

## Estudio serológico retrospectivo de Maedi (Neumonía Progresiva) en ovinos y de Artritis-Encefalitis en caprinos de Patagonia, ARGENTINA.

Robles, C. A.<sup>(1)\*\*</sup>; Layana, J. A.<sup>(1)</sup>; Cabrera, R. F.<sup>(1)</sup>; Raffo, F.<sup>(1)</sup>; Cutlip, R.<sup>(2)</sup>

**Palabras clave:** Ovinos, Caprinos, Diagnóstico, Lentivirus, Maedi, Artritis-Encefalitis

**Key words:** Sheep, Goats, Diagnosis, Lentivirus, Maedi, Arthritis-Encephalitis

### RESUMEN

Las infecciones por lentivirus en pequeños ruminantes, producen el Maedi (Neumonía Progresiva) y el Visna en ovinos y la Artritis-Encefalitis en caprinos. Durante el año 2001, se detectó por primera vez Maedi en el país en un establecimiento ovino lechero de la Patagonia Argentina. Muestras de suero de ovinos y caprinos de diferentes regiones de Patagonia, tomadas del banco de sueros del Grupo de Salud Animal del INTA Bariloche, fueron analizadas para Maedi y Artritis-Encefalitis, utilizando una prueba de gel difusión. Sobre 149 establecimientos ovinos muestreados, 8 (5.37%) resultaron positivos y de las 6380 sueros analizados 12 (0.19%) reaccionaron en forma positiva. En el caso de los caprinos, de 9 establecimientos analizados sólo 1 (11%) resultó positivo, mientras que de los 790 sueros procesados solo 1 (0.12%) resultó positivo. La baja cantidad de ovinos y caprinos positivos puede deberse a que han sido escasas las oportunidades de entrada de los agentes etiológicos de ambas enfermedades desde países infectados, pero fundamentalmente al sistema de cría imperante en Patagonia que se realiza sobre pastizales naturales, en campos abiertos y con una muy baja densidad de animales. Se discute la conveniencia de iniciar tareas de relevamiento y vigilancia epidemiológica, como la de estandarizar un test de Elisa para su uso en el país como prueba diagnóstica oficial.

### SUMMARY

#### Retrospective serological study on Maedi (Progressive Pneumonia) in sheep and Arthritis-Encephalitis in goats from Patagonia, ARGENTINA.

Lentivirus infections in small ruminants are responsible of Maedi/Progressive Pneumonia and Visna in sheep, and Arthritis-Encephalitis in goats. In 2001 the first case of Maedi was detected in a sheep dairy farm in Patagonia. Ovine and caprine serum samples selected from the sera bank at the Animal Health Unit of the National Institute for Agricultural Technology (INTA), were processed for Maedi and Arthritis-Encephalitis using an agar gel immunodiffusion test. Eight (5.37%) out of the 149 sampled farms resulted positive to Maedi and 12 (0.19%) out of 6380 sera samples from sheep were positive to that disease. Regarding goats, only one (0.12%) out of 790 sera from a total of 9 farms was positive. The low number of positive sheep and goats, could be due to the low chances the viruses had to be imported from infected countries, but mainly due to the breeding system used in Patagonia which is based on natural pastures, open fields and a low animal density. The convenience of a generalized survey and surveillance as well as the standardization of an Elisa test to be used as the official test in the country is discussed.

### INTRODUCCIÓN

Las infecciones por lentivirus en el ovino están representadas por dos síndromes, clínica e histopatológicamente distintos denominadas Maedi o Neumonía Progresiva Ovina y Visna, mientras que en el caprino se reconoce una sola enfermedad

denominada Artritis-Encefalitis Caprina. La primera descripción de infección por lentivirus en ovinos corresponde a Mitchel en Sudáfrica en 1915, posteriormente en 1923 Marsh la describe en Estados Unidos y en 1939 es descrita en Islandia con el nombre de Maedi. La primer

descripción en caprinos la realizó Cork y col. en Estados Unidos en 1974<sup>(14, 25)</sup>.

El Maedi o Neumonía Progresiva Ovina (NPO) se caracteriza por neumonía intersticial crónica, emaciación, disnea progresiva y muerte. Secundariamente se puede

\* Autor para la correspondencia

<sup>(1)</sup> Grupo de Salud Animal - INTA Bariloche- CC: 277 (8400) Bariloche, Argentina - email: crobles@bariloche.inta.gov.ar <sup>(2)</sup> USDA, ARS, NADC, Ames, IA 50010-USA

presentar mastitis indurativa crónica y artritis del carpo y tarso. Visna, es de presentación menos frecuente y se caracteriza por ataxia, parálisis, desmielinización a nivel del sistema nervioso central y muerte (8, 9, 15, 18).

La Artritis-Encefalitis Caprina (AEC) se presenta como una encefalomiélitis en el caso de cabritos de 2 a 4 meses de edad y como una artritis crónica no supurativa que afecta principalmente las articulaciones del carpo y del tarso en animales de un año de edad en adelante (6, 9, 18, 19, 22).

Si bien se considera que las tres enfermedades son producidas por un mismo retrovirus de tipo exógeno, no oncogénico, habría claras diferencias entre el virus que afecta a los ovinos, del que afecta a los caprinos. Sin embargo hay que tener en cuenta de que ambos virus son capaces de infectar a ambas especies y reaccionan de manera similar a las pruebas serológicas y moleculares (4, 8, 10, 11, 24).

El Servicio de Diagnóstico del INTA Bariloche (SIRSA), ha recibido en varias oportunidades ovinos y caprinos, con lesiones artríticas en carpos y tarsos, como así también ovinos adultos con síntomas respiratorios, sin embargo tanto la histopatología como la serología específica siempre resultaron negativas para lentivirus. En concordancia con estas observaciones, un relevamiento serológico de Artritis-Encefalitis realizado en caprinos criollos de la provincia del Neuquén (21) también arrojó resultados negativos.

Sin embargo, a mediados del año 2000 en varias majadas de las regiones del Maule (VII región), del Bio-Bio (VIII región) y de los Lagos (X región) en Chile, se confirmaron los primeros focos de infección por lentivirus en ese país y hacia fines del 2000 y enero del 2001 se confirman nuevos focos en las regiones de Aisén y Magallanes (1, 2). Los estudios realizados en dicho país por los técnicos del Servicio Agrícola Ganadero (SAG), respecto al origen de la infección, apuntan a la importación en 1995 de ovinos lecheros de la raza Latxa desde España y a la importación en 1996 de ovinos de la raza Milchschaef de un establecimiento ovino lechero de la localidad de El Bolsón, provincia de

Río Negro, Argentina (1, 2, Tadich, com. personal). Tras un sangrado realizado por técnicos del SENASA a 417 ovinos del establecimiento sospechoso de El Bolsón y que arrojara resultados positivos en 17 de ellos, el 21 de junio del 2001, en cumplimiento del artículo 1.2.03 del Código Zoonosario Internacional, el SENASA informa a la Oficina Internacional de Epizootias (OIE) la detección de serología positiva a Maedi Visna y concurrentemente el diagnóstico histopatológico de Adenomatosis Pulmonar Ovina en el mismo establecimiento ovino de El Bolsón (3,16).

Posteriormente, el SENASA realiza un muestreo serológico en 6 tambos ovinos que habían recibido animales del establecimiento de El Bolsón, considerado como el foco primario. En tres de los establecimientos muestreados aparecieron ovinos y caprinos que reaccionaron en forma positiva a la serología practicada para Maedi-Visna (17).

Utilizando sueros ovinos y caprinos provenientes del banco de sueros del Grupo de Salud Animal del INTA Bariloche (SIRSA) se realizó un estudio serológico retrospectivo sobre Maedi y AEC a fin de generar información sobre la posible presencia de infección por lentivirus en ovinos productores de lana y caprinos angora productores de mohair, criados en sistemas extensivos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Muestras

Las muestras elegidas del banco de sueros para el presente estudio corresponden al período 1995-2002. Para establecimientos considerados grandes (más de 100 muestras en el banco de sueros) se tomaron 50 sueros y para los pequeños (máximo de 20 muestras en el banco de sueros), se tomaron un promedio de 10 sueros por establecimiento. Para la obtención de las muestras de sangre se utilizaron agujas 50 o 40 x 20 y la sangre se extrajo directamente de la vena yugular, sin el uso de jeringas y con los animales en pie. Los tubos con la sangre se dejaron en reposo durante 24 horas a temperatura ambiente. Los sueros obtenidos fueron trasvasados a tubos eppendorf y conservados en freezer a -18°C hasta

su procesamiento (20).

Para Maedi/Visna se utilizaron sueros de carneros y ovejas de raza Merino y Corriedale, provenientes de las provincias de Neuquén, Río Negro, Chubut, Santa Cruz y Tierra del Fuego. Las edades de los animales variaron desde el año y medio hasta los 7 años.

Para Artritis encefalitis caprina se utilizaron sueros de caprinos adultos de raza Angora recolectados en distintas localidades de las provincias de Neuquén y Río Negro.

### Prueba diagnóstica

Para la determinación de la presencia de anticuerpos contra lentivirus se utilizó la técnica de inmunodifusión en gel de agar (7) modificada (21). Se usó un gel de agar noble al 1% en buffer tris 0.05 molar, pH 7.2 con el agregado de Cloruro de sodio al 8%. El gel se distribuyó a razón de 3.6 ml por portaobjeto y se utilizó un sacabocado con 6 pocillos en la periferia y uno en el centro. En los pocillos periféricos se colocó alternadamente el suero positivo control y los sueros problema. En el pocillo central se colocó el antígeno, obtenido en cultivos celulares a partir de la cepa de referencia WLC-1. Las placas se incubaron a temperatura ambiente y se leyeron a las 24, 48 y 72 horas. Un resultado positivo estuvo dado por una línea de precipitación bien definida entre el antígeno y el suero problema. La ausencia de banda a las 72 hs. indicó un resultado negativo. El antígeno y suero control positivo fueron provistos por el USDA, Ames, IOWA-USA. Los sueros que resultaron positivos fueron analizados nuevamente para su confirmación.

### RESULTADOS

En la tabla 1 se pueden observar los resultados obtenidos del análisis de los sueros ovinos de las 5 provincias patagónicas.

En la tabla 2 se pueden observar los resultados obtenidos de las muestras correspondientes a caprinos angora de las provincias de Río Negro y Neuquén.

**Tabla 1: cantidad de establecimientos muestreados, sueros procesados por provincia y cantidad de sueros reaccionantes.**

Provincia	Establecimientos muestreados	Establecimientos Positivos	Sueros Analizados	Sueros reaccionantes
Río Negro	47	3	922	3
Neuquen	3	0	122	0
Chubut	10	0	479	0
Santa Cruz	61	2	2899	6
Tierra del Fuego	28	3	1958	3
<b>TOTALES</b>	<b>149</b>	<b>8 (5.37%)</b>	<b>6380</b>	<b>12 (0.19%)</b>

**Tabla 2: cantidad de establecimientos muestreados, sueros procesados por provincia y cantidad de sueros reaccionantes.**

Provincia	Establecimientos muestreados	Establecimientos positivos	Sueros Analizados	Sueros reaccionantes
Río Negro	2	1	323	1
Neuquén	7	0	467	0
<b>TOTALES</b>	<b>9</b>	<b>1 (11%)</b>	<b>790</b>	<b>1 (0.12%)</b>

## DISCUSIÓN

La positividad demostrada en 12 sueros de ovinos provenientes de las provincias de Río Negro, Santa Cruz y Tierra del Fuego y en un suero caprino de la provincia de Río Negro, es el primer indicio de la posible presencia de infección por lentivirus en ovinos productores de lana y en caprinos productores de mohair. En razón de que en el presente estudio los campos no fueron seleccionados siguiendo un diseño previo, ni las muestras recolectadas al azar, no corresponde establecer un valor de prevalencia.

La baja cantidad de ovinos y caprinos reaccionantes hallados en este estudio, podría deberse a que han sido escasas las oportunidades de entrada de los agentes etiológicos de ambas enfermedades desde países infectados. Para el caso de los ovinos, las importaciones de reproductores de las razas Merino y Corriedale que son las mas utilizadas en Patagonia para la producción de lana, han sido realizadas fundamentalmente desde Australia y Nueva Zelanda, países considerados libres de Maedi<sup>(8, 14)</sup>. En el caso de los caprinos, podría suceder algo similar ya que si bien ha habido importaciones desde los países antes mencionados y Estados Unidos, donde existe la Artitis-encefalitis caprina, las importaciones se han hecho desde establecimientos considerados libres de la enfermedad. Sin embargo, lo que probablemente influya de manera más notoria en la baja cantidad de reaccionantes observada, tanto en ovinos como en caprinos, sea el sistema de cría imperante en Patagonia que se realiza sobre pastizales naturales, en campos abiertos y con una muy baja densidad de animales por superficie de pastoreo, condiciones que actuarían como

factores protectivos ante la enfermedad, bajando el riesgo de contagio considerablemente. Finalmente, si bien la prueba de gel difusión ha demostrado en estudios previos una buena especificidad y relativa buena sensibilidad<sup>(7, 13)</sup>, los test de Elisa actuales, usando proteínas recombinantes como antígenos y anticuerpos monoclonales, han demostrado poseer una sensibilidad muy superior que las pruebas tradicionales, por lo que habría que suponer que la cantidad de animales positivos hallados en este estudio, esta subestimada<sup>(5, 8, 12, 23)</sup>. Este último hecho marca la necesidad de poner a punto, estandarizar y oficializar un test de Elisa para su uso en nuestro país.

Si bien la problemática actual esta centrada en el ganado ovino lechero de la raza Milchschaef, por ser donde primero se detectó la enfermedad, no hay que olvidar que se han introducido a Patagonia, aunque en pequeña escala, ovinos de razas carniceras como la Ille de France, Texel, Border Leicester, etc. provenientes de países europeos, en donde el Maedi está presente en forma endémica, siendo ésta, una posible vía de entrada de la enfermedad a la región que no habría que descartar. Respecto a los caprinos, las introducciones han sido en menor escala y fundamentalmente de la raza Anglonubian.

El hecho de que estas enfermedades sean producidas por lentivirus, alertan sobre la necesidad de extremar los cuidados en los casos de importación, ya que el período de incubación de estos virus es extremadamente largo y por lo tanto, las medidas de cuarentena aplicadas usualmente no son suficientes para la detección de animales infectados por estos agentes. Asimismo, los productores que necesiten in-

corporar genética mejoradora existente en nuestro país, deberían hacerlo de establecimientos que estén certificados como libres de estas enfermedades.

Ante los resultados de este primer estudio en ovinos Merino y Corriedale y caprinos Angora sumados a los ya reportados para ovinos lecheros Milchschaef<sup>(16, 17)</sup> y caprinos Criollos<sup>(21)</sup>, se estima que sería razonable el inicio de una tarea de vigilancia epidemiológica en pequeños rumiantes, comenzando por los establecimientos que hayan importado animales de países infectados, y que comprenda (1) registro en el establecimiento de casos de animales con sintomatología respiratoria, mastitis, claudicaciones y emaciación progresiva y revisión de pulmones y toma de muestra de sangre de ovinos y caprinos adultos enviados a faena en mataderos y frigoríficos con inspección veterinaria, (2) realizar un relevamiento serológico representativo de todas las provincias patagónicas y/u otras áreas del país, para estimar la prevalencia en ovinos y caprinos en los distintos sistemas de producción, (3) revisar si fuera necesario la legislación sobre importación de ovinos y caprinos y/o germoplasmas de países con riesgo de estar infectados y (4) establecer un procedimiento preciso para los establecimientos que en un futuro resulten positivos a la infección por lentivirus. De aparecer animales positivos debería intentarse el aislamiento viral, única prueba incontestable de la presencia de la enfermedad en un país o región.

**Agradecimientos:** Al Dr. Néstor Tadich, de la Universidad Austral de Chile, Valdivia, por facilitarnos información respecto a la situación del Maedi en Chile, al Dr. Randall Cutlip del USDA, ARS, NADC, Ames, IA 50010-USA, por

la provisión del antígeno y suero control usado en este estudio y al Dr. Fermín Olaechea por la lectura crítica del manuscrito.

## BIBLIOGRAFÍA

1. **Anónimo** - En: Diario El Mercurio. 29 de Enero de 2001. Chile. (SAG clausura 9 predios por virus en ganado ovino)
2. **Anónimo**- En: Diario Crónica, La Prensa Austral. 1 de Febrero de 2001. Chile. ( Provincia de Última Esperanza, la más afectada - Más de cien predios muestreados - Maedi-Visna SIDA de las ovejas)
3. **Anónimo** - En: Diario Ambito Financiero. 9 de agosto de 2001 (Hallan ovinos enfermos en el sur)
4. **Banks, K.; Adams, D.; McGuire, T.; Carlson, J.** Experimental infection of sheep by caprine arthritis-encephalitis virus and goats by progressive pneumonia virus. *Am. J. Vet. Res.* **44**: 2307-2311. 1983.
5. **Celer Jr, V.; Celer, V.; Nêmcová, H.; Zanoni, R.; Peterhans, E.** Serologic diagnosis of Ovine Lentiviruses by whole virus ELISA and AGID Test. *J.Vet.Med.B.* **45**: 183-188. 1998.
6. **Crawford, T.; Adams, D.** Caprine Arthritis-Encephalitis: clinical features and presence of antibodies in selected goat populations. *Am. Vet. Med. Ass.* **178** (7): 713-719. 1981.
7. **Cutlip, R.; Jackson, T; Laird, G.** Immunodifusion test for Ovine Progressive Pneumonia. *Am. J. Vet. Res.* **38**: 1081-1084. 1977.
8. **Cutlip, R.C., Lehmkuhl, HD., Schmerr, M.J. and Brogden, K.A.** Ovine progressive pneumonia (maedi-visna) in sheep. *Vet. Microbiol.*, **17**: 237-250. 1988.
9. **Fenner, F.J.; Gibbs, E.P.; Murphy, F.A.; Rott, R.; Studdert, M.J.; White, D.O.** *Veterinary Virology*, 2<sup>nd</sup> edition. Academic Press, Inc. San Diego, USA. pp: 666. 1993.
10. **Gogolewski, R; Adams, S.; McGuire, T; Banks, K.; Cheevers, W.** Antigenic cross-reactivity between Caprine Arthritis-Encephalitis, Visna and Progressive Pneumonia viruses involves all virions-associated proteins and glycoproteins. *J. Gen. Virol.* **66**: 1233-1240. 1985.
11. **Juste, R.A.; De la Concha, A.** Etiología del Maedi-Visna. En: *Ovis N°72* : 9-26. 2001.
12. **Keen, J.; Kwang, J.; Rosati, S.** Comparison of ovine lentivirus detection by conventional and recombinant serological methods. *Vet. Immunol. & Immunopathol.*, **47**: 295-309. 1995.
13. **Knowles, D.P.** Laboratory diagnostic tests for retrovirus infections of small ruminants. *Vet.Clin. North. Am.: Food Animal Practice.* **13** (1): 1-11. 1997.
14. **Luján, L.; Juste, R.; Berriatua, E.; Badiola, J.** Epidemiología y control. El virus Maedi-Visna en España. En: *Ovis N° 72*: 81-93. 2001-a.
15. **Luján, L.; Gómez, N.; Bolea, R.; García-Marin, J.; Varea, R.; Vargas, A.; Badiola, J.** Cuadro clínico y lesional del Maedi-Visna. En: *Ovis N° 72*: 41-57. 2001b.
16. **OIE.** Maedi-Visna (detection of specific antibodies) in Argentina. *Disease Information*, **14** (26), June 29<sup>th</sup>. 2001a.
17. **OIE** (2001b) Maedi-Visna (detection of specific antibodies) in Argentina. *Disease Information*, **14** (47), November 23<sup>th</sup>.
18. **Radostits, O.M.; Blood, D.C.; Gay, C.C.** *Veterinary Medicine*. 8th edition. Ed. ELBS, Bailliere Tindall, Great Britain, pp: 1763. 1994.
19. **Robinson, W.; Ellis, T.** Caprine arthritis-encephalitis virus infection: from recognition to eradication. *Aust. Vet. Jour.* **63** (8): 237-241. 1986.
20. **Robles, C.A.; Uzal, F.A.; Olaechea, F.V.** Guía práctica de muestreo de enfermedades en ovinos y caprinos. Ed. INTA-Bariloche. ISBN N° 950-9853-65-8. 1996.
21. **Robles, C.A.; Lanari, M.R.; Perez Centeno, M.; Domingo, E.** Relevamiento de Brucelosis y Artritis-Encefalitis en caprinos criollos en la Provincia de Neuquén. *Veterinaria Argentina*, **16** : 740-746. 1999.
22. **Toma, B.; Eloit, M.; Savey, M.** Las enfermedades animales por retrovirus: leucosis bovina enzoótica, anemia infecciosa de los équidos, artritis/encefalitis caprina. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* **9** (4): 1077-1119. 1990.
23. **Varea, R.; Monleon, E.; Pacheco, C.; Luján, L.; Bolea, R.; Vargas, M.; Van Eynde, G.; Saman, E.; Dickson, L.; Harkiss, G.; Amorena, B.; Badiola, J.** Early detection of maedi-visna (ovine progressive pneumonia) virus seroconversion in field sheep samples. *J. Vet. Diagn. Invest.* **13**: 301-307. 2001.
24. **Zanoni, R.; Nauta, I.; Kuhnert, P.; Pauli, U.; Pohl, B.; Peterhans, E.** Genomic heterogeneity of small ruminants lentivirus detected by PCR. *Vet Microbiol.* **33**: 341-351. 1992.
25. **Zink, M.; Johnson, L.** Pathobiology of lentivirus infections of sheep and goats. *Virus Research*, **32**: 139-154. 1994.