

Universidad Nacional
Escuela de Medicina Veterinaria
Facultad Ciencias de la Salud

Presencia de Maedi-Visna en hatos ovejeros de Costa Rica

Modalidad: Tesis

**Trabajo Final de Graduación para optar por el Grado
Académico de Licenciatura en Medicina Veterinaria**

Rodolfo Villagra Blanco

Campus Presbítero Benjamín Núñez

2013

Presencia de Maedi-Visna en hatos ovejeros de Costa Rica

TRIBUNAL EXAMINADOR

Firma: _____

Vicedecano: Dr. Rafael Ángel Vindas Bolaños.

Firma: _____

Directora: Dra. Laura Castro Ramírez.

Firma: _____

Tutora: Dra. Gaby Dolz Wiedner.

Firma: _____

Lector: Dr. Juan José Romero Zúñiga.

Firma: _____

Lector: Dr. Danilo Montero Caballero.

Fecha: _____

DEDICATORIA

A Dios, cuyo amor, poder y misericordia me ha permitido realizar este trabajo: *“Y poderoso es Dios para hacer que abunde en vosotros toda gracia, a fin de que, teniendo siempre en todas las cosas, todo lo suficiente, abundéis para toda buena obra.”* 2 Corintios 9:8.

A mis padres, Rodolfo Villagra Medina y Ruth Blanco Méndez, por su entrega desde el día que nací y por ser los mejores padres y guías de mi vida. Gracias por su experiencia, su sacrificio, sus consejos y su gran amor.

A mis tíos y padrinos, Francisco Soto Cordero y Aida Villagra Medina.

A mi hermana, Dra. Vivian Villagra, confidente y amiga desde mi niñez.

A mi novia y compañera, la Dra. Lora Angelova, que ha venido desde muy lejos a llenar mi vida de luz con su amor y su ternura.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Gaby Dolz, quien más que una tutora, ha sido como una madre para mí durante todo el transcurso de mi carrera y más allá. Gracias por confiar siempre en mí. Dios te bendiga siempre.

Al Dr. Danilo Montero, gracias por transmitirme su conocimiento en materia de salud de los pequeños rumiantes.

Al Dr. Juan José Romero por su gran ayuda profesional en los análisis estadísticos del presente trabajo.

A la Licda. Cecilia Carvajal, por su gran ayuda y guía profesional en los momentos difíciles.

A mis tutores de pasantía en Alemania: Dr. Michael Wendt, Dr. Martin Ganther, Dr. Mariam Kusenda, Dra. Ulrike Jöstingmeier, Dr. Matthias Meyers-Wilmes, Dra. Milena Dimova y Dra. Uta Schmidt, cuyos conocimientos tanto en grandes como en pequeñas especies enriquecieron mi práctica veterinaria con técnicas e ideas que no se ven todos los días.

A todos los doctores que me ofrecieron su ayuda profesional en la recta final de mi carrera: Dr. Rafael Ángel Vindas, Dr. Carlos Luna, Dr. Alejandro Alfaro, Dr. Juan Alberto Morales, Dra. Natalia Soto, Dr. Manuel Estrada, Dr. Juan Manuel Estrada, Dr. Roberto Estrada, Dr. Mauricio Jiménez, Dr. Juan José Solís, Dra. Maud Quintero y Dra. Denisse Aranda.

Al Dr. Mauricio Astúa, la Dra. María Luisa Crespo y la Dra. Eugenia Bermúdez que más que guías y amigos, siempre han sido para mí un claro ejemplo a seguir, por la actitud y los valores que cualquier ser humano necesita para desempeñarse como un excelente médico veterinario donde quiera que esté e independientemente de la especie a trabajar.

A todos los profesores, asistentes y funcionarios de la Escuela de Medicina Veterinaria-UNA, sin excepción alguna, cuya experiencia y conocimientos influyeron fuertemente en mi formación académica.

A mis compañeras de internado, Marta, Fernanda, Karol y Andrea, quienes me aceptaron como compañero, colega y amigo en las etapas finales de mis estudios.

A Daniel Vargas, Jenny Madrigal, María José de la Fuente y Vanessa Robles, que más que compañeros fueron los amigos más leales y que siempre creyeron en mí brindándome su confianza, su tiempo y su amistad.

A todos los productores que me abrieron las puertas de sus fincas y que acogieron este proyecto con mucho interés y respeto, con la esperanza de que la actividad ovicaprina en Costa Rica sea más próspera y ordenada.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

	Página
TRIBUNAL EXAMINADOR	i
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
ÍNDICE DE CONTENIDOS	v
ÍNDICE DE CUADROS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
LISTA DE ABREVIATURAS	viii
RESUMEN	ix
ABSTRACT	x
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Antecedentes	1
<i>1.1.1 Historia, distribución y epidemiología</i>	1
<i>1.1.2 Etiología</i>	3
<i>1.1.3 Transmisión</i>	3
<i>1.1.4 Patogénesis</i>	5
<i>1.1.5 Signos clínicos y hallazgos de necropsia</i>	6
<i>1.1.6 Diagnóstico</i>	7
<i>1.1.7 Prevención y control</i>	9
1.2 Justificación	11
1.3 Hipótesis	13
1.4 Objetivos	13
<i>1.4.1 Objetivo general</i>	13
<i>1.4.2 Objetivos específicos</i>	13
2. MATERIALES Y MÉTODOS	14
2.1. Tipo de estudio, tamaño de muestra y población de referencia	14
2.2. Toma de muestra sanguínea	17
2.3. Cuestionario realizado a los productores sobre el manejo de los hatos	17
2.4. Diagnostico serológico mediante ELISA	19
2.5. Definición de tipo de variables	20
3. RESULTADOS	22
4. DISCUSIÓN	32
5. CONCLUSIONES	36
6. RECOMENDACIONES	37
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38
8. ANEXOS	45
8.1. Encuesta a los productores ovinos	45
8.2. Esquema de control recomendado	49

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1: Número de animales y hatos analizados por región según afijación proporcional.....	15
Cuadro 2: Número de animales a analizados por hato, según tamaño basado en la fórmula de Cannon y Roe (10% de prevalencia esperada y 95% de nivel de confianza).....	16
Cuadro 3: Valores S/P obtenidos de las muestras ovinas analizadas mediante ELISA	22
Cuadro 4: Valores estadísticos de la serología realizada mediante técnica de ELISA.....	23
Cuadro 5: Número de animales positivos por región analizada.....	23
Cuadro 6: Número y porcentaje de animales aportados al estudio por las 15 fincas y distribución de individuos seropositivos según hato y región.....	25
Cuadro 7: Características de los animales detectados como seropositivos al VMV.....	26
Cuadro 8: Resultados de la encuesta realizada a los 15 hatos ovinos de Costa Rica para determinar las prácticas de manejo, prácticas de crianza de corderos y signos clínicos asociados al VMV.....	30

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1: Mapa de distribución de las fincas analizadas (puntos rojos) y fincas con animales positivos a VMV (rombos azules).....	24
Figura 2: Linfonodos celiacos aumentados en una oveja detectada seropositiva en ELISA.....	28
Figura 3: Histopatología de tejido pulmonar de una oveja detectada seropositiva a ELISA.....	29

LISTA DE ABREVIATURAS

ARN: Ácido Ribonucleico

ASOOVIAMCO: Asociación Ovicaprina Ambientalista Costarricense

BD Vacutainer[®]: Becton Dickinson Vacutainer[®]

EGRET[®]: Exploration and Graphics for RivEr Trends[®] (Software estadístico)

ELISA: Ensayo Inmuno-enzimático (Enzyme-linked Immunoabsorbent Assay)

EMV: Escuela de Medicina Veterinaria

IDGA: Inmunodifusión en Gel de Agar

LVPR: Lentivirus de los Pequeños Rumiantes (Lentivirus Small Ruminants)

MV: Maedi-Visna

OD: Densidad Óptica (Optical Density)

OIE: Oficina Internacional de Epizootias/Organización Mundial de Salud Animal

ONG: Organización No Gubernamental

OR: Razones de Probabilidad (Odds Ratio)

PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa (Polymerase Chain Reaction)

POD: Peroxidasa

S/P: Positividad de la Muestra (Sample-to-Positive)

UNA: Universidad Nacional

VAEC: Virus ArtritisEncefalitis Caprina

VMV: Virus Maedi-Visna

RESUMEN

A pesar de que el virus de Maedi Visna (VMV) está ampliamente distribuido en el mundo, la presencia de este lentivirus de los pequeños rumiantes en Costa Rica era desconocida. Un total de 359 sueros procedentes de 15 fincas ovinas de Costa Rica fueron analizados mediante inmunoensayo enzimático para determinar la presencia de anticuerpos contra el VMV. También se aplicó una encuesta a los productores ovinos participantes, para determinar medidas de manejo en cada hato y la presencia de síntomas compatibles con Maedi Visna. Se detectó siete animales seropositivos, procedentes de seis fincas. Los porcentajes de positividad intrahato se establecieron entre 0 a 7.1%. El virus se presentó ampliamente distribuido dentro de las diversas regiones del país, ya que los ovinos positivos fueron encontrados en cuatro (Central, Huetar Atlántico, Huetar Norte y Pacífico Central) de las cinco regiones analizadas. La seropositividad en dichas regiones fue baja (entre 0 y 0.84%) al igual que la prevalencia global (1,95%). Por otra parte, la encuesta reveló que el 52% de las fincas visitadas habían introducido animales (machos y hembras), embriones o semen procedentes de otros hatos o de otros países, sin ningún tipo de certificación sanitaria que garantizara el estatus seronegativo para VMV. Además, solamente cuatro (26%) de los 15 productores encuestados habían escuchado previamente sobre el VMV. Ninguno de ellos había implementado aún un banco de calostro ni pasteurización de la leche ovina. La leche de cabra fue el remplazador más utilizado para crianza de los corderos, sin embargo, solamente una de las fincas empleaba leche de cabra de animales seronegativos al virus de la Artritis Encefalitis Caprina. Se recomienda confirmar la presencia de VMV, por medio de aislamiento celular o técnicas moleculares.

ABSTRACT

Although Maedi-Visna Virus (VMV) was reported in most countries of the world; the presence of this small ruminant lentivirus in Costa Rica was unknown. A total of 359 sheep samples from 15 farms were analyzed for the presence of antibodies against VMV by immunoenzymatic assay. Also a survey was applied to the sheep owners to determine management measures and presence of clinical symptoms of Maedi-Visna in the flocks. Antibodies against VMV were detected in seven sheep from six different flocks, determining flock seropositivity percentages between 0 to 7.1%. The virus seemed to be distributed throughout the country, since the flocks with positive reactors were located in four (Central, Huetar Norte, Huetar Atlántico and Pacífico Central) out of five regions tested. The seropositivity detected in these regions was low, between 0% to 0,84%; as well as the global prevalence (1,95%). The survey revealed that 52% of the participating farms had introduced animals (males and females), embryos or semen from other farms or from abroad without any sanitary certification for VMV-free status. Only four (26%) out of 15 sheep farmers had heard before from VMV. None of the sheep farmers had implemented a bank with VMV free colostrum, and goat milk was the main milk substitute for the lambs, however, only one flock was aware to supplement milk from seronegative goats to Caprine Arthritis Encephalitis Virus. Confirmation of presence of VMV using isolation in cell culture or molecular methods is strongly recommended.

1 INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

1.1.1 Historia, distribución y epidemiología

Maedi-Visna (MV) es una enfermedad crónica multisistémica de los ovinos producida por un retrovirus exógeno, no oncogénico, de la familia Retroviridae, género Lentivirus. El virus de Maedi-Visna (VMV) pertenece al grupo de los lentivirus de los pequeños rumiantes (LVPR) junto al virus de la Artritis Encefalitis Caprina (VAEC). El VMV se manifiesta después de un largo período de incubación, que puede durar de meses hasta años, infectando a sus huéspedes de por vida, generando neumonías crónicas progresivas, mastitis linfocítica crónica, artritis y trastornos nerviosos tanto en caprinos como en ovinos (Pepin et al., 1998; DeMartini et al., 2000; Fournier et al., 2006).

La enfermedad fue descrita por primera vez en 1915 en Sudáfrica, donde se le conoce como enfermedad de Graaf-Reinet; posteriormente Marsh (1923), la reportó en Estados Unidos de América, donde aún se le denomina neumonía progresiva ovina. No obstante, fue en Islandia, donde se observó por primera vez, tanto su presentación respiratoria como nerviosa en un hato ovino de raza Karakul importado de Halle, Alemania, recibiendo el nombre oficial de Maedi-Visna. *Maedi* significa disnea, haciendo referencia a la neumonía crónica progresiva del ovino y *Visna* significa desgaste y hace mención a encefalitis y temblores nerviosos (Clemens y Zink, 1996; Murphy et al., 1999). Tanto en Islandia, como en otras áreas costeras del Mar del Norte, el virus alcanzó su máxima morbilidad y letalidad, atribuido principalmente a la extenuación e inmunosupresión de los animales expuestos a largas caminatas principalmente durante el otoño (Sigurdson et al., 1952). Posteriormente, la presencia de esta enfermedad fue

confirmada en varios países de Europa, tales como Francia (Lucam, 1942), Holanda (DeVries, 1959), Bulgaria (Pavlov, 1963) e Inglaterra (Stamp y Nisbet, 1963).

En el continente americano, la infección con el VMV ha sido descrita inicialmente en Canadá, donde se reportaron los primeros casos de MV en 1972 en un lote ovino de la provincia de Quebec (Bellavance et al., 1974); años más tarde se confirmó la introducción de dos machos de ese mismo lote en hatos de la provincia de Nueva Escocia, y con ello la presencia del VMV (Stevenson, 1978; Simard y Morley, 1991). También se ha reportado la presencia de este LVPR en diferentes estados de Estados Unidos de América, (Cutlip et al., 1977, Campbell et al., 1994; Keen et al., 1997) y en México (Molina et al. 1986). En Suramérica, Chacón y Naranjo (2004), publicaron el primer caso de MV en un hato ovino de la X Región de Chile importado de España y un año más tarde, detectaron el virus en tres hatos de ovejas Milchschaaff procedentes de Argentina en la XI Región determinando prevalencias intrahato desde 20,5% hasta 32,5%. A partir de dicho evento, se inició un plan de erradicación en los rebaños de la Patagonia chilena. Recientemente, Martínez et al. (2011) reportaron dos ovinos positivos a VMV procedentes de la región de Juazeiro-Bahía en Brasil. También se ha documentado la presencia de VMV en otras naciones de Suramérica como Perú (Snyder et al. 1983; Rosadio et al. 1984) y Argentina (Robles et al. 2003).

La enfermedad es actualmente bastante común en países altos productores de ovinos, con excepción de Australia y Nueva Zelanda. En la Unión Europea, las infecciones por LVPR y la implementación de programas de erradicación se han tornado en asuntos de importancia, independientemente de las prevalencias en sus estados miembros, al punto que algunos de ellos, como los Países Bajos e Islandia, se han convertido en los pioneros de la erradicación de MV en Europa y sus programas (plan de erradicación planteado en 1944 por el Instituto de Patología Experimental de Islandia y el Dutch National Voluntary

Maedi-Visna Control Program) aún sirven de ejemplo para otros países europeos tales como Francia, Alemania, Italia, España, Finlandia y Suiza (Murphy et al., 1999; Peterhans et al., 2004).

No obstante, es difícil comparar la prevalencia e incidencia de la infección por VMV en los diferentes lugares del mundo, ya que los estudios realizados se basan en diferentes pruebas serológicas, en diseños y tamaños de muestra muy diferentes (Leginagoika, 2010).

1.1.2 Etiología

El VMV es un virus de la familia Retroviridae, subfamilia Ortoretroviridae y género Lentivirinae. Es esférico, entre 90 a 120 nm de diámetro, envuelto y compuesto de una hebra sencilla de ARN, diploide. Emplea como células diana, monocitos y macrófagos. Este virus cuenta con la particularidad de integrarse en el genoma de las células, siendo sus infecciones persistentes y difíciles de controlar (Murphy et al., 1999; Leginagoika, 2010).

La proteína de cápside de este virus (p25) genera respuesta inmunológica y es de interés en el desarrollo de pruebas diagnósticas, mientras que la glicoproteína de superficie (gp135) es la responsable de la interacción viral con los receptores de la célula hospedera (Murphy et al., 1999).

1.1.3 Transmisión

Cualquier secreción que contenga macrófagos infectados con el VMV representa una potencial fuente de infección para otros animales sobre todo calostro, leche y secreciones pulmonares (Lujan et al., 1994; McNeilly et al., 2008).

La principal ruta de transmisión entre la oveja infectada y su progenie lo constituye la leche materna y el calostro, ya que contienen leucocitos, de los cuales 60% son macrófagos y 25% linfocitos (Alvarez et al., 2000; Philpot, 2001; Wolter et al., 2004). Recientemente, Preziuso et al. (2004) demostraron la absorción de partículas virales que se liberan de los monocitos y macrófagos del calostro infectado, alojándose en las células epiteliales del intestino del cordero recién nacido y seguidamente, en las células mononucleares del tejido linfoide subyacente (placas de Peyer y linfonodos mesentéricos).

Según Brodie et al. (1994), la transmisión intrauterina constituye una vía de infección para un 10% de los corderos nacidos de madres seropositivas (Blacklaws et al., 2004).

La transmisión horizontal se da por monocitos y macrófagos infectados con el VMV por medio de aerosoles, infectando otros animales a pocos metros de distancia y en constante contacto, indiferentemente de sus edades o sexos. Este tipo de transmisión puede ocurrir en cualquier etapa de la vida del ovino y ocurre especialmente en hatos estabulados y con altas densidades (Fournier et al., 2006).

También es posible la transmisión de VMV, a través de la transferencia de embriones. Por otra parte, el semen ha demostrado contener el virus, pero su rol en la transmisión de VMV aún no ha sido determinado (Perdigones 2004; Herrmann-Hoesing et al., 2010; Leginagoika, 2010).

La transmisión iatrogénica (maquinas de ordeño sucias o mal desinfectadas, contacto con botas, delantales, vestimenta o equipo contaminado) conforman también una importante vía de infección (DeMartini et al., 2000; Peterhans et al., 2004).

1.1.4 Patogénesis

Los LVPR son virus que poseen predilección por células mononucleares, produciendo una viremia que se mantendrá de por vida en el animal. Una vez que el VMV ingresa en los monocitos, integra su genoma viral en los cromosomas celulares (provirus) y es transportado y distribuido por el torrente sanguíneo y pasa desapercibido por el sistema inmune (Ackermann et al., 2007).

La infección persistente del VMV se basa en la integración del provirus en el genoma de la célula hospedera, su replicación preferencial dentro los macrófagos y la producción de anticuerpos no neutralizantes. Todos estos factores inducen una enfermedad crónica, ya que el virus escapa de la respuesta inmune humoral. Los daños que ocasionan son procesos inmuno-patológicos. La persistencia viral inicia cuando los macrófagos locales están afectados y transportan consigo el virus a los linfonodos regionales y posteriormente se distribuye por todo el cuerpo. En la sangre, continúa la infección de los monocitos, donde no se realiza una replicación del retrovirus (latencia en forma proviral es posible durante largos periodos de tiempo). Luego de la migración de los monocitos en los tejidos diana y la maduración de los macrófagos comienza la replicación del virus. El VMV se puede diseminar directo de célula a célula y de esta manera eludir el sistema inmune (Ackermann et al., 2007).

La expresión génica del VMV aumentará durante la maduración de los monocitos a macrófagos, proceso que vendrá acompañado de una respuesta inmune por parte del hospedador, que logrará controlar inicialmente la viremia pero no la eliminación del virus. Los macrófagos iniciarán durante la fase de latencia, la producción de citoquinas y se generará una infiltración leucocitaria que causará lesiones intersticiales típicas de la enfermedad. Se cuenta con diversos grados de éxito en función de la cepa infectante y el perfil genético del animal. Cepas altamente patogénicas producirán sincitios rápidamente

con el título de replicación y un grado de lisis mayor, lo cual generará signos más drásticos de enfermedad (Ackermann et al., 2007).

No obstante, la extensión de la inflamación en los órganos diana y su aspecto dependerá de la genética del animal y no tanto de la patogenicidad de la cepa viral (Perdigones, 2004; Leginagoika, 2010).

Se ha demostrado recientemente que los anticuerpos, en principio, también son capaces de neutralizar el virus en la superficie de los macrófagos, no obstante, la afinidad de la unión virus-macrófago supera a la unión de virus-anticuerpo, sugiriendo que los anticuerpos neutralizantes pueden ser incapaces de prevenir la propagación del virus entre los macrófagos. Además se argumentó que los determinantes de neutralización de ciertas cepas virales no pueden ser detectados por los anticuerpos y que la aparición de variantes antigénicas puede ser otro factor que contribuye al fracaso de los anticuerpos en el control inmunológico de la enfermedad (Pepin et al., 1998).

1.1.5 Signos clínicos y hallazgos de necropsia

Los animales que manifiestan signos clínicos evidencian dificultad respiratoria que se agrava progresivamente, al mismo tiempo que el animal comienza a perder condición corporal. Estas dos manifestaciones clínicas son las más evidentes y comunes en ovejas adultas portadoras del virus. Pese a lo severo del cuadro neumónico, los animales no presentan fiebre y no responden al tratamiento con antibióticos (Bulgin, 1990; Tórtora, 2012).

Los animales afectados por Maedi suelen parir crías pequeñas y débiles, incluso desarrollan mastitis indurativas e inflamación articular (artritis), principalmente en tarsos y carpos. Finalmente, el animal muere en cuestión de seis a ocho meses debido

principalmente a una severa anorexia e infecciones bacterianas (*Pasteurella multocida* ó *Arcanobacterium pyogenes*) o afecciones parasitarias secundarias (*Dictyocaulus* ó *Protostrongylus*) (Campbell et al., 1998; DeMartini et al., 2000).

Por otro lado, los ovinos que padecen sintomatología nerviosa, compatible con Visna, muestran trastornos en la marcha, seguido de paraplejía progresiva de los miembros posteriores y finalmente cuadriplejía y debilidad generalizada (Petursson et al., 1990).

Los pulmones del ovino afectado por una neumonía progresiva crónica por VMV son marcadamente pesados, de color gris pálido y no colapsan tan fácilmente cuando se realiza la apertura del tórax. Los linfonodos bronquiales y mediastínicos se observan notablemente agrandados, blancos y edematosos. La glándula mamaria suele mostrar infiltrados de linfocitos, células plasmáticas y macrófagos atrapados en el septo alveolar y alrededor de los vasos sanguíneos. Las articulaciones muestran osteoartritis crónica por infiltración de células mononucleares e hiperplasia sinovial. Además, la extracción de líquido cefalorraquídeo revela una pleocitosis mononuclear, desmielinización e infiltración mononuclear de la leptomeninge (Campbell et al., 1998; DeMartini et al., 2000).

1.1.6 Diagnóstico

El diagnóstico de VMV se basa en los signos clínicos, hallazgos patológicos e histopatológicos, así como en las técnicas de diagnóstico que se realizan en el laboratorio; las mismas pueden clasificarse en pruebas directas que diagnostican el virus o antígenos y las pruebas indirectas que diagnostican la presencia de anticuerpos (Murphy et al., 1999; Perdigones, 2004; Leginagoika, 2010).

El aislamiento viral es el método etiológico tradicional para demostrar la presencia del VMV (prueba de oro). El VMV puede ser aislado utilizando líneas celulares específicas

y altamente vulnerables a la infección por VMV como lo son las células del plexo coroideo, células epiteliales de la glándula mamaria, células de la membrana sinovial, tejido pulmonar y fetos de ovinos, donde generan un efecto citopático, lisis celular y formación de células gigantes multinucleadas. Esta técnica requiere de laboratorios especializados con personal altamente capacitado, ya que es un procedimiento laborioso, que requiere mucho tiempo y es muy costoso (Cutlip et al., 1977; Leginagoika, 2010).

La detección del virus por medio de técnicas moleculares como la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) tiene la ventaja de que el resultado se obtiene en cuestión de dos a tres días, es altamente sensible y muy específico (Pepin et al., 1998).

Las técnicas indirectas que se han desarrollado para el diagnóstico de VMV son la Inmunodifusión en Gel de Agar (IDGA) y el ensayo inmuno-enzimático (ELISA) que determinan la presencia de anticuerpos en el suero contra las proteínas de la cápside y envoltura del virus de Maedi-Visna (Leginagoika, 2010). Estas pruebas deben contar con alta especificidad y alta sensibilidad (ambas mayores al 95%), ya que la mayoría de los animales seropositivos no suelen mostrar signos clínicos de la enfermedad, representan una fuente de infección y son potentes transmisores del virus dentro del hato. (Herrmann-Hoesing et al., 2010).

La IDGA es la más utilizada para la detección de anticuerpos contra el VMV, ya que es un método muy económico, fácil y rápido de realizar. Es actualmente el ensayo de referencia en Europa para el diagnóstico de VMV gracias a su alta especificidad (Perdigones, 2004; Lombardi et al., 2009).

Los ensayos de ELISA permiten la detección temprana de la infección y la valoración semicuantitativa de los anticuerpos, debido principalmente a su gran sensibilidad, al mismo tiempo que hace posible la evaluación de un gran volumen de muestras al mismo tiempo (Perdigones, 2004). Tanto ovinos como caprinos inician la

seroconversión (producción de anticuerpos) desde las dos semanas y hasta los ocho meses post-infección.

Se ha sugerido que la heterogeneidad de los epítomos inmunodominantes del antígeno de la envoltura viral que se utiliza en los test serológicos podría afectar la sensibilidad de los mismos. Por ello, de cara a las campañas de control y erradicación se propone el desarrollo de ensayos de ELISA que contengan antígenos específicos de la cepa predominante en la zona estudiada (Leginagoika, 2010).

1.1.7 Prevención y control

La Legislación Internacional de la Organización Mundial de Salud Animal (OIE) plantea en su Código Sanitario para los Animales Terrestres, el reporte inmediato de MV, así como una serie de exigencias para aquellos productores que posean animales seropositivos a LVPR y por recomendación deseen iniciar con un programa de mejoramiento genético (Manual Terrestre de la OIE, 2008).

Las medidas de control a nivel de hato se basan en el sacrificio de los animales seropositivos (cuando su número es bajo y es rentable su reemplazo), separación de los mismos de animales seronegativos (hatos cerrados, separación inmediata de corderos nacidos de madres seropositivas, compra de animales en hatos seronegativos) y la aplicación de buenas medidas de manejo (pasteurización del calostro, banco de calostro de ovejas seronegativas, alimentar los corderos con leche caprina libre de VAEC, uso de reemplazador para corderos y cabritos, uso de pediluvios, remoción de las placentas, estrictas medidas de higiene durante el ordeño, bioseguridad en vestimenta, equipos y accesorios a utilizar en la finca). Además, es importante prestarle atención a los animales

que habitan en instalaciones cerradas y con mala ventilación. Cuando la prevalencia es alta y es difícil encontrar animales de reposición no infectados, una alternativa viable es dividir el rebaño en dos grupos segregando los animales infectados de los que no lo están. No obstante la implementación de este sistema es costosa, requiere contratación de más personal y es lenta en cuanto a la eliminación del VMV dentro de la finca (León et al., 1996; Pugh, 2002; Perdigones, 2004; Peterhans et al., 2004; Leginagoika, 2010; Tórtora, 2012).

Los programas de erradicación de MV a nivel regional, se han basado principalmente en la determinación de la presencia del virus, identificación de su distribución a través de muestreos periódicos y masivos, restricción del movimiento de animales (cuarentenas) y el saneamiento simultáneo de las naciones ó regiones afectadas (sacrificio sincronizado de todos los animales seropositivos), táctica utilizada en países como Malta, Polonia, Bélgica y Suiza. Estas cuatro estrategias fueron aplicadas en Islandia, donde ocurrió el primer brote mundial de MV y que actualmente cuenta con hatos libres del virus. Algunos programas de erradicación incluyen también medidas de zonificación para evitar el reingreso del agente (Chacón y Naranjo, 2004; Perdigones, 2004).

Las principales limitantes de los programas de erradicación son: la falta de registros para identificar correctamente a los animales seropositivos, las bajas prevalencias intrahato que dificultan la determinación de los animales seropositivos y el alto costo del diagnóstico serológico cuando se realiza masivamente y de manera intensiva. Para solventar esta última limitante, recientemente se han realizado convenios entre las autoridades de salud animal, organizaciones no gubernamentales (ONG), asociaciones de productores y cadenas de mercadeo de productos ovinos y caprinos, en búsqueda de subsidios y financiamiento

adicional para impulsar y mantener las iniciativas de programas de erradicación de MV (Chacón y Naranjo, 2004; Menzies, 2006; Leginagoika, 2010).

Debido a la ausencia de vacunas y tratamientos efectivos contra los LVPR, el diagnóstico serológico constituye el eje central de la mayoría de los esquemas implementados para controlar y prevenir su diseminación, ya que los individuos permanecen asintomáticos de por vida (Pepin et al., 1998; Saman et al., 1999; DeMartini et al., 2000; Preziuso et al., 2003).

1.2 Justificación

En Norteamérica, MV está catalogada como una de las principales enfermedades económicas de las explotaciones ovinas, reportándose una prevalencia de 26% en 29 estados de los Estados Unidos de América y generando pérdidas en gran número de animales (De la Concha-Bermejillo, 1997). En Canadá, 77 de cada 10.000 necropsias en ovinos, reportan como diagnóstico laboratorial, Maedi-Visna (Campbell et al., 1994). El virus genera una notable disminución en la producción de carne, lana y leche; en este último rubro las pérdidas alcanzan hasta un 10% debido a mastitis indurativa. En las regiones del noroeste de Sao Paulo, Brasil, se determinó una seroprevalencia de MV de 2,7% en hatos ovinos (Lombardi et al., 2009; Martínez et al., 2011). Pese a estos antecedentes, el estatus de MV en los hatos ovinos de la gran mayoría de países en vías de desarrollo es aún desconocido, esto debido principalmente a la ausencia de ensayos diagnósticos y programas de vigilancia (Pugh, 2002; Smith y Sherman, 2011).

En Costa Rica, se ha reportado la presencia de VAEC por Jiménez-Sánchez et al. (1992) y George (1995), siendo confirmado más tarde por Fallas (2008). No obstante, la presencia de VMV en los hatos ovinos de nuestro país no había sido estudiada hasta la

fecha. La población ovina en Costa Rica, va a en aumento; se estima que hay aproximadamente 25 000 animales, según datos aportados por la Asociación Ovicaprina Ambientalista Costarricense (ASOOVIAMCO). Por consiguiente, es importante implementar herramientas de diagnóstico y determinar la presencia de VMV en el país.

Debido a la carencia de reportes sobre la presencia de este retrovirus en los hatos ovinos de Costa Rica, el presente trabajo pretendió proyectar los primeros datos sobre la presencia del VMV en el país, procurando a su vez que esta información, fuera de utilidad para las autoridades nacionales de salud animal, las asociaciones de productores ovinos, los programas de salud planteados para el control y erradicación de enfermedades de los pequeños rumiantes en Costa Rica y futuras investigaciones en relación con este virus.

1.3 Hipótesis

H₀: No existen animales seropositivos al VMV en los hatos ovinos analizados.

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo general

Determinar la presencia de anticuerpos contra el VMV en hatos ovinos de Costa Rica.

1.4.2 Objetivos específicos

Determinar la presencia de anticuerpos contra el VMV, mediante un ensayo inmunoenzimático en 15 hatos de Costa Rica.

Describir los factores asociados con la seropositividad al VMV a nivel individual, mencionados en la literatura, e identificados en hatos ovinos de las distintas zonas de Costa Rica.

2 MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Tipo de estudio, tamaño de muestra y población de referencia

Se realizó un estudio de tipo descriptivo, transversal, cuyo fin fue determinar la presencia o ausencia de anticuerpos contra el VMV.

El tamaño de muestra requerido se calculó con una población de 25000 animales (1% prevalencia global esperada, 95% nivel de confianza), obteniéndose un total de 300 ovejas. Según el Censo realizado recientemente por el Programa de Investigación y Transferencia de Tecnología Agropecuaria (PITTA-MAG), en el país se contabiliza un total de 138 hatos ovinos. Se asumió una misma posibilidad de infección en las fincas dado que se desconocía si existe o no el agente, con condiciones de manejo similares en la mayoría de las fincas. Así, todos los animales dentro de cada finca tienen la misma posibilidad de estar infectados.

Se incluyeron en este estudio, un total de 15 hatos; 13 de 80 hatos registrados en ASOOVIAMCO, más dos hatos no registrados. Todos ellos estuvieron dispuestos a participar en la presente investigación.

Dentro de cada región se realizó una selección aleatoria de fincas. Según afijación proporcional, las fincas se distribuyeron de la siguiente manera: siete en la Región Central (46%), dos en la Región Chorotega (13,5%), dos en la Región Pacífico Central (13,5%), dos en la Región Huetar Norte (13,5%) y dos en la Región Huetar Atlántica (13,5%) (Cuadro 1). Las razas muestreadas fueron las siguientes: Dorper, Pellybuey, Kathadin, Blackbelly, Texel, Suffolk, Santa Inés y sus cruces.

Dentro de cada finca, se calculó el número de animales a muestrear para determinar la presencia ó ausencia de individuos seropositivos (Cuadro 2), basándose en un 10% de prevalencia intrahato esperada, 95% de nivel de confianza y utilizando la fórmula descrita por Cannon y Roe (1982) que se presenta a continuación:

$$n = (1 - (1 - P)^{1/d}) * \left(N - \frac{(d - 1)}{2} \right)$$

Donde:

N = tamaño de la población

n= el tamaño de la muestra

P= nivel de confianza (0.95)

d= número de casos detectables en la población

Cuadro 1: Número de animales y hatos analizados por región según afijación proporcional.

Región del país	Total hatos	Número de fincas analizadas	Porcentaje fincas	Número de ovejas analizadas
Chorotega	21	2	13,5%	45
Central	68	7	46,0%	150
Huetar Atlántica	14	2	13,5%	30
Huetar Norte	21	2	13,5%	45
Pacífico Central	14	2	13,5%	30
TOTAL	138	15	100%	300

Cuadro 2: Número de animales a analizar por hato según tamaño basado en la fórmula de Cannon y Roe (10% prevalencia esperada y 95% nivel de confianza).

Número de animales en la finca	Número de animales requeridos
< 15	10
16-20	16
21-28	17
29-37	18
38-40	20
40-48	21
49-58	22
59-61	23
62-80	24
81-109	25
110-159	26
160-289	27
290-889	28

Para calcular el porcentaje de positivos específico por región y la seropositividad intrahato, se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ positivos por región o hato} = \frac{\text{Número de animales positivos por región ó hato}}{\text{Total de animales analizados de la región ó hato}} \times 100$$

Por otra parte, el cálculo de la seropositividad global se realizó de la siguiente manera:

$$\text{Seropositividad global} = \frac{\text{Número de animales positivos por región}}{\text{Total de animales analizados}} \times 100$$

2.2 Toma de la muestra sanguínea

La toma de muestras de sangre se efectuó en la vena yugular realizando previa desinfección del cuello por medio de torundas de algodón impregnadas de alcohol. Para que el proceso de sangrado fuera rápido, eficiente y con mínimo estrés pensando en el bienestar de los animales, se utilizó agujas tipo BD Vacutainer® 22Gx1” con el respectivo capuchón plástico, ajustado a tubos al vacío para suero (sin anticoagulante) de 6 ml. Las muestras se transportaron en hieleras acondicionadas con geles refrigerantes al Laboratorio de Entomología y Medicina Poblacional de la Escuela de Medicina Veterinaria, UNA, donde se centrifugaron por 5 minutos a 10000 g para separar el suero mediante la centrífuga modelo 225 de la marca Fisher Scientific®; luego se decantaron los sueros en tubos tipo Eppendorf® de 1,5 ml debidamente identificados. Los tubos se colocaron en cajas de cartón debidamente rotuladas y finalmente se congelaron a -20°C hasta su procesamiento.

2.3 Cuestionario realizado a los productores sobre el manejo de los hatos

Inmediatamente después del muestreo en campo, los productores fueron interrogados por el investigador principal utilizando un cuestionario donde se les preguntó sobre algunos factores relacionados con el manejo del hato, crianza de los animales o directamente sobre la enfermedad (Anexo 8.1).

Factores de manejo: Uso de estabulación (ER), acceso restringido a los corrales (AccRestr), áreas de cuarentena para animales enfermos (ACAE), historia de problemas de ventilación en los apartos (PVE).

Factores relacionados al flujo de animales: Importación de animales o pajillas de semen del extranjero (IAPI), remplazo con animales propios de la finca (RAPF), compra de animales a otras fincas (COF).

Factores de crianza: Uso de leche mastítica para cría de corderos (ULOM), uso de corrales para cría de corderos (CSCC), uso de remplazador para corderos (URC), amamantamiento restringido (SCDP), banco de calostro ovino (BCC).

Factores asociados a transmisión iatrogénica: Separación de las ovejas con mastitis (SOM), cuarentena de animales con problemas respiratorios (SAPR), uso de potreros de maternidad (UPM), arete único para cada animal (AU), uso de una misma aguja para aplicar medicamentos o vacunas (UMA) y desinfección de la máquina tatuadora (DT).

Signos clínicos observados en los animales: Mastitis (Mast), problemas respiratorios en general (PRG), casos de artritis (Art), alteraciones de la marcha asociados a problemas nerviosos (AM), mareos o caminatas en círculo (MCeC).

Otros: Conocimiento básico sobre los LVPR.

Con las respuestas obtenidas en la encuesta, se editó una base de datos utilizando los programas Excel de Microsoft Office® y EGRET®, siendo la variable finca la que confirió el efecto de hato.

2.4 Diagnóstico serológico mediante ELISA

Se utilizó un ensayo inmunoenzimático (ELISA IDScreen[®] Maedi-Visna Indirect) de la casa comercial francesa IDVet[®], Montpellier, Francia. Este ensayo reportó una sensibilidad y especificidad de 100% (Comtet et al., 2010).

La metodología utilizada fue la recomendada por la casa comercial IDVet[®]: Las muestras de suero a analizar y los sueros controles se diluyeron 1/20 en solución de dilución y se colocaron 200 µl en cada pozo, los cuales venían recubiertos con proteínas de cápside y proteínas de envoltura del VMV. Las mismas se dejaron en incubación por 45 minutos a temperatura ambiente y luego se lavaron 3 veces con 300 µl de solución de lavado. Inmediatamente, a cada pozo se le agregó 100 µl de solución de conjugado (anti-IgG ovino POD) y se incubó nuevamente 30 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente se vaciaron los pozos y se lavó la placa nuevamente 3 veces con 300 µl de solución de lavado. Después se añadió 100 µl de solución substrato (TMB) a cada pozo y se realizó una incubación final por 15 minutos a temperatura ambiente en un área oscura. Posterior a ese tiempo se agregó 100 µl de solución de parado (H₂SO₄, 0.5 M) a cada pozo para detener la reacción.

En el lector de ELISA marca Thermo LabSystems Multiskan Ex[®], se realizó la lectura a 450 nm. Para que el ensayo fuese válido, el valor promedio de la densidad óptica del control positivo (OD_{PC}) debió ser mayor a 0,350 y la diferencia de los promedios de los controles positivos (OD_{PC}) y negativos (OD_{PN}) mayor a 3.

El valor S/P de cada muestra se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$S/P = \frac{OD_{\text{muestra}} - OD_{\text{NC}}}{OD_{\text{PC}} - OD_{\text{NC}}}$$

Muestras con S/P igual o menor a 50% se consideraron negativas, muestras con valores S/P entre 50% a 60% se consideraron sospechosas y con valores mayores a 60% positivas.

2.5 Definición del tipo de variables

Estatus serológico: Variable categórica dicotómica (positivo, negativo). Condición inmunológica, caracterizada por la presencia o ausencia de anticuerpos específicos contra Maedi-Visna en el suero ovino.

Tamaño del hato: Variable cuantitativa discreta (< 15, 16-20, 21-28, 29-37, 38-40, 40-48, 49-58, 59-61, 62-80, 81-109, 110-159, 160-289, 290-889). Según Shuaib et al. (2010), es posible encontrar al menos un animal positivo a MV en hatos con más de 70 animales que en fincas con un total de individuos menor a dicha cantidad.

Raza: Variable categórica. (Dorper, Pellybuey, Kathadin, Blackbelly, Texel, Suffolk, Santa Inés y sus cruces).

Flujo de animales: Variable categórica dicotómica (abierto, cerrado). Transferencia de ovinos de una finca a otra, la cual pudo realizarse o no en un momento determinado dentro del periodo de existencia de la misma.

Forma de explotación: Variable categórica dicotómica (extensivo, intensivo). Sistema de producción ovina caracterizado por ser de tipo intensivo o extensivo. Según Campbell et al. (1994) y Shuaib et al. (2010), la transmisión horizontal en explotaciones intensivas es una variable que potencia la transmisión por leche y calostro; ya que en dicho sistema hay mayor contacto y transmisión de MV de las madres entre sí, que posteriormente y una vez ya infectadas, transmitirán el virus a su progenie.

Historia de signos clínicos: Variable categórica dicotómica (ausentes, presentes).

Condición clínica, determinada según la presencia o ausencia de síntomas de enfermedad generados por MV: tos seca, disnea respiratoria progresiva sin fiebre, respiración abdominal forzada, descarga nasal mucopurulenta, mastitis linfocítica crónica, agalactia, artritis, cojera, pérdida de condición corporal y enfermedad musculo-esquelética asociada a trastornos nerviosos.

3. RESULTADOS

De un total de 359 muestras analizadas, siete animales (1,95%) resultaron positivos al VMV, de los cuales, cinco (71%) reportaron S/P mayores a 101 y dos (29%) valores S/P entre 61 y 70. Un total de 343 (95%) mostraron S/P iguales o menores a 20. No se detectó ovinos dentro del rango de sospechosos (S/P entre 50-60) (Cuadro 3). Los valores estadísticos de la serología realizada mediante ELISA se muestra en el Cuadro 4.

Cuadro 3: Valores S/P obtenidos de las muestras ovinas analizadas mediante ELISA.

% OD (S/P)	Individuos
>101	5
91-100	0
81-90	0
71-80	0
61-70	2
50-60	0
41-49	3
31-40	2
21-30	4
11-20	15
1-10	294
0	32
<0	2
TOTAL	359

Cuadro 4: Valores estadísticos de la serología realizada mediante técnica de ELISA.

	Positivos	Negativos
PROMEDIO	129	-4
Valor Mínimo	63	-1
Valor Máximo	170	49
Mediana	147	2
Desviación estándar	44	6
Percentil 25	108	1
Percentil 75	154	4

La seropositividad global determinada fue de 1,95% (7/359). En cuatro (Central, Huetar Atlántica, Huetar Norte y Pacífico Central) de las cinco regiones analizadas se encontró animales seropositivos. La seropositividad en dichas regiones se determinó entre 0% y 0,84%. Además, no se encontraron ovinos seropositivos en las fincas de la región Chorotega (Cuadro 5). La región Pacífico Sur (Brunca) no se analizó, ya que no se encontró fincas dispuestas a participar en el estudio.

Cuadro 5: Número de animales positivos por región analizada.

Región	Número de hatos analizados	Hatos positivos	Animales analizados	Animales positivos	Positivos por región	Seropositividad global
Chorotega	2	0	51	0	0 %	0 %
Central	7	2	159	3	1,88 %	0,84%
Huetar Atlántica	2	1	47	1	2,13 %	0,28 %
Huetar Norte	2	1	47	2	4,25 %	0,56 %
Pacífico Central	2	1	55	2	1,82 %	0,28 %
TOTAL	15	5	359	7		1,95%

Los siete ovinos seropositivos se encontraron en seis diferentes fincas (Figura 1), determinándose porcentajes de positividad intrahato muy bajos (0% a 7,1%) (Cuadro 6). Únicamente en una de las 15 fincas se encontró dos animales positivos, mientras que en las restantes cinco fincas se determinó solamente un animal seropositivo.

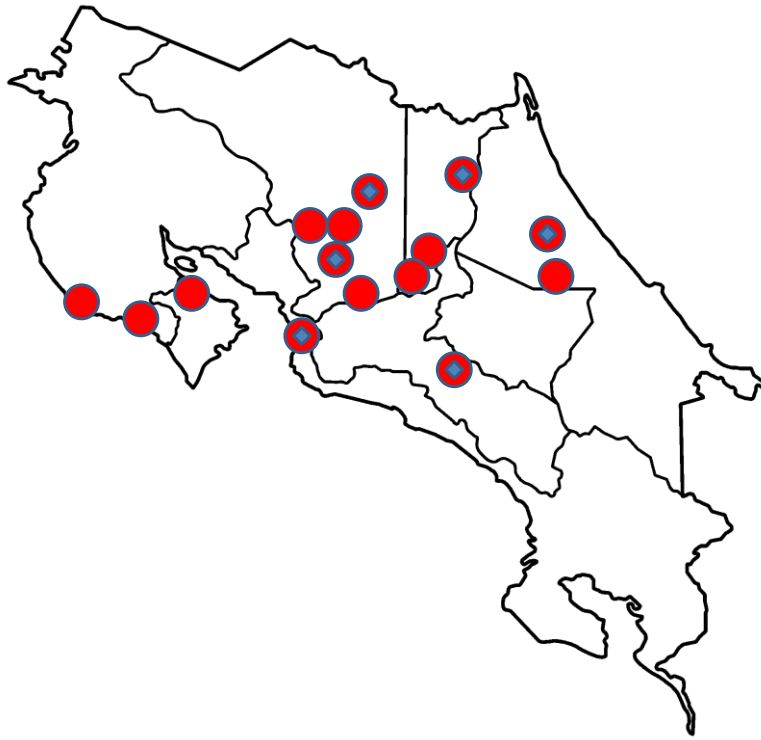


Figura 1: Mapa de distribución de las fincas analizadas (puntos rojos) y fincas con animales positivos a VMV (rombos azules).

Cuadro 6: Número y porcentaje de animales aportados al estudio por las 15 fincas y distribución de individuos seropositivos según hato y región.

Región	Finca	# animales en la finca	Animales aportados (%)	Positivos/Total muestreado	Seropositividad intrahato (%)
Central	14	300	7,80	2/28	7,1
Central	13	220	7,24	1/26	3,8
Central	9	136	7,52	0/26	0
Central	8	103	6,69	0/25	0
Central	12	100	6,96	0/25	0
Central	7	80	6,96	0/25	0
Central	15	4	1,13	0/4	0
Chorotega	3	140	7,24	0/26	0
Chorotega	2	115	6,96	0/25	0
Pacífico	5	500	7,52	0/27	0
Pacífico	10	200	7,80	1/28	3,6
Huetar Norte	1	200	5,85	1/21	4,8
Huetar Norte	6	131	7,24	1/26	3,8
Huetar Atlántico	11	350	7,52	0/27	0
Huetar Atlántico	4	30	5,57	1/20	5,0
TOTAL		2609	100,00	7/359	21,45

El análisis descriptivo de los siete animales seropositivos se muestra en el Cuadro 7. La mayoría de estos ovinos (seis) eran animales adultos entre tres a siete años de edad, no obstante, sólo tres animales presentaban sintomatología respiratoria (tos seca, estornudos frecuentes, respiración abdominal forzada y descarga nasal mucopurulenta al momento del muestreo). En ninguno de los animales se reportó trastornos nerviosos asociados a MV. En cuanto a la procedencia, se determinó que al menos cuatro animales seropositivos fueron introducidos recientemente a las fincas, mientras que solamente un animal había nacido en la finca y en los dos casos restantes se desconocía su procedencia. En dos hembras (una sin y otra con sintomatología respiratoria) se reportó historia de

abortos consecutivos, baja condición corporal, agalactia y parasitosis al momento de la toma de muestra.

Cuadro 7: Características de los animales detectados como seropositivos al VMV.

Animal Positivo	1	2	3	4	5	6	7
Número de finca	1	4	6	10	13	14	14
Valor S/P	146	69	63	147	147	170	161
Sexo	Hembra	Macho	Hembra	Hembra	Hembra	Macho	Hembra
Edad	7 años	3 años	3,4 años	3 años	3 años	2 años	2 años
Raza	Kathadin / Dorper	Pellybuey	Pellybuey / Dorper	Pellybuey	Blackbelly / Kathadin	Dorper	Kathadin / Dorper
Síntomas	+	+	+	+	-	-	-
Procedencia	Extrahato	Extrahato	Extrahato	Extrahato	Intrahato	N/R	N/R
Visitas veterinarias	Mensual	Nunca	Anual	Nunca	Bianual	Anual	Anual
Dificultad Respiratoria	+	+	+	+			
Descarga Nasal	+	+	+				
Tos seca	+	+	+				
Estornudos	+	+	+				
Respiración Abdominal Forzada	+	+	+	+			
Temblores musculares	+						
Mareos o caminatas en círculo							
Agalactia			+	+			
Artritis							
Abortos			+	+			
Destino final	Eliminado	Murió	Murió	Necropsia	Venta	Separación	Separación

Un animal seropositivo (el animal número 4 en el Cuadro 7) que presentaba historia de abortos consecutivos, agalactia, pérdida progresiva de condición corporal pese a llevar un riguroso protocolo de desparasitación y dificultad respiratoria sin la presencia exudados mucopurulentos, fue sacrificado y remitido al Servicio de Patología de la Escuela de Medicina Veterinaria, UNA, para necropsia. Se observó un aumento de los linfonodos

mesentéricos y celiacos (Figura 2). A nivel pulmonar, la histopatología reveló una neumonía intersticial aguda, con infiltrados de linfocitos y macrófagos alveolares en el intersticio alveolar (Figura 3). No se estableció alteración alguna en tejido nervioso ni articulaciones, tampoco signos de mastitis indurativa.

En el Cuadro 8 se presentan las respuestas obtenidas en la encuesta a los 15 productores ovinos de los hatos participantes.

Solamente una (7%) de las 15 fincas no utilizó sistema de estabulación, permitiendo que los animales permanecieran en potreros abiertos durante el día, sin embargo, estabulaba sus animales durante las noches. El acceso restringido de terceros para ingresar en los corrales donde se encuentran los animales, fue otra medida intrahato que aplicó más del 71% de las fincas visitadas. El uso de corrales exclusivos para la cría de corderos y el uso de áreas de cuarentena fueron medidas de manejo intrahato aplicadas en ocho fincas (56%).

Asimismo, más de la mitad de los encuestados (52%) afirmó haber importado animales o pajillas de semen sin ningún tipo de control ni certificación de que estuvieran libres de LVPR. Igualmente sucedió con la venta y préstamo de reproductores a otras fincas, ya que más de la mitad de los productores (59%) afirmaron realizar estas prácticas, debido al alto costo de mantener un buen reproductor o bien, otros aseguraron haber comprado animales a terceros que comercializaban ovejas y cabras de otras regiones del país u otros naciones, sin información sobre el estatus serológico de los hatos y de donde provenían los animales.

La mayoría de los hatos encuestados ejecutaban medidas básicas de manejo de los casos con mastitis: separación de la oveja enferma (62%), evitar el uso de leche mastítica para la alimentación de los recién nacidos (78%) y uso de remplazador para corderos (79%). En este último aspecto, la leche de cabra fue el principal remplazador (37%),

utilizando ya sea cabras seronegativas a VAEC (7%) ó caprinos con estatus serológico desconocido (93%). El segundo reemplazador más empleado fue la leche de vaca (22%) y la mezcla de leche caprina con leche bovina en el tercer lugar (13%). Finalmente, solamente una finca (7%) utilizaba un reemplazador comercial en polvo importado.

El amamantamiento restringido fue una medida de control realizada solamente por 21% de los entrevistados. Ninguno de ellos había instaurado un banco de calostro ovino, debido a los altos costos de implementación de esta medida y el desconocimiento de la misma para el control del virus.

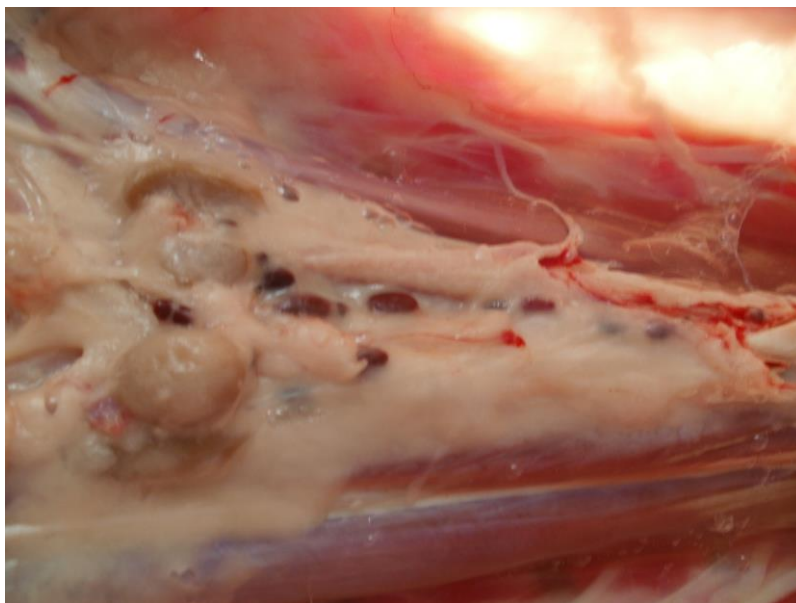


Figura 2: Linfonodos celiacos aumentados en una oveja detectada seropositiva en ELISA. Cortesía: Servicio de Patología, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional.

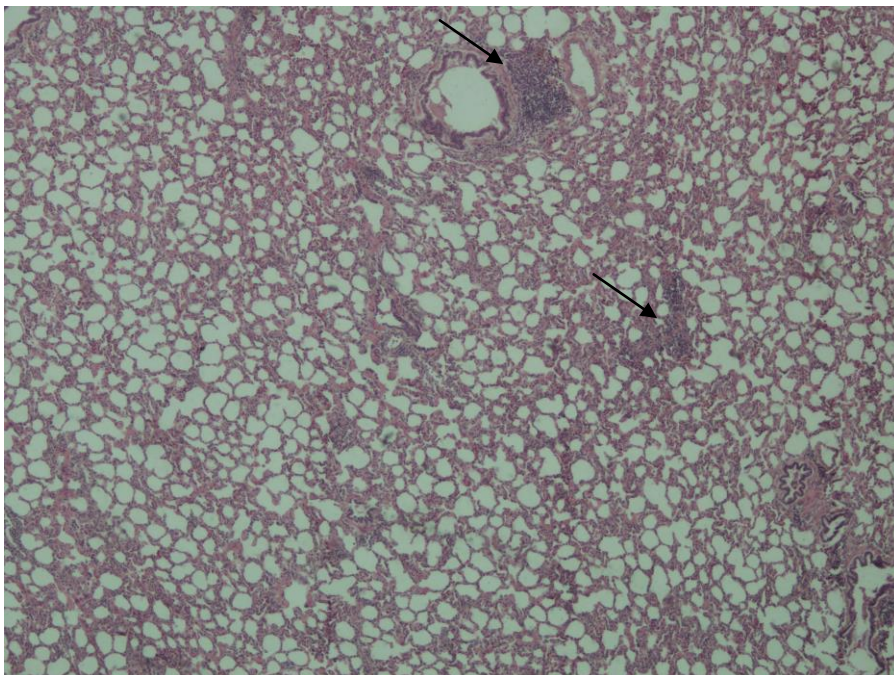


Figura 3: Histopatología de tejido pulmonar de una oveja detectada seropositiva a ELISA. Nótese una neumonía intersticial aguda. Cortesía: Servicio de Patología, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional.

Cuadro 8: Resultados de la encuesta realizada a 15 hatos ovinos de Costa Rica para determinar las prácticas de manejo, prácticas de crianza de corderos y signos clínicos asociados al VMV.

Variable encuestada a cada finca	Número de fincas con respuestas	
	Afirmativas	Negativas
Manejo		
Uso de estabulación (ER)	14 (93%)	1 (7%)
Acceso restringido a los corrales (AccRestr)	11 (71%)	4 (29%)
Áreas de cuarentena y aislamiento de enfermos (ACAE)	8 (56%)	7 (44%)
Problemas de ventilación en instalaciones (PVE)	3 (22%)	12 (78%)
Flujo de animales		
Importación de animales o pajillas de semen del extranjero (IAPI)	8 (52%)	7 (48%)
Reemplaza con animales propios de la finca (RAFT)	13 (92%)	2 (8%)
Compra de animales a otras fincas (COF)	9 (59%)	6 (41%)
Crianza		
Uso leche mastítica en alimentación de corderos (ULOM)	3 (22%)	12 (78%)
Uso de corrales separados para la cría de corderos (CSCC)	8 (57%)	7 (43%)
Uso de reemplazador para corderos rechazados (URC)	11 (79%)	4 (21%)
Amamantamiento restringido (SCDP)	3 (22%)	12 (78%)
Banco de calostro ovino (BCC)	0 (0%)	15 (100%)
Transmisión Iatrogénica		
Separación de ovejas con mastitis (SOM)	9 (62%)	6 (38%)
Separación de animales con trastornos respiratorios (SAPR)	7 (48%)	8 (52%)
Uso de potreros de maternidad (UPM)	10 (65%)	5 (35%)
Arete único para cada animal (AU)	14 (86%)	1 (14%)
Uso de la misma aguja para aplicación de fármacos (UMA)	10 (67%)	5 (33%)
Desinfección de la tatuadora (DT)	6 (42%)	9 (58%)
Signos clínicos observados		
Casos de Mastitis (Mast)	10 (65%)	5 (35%)
Casos de Problemas Respiratorios en General (PRG)	10 (64%)	5 (36%)
Casos de Artritis (Art)	2 (13%)	13 (87%)
Alteraciones en marcha asociados a problemas nerviosos (AM)	5 (36%)	10 (64%)
Cuadros de mareos o caminatas en círculo (MCeC)	4 (29%)	11 (71%)
Otros		
Conocimiento sobre LVPR (CSRLV)	7 (47%)	8 (53%)

Por otra parte, respecto a la transmisión iatrogénica, 14 (86%) de 15 productores utilizaron un arete único para cada animal o manejaban aretes atados a un cordón para incorporarlos posteriormente a los corderos a manera de collar, por lo que no necesitaban artefactos para aretear. Sin embargo, muchos productores utilizaban la misma aguja en varios animales para la aplicación de fármacos (67%); igualmente sólo 42% de los participantes desinfectaban la tatuadora, siendo el alcohol etílico, el desinfectante más utilizado.

Respecto a los signos clínicos, más de la mitad de los productores interrogados alegaron haber tenido animales con problemas respiratorios (64%) y mastitis (65%) compatibles con Maedi; sin embargo, solamente 36% de los encuestados afirmó haber visto alteraciones en la marcha asociados a trastornos nerviosos y 29% observaron cuadros de mareos, ataxia y caminatas desordenadas o en círculos, sintomatología que es compatible con las encefalopatías causadas por Visna. Casos clínicos de artritis fueron observados solamente por dos (13%) de los 15 ovinocultores consultados.

Cuando se preguntó a los productores sobre los lentivirus presentes en los pequeños rumiantes, 53% de los entrevistados respondió nunca haber escuchado sobre estos virus, ni sus síntomas, ni repercusiones en la producción de ovinos y caprinos. Por otro lado, 47% mencionaron conocer los LVPR: 26% VAEC y 21% VAEC y VMV.

4. DISCUSIÓN

Esta tesis presenta el primer reporte de evidencia serológica de VMV en hatos ovinos de Costa Rica realizado mediante técnica inmuno-enzimática. La seropositividad global determinada en este estudio (1,95%) es similar a la descrita por Costa et al. (2007), donde seis de 558 ovinos analizados con inmunodifusión resultaron positivos, estableciéndose una seropositividad de 1,07%. Lombardi et al. (2009) y Martínez et al. (2011) confirmaron estas seroprevalencias bajas (0,34% y 2,7% respectivamente) en 909 y 444 sueros ovinos analizados con inmunodifusión en Brasil. Estos autores concluyen sin embargo, que aunque las prevalencias fueron bajas, la enfermedad no debe subestimarse, ya que ocasiona grandes pérdidas en la producción ovina nacional y conlleva a repercusiones internacionales muy serias.

Aunque se estableció una baja seropositividad global en Costa Rica, se determinó una amplia distribución geográfica del VMV (regiones Central, Huetar Norte, Huetar Atlántico y Pacífico Central), lo que también coincide con los estudios realizados en Brasil, apuntando a la dificultad de encontrar serorreactores en poblaciones ovinas con bajas prevalencias del agente (Costa et al., 2007; Lombardi et al., 2009; Martínez et al., 2011).

La movilización de animales sin controles fue un factor que influyó en la distribución de la enfermedad a nivel mundial y fue la vía por la cual el virus se introdujo en algunos países europeos tales como Serbia, Noruega, Finlandia y el Reino Unido. Las encuestas realizadas a los productores ovinos determinaron, que una gran mayoría compra animales en el extranjero (Brasil, Nicaragua, Sudáfrica), sin control sanitario ni examen

serológico, o bien, intercambian animales entre fincas, lo que podría explicar la amplia distribución del agente dentro del país (Watt et al., 1990; Sihvonen et al., 1999; Gjerset et al., 2007; Savić et al., 2012).

Los seis hatos con animales seropositivos, tuvieron entre 63 y 170 animales. Según Shuaib et al. (2010), es posible encontrar al menos un animal positivo al VMV en hatos con más de 70 animales, lo que coincide con nuestros resultados. Todos los hatos tenían a sus animales bajo un manejo muy intensivo, con limitaciones de espacio y deficiente ventilación de sus corrales, problemas en la cantidad de forraje disponible por animal y bajos indicadores de salud. Estas condiciones favorecen la diseminación del VMV dentro del hato, según comprobó una investigación realizada en Alemania, ya que existe un mayor tiempo de contacto entre los animales, favoreciendo la transmisión horizontal (Huettner et al., 2010).

Pese a esperarse una prevalencia intrahato de 10%, solamente en una finca se determinó una seropositividad de 7,1%, las restantes cinco fincas presentaron prevalencias entre 3,6 y 5%. Estos datos coincidieron no coincidieron con las prevalencias intrahato obtenidas por Costa et al. (2007), quien reportó hasta 11% en una explotación ovina del área metropolitana de Pernambuco, Brasil. Esto indica, sin embargo, que en Costa Rica, el VMV parece presentar bajas seroprevalencias al menos en las fincas analizadas, lo cual permitiría implementar un programa de sacrificio de los ovinos positivos para controlar y erradicar el VMV de Costa Rica. Sin embargo, se deben realizar estudios que analicen mayor cantidad de fincas y animales, para constatar las bajas seroprevalencias intrahato (Synge y Ritchie, 2010; Martínez et al., 2011; Savić et al., 2012).

En estudios de presencia o ausencia de una enfermedad, si se presenta una seropositividad global muy baja, es posible obtener resultados falsos positivos, por lo que los valores S/P deben analizarse y constituyen un parámetro importante para determinar la

seropositividad real de los animales. Valores S/P elevados indican una mayor probabilidad de que el individuo muestreado esté realmente infectado (Collins, 2011). En el presente trabajo, 71% de los sueros seropositivos presentaron valores S/P muy elevados (>101) y lejos del punto de corte, al igual que los sueros negativos, lo cual indica que los resultados obtenidos son ciertos, aunque tres ovinos seropositivos fueron animales asintomáticos. Los animales restantes mostraron sintomatología compatible con el VMV, además una oveja seropositiva mostró lesiones histopatológicas compatibles con MV.

Por el largo período de incubación de este lentivirus, es común que las ovejas seropositivas no muestren síntomas de enfermedad, eventualmente durante toda su vida productiva, sin embargo, representan una potencial fuente de infección dentro del hato (De la Concha-Bermejillo, 1997). En Canadá, por ejemplo, los productores entrevistados sólo notaron una reducción de la fertilidad en las hembras infectadas, así como baja ganancia de peso y pobre condición corporal de sus crías, hallazgos que también coinciden con los encontrados en la necropsia e histopatología de la oveja seropositiva sacrificada (Arsenault et al., 2003). De allí, se fundamenta la importancia de realizar el diagnóstico serológico en las fincas, ya que es muy común que los casos de ovinos seropositivos a VMV no sean fácilmente detectados y que muchos médicos veterinarios no logren diagnosticar la enfermedad con base a sintomatología clínica, ya que ésta es inespecífica y muchas veces se confunde con infecciones causadas por agentes secundarios (Synge y Ritchie, 2010).

Cuando se realizó la evaluación clínica de los animales seropositivos se observó neumonía intersticial y fallo respiratorio progresivo sin fiebre en cuatro de siete animales con edades entre los tres a siete años. Estos signos respiratorios son compatibles con MV y concuerdan con la literatura consultada (De la Concha-Bermejillo, 1997; Menzies, 2006). Además, según Martínez et al. (2011) y Savić et al. (2012), la mayoría de animales

seropositivos al VMV son individuos mayores a los tres años de edad, debido al largo período de incubación del virus.

Debido a la baja seropositividad intrahato obtenida, no fue posible establecer una relación de la enfermedad con respecto a raza, sexo o sistema de manejo, ni tampoco determinar los factores de riesgo o protección asociados directamente con la enfermedad. No obstante, si se observaron factores relevantes mencionados en la literatura, relacionados a la seropositividad del VMV en los hatos nacionales (Perdigones, 2004; Lombardi et al., 2009; Leginagoika, 2010).

El uso inadecuado de agujas y aretes, la desinfección inapropiada de tatuadoras y la falta de medidas de higiene durante el ordeño fueron factores de transmisión iatrogénica observados en las fincas visitadas que aún se deben mejorar (Leginagoika, 2010).

Es importante continuar con estudios futuros que establezcan las prevalencias de MV, y evitar la diseminación del agente, implementando medidas de control. El MV es una enfermedad de reporte obligatorio según la OIE, por lo que se recomienda que una vez notificado a las autoridades de salud animal, se identifiquen los animales serorreactores y se prohíba su venta o préstamo a otras fincas. Por otra parte, se recomienda también, confirmar la presencia del VMV en Costa Rica por medio de aislamiento viral u otras técnicas moleculares (Peterhans et al., 2004; Manual Terrestre de la OIE, 2008; Huettner et al., 2010; Leginagoika, 2010).

5. CONCLUSIONES

- I. Se logró determinar la presencia de anticuerpos contra el VMV en sueros de ovejas costarricenses mediante un ensayo inmuno-enzimático.
- II. Se encontró una seropositividad global (1,95%) y seropositividad intrahato al VMV (0% a 7,1%) baja, pero ampliamente distribuido dentro del país.
- III. Los factores más relevantes asociados a la seropositividad del VMV mencionados en la literatura y observados en los hatos ovinos de Costa Rica fueron: el intercambio de animales sin control alguno; medidas de manejo que facilitan la transmisión iatrogénica (desinfección inadecuada de las tatuadoras, uso de una misma aguja en varios animales, abordaje inapropiado de las ovejas con mastitis y falta de higiene durante el ordeño); fallos en la crianza adecuada de los corderos antes del destete (escasa aplicación del amamantamiento restringido, reemplazadores a base de leche cabra sin conocer si proviene de animales seronegativos a CAEV); la falta de pruebas diagnósticas para el VMV y sobre todo, la falta de información sobre los LVPR.
- IV. Este trabajo constituye una referencia para las bases de datos del Programa Nacional de Salud en Rumiantes Menores del SENASA sobre la presencia, distribución y posibles medidas de control del VMV en Costa Rica.

6. RECOMENDACIONES

- I. Realizar estudios más amplios para confirmar los hallazgos (baja prevalencia y alta distribución) de la presente investigación.
- II. Informar a las autoridades de salud animal, veterinarios y productores ovinos de los diagnósticos disponibles para iniciar con programas de control y erradicación voluntarios, de acuerdo con los esquemas recomendados (Anexo 8.2)
- III. Informar sobre la enfermedad y los factores más relevantes en la transmisión del VMV: usar remplazadores de leche de ovejas libres de MV o leche de cabras libres de VAEC; no ingresar animales seropositivos, no comprar embriones o pajillas de semen provenientes de ovinos con estatus serológico desconocido o bien el uso de machos sin certificación libre del VMV. Además, se recomienda instaurar bancos de calostro y amamantamiento restringido como medidas de crianza para proteger los corderos de posibles infecciones con VMV; utilizar una aguja por animal al momento de aplicar fármacos o vacunas; desinfectar correctamente las distintas áreas de permanencia de los animales y separación del equipo (bebederos, comederos, medicamentos, guantes, aretes, collares, tatuadoras, y otros materiales) para animales seropositivos, de instrumental destinado para individuos seronegativos, con la finalidad de disminuir la probabilidad de la transmisión iatrogénica.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ackermann, M., H. Adler, M. Engels, C. Griot, A. Metzler, U. Müller-Doblies, D. Müller-Doblies, M. Schwyzer, N. Stäuber & M. Suter. 2007. Virusportraits. Universität Zürich, Zürich, Suiza.
- Alvarez, V., J. Arranz, J. Barandika, M. Geijo, M. Daltabuit, G. Aduriz, R. Juste & E. Berriatua. 2000. Importancia relativa del calostro en la transmisión del Maedi-Visna. Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario. Vizcaya, España.
- Arsenault, J., C. Girard, P. Dubreuil, D. Daignault, J.R. Galarneau, J. Boisclair, C. Simard & D. Bélanger. 2003. Prevalence and carcass condemnation from Maedi-Visna, paratuberculosis and caseous lymphadenitis in culled sheep from Quebec, Canada. *Prev. Vet. Med.* 59: 67-81.
- Bellavance, R.D., J. Turgeon, B. Phaneuf & R. Sauvageau. 1974. Pneumonie interstitielle et progressive du mouton. *Can. Vet. J.* 15: 293-297.
- Blacklaws, B.A., E. Berriatua, S. Torsteindottir, N.J. Watt, D. de Andrés, D. Klein & G.D. Harkiss. 2004. Transmission of small ruminant lentiviruses. *Vet. Microbiol.* 101: 199-208.
- Brodie, S.J., A. de la Concha-Bermejillo, G. Koenig, G.D. Snowder & J.C. DeMartini. 1994. Maternal factors associated with prenatal transmission of ovine lentivirus. *J. Infect. Dis.* 169: 653-657.
- Bulgin, M.S. 1990. Ovine progressive pneumonia, caprine arthritis-encephalitis and related lentiviral diseases of sheep and goats. *Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practices* 6: 691-704.
- Campbell, J.R., P.L. Menzies, D. Waltner-Toews, J.S. Walton, B.C. Buckrell & J. Thorsen. 1994. The seroprevalence of Maedi-Visna in Ontario sheep flocks and its relationship to flock demographics and management practices. *Can. Vet. J.* 35: 39-44.
- Campbell, R.S. & W.F. Robinson. 1998. The comparative pathology of lentiviruses. *J. Comp. Pathol.* 119: 333-395.

- Cannon, R.M. & R.T. Roe. 1982. *Livestock disease survey: a field manual for veterinarians*. Australian Government Publishing Service, Canberra, Australia.
- Chacón, T. & P. Naranjo. 2004. Resultados de plan de control y erradicación de Maedi-visna en la Región de Aysén (Patagonia Chilena). *Boletín Veterinario Oficial* 1: 1-2.
- Clemens, J.E. & M.C. Zink. 1996. Molecular biology and pathogenesis of animal lentivirus infections. *Clin. Microbiol. Rev.*, 9:100-117.
- Collins, M.T. 2011. Diagnosis of paratuberculosis. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 27: 593-598.
- Comtet, L., F. Feliziani & S. Lesceu. 2010. Validation of the ID Screen[®] Maedi Visna Indirect ELISA: Specificity on BTV-8 vaccinated sheep and detection of seroconversion. p. 4-15. *In* European Association of Veterinary Laboratory Diagnosticans (EAVLD). Set. 15-17. Lelystad, Holanda.
- Costa, L.S.P, P.P de Lima, A.K.C. Callado, S.A. do Nascimento & R.S. de Castro. 2007. Small ruminant lentivirus in Santa Inês ovines: isolation, identification by PCR and serological survey in the State of Pernambuco, Brazil. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 74: 11-16.
- Cutlip, R.C., T.A. Jackson & G.A. Laird. 1977. Immunodifusion Test for Ovine Progressive Pneumonia. *Am. J. Vet. Res.* 38: 1081-1084.
- De la Concha-Bermejillo, J.O. 1997. Maedi-visna and ovine progressive pneumonia. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 13:13-33.
- DeMartini, J.C., A. De la Concha-Bermejillo, J.O. Carlson & R.A. Bowen. 2000. Diseases caused by Maedi-Visna and other Ovine Lentivirus. p. 301-324. *In* R. F. E. Axford, S.C. Bishop, F. W. Nicholas & J.B. Owen (eds). *Breeding for disease resistance in farm animals*. CAB, U.S.
- De Vries, J. 1959. Progressive pneumonia in sheep. *Tijdschr. Diergeneesk.* 84: 442-449.
- Fallas, D. 2008. Evaluación de las Prácticas de Manejo Asociadas al Riesgo de la Transmisión del Virus de la Artritis Encefalitis Caprina en Hatos Caprinos de Pie de Cría de Costa Rica. Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional, Heredia, C.R.

- Fournier, D., J.R. Campbell & D.M. Middleton. 2006. Prevalence of Maedi-Visna in culled ewes in Alberta. *Can. Vet. J.* 47: 460-466.
- George, M.E. 1995. Aislamiento y Caracterización del Virus de la Artritis Encefalitis Caprina en Costa Rica. Tesis de Maestría, Universidad Nacional, Heredia, C.R.
- Gjerset, B., C.M. Jonassen & E. Rimstad. 2007. Natural transmission and comparative analysis of small ruminant lentiviruses in the Norwegian sheep and goat populations. *Virus Res.* 125: 153-156.
- Herrmann-Hoesing, L.M., E.L. Broughton-Neiswanger, K.C. Gouine, S.N. White, M.R. Mousel, G.S. Lewis, K.L. Marshall & D.P. Knowles. 2010. Evaluation of a caprine arthritis-encephalitis virus/Maedi-Visna virus indirect enzyme linked Immunoabsorbent assay in the serological diagnosis of ovine progressive pneumonia virus in United States sheep. *Clin.Vaccine Immunol.* 17: 307.
- Hosmer, D.W. & S. Lemeshow. 1989. *Applied logistic regression.* Wiley-Interscience. U.S.
- Hüttner, K., M. Seelman & F. Feldhusen. 2010. Prevalence and risk factors for Maedi-Visna in sheep farms in Mecklenburg-Vorpommern. *Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr.* 123: 10-14.
- Jiménez-Sánchez, C., D. Montero, P. Villalobos, J.L. Rojas-Martínez, L. Cordero, J.A. Morales & L. Rodríguez-Roque. 1992. La Artritis-Encefalitis Caprina; Primer Diagnóstico de esta Retrovirosis en Cabras de Costa Rica. *Cien. Vet.* 14: 59-63.
- Juste, R.A., J.L. Gelabert & C. Saez de Ocariz. 1987. Aspectos epizootiológicos de algunas enfermedades del ganado ovino: metodología y enfermedades crónicas (Maedi y Paratuberculosis). p: 233-235. *In Jornadas sobre Producción Animal.* Mayo. 12-14. Zaragoza, España.
- Keen, J.E., L.L. Hungerford, E.T. Littledike, T.E. Wittum & J. Kwang. 1997. Effect of ewe Lentivirus infection on ewe and lamb productivity. *Prev. Vet. Med.* 30: 155-169.
- Leginagoikoa, I. 2010. Epidemiología y diagnóstico de infección por el virus Maedi-Visna en diferentes sistemas de explotación ovinos españoles. Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario, España.

- León, L. & J. Prats. 1996. Encuesta serológica de la infección por el virus de Maedi-Visna en la población ovina de Moratalla (Murcia). p. 119-127. *In* Actas de XXI Jornadas Científicas de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia. Oct. 3-5. Logroño, España.
- Lombardi, A.L., A.H.C. Nogueira, F.C. Feres, H.P. Paulo, R.S. Castro, F.L.F. Feitosa, F.A. Cadioli, J.R. Peiró, S.H. Perri, V.F.M. Lima & L.C. Mendes. 2009. Occurrence of Maedi-Visna in sheep from Araçatuba region, SP, Brazil. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 61: 1434-1437.
- Lucam, F. 1942. Bouhite or malignant pulmonary lymphometosis. *Rec. Med. Vet.* 68: 274-284.
- Lujan, L., I. Bergara, D.D.S. Collie & N.J. Watt. 1994. Ovine Lentivirus (Maedi-Visna virus) protein expression in sheep alveolar macrophages. *Vet. Pathol.* 31: 695-703.
- Marsh, H. 1923. Progressive Pneumonia in sheep. *J. Amer. Vet. Med. Assoc.* 62: 458-473.
- Martínez, P., J. Nunes-Costa, T. Sampaio de Souza, C.C. Valencia de Lima, A. De Oliveira & R. Rizaldo Pinheiro. 2011. Serological prevalence of Maedi-Visna in sheep herds in the microregion of Juazeiro- Bahia by agar gel immunodiffusion (AGID). *Ci. Anim. Bras.* 12: 322-329.
- McNeilly, T.N., A. Baker, J.K. Brown, D. Collie, G. Maclachlan, S.M. Rhind & G.D. Harkiss. 2008. Role of alveolar macrophages in respiratory transmission of Visna/Maedi virus. *J. Virol.* 82: 1526-1536.
- Menzies, P.I. 2006. The Ontario Sheep Health Program: A structured health management program for intensively reared flocks. *Small Rumin. Res.* 62: 95-99.
- Mingues, O., S. Marques & M. Diez, 2008. Maedi-Visna programa de control y erradicación en Castilla y León: resultados preliminares. p. 24-31. *In* X Foro Nacional de Ovino: Foro de Aranda. Jun. 17-18. Burgos, España.
- Molina, R.M., F.J. Trigo & R.C. Cutlip. 1986. Estudio serológico de la neumonía progresiva ovina en México. *Veterinaria México* 17: 269-273.

- Murphy, F.A., P.J. Gibbs, M.C. Horzinek & M.J. Studdert. 1999. *Veterinary Virology*. Academic Press, U.S.
- OIE (World Organization for Animal Health). 2008. Caprine arthritis/encephalitis-Maedi-Visna. [En línea] p. 986. *In* Manual terrestre de la OIE. OIE, U.S. <http://www.oie.int/es/normas-internacionales/manual-terrestre/acceso-en-linea/> (Consulta: 12 Sep. 2012).
- Pavlov, N. 1963. Chronical interstitial pneumonia in sheep. *Mh. Vet-Med.* 18: 398-400.
- Pepin, M., C. Vitu, P. Russo, J.F. Mornex & E. Peterhans. 1998. Maedi-visna virus infection in sheep: a review. *Vet. Res.* 29: 341-367.
- Perdigones, M.N. 2004. Seguimiento de la infección por el virus de Maedi-Visna en una explotación de ganado ovino. Tesis de Licenciatura, Universidad Complutense de Madrid, España.
- Peterhans, E., T. Greenland, J. Badiola, G. Harkiss, G. Bertoni, B. Amorena, M. Eliaszewicz, R. A. Juste, R. Krassnig, J. P. Lafont, P. Lenihan, G. Petursson, G. Pritchard, J. Thorley, C. Vitu, J. F. Mornex & M. Pépin. 2004. Routes of transmission and consequences of small ruminant lentiviruses (SRLVs) infection and eradication schemes. *Vet. Res.* 35: 257-274.
- Petursson, G., G. Georgsson & P. Palsson. 1990. Maedi Visna virus. p. 431-440. *In* Dinker Z. & B. Morein. *Virus infections of ruminants*. Elsevier, Amsterdam.
- Philpot, W. N. 2001. Importancia de la cuenta de células somáticas y los factores que la afectan. p. 26. *In* III Congreso Nacional de Control de Mastitis y Calidad de la Leche. Jun. 21-23. León, Guanajuato, Mex.
- Prezioso, S., E. Taccini, G. Rossi, G. Renzoni & G. Braca. 2003. Experimental Maedi-visna virus infection in sheep: a morphological, immunohistochemical and PCR study after three years of infection. *European Journal of Histochemistry*. 47: 373-378.
- Prezioso, S., G. Renzoni & T. Allen. 2004. Colostral transmission of MVV: sites of viral entry in lambs born from experimentally infected ewes. *Vet. Microbiol.* 104: 157-164.

- Pugh, D.G. 2002. Sheep and goat medicine. Saunders Elsevier, Pennsylvania, U.S.
- Robles, C.A., J.A. Layana, R.F. Cabrera, F. Raffo & R.C. Cutlip. 2003. Estudio serológico retrospectivo de Maedi (neumonía progresiva) en ovinos y de Artritis-Encefalitis en caprinos de Patagonia, Argentina. *Revista de Medicina Veterinaria (Argentina)*. 84:96-99.
- Rosadio, R.H., J.F. Evermann & J.C. DeMartini. 1984. A preliminary serological survey of viral antibodies in peruvian sheeps. *Vet. Microbiol.* 10:91-96.
- Saman, E., G. van Eynde, L. Lujan, B. Extramiana, G. Harkiss & F. Tolari. 1999. A new sensitive serological assay for detection of lentivirus infections in small ruminants. *Clin. Diag. Lab. Immun.* 6: 734 - 740.
- Savić, S. B. Vidić, D. Bugarski & Z. Grgić. 2012. Findings of specific antibodies against Maedi-Visna virus in sheep population in the region of Vojvodina. p.109-114. *In* UNS-PSU International Conference on Bioscience: Biotechnology and Biodiversity. Jun. 18-20. Novi Sad, Serbia.
- Shuaib, M., C. Green, M. Rashid, G. Duizer & T.L. Whiting. 2010. Herd risk factors associated with sero-prevalence with Maedi-Visna in the Manitoba sheep population. *Can. Vet. J.* 51:385-390.
- Sigurdson, B., H. Grimson & P. Paesson. 1952. Maedi, a chronic progressive infection of sheep's lungs. *J. Infect. Diseases.* 90: 233-241.
- Sihvonen, L., V. Hirvelä-Koski, L. Nuotio & U. Kokkonen. 1999. Serological survey and epidemiological investigation of Maedi-Visna in sheep in Finland. *Vet. Microbiol.* 65: 265-270.
- Simard, C. & R.S. Morley. 1991. Seroprevalence of Maedi-Visna in Canadian sheep. *Can. J. Vet. Res.* 55:269-273.
- Smith, M.C. & D.M. Sherman. 2011. Goat medicine. Willey-Blackwell, U.S.
- Snyder, S.P., J.C. DeMartini, E. Ameghino & E. Caletti. 1983. Coexistence of pulmonary adenomatosis and progressive pneumonia in sheep in the central sierra of Peru. *Am. J. Vet. Res.* 44: 1334-1338.

- Stamp, J.T. & D.I. Nisbet. 1963. Pneumonia of sheep. *J. Comp. Path.* 73: 319-323.
- Stevenson, R.G. 1978. Maedi-Visna infection in rams in Nova Scotia. *Can. Vet. J.* 19:159-163.
- Synge, B.A. & C.M. Ritchie. 2010. Eradication of Maedi-Visna (MV) from infected sheep flocks and caprine arthritis encephalitis (CAE) from infected goat herds in Great Britain using an ELISA test. *Vet. Rec.* 167: 739-743.
- Tórtora, J.L. 2012. Síndrome de la oveja flaca. [En línea] Programa de fortalecimiento del sistema producto ovino. México, D.F. <http://www.asmexcriadoresdeovinos.org/sistema/pdf/sanidad/sindromedelaovejaflaca.pdf> (Consulta: 3 Oct. 2012).
- Walter, W., H. Castañeda, B. Kloppert & M. Zschock. 2004. Mastitis bovina: Prevención, diagnóstico y tratamiento. Editorial Universitaria, Mex.
- Watt, N.J., D.J. Roy, I. McConnell & T.J. King. 1990. A case of visna in the United Kingdom. *Vet. Rec.* 126: 600-601.

Total de animales actuales según edad:

0 -1 año _____

1-3 años _____

3-10 años _____

10- 12 años _____

Más de 12 años _____

Raza(s) de los animales: _____

¿Re-emplaza con animales propios de la finca? () Si () No

¿Compra actualmente ovinos de otras fincas? () Si () No

En caso de que responda SI a la pregunta anterior. ¿Ha importado ovinos o pajillas de inseminación provenientes del extranjero? () Si () No

¿Vende actualmente de sus animales a otras fincas ovejeras? () Si () No

Combina Usted su hato ovino con otra explotación de las siguientes especies:

() Caprinos.

() Bovinos.

() Cerdos.

() Equinos.

() Aves de corral.

() Ninguna de las anteriores.

Instalaciones

¿Cuántos animales maneja Usted en cada apartado (cuadra, establo ó corral) aproximadamente? _____

¿Estabula Ud. su rebaño? () Si () No

En caso de responder SI a la pregunta anterior, ¿cual es la superficie utilizada en las cuadras?

() Cemento () Rejilla madera () Rejilla plástica () Tierra () Otro: _____

¿Utiliza Usted algún tipo de cama en las cuadras? () Si () No

En caso de responder SI a la pregunta anterior, ¿que tipo de cama utiliza?

() Burucha () Heno () Aserrín () Hojas de palma () Otro: _____

Información sobre el estado de salud de los animales y el virus Maedi- Visna

Alguna vez ha escuchado sobre los siguientes lentivirus de los pequeños rumiantes:

- CAEV.
- Maedi-Visna.
- Ambos.
- Ninguna de los dos.

Alguna vez ha observado algunos de los siguientes síntomas en sus ovejas:

- Debilidad Si No
- Pérdida de peso y condición corporal (Caquexia) Si No
- Dificultad respiratoria (Disnea) Si No
- Descarga nasal mucopurulenta Si No
- Tos seca Si No
- Estornudos Si No
- Respiración abdominal forzada Si No
- Artritis Si No
- Temblores musculares Si No
- Mareos o caminatas en círculo Si No
- Alteraciones en la marcha Si No
- Parálisis de alguna de las extremidades Si No
- Mastitis Si No
- Aumento de la mortalidad Si No

Información sobre el manejo de los rebaños

¿Con cuánta frecuencia visita el medico veterinario su finca? _____

¿Hay acceso restringido a los corrales de su finca para personas visitantes?

- Si No

¿Utiliza pediluvios a la entrada de los corrales destinados para animales enfermos?

- Si No

¿Ha presentado problemas de ventilación en los establos? () Si () No

¿Los partos son asistidos o supervisados por personal de la finca? () Si () No

¿Utiliza potreros de maternidad o corrales bajo techo para el parto de sus ovejas gestantes?
() Si () No

¿Se separan los corderos de sus madres después del parto? () Si () No

¿Cuenta con corrales separados para la cría de los corderos? () Si () No

¿Cuenta con banco de calostro para los corderos? () Si () No

¿Utiliza algún tipo de re-emplazador para corderos? () Si () No

En caso de responder SI a la pregunta anterior, ¿a que edad lo comienza a utilizar?

¿Cuándo realiza Usted el destete de los corderos? _____

¿Utiliza pediluvios a la entrada de los establos destinados para la cría de los corderos?
() Si () No

¿Se ha utilizado leche de ovejas con mastitis para criar los corderos? () Si () No

¿Las ovejas con mastitis han sido apartadas del resto del hato? () Si () No

¿Las ovejas con problemas respiratorios han sido apartadas del resto del hato? () Si ()
No

¿Realiza tatuaje de identificación en los animales? () Si () No

En caso de que responda SI a la pregunta anterior, ¿desinfecta la tatuadora entre cada animal? () Si () No

¿Utiliza aretes únicos para la identificación de cada animal? () Si () No

¿Cuenta la finca con áreas de cuarentena o aislamiento de animales enfermos? () Si ()
No

¿Ha vacunado o aplicado medicamentos a sus animales con una misma aguja? () Si ()
No

Otros comentarios u observaciones realizadas por el productor (aspectos importantes respecto al estudio o respecto a la finca que no fueron cuestionados):

Observaciones finales:

8.2 Esquema de control recomendado

- I. **Someter a la finca a un muestreo serológico voluntario:** Para ser efectivo en el abordaje del control y la erradicación de Maedi-Visna, se requiere analizar el rebaño (animales mayores de seis meses) e identificar animales seropositivos cada seis a doce meses hasta obtener la categoría de hato libre.
- II. **Eliminar las hembras seropositivas con sus crías:** eso debido a que el 100% de las crías se van a infectar a través de la ingesta de calostro, leche o mediante secreciones respiratorias de la madre seropositiva.
- III. **Recomendaciones en hatos grandes con pocos animales positivos:** Se recomienda el sacrificio simultáneo de todos los animales seropositivos y sus crías. Se debe de volver a realizar un muestreo serológico para confirmar la eliminación de todos los animales seropositivos, así como los individuos que se encontraron en el periodo de incubación de la enfermedad.
- IV. **Hatos grandes o pequeños con gran número de animales positivos:** Separación de animales seropositivos y creación de un hato paralelo con animales libres del virus (seronegativos). Estos animales deben permanecer siempre aparte de los animales seropositivos, y no deben de compartir equipo (bebederos, comederos, medicamentos, agujas, guantes, aretes, collares, tatuadoras, y otros materiales). Implementar pediluvios a la entrada de los corrales de grupos seronegativos.
- V. **Los animales seropositivos se pueden consumir,** hasta la fecha no se ha detectado que el virus afecte la salud humana.
- VI. **Cuarentena de los animales que ingresan a la finca y que poseen un estatus sanitario desconocido:** Es necesario realizar una cuarentena y un muestreo serológico seis semanas después para confirmar que el animal es seronegativo y poder introducirlo dentro del hato negativo.
- VII. **Evitar la introducción o préstamo de animales (machos) de otras fincas cuyos animales son seropositivos o de los cuales se desconoce su estatus sanitario.**

