43
TOTAL	173	30	143	17,34



OVINOS

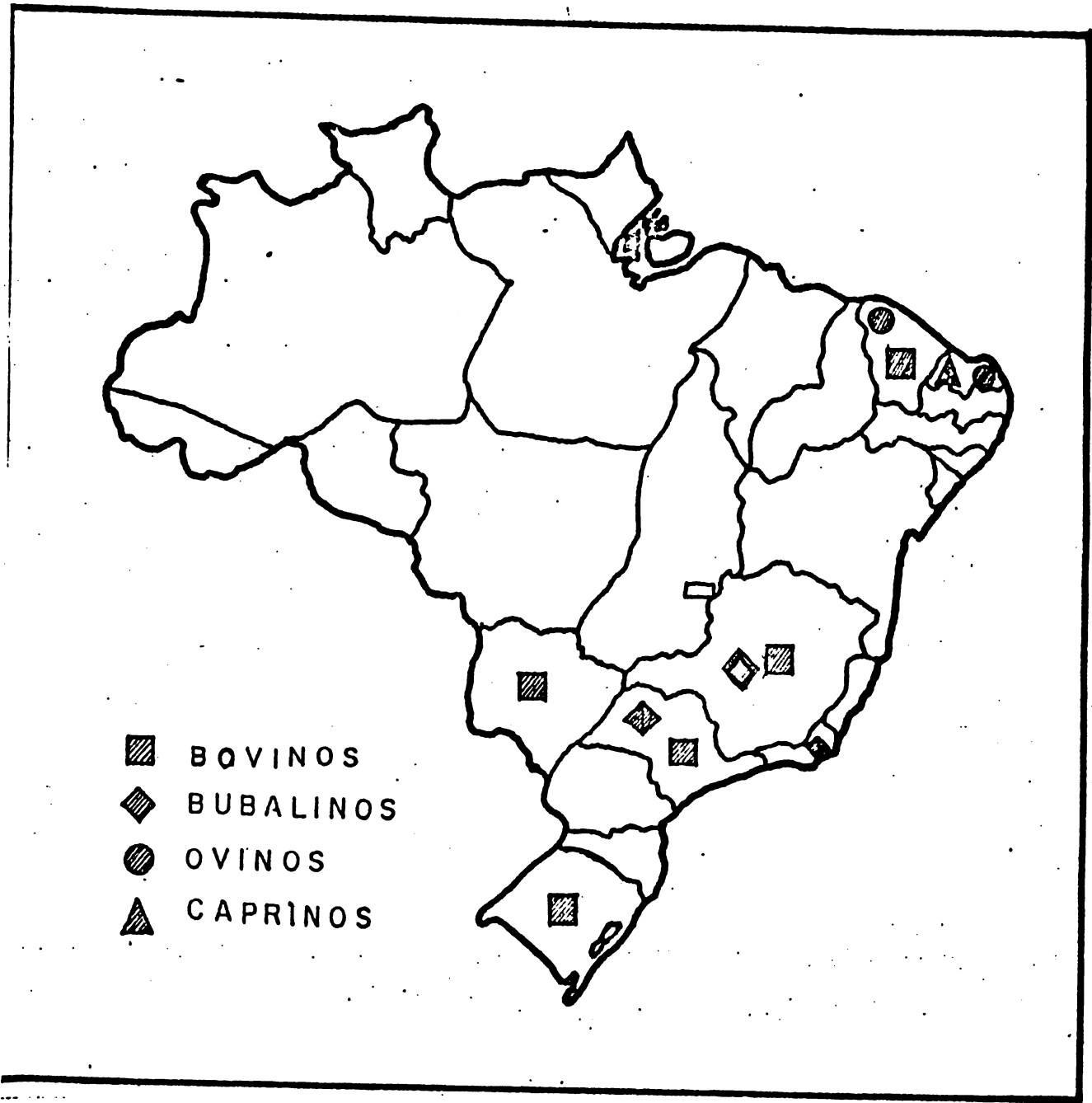
ESTADO	Amostras Examinadas	Resultado		% Positi vidade
		Positivas	Negativas	
Rio Grande do Norte	108	1	107	0,92
Ceará	50	20	30	40,00
Total	158	21	137	13,29



CAPRINOS

ESTADO	Amostras Examinadas	Resultado		% Positi vidade
		Positivas	Negativas	
Rio Grande do Norte	134	3	131	2,24
Total	134	3	131	2,24







ANTIGENS PREPARATION FOR THE DETECTION OF ANTIBODIES AGAINST
BLUE TONGUE VIRUS BY THE GEL IMMUNE DIFFUSION TEST.

PREPARAÇÃO DE ANTÍGENOS PARA A DETECÇÃO DE ANTICORPOS ANTI O
VÍRUS DA LÍNGUA AZUL PELO TESTE DE IMUNO DIFUSÃO EM GEL DE A
GROSE.

G.M.M.Arita¹, M.S.V.Gatti², A.F.P. de Castro² & J.G.Deak¹.

¹Laborat. Regional de Apoio Animal - LARA/Campinas Cxp.3584

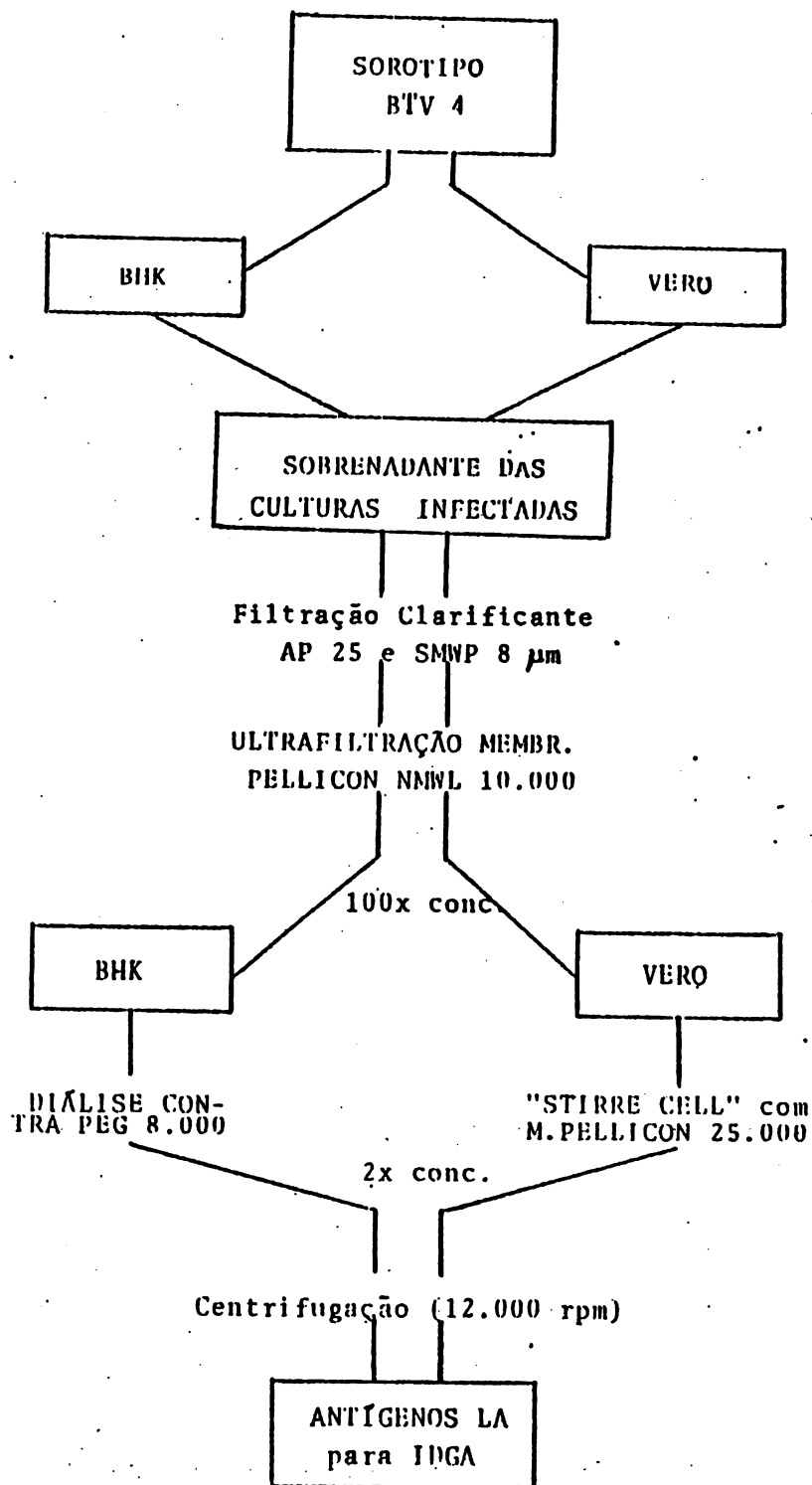
²Dpto.Microbiologia e Imunologia - IB UNICAMP Cxp.6.109
Campinas/SP - Brasil.

A imunodifusão em gel de agarose (IDGA) vem sendo usada rotineiramente em todo o mundo para o diagnóstico da língua azul (LA). Este método é considerado simples, rápido e específico para a detecção de anticorpos produzidos em resposta a infecção por este vírus. O presente trabalho descreve a preparação de antígeno solúvel, grupo específico, para utilização em testes de IDGA, a partir de fluido de culturas celulares em BHK 21, clone 13 e em VERO-Marú, inoculadas com o vírus da LA-sorotipo 4. As duas preparações apresentaram uma nítida linha de precipitação frente ao soro controle positivo. As mesmas, sob avaliação qualitativa e quantitativa e, comparando-se os resultados com aqueles obtidos frente a antígenos produzidos pelo "National Animal Disease Center" (NADC) e pelo "Veterinary Diagnostic Technology, Inc." (Antígeno Comercial), apresentaram identidade total. Uma avaliação semi-quantitativa por imunodifusão radial, mostrou resultados compatíveis com a concentração dos antígenos de referência. Na titulação em bloco de cada uma das preparações frente a soro controle positivo, o antígeno produzido em células BHK apresentou um título maior que aquele proveniente de células VERO. Quando testados frente a 24 soros de animais de campo, nossos antígenos apresentaram grau de sensibilidade comparável ao dos antígenos padrão. Consideramos assim nossos antígenos que são pela primeira vez preparados no Brasil, como adequados para o diagnóstico sorológico da LA por IDGA.

Trabalho subsidiado pelo LANARA - LARA/Campinas-MA-IICA.



Fig. 1-ESQUEMA DE PREPARAÇÃO DE ANTÍGENOS DO VÍRUS DA LÍNGUA AZUL EM CÉLULAS BHK 21 E VERO.





PROVA DE IDENTIDADE

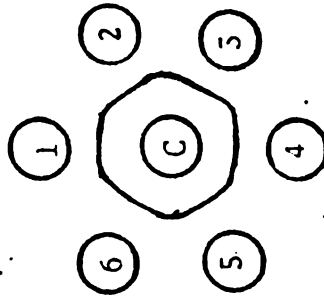
Orifício central: Soro Contr. Positivo

Orifício 1: Antígeno NADC

Orifício 2 e 5: Antígeno VERO

Orifício 3 e 6: Antígeno BHK

Orifício 4: Antígeno Comercial

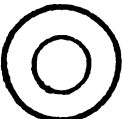

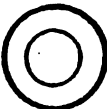

















IMUNODIFUSÃO RADIAL

Avaliação semi-quantitativa das preparações BHK e VERO comparativamente aos Antígenos do NADC e o Comercial.

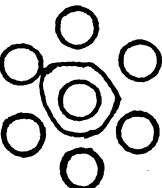
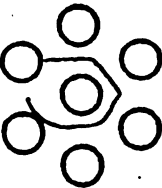
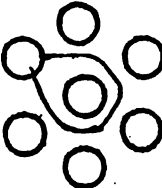
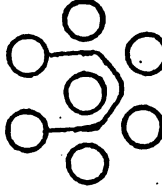
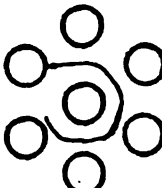
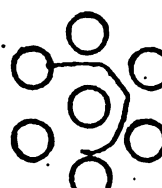
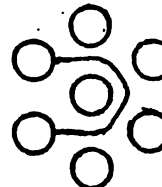
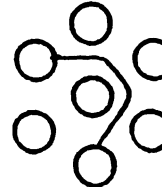
* O soro controle positivo foi incorporado à agarose de modo a atingir diluição final de 1/4.

Ag.	BHK	NADC	VERO	COMERC.
1/1				
1/2				
1/4				
1/8				



TITULAÇÃO EM BLOCO

Antígenos BHK e VERO (Orifícios centrais com diluições indicadas lateralmente) frente a Soro Controle Positivo (1/1 orifício superior a 1/32, sentido horário).

Ag.	BHK	VERO
1/1		
1/2		
1/4		
1/8		



Os procedimentos descritos, desde que apoiados por organismos oficiais e ou privados, podem ser prontamente adaptados a preparações em larga escala, de forma a evitar a nossa dependência a antígenos importados para o diagnóstico desta doença, como vem acontecendo até o momento no país.



COMUNICAÇÃO CIENTÍFICA

DETECÇÃO DE ANTICORPOS PARA O VÍRUS DA LÍNGUA AZUL EM SOROS DE ANTÍLOPES IMPORTADOS

J. G. Deak*, Gonçala M. Martins Arita**

SUMMARY

Antibodies for bluetongue virus detection in sera of imported antelopes.

In april 1983, antelopes from United States of America were admitted into quarentine in Terras Secas Experimental Station, State of Rio Grande do Norte, Brazil. In the test eight animals developed antibodies to bluetongue virus detectable by agar gel immunodiffusion test.

KEY-WORDS: Bluetongue; antelope; antibodies; immunodiffusion.

Em abril de 1983, chegaram ao Brasil 23 antílopes das espécies *Orix damma* e *Elande taurotragus*, provenientes dos Estados Unidos da América. Os animais foram mantidos em quarentena na Estação Experimental de Terras Secas, no município de Pedro Avelino, Estado do Rio Grande do Norte.

No Brasil, foi reconhecida pela primeira vez em 1978 a língua azul, doença infecciosa causada por um vírus da família Reoviridae, gênero *Orbivirus*, que atinge ovinos, caprinos, bovinos, antílopes e outros ruminantes, caracterizando-se principalmente por inflamação catarral das mucosas.

O isolamento do vírus da língua azul foi feito pela primeira vez em bovinos do Brasil, em 1980, por GROOCOCK & CAMPBELL (2). Este foi realizado no Laboratório de Plum Island, Estados Unidos, ao serem examinados 60 animais importados do Brasil.

Mais recentemente Moreira verificou a presença de anticorpos para o vírus da língua azul em soros sanguíneos dos estados do Amazonas, Pará, Minas Gerais e São Paulo e dos territórios de Roraima e Amapá, conforme citação de CUNHA *et alii* (1). Estes mesmos autores em 1982, encontraram um percentual de 40,86 de

anticorpos precipitantes em soros bovinos de vários municípios do Estado do Rio de Janeiro.

Os antílopes importados foram sangrados 33 dias após a sua chegada ao Brasil. A técnica utilizada para a pesquisa de anticorpos foi a imunodifusão em gel de ágar descrita por JOCHIM & CHOW (3), com tampão barbital e orifícios de 6mm de diâmetro, equidistantes 4mm entre si.

O antígeno e o anticorpo padrão foram preparados pelo Laboratório Nacional de Serviços Veterinários do Ministério da Agricultura dos Estados Unidos, em Ames, Iowa.

Dos vinte e três soros de antílopes testados, independentemente da espécie, oito apresentaram reação positiva para a pesquisa de anticorpo para o vírus da língua azul, representando 34,78%. Dos quinze soros restantes, dois apresentaram discreto encurvamento da linha de precipitação, sendo portanto considerados suspeitos e treze resultaram negativos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à equipe da Delegacia Federal do Ministério da Agricultura, estado do Rio Grande do Norte, responsável pela coleta das amostras.

* Médico-Veterinário, Chefe do LARA/Campinas.

** Médica-Veterinária, Responsável pelo Setor de Controle de Vacinas e Diagnóstico do LARA/Campinas. Rodovia Heitor Penteado, Km. 3,5 - 13100 - Campinas, SP.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CUNHA, R. G.; SOUZA, M. D. de; TEIXEIRA, A. C. Anticorpos precipitantes para o vírus da língua azul em soros de bovinos do estado do Rio de Janeiro. *Biológico*, São Paulo, 48(4):99-103, 1982.
2. GROOOCK, C. M. & CAMPBELL, C. H. Isolation of an exotic serotype of bluetongue virus from imported cattle in quarantine. *Can. J. Comp. Med.*, 46:160-4, 1982.
3. JOCHIM, M. M. & CHOW, T. L. Immunodiffusion of bluetongue virus. *Am. J. Vet. Res.*, 30:33-41, 1969.

Recebido para publicação em 22/06/1983.

Incidência de anticorpos para o vírus da língua azul em soros de caprinos e ovinos do estado do Rio de Janeiro

Raymundo G. Cunha, Dilma Moura de Souza**, Adenauer Cruz Teixeira***

Resumo

Com o propósito de conhecer o envolvimento de outros ruminantes na epizootiologia da Língua Azul no Estado do Rio de Janeiro, 626 amostras de soro de caprinos, provenientes de 11 municípios, foram examinadas pela prova de imunodifusão em gel frente ao vírus da LA. Duzentos e setenta e seis soros apresentaram resultado positivo, ou seja, 44,08%. Dos 66 soros de ovinos examinados, 16 (24,24%) mostraram reação positiva. Estes resultados indicam que o vírus da LA se encontra disseminado entre caprinos e ovinos das várias regiões pesquisadas, ocasionando infecções inaparentes, sem sinais clínicos, mas com produção de anticorpos. Os dados obtidos são comparados com aqueles registrados em outras regiões estrangeiras que apresentam epizootiologia similar e discutidos os fatores que podem propiciar tais características.

Unitermos: "língua azul"; epizootiologia, caprinos, ovinos

Introdução

A Língua Azul (LA) é uma doença infecciosa dos ruminantes, causada por um vírus pertencente à família *Reoviridae*, gênero *Orbivirus* e subgrupo Língua Azul que agrupa 24 sorotipos diferentes (Matthews¹⁸, Sellers²¹, Campbell²). Descrita inicialmente na África do Sul sob a designação de "Febre catarral do carneiro", era considerada como doença própria e limitada aos ovinos (Henning¹⁰, Bekker et al.¹). Entretanto, diversas publicações posteriores registram o aparecimento da LA, em outros ruminantes, sob condições naturais. Bekker et al.¹ descrevem um surto desta enfermidade em bovinos de diferentes raças, abrangendo extensa área da África do Sul. Os sinais clínicos observados permitiam confusão com Febre Aftosa, que grassara nos anos anteriores. A transmissão experimental de material infeccioso a ovinos, em número de doze, as experiências de imunidade cruzada e o estudo histopatológico das lesões fundamentaram o diagnóstico final de LA.

Spreul, citado em Bekker et al.¹, registrou, em 1905, que caprinos não adquirem LA, em condições naturais. Contudo, verificou que caprinos Angora, inoculados com material infeccioso de ovino, mesmo sem mostrar sinais clínicos da doença, conservavam o vírus por certo período de tempo, sangue obtido no 5º ou 20º dia pós-inoculação, quando injetado em ovinos, reproduziu

a LA. Em Israel, Komarov & Goldsmit¹⁵, descrevendo um surto de LA em bovinos, observaram em caprinos⁸ Saanen sinais clínicos sugestivos de LA. Lopez & Botija¹⁶, ao descreverem a epizootia de febre catarral ovina na Espanha, assinalam o aparecimento da doença entre caprinos, caracterizada por sinais clínicos benignos, sem mortalidade. Na Índia, Sapre²⁰ relatou um surto de LA em ovinos, atingindo alguns caprinos. De outro lado a baixa susceptibilidade de caprinos ao vírus da LA tem sido inferida pela ausência de doença em caprinos em convivência com ovinos doentes (Gambles⁷, Hardy & Price⁹, Hourigan & Klingsporn¹²).

O vírus de LA mostra uma patogenicidade variável para diferentes ruminantes silvestres, desde formas subclínicas, inaparentes, até a constatação de sinais clínicos graves, com mortalidade (Hoff & Trainer¹¹).

No presente trabalho, apresentamos os resultados dos exames de soros de caprinos e ovinos, coletados em vários municípios do estado do Rio de Janeiro, objetivando verificar a presença de anticorpos precipitantes para o vírus de LA nessas espécies animais e seu correspondente envolvimento na epizootiologia da doença.

Material e métodos

Soros

Foram examinados 626 soros san-

Trabalho iniciado na Pesagro-Rio e concluído na Faculdade de Veterinária da UFF/Niterói
* Professor da UFF e Bolsista do CNPq
** Médica Veterinária do M.A.
*** Pesquisador da Pesagro-Rio

gúineos de caprinos e 66 de ovinos, provenientes de 11 municípios do Estado do Rio de Janeiro. Os animais eram sangrados da jugular e o sangue transportado ao laboratório em condições de refrigeração, após coagulação e des-soramento. No laboratório cada soro era clarificado por centrifugação e o sobrenadante retirado para outro vidro e conservado a -20°C até a hora de ser examinado. Os soros de caprinos foram coletados em 21 propriedades de onze municípios do RJ (Tabela 1) de animais de dois meses a cinco anos de idade. Quarenta e três soros eram oriundos de um matadouro da cidade do Rio de Janeiro, colhidos em animais novos de

quatro a seis meses. Os soros de ovinos, obtidos em condições semelhantes, provinham de cinco propriedades, localizadas em quatro municípios diferentes (Tabela 2).

Todos os soros foram examinados, sem inativação e sem diluição, pela prova de imunodifusão dupla em agarose, visando constatar a presença de anticorpos precipitantes para o vírus da LA. Além dos soros recebidos para exame empregou-se um soro padrão, estandarizado para a referida prova.

Antígeno

O soro padrão e o antígeno foram fornecidos pelo Laboratório Nacional

de Serviços Veterinários do Ministério da Agricultura dos Estados Unidos da América, em Ames. Este antígeno, preparado a partir do crescimento vírico em cultivo celular, reage com os diferentes sorotipos do vírus da LA (Jochim & Chow¹⁴).

Prova de imunodifusão em gel

A prova de imunodifusão dupla em gel ou soro-precipitação em meio gelificado foi empregada para exame dos soros. Em linhas gerais, as instruções contidas no Protocolo A-2 do Centro de Doenças Animais de Plum Island, USA, foram adotadas. Agarose Sigma II a 0,6% em água fisiológica, contendo

Tabela 1 — Resultado dos exames de soros de caprinos do Estado do Rio de Janeiro pela prova de imunodifusão em gel com o vírus da língua azul.

Município	Fazenda	Nº de soros examinados	Nº de soros positivos	% de positivos
Itaguaí	A	14	06	42,85
	B	16	11	68,75
	C	40	29	72,50
	D	47	19	40,42
Campo Grande (Rio de Janeiro)	A	65	03	4,61
	B	43	21	48,83
	C	37	22	59,45
Rio Bonito	A	12	02	16,66
Maricá	A	32	06	18,75
	B	38	19	50,00
	C	44	29	65,90
	D	13	07	53,84
Saquarema	A	83	43	51,80
	B	40	20	50,00
Aruama	A	10	08	80,00
Cabo Frio	A	02	00	0
Campos	A	20	17	85,00
Petrópolis	A	06	01	16,66
Miguel Pereira	A	21	13	61,90
Rio de Janeiro	—	43	00	0
Totais		626	276	44,08

Tabela 2 — Resultado dos exames de soros de ovinos do Estado do Rio de Janeiro pela prova de imunodifusão em gel com o vírus da língua azul.

Município	Fazenda	Nº de soros examinados	Nº de soros positivos	% de positivos na fazenda
Niterói	A	24	05	20,83
	B		02	10,52
Itaguaí	A	16	06	85,71
Cabo Frio	B		03	75,00
Campos	C		0	0
Totais			16	24,24

azida sódica a 1:1.000, era preparada e guardada em geladeira, depois de devidamente esterilizada. No dia da prova, a agarose era aquecida e transferida para placas de Petri na proporção de 17ml para uma placa de 9cm de diâmetro. Conforme o número de soros a participar do teste, empregou-se placas menores, de 6 ou 4cm de diâmetro, que recebiam agarose em menor quantidade, mantida a proporção referida. Distribuída a agarose, as placas eram deixadas à temperatura ambiente para resfriamento e solidificação do gel. Usando-se um cortador apropriado, estabelecia-se em cada placa um número desejável de moldes de sete furos cada, sendo um furo central e seis em volta, equidistantes. Cada molde possuía um diâmetro de 15mm. Com auxílio de uma pipeta Pasteur ligada a um vácuo, retirava-se a agarose de cada perfuração, ficando um pequeno orifício. Em cada molde, o orifício central recebia o antígeno e três orifícios circundantes, alternadamente, eram ocupados por soro em exame, um em cada orifício. Nos três orifícios restantes depositava-se soro positivo padrão, como controle e para facilitar a leitura do teste. As placas eram incubadas em câmara úmida à temperatura ambiente e a leitura final feita 72 horas após a distribuição dos reagentes. Os soros em exame eram julgados:

- negativo — nenhuma linha de precipitação entre o antígeno e o soro desconhecido em exame;
 - fracamente positivo — as linhas de precipitação do soro padrão mostram curvatura ao se aproximarem do orifício com soro caprino ou ovino em avaliação;
 - positivo — linha de precipitação entre o orifício do soro desconhecido, em exame, e o orifício do antígeno.
- Os resultados fracamente positivos foram considerados como positivos. Maiores detalhes constam de publicações anteriores (Cunha et al.^{3,4}).

Resultados

Seiscentos e vinte e seis soros de caprinos e 66 de ovinos foram examinados pela prova de imunodifusão em gel e os resultados obtidos figuram nas Tabelas 1 e 2.

Para caprinos foram encontrados 276 soros positivos, com anticorpos precipitantes para o vírus da LA, ou seja,

44,08%. A variação entre os diferentes municípios foi de 0 a 85%, mas se focalizarmos apenas os quatro municípios que se representaram por mais de 100 amostras de soro, Itaguaí, Campo Grande, Maricá e Saquarema, teremos 552 soros dos quais 235 positivos, equivalente a 42,57%, muito próxima da percentagem total. Para ovinos, conseguimos examinar apenas 66 soros, com 16 resultados positivos, i.e., 24,24%.

Discussão

A susceptibilidade de caprinos ao vírus de LA foi reconhecida por Spreul em 1905 (citado em Bekker et al.¹) com registro de viremia, mas sem produção de sinais clínicos. Em condições naturais, a descrição de sintomas característicos é rara (Komarov & Goldsmit¹⁵, Lopez & Botija¹⁶, Sapre²⁰). Em condições experimentais, os relatos de diversos autores permitem afirmar que caprinos são susceptíveis ao vírus da LA e desenvolvem uma viremia em alta concentração, por período mais longo do que carneiro (Luedke & Anakwenze¹⁷, Erasmus⁵), conferindo aos primeiros uma maior importância epizootológica.

Com o advento de técnicas de diagnóstico mais simples, inquéritos sorológicos mostraram a presença e difusão do vírus em regiões sem registro da doença (Metcalf et al.¹⁹). Investigando a distribuição do vírus na região do Caribe e Guyana, Gibbs et al.⁸, pelo exame de 6.250 soros, encontraram a percentagem média de positivos de 70% para bovinos, 67% para carneiros e 76% para caprinos, na ausência de casos clínicos.

O primeiro registro da LA no Brasil, em 1978, refere-se à comprovação de anticorpos em cinco soros de ovinos e 11 de bovinos (Cunha et al.³). Examinando 553 soros de bovinos do Estado do Rio de Janeiro, Cunha et al.³ encontraram 226 (40,86%) com anticorpos para LA. Os resultados do presente trabalho evidenciam uma percentagem positiva de 44,08% para caprinos e 24,24% para ovinos. Esta menor percentagem poderia decorrer do pequeno número de soros examinados ou também da preferência alimentar do transmissor, *diptero Culicoides* (Erasmus⁶).

Ficou esclarecido que, em diferentes áreas da terra, o vírus de LA causa, prin-

cipalmente, infecções inaparentes (St. George et al.²², Tamayo et al.²³). Esta parece ser, também, a situação do Brasil: alta disseminação do vírus, infecção inaparente em caprinos, ovinos e bovinos e nenhum registro da doença, com sintomas claros, evidentes, até a presente data. A maior resistência dos animais locais e ou a presença de amostras de vírus de baixa virulência poderiam explicar essa conjectura (Howell¹³). Existindo, porém, o vírus, subsiste o perigo potencial de uma alteração em sua patogenicidade, passando a causar mortalidade nas espécies animais em pauta. Registre-se, também, que a comprovação do vírus da LA no Brasil advirte para a necessidade de esclarecer diagnósticos presuntivos de doenças similares como febre aftosa benigna e ectimá contagioso entre caprinos. Para bovinos, LA poderia ser confundida com febre aftosa, peste bovina, doença das mucosas, estomatite vesicular, rinotraqueíte infecciosa, febre catarral maligna, estomatite micótica e fotossensibilização (Hourigan & Klingsporn¹²).

Summary

Antibody prevalence for bluetongue virus in goats and sheep sera from Rio de Janeiro State

A serological survey for bluetongue antibody in blood sera from goats and sheep collected in Rio de Janeiro State is reported. Six hundred and twenty-six goat serum samples, collected in 11 counties, were examined by agar gel immunodiffusion test (AGID) and 276 showed positive reaction (44.08%). Only 66 sheep sera, collected in 4 counties, were checked by the same test and 16 (24.24%) showed positive reaction. These results suggest that BT virus is present and well disseminated among goats and sheep in Rio de Janeiro State. No clinical disease indicative of BT has been reported in the surveyed counties.

These results are compared with similar ones observed in foreign regions and possible causes for their peculiarities are indicated.

Uniterms: "blue tongue", epizootology, goats, sheep

Agradecimentos

Os autores expressam seus agradecimentos aos Drs. José Diocleciano Peixoto,

Elmiro Rosendo Nascimento e Josephina Montari Rosa Rangel pela ajuda na obtenção dos soros referidos no presente trabalho.

Referências

- 1. BEKKER JG, DE KOCK GW, QUILAN JB – The occurrence and identification of bluetongue in cattle – the so-called pseudo-foot and mouth disease in South Africa. *Onderstepoort J Vet Sci & An Ind.* 2: 393-507, 1934 • 2. CAMPBELL CH – Bluetongue: Diagnostic/Antigenic Interpretation. In Bluetongue and related orbivirus, New York, Alan R. Lisa ed., pp 435-443 • 3. CUNHA RG, SOUZA DM, TEIXEIRA AC – Anticorpos precipitantes para o vírus da Língua Azul em soros de bovinos do Estado do Rio de Janeiro. *Biológico*, São Paulo, 48: 99-103, 1982 • 4. CUNHA RG, SOUZA DM, PASSOS WS – Anticorpos para o vírus da Língua Azul em soros de bovinos do Estado de São Paulo e da região sul do Brasil. *Rev Bras Med Vet*, 9: 121-124, 1987 • 5. ERASMUS BJ – Bluetongue in sheep and goats. *Aus Vet J*, 51: 165-170, 1975 • 6. ERASMUS BJ – The epizootiology of bluetongue: The African situation. *Aus Vet J*, 51: 196-198, 1975 • 7. GAMBLES RM – Bluetongue of sheep in Cyprus. *Comp Path Ther*, 39: 176-180, 1949 • 8. GIBBS EP, GREINER EC, ALEXANDER FC, KING TH, ROACH CJ – Serological survey of ruminant livestock in some countries of the Caribbean region and South America for antibody to bluetongue virus. *Vet Rec*, 113: 446-448, 1983 • 9. HARDY WT, PRICE DA – Sore muzzle of sheep. *J Am Vet Med Ass*, 120: 23-25, 1952 • 10. HENNING MW – Animal disease in South Africa, 2nd ed. South Africa, Central News Agency, 879 pp 1949 • 11. HOFF GL, TRAINER DO – Bluetongue and epizootic hemorrhagic disease viruses. Their relationship to wildlife species. *Adv Vet Sci Com Med*, 22: 111-132, 1978 • 12. HOURRIGAN JL, KLINGSPOORN AL – Epizootiology of bluetongue. The situation in the United States of America. *Aus Vet J*, 51: 203-208, 1975 • 13. HOWELL PG – Bluetongue. In: *Emerging diseases of animals*. Rome, FAO Agriculture Studies, pp 109-153, 1963 • 14. JOCHIM MM, CHOW TL – Immunodiffusion of bluetongue virus. *Am J Vet Res*, 30: 33-41, 1968 • 15. KOMAROV A, GOLDSMIT L – Bluetongue-like disease of cattle and sheep in Israel. *Revue Vet*, 8: 69-74, 1951 • 16. LOPEZ AC, BOTLJA CS – Epizootie de fièvre catarrhale ovine en Espagne (Blue Tongue). *Bull Off Int Epiz*, 50: 65-93, 1958 • 17. LUEDKE AJ, ANAKWENZE EI – Bluetongue virus in goats. *Am J Vet Res*, 33: 1739-1745, 1972 • 18. MATTHEWS RF – Classification and nomenclature of viruses. In: *International Committee on Taxonomy of Viruses 3*, Basel, 1979 Report. Basel, Switzerland, S. Karer ed., 296 pp, 1979 • 19. METCALF HHE, PEARSON JE, KLINGSPOORN AL – Bluetongue in cattle: A serological survey of slaughter cattle in the United States. *Am J Vet Res*, 42: 1057-1061, 1981 • 20. SAPRE SN – An outbreak of "Blue Tongue" in goats and sheep in Maharashtra State, India. *Vet Rec*, 15: 69-71, 1964 • 21. SELLERS RF – Bluetongue. Diagnostic antigenic interpretation. In: *Gibbs EP ed. Virus Diseases of food animals*, London, Acad Press 2: pp 567-584, 1981 • 22. ST. GEORGE TD, STANDFAST HA, CYBINSKI DH, DYCE AL, MULLER MJ, DOHERTY RL, CARLEY JG, FILIPPICH C, FRAZIER CL – The isolation of a bluetongue virus from *Culicoides*, collected in the Northern Territory of Australia. *Aus Vet J*, 54: 153-154, 1978 • 23. TAMAYO R, SHOEBITZ R, BOLDT F – Evidencia serológica de lengua azul (Bluetongue) en ovinos de la décima región de Chile. *Rev Microbiol*, São Paulo, 18: 131-135, 1987

Endereço do autor
Adenauer Cruz Teixeira
Rua Gal. Silvestre Rocha, 158/201
24230 – Niterói – RJ

Anticorpos para o vírus da Língua Azul em soros de bovinos dos Estados de São Paulo e da Região Sul do Brasil *

Antibodies to Bluetongue Virus in sera from cattle of São Paulo's state and Brazil's South Region

Raymundo G. Cunha¹
Dilma M. de Souza²
Waldemar da Silva Passos³

RESUMO — Um inquérito sorológico para o vírus da Língua Azul nos Estados de São Paulo e da Região Sul do Brasil é descrita no presente trabalho. Novecentas e três (903) amostras de soro sanguíneo de bovinos foram examinadas pela prova da imunodifusão em gel de agarose; 214 soros eram provenientes de São Paulo, 106 do Paraná, 174 de Santa Catarina e 409 do Rio Grande do Sul.

Na mesma ordem de procedência, demonstraram resultados positivos: 115 soros (53,73%), 21 (19,81%), 65 (37,35%) e 5 (1,22%).

A localidade de maior latitude sul que forneceu soro positivo foi São Gabriel, com posição geográfica de 30°20'11" S e 54°19'12" W.G.

A presença do vírus da LA no R. G. do Sul, embora com baixa prevalência, justifica a recomendação de um estudo mais detalhado da epizootiologia da doença nesse Estado.

Unitermos — Língua Azul, bovino, imunodifusão

SUMMARY — A serological survey for Bluetongue antibody in bovine blood serum collected in São Paulo and South Region States is reported.

A total of 903 serum samples were examined by agar-gel immuno diffusion (AGID) test; 214 sera originated from São Paulo, 106 from Paraná, 174 from Sta Catarina and 409 from R. G. do Sul.

In the same order of origin, positive results number 115 (53.73%), 21 (19.81%), 65 (37.35%) and 05 (1.22%).

The southeast municipality that supplied positive serum sample (São Gabriel), has geographical position of 30.º 20' 11" S and 54.º 19' 12" W.G.

The lower prevalence registered in R.G. do Sul, where sheep breeding is economically important, points to the recommendation of larger investigation on BT epizootiology in this state.

Uniterms — Bluetongue, cattle, AGID test

INTRODUÇÃO

A Língua Azul (LA) é uma doença infecciosa dos ruminantes, causada por vírus da família *Reoviridae*, genero *Orbivirus*, formando um subgrupo de 24 soro-tipos diferentes (SELLERS, 1981; CAMPBELL, 1985). De distribuição geográfica cosmopolita, foi incluída pelo *Office International des Epizooties* na lista "A" de doenças infecciosas que reúne aquelas cujas conseqüências sócio-econômicas podem ser graves e de importância sobre o comércio internacional de animais e seus produtos. (O.I.E.,

1984). No Brasil, inicialmente reconhecida nos Estados de São Paulo e Rio de Janeiro, em 1978, a LA foi posteriormente registrada em várias outras unidades do país, através da constatação de anticorpos pela prova de soroprecipitação em meio gelificado (CUNHA et alii, 1982).

No presente trabalho, apresentamos os resultados dos exames levados a efeito em soros sanguíneos de bovinos, coletados nos Estados de São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, com o propósito de verificar a presença de anticorpos para o vírus da LA.

MATERIAL E MÉTODOS.

Soros

Foram examinados 903 soros sanguíneos de bovinos provenientes dos Estados de São Paulo (214), Paraná (106), Santa Catarina (174) e Rio Grande do Sul (409).

Os soros eram obtidos por sangria da jugular e após coagulação e dessoramento conservados em refrigeração ou congelção.

Após o recebimento em nosso laboratório até a hora da prova, os soros eram mantidos em congelção a -20°C.

Os soros de São Paulo, Paraná e Santa Catarina provinham de fêmeas, a grande maioria com mais de 3 anos de idade e destinavam-se, prioritariamente,

* Trabalho realizado no Laboratório da Disciplina *Doenças Infecciosas* do Depto. de Patologia e Clínica Veterinária, Faculdade de Veterinária-UFF - Rua Vital Brazil Filho, n.º 64, Niterói, RJ, CEP 24.000

¹ Professor da UFF e Bolsista do CNPq

² Médico-Veterinário do MA/SERVA RJ

³ Professor da UFF e Bolsista do CNPq

te, ao reconhecimento de anticorpos para Brucelose ou Febre Aftosa.

Os soros do Rio Grande do Sul eram obtidos de machos, com cerca de 12 meses de idade e que participavam da prova de seleção para controle de vacina antiaftosa. Apenas 14 soros provenientes de São Francisco de Paula e os 62 de Santa Maria, Itaquí, São Gabriel, Júlio de Castilhos, Cacequi e Quaraí eram oriundos de animais adultos, a maioria vacas leiteiras.

Os soros de São Paulo foram coletados em maio de 1986 e abril de 1987; os do Paraná em agosto de 1982; os de Santa Catarina em dezembro de 1985 e junho de 1986. Datam de agosto e outubro de 1985 os procedentes do R.G. do Sul. Os soros eram examinados sem inativação e sem diluição. Além dos soros referidos empregou-se um soro positivo, padrão.

Antígeno

Um antígeno especialmente preparado para a prova de imunodifusão em gel foi utilizado no presente trabalho. Antígeno e soro padrão foram obtidos do Laboratório Nacional de Serviços Veterinários do Ministério da Agricultura dos Estados Unidos da América, em Ames, Iowa.

Prova de imunodifusão em gel

A fim de comprovar a presença de anticorpos para o vírus da LA nos soros de bovinos em exame, empregou-se a prova de imunodifusão em gel (IDG) ou soro-precipitação em meio gelificado, reveladora de anticorpos precipitantes.

De uma maneira geral, as instruções contidas no Protocolo A2 do Centro de Doenças Animais de Plum Island foram adotadas.

Preparava-se agarose (sigma II) em água fisiológica, contendo azida sódica, a 1:1000. A

mistura era aquecida até completa diluição, autoclavada por 15 minutos a 15 libras de pressão e, ainda quente, distribuída em frascos estéreis, no volume de 100 ml, deixando-os à temperatura ambiente.

Depois de esfriada os frascos eram guardados na geladeira até serem usadas. No dia da realização da prova, a agarose era aquecida em banho-maria até completa transparência. Voltando a 50-56°C, era pipetada para placas de Petri, na proporção de 17 ml para placas de 09 cm de diâmetro. As placas eram deixadas à temperatura ambiente para resfriamento, com a tampa superior ligeiramente levantada. Usando-se um cortador apropriado, estabelecia-se, em cada placa, sete moldes de sete furos cada, sendo um furo central e seis em volta, equidistantes. Cada molde possuía um diâmetro de 15 milímetros. Com pipeta Pasteur ligada a vácuo, retirava-se a agarose de cada perfuração, ficando um pequeno orifício. Cada orifício tinha três milímetros de diâmetro e distava, também, 03 mm, um do outro. Em cada molde, o orifício central recebia o antígeno e 03 orifícios circundantes, alterna-

damente, eram ocupados por soros em exame, um em cada orifício. Nos 03 orifícios restantes, colocava-se soro positivo, padrão, como controle e para facilitar a leitura do teste (Fig. 01).

As placas eram incubadas em câmara úmida, à temperatura ambiente e a leitura final feita 72 horas após a distribuição.

Os soros em exames eram considerados:

a) *negativo*: nenhuma linha de precipitação entre o soro e o antígeno. As linhas de precipitação do soro positivo, padrão, em forma retilínea, aproximam-se ou chegam ao orifício do soro negativo;

b) *fracamente positivo*: as linhas de precipitação do soro padrão mostram curvatura ao se aproximarem do orifício com soro bovino em avaliação;

c) *positivo*: linha de precipitação entre o orifício do soro em exame e o do antígeno. Os resultados fracamente positivos foram considerados como positivos.

RESULTADOS

Os resultados do exame dos 903 soros referidos pela prova de imunodifusão em gel para o vírus

TABELA I
Resultados das provas de imunodifusão em gel para o vírus da Língua Azul com soros de bovinos provenientes dos Estados de São Paulo e da Região Sul

UF	Município	n.º de soros examinados	n.º de soros positivos	% de positivos no município
SP	São Carlos	141	75	53,19
	Bebedouro	39	18	46,15
	Pirangi	34	22	64,70
PR	Castro	106	21	19,81
SC	Massaranduba	73	28	38,35
	Joaçaba	93	37	39,78
RS	Cruz Alta	60	01	1,66
	S. Francisco de Paula	111	0	—
	Soledade	36	0	—
	Cachoeira do Sul	60	0	—
	Encruzilhada do Sul	40	0	—
	Palmares do Sul	20	0	—
	Espumoso	20	0	—
	Santa Maria	20	0	—
	Itaquí	06	0	—
	São Gabriel	07	04	57,14
	Júlio de Castilhos	10	0	—
	Cacequi	10	0	—
	Quaraí	10	0	—

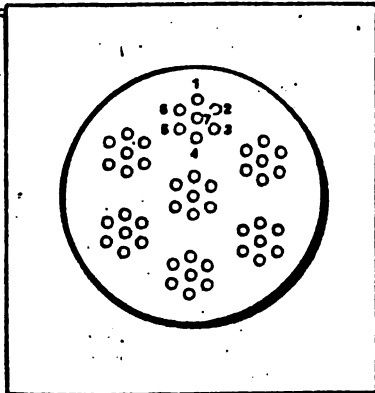


Figura 1

- 1 — 3 — 5: Soro positivo conhecido
 2 — 4 — 6: Soro em exame
 7: Antígeno

da LA estão registrados na Tabela I, de acordo com a sua procedência.

Dos 214 soros coletados em São Paulo, 115 foram encontrados positivos ou seja 53,73%. Dos 106 soros oriundos do Paraná, 21 mostraram reação positiva, que corresponde a 19,81%. O exame dos 174 soros provenientes de Santa Catarina revelou 65 positivos ou 37,35%. Do Rio Grande do Sul, foram examinados 409 soros e apenas 05 apresentaram resultado positivo ou seja 1,22%.

A tabela II especifica as coordenadas geográficas e a altitude das cidades onde foram coletados soros positivos, também registradas na fig. 2.

DISCUSSÃO

Os exames laboratoriais para o primeiro diagnóstico de LA no

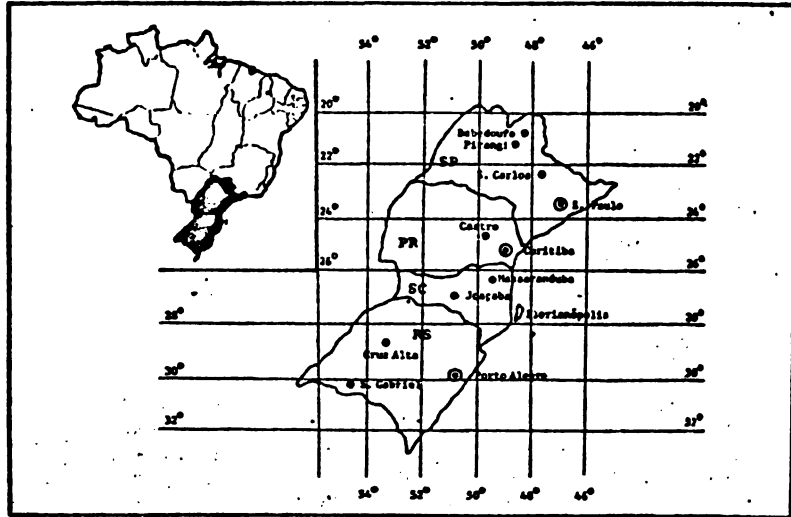


Figura 2

Posição geográfica das cidades que forneceram soros positivos para Língua Azul. A indicação das capitais serve apenas para facilitar aquela localização.

Brasil, foram realizados na África do Sul, mediante o teste de soroneutralização.

A introdução da prova de soro-precipitação em gel (JOCHIM & CHOW, 1969) possibilitou o exame de maior número de soros e vários inquéritos sorológicos foram realizados. Esta prova é considerada como específica de grupo, isto é, o antígeno preparado com um dos 24 sorotipos do subgrupo da LA dá precipitação com anticorpos provocados pelos outros serotipos do mesmo subgrupo (HOWELL & VERWOERD, 1971; ANDREWS et alii, 1978). É pois, vantajosa e apropriada para inquéritos sorológicos (METCALF et alii, 1981; HAYNES et alii, 1982). Não

temos conhecimento de isolamento de vírus da LA no Brasil.

Entretanto, um vírus do subgrupo (sorotipo 04) foi isolado nos Estados Unidos da América de um bovino que fazia parte de um grupo de 60 zebús, importados do Brasil, quarentenados na Flórida, em 1980. Do mesmo lote de animais, o exame sorológico evidenciou anticorpos para os sorotipos 04 e 20, exóticos para esse país. (GROOCK & CAMPBELL, 1982; HOUSE et alii, 1983; CALLIS, 1985).

SELLERS, (1981), descrevendo a distribuição geográfica do vírus da LA, indica que o limite da latitude sul de sua presença é incerto para o continente americano, daí o interesse em examinar soros do sul do Brasil. Apesar do Estado de São Paulo ter sido o primeiro foco conhecido da doença no Brasil, parece-nos adequado incluí-lo no presente inquérito para reafirmar sua situação.

Dípteros Ceratopogonídeos do gênero *Culicoides* são considerados como os mais importantes transmissores da LA. Diversas espécies são imputadas, variando conforme o país em foco,

TABELA II

Altitude e posição geográfica das cidades que forneceram soro bovino com anticorpos para Língua Azul

Estado	Cidade	Altitude (m)	Latitude S	Longitude WG
São Paulo	Bebedouro	573	20°56'58"	48°28'25"
	Pirangi	538	21°05'29"	48°35'28"
	São Carlos	854	22°01'03"	47°53'27"
Paraná	Castro	999	24°47'28"	50°00'43"
Santa Catarina	Massaranduba	28	26°36'38"	49°00'30"
	Joaçaba	522	27°10'41"	51°30'17"
R. G. do Sul	Cruz Alta	452	28°39'19"	53°36'23"
	São Gabriel	114	30°20'11"	54°19'12"

(SELLERS, 1981). Nos Estados Unidos da América figuram como principais transmissores o *C. variipennis* e *C. insignis* (CALLIS, 1985).

Para FORATTINI (1957) *C. variipennis* é sinônimo de *C. arubae* que já foi registrado nos EE.UU., México, Panamá, Antilhas e Venezuela, mas não no Brasil.

Entretanto, outras espécies, como *C. insignis*, *C. paraensis* e *C. furens*, tem uma distribuição que se alarga do leste dos EE.UU. ao sul do Brasil e Argentina. Por exemplo, *C. insignis* foi localizado em Jacksonville, Flórida, bem como em Pelotas R.G. do Sul (FORATTINI, 1957 WIRTH 1974). Sendo assim, encontram-se na região estudada os elementos essenciais para ocorrência, disseminação e manutenção da doença; o vírus, o transmissor e animais sensíveis.

No Estado do Rio de Janeiro, CUNHA et alii (1982) encontraram 40,86% de soros com anticorpos para LA. Os valores apresentados neste trabalho para São Paulo (53,19%) Paraná (19,81%) e Santa Catarina (37,35%) não devem ser julgados como de diferença significativa, tendo em vista o número de soros examinados e a limitação

geográfica de sua coleta.

Mas, todas evidenciam a presença do vírus e sua frequente distribuição entre os rebanhos bovinos desses Estados.

No R. G. do Sul, entretanto, o número de soros positivos foi muito reduzido: 05 soros positivos entre 409 examinados ou seja 1,22%. Mesmo, considerando apenas animais adultos, como nos outros Estados, teríamos 04 positivos de 76 examinados ou 5,26%. Esta baixa positividade parece indicar que as condições epidemiológicas da LA no R.G. do Sul diferem das que ocorrem nos outros Estados da mesma região. Um estudo mais detalhado e vultoso das características epidemiológicas regionais seria recomendado, sobretudo tendo em vista a importância econômica da ovinocultura no Estado do R.G. do Sul.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDREWS, C., PEREIRA, H.G. & WILDY, P. *Viruses of Vertebrates*, 4th ed. London. Ballière Tindall, 1978, 421 p.
- BRASIL, Ministério da Agricultura, Secretaria de Defesa Sanitária Animal. Comunicação ao "Office International des Epizooties", Brasília, 1978. Ofício n.º 0136-10 de 05/06/1978.
- CALLIS, J. *Bluetongue in the United States. Bluetongue and related Orbivirus*,

- pp 37-42. Alan R. Liss Inc., 1985.
- CAMPBELL, C.H. — *Bluetongue; Diagnostic / Antigenic Interpretation. Bluetongue and related Orbivirus*, pp 43-5-443. Alan R. Liss Inc., 1985.
- CUNHA, R.G., SOUZA, D.M. & TELXEIRA, A.C. Anticorpos precipitantes para o vírus da Língua Azul em soros de bovinos do Estado do Rio de Janeiro. *Biológico*, São Paulo, 48: 99-103, 1982.
- FORATTINI, O.P. *Culicídeos da região neotropical. Arq. Fac. Hig. e Saúde Publ. da USP, São Paulo, 11:162-526, 1957.*
- GROOCCOCK, C.M. & CAMPBELL, C.H. Isolation of an exotic serotype of bluetongue virus from imported cattle in quarantine. *Can. J. Comp. Med.*, 46:160-164, 1982.
- HAYNES, T.B. HARROLD, S. & SCHULTZ, R.D. A seroepidemiologic survey of antibody to bluetongue virus in Alabama cattle. *Cornell Vet*, 72: 262-268, 1982.
- HOUSE, J.A. YEDLOUTSCHNIG, R.J. DARDIRI, A.H., HERRICK, D.E. & AGREE, J.A. Procedures used for the importation of Brazilian zebu cattle into the United States. *Amer. Ass. Vet. Lab. Diag.*, 26th. Annual Proc.: 13-24, 1983.
- HOWELL, P.G. & VERWOERD, D.W. Bluetongue virus. *Virology Monogr.* (9): 35-74, 1971.
- JOCHIM, M.M. & CHOW, T.L. Immunodiffusion of bluetongue virus. *Am. J. Vet. Res.*, 30:33-41, 1968.
- METCALF, H.H.E., PEARSON, J.E. & KLINGSPORN, A.L. Bluetongue in cattle: A serologic survey of slaughter cattle in the United States. *Am. J. Vet. Res.*, 42: 1057-1061, 1981.
- OFFICE INTERNATIONAL DES ÉPIZOOTIES. *Bulletin O.I.E.* 96: 57^a, 1984.
- SELLERS, R.F. *Bluetongue and related diseases* (pp 567-584) In GIBBS, E.P. ed. *Virus diseases of food animals*, vol. II *Diseases Monographs*. Acad. Press Inc., London, 1981.
- WIRTH, W.W. *A catalogue of the Diptera of the Americas south of the United States*. Museu de Zoologia da USP, in. 2 São Paulo, 1974, 89 pp.

Agradecimentos Aos Drs. José G. Deak, Jomar Vieira de Souza, Maria Saleta Pimentel, Carlos Rafael Sfoggia e Prof. Danilo Saraiva pela obtenção e remessa dos soros e ao Laboratorista Algemiro Rodrigues pela ajuda no preparo do material de laboratório empregado.

MÚTUA DOS VETERINÁRIOS

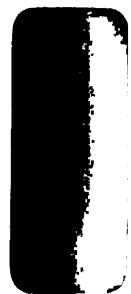
OPÇÃO PREVIDENCIÁRIA NO ÂMBITO EXCLUSIVO DA CLASSE

Informações na Sociedade de Medicina Veterinária de seu Estado
ou na Delegacia Federal de Agricultura (SEAPRO);
tel. (021) 262-4216 e (021) 233-2780, Rio de Janeiro, RJ

AGRADECIMENTOS

Gostaríamos de agradecer a Diretoria Geral do LANARA representada pelos Drs. Décio Lyra e Cesar Henrique Rozas, ao LARA/Campinas na pessoa do Dr. José Guedes Deak pelo apoio e incentivo, ao Dr. Michael Bedoya, coordenador de sanidade vegetal e saúde animal do IICA/Brasil pela organização e coordenação do Seminário, à Prof. Maria Silvia Viccari Gatti e equipe do Departamento de Microbiologia e Imunologia - IB - UNICAMP pela ajuda na realização do nosso trabalho, à Prof. Maria Lúcia Racz- USP e Dr. Albino Alonso Fernandez - CPFA pela participação didática, aos representantes do LARA/Campinas no Convênio MA/CPFA pela cessão de materiais, aos Setores de Apoio Técnico e Administrativo e especialmente aos técnicos e funcionários do Setor de Controle e Diagnóstico do LARA/Campinas pela participação efetiva na execução dos trabalhos.

Gonçala Martins Arita



INSTITUTO INTERAMERICANO DE COOPERAÇÃO PARA A AGRICULTURA
Caixa Postal 09-1070, Brasília DF - Brasil - Tel. (061) 248-5477
SHIS Ql 5, Conj. 9, Bl. "D" Comercial, CEP 71.600 - Telex 611959 INAG-BR
Correio Eletrônico 1536 - Fac-símile (061) 248-5807