

APLICACION DE LA TECNOLOGIA DE LA CARNE EN LA
INACTIVACION DEL VIRUS DE LA FIEBRE AFTOSA Y
DEMÁS ASPECTOS HIGIENICOS SANITARIOS

Dr. Carlos A. Correa *
Dra. Virginia Urrestarazú**

RESUMEN

Se analizan diversos aspectos referentes a la comercialización de carne, subproductos y derivados, con relación a la fiebre aftosa y la legislación sanitaria aplicada al respecto por los países libres de esta enfermedad. Se presenta una revisión de las investigaciones realizadas acerca de la sobrevivencia y/o inactivación del virus de la fiebre aftosa en los productos de origen animal con relación a los diversos procesos tecnológicos aplicados a los mismos.

Se exponen resultados obtenidos en los trabajos realizados por el Instituto de Carne de la Facultad de Veterinaria con la colaboración de DILFA en el marco del Proyecto URU/81/TO1: "Identificación de métodos industriales de inactivación del virus de la fiebre aftosa en carne y productos cárnicos", del Sistema Financiero de las Naciones Unidas de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo.

El comercio internacional de ganado y productos de origen animal se encuentra --obstaculizado por la existencia de diferentes restricciones sanitarias que aplican los países a la importación de estos productos procedentes de países con enfermedades exóticas.

La modernización de los medios de transporte está asociada con la mayor rapidez de desplazamiento de los productos de origen animal, limitando o eliminando alguna de las barreras naturales que antes contribuían a reducir el número de enfermedades importadas (Callis 1978).

En toda importación existe un riesgo de enfermedad pero este es tanto menor cuanto mayores son los conocimientos y la responsabilidad profesional de los servicios veterinarios del país exportador e importador.

Es un hecho sin discusión que los países importadores tienen la obligación de --

* DMV., M. Agr. Profesor Agregado del Instituto de Carne, Facultad de Veterinaria. Director de Industria Animal, MAP, Uruguay.

** DMV., Asistente del Instituto de Carne, Facultad de Veterinaria, Montevideo-Uruguay.

proteger su ganadería de riesgos, pero las limitaciones o restricciones resultantes, deben basarse exclusivamente en el conocimiento científico y no en motivos de protección económica de una industria o por bases emocionales respecto de una enfermedad con la exageración en muchos casos, ya sea deliberada o por ignorancia.

Probablemente no exista otra enfermedad infecciosa que genere más discusiones -- que la fiebre aftosa (FA). La polarización de las posiciones entre países libres y afectados y el impacto que las restricciones tienen en el comercio internacional de productos de origen animal, ha conducido a discusiones de alto nivel entre gobiernos y al desarrollo de programas de cooperación internacional dirigidos al control de la enfermedad (Graves 1978).

Muchos de los países actualmente libres de esta enfermedad han tenido que destinar importantes recursos en el pasado para erradicar la misma.

EE.UU. tuvo 9 brotes de FA, el último de los cuáles ocurrió en 1929. De ellos alcanzaron distribución nacional los ocurridos en 1914 y 1924, estimándose el costo de erradicación en U\$S 9 millones y U\$S 20 millones respectivamente. Un estudio señala que el efecto económico potencial que tendría en ese país la introducción de esta enfermedad sería de U\$S 539 millones en la etapa del sacrificio sanitario, pero excedería a U\$S 12 billones en caso de mantenerse endémica por un período de 15 años. (Mac Cauley 1977).

Las evaluaciones de las pérdidas totales debidas a la erradicación del último foco de FA ocurrido en Canadá en 1952, ascienden a U\$S 800 millones. Asimismo el brote aparecido en el Reino Unido en 1967 y 1968 involucró el sacrificio de 433.987 animales y representó un costo total de U\$S 300 millones ya sea por concepto de compensaciones, recursos materiales y humanos adicionales, distorsión de mercados, cierre de establecimientos de faena y reconstrucción de rodeos (Preston 1978).

Con relación al comercio internacional de la carne, subproductos y derivados, éste se ha visto tremendamente afectado por la situación mundial de la FA por las distintas legislaciones que los países adoptan al respecto. Como consecuencia se han establecido dos áreas bien definidas, libres e infectadas, que han orientado y condicionado las principales corrientes comerciales del producto.

El circuito aftósico se constituye fundamentalmente por el comercio de carne vacuna refrigerada de los países del Río de la Plata a Europa, Africa y Medio Oriente. El circuito no aftósico está constituido especialmente por Australia y Nueva Zelanda enviando carne vacuna refrigerada entre otros países a USA, Canadá, Japón, Corea del Sur, Taiwan, Malasia, Singapur.

En función de las leyes de la oferta y la demanda de ambos circuitos, se establecieron precios diferenciales entre éstos, con oscilaciones que fueron desde un 50% más alto por tonelada de carne en el circuito no aftósico durante las décadas del 50 y 60 y 20% en el momento actual.

La adopción, en 1977, de medidas sanitarias restrictivas a la importación de carne con hueso a países de esta región por parte de la CEE, causó una nueva distorsión en el comercio afectando seriamente las exportaciones de corderos que hasta esa fecha se realizaban en forma fluida por parte de los países de América del Sur a Europa. Este último mercado es actualmente abastecido, en especial por Nueva Zelanda que en 1983 exportó a ese destino 191.000 toneladas de este producto.

Las exportaciones de carne ovina del Río de la Plata se vieron reducidas desde esa fecha a pequeñas cantidades de carne desosada a Alemania Federal y carne con hueso destinada a países árabes entre ellos Arabia Saudita, Egipto y Jordania.

Criterios de Legislación

Un tema que merece ser analizado es el relativo a los diferentes criterios que aplican en su legislación los países libres de FA.

Los Estados Unidos de América, para tomar el centro de referencia más importante, aunque comparten su criterio países como Canadá, Japón, Corea y Taiwan, no reciben carne sin procesar de países donde la FA es endémica o se presenta en forma esporádica. Como consecuencia, los países exportadores de América del Sur, sólo

pueden exportar a esos mercados carnes enlatadas, carnes deshidratadas o carnes-cocidas congeladas (cooked-frozen beef).

En este sentido las especificaciones de EE.UU. de acuerdo con el Código de Reglamentaciones Federales, Título 9, Capítulo I, Parte 94.4 señalan:

a) La importación de carne curada de rumiantes y cerdos de países con FA está prohibida a menos que se eliminen completamente los huesos, que la carne no haya sido congelada antes de los tres días posteriores a la faena y haya sido curada y secada en forma tal que pueda almacenarse sin necesidad de refrigeración. Ejemplos de estos productos: salame, tasajo y charque. El término secado significa que la relación agua proteína en la parte más húmeda del producto no exceda 2.25 a 1.

b) La importación de carne cocida derivada de rumiantes o cerdos de países con FA está prohibida a menos que se eliminen completamente los huesos y la carne se haya tratado con un proceso térmico que garantice que todos los trozos alcancen una temperatura interna que permita tomar la apariencia de un producto cocido.

En el caso de la carne cocida congelada, el control se realiza comprobando la eliminación de los jugos rosados necesitando para la elaboración de ese producto una serie de requisitos estructurales y operativos que permitan una adecuada separación y seguridad entre las zonas de producto crudo y cocido del establecimiento.

El Reino Unido aplica desde 1968 un régimen de importación que permite la introducción de cortes de carne sin hueso refrigerados desde países con fiebre aftosa. La tesis británica cuando fue aplicada fue bautizada como "del riesgo mínimo" -- mientras que la norteamericana para diferenciarla de aquella recibió el nombre de "riesgo cero" (De las Carreras 1978).

Respecto a la legislación de la Comunidad Económica Europea (CEE) para países exportadores afectados con FA ésta autoriza la importación de carne sin hueso previa maduración de la misma por un período de 24 horas posteriores a la faena en cámaras de enfriado a una temperatura ambiente no inferior a + 2°C (EEC, 1972; EEC, 1978).

INVESTIGACION BASICA Y APLICADA

La investigación científica sobre la supervivencia del virus de la fiebre aftosa (VFA) en productos de origen animal ha despertado gran interés especialmente en los países libres de esa enfermedad a efectos de contar con la información necesaria para la adopción de las reglamentaciones que regulan la comercialización de estos productos. Sin embargo, la propia condición de países libres ha dificultado la realización de estos trabajos por tener que limitarse exclusivamente a laboratorios especialmente autorizados y dotados de las máximas garantías de seguridad, tales como el Plum Island Animal Disease Center en EE.UU. y el laboratorio de Pirbright en Inglaterra.

Un aspecto que asimismo es importante tener en cuenta es que muchas veces las investigaciones de laboratorio no pueden reproducir adecuadamente lo que sucede en los productos luego de procesados con la tecnología usada a nivel industrial.

Otro hecho ampliamente demostrado es la existencia de una diferencia considerable de sensibilidad al VFA entre cultivos celulares y bovinos usados como reactivos biológicos, siendo los últimos los más sensibles. (Cunliffe et al. 1973; Cunliffe y Blackwell 1977; Hyde et al. 1975; Lewy et al. 1980).

Blackwell (1984) señaló que el test en bovinos es la prueba confirmativa definitiva de la presencia o ausencia de virus en materiales previamente ensayados en cultivos celulares. Observó que en repetidas oportunidades materiales sospechosos que no mostraron efecto citopático, produjeron FA al ser inoculados en bovinos vírgenes.

El criterio aplicable para considerar un producto "seguro" está basado en el concepto de que el mismo no debe contener virus activo ni RNA infectivo (Roberts 1970).

Una revisión de investigaciones realizadas sobre el tema se presentan en las tablas 1, 2, 3 y 4.

La información presentada en la tabla 1 indica que no se detectó VFA en tejido muscular a valores de pH inferiores a 5.9. Varios investigadores comprobaron -- que el VFA se inactiva en músculos estriados como consecuencia del descenso del pH por la glucólisis anaeróbica que se produce luego de la muerte del animal --- (Henderson y Brooksby 1948; Cottral et al., 1960; García Vidal et al., 1982). La glucólisis post mortem se produce hasta la obtención de un pH final de 5.5., nivel en el cual las enzimas glucolíticas se inactivan (Lawrie 1983).

La aplicación de técnicas de congelado rápido a la carne en estado pre-rigor -- trae como consecuencia la detención de la actividad enzimática y del descenso del pH del músculo por lo que existe la posibilidad de que se mantenga la infectividad del virus, aunque este se inactiva durante la descongelación cuando sobreviene el rigor de descongelación.

Por lo expuesto, se debe dar especial atención a estas técnicas que asimismo se encuentran asociadas con problemas de calidad al disminuir la terneza por aparición del fenómeno de acortamiento por el frío (cold shortening).

Es importante tener en cuenta la carne D.F.D. (oscura firme y seca) que se encuentra relacionada con animales que han sufrido stress previo a la faena, ya -- que en la evolución post-mortem de ésta no se alcanzan pH finales inferiores a -- 6.0.

En las mediciones de pH en músculos de carcasas o cuartos debe tenerse presente que las distintas temperaturas observadas en la superficie y profundidad influyen en la intensidad de las reacciones enzimáticas, observándose durante las primeras horas post faena descensos de pH más rápidos en los músculos profundos que en los de la superficie, o variaciones en un mismo músculo de acuerdo a la profundidad de la toma.

En la Tabla 1 no se observan cambios importantes en los valores de pH de ganglios linfáticos y coágulos sanguíneos durante períodos prolongados de tiempo, detectándose VFA luego de 50 días en ganglios linfáticos infectados mantenidos a 1°C. (Cottral et al. 1960). Los ganglios linfáticos coágulos sanguíneos y médula ósea parecen tener barreras físicas y químicas que impiden la penetración del ácido láctico formado en los músculos adyacentes.

Se comprobó que el agregado de ácido cítrico al 10% en la solución de curado de ganglios linfáticos destruyó la infectividad del VFA presente. De igual forma -- el curado con una concentración de NaCl del 20% redujo significativamente la infectividad del VFA. (Heidelbaugh y Graves, 1963).

La Tabla 2 muestra la acción del calor sobre el VFA en carne y productos cárnicos provenientes de animales infectados con FA. Se observa que el VFA presente en ganglios linfáticos ubicados en el centro de latas conteniendo carne picada -- se inactiva cuando alcanza una temperatura de proceso de 68.3°C en el centro térmico. (Heidelbaugh y Graves, 1968). Estos resultados fueron la base de la legislación norteamericana que autoriza la importación de carne cocida congelada de -- países con FA. Investigaciones recientes encontraron que a temperaturas de 69°C durante 2 horas y 90°C durante 15 minutos sobrevive VFA en ganglios linfáticos -- de bovinos infectados (Blackwell et al., 1982). Este hecho resulta de importancia por las consecuencias que podrían surgir con respecto a la legislación vigente reflejadas en un incremento de las restricciones. El agregado de 1% de sal a ganglios linfáticos infectados aumenta la resistencia del VFA al calor. Estudios realizados para evaluar los efectos de los procesos térmicos comerciales en productos de carne picada conteniendo ganglios linfáticos, médula ósea y coágulos sanguíneos envasados en tubos de nylon demostraron que se inactivó el VFA -- presente cuando éstos alcanzaron en el centro térmico temperaturas de 93.3°C, -- 96.1°C y 98.8°C. En estos casos el control de temperatura se realizó mediante -- el uso de termocuplas y de discos termosensibles (Blackwell et al., 1982).

La tabla 3 muestra la supervivencia e inactivación del VFA en leche y productos lácteos, relacionando estos hechos con los tratamientos técnicos de procesamiento industrial. Existe controversia entre los diferentes autores en lo referente a tiempos y temperaturas de inactivación. Sellers 1959, demostró inactivación -- de VFA en leche entera infectada in vitro a 80°C durante 5 segundos, mientras -- que Callis et al., (1975) aislaron VFA de muestras de leche entera proveniente de

animales infectados, sometidas a la misma temperatura durante 15 segundos. Este hecho ha sido comentado por varios investigadores señalando que existe diferencia de comportamiento del VFA en leche infectada in vitro y en leche proveniente de animales infectados.

Se atribuye a algunos componentes de la leche, como la caseína, grasa, proteína, la capacidad de aumentar la resistencia del VFA al calor cuando la leche proviene de animales infectados (Callis et al., 1975; Hyde et al., 1975; Sellers 1969; Blackwell 1981).

En la tabla se observa que calentando a 85°C durante 15" leche entera y descremada se inactiva el virus en la segunda, manteniéndose infectiva la primera.

También existe controversia en cuanto al efecto de la pasteurización aplicada corrientemente en la industria sobre la inactivación del VFA en la leche así tratada (Kastle y Moosbrugger 1968; Blackwell y Hyde 1976).

En la tabla 4 se presenta información de la sobrevivencia del VFA en productos de origen animal. Se comprobó presencia de VFA en médula ósea, ganglios linfáticos y sangre de bovinos mantenidos a temperaturas de 1°C a 4°C hasta 210, 120 y 60 días respectivamente.

El exudado esofagofaríngeo de animales infectados con VFA en el sitio donde el virus sobrevive por excelencia. El mismo es infectivo desde 7 a 24 meses luego de la desaparición de signos clínicos (animales portadores) y la zona faríngea ha demostrado contener VFA hasta 9 días antes de la aparición de dichos signos.

Fue aislado VFA de carne y productos cárnicos curados mantenidos entre 1°C y 7°C hasta 50 días de almacenados (Cottral 1968).

Heidelbaugh y Graves (1968) aislaron VFA de ganglios linfáticos curados sometidos a congelado a -15°C y descongelado.

INVESTIGACION EN URUGUAY Y PERSPECTIVAS

Los países exportadores de carne afectados con FA tienen una verdadera necesidad y oportunidad para realizar investigación adicional tendiente al desarrollo de técnicas de procesamiento que garanticen la destrucción del VFA en los productos. La obtención de estas técnicas y de nuevos productos posibilitará la apertura de mercados que actualmente se mantienen vedados por las restricciones impuestas en la legislación vigente.

El Instituto de Carne de la Facultad de Veterinaria, en el marco de un convenio firmado con el Fondo de las Naciones Unidas para la Ciencia y Tecnología, está llevando a cabo un proyecto de investigación básica y aplicada con el objetivo de identificar y desarrollar métodos industriales que garanticen la inactivación del VFA en carne y productos cárnicos (Proyecto URU/81/TO1). Estas actividades se llevan a cabo con la invalorable colaboración de la Dirección de Lucha contra la Fiebre Aftosa (DILFA) del Ministerio de Agricultura y Pesca. La investigación está orientada al estudio de la influencia del calor, pH y CO₂ en la sobrevivencia del VFA en carne.

Con la finalidad de estudiar la acción del calor sobre el VFA se diseñó un equipo de transferencia de tubos capilares, adaptación del modelo STERN-PROCTOR modificado (1954), que consta de un baño de agua caliente con agitador y control electrónico de temperatura y de un baño contiguo de agua a 0°C. Los tubos capilares una vez llenados y sellados son colocados en un brazo móvil que automáticamente los transfiere del baño caliente al frío una vez finalizado el tiempo de calentamiento previamente fijado. (Figura 1).

Algunos resultados se presentan en la tabla 5. Los materiales usados como fuente de virus han sido suspensiones del mismo replicadas en cultivos celulares, leche artificialmente infectada y sobrenadante de ganglios linfáticos macerados -- provenientes de bovinos con FA. Se observa que la leche descremada infectada in vitro se mantuvo infectiva cuando se calentó a 72°C por 15 segundos, pero no cuando fue sometida a temperaturas de 72°C durante 20 segundos. Se observa así mismo que cuando se calentó leche descremada a 63°C por 15 minutos se mantuvo infectiva pero no sucedió así con leche entera procesada en las mismas condiciones.

El VFA presente en el homogeneizado de ganglios linfáticos provenientes de bovinos infectados se inactivó luego de 1 minuto a 69°C y 30 segundos a 66 y 68°C.

Los tests de infectividad se realizaron en uno o en varios de los siguientes --- reactivos biológicos: cultivos celulares BHK e IBRS2, ratones lactantes y bovinos vírgenes.

Se comprobó que una temperatura pico de 69°C inactivó el VFA presente en ganglios linfáticos de bovinos, enteros, contenidos dentro de carne picada y con discos - termosensibles en su centro y termocuplas, fue inactivado a temperaturas de 96°C. El material fue testado en células BHK y bovinos vírgenes.

En la tabla 6 se presentan datos sobre la influencia del pH en la supervivencia del VFA en músculo longissimus dorsi obtenidos en las experiencias realizadas en el Proyecto URU/81/T01. Se observa que no se detecta virus en músculo a pH inferior a 6.0, resultando el valor mínimo en que se aisla VFA, pH 6.04.

La estimulación eléctrica (EE) del músculo en pre-rigor, ha recibido considerable atención como un método de aumentar la terneza y de evitar los efectos del a cortamiento por el frío. Diversos investigadores han estudiado diferentes aspectos de la utilización de este proceso (Carse, 1973; Chrystall y Hagyard, 1976; Bendall et al., 1976; Savell et al., 1978; Smith et al., 1977, 1980).

Varios de estos autores han demostrado el efecto de la EE en la aceleración de la glucólisis post-mortem y por consiguiente en el descenso del pH en el músculo y en la presentación del rigor mortis (Carse 1973; Cross, 1979).

Se constató que los músculos psoas mejor estimulados con alto y bajo voltaje presentaron valores de pH inferiores a 6.0 a las dos horas posteriores al sacrificio, alcanzándose este pH en músculos biceps femoral estimulados con alto voltaje, a las dos horas y con bajo voltaje a las cuatro horas. Esto permite considerar a este método como un proceso de alternativa en la maduración de la carne -- (García Vidal et al., 1980).

Los trabajos que se están llevando a cabo actualmente por el mencionado proyecto han sido iniciados durante la consultoría realizada en Uruguay en abril de 1984, por los Dres. Norman D. Heidelbaugh* y John H. Blackwell**. Este estudio consta de tres aspectos: a) comparación de pH y presencia de VFA en músculos esqueléticos estimulados eléctricamente y no estimulados; b) correlación entre pH y detección de VFA en ganglios linfáticos con EE y no estimulados; c) inactivación de VFA en muestras combinadas de carne y ganglios linfáticos procesadas por calor - en bolsas flexibles a diferentes temperaturas.

CONCLUSIONES

- 1) El control y erradicación de la FA en países afectados debe ser objetivo primordial y por ende al que se debe dedicar los máximos esfuerzos. Sin embargo a corto y mediano plazo existe una interesante gama de posibilidades para el desarrollo de tecnologías que posibiliten a estos países satisfacer sin riesgo sanitario sus necesidades de exportación.
- 2) La legislación sanitaria para la importación de carnes, subproductos y derivados debe basarse en los conocimientos científicos y criterios razonables y -- realistas.
- 3) Se deben intensificar los esfuerzos de cooperación entre los países afectados por fiebre aftosa en materia de investigación básica y aplicada en la Ciencia y Tecnología de la Carne, tendientes a la búsqueda de nuevos procesos o productos que permitan incrementar el acceso de los mismos a los mercados que actualmente aplican restricciones sanitarias en la materia.

* Dr. Norman D. Heidelbaugh, VMD, MPH, SM, Ph.D - Director y Profesor del Departamento de Salud Pública de la Universidad de Texas A&M.

** Dr. John H. Blackwell, M.Sc., Ph.D - Microbiólogo e Higienista de alimentos - del laboratorio de Plum Island, EE.UU.

SUMMARY

Several aspects on international trade of meat and by-products related to Foot-and-Mouth disease and currently applied sanitary regulations in countries free of such disease are analyzed. A review of research concerning to survival and/or inactivation of Foot-and-Mouth disease virus in animal food products and its relation with technological processings is presented.

Current research being conducted by the Meat Institute of the Veterinary Faculty with DILFA cooperation and sponsored by United Nations Financial System for Science and Technology Development through the project URU/81/T01: "Identificación de industrial methods to inactivate Foot-and-Mouth disease virus in meat and meat product" is presented!

BIBLIOGRAFIA

- BACHRACH, H.L., Breese, S.S., Callis, J.J., Hess, W.R. and Patty, R.E. (1957). - Inactivation of Foot-and-Mouth disease virus by pH and temperature changes and by formaldehyde. Proc. Soc. Exper. Biol. Med. Vol. 195. - pp 145-152.
- BENDALL, J.R., Ketteridge, C.C. and George, A.R. (1976). The electrical stimulation of beef carcasses. J. Sci. Fd. Agric. 27:1123.
- BLACKWELL, J.H., and Hyde, J.L. (1976). Effect of Heat on Foot-and-Mouth disease virus in the components of milk from FMDV infected cows. J. Hyg. Camb. 77-77.
- BLACKWELL, J.H., (1976). Survival of Foot-and-Mouth disease virus in cheese. J. Dairy Sci. Vol. 159: pp 1574 a 1579.
- BLACKWELL, J.H., (1981). Vesicular exocytosis of FMDV from mammary gland secretory epithelium of infected cows. J. Gen. Virol. 56: pp 207-212.
- BLACKWELL, J.H., (1984). Comunicación personal.
- BROOKSBY, J.B. (1948). Survival of Foot-and-Mouth disease virus in blood at 37°C. Brit. J. Ex. Pathol. Vol. XXIX, p 10.
- BURROWS, R. (1966). Studies on the carrier state of cattle exposed to Foot-and-Mouth disease. J. Hyg. 64: 81-90.
- CALLIS, J.J. y McKercher, P.D. (1978). Difusión del virus de la fiebre aftosa -- por los productos de origen animal. Docum. de la XI Reunión Interam. - a nivel Ministerial sobre el control de la fiebre aftosa y otras zoonosis. OPS. Washington D.C.
- CALLIS, J.J., Hyde, J.L., Blackwell, J.H. and Cunliffe, R. (1975). Survival of - FMDV in milk and milk products. Bull. Off. Int. Epiz. 83 (3-4), pp -- 183-191.
- CARSE, W.A. (1973). Meat quality and the acceleration of post-mortem glycolysis by electrical stimulation. J. Food Techn. 8:163.
- CHRYSSTAL, B.B. and Hagyard, C.J. (1976). Electrical stimulation and lamb tenderness. N.Z.J. of Agr. Res. June: 7.
- CODE OF FEDERAL REGULATIONS ANIMALS AND ANIMAL PRODUCTS. USA. (1983)., Title 9, chapter 1, 94.4p. 313.
- COTTRAL, G.E. (1969). Persistence of Foot-and-Mouth disease in animals, their products and the environment. Bull. Off. int. Epiz. 71(3-4), pp 519--568.

- COTTRAL, G.E., Cox, B.F. and Baldwin, D.E. (1960). Survival of Foot-and-Mouth - disease virus in cured and uncured meat. *Am. J. Vet. Res.* March.
- CROSS, H.R. (1979). Effects of electrical stimulation on meat tissue and muscle properties. A review. *J. Food Sci.* 44:509.
- CUNLIFFE, H.R., Blackwell, J.H. (1977). Survival of FMDV in Casein and sodium - caseinate produced from the milk of infected cows. *J. Food Prot.* Vol.-40 N°6 pp 389-392.
- CUNLIFFE, H.R., Blackwell J.H. and Walker J.S. (1978) Persistence of FMDV in --- dried casein. *J. Food Prot.* Vol. 41 N°9 pp 706-707.
- CUNLIFFE, H.R., Blackwell, J.H., Dors, R. and Walker, J.S. (1979). Inactivation of milkborne Foot-and-Mouth disease virus at ultra high temperatures. - *J. Food Prot.* Vol. 42, N°2. pp 135-137.
- DE LAS CARRERAS, A. (1978). La fiebre aftosa y el comercio mundial de carnes. - Docum. de la XI Reunión Interamericana a nivel ministerial sobre el control de la fiebre aftosa y otras zoonosis. OPS. Washington D.C. P. 61.
- DHENNIN, E. et Labie, J. (1976). Thermorésistance du virus de la Dièvre Aphteuse dans le lait des vaches infectées. *Bull. Acad. Vet. de France*, 49,- pp 143-249.
- EUROPEAN ECONOMIC COMMUNITY. (1972). Council Directive 72/462/EEC. *Off. J. Eur. Comm. L.* 234:37.
- EUROPEAN ECONOMIC COMMUNITY (1978). Council Directive 78/695/EEC. *Off. J. Eur. Comm. L.* 234:37.
- GAGGINO, O.P., Ibarra, O.L., Sadir, A.M., Cacchione, R.A., Milese, D., Nicora, -- L. y Rivenson, S. (1977). Inactivación del virus de la fiebre aftosa en la caseína. *Bol. CEPANFA* 27-28:27-30.
- GARCIA VIDAL, W., Correa, C., Lazaneo, H., Huertas, S. y Urrestarazú, V. (1982). El uso de la estimulación eléctrica como método de alternativa en la maduración de la carne de países afectados por fiebre aftosa. *Proc. 28° Cong. Mundial de Inv. Carne* Madrid, España. pp 281-284.
- GRAVES, J.H. (1978). Foot-and-Mouth disease: A constant threat to U.S. Live--- stock. *JAVMA*, Vol. 174, N°2 p.174.
- HEIDELBAUGH, N.D. and Graves, J.H. (1968). Effects of some techniques applicable in food processing on the infectivity of Foot-and-Mouth disease virus. *Food Tech.* Vol. 22, N°2, pp 120-124.
- HENDERSON, W.M. and Brooksby, J.B. (1943). The survival of Foot-and-Mouth disease virus in meat and offal. *J. Hyg. Camb.* 46, p. 394.
- HYDE, J.L., Blackwell, J.H. and Callis, C.J. (1975). Effects of pasteurization - and evaporation on FMDV in whole milk from cows infected with FMDV. *Can. J. comp. Med.* 39, 305.
- KASTLE, P. et Moosbrugger, F.A. (1968). Destruction du virus aphteux par la chaleur dans les produits laitiers, *Arch. Tierheik* 110: pp 89-94.
- LAWRIE, R.A. (1963). Aspects of the Biochemistry of meat. *Int. J. Bioch.* Vol. 15, N°3, pp 233-242.
- LOCCUW P.W., Tiessink, J.W. and Vantekum, J.G. (1980) Aspects of heat inactivation of FMDV in milk from intramammarily infected susceptible cows. *J.-Hyg. Camb.* 84-159.
- Mc CAULEY, E.H., Auliqui, N.A. Sundquist, V.B., New, J.C. and Miller, W.M. (1977) A study of the potential economic impact of Foot-and-Mouth disease in - the USA. *Proc. 81st Ann. Meet. Health Assoc. Minnesota*. P. 248.
- Mc KENZIE, J.S., Slade, W.R., Lake, J., Friston, R.A., Bisby, J., Laing, S. and Newman, J. (1975). Temperature sensitive mutants of FMDV: The isolation of mutants and observation on their properties and genetic recombina--- tion. *J. Gen. Virol.*, 27, pp 61-70.
- PRESTON, P.T. (1978). Animal diseases and imported foods. *F. Tech. Australia.* -- nov. 78.

- ROBERTS, P.C.B. (1970). Foot-and-Mouth disease, its relation to Meat and Meat -- Processing. J. Food Tech. 5, pp 313-323.
- ROUX, A., Vallée, H., Carré, H. et Nocard, A. (1921). C.r. Hebd. Séance. Acad. - Sci. Paris 173, 1141.
- SAVELL, J.W., Smith, G.C. and Carpenter, Z.L. (1978). Beef quality and palata--- bility as affected by electical stimulation and cooler aging. J. Food - Sci. 44:911.
- SELLERS, R.F. (1968). Inactivation of Foot-and-Mouth disease virus in milk. Br. Vet. 125-163.
- SMITH, G.C., Dutson, T.R., Carpenter, Z.L. and Hostetler, R.L. (1977). Using --- electrical stimulation to tenderize meat. Proc. Meat Ind. Res. Conf. - 29:147.
- SMITH, G.C., Savell, J.W., Dutson, T.R., Hostetler, R.L., Terrell, R.N., Murphey, C.E., and Carpenter, Z.L.(1980). Effects of electrical stimulation on - the beef, pork, lamb and goat meat. Proc. 25th European Meeting of -- Meat Research Workers. Colorado Springs.
- STERN, J.A. and Proctor, B.E. (1954). A micromethod and apparatus for the multi- ple determination of rates of destruction of bacteria and bacterial --- spores subject to heat. Foot Tech. 8:139-14.